

Aus dem Institut für Lebensmittelsicherheit und -hygiene
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

**Prävalenz und Quantifizierung von *Arcobacter* spp.
im Gastrointestinaltrakt von Masthähnchen
am Geflügelschlachthof**

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

vorgelegt von
Antje Schönknecht
Tierärztin aus Herzberg

Berlin 2021
Journal-Nr.: 4283

**Aus dem Institut für Lebensmittelsicherheit und -hygiene
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin**

**Prävalenz und Quantifizierung von *Arcobacter* spp. im
Gastrointestinaltrakt von Masthähnchen am Geflügelschlachthof**

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

**vorgelegt von
Antje Schönknecht
Tierärztin aus Herzberg**

**Berlin 2021
Journal-Nr.: 4283**

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Uwe Rösler
Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Thomas Alter
Zweiter Gutachter: Prof. Dr. Tassilo Seidler
Dritter Gutachter: PD Dr. Markus M. Heimesaat

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

arcobacter, broilers, carcasses, slaughter, abbatoirs, contamination, epidemiology,
meat hygiene, food safety, polymerase chain reaction

Tag der Promotion: 07.06.2021

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <<https://dnb.de>> abrufbar.

ISBN: 978-3-96729-123-0

Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2021

Dissertation, Freie Universität Berlin

D188

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdruckes und der Vervielfältigung des Buches, oder Teilen daraus, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen, usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürfen.

This document is protected by copyright law.

No part of this document may be reproduced in any form by any means without prior written authorization of the publisher.

Alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© Mensch und Buch Verlag 2021 Choriner Str. 85 - 10119 Berlin

verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	I
Abbildungsverzeichnis.....	III
Tabellenverzeichnis.....	IV
Abkürzungsverzeichnis	VI
1. Einleitung	1
2. Literatur	3
2.1 Charakteristika und kultureller Nachweis von <i>Arcobacter</i> spp.....	3
2.2 Speziesidentifizierung und Genotypisierung von <i>Arcobacter</i> spp.....	5
2.3 Pathogenitätsmechanismen von <i>Arcobacter</i> spp.	6
2.4 Bedeutung von <i>Arcobacter</i> spp. für den Menschen.....	8
2.5 <i>Arcobacter</i> spp. in Nutztieren	10
2.6 <i>Arcobacter</i> spp. in Haus- und Wildtieren	15
2.7 Bedeutung von <i>Arcobacter</i> spp. in Lebensmitteln	17
2.8 <i>Arcobacter</i> spp. in Fleischprodukten und Meeresfrüchten	17
2.9 <i>Arcobacter</i> spp. in der Schlachtung von Rindern und Schweinen.....	20
2.10 Bedeutung von <i>Arcobacter</i> spp. in Geflügelschlachthöfen	21
2.11 <i>Arcobacter</i> spp. in Wasserquellen	24
3. Material und Methoden	26
3.1 Probenahme am Geflügelschlachtbetrieb.....	26
3.2 Probenaufbereitung im Labor	29
3.3 Nährmedien zur kulturellen Isolierung von <i>Arcobacter</i> spp.	30
3.3.1 Nährmedien.....	30
3.3.2 Herstellung der Nährmedien	32
3.4 Kulturelle Isolierung von <i>Arcobacter</i> spp.	32
3.4.1 Semiquantitatives Verfahren	33
3.4.2 Qualitatives Verfahren.....	33

3.5 Identifizierung und Verifizierung von <i>Arcobacter</i> spp.	34
3.5.1 DNA-Extraktion mittels Chelex-Methode.....	34
3.5.2 Speziesidentifizierung mittels mPCR	34
3.5.3 Auswertung der semiquantitativen Ergebnisse	35
3.5.4 Speziesverifizierung mittels <i>rpoB</i> -Sequenzierung.....	36
3.6 Statistische Auswertung	36
4. Ergebnisse	37
4.1 Prävalenz und Belastung mit <i>Arcobacter</i> spp. im Magen-Darminhalt	37
4.2 <i>Arcobacter</i> spp. im Darminhalt des <i>Rectum</i> und im <i>Rectum</i> -Gewebe	41
4.3 <i>Arcobacter</i> spp. in der <i>Glandula uropygialis</i> und <i>Bursa cloacalis</i>	43
4.4 <i>Arcobacter</i> spp. in Tupfern der <i>Ingluvies</i> und der <i>Cloaca</i>	44
4.4 <i>Arcobacter</i> spp. auf Halshäuten der Masthähnchenkarkassen	45
4.5 <i>Arcobacter</i> spp. in Brühwasser-, Rupffinger- und Geräteproben.....	45
5. Diskussion	47
5.1 Die Bedeutung von <i>Arcobacter</i> spp. im Masthähnchen.....	48
5.2 Der Gastrointestinaltrakt als Kontaminationsquelle	49
5.3 Die Schlachthofumgebung als Kontaminationsquelle.....	50
6. Zusammenfassung.....	54
7. Summary	56
8. Literaturverzeichnis	57
Publikationen.....	68
Danksagung	69
Selbständigkeitserklärung	70

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Technischer Ablauf der Masthähnchen-Schlachtung	22
Abbildung 2: Schematische Darstellung des Gastrointestinaltraktes des Huhns (angelehnt an König, Korbel, Liebich, 2009, Seite 99)	27
Abbildung 3: Prozentuale Verteilung der semiquantitativen Belastung (MPN/g) der Darmabschnitte <i>Duodenum</i> , <i>Jejunum</i> , <i>Caecum</i> und <i>Rectum</i> mit <i>Arcobacter</i> spp. nach dem Entfedern	40
Abbildung 4: Prozentuale Verteilung der semiquantitativen Belastung (MPN/g) der Darmabschnitte <i>Duodenum</i> , <i>Jejunum</i> , <i>Caecum</i> und <i>Rectum</i> mit <i>Arcobacter</i> spp. nach der Eviszeration	40
Abbildung 5: Semiquantitative Belastung (MPN/g) mit <i>Arcobacter</i> spp. im Darminhalt des <i>Rectum</i> (Re) und im <i>Rectum</i> -Gewebe (ReGe) nach Entfedern und Eviszeration; * p < 0,05 (Mann-Whitney-U-Test)	43
Abbildung 6: Semiquantitative Belastung (MPN/g) der <i>Glandula uropygialis</i> und <i>Bursa cloacalis</i> mit <i>Arcobacter</i> spp. nach Entbluten, Brühen und Eviszeration	44

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Auswahl kultureller Isolierungsprotokolle für <i>Arcobacter</i> spp., angelehnt an Collado & Figueras (2011)	4
Tabelle 2: Zusammenfassung humaner klinischer Fälle assoziiert mit <i>Arcobacter</i> spp. (hauptsächlich Einzelfallbeschreibungen)	9
Tabelle 3: Prävalenzen von <i>Arcobacter</i> spp. in Nutztieren (kulturelle Isolierungsmethoden)	12
Tabelle 4: Prävalenzen von <i>Arcobacter</i> spp. in Wild- und Haustieren (kulturelle Isolierungsmethoden)	16
Tabelle 5: Prävalenzen von <i>Arcobacter</i> spp. in Fleisch und Meeresfrüchten (kulturelle Isolierungsmethoden)	18
Tabelle 6: Probenumfang nach Beprobungstag, Probenart, -entnahmeort, -anzahl und -matrix	28
Tabelle 7: Zusammenfassung der verwendeten Nährmedien zur kulturellen Isolierung von <i>Arcobacter</i> spp.	31
Tabelle 8: Verwendete Primer	34
Tabelle 9: Tabelle zur Auswertung der semiquantitativen Ergebnisse (angelehnt an ISO/TS 10272-3:2010 + Cor 1:2011)	35
Tabelle 10: Prävalenzen und semiquantitative Belastungen (MPN/g) der einzelnen Darmabschnitte (<i>Duodenum</i> , <i>Jejunum</i> , <i>Caecum</i> , <i>Rectum</i>) an den Probenahmeorten (Entbluten, Brühen, Entfedern, Eviszeration)	39

Tabelle 11: Prävalenzen und semiquantitative Belastungen (MPN/g) des Darminhaltes im *Rectum* und des *Rectum*-Gewebes sowie der *Glandula uropygialis* und der *Bursa cloacalis* nach Entbluten, Brühen, Entfedern und Eviszeration.....42

Tabelle 12: Prävalenz von *Arcobacter* spp. in Tupferproben der *Ingluvies* und *Cloaca* nach Entbluten, Brühen und Eviszeration44

Tabelle 13: Prävalenzen und semiquantitative Belastungen (MPN) der Rupffinger (RF), des Brühwassers und der Halshäute nach der Eviszeration45

Abkürzungsverzeichnis

x g	Einheit der relativen Zentrifugalbeschleunigung
° C	Grad Celsius
µl	Mikroliter
µm	Mikrometer
µM	Mikromolar
<i>A.</i>	<i>Arcobacter</i>
ae	aerob
AEB	<i>Arcobacter</i> Enrichment Broth
AFLP	Amplified Fragment-length Polymorphism
ASB	<i>Arcobacter</i> Selektive Bouillon
ASM	<i>Arcobacter</i> Selektives Medium
BB	Brucella Bouillon
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool
bp	Basenpaar
<i>C.</i>	<i>Campylobacter</i>
CAT	Cefoperazon-Amphotericin B-Teicoplanin
CDT	Cytolethal-Distending-Toxin
cm ²	Quadratzenimeter
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
CVA	Cephalothin-Vancomycin-Amphotericin B-Agar
D	Deutschland
DNA	Deoxyribonucleic Acid
<i>E.</i>	<i>Escherichia</i>
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EMJH	Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris
ERIC	Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus

g	Gramm
GIT	Gastrointestinaltrakt
ICMSF	International Commission on Microbiological Specifications for Foods
JM	Johnson-Murano
JMB	Johnson-Murano-Bouillon
kbE	kolonie-bildende Einheit
l	Liter
mae	mikroaerob
mg	Milligramm
MHB	Müller-Hinton Blutagarplatten
ml	Milliliter
MLST	Multilocus Sequence Typing
mm	Millimeter
mM	Millimolar
MPN	Most Probable Number
mPCR	multiplex Polymerase Chain Reaction
n	Probenanzahl
N ₂	Stickstoff
NCBI	National Center for Biotechnology Information
O ₂	Sauerstoff
p	Signifikanzwert
PCR	Polymerase Chain Reaction
PFGE	Pulsed-field Gel Electrophoresis
pH	Gegenzahl des dekadischen Logarithmus der Wasserstoffionen-Aktivität
RAPD	Randomly Amplified Polymorphic DNA
RNA	Ribonucleic Acid
rRNA	ribosomal Ribonucleic Acid
<i>rpoB</i>	RNA polymerase beta subunit

S	Svedberg (Einheit der Sedimentationskonstante)
spp.	Spezies
TE	Tris EDTA
Tris	Tris(hydroxymethyl)aminomethan
U	Units
USA	United States of America
UV	Ultraviolett
vs.	versus

1. Einleitung

Zur taxonomischen Familie der *Campylobacteraceae* gehören neben dem Genus *Campylobacter* auch das Genus *Arcobacter*, dessen Spezies im Vergleich zu *Campylobacter* aerotolerant sind und ein breites Temperaturspektrum aufweisen. Die drei Spezies *Arcobacter* (*A.*) *butzleri*, *A. cryaerophilus* und *A. skirrowii* werden mit klinischen Symptomen in Tieren assoziiert. Fälle von Enteritis, Diarrhoe und Abort in Schweinen, Rindern und Schafen sowie von Mastitis in Rindern sind bekannt (Vandamme et al. 1992; On et al. 2002; Ho et al. 2006). Trotzalledem geht man bei *Arcobacter* spp. in Tieren eher von einem Kommensalen aus (Ramees et al. 2017). In den letzten Jahren wurde versucht, die Bedeutung von *Arcobacter* spp. für den Menschen einzuschätzen. Im Jahr 2002 stufte die International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF) die Spezies *A. butzleri* und *A. cryaerophilus* als ernst zu nehmende Gefahr für die menschliche Gesundheit ein (ICMSF 2002). Berichte sporadischer Fälle von Gastroenteritis, Bakteriämie, Endocarditis und Peritonitis im Menschen sind bekannt (Ho et al. 2006). Zudem stellte sich *Arcobacter* spp. in einer groß angelegten belgischen Studie als viert-häufigste Pathogengruppe in Stuhlproben von Enteritispatienten dar (Van den Abeele et al. 2014).

Arcobacter spp. konnten aus unterschiedlichsten Quellen wie Abwasser, Wasser, Meeresfrüchten, Milch, Gemüse, Fleischprodukten und Fäzes isoliert werden. Vor allem wasser- und lebensmittelasoziierte Übertragungswege spielen für den Menschen eine bedeutende Rolle (Wesley & Miller 2010; Collado & Figueras 2011; Ramees et al. 2017). In Fleischprodukten lässt sich eine hohe Prävalenz von *Arcobacter* spp., v. a. in Geflügelfleisch, gefolgt von Schweine- und Rindfleisch, aufzeigen (Kabeya et al. 2004; Ho et al. 2006; Ramees et al. 2017). Der Umgang mit oder der Verzehr von rohem bzw. ungenügend gegartem Geflügelfleisch stellen mögliche Infektionsquellen mit *Arcobacter* spp. dar. Die originäre Quelle der Kontamination von Geflügelfleisch mit *Arcobacter* spp. ist nicht bekannt. Höchstwahrscheinlich findet eine Kreuzkontamination während der Verarbeitung im Schlachthof statt (Gude et al. 2005; Hsu & Lee 2015). Diesbezüglich konnten *Arcobacter* spp. in einigen Studien im Darminhalt von Masthähnchen nachgewiesen werden (Van Driessche & Houf 2007; Ho et al. 2008). Anderen Autoren war es jedoch ausschließlich möglich, die Anwesenheit von *Arcobacter* spp. auf den Hähnchenkarkassen und in der Umgebung im Schlachthof aufzuzeigen (Atabay & Corry 1997; Houf et al. 2002; Gude et al. 2005). Die Vergleichbarkeit der verschiedenen Studien ist allerdings nicht uneingeschränkt möglich, da bisher kein standardisiertes Verfahren zum kulturellen Nachweis von *Arcobacter* spp. etabliert wurde. Nichtsdestotrotz ist die Prävalenz von *Arcobacter* spp. auf Geflügelfleischprodukten hoch und wird sogar höher eingestuft, als die von *Campylobacter* spp. (Houf et al. 2002). Dies stellt eine potentielle Gefahr für die menschliche Gesundheit dar. Daher ist es notwendig, die

Übertragungswege von *Arcobacter* spp. in der Produktionskette von Masthähnchen zu identifizieren.

Diese hier vorliegende Studie soll dazu beitragen und untersuchte die Anwesenheit von *Arcobacter* spp. in fünf Magen-Darmabschnitten (*Gaster*, *Pars muscularis*; *Duodenum*; *Jejunum*; *Caecum* und *Rectum*) von Masthähnchen an bedeutenden Prozessstufen (Entbluten, Brühen, Entfedern und Eviszeration) entlang der Produktionskette im Geflügelschlachthof sowohl qualitativ als auch semiquantitativ.

2. Literatur

2.1 Charakteristika und kultureller Nachweis von *Arcobacter* spp.

Arcobacter gehört zusammen mit zwei weiteren Genera *Campylobacter* und *Sulfurospirillum* zur Familie der *Campylobacteraceae*. Als aerotolerante *Campylobacter* isolierte man sie erstmals 1977 aus bovinem und porcinem Abort-Gewebematerial (Ellis et al. 1977). Im Jahr 1991 wurde durch eine Neuklassifizierung das Genus *Arcobacter* eingeführt, welches derzeit 29 Spezies umschreibt (Perez-Cataluna et al. 2019). Diese konnten aus einem breiten Spektrum von Habitaten und Wirten isoliert werden (Wesley & Miller 2010).

Die Spezies des Genus *Arcobacter* stellen 0,2 – 0,9 µm breite und 0,5 – 3 µm lange, gram-negative, spiralförmige Stäbchenbakterien dar. Diese sind durch eine polare, nicht ummantelte Flagelle an einem oder beiden Polen der Zelle beweglich (Vandamme et al. 1991). Das Wachstum von *Arcobacter* spp. ist in einem breiten Temperaturspektrum (15 °C – 42 °C, Optimum 30 °C) unter mikroaeroben und aeroben Bedingungen möglich (Ho et al. 2006). Der bevorzugte pH-Bereich von *Arcobacter* spp. liegt zwischen 6,5 und 7,5 (Cervenka et al. 2007), ein Wachstum ist aber zwischen pH 5 und pH 8,5 möglich (Hilton et al. 2001).

Die Sauerstoff- und Temperaturtoleranz von *Arcobacter* spp. wird u.a. in der kulturellen Isolierung zum Ausschluß der Begleitflora (z.B. *Campylobacter* spp.) genutzt (Ho et al. 2006). Es wird allerdings empfohlen, die primäre Anreicherung von *Arcobacter* spp. unter mikroaeroben Bedingungen (Sauerstoffkonzentration von 3 – 10 %) durchzuführen (Ferreira et al. 2016). Weiterhin dient zum kulturellen Nachweis von *Arcobacter* spp. häufig ein mit antimikrobiellen Substanzen versetztes Flüssigmedium, welches nach einer Inkubation von mindestens 48 Stunden entweder auf ein supplementiertes Festagarmedium oder unter Anwendung eines Filtrierungsschrittes auf ein nicht selektives Agarmedium aufgetragen wird (Collado & Figueras 2011). Das Anreichern erhöht die Detektionsrate von *Arcobacter* spp. Es konnte aber gezeigt werden, dass hierdurch die Diversität der *Arcobacter*-Spezies im Vergleich zu einer direkten Kultivierung sank. Dies wird auf einen selektiven Vorteil von *A. butzleri* gegenüber anderen *Arcobacter*-Spezies zurückgeführt (Houf et al. 2002; Ho et al. 2006; Collado & Figueras 2011).

Scullion et al. (2006) demonstrierten durch die parallele Anwendung zweier Isolierungsprotokolle eine Steigerung der Detektionsrate von *Arcobacter* spp. in verpacktem Geflügelfleisch aus dem Einzelhandel um 25 %. Die diversen Methoden zur kulturellen Isolierung von *Arcobacter* spp. (Tabelle 1) erschweren allerdings die Vergleichbarkeit unterschiedlicher Studienergebnisse (Ho et al. 2006). Die Etablierung einer standardisierten Nachweismethode wäre daher notwendig. Die Methode nach Houf et al. (2001) zur kulturellen Isolierung von *Arcobacter* spp. aus Geflügelprodukten stellt eine der am häufigsten

angewandten Methoden dar (Ramees et al. 2017). Hierbei werden fünf antimikrobielle Substanzen eingesetzt. Van Driessche et al. (2003) modifizierte das Protokoll durch Hinzufügen von Cycloheximid und der Erhöhung der Novobiocin-Konzentration für die Isolierung von *Arcobacter* spp. aus Nutztier-Fäzesproben. Die Methode wurde zudem für die Isolierung von *Arcobacter* spp. aus humanen Stuhlproben validiert (Houf & Stephan 2007).

Tabelle 1: Auswahl kultureller Isolierungsprotokolle für *Arcobacter* spp., angelehnt an Collado & Figueras (2011)

selektive Anreicherung			Isolierung		
Medium (Referenz)	Antimikro- biotika	Inkuba- tionsbe- dingungen	Agar- medium	Antimikro- biotika	Inkuba- tionsbe- dingungen
EMJH (Ellis et al. 1977)	5-Fluorouracil	30 °C, 48-72 Stunden, mae	Blutagar- medium	keine	30 °C, 48-72 Stunden, mae + ae
ASB (de Boer et al. 1996)	Cefoperazon, Piperacillin, Trimethoprim, Cycloheximid	24 °C, 48 Stunden, ae	ASM	Cefoperazon, Piperacillin, Trimethoprim, Cycloheximid	24 °C, 48-72 Stunden, ae
EMJH (Collins et al. 1996)	5-Fluorouracil	30 °C, 9 Tage, ae	CVA	Cephalothin, Vancomycin, Amphotericin B	30 °C, 48-72 Stunden, mae
AEB mit CAT- Supplement (Atabay & Corry 1997)	Cefoperazon, Amphotericin B, Teicoplanin	30 °C, 48 Stunden, mae	Blutagar- medium	keine, Filtertechnik (0,45-µm)	30 °C, bis 7 Tage, ae
JMB (Johnson & Murano 1999)	Cefoperazon, 5-Fluorouracil	30 °C, 48 Stunden, ae	JM Agar	Cefoperazon	30 °C, 48 Stunden, ae
<i>Arcobacter</i>- selektives Flüssig- medium (Houf et al. 2001)	Cefoperazon, Amphotericin B, 5-Fluorouracil, Novobiocin, Trimethoprim	28 °C, 48 Stunden, mae	<i>Arcobacter</i> - selektives Agar-medium	Cefoperazon, Amphotericin B, 5-Fluorouracil, Novobiocin, Trimethoprim	30 °C, 24-72 Stunden, mae

EMJH: Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris halbfestes Medium; ASB: *Arcobacter* Selektive Bouillon; ASM: *Arcobacter* Selektives Medium; CVA: Cephalothin-Vancomycin-Amphotericin B-Agar; AEB: *Arcobacter* Enrichment Broth CAT: Cefoperazon-Amphotericin B-Teicoplanin; JMB: Johnson-Murano-Bouillon; JM: Johnson-Murano; ae: aerob, mae: mikroaerob

2.2 Speziesidentifizierung und Genotypisierung von *Arcobacter* spp.

Zur weiteren Speziesidentifizierung von *Arcobacter* spp. sind molekularbiologische Verfahren, als Alternative zu biochemischen Untersuchungen, die Methode der Wahl. Die speziesspezifische multiplex PCR (mPCR) nach Houf et al. (2000) ist eine der am häufigsten verwendeten Methoden (Gonzalez et al. 2012) und ermöglicht die simultane Detektion und Identifikation der drei Spezies *A. butzleri*, *A. cryaerophilus* und *A. skirrowii*. Die Limitierung dieses Verfahrens zeigt sich allerdings in möglichen Misidentifikationen von anderen *Arcobacter*-Spezies (Houf et al. 2009; Collado & Figueras 2011). Daher ist eine zusätzliche Verifikation der Spezies durch Sequenzierung z.B. des Gens für die beta-Untereinheit der RNA-Polymerase (*rpoB*) von Vorteil.

Um *Arcobacter*-Isolate hinsichtlich epidemiologischer Zusammenhänge zu analysieren, wurden verschiedene molekularbiologische Methoden zur Genotypisierung verwendet. Die ERIC-PCR (Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus – Polymerase Chain Reaction) wird am häufigsten zur Bestimmung des Verwandtschaftsgrades von *Arcobacter*-Isolaten angewendet (Collado & Figueras 2011). Sie gehört zu einer Gruppe von PCRs, deren Primer sich auf sich wiederholende Basensequenzen in den Zwischen-Gen-Regionen richten (Arbeit 1995). Diese ERIC-Sequenzen befinden sich an vielen Stellen im bakteriellen Genom und sind ca. 126 Basenpaare lang (Hulton et al. 1991). Die DNA-Fragmente zwischen den ERIC-Sequenzen werden mittels einer PCR amplifiziert und anschließend gelelektrophoretisch aufgetrennt. Unter ultraviolettem (UV) Licht werden die Bandenmuster mittels fluoreszierendem Farbstoff sichtbar gemacht und zur epidemiologischen Untersuchung miteinander verglichen.

Als weitere molekularbiologische Verfahren wurden RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA), MLST (Multilocus Sequence Typing), AFLP (Amplified Fragment-length Polymorphism) und PFGE (Pulsed-field Gel Electrophoresis) verwendet (Atabay et al. 2002; Houf 2002a; Ramees et al. 2017). Diese Methoden zeigen ebenso wie die ERIC-PCR eine starke genotypische Heterogenität unter den Isolaten der gleichen *Arcobacter*-Spezies auf (Van Driessche et al. 2004). Dieser hohe Grad an Diversität konnte in einer kürzlich veröffentlichten Studie zur vergleichenden Genomanalyse von 49 *A. butzleri*-Stämmen demonstriert werden. Das Kern-Genom der untersuchten Stämme wies eine hohe allelische Diversität auf, mehr als 55 % der Gen-Loci präsentierten mehr als 40 Allele (Isidro et al. 2020).

2.3 Pathogenitätsmechanismen von *Arcobacter* spp.

Über die pathogenen Mechanismen von *Arcobacter* spp. ist noch wenig bekannt. Die Analyse des kompletten Genoms des klinischen *A. butzleri*-Humanstammes RM4018 identifizierte Gene, die für zehn verschiedene putative Virulenzfaktoren kodieren (Miller et al. 2007). Diese zeigen Homologien zu Pathogenitätsfaktoren anderer Mikroorganismen, beispielsweise *Campylobacter* (*C.*) *jejuni*, auf. Es ist jedoch noch nicht bekannt, ob diese entsprechend ähnliche Funktionen im Pathogenitätsverhalten von *Arcobacter* spp. übernehmen. *cadF* und *cj1349* kodieren für Oberflächen-Membranproteine, welche den Zellkontakt mit intestinalen Epithelzellen durch Adhäsion an Fibronectin ermöglichen. *pldA* kodiert für die Phospholipase A, welche Phospholipide in Oberflächen-Membranproteinen spalten und damit für die Invasion in die Zelle eine Rolle spielen. *ciaB* kodiert für ein Protein, welches ebenso mit der Zellinvasion assoziiert ist. *mviN* kodiert für ein essentielles Protein zur Peptidoglykan-Biosynthese in *Escherichia* (*E.*) *coli*, wobei die Beteiligung an der Virulenz noch nicht direkt nachgewiesen ist (Inoue et al. 2008; Ruiz 2008). *tlyA* kodiert für ein Hämolyysin, *hecA* für ein filamentöses Hämagglutinin und *hecB* für ein Hämolyysin-aktivierendes Protein. *irgA* kodiert für einen Außenmembran-Rezeptor für Enterobactin, ein Eisen-reguliertes Protein in *E. coli* und ist zusammen mit *iroE*, welches für ein periplasmatisches Enzym kodiert, an der Eisenaufnahme und damit an der Etablierung und Aufrechterhaltung von Infektionen beteiligt (Doudah et al. 2012; Karadas et al. 2013; Ferreira et al. 2016).

