

## 5 Diskussion

### 5.1 Probennahmebedingungen

Eine Probennahme von 10 Blinddarmpaaren je Masthähnchenherde wurde als ausreichend angesehen, um mit 95%iger Wahrscheinlichkeit ein positives Tier und damit eine *Campylobacter*- positive Herde zu erkennen, wenn man von folgenden Annahmen ausgeht: 1. eine Schlachtpartie umfasst mehr als 2.000 Tiere; 2. wenn die Herde mit *Campylobacter* spp. infiziert ist, sind wenigstens 30% der Tiere positiv aufgrund der schnellen Infektion der Herde.

Auch in anderen Untersuchungen wurden 5-10 Kloakentupfer oder Blinddarmkotproben zur Bestimmung der Herdenprävalenz gezogen und einzeln oder als Poolprobe untersucht (Sandberg et al., 2005; Wittwer et al., 2005; Hein et al., 2003; Wedderkopp et al., 2000; Aho and Hirn, 1988; Prescott and Gellner, 1984). Um die Möglichkeit einer Kreuzkontamination auf dem Weg zum Schlachthof und im Schlachthof auszuschließen, ist die sterile Entnahme von Blinddarmkotproben die bessere Variante (Sandberg et al., 2005). Hinzu kommt, dass der Blinddarm mit  $10^5$ - $10^9$  KbE/g Kot der Hauptkolonisationsort von *Campylobacter* spp. ist (Rosenquist et al., 2006; El-Shibiny et al., 2005; Achen, 1998; Wallace et al., 1997; Aho and Hirn, 1988; Altmeyer et al., 1985).

Je Halbjahr (Sommerhalbjahr: Mai bis Oktober, Winterhalbjahr: November bis April) wurde von jedem Mäster soweit möglich eine Schlachtpartie (definierte Anzahl an Hähnchen, die in derselben Herde gemästet und in einer Lieferung zu einem Schlachthof transportiert wurde) als Poolprobe untersucht, um eine repräsentative Stichprobe von der Grundgesamtheit zu erhalten. Die gewonnenen *Campylobacter*-Isolate bildeten die Grundlage für die Ermittlung des Vorkommens von *Campylobacter* spp., für die Antibiotika- Resistenz- Testung und für die Genotypisierung mittels AFLP-Analyse.

## 5.2 Vorkommen von *Campylobacter* spp. bei Masthähnchen

### 5.2.1 Prävalenz

#### 5.2.1.1 Vorkommen von *Campylobacter* spp. in drei Schlachthöfen

Von 181 als Poolprobe untersuchten Masthähnchenherden waren 79 *Campylobacter*-positiv. Dies entspricht 44% und liegt damit im Mittelfeld im Vergleich zu anderen europäischen Ländern. So lagen die Prävalenzen in den nordischen Ländern wie Norwegen, Finnland und Schweden 2004 bei 3%, 6% und 14%. In Italien und Österreich betrug die Prävalenzen 91% und 65% (EFSA, 2006). In Senegal waren 63% der Masthähnchenherden *Campylobacter*-positiv (Cardinale et al., 2004).

Der Vergleich der drei Schlachtbetriebe A, B und C zeigte unterschiedlich hohe Prävalenzen mit 41%, 23% und 59%. Hierbei gilt es zu beachten, dass die Schlachtbetriebe B und C dieselben Mastbetriebe umfassen und eine „logistische Schlachtung“ betreiben, bei der im Schlachthof B ausschließlich die auf Basis betriebseigener Untersuchungen Salmonellen-freien Herden geschlachtet werden. Mästern, denen es gelungen war, ihre Herden frei von Salmonellen zu halten, hatten somit auch weniger *Campylobacter*-belastete Herden vorzuweisen. Dies zeigt, dass Maßnahmen zur Salmonellen-Reduktion bei der Vermeidung von *Campylobacter*-Infektionen hilfreich sein können. Auch in anderen Studien wurden Unterschiede in der *Campylobacter*-Prävalenz bei verschiedenen Schlachthöfen beobachtet (Wedderkopp et al., 2000; Jacobs-Reitsma et al., 1994). Jacobs-Reitsma et al. (1994) sahen zusätzlich eine positive Korrelation zwischen *Campylobacter*- und *Salmonella*-Kontamination. *Campylobacter*-positive Herden waren sehr oft auch *Salmonella*-positiv und umgekehrt. Wedderkopp et al. (2000) berichteten davon, dass der Schlachthof mit der geringsten *Campylobacter*-Belastung auch als erster Schlachthof frei von Salmonellen war. Dies bestätigt die Wirksamkeit von Maßnahmen zur Salmonellen-Reduktion für die Bekämpfung von *Campylobacter*-Infektionen.

Bei der Speziesbestimmung war *C. jejuni* mit 77% die vorherrschende Spezies, gefolgt von *C. coli* mit 23%. Die Dominanz von *C. jejuni* in der Hähnchenmast wurde auch in anderen europäischen Ländern mit Werten zwischen 60% und 95% beschrieben (EFSA, 2006). In Senegal wurde ebenfalls *C. jejuni* mit 59% häufiger isoliert als *C. coli* mit 41% (Cardinale et al., 2004). Italien und Frankreich berichteten von einer Gleichverteilung von *C. jejuni* und *C. coli* in Geflügelherden (EFSA, 2006). Bei Geflügel in Nigeria und Thailand hingegen war *C. coli* die vorherrschende Spezies (Aboaba and Smith, 2005; Padungtod and Kaneene, 2005).

Der höhere *C. coli*- Anteil im Schlachtbetrieb A könnte auf verschiedenen lange Mastzeiten oder andere Infektionsmöglichkeiten zurückzuführen sein. Die Masthähnchen des Schlachtbetriebes A wurden ca. eine Woche länger gemästet als die Tiere aus den anderen Schlachthöfen. El- Shibiny et al. (2005) und Humphrey et al. (2005) beschrieben *C. jejuni* als Erstbesiedler bei Mastgeflügel, während *C. coli* häufiger bei älteren Tieren isoliert wurde. In älteren Hennen wurde ebenfalls überwiegend *C. coli* isoliert (Petersen et al. 2001). Auch bei Möwen waren junge Tiere hauptsächlich mit *C. jejuni* und ältere Tiere mit *C. coli* infiziert (Glünder et al., 1991). Dies zeigt einen Wandel in der Speziesprävalenz mit zunehmenden Alter aufgrund weiterer Infektionsquellen oder unterschiedlichem Kolonisationsverhalten der Spezies.

### **5.2.1.2 Jahresüberblick**

Im Zeitraum Mai 2004 bis Juli 2005 war eine jahreszeitliche Schwankung im Vorkommen von *Campylobacter* spp. in den Masthähnchenherden zu verzeichnen mit einem Anstieg von Juli 2004 bis September 2004 und einer zweiten Spitze im November 2004. Im März waren *Campylobacter* spp. in den untersuchten Masthähnchenherden nicht nachzuweisen. Im Jahr 2005 war ab Mai wieder ein Anstieg der *Campylobacter*- Prävalenz zu erkennen. Im Sommerhalbjahr (Mai bis Oktober) zeigten sich signifikant höhere Prävalenzraten als im Winterhalbjahr (November bis April).

Auch in anderen Studien wurde eine saisonale Schwankung im Vorkommen von *Campylobacter* spp. beim Geflügel beobachtet. Vor allem in den warmen Monaten war mit einem verstärkten Auftreten zu rechnen, wobei die Prävalenzen von Juni bis September anstiegen und häufig einen zweiten Anstieg im November zeigten (Barrios et al., 2006; Bouwknecht et al., 2003; Refrégier- Petton et al., 2001; Wedderkopp et al., 2000; Wallace et al., 1997; Berndtson et al., 1996b; Jacobs- Reitsma, 1994). Ursachen für diese Saisonalität werden den sich jahreszeitlich ändernden Umweltfaktoren (Lufttemperatur, UV- Strahlung, Luftfeuchtigkeit), die das Überleben von *Campylobacter* spp. in der Außenwelt beeinflussen, zugeschrieben (Patrick et al., 2004; Wallace et al., 1997). In den warmen Monaten steigt durch zunehmende Außen- und Innentemperaturen die stalleigene Ventilation, und *Campylobacter* spp., die sich in der Stallluft befinden (Bull et al., 2006; Berndtson et al. 1996a), können durch Luftbewegung innerhalb des Stalles verbreitet und eventuell von einem zum anderen Haus übertragen werden. Verschiedene Studien haben Wildvögel (Lillehaug et al., 2005; Hubalek, 2004; Oyarzabal et al., 1995; Glünder et al., 1991), Nager (Meerburg et al., 2006; Berndtson et al., 1996b; Pearson et al., 1993) und Insekten (Ekdahl et al., 2005; Nichols, 2005; Hald et al., 2004) als Vektoren für *Campylobacter* spp.

identifiziert. Die im Vergleich zum Winter erhöhte Aktivität von Wildvögeln, Nagern und Insekten im Sommer mag ebenfalls die Saisonalität mit verstärktem Auftreten in den warmen Monaten erklären. In einzelnen Untersuchungen wurde jedoch ein Fehlen der jahreszeitlich bedingten Schwankung in der *Campylobacter*- Prävalenz beschrieben (Evans and Sayers, 2000; Humphrey et al., 1993).