Doudah et al. (2012) entwickelten für die Spezies *A. butzleri*, *A. cryaerophilus* und *A. skirrowii* eine PCR, um neun putative Virulenzgene zu detektieren. In einigen *A. butzleri*-Stämmen konnten alle neun Virulenzgene nachgewiesen werden, wohingegen in keiner der *A. cryaerophilus*- oder der *A. skirrowii*-Stämme der komplette Satz an Virulenzgenen detektiert werden konnte. Vermutet wurde hier ein anderer Pathogenitätsmechanismus oder ein höheres Maß an genetischer Heterogenität innerhalb der Primerbindungsstelle.

Anhand von *in vitro*-Zellkulturversuchen wurde das Potential zur Adhäsion, Invasion und Zytotoxizität von *Arcobacter* spp. untersucht. In Abhängigkeit von der Herkunft der *Arcobacter*-Stämme, der *Arcobacter*-Spezies und der eingesetzten Zelllinien wurden erhebliche Variationen in der Ausprägung der untersuchten Mechanismen beobachtet. Es wurde allerdings geschlossen, dass die Spezies *A. butzleri*, *A. cryaerophilus*, *A. skirrowii*, *A. cibarius* und kürzlich auch *A. lanthieri* und *A. faeces* als potentiell pathogen eingestuft werden können (Ferreira et al. 2016; Zambri et al. 2019; Brückner et al. 2020).

Karadas et al. (2013) demonstrierten unterschiedliches Adhäsions- und Invasionsverhalten in ihrer *in vitro*-Untersuchung zu *A. butzleri*. Dennoch stellte sich keine Korrelation zwischen den Virulenzgenmustern und dem Adhäsions- und Invasionsverhalten in den getesteten Zelllinien,

als auch in der Aminosäuresequenz der Adhäsine Cj1349 und CadF sowie des Invasins CiaB der untersuchten *A. butzleri*-Isolate dar.

Weiterhin konnten zytotoxische und zytotonische Effekte für *Arcobacter* spp. auf Säugetierzellen nachgewiesen werden. Das hierfür verantwortliche Toxin ist jedoch noch nicht identifiziert worden. Die meisten *Arcobacter*-Spezies kodieren nicht für das Cytolethal-Distending-Toxin (CDT) (Johnson & Murano 2002; Carbone et al. 2003; Karadas et al. 2016). Bisher konnten alle drei Gene für CDT (*cdtA*, *cdtB*, *cdtC*) nur in Stämmen von *A. lanthieri* nachgewiesen werden (Zambri et al. 2019; Brückner et al. 2020).

Der Pathomechanismus einer Infektion mit *A. butzleri* wurde von Bückner et al. (2009) an einer humanen Kolon-Zelllinie untersucht. Die Expression der Claudine-1, -5 und -8, welche in den Tight Junctions die Zellzwischenräume verschließen, wurde reduziert. Weiterhin konnte deren Umverteilung aus dem Verband der Tight Junctions in intrazelluläre Aggregate sowie Zellapoptose nachgewiesen werden. Diese Veränderung der epithelialen Barriere kann zu erhöhter parazellulärer Permeabilität führen. Nach einer Infektion mit *A. butzleri* könnte durch diesen Mechanismus eine Diarrhoe ausgelöst werden.

Die wenigen *in vivo*-Tiermodelle zur Pathogenität von *Arcobacter* spp. stellen sich tierart- und rassespezifisch unterschiedlich dar. Beispielsweise konnte die Invasivität von *A. butzleri* in neonatalen Ferkeln demonstriert werden. Nach peroraler Infektion wurde *A. butzleri* aus der Mehrheit der untersuchten Gewebe (Leber, Nieren, Ileum, Gehirn) isoliert (Wesley et al. 1996). In einem weiteren Modell an konventionellen Masthähnchen- und Putenküken wurde nach oraler Gabe verschiedener *A. butzleri*-Stämme keine dauerhafte Kolonisierung beobachtet. Allerdings resultierte die perorale Inokulation von Beltsville-Putenküken mit *A. butzleri* in einer Kolonisierungsrate von 65 % und einer stammspezifischen Mortalität von 17 % - 54 % (Wesley & Baetz 1999).

In einem für *C. jejuni* erfolgreich etablierten Maus-Modell wiesen die sekundär abiotischen IL-10^{-/-} Tiere nach peroraler Infektion mit *A. butzleri*-Stämmen und stabiler Kolonisierung keine klinischen Krankheitsanzeichen (schlechtes Allgemeinbefinden, Diarrhoe) auf. Es konnten allerdings innerhalb einer Woche sowohl eine intestinale als auch extra-intestinale systemische Immunantwort im Sinne einer pro-inflammatorischen Reaktion nachgewiesen werden (Gölz et al. 2015; Heimesaat et al. 2015). In einer Metaanalyse dieser Forschungsgruppen konnte zusätzlich demonstriert werden, dass die durch *A. butzleri* induzierte Immunreaktion schwächer ausgeprägt war als bei der vergleichenden Infektion mit *C. jejuni*, jedoch stärker als nach der Infektion mit einem kommensalen *E. coli* (Gölz et al. 2016).

2.4 Bedeutung von *Arcobacter* spp. für den Menschen

Arcobacter spp. wird mit klinischen Symptomen im Menschen assoziiert (Ho et al. 2006). Es wird überwiegend von Magen-Darminfektionen und seltener von Fällen mit Septikämie oder anderen extraintestinalen Erkrankungen berichtet (Tabelle 2) (Ferreira et al. 2016). Das Krankheitsbild einer *A. butzleri*-assoziierten Gastroenteritis äußert sich durch akute Diarrhoe, welche 3-15 Tage (teilweise bis zu zwei Monaten), entweder persistierend oder intermittierend andauern kann. Oft wird dies durch abdominale Schmerzen und Übelkeit, seltener durch Fieber, Erbrechen, Schüttelfrost und Mattigkeit begleitet. Die Symptome einer Diarrhoe unter Beteiligung von *Arcobacter* spp. werden als persistenter und wässriger, aber weniger akut im Vergleich zu einer durch *C. jejuni* ausgelösten Diarrhoe, beschrieben (Vandenberg et al. 2004). In der Regel ist die Infektion selbstlimitierend und benötigt keiner antimikrobiellen Therapie. Bei schweren oder lang andauernden Symptomen könnte eine solche jedoch notwendig werden (Houf et al. 2004). Zur Behandlung empfiehlt man Fluorchinolone, Tetracykline und Aminoglykoside (Ferreira et al. 2016).

Die Rolle von *Arcobacter* spp. in humanen Erkrankungen muss noch weitergehend evaluiert werden. Grundsätzlich geht man von einer Unterschätzung der Prävalenz von *Arcobacter* spp. in humanen Stuhlproben aus, da klinische Stuhlproben nicht routinemäßig auf *Arcobacter* spp. untersucht werden (Lehner et al. 2005). Europäische Studien detektierten *A. butzleri* nach *C. jejuni*, *C. coli* und *C. upsaliensis* als viert-häufigsten *Campylobacter*-ähnlichen Organismus in humanen Stuhlproben. 20 % der *A. butzleri*-positiven Proben waren auch mit einem anderem Enteropathogen ko-infiziert. *A. butzleri* war prävalenter in Stuhlproben mit Durchfallsymptomatik, doch waren auch 20 % der Patienten mit *Arcobacter*-positiven Proben asymptomatisch (Vandenberg et al. 2004). *A. cryaerophilus* wurde weniger häufig und *A. skirrowii* wurde nicht detektiert (Vandenberg et al. 2004; Prouzet-Mauleon et al. 2006). Eine weitere Studie konnte die Stellung von *Arcobacter* spp. als viert-häufigste Pathogengruppe aus Stuhlproben von Personen mit akuter Enteritis in Belgien bestätigen. Zudem wurde erstmalig von der Isolierung von *A. thereius* aus humanen Proben berichtet (Van den Abeele et al. 2014). In Deutschland wurde in einer kürzlich veröffentlichten Studie zur Prävalenz von *Arcobacter* spp. in humanen Stuhlproben *Arcobacter* spp. in 0,8 % der ambulanten und in 0,4 % der stationären Patientenstuhlproben detektiert. *A. butzleri* stellte die prävalenteste Spezies, gefolgt von *A. cryaerophilus* und *A. lanthieri*, dar (Brückner et al. 2020). Die Prävalenzen der europäischen Studien für *Arcobacter* spp. in humanen Stuhlproben liegen zwischen ca. 1 % (Prouzet-Mauleon et al. 2006; Van den Abeele et al. 2014; Brückner et al. 2020) und 3,5 % (Vandenberg et al. 2004). Diese Schwankungen werden sowohl auf die Unterschiede in den untersuchten Bevölkerungsgruppen als auch auf geographische Aspekte zurückgeführt. Weiterhin beeinflusst die Methodik zur Isolierung und Identifizierung von

Arcobacter spp. die Prävalenzen in den unterschiedlichen Untersuchungen (Engberg et al. 2000; Brückner et al. 2020).

Tabelle 2: Zusammenfassung humaner klinischer Fälle assoziiert mit *Arcobacter* spp. (hauptsächlich Einzelfallbeschreibungen)

Klinische Symptome	Spezies	Länder	Referenzen
Enteritis/Colitis mit/ohne Diarrhoe (mögliche Ausprägungen: Abdominalkrämpfe, chronisch, intermittierend, wässrig)	<i>A. butzleri</i>	Australien	zusammengefasst in: Lehner et al. 2005, Wesley & Miller 2010, Collado & Figueras 2011 zusätzlich in: Fernandez et al. 2004; Kayman et al. 2012; Mandisodza et al. 2012; Lappi et al. 2013; Van den Abeele et al. 2014; Webb et al. 2016
	<i>A. cryaerophilus</i>	Belgien	
	<i>A. skirrowii</i>	Deutschland	
	<i>A. thereius</i>	Dänemark	
	<i>A. lanthieri</i>	England	
		Frankreich	
		Guatemala	
		Hong Kong	
		Indien	
		Kanada	
		Mexiko	
		Neuseeland	
		Südafrika	
	Thailand		
	Türkei		
	USA		
Abdominalkrämpfe	<i>A. butzleri</i>	Italien	Vandamme et al. 1992
Peritonitis	<i>Arcobacter</i> spp.	Hong Kong	Yap et al. 2013
Bakteriämie	<i>A. cryaerophilus</i>	Taiwan	Hsueh et al. 1997
		Hong Kong	Woo et al. 2001
		USA	Arguello et al. 2015
Neonatale Sepsis	<i>A. butzleri</i>	England	On et al. 1995
Leberzirrhose und Bakteriämie	<i>A. butzleri</i>	Taiwan	Yan et al. 2000
Appendicitis und Bakteriämie	<i>A. butzleri</i>	Hong Kong	Lau et al. 2002

2.5 *Arcobacter* spp. in Nutztieren

Nutztiere mit klinischen Symptomen, welche mit *Arcobacter* spp. assoziiert wurden, stellen Einzelfälle dar (Hume et al. 2001; Lehner et al. 2005; Ho et al. 2006). Beschrieben sind Abort, Diarrhoe und Mastitis. Dabei wurde *A. butzleri* aus Schweinen, Rindern und Pferden mit Enteritis (vereinzelt mit Diarrhoe) und aus Tieren mit haemorrhagischer Colitis isoliert. *A. cryaerophilus* wurde hingegen am ehesten mit Abort und Fertilitätsstörungen in Sauen und *A. skirrowii* mit Diarrhoe und haemorrhagischer Colitis in Schafen und Rindern assoziiert (Vandamme et al. 1992; Ho et al. 2006).

In den überwiegenden Fällen werden *Arcobacter* spp. allerdings aus Proben klinisch inapparenter Nutztiere isoliert. Die Prävalenzen schwanken zwischen 4 % und 40 % in bovinen und zwischen 10 % und 44 % in porcinen Fäzesproben (Tabelle 3). In Belgien konnte sowohl in Fäzes von Rindern als auch von Schweinen eine Kontaminationsrate von größer 10^2 bis 10^4 kbE/g festgestellt werden (Van Driessche et al. 2005; De Smet et al. 2011). In der überwiegenden Anzahl der Studien wurde *A. butzleri* am häufigsten detektiert (Wesley et al. 2000; Hume et al. 2001; Golla et al. 2002; Kabeya et al. 2003; Van Driessche et al. 2003; Ongor 2004; Atabay et al. 2006; De Smet et al. 2011; Shah et al. 2013). In einigen Studien konnte *A. cryaerophilus* oder *A. skirrowii* als dominante Spezies in Rinderfäzes festgestellt werden (Van Driessche et al. 2005; Merga et al. 2013; Giacometti et al. 2015). Ein weiteres Mal stellte *A. skirrowii* in einer Sauengruppe oder *A. thereius* in zwei von vier untersuchten Mastschweinehöfen die prävalenteste Spezies dar (Ho et al. 2006; De Smet et al. 2011).

Allerdings kann die Methode der kulturellen Isolierung von *Arcobacter* spp. einen Einfluss auf die Speziesdiversität haben. Van Driessche et al. (2003) stellten fest, dass sich durch die kulturelle Anreicherung zwar die Prävalenz von *Arcobacter* spp. von 10 % auf 39 % erhöhte, aber im Vergleich zur direkten Isolierung keine Ko-Kolonisierungen mit mehreren *Arcobacter*-Spezies in einer Probe mehr detektiert wurden. De Smet et al. (2011) stellten ebenso eine reduzierte Speziesdiversität im Anreicherungsverfahren fest.

Weiterhin werden schwankende Prävalenzen von *Arcobacter* spp. durch die Beprobungsmethodik (Tupfer- vs. Fäzes-Proben), die Herkunft der Proben (Stall oder Schlachthof) aber auch durch die Verteilung der *Arcobacter*-Spezies aufgrund geographischer Unterschiede begründet (Van Driessche et al. 2003; Van Driessche et al. 2005; Wesley & Miller 2010).

Weiterhin kann das Alter der Tiere die Prävalenz beeinflussen. Niedrige Prävalenzen konnten in 8- und 16-Wochen alten Masthähnchen mit je 1 % und 3 % nachgewiesen werden. Im Vergleich dazu stellte man eine Prävalenz von 57 % in 56-Wochen alten Großelterntieren fest (Wesley & Baetz 1999). Hume et al. (2001) isolierten *Arcobacter* spp. zudem aus 100 % der untersuchten Mastschweine im Gegensatz zu *Arcobacter*-freien Ferkeln. In Rindern konnte

der Einfluss des Alters nicht überzeugend dargestellt werden. Einerseits schienen Kälber empfänglicher als adulte Tiere für eine Infektion mit *Arcobacter* spp. zu sein (Van Driessche et al. 2005), andererseits wird die Prävalenz von *Arcobacter* spp. in älteren Milchkühen höher eingeschätzt, als in Mastrindern (Wesley & Miller 2010). Allerdings stehen nur eine limitierte Anzahl an vergleichbaren Studien zu Milch- und Mastrindern zur Verfügung. Die Korrelation der gesteigerten Prävalenz von *Arcobacter* spp. mit dem Alter der Tiere wird der verlängerten Exponierung gegenüber der kontaminierten Umwelt zugeschrieben (Hume et al. 2001).

Die Besatzdichte wird als weiterer Einflussfaktor für die unterschiedlichen Prävalenzen von *Arcobacter* spp. in Nutztieren postuliert. De Smet et al. (2011) beobachteten die vermutlich fäkal-orale Übertragung derselben *Arcobacter*-Stämme zwischen Mastschweinen in einem Stall und zwischen Tieren in direkt benachbarten Ställen durch intensiven Kontakt. So ist die Übertragung von *Arcobacter* spp. zwischen Tieren in der Intensivhaltung sehr wahrscheinlich (Wesley & Miller 2010).

Im Besonderen wird die Wasserversorgung als kritischer Punkt betrachtet. *Arcobacter* spp. werden häufig an Wasserversorgungseinrichtungen nachgewiesen (Van Driessche et al. 2005). Daher werden im Allgemeinen eher Selbsttränken zur Vermeidung der Kreuzkontamination mit *Arcobacter* spp. empfohlen als Sammeltränken (Wesley et al. 2000; Wesley & Miller 2010). Jedoch wurden in Truthahnställen, im Vergleich zu 2 % *Arcobacter*-positiver Kloakentupfer, in 67 % der untersuchten Tränkwasserproben *Arcobacter* spp. detektiert (Andersen et al. 2007).

Diskutiert wird weiterhin, ob die Jahreszeit einen Einfluss auf die Prävalenz von *Arcobacter* spp. in Nutztieren hat. Einerseits konnten *Arcobacter* spp. vermehrt in Fäzes-Proben von Rindern (USA) und Schweinen (Belgien) im Frühling und Sommer detektiert werden (Wesley et al. 2000; Ho et al. 2006). In einer japanischen Studie wurden andererseits keine signifikanten Unterschiede der Prävalenz von *Arcobacter* spp. hinsichtlich der Jahreszeiten in Nutztier-Fäzesproben beobachtet (Kabeya et al. 2003).

Da *Arcobacter* spp. häufig in Fäzes von Nutztieren detektiert werden (Tabelle 3), vermutet man, dass Nutztiere als Reservoir für *Arcobacter* spp. von Bedeutung sind (Lehner et al. 2005). Im Geflügelbereich wird diesbezüglich jedoch kontrovers diskutiert, ob *Arcobacter* spp. als Teil der intestinalen Mikrobiota angesehen werden darf (Atabay et al. 1998; Eifert et al. 2003). Im Gegensatz zu *Campylobacter* spp. wird *Arcobacter* spp. seltener im Gastrointestinaltrakt von Geflügel nachgewiesen (Houf et al. 2002). Dies bestätigt auch eine Infektionsstudie an Truthahn- und Mashähnchenküken, in welcher *Campylobacter* spp. in 100 %, *Arcobacter* spp. jedoch nur in 3 % der Kloakentupfer detektiert werden konnte. Allerdings gelang die Detektion von *Arcobacter* spp. aus 65 % der Kloakentupfer- oder Gewebeproben von Beltsville-Truthahnküken (Wesley & Baetz 1999). Weiterhin erzielten Eifert et al. (2003) eine

Detektionsrate von 22 % aus Kloakentupfern in einem Infektionsversuch mit Masthähnchen bei einer Infektionsdosis von 10^9 kbE/Tier. Die Rolle von Nutzgeflügel als Reservoir für *Arcobacter* spp. ist demnach noch nicht abschließend geklärt.

Arcobacter spp. wird häufig in der Umgebung von Nutztierhaltungen nachgewiesen. Hier ist ein gut funktionierendes Hygienemanagement zur Reduktion der Gefahr der Kreuzkontamination unterschiedlicher Herden durch das Betriebspersonal von großer Bedeutung. Dies wird durch den Nachweis von *Arcobacter* spp. an Arbeitsschuhen in Schweine- und Rinderhaltungen verdeutlicht (Van Driessche et al. 2004; Van Driessche et al. 2005). Auch in Geflügelställen führte die experimentelle Infektion von Masthähnchen zum Nachweis von *Arcobacter* spp. in mehr als 90 % der Stallboden- und in 100 % der Federproben. Mehrere Wochen nach der Ausstallung konnte *Arcobacter* spp. noch auf Stalloberflächen nachgewiesen werden, welches auf eine hohe Überlebensfähigkeit von *Arcobacter* spp. in dieser Nutztier-Stallumgebung und die damit verbundene Gefahr der Kreuzkontamination hindeutet (Eifert et al. 2003).

Der Nachweis von *Arcobacter* spp. in Schweinedung und darauffolgend auf landwirtschaftlich genutzten Böden, nachdem dieser Dung frisch aufgebracht wurde, deutet ebenfalls auf einen Austrag von *Arcobacter* spp. aus Nutztierhaltungen hin (Chinivasagam et al. 2007).

Tabelle 3: Prävalenzen von *Arcobacter* spp. in Nutztieren (kulturelle Isolierungsmethoden)

Tierart	Land	Spezies	Prävalenz (n) Matrix	Referenz
Rinder (Schlachthof)	Belgien	<i>A. butzleri</i> <i>A. cryaerophilus</i> <i>A. skirrowii</i>	39 % (51) Fäzes	Van Driessche et al. 2003)
	Japan	<i>A. butzleri</i> <i>A. cryaerophilus</i>	4 % (332) Fäzes	Kabeya et al. 2003
	Türkei	<i>A. butzleri</i> <i>A. cryaerophilus</i> <i>A. skirrowii</i>	10 % (200) Rektaltupfer	Ongor 2004
Rinder	England	<i>A. skirrowii</i> <i>A. cryaerophilus</i> <i>A. butzleri</i>	43 % (792) Fäzes	Merga et al. 2013
Mastrinder	USA	<i>A. butzleri</i>	14 % (50) Rektaltupfer	Golla et al. 2002

Literatur

Milchrinder	USA	<i>A. butzleri</i>	14 % (1682) Fäzes	Wesley et al. 2000 *
	USA	<i>A. butzleri</i>	18 % (50) Rektaltupfer	Golla et al. 2002
	Belgien	<i>A. cryaerophilus</i> <i>A. skirrowii</i> <i>A. butzleri</i>	8 % (212) Fäzes	Van Driessche et al. 2005
	Türkei	<i>A. butzleri</i> <i>A. skirrowii</i> <i>A. cryaerophilus</i>	7 % (173) Rektaltupfer	Aydin et al. 2007
	Italien	<i>A. cryaerophilus</i> <i>A. skirrowii</i> <i>A. butzleri</i>	21 % (239) Fäzes	Giacometti et al. 2015
	Malaysia	<i>A. butzleri</i> <i>A. skirrowii</i>	7 % (110) Rektaltupfer	Shah et al. 2013
Mastschweine	USA	<i>A. butzleri</i> <i>A. cryaerophilus</i>	83 % (30 Fäzes- Poolproben)	Hume et al. 2001
	Belgien	<i>A. butzleri</i> <i>A. cryaerophilus</i>	44 % (36) Fäzes	Van Driessche et al. 2003
	Japan	<i>A. butzleri</i> <i>A. cryaerophilus</i> <i>A. skirrowii</i>	10 % (250) Fäzes	Kabeya et al. 2003
	Belgien	<i>A. butzleri</i> <i>A. thereius</i> <i>A. skirrowii</i> <i>A. trophiarum</i> <i>A. cryaerophilus</i>	77 % (120) Fäzes	De Smet et al. 2011
Sauen	USA	<i>A. butzleri</i> <i>A. cryaerophilus</i>	29 % (79) Fäzes	Hume et al. 2001
	Niederlande	<i>A. skirrowii</i> <i>A. butzleri</i> <i>A. cryaerophilus</i>	43 % (61) Rektaltupfer	Ho et al. 2006
Schafe	Belgien	<i>A. cryaerophilus</i> <i>A. butzleri</i>	16 % (10) Fäzes	Van Driessche et al. 2003
	Türkei	-	0 % (68) Rektaltupfer	Aydin et al. 2007

Literatur

		<i>A. skirrowii</i> <i>A. butzleri</i> <i>A. cryaerophilus</i>	10 % (50) Fäzes	Celik & Ikiz 2019
Pferde	Belgien	<i>A. butzleri</i>	15 % (13) Fäzes	Van Driessche et al. 2003
Masthähnchen	USA	<i>A. butzleri</i> <i>Arcobacter. spp.</i>	15 % (407) Kloakentupfer	Wesley & Baetz 1999 *
	Japan	<i>A. butzleri</i> <i>A. cryaerophilus</i> <i>A. skirrowii</i>	15 % (234) Kloakentupfer	Kabeya et al. 2003
	Dänemark	<i>A. cryaerophilus</i>	4 % (70 Herden) Fäzstupfer	Atabay et al. 2006
	Belgien	<i>A. cryaerophilus</i>	5 % (20) Kloakentupfer	Van Driessche & Houf 2007
	Nigeria	-	0 % (50) Kloakentupfer	Adesiji et al. 2011
Puten	Dänemark	<i>A. butzleri</i> <i>A. cryaerophilus</i>	11 % (37 Herden) Kloakentupfer	Atabay et al. 2006
Gänse	Türkei	<i>A. cryaerophilus</i> <i>A. skirrowii</i> <i>A. butzleri</i>	18 % (90) Kloakentupfer	Atabay et al. 2008
	Türkei	<i>A. cryaerophilus</i> <i>A. butzleri</i> <i>A. skirrowii</i>	17 % (330) Kloakentupfer 13 % (116) Fäzes	Celik et al. 2018
Enten	Dänemark	<i>A. cryaerophilus</i> <i>A. skirrowii</i> <i>A. butzleri</i>	73 % (15 Herden) Kloakentupfer	Atabay et al. 2006
	Türkei	<i>A. butzleri</i> <i>A. cryaerophilus</i> <i>A. skirrowii</i>	26 % (153) Kloakentupfer	Celik et al. 2018

* Ermittlung der Prävalenz durch PCR nach kultureller Anreicherung

2.6 *Arcobacter* spp. in Haus- und Wildtieren

Durch engen Kontakt mit *Arcobacter*-infizierten Haustieren besteht potentiell die Möglichkeit der Übertragung von *Arcobacter* spp. auf den Menschen. Die Prävalenzen von *Arcobacter* spp. in Haustieren variieren jedoch in unterschiedlichen Studien. Für Hunde sind Prävalenzen zwischen 0 % und 54 % und für Katzen Prävalenzen zwischen 0 % und 79 % beschrieben. Hauptsächlich wurde *A. butzleri*, vereinzelt auch *A. cryaerophilus* als prävalenteste Spezies isoliert (Tabelle 4). Die große Spannweite der Prävalenzen von *Arcobacter* spp. in Hunden und Katzen wird sowohl auf die Methodik der Detektion, als auch auf eine unterschiedliche regionale Verteilung zurückgeführt. Es wird beispielsweise über regional erhöhten Kontakt von Haushunden und –katzen mit streunenden Hunden und Katzen berichtet. Verschiedene Fütterungsformen und auch der gesundheitliche Status der Tiere können Einfluss auf die Prävalenz nehmen (Houf et al. 2008; Fera et al. 2009; Goni et al. 2016; Pejchalova et al. 2016).

Zur Untersuchung von *Arcobacter* spp. in Wildtieren gibt es nur wenige Studien. Im Darminhalt von sechs von zehn Waschbären konnten *Arcobacter* spp. nachgewiesen werden. Dies könnte epidemiologisch bedeutsam für den Menschen sein, da sich viele Waschbärenpopulationen in der gleichen urbanen oder suburbanen Umwelt angesiedelt haben (Tabelle 4) (Hamir et al. 2004).

Wildvögel spielen ebenfalls eine Rolle als Vektor von Krankheitserregern, beispielsweise in der Übertragung von *Campylobacter* spp. auf Hausgeflügel (Wesley & Miller 2010; Collado & Figueras 2011). In 7 % untersuchter Spatzen wurde *A. butzleri* zwar nachgewiesen, in einer Untersuchung von Wildgänsen im Gegensatz zu Hausgänsen gelang der Nachweis allerdings nicht (Tabelle 3 und 4).

Vereinzelt konnte *Arcobacter* spp. auch in Zootieren nachgewiesen werden (Wesley & Miller 2010).

Tabelle 4: Prävalenzen von *Arcobacter* spp. in Wild- und Haustieren (kulturelle Isolierungsmethoden)

Tierart	Land	Spezies	Prävalenz (n) Matrix	Referenz
Hunde	Türkei	-	0 % (62) Rektaltupfer	Aydin et al. 2007
	Spanien	<i>A. butzleri</i>	3,3 % (60) Fäzes	Fernandez et al. 2007
	Belgien	<i>A. cryaerophilus</i> <i>A. butzleri</i>	2,6 % (267) Rektaltupfer, Maulabstrich	Houf et al. 2008
	Japan	<i>A. cryaerophilus</i> <i>A. butzleri</i>	4 % (157) Fäzes	Takahara et al. 2008
	Malaysia	<i>A. butzleri</i>	54,4 % (101) Rektaltupfer, Maulabstrich	Goni et al. 2016
	Tschechien	<i>A. butzleri</i>	3,7 % (108) Maulabstrich	Pejchalova et al. 2016
Katzen	Belgien	-	0 % (61) Rektaltupfer, Maulabstrich	Houf et al. 2008
	Italien	<i>A. butzleri</i> <i>A. cryaerophilus</i>	77,6 % (85) Maulabstrich	Fera et al. 2009 ^{*2}
	Malaysia	<i>A. butzleri</i>	39,5 % (86) Rektaltupfer, Maulabstrich	Goni et al. 2016
	Tschechien	<i>A. butzleri</i>	1,4 % (70) Maulabstrich	Pejchalova et al. 2016
Waschbären	USA	<i>Arcobacter</i> spp.	60 % (10) Fäzes	Hamir et al. 2004 ^{*1}
Spatzen	Chile	<i>A. butzleri</i>	6,7 % (60) Fäzes	Fernandez et al. 2007
Wildgänse	USA	-	0 % (117) Fäzes	Wesley & Miller 2010

^{*1} Ermittlung der Prävalenz durch PCR nach kultureller Anreicherung, ^{*2} PCR direkt aus Probenmaterial

2.7 Bedeutung von *Arcobacter* spp. in Lebensmitteln

Die Anzahl der Studien zur Isolierung von *Arcobacter* spp. aus Lebensmitteln und Wasserquellen steigt. Betrachtet man dies im Zusammenhang mit Untersuchungen zur Detektion von *Arcobacter* spp. aus humanen Stuhlproben von Enteritis-Patienten und die potentielle Virulenz dieses Erregers, so sollte *Arcobacter* spp. als reelles Lebensmittelsicherheitsrisiko nicht übersehen werden (Collado & Figueras 2011; Van den Abeele et al. 2014; Ferreira et al. 2016; Brückner et al. 2020).

Zur Übertragung von *Arcobacter* spp. auf den Menschen steht die fäkal-orale Route durch den Konsum von rohen oder ungenügend erhitzten *Arcobacter*-kontaminierten Lebensmitteln im Vordergrund. Hier stehen hauptsächlich Produkte tierischen Ursprungs wie Fleisch, Rohmilch und Meeresfrüchte, aber auch roh verzehrtes Gemüse und Wasser im Fokus (Ho et al. 2006; Giacometti et al. 2015; Ramees et al. 2017).

Einige Fähigkeiten von *Arcobacter* spp. können deren Vorkommen und Überleben in Lebensmitteln von der Herstellung bis zur Lagerung ermöglichen. Zum einen ermöglicht die hohe Temperaturtoleranz von *Arcobacter* spp. eine erweiterte Überlebenschance in Lebensmitteln. Dennoch sinken die Zellzahlen von *A. butzleri* unter Kühl- (4 °C) und Gefriertemperaturen (- 20 °C) um mehrere Logstufen. Weitere Untersuchungen ergaben eine Toleranz gegenüber erhöhten Natriumchlorid-Konzentrationen und damit geringeren a_w -Werten im Vergleich zu *Campylobacter* spp. Zudem zeigte *A. butzleri* die Fähigkeit der Anheftung an verschiedene Oberflächen wie Kunststoff, Glas und Edelstahl und ein Überleben von bis zu 5,5 Stunden mit einer geringen Empfindlichkeit gegenüber Austrocknung. Somit wäre eine Kreuzkontamination in lebensmittelverarbeitenden Betrieben und ein Überleben unter diversen Lagerbedingungen in vielen Lebensmitteln prinzipiell möglich (Hilton et al. 2001; Assanta et al. 2002; Cervenka 2007).

2.8 *Arcobacter* spp. in Fleischprodukten und Meeresfrüchten

In Lebensmitteln tierischen Ursprungs und vor allem in rohen Fleischprodukten aber auch in Rohmilch wurden *Arcobacter* spp. nachgewiesen. Die höchste Prävalenz wurde dabei in Hähnchenfleisch gefolgt von Schweine- und Rindfleisch festgestellt. Überwiegend wird *A. butzleri* gefolgt von *A. cryaerophilus* isoliert. *A. skirrowii* und *A. cibarius* (Geflügelfleisch) werden seltener nachgewiesen (Houf et al. 2005; Lehner et al. 2005; Ho et al. 2006; Collado & Figueras 2011). Sogar eine simultane Isolierung von mehreren Spezies in einer Lebensmittelprobe ist nicht ungewöhnlich (Houf et al. 2002; Van Driessche & Houf 2007). Vor allem der Umgang und der Verzehr von rohen oder nicht ausreichend erhitzten mit *Arcobacter*

spp. kontaminierten Geflügelfleischprodukten werden als wichtige Infektionsquelle für den Menschen angesehen (Corry & Atabay 2001; Houf et al. 2002). In den meisten Fällen findet die Kontamination wahrscheinlich während des Schlachtprozesses statt, wenn mit *Arcobacter* spp. kontaminierte Fäzes oder mit Fäzes verschmutzte Häute in Kontakt mit Karkassen kommen (Aydin et al. 2007; De Smet et al. 2010).

Die Schwankungen der Prävalenzen von *Arcobacter* spp. in den untersuchten Fleischprodukten (Tabelle 5) können durch verschiedene Nachweismethoden und geographische Unterschiede, aber auch durch die Frische und Herkunft des Fleisches (Schlachthof oder Handel), die Zubereitungsart (maschinell oder Handarbeit) und den Zubereitungsgrad (Filet oder Hackfleisch) beeinflusst werden (Wesley & Miller 2010). Ein saisonaler Einfluss auf die Prävalenzen von *Arcobacter* spp. konnte beispielsweise in Geflügelfleischprodukten nicht nachgewiesen werden (Jribi et al. 2020).

In Meeresfrüchten wurden weltweit teilweise hohe Prävalenzen von 15 % bis 51 % (Zhang et al. 2019), eine starke Speziesdiversität und eine saisonale Verteilung mit höheren Prävalenzen in den Sommermonaten ermittelt (Levican et al. 2014). Da diese Lebensmittel häufig auch roh oder nicht komplett durcherhitzt konsumiert werden, gelten sie als potentielle Infektionsquelle für den Menschen (Collado & Figueras 2011). Als Ursache für die Kontamination von Meeresfrüchten mit *Arcobacter* spp. vermutet man die Einleitung von Abwässern in Gewässer (Collado et al. 2009).

Tabelle 5: Prävalenzen von *Arcobacter* spp. in Fleisch und Meeresfrüchten (kulturelle Isolierungsmethoden)

Produkt	Prävalenz (n)	Land	Referenz
Rindfleisch	29 % (45)	Mexiko	Villarruel-Lopez et al. 2003
	56 % (9)	Tschechien	Vytrasova et al. 2003
	2 % (90)	Japan	Kabeya et al. 2004
	21 % (200)	Australien	Rivas et al. 2004
	5 % (97)	Türkei	Ongor 2004
	34 % (108)	Irland	Scullion et al. 2006
	37 % (27)	Türkei	Aydin et al. 2007
	28 % (50)	Thailand	Vindigni et al. 2007
	38 % (13)	Tschechien	Pejchalova et al. 2008
	31 % (16)	Spanien	Collado et al. 2009
	0 % (106)	Korea	Lee et al. 2010
	17 % (59)	Malaysia	Shah et al. 2012
	20 % (14)	Polen	Zacharow et al. 2015

Literatur

	48 % (120)	Costa Rica	Córdoba-Calderón et al. 2017
Schweinefleisch	51 % (45)	Mexiko	Villarruel-Lopez et al. 2003
	21 % (47)	Belgien	Van Driessche et al. 2004
	7 % (100)	Japan	Kabeya et al. 2004
	29 % (21)	Australien	Rivas et al. 2004
	35 % (101)	Nordirland	Scullion et al. 2006
	16 % (50)	Thailand	Vindigni et al. 2007
	0 % (100)	Korea	Lee et al. 2010
	16 % (75)	Indien	Patyal et al. 2011
	15 % (11)	Polen	Zacharow et al. 2015
Hähnchenfleisch	53 % (96)	Spanien	Gonzalez et al. 2000
	95 % (480) Halshaut	Belgien	Houf et al. 2002
	100 % (140) Halshaut	Belgien	Houf et al. 2003
	41 % (61)	Tschechien	Vytrasova et al. 2003
	40 % (45)	Mexiko	Villarruel-Lopez et al. 2003
	95 % (44)	Türkei	Atabay et al. 2003
	49 % (41)	Japan	Morita et al. 2004
	100 % (10)	Thailand	Morita et al. 2004
	73 % (22)	Australien	Rivas et al. 2004
	23 % (100)	Japan	Kabeya et al. 2004
	62 % (94)	Nordirland	Scullion et al. 2006
	68 % (100)	Türkei	Aydin et al. 2007
	21 % (200)	Thailand	Vindigni et al. 2007
	64 % (14)	Spanien	Collado et al. 2009
	11 % (360)	Korea	Lee et al. 2010
	12 % (75)	Indien	Patyal et al. 2011
	45 % (51)	Spanien	Gonzalez et al. 2014
	30 % (100)	Iran	Rahimi 2014
	56 % (50)	Costa Rica	Fallas-Padilla et al. 2014
	86 % (60)	Polen	Zacharow et al. 2015
	62 % (68)	Ghana	Dekker et al. 2019
	18 % (300)	Brasilien	De Oliveira et al. 2018
	13 % (149)	Tunesien	Jribi et al. 2020
	56 % (97)	Chile	Vidal-Veuthey et al. 2020

Putenfleisch	77 % (395)	USA	Manke et al. 1998
	4 % (100)	Türkei	Aydin et al. 2007
	33 % (30)	Spanien	Collado et al. 2009
	12 % (100)	Iran	Rahimi 2014
	6 % (101)	Tunesien	Jribi et al. 2020
Entenfleisch	40 % (5)	Spanien	Collado et al. 2009
	28 % (50)	Iran	Rahimi 2014
Gans	10 % (50)	Iran	Rahimi 2014
Muscheln	46 % (61)	Spanien	Collado et al. 2009
	32 % (171)	Spanien	Levican et al. 2014
	17 % (106)	Handel Deutschland*	Zhang et al. 2019
Austern	0 % (6)	Spanien	Collado et al. 2009
	17 % (23)	Spanien	Levican et al. 2014
Garnelen	0 % (17)	Spanien	Collado et al. 2009
	9 % (106)	Handel Deutschland*	Zhang et al. 2019
Cephalopoden	27 % (106)	Handel Deutschland*	Zhang et al. 2019

* Proben unterschiedlicher geographischer Herkunft aus dem Einzelhandel in Deutschland

2.9 *Arcobacter* spp. in der Schlachtung von Rindern und Schweinen

Die Techniken der Schlachtung von Nutztieren sind unterschiedlich, jedoch wird im Allgemeinen die Übertragung lebensmittelassoziierter Mikroorganismen im Schlachtprozess mit der fäkalen Karkassenkontamination in der Schlachtlinie assoziiert (Van Driessche & Houf 2007; Shah et al. 2012). Durch konsequente Schlachthygiene während der Fleischproduktion ist es möglich, die Kreuzkontamination der Karkassen zu reduzieren. Es ist allerdings noch sehr wenig über die Epidemiologie von *Arcobacter* spp. in Schlachthöfen bekannt (Lehner et al. 2005). Das häufige Vorkommen von *Arcobacter* spp. in klinisch inapparenten Rindern und Schweinen stellt ein Risiko für die fäkale Kreuzkontamination der Karkassen während des Schlachtprozesses dar (Van Driessche & Houf 2007).

Das Häuten in der Rinderschlachtung sowie das durch falsche Handhabung hervorgerufene Austreten von Fäzes aus dem Gastrointestinaltrakt stellen die wahrscheinlichsten Quellen der fäkalen Kreuzkontamination in der Schlachtung im Rotfleischsektor dar. Weiterhin können

auch der Kontakt der Rinderkarkasse mit dem Fell, falscher Umgang der Mitarbeiter mit Messern oder Handberührungen zu einer Kontamination der Karkassen führen (De Smet et al. 2010).

Beispielsweise wurden in belgischen Studien *Arcobacter* spp. nach der Eviszierung auf 37 % der Rinderkarkassen und auf 100 % der Schweinekarkassen nachgewiesen (Van Driessche & Houf 2007; De Smet et al. 2010). Die Vordergliedmaßen und die Bruststücke waren die am stärksten kontaminierten Teilstücke (10^3 kbE/400 cm² für Rinderkarkassen und 10^2 kbE/100 cm² bzw. 400 cm² für Schweinekarkassen). Dies kann durch die über Kopf hängende Position der Karkassen während der Bearbeitung erklärt werden, da hier potentiell kontaminiertes Prozesswasser entlang fließt. Weiterhin stellen Messerschnitte zur Vorbereitung der Häutung an den Vordergliedmaßen und den Brustteilstücken in der Rinderschlachtung ein Risiko der Kreuzkontamination dar (Van Driessche & Houf 2007). Nach 24 Stunden Luftkühlung sank die Prävalenz von *Arcobacter* spp. auf Rinderkarkassen von 37 % auf 7 % mit einer Kontaminationsrate von weniger als 100 kbE/400 cm² ab. Auch bei Schweinen sank die Prävalenz nach der Kühlung der Karkassen von 100 % auf 91 % allerdings mit gleichbleibender Kontaminationsrate von 100 kbE/100 cm² bzw. 400 cm². Der geringere Rückgang der Prävalenz von *Arcobacter* spp. auf Schweinekarkassen wird mit dem fehlenden Häutungsprozess in der Schweineschlachtung erklärt. In der Geflügelschlachtung findet ebenfalls keine Häutung statt und so stellen die Haar- und Federfollikel eine Umgebung dar, die die vorhandenen Mikroorganismen vor Austrocknung schützen (De Smet et al. 2010). Für *C. jejuni* konnte der Aufenthalt in Federfollikeln bereits demonstriert werden (Jang et al. 2007).

Auf Rinder- und Schweinekarkassen konnten die Spezies *A. butzleri*, *A. cryaerophilus* und *A. skirrowii* isoliert werden. Dies steht im Einklang mit der Verteilung der *Arcobacter*-Spezies in Fäzesproben von Schweinen und Rindern vor der Schlachtung (Kabeya et al. 2003; Van Driessche et al. 2003; Ongor 2004).

2.10 Bedeutung von *Arcobacter* spp. in Geflügelschlachthöfen

In Abbildung 1 wird exemplarisch der Ablauf der Geflügelschlachtung schematisch dargestellt. Die Masthähnchen werden in Transportkisten angeliefert und nach kurzer Wartezeit dem CO₂-Betäubungstunnel zugeführt. Nach dem Aufhängen der betäubten Tiere an das Transportband werden diese durch einen Kehlschnitt getötet. Nach dem Ausbluten werden die Karkassen dem Brühtank zugeführt. Während des Brühvorganges werden die Federn bei Wassertemperaturen von 52 – 56 °C gelockert. Die Karkassen werden anschließend der Entfederungsmaschine zugeführt. Die Rupffinger, welche an rotierenden Scheiben befestigt sind, entfernen die Federn. Durch Wasserdüsen werden die Federn während des

Rupfvorgangs von den Karkassen gespült. Der nachfolgende Eviszerationsprozess wird durch das Umschneiden der Kloake initiiert. Nach dem Bauchhöhlenschnitt erfolgt die Entnahme des Organpaketes mittels eines Ausnehmebügels. Die Karkassen werden am Schlachtband hängend separat zum dazugehörigen Organpaket (beispielsweise in einer Metallschale) der Veterinärinspektion zugeführt. Nach der Eviszeration erfolgt eine Innen-/Außenwaschung bevor die Karkassen im Kühlraum auf maximal 4 °C heruntergekühlt werden. Schließlich erfolgt das Zerlegen und Verpacken der Geflügelprodukte.

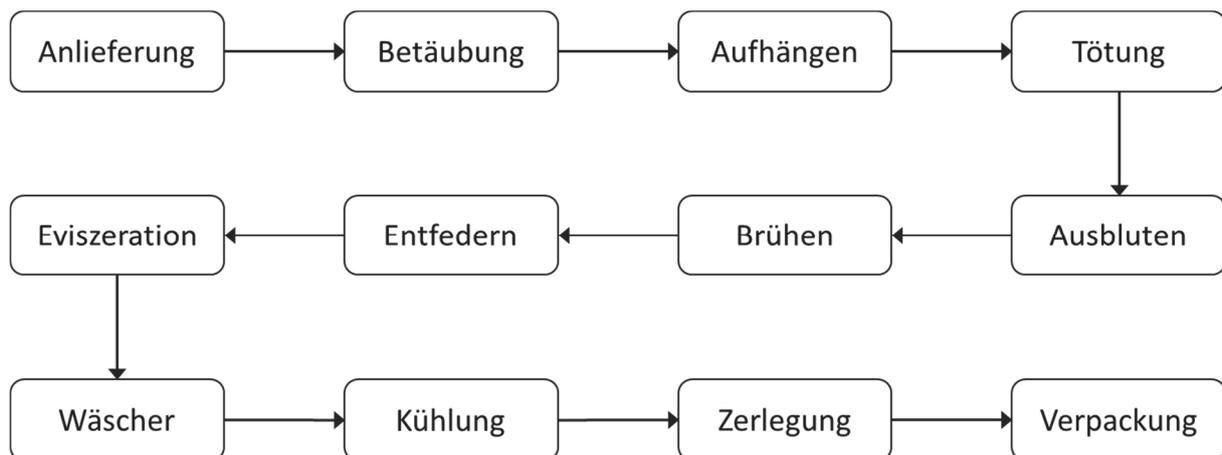


Abbildung 1: Technischer Ablauf der Masthähnchen-Schlachtung

Die Detektionsraten von *Arcobacter* spp. auf Geflügelprodukten variieren je nach den unterschiedlichen Probenmatrices (z. B. Halshaut, Karkasse, Leber) und den Probenahmestellen an den verschiedenen Prozessschritten während des Schlacht- und Verarbeitungsvorgangs (Son et al. 2007). Die Prävalenzen von *Arcobacter* spp. auf Hähnchenkarkassen im Schlachthof sind mit den Prävalenzen von *Campylobacter* spp. vergleichbar. Halshautproben von Masthähnchenkarkassen nach der Eviszeration ergaben teilweise sehr hohe Prävalenzen (bis zu 100 %) und quantitative Belastungen (bis zu 10⁴ kbE/g) (Houf et al. 2003). Aber auch auf Geflügelprodukten im Handel werden *Arcobacter* spp. detektiert (Tabelle 5). Hauptsächlich wurden die Spezies *A. butzleri* und *A. cryaerophilus* nachgewiesen.

Obwohl die Prävalenz von *Arcobacter* spp. auf Hähnchenfleisch weltweit hoch ist, werden diese Mikroorganismen nur sporadisch im Darminhalt von Masthähnchen nachgewiesen. In diesen wenigen Studien geht man demnach von einer Kreuzkontamination der Hähnchenkarkassen mit *Arcobacter* spp. durch den Darminhalt der Tiere aus. In den überwiegenden Studien werden allerdings niedrige Prävalenzen von *Arcobacter* spp. im Darminhalt von Masthähnchen festgestellt. Diesbezüglich wird hier u.a. der Einfluss des Alters

der Tiere und die angewandte Isolierungsmethode diskutiert (Atabay & Corry 1997; Kabeya et al. 2003; Ho et al. 2008). Allerdings vermutet man in den Studien, welche *Arcobacter* spp. im Darminhalt von Masthähnchen nicht nachweisen konnten eher, dass *Arcobacter* spp. kein Teil der aviären intestinalen Mikrobiota ist, sondern die Kontamination während des Verarbeitungsprozesses durch eine extraintestinale Quelle erfolgte (Atabay & Corry 1997). Dies geschieht vermutlich vor dem Eviszerationsprozess, da die Kontamination der Karkassen mit *Arcobacter* spp. bereits vorher nachgewiesen werden konnte (Houf et al. 2003; Rahimi et al. 2012; Khoshbakht et al. 2014). Eine Studie in einem Geflügelschlachthof in den USA untersuchte beispielsweise Masthähnchenkarkassen auf die Anwesenheit von *Arcobacter* spp. entlang der Prozesslinie und stellte mittels Karkassenspülproben bereits vor dem Brühvorgang eine Prävalenz von 97 % fest, welche dann sukzessive auf 61 % vor dem Kühlen und auf 10 % nach dem Kühlen sank (Son et al. 2007). In den unterschiedlichen Studien werden verschiedene Kontaminationsquellen für *Arcobacter* spp. diskutiert, dabei werden Prozesswasser, Schlachthofumgebung und -equipment sowie Federn als Kontaminationsquellen in Betracht gezogen (Harrass et al. 1998; Houf et al. 2002; Gude et al. 2005).

In der kommerziellen Geflügelfleischproduktion werden große Mengen Wasser verwendet. Kontaminiertes Prozesswasser wurde bereits für die Detektion von *Arcobacter* spp. in der Kloake von Masthähnchen auf dem Schlachthof in Betracht gezogen (Houf et al. 2002; Gude et al. 2005; Atabay et al. 2006; Van Driessche & Houf 2007). Das Überleben des Brühvorganges bei Temperaturen von 52 °C für drei Minuten wurde für *A. butzleri* demonstriert. Dies weist auf das Brühwasser als potentielle Quelle zur Kreuzkontamination der Karkassen während des Brühvorgangs selbst oder in nachfolgenden Prozessschritten hin (Ho et al. 2008; Van Driessche & Houf 2008).

Um der Karkassenkontamination weiter auf den Grund zu gehen, beprobte Houf et al. (2002) die Oberfläche von Schlachthofequipment und detektierte *Arcobacter* spp. in 85 % der Tupfer fast aller beprobter Geräteoberflächen, die jeweils vor dem Beginn der Schlachtung und nach einer mehrtägigen Arbeitspause genommen wurden. *Arcobacter* spp. wurden u.a. am Wasserauslass der Entfederungsmaschine, dem Halshautschneider und dem Wäscher detektiert (Houf et al. 2002). Mit Hilfe molekularbiologischer Untersuchungen versuchte man, die Beziehung zwischen den Isolaten von Umgebungsproben und Karkassen aufzuklären und die Übertragungsrouten zu identifizieren. Jedoch gaben die Daten aufgrund der ausgeprägten genetischen Heterogenität der *Arcobacter*-Isolate keinen eindeutigen Aufschluss. Es wird zudem bezweifelt, dass das Schlachthofequipment allein für die hohen Kontaminationsraten der Karkassen verantwortlich sein kann. Man geht daher von einer weiteren bis jetzt nicht identifizierten Quelle aus (Houf et al. 2003). Allerdings illustriert die Detektion von *Arcobacter* spp. auf dem Schlachthofequipment vor der Schlachtung und sogar nach

tagelanger Arbeitspause die Überlebensfähigkeit von *Arcobacter* spp. in dieser Umgebung. Weiterhin gibt es einen Hinweis darauf, dass die Dekontaminationsstrategie der Prozessgeräte nicht ausreichend sein könnte, um *Arcobacter* spp. vollständig abzutöten. Phillips & Bates (2004) zeigten, dass *A. butzleri* an einer Edelstahloberfläche anhaftend, eine Konzentration von 5 % Ethanol überlebt. Ebenso konnte Rasmussen et al. (2013) nachweisen, dass *A. butzleri*-Schlachthofisolate eine Toleranz gegenüber Natriumhypochlorit (gängiges Reinigungsmittel für den Schlachthofbereich) in empfohlener Anwendungskonzentration aufwiesen. Weiterhin konnte demonstriert werden, dass Hühnerfleischextrakt das Überleben von *A. butzleri* unter Kühltemperaturen verlängert. Diese Erkenntnis zusammen mit der Fähigkeit von *A. butzleri* Biofilme u.a. auf Edelstahloberflächen zu bilden, unterstützt die Annahme, dass sich eine Population von *A. butzleri* im Schlachthof etablieren und zur Kontamination von Hähnchenkarkassen beitragen kann (Assanta et al. 2002; Kjeldgaard et al. 2009).