### **5.2.1.3 Einfluss des Tialters auf den *Campylobacter*- Status**

In vielen Studien wurde von der Altersabhängigkeit der *Campylobacter*- Prävalenz berichtet (Barrios et al., 2006; Bouwknegt et al., 2003; Evans and Sayers, 2000; Berndtson et al., 1996b). Wedderkopp et al. (2000) und Jacobs- Reitsma et al. (1994) dagegen sahen keinen Zusammenhang zwischen Schlachtalter und *Campylobacter*-Status. Ein Einfluss des Schlachtalters konnte auch in dieser Studie nicht erkannt werden. Dies zeigt, dass ein steigendes Schlachtalter nicht zwangsläufig mit einer höheren *Campylobacter*- Prävalenz einhergeht und es möglich ist, eine Infektion der Herden zu verhindern.

### **5.2.2 Innerherdenprävalenz**

Bei der Einzeluntersuchung schwankte der Befund von null bis zehn positiven Blinddarmpaaren von zehn untersuchten Tieren. Von den 106 in Einzeluntersuchung *Campylobacter*- positiven Herden waren bei 33% alle zehn Blinddarmpaare positiv (100%). Der Rest umfasste Innerherdenprävalenzen von 10% bis 90%. Verschiedene Autoren (Rosenquist et al., 2006; Sandberg et al., 2005; Hein et al., 2003; Evans and Sayers, 2000; Humphrey et al., 1993) beschrieben ebenfalls unterschiedlich hohe Innerherdenprävalenzen. In der Regel findet die Kolonisation mit *Campylobacter* spp. ab der zweiten Woche statt (Gregory et al., 1997; Berndtson et al., 1996a; Jacobs-Reitsma et al., 1995). Die Ausbreitung in der Herde verläuft relativ schnell innerhalb von wenigen Tagen (Van Gerwe et al., 2005; Gregory et al., 1997; Jacobs- Reitsma et al., 1995). Payne et al. (1999) berichteten jedoch von relativ hohen (60%) und niedrigen (28%) Prävalenzen bei zwei Masthähnchenherden trotz gleichem Erstinfektionszeitpunkt. So deuten hohe Innerherdenprävalenzen auf einen frühen Eintrag von *Campylobacter* spp. in die Herde und/oder ein hohes Kolonisationsvermögen des Stammes. Niedrige Innerherdenprävalenzen weisen auf einen späten Infektionszeitpunkt vor der Schlachtung und/oder eine geringe Kolonisationsfähigkeit des Stammes.

Mit *C. jejuni* bzw. *C. coli* waren 69 bzw. 32 Herden infiziert. Eine Herde beherbergte *C. lari* und 4 Herden enthielten sowohl *C. jejuni* als auch *C. coli*. Auch andere Studien berichteten überwiegend von Herden, die mit nur einer *Campylobacter*- Spezies

infiziert waren und wenigen Herden, die mehrere *Campylobacter*- Spezies beherbergten (Rivoal et al., 2005, Cardinale et al., 2004; Hein et al., 2003; Refrégier-Petton et al., 2001; Evans and Sayers, 2000). Das Vorfinden von wenigen Herden, die eine Mischpopulation an *Campylobacter* spp. aufwiesen, könnte auch auf die Art der Probenuntersuchung zurückzuführen sein. So wurden nur 10 Tiere einer Herde, und von diesen je nur ein Isolat in die weitere Untersuchung mit einbezogen. Das Bestehen von mehreren *Campylobacter*- Spezies in der Herde nebeneinander konnte damit nur zu einem gewissen Teil detektiert werden.