2.11 *Arcobacter* spp. in Wasserquellen

Arcobacter spp. wird häufig aus aquatischen Habitaten (Flusswasser, Oberflächenwasser, Grundwasser, Abwasser) isoliert. In nicht chloriertem Trinkwasser bleibt *A. butzleri* bis zu drei Tage kultivierbar. Demnach wird dem Wasser eine wichtige Rolle in der Übertragung von *Arcobacter* spp. auf Mensch und Tier zugeschrieben, und der Verzehr von *Arcobacter*-kontaminiertem Wasser wird als potentielle Infektionsquelle angesehen (Moreno et al. 2004; Lehner et al. 2005; Ho et al. 2006; Collado & Figueras 2011). Es ist jedoch wenig über die Auswirkung der Trinkwasseraufbereitung auf *Arcobacter* spp. bekannt. In einer Untersuchung im Fluß Llobregat (Hauptquelle für Trinkwasser in Barcelona, Spanien) konnten zwar *A. butzleri* und *A. cryaerophilus* nachgewiesen werden, jedoch nicht in fertig aufbereitetem Trinkwasser (Collado et al. 2010). Allerdings wurden *Arcobacter* spp. in einer kürzlich veröffentlichten Studie in 14 Wasseraufbereitungsanlagen in Dänemark im Abflusswasser nach dem Belebtschlammverfahren detektiert. Man vermutet hier, dass dieses Verfahren nicht effektiv für die Beseitigung von *Arcobacter* spp. aus dem Abwasser sorgt (Kristensen et al. 2020).

Weiterhin wird beschrieben, dass *Arcobacter* spp. in Wasserquellen mit fäkaler Kontamination signifikant prävalenter sind als in nicht fäkal verunreinigtem Wasser. Es konnte zudem eine hohe Speziesdiversität von *Arcobacter* spp. in Abwässern und deren erhöhte Überlebensfähigkeit unter Anwesenheit von organischem Material festgestellt werden (Gonzalez et al. 2007; Collado et al. 2008; Van Driessche & Houf 2008). Aufgrund der hohen Prävalenz in Fäzes von Nutztieren und im Abwasser von Tierhaltungen wird eine fäkale Route als Hauptquelle für die Präsenz von *Arcobacter* spp. in Wasserquellen vermutet (Amisu et al.

2003; Chinivasagam et al. 2007; Collado et al. 2008). Auch Merga et al. (2014) isolierten *A. butzleri* aus unbehandelten Abwasserproben in neun Abwasseraufbereitungsanlagen in Großbritannien und stuften diesen Mikroorganismus als regelmäßigen Bewohner der dortigen häuslichen Abwässer ein.

Zudem wird die Eigenschaft von *A. butzleri*, sich an Innenoberflächen der Rohre von Wasserleitungen anzuheften (Edelstahl, Kupfer, Kunststoff), als relevantes Problem in der Trinkwasseraufbereitung und in lebensmittelherstellenden Betrieben diskutiert (Assanta et al. 2002).

Ausfälle von Aufbereitungsanlagen (Chlorierung) oder fäkale Kontamination von Wasserquellen (u.a. durch starke Niederschläge) können für eine potentielle Verunreinigung des Trinkwassers sorgen. Es wurde diesbezüglich von Gastroenteritisausbrüchen in Verbindung mit verunreinigtem Trinkwasser berichtet. In Wasserproben konnten zwar *Arcobacter* spp. und in einer Stuhlprobe *A. cryaerophilus* detektiert werden, jedoch konnte *Arcobacter* spp. in keinem der Ausbrüche als alleinig auslösendes Agens identifiziert werden (Rice et al. 1999; Fong et al. 2007; Kopilovic et al. 2008). Nichtsdestotrotz weist ein Ausfall der Trinkwasseraufbereitung auf die potentielle Gefahr der Kontamination des Trinkwassers mit *Arcobacter* spp. hin.

3. Material und Methoden

3.1 Probenahme am Geflügelschlachtbetrieb

Im Zeitraum von Juli 2016 bis Januar 2018 wurde an einem konventionellen deutschen Geflügelschlachtbetrieb die Prävalenz von *Arcobacter* spp. im Gastrointestinaltrakt von Masthähnchen untersucht.

Der Gastrointestinaltrakt und zwei weitere in dieser hier vorliegenden Studie untersuchten Organe des Haushuhnes (*Glandula uropygialis* und *Bursa cloacalis*) sind in Abbildung 1 schematisch dargestellt.

Nach dem Abschlucken der Nahrung gelangt diese in den *Oesophagus* (Speiseröhre) und anschließend in die *Ingluvies* (Kropf). Durch Kontraktionen der dortigen Muskulatur gelangt sie nun erst in den *Gaster, Pars glandularis* (Drüsenmagen) und danach in den *Gaster, Pars muscularis* (Muskelmagen). Hiernach wird der Mageninhalt weiter in das *Intestinum tenue* (Dünndarm) mit seinen Anteilen *Duodenum* (Zwölffingerdarm), *Jejunum* (Leerdarm) und *Ileum* (Hüftdarm) transportiert. Anschließend gelangt der Darminhalt in das *Intestinum crassum* (Dickdarm). Die doppelt angelegten und groß ausgebildeten *Caeca* (Blinddärme) beginnen beim Hausgeflügel am Übergang vom *Ileum* zum *Rectum* (Enddarm). Nach der Passage des *Rectums* werden die Fäzes über die *Cloaca* (Kloake) ausgeschieden. Die *Bursa Fabricii* ist ein lymphatisches Organ, welches als Blindsack in das Dach der Kloake mündet. Es ist nur beim Junghuhn aktiv und bildet sich nach der Geschlechtsreife zurück. Die *Glandula uropygialis* (Bürzeldrüse) befindet sich als Talgdrüse dorsal an der Schwanzwurzel. Ihr öliges Sekret dient der Einfettung des Gefieders.

Zusätzlich zur Untersuchung des Gastrointestinaltraktes, der *Bursa cloacalis* und der *Glandula uropygialis* wurden Halshäute der Hähnchenkarkassen und die Umgebung im Schlachtbetrieb anhand von Brühwasser-, Rupffinger- und Eviszerationsgeräteproben analysiert. An 13 unabhängigen Tagen wurden insgesamt 19 Masthähnchenherden beprobt.

Die Verteilung der Probenart, -anzahl und -matrix auf die Beprobungstage sind in Tabelle 1 dargestellt. Insgesamt wurde an vier aufeinanderfolgenden Positionen während des Schlachtprozesses (Entbluten, Brühen, Entfedern und Eviszeration) beprobt.

Nach den ersten drei Prozessschritten wurden die Hähnchenkarkassen direkt vom Produktionstransportband abgehängt, eine Tupferprobe der *Cloaca* entnommen, und separat verpackt. Alle Tupfer wurden in Transportgefäßen zusammen mit je 2,5 ml selektiven Flüssigmediums aufbewahrt. Die Organpakete nach der Eviszeration, bestehend aus Gastrointestinaltrakt, *Pankreas* (Bauchspeicheldrüse), *Hepar* (Leber), *Vesica fellea* (Gallenblase) und *Cor* (Herz), wurden aus den Organablageschalen nach der Geflügelfleischuntersuchung entnommen und separat verpackt.

An sechs Beprobungstagen wurden zusätzlich jeweils 50 ml Brühwasser direkt aus dem Brühwassertank mit Hilfe eines 50 ml Zentrifugenröhrchens entnommen.

An drei Beprobungstagen wurden jeweils zwei Rupffinger nach Beenden des Produktionstages vor der Reinigung und Desinfektion von den Rotationsscheiben im Innenraum der Entfederungsmaschine abgetrennt und in einem Probengefäß aufbewahrt.

An einem Beprobungstag wurden zusätzlich Gerätetupfer- und Halshautproben untersucht: jeweils eine Tupferprobe an sieben Eviszerationsgeräten (Lungensauger, Halshautschneider, Kröpfebohrer, Organablageschalen des Ausnehmers, Ausnehmer, Bauchhautmesser, Kloakenbohrer) und Halshautproben von acht Hähnchenkarkassen nach der Eviszation.

Die Eviszerationsgeräte wurden an den Einheiten beprobt, die unmittelbar Kontakt mit der Karkasse haben. Die Halshautproben wurden mittels steriler Schere und Pinzette von der Haut des Hals-, bzw. Nackenbereiches der Karkasse abgetrennt und in sterilen Filterbeuteln aufbewahrt. Alle Proben wurden gekühlt zum Labor transportiert und bei 4 °C bis zur weiteren Bearbeitung (maximal 24 Stunden) aufbewahrt.

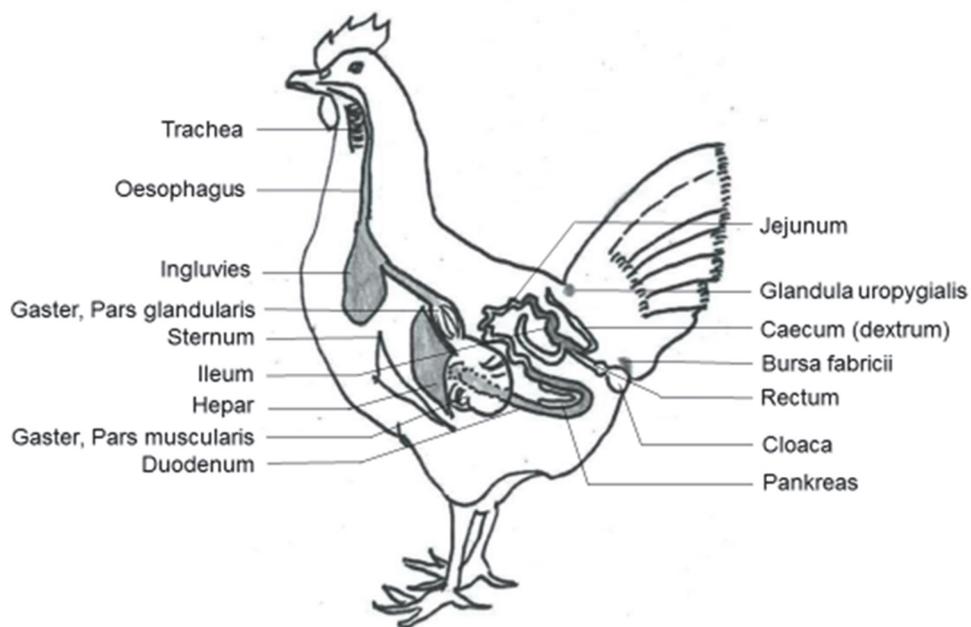


Abbildung 2: Schematische Darstellung des Gastrointestinaltraktes des Huhns (angelehnt an König, Korbelt, Liebich, 2009, Seite 99)

Tabelle 6: Probenumfang nach Beprobungstag, Probenart, -entnahmeort, -anzahl und -matrix

Beprobungstag	Probenart	Probennahmeort	Probenanzahl	Probenmatrix
1-6	GIT	nach Eviszeration	5 pro Tag	D J C R
7	Karkassen	nach Entbluten	8	Ti Gm D J C R Tc
	GIT	nach Eviszeration	5	Gm D J C R
8	Karkassen	nach Entbluten	8	Ti Gm D J C R Tc
	GIT	nach Eviszeration	8	Gm D J C R
	Halshaut	vor der Kühlung	8	
	Brühwasser	Brühwassertank	6	
	Gerätetupfer	an 7 Eviszerationsgeräten	1 je Gerät	
9	Karkassen	nach Rupfen	5	Ti Gm D J C R Tc
	GIT	nach Eviszeration	5	Gm D J C R
	Brühwasser	Brühwassertank	1	
10	Karkassen	nach Entbluten	8	Ti Gm D J C R Tc
	Karkassen	nach Brühen	8	Ti Gm D J C R Tc
	Karkassen	nach Rupfen	8	Ti Gm D J C R Tc
	GIT	nach Eviszeration	8	Gm D J C R
	Brühwasser	Brühwassertank	2	
11	Karkassen	nach Entbluten	8	Ti Gm D J C R Tc
	Karkassen	nach Brühen	8	Ti Gm D J C R Tc
	Karkassen	nach Rupfen	8	Ti Gm D J C R Tc
	GIT	nach Eviszeration	8	Gm D J C R
	Brühwasser	Brühwassertank	8	
	Rupffinger	Entfederungsmaschine	2	

Material und Methoden

	Karkassen	nach Brühen	8	Ti Gm D J C R Gu B Tc
	Karkassen	nach Rupfen	8	Ti Gm D J C R Gu B Tc
12	GIT	nach Eviszeration	8	Gm D J C R Rg
	Brühwasser	Brühwassertank	4	
	Rupffinger	Entfederungsma- schine	2	
	Karkassen	nach Entbluten	8	R Rg Gu B Tc
	Karkassen	nach Brühen	8	Ti Gm D J C R Rg Gu B Tc
	Karkassen	nach Rupfen	8	R Rg Gu B Tc
13	GIT	nach Eviszeration	8	R Rg
	Brühwasser	Brühwassertank	4	
	Rupffinger	Entfederungsma- schine	2	

GIT: Gastrointestinaltrakt, B: *Bursa cloacalis*, Gu: *Glandula uropygialis*, C: *Caecum*-Darminhalt, Rg: *Rectum*-Gewebe, R: *Rectum*-Darminhalt, D: *Duodenum*-Darminhalt, J: *Jejunum*-Darminhalt, Ti: Tupfer *Ingluvies*, Gm: Inhalt des *Gaster, Pars muscularis*, Tc: Tupfer *Cloaca*

3.2 Probenaufbereitung im Labor

Die im Labor verwendeten Verbrauchsmaterialien stammen von den Firmen Biozym (Hessisch Ohlendorf, Deutschland [D]), Mast Diagnostica (Reinfeld, D), Nerbe plus (Winsen/Luhe, D) und VWR (Dresden, D).

Zur weiteren Probenbearbeitung im Labor wurde zunächst an 40 Karkassen die *Glandula uropygialis* präpariert und 1 g des Gewebes inklusive des Inhaltes in einen sterilen Filterbeutel überführt. Vor dem Eröffnen jeder Karkasse wurde mittels eines sterilen Wattetupfers die *Ingluvies* beprobt, indem diese frei präpariert, inzidiert und die Kavität ausgetupfert wurde. Hiernach wurde der Gastrointestinaltrakt aus der Körperhöhle entnommen und die *Bursa cloacalis* von 40 Karkassen präpariert und 1 g des Gewebes, inklusive des Inhalts, in einen Filterbeutel überführt. Daraufhin wurde der gesamte Inhalt der Abschnitte des Gastrointestinaltraktes: *Gaster, Pars muscularis, Duodenum, Jejunum* (inklusive *Ileum*), *Caeca* und *Rectum* in ein Probengefäß entleert. Mit den separaten Organpaketen nach der Eviszeration wurde identisch verfahren. Allerdings wurde hier der *Gaster, Pars muscularis* der ersten 30 Organpakete nicht untersucht. Zur Entnahme des Magen-Darminhaltes wurden die einzelnen Darmabschnitte mit einer sterilen Schere im Querschnitt eröffnet und mittels

zweier steriler Pinzetten fixiert und entleert. Der *Gaster, Pars muscularis* wurde mit einem sterilen Skalpell eröffnet und der Inhalt mit Hilfe eines sterilen Löffels entleert. Die Magen-Darminhalte wurden gründlich durchmischt und je 1 g mit Hilfe eines sterilen Holzspatels in einen Filterbeutel überführt. 40 rektale Darmabschnitte wurden nach dem Entleeren mit einer sterilen Schere in Längsrichtung eröffnet. Die Mukosa wurde mit destilliertem Wasser aus einer Spritzflasche gespült, mittels eines sterilen Skalpells inzidiert und 1 g des rektalen Gewebes in einen sterilen Filterbeutel überführt.

Alle Proben der Magen-Darminhalte, der Organe sowie der Tupfer wurden im Verhältnis 1:10 mit dem Selektivanreicherungsmedium nach Houf et al. (2001) verdünnt und 2 Minuten im Stomacher homogenisiert (Erstverdünnung).

Bezüglich der Brühwasserproben wurden die je 50 ml im Zentrifugenröhrchen für 10 Minuten zentrifugiert (5000 x g), der Überstand bis auf 5 ml abpipettiert, mit 45 ml des selektiven Flüssigmediums aufgefüllt und für 2 Minuten durchmischt (Erstverdünnung).

Für das Spülen der Rupffinger wurde jeweils ein Rupffinger im Probengefäß mit 10 ml selektivem Flüssigmedium befüllt und 2 Minuten auf dem Vortexer durchmischt (Erstverdünnung).

3.3 Nährmedien zur kulturellen Isolierung von *Arcobacter* spp.

3.3.1 Nährmedien

Zur selektiven Anreicherung der drei Spezies *A. butzleri*, *A. cryaerophilus* und *A. skirrowii* aus den verschiedenen Probenmatrizes wurde ein *Arcobacter*-spezifisches Flüssigmedium und selektive Nährböden verwendet, die von Houf et al. (2001) zur Isolierung der drei genannten Spezies aus Geflügelprodukten entwickelt wurden. Zur anschließenden Kultivierung der *Arcobacter*-verdächtigen Kolonien kamen Müller-Hinton Blutagarplatten (MHB) zur Anwendung. Zur Kultivierung und Aufbewahrung der aus den Proben gewonnenen *Arcobacter*-Isolate wurde die Brucella Bouillon (BB) zur Herstellung einer Flüssigkultur der jeweiligen Isolate genutzt. Die Komponenten der Nährmedien sind in Tabelle 2 dargestellt.

Tabelle 7: Zusammenfassung der verwendeten Nährmedien zur kulturellen Isolierung von *Arcobacter* spp.

verwendetes Medium	Herstellung
	24 g/l <i>Arcobacter</i> Bouillon-Basis (CM965, Oxoid): 18 g Pepton 1 g Hefeextrakt 5 g Natriumchlorid
<i>Arcobacter</i> -selektives Flüssigmedium nach Houf et al. (2001)	100 mg/l 5'-Fluorouracil (F6627, Sigma) 10 mg/l Amphotericin B (A4888, Sigma) 16 mg/l Cefoperazon (C4292, Sigma) 32 mg/l Novobiocin (74675, Sigma) 64 mg/l Trimethoprim (92131, Sigma) 50 ml/l lysiertes Pferdeblut (Oxoid)
<i>Arcobacter</i> -selektiver Nährboden nach Houf et al. (2001)	Komponenten des Flüssigmediums (ohne lysiertes Pferdeblut) 12 g/l Bakteriologischer Agar Nr. 1 (LP0011, Oxoid)
Mueller Hinton Blutagar (MHB)	Mueller Hinton Agar (CM0337, Oxoid): 2 g Rindfleischextrakt 17,5 g Casein-Säurehydrolysat 1,5 g Stärke 17 g Agar 50 ml/l defibriniertes Schafblut (Oxoid)
Brucella Bouillon (BB)	28 g/l Brucella Broth (211088, BBL): 10 g Fleischpepton 10 g Caseinpepton 5 g Natriumchlorid 2 g Hefeextrakt 1 g Glukose 0,1 g Natriumbisulfit

3.3.2 Herstellung der Nährmedien

Arcobacter-selektives Flüssigmedium und Selektivnährböden

Zur Herstellung von einem Liter beider Selektivnährmedien wurden 24 g der *Arcobacter* Bouillon-Basis (Oxoid) in 1000 ml destilliertem Wasser gelöst. Dem Grundmedium der Agarnährböden wurden zusätzlich 12 g des Bakteriologischen Agars (Oxoid) zugesetzt. Im Autoklav wurden die Flüssigkeiten beider Medien anschließend bei 121 °C 15 Minuten sterilisiert. Nach dem Abkühlen auf circa 50 °C, wurden dem Medium der Nährböden die antimikrobiellen Zusätze hinzugefügt. Dafür wurden 5'-Fluorouracil (Sigma, bezieht sich auf alle antimikrobiellen Supplemente), Amphotericin-B und Trimethoprim in Dimethylsulfoxid (Carl Roth, Karlsruhe, D) in Lösung gebracht und Novobiocin und Cefoperazon in destilliertem Wasser gelöst. Die Agarnährböden wurden nach Zugabe der Supplemente in sterile Petrischalen (je 15 ml) abgefüllt um auszuhärten. Das Flüssigmedium wurde direkt vor der Bearbeitung der Proben mit den wie oben beschriebenen gelösten antimikrobiellen Zusätzen und 50 ml lysiertem Pferdeblut (Oxoid) supplementiert.

Mueller Hinton Blutagar (MHB)

Zur Herstellung von einem Liter Nährmedium wurden 38 g des Mueller Hinton Agar (Oxoid) in 1000 ml destilliertem Wasser gelöst und anschließend bei 121 °C 15 Minuten im Autoklav sterilisiert. Nach dem Abkühlen auf circa 50 °C wurden 50 ml Schafblut (Oxoid) zugesetzt, durchmischt und in sterile Petrischalen (je 15 ml) abgefüllt, um auszuhärten.

Brucella Bouillon (BB)

Zur Herstellung von einem Liter Nährmedium wurden 28 g Brucella Broth (BBL) in 1000 ml destilliertem Wasser gelöst und anschließend bei 121 °C 15 Minuten im Autoklav sterilisiert.

3.4 Kulturelle Isolierung von *Arcobacter* spp.

Die hier angewandte Methode nach Houf et al. (2001) wurde für die selektive Anreicherung der drei Spezies *A. butzleri*, *A. cryaerophilus* und *A. skirrowii* aus Geflügelprodukten entwickelt. Die Proben der Inhalte der Darmabschnitte, des *Rectum*-Gewebes, der Organe *Glandula uropygialis* und *Bursa cloacalis* sowie die Brühwasser- und Rupffingerproben wurden sowohl qualitativ als auch semiquantitativ analysiert. Die Tupferproben der *Ingluvies* und der *Cloaca* wurden ausschließlich im qualitativen Ansatz bearbeitet. Alle nachfolgenden Inkubationsschritte wurden bei 30 °C für 48 Stunden unter mikroaeroben Bedingungen durchgeführt. Hierfür wurden die Probenansätze in Anaerobiergefäße verbracht und die Sauerstoffkonzentration (6 % O₂, 10 % CO₂, 84 % N₂) mittels Evakuierungsverfahren im Anoxomat AN2CTS (Mart Microbiology B.V., Drachten, Niederlande) eingestellt.

3.4.1 Semiquantitatives Verfahren

Das semiquantitative Verfahren wurde in Anlehnung an das horizontale Verfahren zum Nachweis und zur Zählung von *Campylobacter* spp. (ISO/TS 10272-3:2010 + Cor 1:2011) (Tabelle 9) durchgeführt. Hierfür wurden die Nährmedien, Inkubationszeit und Temperatur angepasst und die Probenmenge auf 1 g reduziert. Zunächst wurden dezimale Verdünnungsreihen der Erstverdünnungen angelegt. Die Verdünnungsreihen wurden wie oben beschrieben inkubiert und hiernach 10 µl der Anreicherung jeder Verdünnungsstufe auf Selektiv-Agarnährböden aufgetragen, um nochmals inkubiert zu werden. Jeglicher Bewuchs der jeweiligen Verdünnungsstufe (Bakterienrasen oder Einzelkolonien auf dem Selektiv-Agarnährboden) wurde als verdächtig eingestuft. Mittels Impfnadel wurde ein Durchstrich der bewachsenen Fläche entnommen und die DNA, wie im Abschnitt 3.5.1 beschrieben, isoliert.

3.4.2 Qualitatives Verfahren

Zum qualitativen Nachweis von *Arcobacter* spp. wurden 50 µl der Anreicherung der Erstverdünnungen im fraktionierten Verdünnungsausstrich auf den Selektiv-Nährboden aufgebracht und erneut inkubiert. Verdächtige Kolonien wurden gepickt und nach erneuter Anreicherung auf MHB-Nährböden mikroskopisch begutachtet. Als verdächtig wurde die typisch schnelle Bewegung und korkenzieherartige Drehung der sehr kleinen, leicht gebogenen Stäbchenbakterien eingestuft. Die typische Koloniemorphologie von *Arcobacter* spp. auf den unterschiedlichen Nährböden wird am Ende dieses Abschnittes kurz dargestellt. Von betreffenden Reinkulturen wurde zum einen die DNA extrahiert (Abschnitt 3.5.1) und zum anderen (nach Speziesbestätigung durch die mPCR, Abschnitt 3.5.2) eine Flüssigkultur in BB-Flüssigmedium hergestellt. Dafür wurde Koloniematerial in ein Kulturröhrchen mit 3 ml des BB-Flüssigmediums verbracht und mit Abweichung zur vorher genannten Inkubationszeit nur 24 Stunden inkubiert. Hiernach wurde 1 ml der Flüssigkultur entnommen und in ein Cryo-Röhrchen überführt. Nach schwenken und abpipettieren der Flüssigkeit wurde dies bei -80 °C aufbewahrt.

Typische Koloniemorphologie von *Arcobacter* spp. auf folgenden Nährmedien:

Selektiv-Agar:	ca. 1 mm Durchmesser transparent bis beige glatt und erhaben
MHB-Agar:	ca. 1 mm Durchmesser beige bis gelblich glatt und erhaben (<i>A. cryaerophilus</i> nur stecknadelspitzgroß nach 48 Stunden Inkubation)

3.5 Identifizierung und Verifizierung von *Arcobacter* spp.

Die DNA morphologisch verdächtiger Stämme wurde isoliert, um mittels der mPCR nach Houf et al. (2000) das Vorhandensein von *Arcobacter*-Spezies nachzuweisen. Die Spezies wurde anschließend mit Hilfe der *rpoB*-Sequenzierung nach Korczak et al. (2006) verifiziert. Die verwendeten Primer sind in Tabelle 3 dargestellt.

Tabelle 8: Verwendete Primer

Primer	Sequenz	Größe (bp)	Referenz
Speziesidentifizierung			
ARCO R	CGTATTCACCGTAGCATAGC		
BUTZ F	CCTGGACTTGACATAGTAAGAATGA	401	Houf et al. (2000)
SKIR F	GGCGATTTACTGGAACACA	641	
CRY 1	TGCTGGAGCGGATAGAAGTA	257	
CRY2	AACAACCTACGTCCTTCGAC		
Speziesverifizierung			
CamRpoB-L	CCAATTTATGGATCAAAC	524	Korczak et al. (2006)
RpoB-R	GTTGCATGTTNGNACCCAT		

3.5.1 DNA-Extraktion mittels Chelex-Methode

Das Koloniematerial von Verdünnungsstufen aus dem semiquantitativen oder von Reinkulturen aus dem qualitativen Ansatz wurde zusammen mit 250 µl TE-Puffer (1 mM Tris/HCl, 100 µM EDTA, pH 8) durchmischt und zentrifugiert (16.000 x g, 5 Minuten). Der Überstand wurde verworfen und das Pellet mit 250 µl Chelex-Reagenz (5 %) (BioRad, München, D) vermischt. Nun folgte eine stufenweise Erhitzung im Thermomixer von 56 °C (60 Minuten) auf 95 °C (15 Minuten). Nach erneuter Zentrifugation (16.000 x g, 6 Minuten) wurde der Überstand (enthält DNA) in ein neues Gefäß überführt und bei 4 °C aufbewahrt.

3.5.2 Speziesidentifizierung mittels mPCR

Die multiplex (m)-PCR nach Houf et al. (2000) wurde verwendet, um simultan die drei Spezies *A. butzleri*, *A. cryaerophilus* und *A. skirrowii* zu identifizieren. Die fünf verwendeten Primer amplifizieren DNA-Segmente der 16S- und 23S- rRNA-Gene.

2 µl des DNA-Templates wurden den 23 µl des Reaktionsmixes hinzugefügt. Dieser bestand aus: 2,5 µl des 10x PCR-Puffers (Qiagen, Hilden, D), 2,8 mM Magnesiumchlorid, 0,2 mM eines jeden Desoxynukleotidtriphosphats (Thermo Fisher Scientific, St. Leon-Rot, D), 0,75 U der *Taq* DNA Polymerase (Qiagen), 1 µM folgender Primer: ARCO, BUTZ, CRY1, CRY2 und 0,5 µM des Primers SKIR. Nach einem Denaturierungsschritt (94 °C für 2 Minuten) folgten 32 Reaktionszyklen, welche die Schritte Denaturierung (94 °C für 45 Sekunden), Primerhybridisierung (61 °C für 45 Sekunden) und Elongation (72 °C für 30 Sekunden) umfassten. Schließlich folgte ein einmaliger Elongationsschritt (72 °C für 5 Minuten). Die mPCR-Produkte konnten nun mittels einer Gelelektrophorese in einem 3 % Agarosegel unter UV-Licht dargestellt werden. Dafür wurden 8 µl des PCR-Produktes zusammen mit 2 µl des Ladepuffers bestehend aus Coral Load PCR Puffer (Qiagen) und GR Green (Labgene, Châtel-Saint-Denis, Schweiz) (50:1) in die jeweilige Agarose-Geltasche vorgelegt. Zusätzlich wurde ein DNA-Marker als Längenstandard (Gene Ruler 100 bp DNA Ladder, Thermo Fisher) hinzugefügt. Die Auftrennung der DNA-Produkte erfolgte unter Anlegen einer Spannung von 80-100 Volt.

3.5.3 Auswertung der semiquantitativen Ergebnisse

Nach Bestätigung einer der drei *Arcobacter*-Spezies auf den Selektiv-Nährböden mittels mPCR, wurde die letzte Verdünnungsstufe, welche noch *Arcobacter*-Wachstum zeigte, einem entsprechenden MPN-Wert zugeordnet (angepasste ISO/TS 10272-3:2010 + Cor 1:2011) (Tabelle 9).

Tabelle 9: Tabelle zur Auswertung der semiquantitativen Ergebnisse (angelehnt an ISO/TS 10272-3:2010 + Cor 1:2011)

Verdünnungs- stufe	Wachstum (+) von <i>Arcobacter</i> spp.						
10¹	-	+	+	+	+	+	+
10⁰	-	-	+	+	+	+	+
10⁻¹	-	-	-	+	+	+	+
10⁻²	-	-	-	-	+	+	+
10⁻³	-	-	-	-	-	+	+
10⁻⁴	-	-	-	-	-	-	+
MPN/g	0	2,3	23	230	2.400	24.000	> 24.000

3.5.4 Speziesverifizierung mittels *rpoB*-Sequenzierung

Die Speziesverifizierung der mPCR-positiven *Arcobacter*-Isolate wurde mit der *rpoB*-Sequenzierung nach Korczak et al. (2006) durchgeführt.

4 µl der DNA-Templates wurden den 46 µl des Reaktionsmixes hinzugefügt. Dieser bestand aus: 5 µl des 10x PCR-Puffers, 2,5 mM Magnesiumchlorid, 0,2 mM eines jeden Desoxynukleotidtriphosphats, 1 U der *Taq* DNA Polymerase und 0,4 µM der Primer CamRpoB-L und RpoB-R. Nach einem Denaturierungsschritt (95 °C für 3 Minuten) folgten 35 Reaktionszyklen, welche die Schritte Denaturierung (94 °C für 30 Sekunden), Primerhybridisierung (54 °C für 30 Sekunden) und Elongation (72 °C für 30 Sekunden) umfassten. Schließlich folgte ein einmaliger Elongationsschritt (72 °C für 7 Minuten). Die amplifizierte DNA wurde nun, wie bereits in Abschnitt 3.5.2 beschrieben, gelelektrophoretisch aufgetrennt und unter UV-Licht dargestellt. Die DNA-Produkte wurden nachfolgend mit dem GeneJET PCR Purification Kit (Thermo Fisher) nach Herstellerangaben aufgereinigt und unter Verwendung der Primer CamRpoB-L und RpoB-R sequenziert, durchgeführt von Eurofins Genomics (Ebersberg, Germany). Die Sequenzierungsergebnisse wurden mit Hilfe der Software Bionumerics Version 7.1 (Applied Maths, Sint-Martens-Latem, Belgium) und dem Programm BLAST (Basic Local Alignment Search Tool (NCBI, Bethesda, USA) analysiert und mit der NCBI (National Center for Biotechnology Information) Nukleotidsequenz-Datenbank die Spezies bestätigt.

3.6 Statistische Auswertung

Zur statistischen Auswertung wurde die Software GraphPad-Prism Version 5.04 (Graphpad-Software, Inc., La Jolla, USA) verwendet. Die Datenverteilung in der semiquantitativen Auswertung der unterschiedlichen Gruppen (Darminhalte, Gewebe, Umgebung) erfolgte mittels Berechnung der Mediane. Zur Feststellung signifikanter zweiseitiger Unterschiede der ermittelten mikrobiellen Belastungen unter den einzelnen Gruppen wurde ein nicht parametrischer Test für ordinal skalierte Daten, der Mann-Whitney-U-Test, angewendet. Signifikante Unterschiede wurden ab einem p-Wert (p) kleiner 0,05 definiert.

4. Ergebnisse

4.1 Prävalenz und Belastung mit *Arcobacter* spp. im Magen-Darminhalt

Die Prävalenz von *Arcobacter* spp. sowie die dazugehörige semiquantitative Belastung wurde im Inhalt von fünf Magen-Darmabschnitten (*Gaster, Pars muscularis; Duodenum; Jejunum; Caecum* und *Rectum*) von Masthähnchen an vier bedeutenden Prozessstufen der Schlachtung (Entbluten, Brühen, Entfedern, Eviszeration) untersucht.

Arcobacter spp. konnte in allen 19 untersuchten Masthähnchenherden mindestens nach einem Prozessschritt der Schlachtung im Magen-Darminhalt nachgewiesen werden.

Es zeigte sich eine niedrige Prävalenz im Inhalt des *Gaster, Pars muscularis*. In 1,5 % (2/135) der untersuchten Proben konnte *Arcobacter* spp. nach der Entfederung in einer Höhe von je 2,3 MPN/g nachgewiesen werden. Daher wird im Folgenden nur auf die Abschnitte *Duodenum, Jejunum, Caecum* und *Rectum* eingegangen.

Nach dem Entbluten und Brühen wurden geringe Prävalenzen von *Arcobacter* spp. im Darminhalt ermittelt (Tabelle 10). Nach dem Entbluten lag in 6 % (2/32) der *Rectum*-Abschnitte eine geringe Belastung von jeweils 2,3 und 230 MPN/g vor. Nach dem Brühvorgang ließ sich *Arcobacter* spp. in keinem Darmabschnitt (0/32) nachweisen (Tabelle 10).

Nach dem Entfedern und nach der Eviszeration nahmen sowohl die Prävalenz als auch die semiquantitative Belastung mit *Arcobacter* spp. zu. Die Prävalenz lag nach dem Entfedern insgesamt bei 62 % (18/29). Dabei wurden *Arcobacter* spp. in 28 % (8/29) der *Duodenum*-, in 21 % (6/29) der *Jejunum*-, in 3 % (1/29) der *Caecum*- und in 55 % (16/29) der *Rectum*-Darminhalte nachgewiesen (Tabelle 10). Die höchste semiquantitative Belastung durch *Arcobacter* spp. konnte mit ≥ 24.000 MPN/g im Darminhalt des *Rectum* ermittelt werden (Tabelle 10, Abbildung 3). Hiernach folgten *Duodenum* und *Jejunum* mit bis zu 2.400 MPN/g Darminhalt, während im einzigen *Arcobacter*-positiven *Caecum* die Belastung mit 2,3 MPN/g gering ausfiel.

Nach der Eviszeration lagen die Prävalenzen von *Arcobacter* spp. bei insgesamt 91 % (58/64). Dabei wurden *Arcobacter* spp. in 33 % (21/64) der *Duodenum*-, in 44 % (28/64) der *Jejunum*-, in 8 % (5/64) der *Caecum*- und in 86 % (55/64) der *Rectum*-Darminhalte nachgewiesen (Tabelle 10). Die höchste semiquantitative Belastung wurde auch hier im Darminhalt des *Rectum* mit ≥ 24.000 MPN/g ermittelt (Tabelle 10, Abbildung 4), während im *Duodenum* und *Jejunum* Werte von bis zu 230 MPN/g erreicht wurden. Nur in einer der fünf *Arcobacter*-positiven *Caecum*-Proben wurde eine Belastung von 230 MPN/g festgestellt, während die restlichen vier Proben geringere Belastungen aufwiesen (Tabelle 10, Abbildung 4).

Insgesamt konnten in 48 % (76/157) der untersuchten Gastrointestinaltrakte *Arcobacter* spp. nachgewiesen werden. Die höchste semiquantitative Belastung wurde überwiegend im Darminhalt des *Rectum* festgestellt. Im Darminhalt von *Duodenum* und *Jejunum* ließen sich

niedrigere Belastungen nachweisen. Aber in vier Fällen wurden im Darminhalt des *Rectum* und *Duodenum* bzw. *Jejunum* ähnliche Belastungen nachgewiesen. In einem Fall lag die höchste Belastung im Darminhalt des *Jejunum* vor. In fünf Fällen konnten *Arcobacter* spp. ausschließlich im Darminhalt von *Duodenum* oder *Jejunum* detektiert werden.

Ergebnisse

Tabelle 10: Prävalenzen und semiquantitative Belastungen (MPN/g) der einzelnen Darmabschnitte (*Duodenum*, *Jejunum*, *Caecum*, *Rectum*) an den Probenahmeorten (Entbluten, Brühen, Entfedern, Eviszeration)

<i>Duodenum</i>	0	2,3	23	230	2.400	≥ 24.000 MPN/g	Prävalenz
Entbluten	100 % (32/32)	0	0	0	0	0	0
Brühen	100 % (32/32)	0	0	0	0	0	0
Entfedern	72 % (21/29)	10 % (3/29)	7 % (2/29)	7 % (2/29)	3 % (1/29)	0	28 % (8/29)
Eviszeration	67 % (43/64)	19 % (12/64)	13 % (8/64)	2 % (1/64)	0	0	33 % (21/64)
<i>Jejunum</i>	0	2,3	23	230	2.400	≥ 24.000 MPN/g	Prävalenz
Entbluten	100 % (32/32)	0	0	0	0	0	0
Brühen	100 % (32/32)	0	0	0	0	0	0
Entfedern	79 % (23/29)	10 % (3/29)	0	7 % (2/29)	3 % (1/29)	0	21 % (6/29)
Eviszeration	56 % (36/64)	16 % (10/64)	22 % (14/64)	6 % (4/64)	0	0	44 % (28/64)
<i>Caecum</i>	0	2,3	23	230	2.400	≥ 24.000 MPN/g	Prävalenz
Entbluten	100 % (32/32)	0	0	0	0	0	0
Brühen	100 % (32/32)	0	0	0	0	0	0
Entfedern	97 % (28/29)	3 % (1/29)	0	0	0	0	3 % (1/29)
Eviszeration	92 % (59/64)	5 % (3/64)	2 % (1/64)	2 % (1/64)	0	0	8 % (5/64)
<i>Rectum</i>	0	2,3	23	230	2.400	≥ 24.000 MPN/g	Prävalenz
Entbluten	94 % (30/32)	3 % (1/32)	0	3 % (1/32)	0	0	6 % (2/32)
Brühen	100 % (32/32)	0	0	0	0	0	0
Entfedern	45 % (13/29)	10 % (3/29)	14 % (4/29)	10 % (3/29)	10 % (3/29)	10 % (3/29)	55 % (16/29)
Eviszeration	14 % (9/64)	8 % (5/64)	11 % (7/64)	31 % (20/64)	28 % (18/64)	6 % (5/64)	86 % (55/64)

Entfedern (n=29)

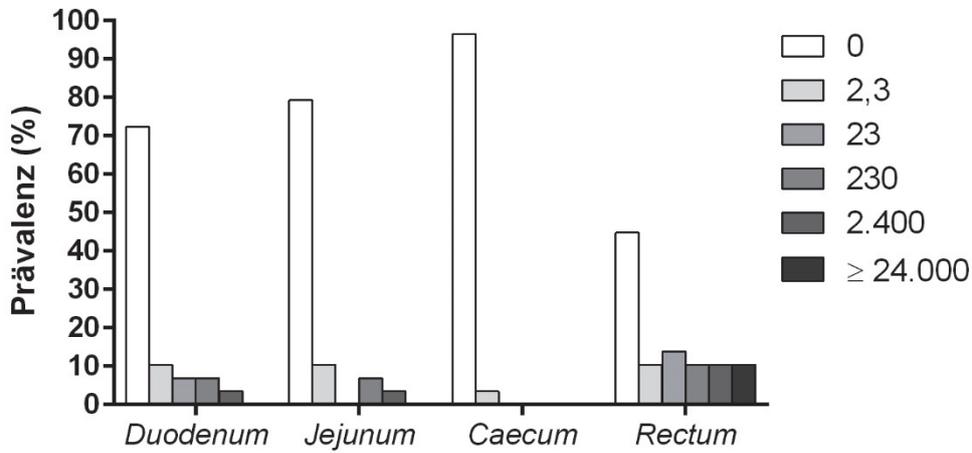


Abbildung 3: Prozentuale Verteilung der semiquantitativen Belastung (MPN/g) der Darmabschnitte *Duodenum*, *Jejunum*, *Caecum* und *Rectum* mit *Arcobacter* spp. nach dem Entfedern

Eviszeration (n=64)

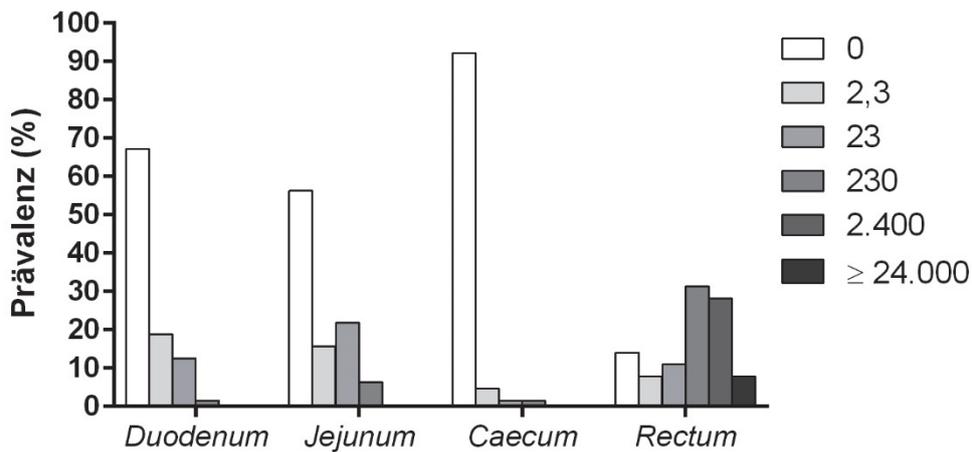


Abbildung 4: Prozentuale Verteilung der semiquantitativen Belastung (MPN/g) der Darmabschnitte *Duodenum*, *Jejunum*, *Caecum* und *Rectum* mit *Arcobacter* spp. nach der Eviszeration

4.2 *Arcobacter* spp. im Darminhalt des *Rectum* und im *Rectum*-Gewebe

Nach dem Entbluten und Brühen wurden *Arcobacter* spp. in keiner der acht Proben des *Rectum*-Darminhaltes detektiert (Tabelle 11). In jeweils einer *Rectum*-Gewebeprobe nach dem Entbluten bzw. nach dem Brühen wurde eine semiquantitative Belastung mit *Arcobacter* spp. in Höhe von 2,3 bzw. 23 MPN/g nachgewiesen (Tabelle 11).

Nach dem Entfedern wurden *Arcobacter* spp. im Darminhalt von 37 % (3/8) der *Rectum*-Abschnitte mit bis zu 23 MPN/g nachgewiesen. Im *Rectum*-Gewebe konnten *Arcobacter* spp. in 87 % (7/8) der Proben mit 230 MPN/g im Median detektiert werden (Abbildung 5).

Nach der Eviszeration wurden *Arcobacter* spp. im Darminhalt von 69 % (11/16) der *Rectum*-Abschnitte und in 94 % (15/16) der *Rectum*-Gewebeproben (Tabelle 11) mit 23 bzw. 2,3 MPN/g im Median nachgewiesen (Abbildung 5).

Zusammenfassend konnten im Magen-Darminhalt von 49 % (93/189) der untersuchten Gastrointestinaltrakte (inklusive *Rectum*-Gewebe) *Arcobacter* spp. nachgewiesen werden. In 80 % (74/93) der *Arcobacter*-positiven Gastrointestinaltrakte wurde die Spezies *A. butzleri* und in 8 % (7/93) *A. cryaerophilus* detektiert. In 13 % (12/93) konnten sowohl *A. butzleri* als auch *A. craerophilus* nachgewiesen werden.

Ergebnisse

Tabelle 11: Prävalenzen und semiquantitative Belastungen (MPN/g) des Darminhaltes im *Rectum* und des *Rectum*-Gewebes sowie der *Glandula uropygialis* und der *Bursa cloacalis* nach Entbluten, Brühen, Entfedern und Eviszeration

<i>Rectum</i>	0	2,3	23	230	2400 MPN/g	Prävalenz
Entbluten	100 % (8/8)	0	0	0	0	0
Brühen	100 % (8/8)	0	0	0	0	0
Entfedern	63 % (5/8)	12 % (1/8)	25 % (2/8)	0	0	37 % (3/8)
Eviszeration	31 % (5/16)	6 % (1/16)	50 % (8/16)	13 % (2/16)	0	69 % (11/16)
<i>Rectum</i>-Gewebe	0	2,3	23	230	2400	
Entbluten	88 % (7/8)	12 % (1/8)	0	0	0	12 % (1/8)
Brühen	88 % (7/8)	0	12 % (1/8)	0	0	12 % (1/8)
Entfedern	13 % (1/8)	0	38 % (3/8)	38 % (3/8)	13 % (1/8)	87 % (7/8)
Eviszeration	6 % (1/16)	63 % (10/16)	25 % (4/16)	6 % (1/16)	0	94 % (15/16)
<i>Glandula uropygialis</i>	0	2,3	23	230	2400	
Entbluten	100 % (8/8)	0	0	0	0	0
Brühen	88 % (14/16)	0	12 % (2/16)	0	0	12 % (2/16)
Entfedern	19 % (3/16)	19 % (3/16)	12 % (2/16)	12 % (2/16)	38 % (6/16)	81 % (13/16)
<i>Bursa cloacalis</i>	0	2,3	23	230	2400	
Entbluten	100 % (8/8)	0	0	0	0	0
Brühen	94 % (15/16)	6 % (1/16)	0	0	0	6 % (1/16)
Entfedern	44 % (7/16)	25 % (4/16)	0	25 % (4/16)	6 % (1/16)	56 % (9/16)

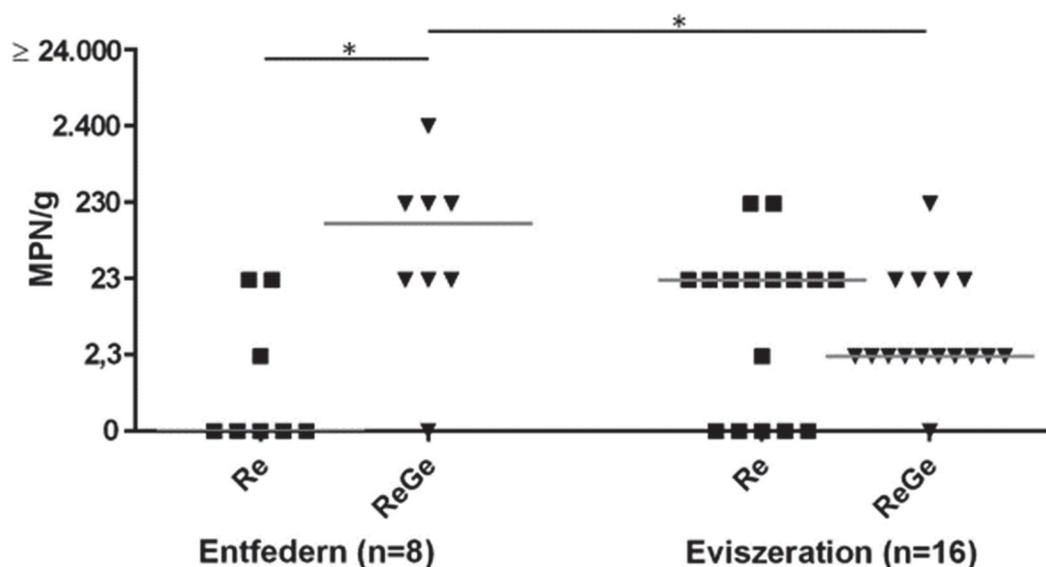


Abbildung 5: Semi-quantitative Belastung (MPN/g) mit *Arcobacter* spp. im Darminhalt des *Rectum* (Re) und im *Rectum*-Gewebe (ReGe) nach Entfedern und Eviszeration; * $p < 0,05$ (Mann-Whitney-U-Test)

4.3 *Arcobacter* spp. in der *Glandula uropygialis* und *Bursa cloacalis*

Proben der *Glandula uropygialis* und *Bursa cloacalis* wurden ausschließlich an den Karkassen nach Entbluten, Brühen und Rupfen entnommen, da beide Organe im Eviszerationsprozess entfernt wurden.

Nach dem Entbluten konnten *Arcobacter* spp. weder in den Proben der *Glandula uropygialis* noch der *Bursa cloacalis* nachgewiesen werden (Tabelle 11, Abbildung 6).

Nach dem Brühvorgang wurden *Arcobacter* spp. in 12 % (2/16) der Proben der *Glandula uropygialis* in Höhe von 23 MPN/g und in 6 % (1/16) der Proben der *Bursa cloacalis* mit 2,3 MPN/g detektiert (Abbildung 6).

Nach dem Entfedern erwiesen sich 81% (13/16) der Proben der *Glandula uropygialis* als *Arcobacter*-positiv, während in 56 % (9/16) der Proben der *Bursa cloacalis* *Arcobacter* spp. nachgewiesen wurden. Die semi-quantitativen Belastungen mit *Arcobacter* spp. lagen in den Proben der *Glandula uropygialis* im Median bei 230 MPN/g und in den Proben der *Bursa cloacalis* bei 2,3 MPN/g (Abbildung 6).

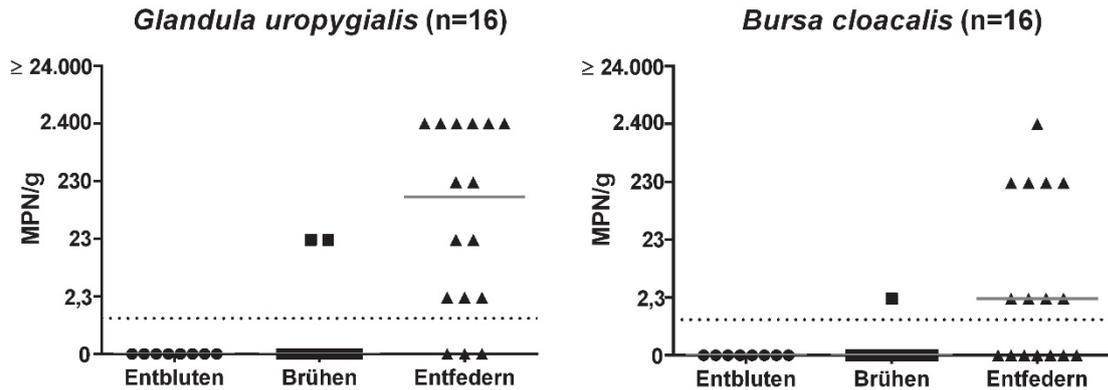


Abbildung 6: Semiquantitative Belastung (MPN/g) der *Glandula uropygialis* und *Bursa cloacalis* mit *Arcobacter* spp. nach Entbluten, Brühen und Eviszeration

4.4 *Arcobacter* spp. in Tupfern der *Ingluvies* und der *Cloaca*

Die Tupferproben der *Ingluvies* und *Cloaca* wurden ausschließlich qualitativ untersucht.

In 8 % (7/93) aller Tupferproben der *Ingluvies* an Karkassen nach dem Entbluten (n=32), nach dem Brühen (n=32) und nach dem Entfedern (n=29) konnten *Arcobacter* spp. nachgewiesen werden. Nach dem Entbluten wurde in 9 % (3/32) der Tupferproben der *Ingluvies* ausschließlich *A. cryaerophilus* und nach dem Entfedern in 14 % (4/29) ausschließlich *A. butzleri* isoliert. Nach dem Brühvorgang konnte *Arcobacter* spp. nicht detektiert werden (Tabelle 12).

In 40 % (44/109) aller Tupferproben der *Cloaca* an Karkassen nach dem Entbluten (n=40), nach dem Brühen (n=32) und nach dem Entfedern (n=37) wurden *Arcobacter* spp. nachgewiesen. 15 % (6/40) der Tupfer nach dem Entbluten waren *Arcobacter*-positiv (5 x *A. butzleri*, 1 x *A. cryaerophilus*). In 13 % (4/32) der Tupfer nach dem Brühen sowie in 92 % (34/37) der Tupfer nach dem Entfedern wurde ausschließlich *A. butzleri* detektiert (Tabelle 12).

Tabelle 12: Prävalenz von *Arcobacter* spp. in Tupferproben der *Ingluvies* und *Cloaca* nach Entbluten, Brühen und Eviszeration

<i>Ingluvies</i>	Prävalenz	<i>Cloaca</i>	Prävalenz
Entbluten	9 % (3/32)	Entbluten	15 % (6/40)
Brühen	0 % (0/32)	Brühen	13 % (4/32)
Entfedern	14 % (4/29)	Entfedern	92 % (34/37)

Zusammenfassend konnten in den Karkassen nach dem Entbluten und Brühen häufig ausschließlich in den Tupferproben der *Ingluvies* und der *Cloaca Arcobacter* spp. nachgewiesen werden, wohingegen nach dem Rupfvorgang auch in Gewebeproben und im Magen-Darminhalt der Karkassen *Arcobacter* spp. nachweisbar waren. In vier Karkassen nach dem Rupfen konnten *Arcobacter* spp. ausschließlich im Tupfer der *Cloaca* isoliert werden.

4.4 *Arcobacter* spp. auf Halshäuten der Masthähnchenkarkassen

An einem Beprobungstag wurden von acht Karkassen nach der Eviszeration (vor der Kühlung) Halshautproben entnommen. Alle Halshäute erwiesen sich als *Arcobacter*-positiv mit einer Belastung von 23 MPN/g im Median. In sechs Halshautproben konnte *A. butzleri*, in einer ausschließlich *A. cryaerophilus* und in einer weiteren beide genannten Spezies detektiert werden.

4.5 *Arcobacter* spp. in Brühwasser-, Rupffinger- und Geräteproben

Arcobacter spp. konnten in 83 % (5/6) der Brühwasserproben (Tabelle 13) in Höhe von 23 MPN/ml im Median nachgewiesen werden. Sowohl *A. butzleri* als auch *A. cryaerophilus* wurden detektiert.

Alle sechs Rupffingerproben (Tabelle 13) waren mit einem Median von 24.000 MPN pro Rupffinger mit *Arcobacter* spp. kontaminiert. In drei Rupffingerproben wurden *A. butzleri* und *A. cryaerophilus* detektiert, wobei in den restlichen drei Rupffingerproben ausschließlich *A. butzleri* nachgewiesen wurde.

Tabelle 13: Prävalenzen und semiquantitative Belastungen (MPN) der Rupffinger (RF), des Brühwassers und der Halshäute nach der Eviszeration

	Prävalenz	0	2,3	23	230	2400	≥ 24000	
Rupffinger	100 % (6/6)	0	0	0	33 % (2/6)	0	67 % (4/6)	MPN/RF
Brühwasser	83 % (5/6)	17% (1/6)	17 % (1/6)	50 % (3/6)	17 % (1/6)	0	0	MPN/ml
Halshaut	100 % (8/8)	0	13 % (1/8)	50 % (4/8)	38 % (3/8)	0	0	MPN/g

In den Tupferproben der Eviszerationsgeräte Kloakenbohrer, Bauchhautschneider, Ausnehmerschalen und Kröpfebohrer konnte *A. butzleri* nachgewiesen werden. In den Tupferproben des Ausnehmers, Halshautschneiders und Lungensaugers wurden *Arcobacter* spp. nicht detektiert.

5. Diskussion

Die Prävalenz von *Arcobacter* spp. auf Geflügelfleischprodukten ist hoch und stellt damit eine potentielle Gefahr für die menschliche Gesundheit dar. Allerdings konnte die Quelle der Kontamination von Geflügelprodukten mit *Arcobacter* spp. bisher nicht identifiziert werden. Die Ergebnisse verschiedener Studien hinsichtlich der Präsenz von *Arcobacter* spp. im Magen-Darmtrakt von Masthähnchen sind widersprüchlich.

In der hier vorliegenden Studie wurden daher fünf Magen-Darmabschnitte an vier bedeutenden Prozessschritten der Schlachtung auf einem Geflügelschlachthof qualitativ und semiquantitativ auf die Anwesenheit von *Arcobacter* spp. untersucht. Das Ziel der hier vorliegenden Studie war es festzustellen, welcher Abschnitt des Gastrointestinaltraktes ein potentielles Reservoir für diesen Erreger darstellen könnte und damit für die Kreuzkontamination von Masthähnchenkarkassen mit *Arcobacter* spp. auf dem Geflügelschlachthof relevant ist.

Die hier angewandte Methode zählt zu den am häufigsten verwendeten Methoden zur kulturellen Isolierung von *Arcobacter* spp. (Ramees et al. 2017). Sie ist hauptsächlich zur Detektion der drei Spezies *A. butzleri*, *A. cryaerophilus* und *A. skirrowii* validiert. Es kann daher nicht ausgeschlossen werden, dass sich noch weitere *Arcobacter*-Spezies in den Proben befanden. Detektiert wurden in dieser Studie ausschließlich *A. butzleri* und *A. cryaerophilus*. Dies steht im Einklang mit der bisher beschriebenen Speziesverteilung und -häufigkeit in Geflügelprodukten und -schlachthöfen, wobei *A. butzleri* am häufigsten, gefolgt von *A. cryaerophilus* nachgewiesen werden konnte (Wesley & Miller 2010). Es wurde zudem in dieser hier vorliegenden Studie beobachtet, dass die Detektion von *A. cryaerophilus* in Proben, in denen ebenfalls *A. butzleri* präsent waren, nur dann gelang, wenn erstere Spezies in höherer Konzentration als *A. butzleri* vorhanden war. Dies deutet darauf hin, dass bei der hier verwendeten Methode *A. butzleri* einen Wachstumsvorteil gegenüber *A. cryaerophilus* besaß. Dieses Phänomen ist auch in anderen Untersuchungen beschrieben worden (Gonzalez et al. 2012). Da diese hier vorliegende Studie v.a. zur Feststellung eines *Arcobacter*-Reservoirs im Masthähnchen und weniger zur Untersuchung verschiedener *Arcobacter*-Spezies angelegt wurde, wurde die Möglichkeit der Feststellung einer geringeren Speziesdiversität aufgrund der Methodik in Kauf genommen.

5.1 Die Bedeutung von *Arcobacter* spp. im Masthähnchen

In Geflügelschlachthöfen konnten *Arcobacter* spp. häufig mit hohen Prävalenzen (> 90 %) auf Halshäuten von Hähnchenkarkassen detektiert werden (Houf et al. 2002; Atabay et al. 2003; Kabeya et al. 2004).

In dieser hier vorliegenden Untersuchung lag die Prävalenz auf den Halshäuten der Hähnchenkarkassen bei 100 % mit Belastungen von bis zu 230 MPN/g. Dies liegt im Bereich weiterer Studien zur Quantifikation von *Arcobacter* spp. auf der Halshaut von Hähnchenkarkassen mit Belastungen zwischen 10^2 und 10^4 kbE/g (Houf et al. 2001; Houf et al. 2002; Van Driessche & Houf 2007).

Nichtsdestotrotz ist die Übertragungsrouten von *Arcobacter* spp. in den Geflügelschlachthof bislang noch nicht aufgeklärt. In den unterschiedlichen Studien gibt es widersprüchliche Ergebnisse über das Vorkommen von *Arcobacter* spp. im Gastrointestinaltrakt von Masthähnchen auf Schlachthof-Level (Lehner et al. 2005; Ho et al. 2006). Allerdings ist die Vergleichbarkeit dieser Studien eingeschränkt, da häufig unterschiedliche Abschnitte des Gastrointestinaltrakts nach unterschiedlichen Produktionsstufen untersucht wurden.

Daher wurde in der hier vorliegenden Studie die Prävalenz von *Arcobacter* spp. im Darminhalt der Abschnitte *Doudenum*, *Jejunum*, *Caecum* und *Rectum* in Abhängigkeit des Schlachtvorganges (nach dem Entbluten, Brühen, Entfedern und nach der Eviszeration) bestimmt.

Die Prävalenz der *Arcobacter*-positiven Darmpakete insgesamt (48 %) liegt im Rahmen der Prävalenzen anderer Studien, welche mit Werten zwischen 0 % und 87 % in einem sehr breiten Bereich liegen (Atabay & Corry 1997; Houf et al. 2002; Van Driessche & Houf 2007; Ho et al. 2008). Van Driessche et al. (2007) ermittelten eine *Arcobacter*-Prävalenz von 62 % in 505 Gastrointestinaltrakten (*Caecum* bzw. *Caecum* und *Intestinum tenue*) nach der Eviszeration. Auch Ho et al. (2008) detektierten *Arcobacter* spp. in 40 % der 130 Gastrointestinaltrakte (*Ileum* und *Caecum*) nach der Eviszeration. In dieser hier vorliegenden Studie lag die Prävalenz von *Arcobacter* spp. im Gastrointestinaltrakt nach der Eviszeration insgesamt bei 91 % (58/64). Die höhere Prävalenz in dieser Studie könnte durch den untersuchten Darminhalt im *Rectum* erklärt werden.

Die Wahrscheinlichkeit *Arcobacter* spp. im Gastrointestinaltrakt von Masthähnchen auf dem Schlachthof zu detektieren, ist laut den in dieser hier vorliegenden Studie ermittelten Ergebnissen im *Rectum* am höchsten (gefolgt von den Abschnitten *Jejunum* und *Duodenum*) und im *Caecum* am niedrigsten. Daher ist das *Caecum*, wie auch schon von Ho et al. (2008) postuliert, höchstwahrscheinlich nicht das *Arcobacter*-Reservoir im Masthähnchen.

Im Gegensatz zu den Studien, die eine hohe Prävalenz von *Arcobacter* spp. im Gastrointestinaltrakt von Masthähnchen feststellten, konnten Houf et al. (2002) in 60 Gastrointestinaltrakten nach der Eviszeration (*Intestinum crassum* und *Caecum* separat)

Arcobacter spp. nicht detektieren. Ebenso wiesen Atabay & Corry (1997) in 15 Gastrointestinaltrakten (*Gaster, Pars muscularis; Intestinum tenue; Caecum* und *Colon*) nach der Eviszeration *Arcobacter* spp. nur einmalig im Darminhalt des *Colon* nach.

Die sehr unterschiedlichen Prävalenzen von *Arcobacter* spp. im Gastrointestinaltrakt von Masthähnchen in den verschiedenen Studien lassen unterschiedliche Ansatzpunkte zur Erklärung der Kreuzkontamination auf dem Schlachthof zu. Zum einen sprechen die teilweise hohen Prävalenzen für die Fähigkeit von *Arcobacter* spp., den Gastrointestinaltrakt von Masthähnchen zu kolonisieren (Kabeya et al. 2003; Ho et al. 2008). Zum anderen unterstützen die niedrigen Prävalenzen die These, dass *Arcobacter* spp. kein Teil der aviären Mikrobiota des Gastrointestinaltraktes darstellen (Atabay & Corry 1997; Houf et al. 2002; Eifert et al. 2003; Van Driessche & Houf 2007). Die Ergebnisse dieser hier vorliegenden Studie unterstützen beide Thesen, welche im Folgenden diskutiert werden.

5.2 Der Gastrointestinaltrakt als Kontaminationsquelle

Nach den Produktionsschritten Entbluten und Brühen konnten *Arcobacter* spp. nur sporadisch im Darminhalt der Hähnchenkarkassen nachgewiesen werden. Nach der Entfederung und Eviszeration hingegen stiegen sowohl Detektionsraten als auch die semiquantitative Belastung mit *Arcobacter* spp. im Darminhalt, *Rectum*-Gewebe und ebenso in der *Glandula uropygialis* und *Bursa cloacalis* aller 19 untersuchten Herden. Die höchsten Prävalenzen und Kontaminationsraten konnten im Darminhalt des *Rectum* bestimmt werden. Diese fielen zwar in Richtung der *jejunalen* und *duodenalen* Abschnitte ab, jedoch weisen die Detektion und die Kontaminationsraten gerade in den kranialer gelegenen Abschnitten auf ein Reservoir von *Arcobacter* spp. im Masthähnchen hin.

Weiterhin wurde untersucht, ob *Arcobacter* spp. auch die Mukusschicht des *Rectum* kolonisieren und sich nicht ausschließlich im Lumen des *Rectum* befinden. Die Prävalenzen und semiquantitativen Belastungen von *Arcobacter* spp. sind nach dem Entfedern im *Rectum*-Gewebe signifikant höher als im Darminhalt des *Rectum* (Abbildung 5). Dies gibt einen Hinweis auf die Kolonisierung der Mukusschicht im *Rectum*. Dieser Trend setzt sich allerdings nach der Eviszeration nicht fort. Hier liegen die Mediane der Belastungen mit *Arcobacter* spp. im Darminhalt des *Rectum* und im *Rectum*-Gewebe nah aneinander. Im nachfolgenden Vergleich des Darminhaltes im *Rectum* nach den Prozessstufen Entfedern und Eviszeration, stellte sich kein signifikanter Unterschied dar (Abbildung 5). Allerdings ist ein Trend in Richtung höherer Prävalenz und Konzentration nach der Eviszeration im Darminhalt des *Rectum* sichtbar. Im *Rectum*-Gewebe lagen die Prävalenzen und Belastungen mit *Arcobacter* spp. nach der Eviszeration signifikant niedriger als im *Rectum*-Gewebe nach dem Entfedern. Der Hinweis auf die Kolonisierung von *Arcobacter* spp. der Mukusschicht des *Rectum* nach dem Entfedern

sollte weitergehend untersucht werden. Allerdings kann trotz sorgfältiger Spülung des Gewebes nicht komplett ausgeschlossen werden, dass Rückstände von *Arcobacter* spp. aus dem Darminhalt des *Rectum* in den *Rectum*-Gewebeproben nachgewiesen wurden.

Die Hypothese, dass *Arcobacter* spp. den Gastrointestinaltrakt von Masthähnchen kolonisieren, wird durch deren Prävalenz und Konzentration im Darminhalt der unterschiedlichen Abschnitte und im *Rectum*-Gewebe unterstützt. Allerdings wurde *Arcobacter* spp. erst nach dem Entfedern im Darminhalt detektiert. Da keine weiteren bedeutenden Prozessschritte zwischen den Probenahmepunkten Brühen und Entfedern stattfinden, und die Zeit hierzwischen relativ kurz (wenige Minuten) ist, sollten die physikalischen Kräfte, die während des Entfederungsprozesses auf die Hähnchenkarkassen einwirken, in Zukunft näher untersucht werden.

Abschließend betrachtet deutet die Anwesenheit und Konzentration von *Arcobacter* spp. sowohl im Darminhalt des *Duodenum* und *Jejunum* als auch im *Rectum*-Gewebe darauf hin, dass ein *Arcobacter*-Reservoir im Hähnchen zur Kontamination der Masthähnchenkarkassen auf dem Schlachthof führt.

5.3 Die Schlachthofumgebung als Kontaminationsquelle

Neben dem Hinweis auf ein potentiell *Arcobacter*-Reservoir im Hähnchen selbst, sollte eine mögliche Kreuzkontamination durch die Umgebung innerhalb des Schlachthofes mit in Betracht gezogen werden.

Die niedrige Prävalenz von *Arcobacter* spp. in Tupferproben der *Cloaca* (6/40) und die geringe semiquantitative Belastung im Darminhalt des *Rectum* zweier Proben (2,3 MPN/g und 230 MPN/g) nach dem Entbluten, lassen eher eine Kreuzkontamination ausgehend von der Umgebung als eine Kolonisierung dieser Regionen mit *Arcobacter* spp. vermuten. Diese Kreuzkontamination könnte beispielsweise durch kontaminierte Transportkisten erfolgen, welche zum Transport der Tiere vom Maststall in den Schlachthof verwendet werden. Diese Transportkisten gelten als potentielle Quelle für die Kreuzkontamination der *Cloaca* von Masthähnchen, da *Arcobacter* spp. mehrfach sogar aus bereits gereinigten Transportkisten isoliert werden konnte (Houf et al. 2002; Van Driessche & Houf 2007). Zudem wurde in der hier vorliegenden Studie *A. cryaerophilus* in Tupfern der *Ingluvies* dreier Tiere einer Herde nachgewiesen. Es besteht die Möglichkeit, dass *A. cryaerophilus* durch das Picken der Tiere während des Aufenthaltes in den Transportkisten aufgenommen wurde.

Während des folgenden Schlachtprozesses ist *Arcobacter* spp. vermutlich nicht nur in der Lage, für eine gewisse Zeit in der Umgebung zu überleben, sondern sich auch zu etablieren und damit möglicherweise zu vermehren (Gude et al. 2005). Dies könnte wiederum zur Kreuzkontamination der Hähnchenkarkassen während des Schlachtprozesses führen. In

diesem Zusammenhang wurden in der Literatur das Prozesswasser, das Schlachthofequipment und die Entfederungsmaschine als mögliche Kontaminationsquellen von *Arcobacter* spp. innerhalb des Schlachthofes benannt (Houf et al. 2002; Gude et al. 2005; Van Driessche & Houf 2008).

Wasser spielt in der Verbreitung und Übertragung von *Arcobacter* spp. im Allgemeinen eine große Rolle (Hsu & Lee 2015). In unterschiedlichen Untersuchungen wurden *Arcobacter* spp. in der überwiegenden Anzahl der Prozesswasserproben (Entfederungsmaschine und Wäscher) auf Geflügelschlachthöfen nachgewiesen (Houf et al. 2002; Houf et al. 2003; Gude et al. 2005). Allerdings konnte der Erreger nicht aus Proben der Trinkwasserversorgung auf Geflügelschlachthöfen isoliert werden (Gude et al. 2005; Ho et al. 2008). Die Kontamination des Prozesswassers findet demnach während des Schlachtprozesses statt (Gude et al. 2005). Im Einklang mit dieser Hypothese konnte *Arcobacter* spp. in Brühwasserproben in unterschiedlichen Studien, inklusive der hier vorliegenden Untersuchung, isoliert werden (Houf et al. 2002; Houf et al. 2003). Es wurde demonstriert, dass *Arcobacter* spp. in der Lage sind, den Brühvorgang zu überstehen (Van Driessche & Houf 2008) und somit zur Kontamination der Umgebung im Schlachthof beizutragen. Dazu wiesen Ho et al. (2008) nach, dass einige *Arcobacter*-Isolate eine Wassertemperatur von 52 °C drei Minuten überlebten. Dies könnte erklären, warum der Erreger in der vorliegenden Studie sporadisch aus Tupferproben der *Cloaca* (4/32) nach dem Brühvorgang isoliert wurde. Dennoch kann die in der vorliegenden Studie ermittelte semiquantitative Belastung mit *Arcobacter* spp. des Brühwassers (23 MPN/ml im Median) nicht die hohe semiquantitative *Arcobacter*-Belastung im Gastrointestinaltrakt nach dem Entfederungsprozess (≥ 24.000 MPN/g) erklären. Daher ist eine weitere Quelle wahrscheinlich, die für eine kontinuierlich hohe Kontamination mit *Arcobacter* spp. sorgt.

Die Entfederung stellt sich in der hier vorliegenden Studie als entscheidender Prozessschritt für die Detektion von *Arcobacter* spp. im Schlachtvorgang von Masthähnchen dar. Erstmals nach diesem Verarbeitungsschritt treten sowohl hohe Prävalenzen als auch hohe semiquantitative Belastungen mit *Arcobacter* spp. im Darminhalt des *Rectum* und im *Rectum*-Gewebe sowie zusätzlich in den Proben der *Glandula uropygialis* und der *Bursa cloacalis* auf. Dem Prozess des Entfederns wird generell eine wichtige Rolle in der Kreuzkontamination von Karkassen durch Mikroorganismen zugeschrieben. Die Rupffinger, welche an rotierenden Scheiben für das Entfernen der Federn sorgen, sind hierbei von Bedeutung. Sie können durch kontaminierte Karkassen oder Brüh- bzw. Prozesswasser kreuzkontaminiert werden und unter Bildung von Aerosolen, durch das kontinuierliche Abspülen der Federn mit Hilfe von Wasserdüsen, für das Verteilen von *Arcobacter* spp. auf weitere Hähnchenkarkassen sorgen (Allen et al. 2003).

In der hier vorliegenden Studie konnten sehr hohe Raten von *Arcobacter* spp. mit ≥ 24.000 MPN pro Rupffinger festgestellt werden. Dies kann darauf hinweisen, dass *Arcobacter* spp. in der Lage sein könnten, sich an die Oberfläche der Rupffinger anzulagern.

Vermutet man ursächlich für die in dieser hier vorliegenden Studie ermittelten Prävalenzen und semiquantitativen Belastungen mit *Arcobacter* spp. im Darminhalt von Masthähnchen und in den Proben der *Glandula uropygialis* und der *Bursa cloacalis* eine alleinige Kreuzkontamination ausgehend von *Arcobacter*-kontaminiertem Prozesswasser und Rupffingern, so ist dies für die kaudal gelegenen Darmabschnitte und die Proben der *Glandula uropygialis* und der *Bursa cloacalis* bis zu einem gewissen Grad nachvollziehbar.

Allerdings bedürfen daraufhin v.a. die Belastungen in den Darminhalten der kranialer gelegenen Darmabschnitte *Duodenum* und *Jejunum* intensiverer Untersuchungen. Es müsste analysiert werden, ob der mechanische Druck, welcher auf die Karkassen während des Entfederungsprozesses einwirkt, hoch genug ist, um einen Rückfluss von *Arcobacter*-kontaminiertem Darminhalt zu verursachen, welcher für die detektierten Belastungen in den Darmabschnitten *Duodenum* und *Jejunum* verantwortlich wäre.

Houf et al. (2002) isolierten ebenso *Arcobacter* spp. aus Rupffinger-Proben. Allerdings vermuten sie, dass selbst eine etablierte *Arcobacter*-Population auf den Rupffingern wahrscheinlich nicht allein für solch hohe Kontaminationsraten auf den Hähnchenkarkassen und den in dieser hier vorliegenden Studie ermittelten semiquantitativen Belastungen in den Darminhalten verantwortlich sein kann.

Es bestünde andererseits auch die Möglichkeit, dass wenige individuelle Masthähnchen mit einer hohen quantitativen Belastung mit *Arcobacter* spp. für den Eintrag des Erregers in den Geflügelschlachthof sorgen (Houf et al. 2003). Jedoch ließ sich dies in der hier vorliegenden Studie nicht bestätigen.

Allerdings wurde in einer Studie auf Geflügelschlachthöfen in den USA die höchste Prävalenz von *Arcobacter* spp. anhand von Karkassenspülproben auf noch befiederten Karkassen vor dem Brühen festgestellt (Son et al. 2007). Dies gibt einen Hinweis darauf, dass *Arcobacter* spp., wenn nicht durch den Gastrointestinaltrakt der Tiere, trotz alledem durch die Masthähnchen selbst, beispielsweise durch das mit *Arcobacter* spp. kontaminierte Gefieder, in den Schlachthof gelangen.

In der sich dem Rupfvorgang anschließenden Eviszation in der hier vorliegenden Studie setzt sich die hohe Prävalenz und semiquantitative Belastung mit *Arcobacter* spp. weiter fort. Hier ist zu beachten, dass sich die Organpakete separat zur dazugehörigen Karkasse in einer Metallschale befanden. Atabay et al. (2006) beschrieben, dass die Organpakete nach der Eviszation höchstwahrscheinlich auf der Außenoberfläche von der Schlachthofumgebung während des Eviszationsprozesses mit *Arcobacter* spp. kreuzkontaminiert worden sind. Van Driessche et al. (2007) diskutierten hierzu weitergehend, dass durch den sukzessiven Verlust

der Gewebsintegrität nach der Schlachtung eine Migration von *Arcobacter* spp. von der Darm-Außenoberfläche in das Darm-Lumen stattfinden könnte. Allerdings wäre dann hier eine annähernd gleiche Konzentration in den unterschiedlichen Darmabschnitten zu vermuten. Diese Möglichkeit der Kreuzkontamination des Darminhaltes mit *Arcobacter* spp. während der Eviszeration sollte weitergehend untersucht werden.

Weitere Fähigkeiten von *Arcobacter* spp. können zu deren Etablierung in der Umgebung im Geflügelschlachthof beitragen. Die Anheftung und die hierdurch mögliche Biofilmbildung an Oberflächen aus Edelstahl, Kupfer und Polyethylen wurden beschrieben (Assanta et al. 2002; Ferreira et al. 2013). Kjeldgaard et al. (2009) stellten weiterhin fest, dass die Biofilmbildung von *A. butzleri* in einem Bereich von 10 °C bis 37 °C möglich ist. Zudem gelang es unter Verwendung eines Mediums aus Hähnchentropfsaft, die Überlebensdauer unter Kühltemperaturen (4 °C) zu verlängern. Rasmussen et al. (2013) konnten weiterhin eine Toleranz von *A. butzleri*-Isolaten, überwiegend aus Tupferproben der Eviszerationsgeräte, gegenüber bestimmten, in Schlachthöfen üblichen, Desinfektionsmitteln wie Natriumhypochlorit demonstrieren. Die Mehrheit der *A. butzleri*-Isolate wurden erst bei der maximalen Anwendungskonzentration von 0,5 % Natriumhypochlorit inhibiert. Dies illustriert, dass *A. butzleri* in der Lage ist, die Desinfektion mit Natriumhypochlorit in der Anwendungskonzentration von 0,2 % - 0,5 % zu überleben (Rasmussen et al. 2013). Zudem stellten Houf et al. (2002) eine unzureichende Eliminierung von *Arcobacter* spp. durch die Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen in den von ihnen untersuchten Geflügelschlachthöfen fest. Das Potential, den Reinigungs- und Desinfektionsprozess im Geflügelschlachthof zu überleben, im Zusammenhang mit den weiteren beschriebenen Fähigkeiten von *Arcobacter* spp., könnten diesem Erreger die Möglichkeit geben, sich in der Schlachthofumgebung zu etablieren und sich vermutlich sogar zu vermehren (Gude et al. 2005).

Abschließend betrachtet trägt diese hier vorliegende Studie zum Verständnis der Übertragung von *Arcobacter* spp. im Geflügelschlachthof bei. Die Quelle der Kontamination mit *Arcobacter* spp. konnte jedoch nicht identifiziert werden. Die Ergebnisse deuten allerdings darauf hin, dass die Kreuzkontamination mit *Arcobacter* spp. einen multifaktoriellen Prozess darstellt. In der Produktionslinie der Masthähnchenschlachtung scheint insbesondere die Entfederung der Hähnchenkarkassen eine bedeutende Rolle im Prozess der Kreuzkontamination mit *Arcobacter* spp. einzunehmen. Allerdings bedarf es weiterer Forschung, um die Quelle der Kreuzkontamination und der Übertragungswege von *Arcobacter* spp. in den Geflügelschlachthof zu identifizieren.

6. Zusammenfassung

Arcobacter spp. können häufig aus tierischen Lebensmitteln, v.a. Geflügelfleischprodukten isoliert werden. Allerdings wird die Quelle der Kontamination von Geflügelprodukten mit *Arcobacter* spp. kontrovers diskutiert. Die Ergebnisse verschiedener Studien hinsichtlich der Präsenz von *Arcobacter* spp. im Gastrointestinaltrakt von Masthähnchen sind widersprüchlich. In der hier vorliegenden Studie wurden daher fünf Darmabschnitte an vier bedeutenden Prozessschritten der Schlachtung auf einem Geflügelschlachthof untersucht. Insgesamt wurden 157 Gastrointestinaltrakte von 19 Masthähnchenherden qualitativ und semiquantitativ mittels eines selektiven Anreicherungsverfahrens untersucht. Zur weiteren Speziesverifikation wurde eine mPCR und *ropB*-Sequenzierung angewandt. Zu Beginn des Schlachtprozesses konnten *Arcobacter* spp. nach dem Entbluten nur sporadisch (2/32) und nach dem Brühen nicht (0/32) im Darminhalt detektiert werden. Nach dem Entfedern wurde *Arcobacter* spp. in 62 % (18/29) der Darminhalte detektiert. Dabei konnten in 28 % (8/29) der *duodenalen*, in 21 % (6/29) der *jejunalen*, in 3 % der *caecalen* und in 55 % (16/29) der *rectalen* Darminhalte *Arcobacter* spp. mit Belastungen von ≥ 24.000 MPN/g im *Rectum* nachgewiesen werden. Zudem wurden *Arcobacter* spp. aus 88 % (7/8) der *Rectum*-Gewebeproben isoliert. Im Vergleich hierzu liegen die Prävalenzen und Belastungen mit *Arcobacter* spp. nach der Eviszation auf einem vergleichbaren Level. Die in dieser Studie ermittelten Ergebnisse weisen damit darauf hin, dass *Arcobacter* spp. am ehesten in den Darminhalten der Karkassen nach dem Entfedern und nach der Eviszation zu detektieren sind. Weiterhin unterstützen die Prävalenzen und Belastungen mit *Arcobacter* spp. in *duodenalen* und *jejunalen* Darminhalten sowie in den *Rectum*-Gewebeproben die These eines möglichen Reservoirs von *Arcobacter* spp. im Masthähnchen. Spezifische Kolonisierungsversuche im Masthähnchen könnten weitere Anhaltspunkte zur Rolle des Gastrointestinaltraktes der Tiere als Reservoir für *Arcobacter* spp. liefern.

Darüber hinaus sollte die Möglichkeit der Kreuzkontamination mit *Arcobacter* spp. ausgehend von der Umgebung innerhalb des Schlachthofes in Betracht gezogen werden. Im Schlacht- und Verarbeitungsprozess der in dieser hier vorliegenden Studie untersuchten Masthähnchenschlachtung erweist sich die Entfederung als bedeutender Schritt im Prozess der Kreuzkontamination mit *Arcobacter* spp. Der mechanische Druck, welcher während der Entfederung auf die Karkassen einwirkt, bedarf, hinsichtlich der Möglichkeit eines Rückflusses der Darminhalte bis in die Darmabschnitte *Duodenum* und *Jejunum*, einer eingehenden Untersuchung. Zudem könnten epidemiologische Studien von *Arcobacter*-Schlachthofisolaten weiteren Aufschluß über die möglichen Kontaminationsquellen von *Arcobacter* spp. geben.

Die potentielle Pathogenität von *A. butzleri* und *A. cryaerophilus* in Verbindung mit den hohen Prävalenzen dieser Spezies in Geflügelfleischprodukten und der möglichen Übertragung des Erregers durch den Konsum von kontaminiertem Geflügelfleisch, macht die Notwendigkeit deutlich, die Quelle der Kreuzkontamination mit *Arcobacter* spp. und die Übertragungsrouten dieses Mikroorganismus in den Geflügelschlachthof zu identifizieren.

7. Summary

Prevalence and quantification of *Arcobacter* spp. in the intestinal tract of broiler chicken at the slaughterhouse

Arcobacter spp. are frequently detected in foods of animal origin, particularly in meat products. However, the source of *Arcobacter* contamination of chicken meat products are under debate. Different studies concerning the prevalence of *Arcobacter* spp. in the intestinal content of broiler chicken determined contradictory results. Therefore, in the present study four different parts of the intestines were examined at five significant processing steps during chicken slaughtering in an abattoir. In total, 157 intestinal tracts originating from 19 different broiler chicken flocks were investigated qualitatively and semiquantitatively by selective enrichment. Further species verification was conducted applying mPCR and *rpoB*-sequencing. After the first two processing steps, *Arcobacter* spp. was only sporadically detected in the intestinal contents after bleeding (2/32) and not detected after scalding (0/32). After defeathering, *Arcobacter* spp. were detected in 62 % (18/29) of the intestinal tracts. The prevalences ranged between 28 % (8/29) in the duodenal, 21 % (6/29) in the jejunal, 3 % (1/29) in the caecal and 55 % (16/29) in the rectal contents with loads of $\geq 24,000$ MPN/g in the rectal contents. Furthermore, *Arcobacter* spp. were detected in 88 % (7/8) of the rectal tissue samples. The prevalences and loads of *Arcobacter* spp. in the intestinal contents after evisceration are comparable to those after defeathering. The data determined in the present study indicate that detection of *Arcobacter* spp. in the intestinal contents of broiler chicken carcasses is highly probable after defeathering and after evisceration. Furthermore, the prevalences and loads with *Arcobacter* spp. in the duodenal and jejunal contents as well as in the rectal tissue samples suggest a possible reservoir of *Arcobacter* spp. inside the broiler chicken. Specific colonization trials might provide important data concerning the role of broiler chicken as reservoir for *Arcobacter* spp. In addition, the possibility of cross-contamination with *Arcobacter* spp. originating from the environment inside the slaughterhouse need to be considered. In the process of broiler chicken slaughter examined in this study, the defeathering step appears to be of importance concerning cross-contamination with *Arcobacter* spp. The mechanical pressure released on the carcasses during the defeathering process needs to be investigated in detail concerning a possible reflux of the intestinal contents towards the *duodenum* and *jejunum*. Additionally, epidemiological studies are necessary to identify the source of cross-contamination with *Arcobacter* spp. in the chicken slaughterhouse.

The potential pathogenicity of the species *A. butzleri* and *A. cryaerophilus* together with the high prevalences of these species in chicken meat and the possible transmission via consumption of contaminated chicken meat highlight the necessity to identify the source of cross-contamination with *Arcobacter* spp. and their transmission route into the chicken slaughterhouse.

8. Literaturverzeichnis

- Adesiji, Y. O., A. O. Coker and J. K. Oloke (2011). "Detection of Arcobacter in Feces of Healthy Chickens in Osogbo, Nigeria." Journal of Food Protection **74**(1): 119-121.
- Allen, V. M., M. H. Hinton, D. B. Tinker, C. Gibson, G. C. Mead and C. M. Wathes (2003). "Microbial cross-contamination by airborne dispersion and contagion during defeathering of poultry." Br Poult Sci **44**(4): 567-576.
- Amisu, K. O., A. O. Coker, S. L. On and R. D. Isokpehi (2003). "Arcobacter butzleri strains from poultry abattoir effluent in Nigeria [corrected]." East Afr Med J **80**(4): 218-222.
- Andersen, M. M., I. V. Wesley, E. Nestor and D. W. Trampel (2007). "Prevalence of Arcobacter species in market-weight commercial turkeys." Antonie Van Leeuwenhoek **92**(3): 309-317.
- Arbeit (1995). "Molecular methods for bacterial strain typing; approved guideline."
- Arguello, E., C. C. Otto, P. Mead and N. E. Babady (2015). "Bacteremia caused by Arcobacter butzleri in an immunocompromised host." J Clin Microbiol **53**(4): 1448-1451.
- Assanta, M. A., D. Roy, M. J. Lemay and D. Montpetit (2002). "Attachment of Arcobacter butzleri, a new waterborne pathogen, to water distribution pipe surfaces." J Food Prot **65**(8): 1240-1247.
- Atabay, H. I., F. Aydin, K. Houf, M. Sahin and P. Vandamme (2003). "The prevalence of Arcobacter spp. on chicken carcasses sold in retail markets in Turkey, and identification of the isolates using SDS-PAGE." Int J Food Microbiol **81**(1): 21-28.
- Atabay, H. I., D. D. Bang, F. Aydin, H. M. Erdogan and M. Madsen (2002). "Discrimination of Arcobacter butzleri isolates by polymerase chain reaction-mediated DNA fingerprinting." Lett Appl Microbiol **35**(2): 141-145.
- Atabay, H. I. and J. E. Corry (1997). "The prevalence of campylobacters and arcobacters in broiler chickens." J Appl Microbiol **83**(5): 619-626.
- Atabay, H. I., J. E. Corry and S. L. On (1998). "Diversity and prevalence of Arcobacter spp. in broiler chickens." J Appl Microbiol **84**(6): 1007-1016.
- Atabay, H. I., A. Unver, M. Sahin, S. Otlu, M. Elmali and H. Yaman (2008). "Isolation of various Arcobacter species from domestic geese (Anser anser)." Vet Microbiol **128**(3-4): 400-405.
- Atabay, H. I., M. Waino and M. Madsen (2006). "Detection and diversity of various Arcobacter species in Danish poultry." Int J Food Microbiol **109**(1-2): 139-145.
- Aydin, F., K. S. Gumussoy, H. I. Atabay, T. Ica and S. Abay (2007). "Prevalence and distribution of Arcobacter species in various sources in Turkey and molecular analysis of isolated strains by ERIC-PCR." J Appl Microbiol **103**(1): 27-35.
- Brückner, V., U. Fiebiger, R. Ignatius, J. Friesen, M. Eisenblatter, M. Hock, T. Alter, S. Bereswill, G. Golz and M. M. Heimesaat (2020). "Prevalence and antimicrobial susceptibility of Arcobacter species in human stool samples derived from out- and inpatients: the prospective German Arcobacter prevalence study Arcopath." Gut Pathog **12**: 21.

- Brückner, V., U. Fiebiger, R. Ignatius, J. Friesen, M. Eisenblätter, M. Hock, T. Alter, S. Bereswill, M. M. Heimesaat and G. Golz (2020). "Characterization of Arcobacter strains isolated from human stool samples: results from the prospective German prevalence study Arcopath." Gut Pathog **12**: 3.
- Bücker, R., H. Troeger, J. Kleer, M. Fromm and J. D. Schulzke (2009). "Arcobacter butzleri Induces Barrier Dysfunction in Intestinal HT-29/B6 Cells." Journal of Infectious Diseases **200**(5): 756-764.
- Carbone, M., T. L. Maugeri, M. Giannone, C. Gugliandolo, A. Midiri and M. T. Fera (2003). "Adherence of environmental Arcobacter butzleri and Vibrio spp. isolates to epithelial cells in vitro." Food Microbiology **20**(5): 611-616.
- Celik, C. and S. Ikiz (2019). "The Investigation of the Presence and Antimicrobial Profiles Arcobacter Species in Sheep Carcasses and Feces." Acta Veterinaria Eurasia **45**(2): 42-49.
- Celik, E., A. G. Saglam, O. Celebi and S. Otlu (2018). "Isolation of Arcobacter spp. from domestic ducks and geese and identification of the recovered isolates by using molecular method." Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences **42**(5): 467-472.
- Cervenka, L. (2007). "Survival and inactivation of Arcobacter spp., a current status and future prospect." Crit Rev Microbiol **33**(2): 101-108.
- Chinivasagam, H. N., B. G. Corney, L. L. Wright, I. S. Diallo and P. J. Blackall (2007). "Detection of Arcobacter spp. in piggery effluent and effluent-irrigated soils in southeast Queensland." J Appl Microbiol **103**(2): 418-426.
- Collado, L. and M. J. Figueras (2011). "Taxonomy, epidemiology, and clinical relevance of the genus Arcobacter." Clin Microbiol Rev **24**(1): 174-192.
- Collado, L., J. Guarro and M. J. Figueras (2009). "Prevalence of Arcobacter in meat and shellfish." J Food Prot **72**(5): 1102-1106.
- Collado, L., I. Inza, J. Guarro and M. J. Figueras (2008). "Presence of Arcobacter spp. in environmental waters correlates with high levels of fecal pollution." Environ Microbiol **10**(6): 1635-1640.
- Collado, L., G. Kasimir, U. Perez, A. Bosch, R. Pinto, G. Saucedo, J. M. Huguet and M. J. Figueras (2010). "Occurrence and diversity of Arcobacter spp. along the Llobregat River catchment, at sewage effluents and in a drinking water treatment plant." Water Res **44**(12): 3696-3702.
- Collins, C. I., I. V. Wesley and E. A. Murano (1996). "Detection of Arcobacter spp in ground pork by modified plating methods." Journal of Food Protection **59**(5): 448-452.
- Corry, J. E. L. and H. I. Atabay (2001). "Poultry as a source of Campylobacter and related organisms." J Appl Microbiol **90**: 96s-114s.
- Cordoba-Calderon, O., M. Redondo-Solano, E. Castro-Arias and I. M. Arias-Echand (2017). "Arcobacter Isolation from Minced Beef Samples in Costa Rica." J Food Prot: 775-778.
- De Boer, E., J. J. H. C. Tilburg, D. L. Woodward, H. Lior and W. M. Johnson (1996). "A selective medium for the isolation of Arcobacter from meats." Letters in Applied Microbiology **23**(1): 64-66.

- de Oliveira, M. G. X., V. T. D. Gomes, M. P. V. Cunha, L. Z. Moreno, A. M. Moreno and T. Knobl (2018). "Genotypic Characterization of *Arcobacter* spp. Isolated from Chicken Meat in Brazil." Foodborne Pathogens and Disease **15**(5): 293-299.
- Dekker, D., D. Eibach, K. G. Boahen, C. W. Akenten, Y. Pfeifer, A. E. Zautner, E. Mertens, R. Krumkamp, A. Jaeger, A. Flieger, E. Owusu-Dabo and J. May (2019). "Fluoroquinolone-Resistant *Salmonella enterica*, *Campylobacter* spp., and *Arcobacter butzleri* from Local and Imported Poultry Meat in Kumasi, Ghana." Foodborne Pathog Dis **16**(5): 352-358.
- De Smet, S., L. De Zutter, L. Debruyne, F. Vangroenweghe, P. Vandamme and K. Houf (2011). "Arcobacter population dynamics in pigs on farrow-to-finish farms." Appl Environ Microbiol **77**(5): 1732-1738.
- De Smet, S., L. De Zutter, J. Van Hende and K. Houf (2010). "Arcobacter contamination on pre- and post-chilled bovine carcasses and in minced beef at retail." J Appl Microbiol **108**(1): 299-305.
- Doudah, L., L. de Zutter, J. Bare, P. De Vos, P. Vandamme, O. Vandenberg, A. M. Van den Abeele and K. Houf (2012). "Occurrence of putative virulence genes in arcobacter species isolated from humans and animals." J Clin Microbiol **50**(3): 735-741.
- Eifert, J. D., R. M. Castle, F. W. Pierson, C. T. Larsen and C. R. Hackney (2003). "Comparison of sampling techniques for detection of *Arcobacter butzleri* from chickens." Poult Sci **82**(12): 1898-1902.
- Ellis, W. A., S. D. Neill, J. J. O'Brien, H. W. Ferguson and J. Hanna (1977). "Isolation of *Spirillum/Vibrio*-like organisms from bovine fetuses." Vet Rec **100**(21): 451-452.
- Engberg, J., S. L. On, C. S. Harrington and P. Gerner-Smidt (2000). "Prevalence of *Campylobacter*, *Arcobacter*, *Helicobacter*, and *Sutterella* spp. in human fecal samples as estimated by a reevaluation of isolation methods for *Campylobacters*." J Clin Microbiol **38**(1): 286-291.
- Fallas-Padilla, K. L., C. E. Rodriguez-Rodriguez, H. F. Jaramillo and M. L. A. Echandi (2014). "Arcobacter: Comparison of Isolation Methods, Diversity, and Potential Pathogenic Factors in Commercially Retailed Chicken Breast Meat from Costa Rica." Journal of Food Protection **77**(6): 880-884.
- Fera, M. T., E. La Camera, M. Carbone, D. Malara and M. G. Pennisi (2009). "Pet cats as carriers of *Arcobacter* spp. in Southern Italy." J Appl Microbiol **106**(5): 1661-1666.
- Fernandez, H., S. Krause and M. P. Villanueva (2004). "Arcobacter butzleri an emerging enteropathogen: Communication of two cases with chronic diarrhea." Brazilian Journal of Microbiology **35**(3): 216-218.
- Fernandez, H., F. Vera and M. P. Villanueva (2007). "Arcobacter and *Campylobacter* species in birds and mammals from Southern Chile." Archivos De Medicina Veterinaria **39**(2): 163-165.
- Ferreira, S., M. J. Fraqueza, J. A. Queiroz, F. C. Domingues and M. Oleastro (2013). "Genetic diversity, antibiotic resistance and biofilm-forming ability of *Arcobacter butzleri* isolated from poultry and environment from a Portuguese slaughterhouse." Int J Food Microbiol **162**(1): 82-88.
- Ferreira, S., J. A. Queiroz, M. Oleastro and F. C. Domingues (2016). "Insights in the pathogenesis and resistance of *Arcobacter*: A review." Crit Rev Microbiol **42**(3): 364-383.

- Fong, T. T., L. S. Mansfield, D. L. Wilson, D. J. Schwab, S. L. Molloy and J. B. Rose (2007). "Massive microbiological groundwater contamination associated with a waterborne outbreak in Lake Erie, South Bass Island, Ohio." Environ Health Perspect **115**(6): 856-864.
- Giacometti, F., A. Lucchi, A. Di Francesco, M. Delogu, E. Grilli, I. Guarniero, L. Stancampiano, G. Manfreda, G. Meriardi and A. Serraino (2015). "Arcobacter butzleri, Arcobacter cryaerophilus, and Arcobacter skirrowii Circulation in a Dairy Farm and Sources of Milk Contamination." Appl Environ Microbiol **81**(15): 5055-5063.
- Golla, S. C., E. A. Murano, L. G. Johnson, N. C. Tipton, E. A. Cureington and J. W. Savell (2002). "Determination of the occurrence of Arcobacter butzleri in beef and dairy cattle from Texas by various isolation methods." J Food Prot **65**(12): 1849-1853.
- Gölz, G., T. Alter, S. Bereswill and M. M. Heimesaat (2016). "The Immunopathogenic Potential of Arcobacter butzleri - Lessons from a Meta-Analysis of Murine Infection Studies." Plos One **11**(7).
- Gölz, G., G. Karadas, M. E. Alutis, A. Fischer, A. A. Kuhl, A. Breithaupt, U. B. Gobel, T. Alter, S. Bereswill and M. M. Heimesaat (2015). "Arcobacter butzleri Induce Colonic, Extra-Intestinal and Systemic Inflammatory Responses in Gnotobiotic IL-10 Deficient Mice in a Strain-Dependent Manner." Plos One **10**(9).
- Goni, D. M., S. Abdulaziz, G. K. Dhaliwa, Z. Zakaria, I. J. Muhammad, M. A. Mohamed, A. A. Bello and A. A. Bitrus (2016). "Occurrence of Arcobacter in dogs and cats in Selangor, Malaysia, and associated risk factors." Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences **40**(6): 769-775.
- Gonzalez, A., S. Botella, R. M. Montes, Y. Moreno and M. A. Ferrus (2007). "Direct detection and identification of Arcobacter species by multiplex PCR in chicken and wastewater samples from Spain." J Food Prot **70**(2): 341-347.
- Gonzalez, I., S. Fernandez-Tome, T. Garcia and R. Martin (2014). "Genus-specific PCR assay for screening Arcobacter spp. in chicken meat." J Sci Food Agric **94**(6): 1218-1224.
- Gonzalez, I., T. Garcia, A. Antolin, P. E. Hernandez and R. Martin (2000). "Development of a combined PCR-culture technique for the rapid detection of Arcobacter spp. in chicken meat." Lett Appl Microbiol **30**(3): 207-212.
- Gonzalez, I., T. Garcia, S. Fernandez and R. Martin (2012). "Current Status on Arcobacter Research: An Update on DNA-Based Identification and Typing Methodologies." Food Analytical Methods **5**(5): 956-968.
- Gude, A., T. J. Hillman, C. R. Helps, V. M. Allen and J. E. Corry (2005). "Ecology of Arcobacter species in chicken rearing and processing." Lett Appl Microbiol **41**(1): 82-87.
- Hamir, A. N., R. J. Sonn, S. Franklin and I. V. Wesley (2004). "Campylobacter jejuni and Arcobacter species associated with intussusception in a raccoon (Procyon lotor)." Vet Rec **155**(11): 338-340.
- Harrass, B., S. Schwarz and S. Wenzel (1998). "Identification and characterization of Arcobacter isolates from broilers by biochemical tests, antimicrobial resistance patterns and plasmid analysis." Journal of Veterinary Medicine Series B-Infectious Diseases and Veterinary Public Health **45**(2): 87-94.

- Heimesaat, M. M., G. Karadas, M. Alutis, A. Fischer, A. A. Kuhl, A. Breithaupt, U. B. Gobel, T. Alter, S. Bereswill and G. Götz (2015). "Survey of small intestinal and systemic immune responses following murine *Arcobacter butzleri* infection." *Gut Pathogens* **7**.
- Hilton, C. L., B. M. Mackey, A. J. Hargreaves and S. J. Forsythe (2001). "The recovery of *Arcobacter butzleri* NCTC 12481 from various temperature treatments." *J Appl Microbiol* **91**(5): 929-932.
- Ho, H. T., L. J. Lipman and W. Gaastra (2006). "Arcobacter, what is known and unknown about a potential foodborne zoonotic agent!" *Vet Microbiol* **115**(1-3): 1-13.
- Ho, H. T., L. J. Lipman and W. Gaastra (2008). "The introduction of *Arcobacter* spp. in poultry slaughterhouses." *Int J Food Microbiol* **125**(3): 223-229.
- Ho, T. K., L. J. Lipman, L. van der Graaf-van Bloois, M. van Bergen and W. Gaastra (2006). "Potential routes of acquisition of *Arcobacter* species by piglets." *Vet Microbiol* **114**(1-2): 123-133.
- Houf, K. (2002a). "Assessment of the genetic diversity among arcobacters isolated from poultry products by using two PCR-based typing methods."
- Houf, K., S. De Smet, J. Bare and S. Daminet (2008). "Dogs as carriers of the emerging pathogen *Arcobacter*." *Vet Microbiol* **130**(1-2): 208-213.
- Houf, K., L. De Zutter, J. Van Hoof and P. Vandamme (2002). "Occurrence and distribution of *Arcobacter* species in poultry processing." *J Food Prot* **65**(8): 1233-1239.
- Houf, K., L. De Zutter, B. Verbeke, J. Van Hoof and P. Vandamme (2003). "Molecular characterization of *Arcobacter* isolates collected in a poultry slaughterhouse." *J Food Prot* **66**(3): 364-369.
- Houf, K., L. A. Devriese, L. De Zutter, J. Van Hoof and P. Vandamme (2001). "Development of a new protocol for the isolation and quantification of *Arcobacter* species from poultry products." *Int J Food Microbiol* **71**(2-3): 189-196.
- Houf, K., L. A. Devriese, F. Haesebrouck, O. Vandenberg, J. P. Butzler, J. van Hoof and P. Vandamme (2004). "Antimicrobial susceptibility patterns of *Arcobacter butzleri* and *Arcobacter cryaerophilus* strains isolated from humans and broilers." *Microb Drug Resist* **10**(3): 243-247.
- Houf, K., S. L. On, T. Coenye, L. Debruyne, S. De Smet and P. Vandamme (2009). "*Arcobacter thereius* sp. nov., isolated from pigs and ducks." *Int J Syst Evol Microbiol* **59**(Pt 10): 2599-2604.
- Houf, K., S. L. On, T. Coenye, J. Mast, J. Van Hoof and P. Vandamme (2005). "*Arcobacter cibarius* sp. nov., isolated from broiler carcasses." *Int J Syst Evol Microbiol* **55**(Pt 2): 713-717.
- Houf, K. and R. Stephan (2007). "Isolation and characterization of the emerging foodborn pathogen *Arcobacter* from human stool" *J Microbiol Methods* **68**(2): 408-413.
- Houf, K., A. Tuteneel, L. De Zutter, J. Van Hoof and P. Vandamme (2000). "Development of a multiplex PCR assay for the simultaneous detection and identification of *Arcobacter butzleri*, *Arcobacter cryaerophilus* and *Arcobacter skirrowii*." *FEMS Microbiol Lett* **193**(1): 89-94.
- Hsu, T. T. D. and J. Lee (2015). "Global Distribution and Prevalence of *Arcobacter* in Food and Water." *Zoonoses and Public Health* **62**(8): 579-589.

- Hsueh, P. R., L. J. Teng, P. C. Yang, S. K. Wang, S. C. Chang, S. W. Ho, W. C. Hsieh and K. T. Luh (1997). "Bacteremia caused by *Arcobacter cryaerophilus* 1B." J Clin Microbiol **35**(2): 489-491.
- Hulton, C. S., C. F. Higgins and P. M. Sharp (1991). "ERIC sequences: a novel family of repetitive elements in the genomes of *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* and other enterobacteria." Mol Microbiol **5**(4): 825-834.
- Hume, M. E., R. B. Harvey, L. H. Stanker, R. E. Droleskey, T. L. Poole and H. B. Zhang (2001). "Genotypic variation among *arcobacter* isolates from a farrow-to-finish swine facility." J Food Prot **64**(5): 645-651.
- ICMSF, I. C. o. M. S. f. F. (2002). Microbiological testing in food safety management. R. B. Tompkin. New York, NY, Kluwer Academic/Plenum Publishers. **7**: 171.
- Inoue, A., Y. Murata, H. Takahashi, N. Tsuji, S. Fujisaki and J. Kato (2008). "Involvement of an essential gene, *mviN*, in murein synthesis in *Escherichia coli*." J Bacteriol **190**(21): 7298-7301.
- Isidro, J., S. Ferreira, M. Pinto, F. Domingues, M. Oleastro, J. P. Gomes and V. Borges (2020). "Virulence and antibiotic resistance plasticity of *Arcobacter butzleri*: Insights on the genomic diversity of an emerging human pathogen." Infect Genet Evol **80**: 104213.
- Jang, K. I., M. G. Kim, S. D. Ha, K. S. Kim, K. H. Lee, D. H. Chung, C. H. Kim and K. Y. Kim (2007). "Morphology and adhesion of *Campylobacter jejuni* to chicken skin under varying conditions." J Microbiol Biotechnol **17**(2): 202-206.
- Johnson, L. G. and E. A. Murano (1999). "Comparison of three protocols for the isolation of *Arcobacter* from poultry." J Food Prot **62**(6): 610-614.
- Johnson, L. G. and E. A. Murano (2002). "Lack of a cytolethal distending toxin among *Arcobacter* isolates from various sources." J Food Prot **65**(11): 1789-1795.
- Jribi, H., H. Sellami, S. B. Amor, A. Ducournau, E. E. Sifr, L. Benejat, M. E. F and R. Gdoura (2020). "Occurrence and Antibiotic Resistance of *Arcobacter* Species Isolates from Poultry in Tunisia." J Food Prot **83**(12): 2080-2086.
- Kabeya, H., S. Maruyama, Y. Morita, M. Kubo, K. Yamamoto, S. Arai, T. Izumi, Y. Kobayashi, Y. Katsube and T. Mikami (2003). "Distribution of *Arcobacter* species among livestock in Japan." Vet Microbiol **93**(2): 153-158.
- Kabeya, H., S. Maruyama, Y. Morita, T. Ohsuga, S. Ozawa, Y. Kobayashi, M. Abe, Y. Katsube and T. Mikami (2004). "Prevalence of *Arcobacter* species in retail meats and antimicrobial susceptibility of the isolates in Japan." Int J Food Microbiol **90**(3): 303-308.
- Karadas, G., R. Bücken, S. Sharbati, J. D. Schulzke, T. Alter and G. Gözl (2016). "*Arcobacter butzleri* isolates exhibit pathogenic potential in intestinal epithelial cell models." J Appl Microbiol **120**(1): 218-225.
- Karadas, G., S. Sharbati, I. Hanel, U. Messelhauser, E. Glocker, T. Alter and G. Gözl (2013). "Presence of virulence genes, adhesion and invasion of *Arcobacter butzleri*." J Appl Microbiol **115**(2): 583-590.

- Kayman, T., S. Abay, H. Hizlisoy, H. I. Atabay, K. S. Diker and F. Aydin (2012). "Emerging pathogen *Arcobacter* spp. in acute gastroenteritis: molecular identification, antibiotic susceptibilities and genotyping of the isolated arcobacters." J Med Microbiol **61**(Pt 10): 1439-1444.
- Khoshbakht, R., M. Tabatabaei, H. Shirzad Aski and S. Seifi (2014). "Occurrence of *Arcobacter* in Iranian poultry and slaughterhouse samples implicates contamination by processing equipment and procedures." Br Poult Sci **55**(6): 732-736.
- Kjeldgaard, J., K. Jorgensen and H. Ingmer (2009). "Growth and survival at chiller temperatures of *Arcobacter butzleri*." Int J Food Microbiol **131**(2-3): 256-259.
- König, E., Korbelt, R., Liebich, H.-G. (2009). "Anatomie der Vögel, Klinische Aspekte und Propädeutik." (2. Aufl.). Schattauer GmbH, Stuttgart, Germany
- Kopilovic, B., V. Ucakar, N. Koren, M. Krek and A. Kraigher (2008). "Waterborne outbreak of acute gastroenteritis in a coastal area in Slovenia in June and July 2008." Euro Surveill **13**(34).
- Korczak, B. M., R. Stieber, S. Emler, A. P. Burnens, J. Frey and P. Kuhnert (2006). "Genetic relatedness within the genus *Campylobacter* inferred from *rpoB* sequences." Int J Syst Evol Microbiol **56**(Pt 5): 937-945.
- Kristensen, J. M., Nierychlo, M., Albertsen, M., Nielsen, P. H. (2020). "Bacteria from the Genus *Arcobacter* are abundant in Effluent from Wastewater Treatment Plants." Appl Environ Microbiol **86**(9)
- Lappi, V., J. R. Archer, E. Cebelinski, F. Leano, J. M. Besser, R. F. Klos, C. Medus, K. E. Smith, C. Fitzgerald and J. P. Davis (2013). "An Outbreak of Foodborne Illness Among Attendees of a Wedding Reception in Wisconsin Likely Caused by *Arcobacter butzleri*." Foodborne Pathogens and Disease **10**(3): 250-255.
- Lau, S. K., P. C. Woo, J. L. Teng, K. W. Leung and K. Y. Yuen (2002). "Identification by 16S ribosomal RNA gene sequencing of *Arcobacter butzleri* bacteraemia in a patient with acute gangrenous appendicitis." Mol Pathol **55**(3): 182-185.
- Lee, M. H., D. S. Cheon, S. Choi, B. H. Lee, J. Y. Jung and C. Choi (2010). "Prevalence of *Arcobacter* species isolated from retail meats in Korea." J Food Prot **73**(7): 1313-1316.
- Lehner, A., T. Tasara and R. Stephan (2005). "Relevant aspects of *Arcobacter* spp. as potential foodborne pathogen." Int J Food Microbiol **102**(2): 127-135.
- Levican, A., L. Collado, C. Yustes, C. Aguilar and M. J. Figueras (2014). "Higher water temperature and incubation under aerobic and microaerobic conditions increase the recovery and diversity of *Arcobacter* spp. from shellfish." Appl Environ Microbiol **80**(1): 385-391.
- Mandisodza, O., E. Burrows and M. Nulsen (2012). "Arcobacter species in diarrhoeal faeces from humans in New Zealand." N Z Med J **125**(1353): 40-46.
- Manke, T. R., I. V. Wesley, J. S. Dickson and K. M. Harmon (1998). "Prevalence and genetic variability of *Arcobacter* species in mechanically separated turkey." J Food Prot **61**(12): 1623-1628.
- Merga, J. Y., A. Royden, A. K. Pandey and N. J. Williams (2014). "Arcobacter spp. isolated from untreated domestic effluent." Lett Appl Microbiol **59**(1): 122-126.

- Merga, J. Y., N. J. Williams, W. G. Miller, A. J. Leatherbarrow, M. Bennett, N. Hall, K. E. Ashelford and C. Winstanley (2013). "Exploring the diversity of *Arcobacter butzleri* from cattle in the UK using MLST and whole genome sequencing." PLoS One **8**(2): e55240.
- Miller, W. G., C. T. Parker, M. Rubenfield, G. L. Mendz, M. M. Wosten, D. W. Ussery, J. F. Stolz, T. T. Binnewies, P. F. Hallin, G. Wang, J. A. Malek, A. Rogosin, L. H. Stanker and R. E. Mandrell (2007). "The complete genome sequence and analysis of the epsilonproteobacterium *Arcobacter butzleri*." PLoS One **2**(12): e1358.
- Moreno, Y., J. L. Alonso, S. Botella, M. A. Ferrus and J. Hernandez (2004). "Survival and injury of *Arcobacter* after artificial inoculation into drinking water." Res Microbiol **155**(9): 726-730.
- Morita, Y., S. Maruyama, H. Kabeya, S. Boonmar, B. Nimsuphan, A. Nagai, K. Kozawa, T. Nakajima, T. Mikami and H. Kimura (2004). "Isolation and phylogenetic analysis of *arcobacter* spp. in ground chicken meat and environmental water in Japan and Thailand." Microbiol Immunol **48**(7): 527-533.
- On, S. L., A. Stacey and J. Smyth (1995). "Isolation of *Arcobacter butzleri* from a neonate with bacteraemia." J Infect **31**(3): 225-227.
- On, S. L. W., T. K. Jensen, V. Bille-Hansen, S. E. Jorsal and P. Vandamme (2002). "Prevalence and diversity of *Arcobacter* spp. isolated from the internal organs of spontaneous porcine abortions in Denmark." Veterinary Microbiology **85**(2): 159-167.
- Ongor (2004). "Investigation of *arcobacters* in meat and caecal samples of clinically healthy cattle in turkey."
- Patyal, A., R. S. Rathore, H. V. Mohan, K. Dhama and A. Kumar (2011). "Prevalence of *Arcobacter* spp. in humans, animals and foods of animal origin including sea food from India." Transbound Emerg Dis **58**(5): 402-410.
- Pejchalova, M., E. Dostalikova, M. Slamova, I. Brozkova and J. Vytrasova (2008). "Prevalence and diversity of *Arcobacter* spp. in the Czech Republic." J Food Prot **71**(4): 719-727.
- Pejchalova, M., S. Zabcikova, L. Silhova, D. Silha, I. Brozkova and M. Haslova (2016). "Presence of *Arcobacter* species in pet cats and dogs in czech republic." Veterinari Medicina **61**: 449-455.
- Perez-Cataluna, A., N. Salas-Masso and M. J. Figueras (2019). "*Arcobacter lacus* sp. nov. and *Arcobacter caeni* sp. nov., two novel species isolated from reclaimed water." Int J Syst Evol Microbiol **69**(11): 3326-3331.
- Phillips, C., Bates, P. (2004). "The survival of *Arcobacter butzleri*, an emerging human pathogen, in the presence of acids or ethanol." Nutrition & Food Science **34**: 210-215.
- Prouzet-Mauleon, V., L. Labadi, N. Bouges, A. Menard and F. Megraud (2006). "*Arcobacter butzleri*: Underestimated enteropathogen." Emerging Infectious Diseases **12**(2): 307-309.
- Rahimi, E., H. Hormozipoor, M. G. Ahangaran and F. Yazdi (2012). "Prevalence of *Arcobacter* species on chicken carcasses during processing in Iran." Journal of Applied Poultry Research **21**(2): 407-412.
- Rahimi, E. (2014). "Prevalence and antimicrobial resistance of *Arcobacter* species isolated from poultry meat in Iran." Br Poult Sci **55**(2): 174-180.

- Ramees, T. P., K. Dhama, K. Karthik, R. S. Rathore, A. Kumar, M. Saminathan, R. Tiwari, Y. S. Malik and R. K. Singh (2017). "Arcobacter: an emerging food-borne zoonotic pathogen, its public health concerns and advances in diagnosis and control - a comprehensive review." Vet Q **37**(1): 136-161.
- Rasmussen, L. H., J. Kjeldgaard, J. P. Christensen and H. Ingmer (2013). "Multilocus sequence typing and biocide tolerance of Arcobacter butzleri from Danish broiler carcasses." BMC Res Notes **6**: 322.
- Rice, E. W., M. R. Rodgers, I. V. Wesley, C. H. Johnson and S. A. Tanner (1999). "Isolation of Arcobacter butzleri from ground water." Lett Appl Microbiol **28**(1): 31-35.
- Rivas, L., N. Fegan and P. Vanderlinde (2004). "Isolation and characterisation of Arcobacter butzleri from meat." Int J Food Microbiol **91**(1): 31-41.
- Ruiz, N. (2008). "Bioinformatics identification of MurJ (MviN) as the peptidoglycan lipid II flippase in Escherichia coli." Proc Natl Acad Sci U S A **105**(40): 15553-15557.
- Scullion, R., C. S. Harrington and R. H. Madden (2004). "A comparison of three methods for the isolation of Arcobacter spp. from retail raw poultry in Northern Ireland." J Food Prot **67**(4): 799-804.
- Scullion, R., C. S. Harrington and R. H. Madden (2006). "Prevalence of Arcobacter spp. in raw milk and retail raw meats in Northern Ireland." J Food Prot **69**(8): 1986-1990.
- Shah, A. H., A. A. Saleha, M. Murugaiyah, Z. Zunita and A. A. Memon (2012). "Prevalence and Distribution of Arcobacter spp. in Raw Milk and Retail Raw Beef." Journal of Food Protection **75**(8): 1474-1478.
- Shah, A. H., A. A. Saleha, Z. Zunita, M. Murugaiyah, A. B. Aliyu and N. Jafri (2013). "Prevalence, distribution and antibiotic resistance of emergent Arcobacter spp. from clinically healthy cattle and goats." Transbound Emerg Dis **60**(1): 9-16.
- Son, I., M. D. Englen, M. E. Berrang, P. J. Fedorka-Cray and M. A. Harrison (2007). "Prevalence of Arcobacter and Campylobacter on broiler carcasses during processing." Int J Food Microbiol **113**(1): 16-22.
- Takahara, R., M. Shiono, K. Matsuda, T. Matsumoto, H. Kishi, T. Hoshino, T. Ishioka and Y. Morita (2008). "Prevalence of Campylobacter, Arcobacter and Salmonella spp. in captured dogs in Gunma Prefecture." Journal of the Japan Veterinary Medical Association **61**: 725-728.
- Van den Abeele, A. M., D. Vogelaers, J. Van Hende and K. Houf (2014). "Prevalence of Arcobacter Species among Humans, Belgium, 2008-2013." Emerging Infectious Diseases **20**(10): 1731-1734.
- Van Driessche, E. and K. Houf (2007). "Characterization of the Arcobacter contamination on Belgian pork carcasses and raw retail pork." International Journal of Food Microbiology **118**(1): 20-26.
- Van Driessche, E. and K. Houf (2007). "Discrepancy between the occurrence of Arcobacter in chickens and broiler carcass contamination." Poult Sci **86**(4): 744-751.
- Van Driessche, E. and K. Houf (2008). "Survival capacity in water of Arcobacter species under different temperature conditions." J Appl Microbiol **105**(2): 443-451.

- Van Driessche, E., K. Houf, J. van Hoof, L. De Zutter and P. Vandamme (2003). "Isolation of Arcobacter species from animal feces." FEMS Microbiol Lett **229**(2): 243-248.
- Van Driessche, E., K. Houf, F. Vangroenweghe, L. De Zutter and J. Van Hoof (2005). "Prevalence, enumeration and strain variation of Arcobacter species in the faeces of healthy cattle in Belgium." Vet Microbiol **105**(2): 149-154.
- Van Driessche, E., K. Houf, F. Vangroenweghe, N. Nollet, L. De Zutter, P. Vandamme and J. Van Hoof (2004). "Occurrence and strain diversity of Arcobacter species isolated from healthy Belgian pigs." Research in Microbiology **155**(8): 662-666.
- Vandamme, P., E. Falsen, R. Rossau, B. Hoste, P. Segers, R. Tytgat and J. De Ley (1991). "Revision of Campylobacter, Helicobacter, and Wolinella taxonomy: emendation of generic descriptions and proposal of Arcobacter gen. nov." Int J Syst Bacteriol **41**(1): 88-103.
- Vandamme, P., P. Pugina, G. Benzi, R. Van Etterijck, L. Vlaes, K. Kersters, J. P. Butzler, H. Lior and S. Lauwers (1992). "Outbreak of recurrent abdominal cramps associated with Arcobacter butzleri in an Italian school." J Clin Microbiol **30**(9): 2335-2337.
- Vandamme, P., M. Vancanneyt, B. Pot, L. Mels, B. Hoste, D. Dewettinck, L. Vlaes, C. van den Borre, R. Higgins, J. Hommeze and et al. (1992). "Polyphasic taxonomic study of the emended genus Arcobacter with Arcobacter butzleri comb. nov. and Arcobacter skirrowii sp. nov., an aerotolerant bacterium isolated from veterinary specimens." Int J Syst Bacteriol **42**(3): 344-356.
- Vandenberg, O., A. Dediste, K. Houf, S. Ibekwem, H. Souayah, S. Cadranel, N. Douat, G. Zissis, J. P. Butzler and P. Vandamme (2004). "Arcobacter species in humans." Emerg Infect Dis **10**(10): 1863-1867.
- Vidal-Veuthy, B., R. Jara, K. Santander, A. Mella, S. Ruiz and L. Collado (2020). "Antimicrobial resistance and virulence genes profiles of Arcobacter butzleri strains isolated from back yard chickens and retail poultry meat in Chile." Lett Appl Microbiol.
- Villarruel-Lopez, A., M. Marquez-Gonzalez, L. E. Garay-Martinez, H. Zepeda, A. Castillo, L. Mota de la Garza, E. A. Murano and R. Torres-Vitela (2003). "Isolation of Arcobacter spp. from retail meats and cytotoxic effects of isolates against vero cells." J Food Prot **66**(8): 1374-1378.
- Vindigni, S. M., A. Srijan, B. Wongstitwilairoong, R. Marcus, J. Meek, P. L. Riley and C. Mason (2007). "Prevalence of foodborne microorganisms in retail foods in Thailand." Foodborne Pathogens and Disease **4**(2): 208-215.
- Vytrasova, J., M. Pejchalova, K. Harsova and S. Binova (2003). "Isolation of Arcobacter butzleri and A. cryaerophilus in samples of meats and from meat-processing plants by a culture technique and detection by PCR." Folia Microbiol (Praha) **48**(2): 227-232.
- Webb, A. L., V. F. Boras, P. Kruczkiewicz, L. B. Selinger, E. N. Taboada and G. D. Inglis (2016). "Comparative Detection and Quantification of Arcobacter butzleri in Stools from Diarrheic and Nondiarrheic People in Southwestern Alberta, Canada." J Clin Microbiol **54**(4): 1082-1088.
- Wesley, I. V. and A. L. Baetz (1999). "Natural and experimental infections of Arcobacter in poultry." Poult Sci **78**(4): 536-545.
- Wesley, I. V., A. L. Baetz and D. J. Larson (1996). "Infection of cesarean-derived colostrum-deprived 1-day-old piglets with Arcobacter butzleri, Arcobacter cryaerophilus, and Arcobacter skirrowii." Infect Immun **64**(6): 2295-2299.

- Wesley, I. V. and W. G. Miller (2010). "Arcobacter: an Opportunistic Human Food-Borne Pathogen?" Emerging Infections **9**: 185-212.
- Wesley, I. V., S. J. Wells, K. M. Harmon, A. Green, L. Schroeder-Tucker, M. Glover and I. Siddique (2000). "Fecal shedding of Campylobacter and Arcobacter spp. in dairy cattle." Appl Environ Microbiol **66**(5): 1994-2000.
- Woo, P. C. Y., K. T. K. Chong, K. W. Leung, T. L. Que and K. Y. Yuen (2001). "Identification of Arcobacter cryaerophilus isolated from a traffic accident victim with bacteremia by 16S ribosomal RNA gene sequencing." Diagnostic Microbiology and Infectious Disease **40**(3): 125-127.
- Yan, J. J., W. C. Ko, A. H. Huang, H. M. Chen, Y. T. Jin and J. J. Wu (2000). "Arcobacter butzleri bacteremia in a patient with liver cirrhosis." J Formos Med Assoc **99**(2): 166-169.
- Yap, D. Y., L. P. Kwan, K. K. To and T. M. Chan (2013). "Arcobacter peritonitis after fluoroscopic repositioning of a Tenckhoff catheter." Perit Dial Int **33**(2): 222-223.
- Zacharow, I., J. Bystron, E. Walecka-Zacharska, M. Podkowik and J. Bania (2015). "Genetic Diversity and Incidence of Virulence-Associated Genes of Arcobacter butzleri and Arcobacter cryaerophilus Isolates from Pork, Beef, and Chicken Meat in Poland." Biomed Res Int **2015**: 956507.
- Zambri, M., M. Cloutier, Z. Adam, D. R. Lapen, G. Wilkes, M. Sunohara, E. Topp, G. Talbot and I. U. H. Khan (2019). "Novel virulence, antibiotic resistance and toxin gene-specific PCR-based assays for rapid pathogenicity assessment of Arcobacter faecis and Arcobacter lanthieri." BMC Microbiol **19**(1): 11.
- Zhang, X., T. Alter and G. Golz (2019). "Characterization of Arcobacter spp. isolated from retail seafood in Germany." Food Microbiol **82**: 254-258.

Publikationen

Zeitschriftenartikel

Schönknecht, A., Alter, T., Gölz, G. **Detection of *Arcobacter* species in different intestinal compartments of broiler chicken during slaughter and processing**, MicrobiologyOpen 2020, 9(10)

Posterpräsentationen:

Schönknecht, A., Alter T., Gölz G. **Detection of *Arcobacter* spp. along the intestinal tract of broiler chickens**. 19th International Workshop on Campylobacter, Helicobacter and Related Organisms (CHRO 2017), Nantes, France

Schönknecht, A., Alter T., Gölz G. **Detection of *Arcobacter* spp. along the intestinal tract of broiler chickens**. National Symposium on Zoonoses Research 2017, Berlin, Germany

Danksagung

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. Thomas Alter für die Möglichkeit am Institut für Lebensmittelsicherheit und –hygiene zu promovieren, für das Vertrauen, die Geduld und die Unterstützung in dieser Zeit.

Ganz besonders schätze ich die unermüdliche Betreuung von Frau Dr. Greta Gölz, welche mir jederzeit mit Rat und Tat zur Seite stand. Die fachliche Unterstützung in Deiner ruhigen und einfühlsamen Weise waren einfach unersetzlich.

Ein herzlicher Dank geht an Frau Dr. Philine von Tippelskirch, welche zur richtigen Zeit an mich dachte und mir so die Tür öffnete. Vielen Dank für Deine Unterstützung und Motivation in allen Lebenslagen und nicht zuletzt für die wunderbare Zusammenarbeit und die persönlichen Gespräche.

Weiterhin möchte ich mich bei allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Instituts für Lebensmittelsicherheit und –hygiene für die Unterstützung jeglicher Art in diesem Projekt bedanken. Ganz besonders bei Christine Zilk für die Herstellung der unzähligen Nährböden und gleichermaßen bei Frau Bettina Berlin für die Entsorgung eben dieser. Ich bedanke mich für die großartige Zusammenarbeit und Unterstützung sowie für den persönlichen Austausch ganz herzlich.

Ich bedanke mich bei Frau Sabrina Freter für die vielen gemeinsamen Ausfahrten zum Schlachthof, die gegenseitige Unterstützung und perfekte Zusammenarbeit.

Es sei allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der AG Fleischhygiene gedankt für den reibungslosen Ablauf während der gemeinsamen Beprobungen und in der Zusammenarbeit verschiedener Projekte, v.a. Frau Dr. Nina Langkabel für das stetige zur Verfügung stellen des unermüdlichen Super Fords.

Ein ganz besonderer Dank geht an meine Familie. Ohne Euch im Hintergrund, Eure grenzenlose Unterstützung, Euer stetiges Vertrauen in mich und Eure Liebe in allen meinen Lebenssituationen, hätte ich es nicht bis hierhin geschafft. Danke allerliebste Mutti, lieber Papa und lieber Karsten.

Meinen Herzensfreunden gilt ein ebenso großer Dank. Liebe Renate, Du bist stets für mich da und stehst mir, auch mit deinem lieben Jan, immer mit Rat und Tat zur Seite. Liebe Ulli, ich danke Dir für Deine moralische Unterstützung und Deine Freundschaft. Liebe Angelina, nichts motiviert mich mehr als ein kleines Päuschen mit Dir. Liebe Alex, ich danke Dir für Deine Freundschaft und Unterstützung aus der Ferne.

Selbständigkeitserklärung

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig angefertigt habe. Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen Anspruch genommen habe.

Berlin, den 07.06.2021

Antje Schönknecht



9 783967 291230
mbvberlin mensch und buch verlag

49,90 Euro | ISBN: 978-3-96729-123-0