Während in den *Campylobacter*- positiven Herden aus konventionellen und Louisiana-Ställen überwiegend *C. jejuni* gefunden wurde, wiesen die Herden aus Freilandhaltung und biologischer Haltung vor allem *C. coli* auf. In Maryland, USA war *Campylobacter*-positives Geflügelfleisch von Masthähnchen aus biologischer Haltung ebenfalls vorwiegend mit *C. coli* belastet, während bei Geflügelfleisch von konventionell gehaltenen Masthähnchen *C. jejuni* die dominierende Spezies war (Cui et al. 2005). Für die verschiedenen Speziesverteilungen kommen mehrere Ursachen in Frage. Diverse Infektionsquellen können zu einem unterschiedlichen Vorkommen der *Campylobacter*- Spezies führen. Haltungsformen mit verstärktem Kontakt zur Außenwelt (Freilandhaltung, biologische Haltung) sind einer Vielzahl an Infektionsquellen ausgesetzt. Rivoal et al. (2005) demonstrierten, dass Freilandmasthähnchen Kontakt zu zahlreichen *Campylobacter*- Quellen hatten, und dass sich während der Mast bestimmte Stämme durchsetzten. El-Shibiny et al. (2005) zeigten, dass *C. jejuni* bei Freiland- und Biomasthähnchen der Erstbesiedler war, während *C. coli* häufiger bei fünf Wochen alten Tieren isoliert wurde. Und auch bei älteren Hennen und Möwen wurde häufig *C. coli* isoliert (Petersen et al., 2001; Glünder et al., 1991). So könnte auch die Mastdauer einen Einfluss auf die Speziesfeststellung haben. Hinzu kommt, dass die Kolonisationsfähigkeit von *Campylobacter* spp. sowohl stamm- als auch wirtsabhängig ist (Boyd et al., 2005; Stas, 1999). In der Freiland- und biologischen Haltung werden andere Mastrassen eingesetzt als in der konventionellen Mast, und so könnten neben verschiedenen *Campylobacter*- Stämmen auch verschiedene Zuchtlinien ein unterschiedliches Kolonisationsverhalten bewirken.

### **5.2.3 Vergleich der Einzel- und Poolprobenergebnisse**

Durch Untersuchung von Poolproben wurden 93% der durch Einzeluntersuchung als *Campylobacter*- positiv befundenen Herden erkannt. Bei den falsch- negativen Poolproben waren in der Einzelbeprobung ein bis zwei Blinddarmpaare *Campylobacter*- positiv. Der Anteil der falsch- negativen Poolproben ist unter

Umständen auf den Verdünnungseffekt aufgrund niedriger Anzahl an *Campylobacter*-positiven Tieren oder aufgrund niedriger Konzentrationen an *Campylobacter*-Keimen zurückzuführen. Dieser Anteil an falsch-negativen Ergebnissen ist jedoch durch den geringeren Material- und Zeitaufwand tolerierbar.

#### **5.2.4 Ergebnisse der fortlaufenden Untersuchung ausgewählter Masthähnchenställe**

Bei der fortlaufenden Untersuchung von Masthähnchenställen gab es sowohl Stallungen, in denen jeder neue Herdendurchgang zum Zeitpunkt der Schlachtung *Campylobacter*-positiv war, als auch Ställe, bei denen nur einzelne Herden mit *Campylobacter* spp. zum Zeitpunkt der Schlachtung belastet waren. Bei der Betrachtung von zwei Ställen einer Anlage kam es vor, dass in beiden Ställen oder nur in einem Stall zum gleichen Zeitpunkt *Campylobacter*-positive Herden identifiziert wurden.

Alle *Campylobacter*-positiven Herden der Ställe A, B, C, D, F, G und J waren mit *C. jejuni* infiziert, und alle *Campylobacter*-positiven Herden der Ställe O und P beherbergten *C. coli*. Im Stall E wies die erste *Campylobacter*-positive Herde eine Mischinfektion mit *C. jejuni* und *C. coli* auf, während die anderen Herden ausschließlich *C. jejuni* beinhalten. In je einer Herde der Ställe L und M waren *C. jejuni* und *C. coli* vorhanden, die anderen Herden wiesen nur *C. coli* auf. In den Ställen H, I, K und N kamen Herden vor, die entweder *C. jejuni*- oder *C. coli*-positiv waren.

Auch andere Autoren (Petersen and Wedderkopp, 2001; Evans and Sayers, 2000; Berndtson et al., 1996b; van de Giessen et al., 1996; Jacobs-Reitsma et al., 1995) berichteten von Stallungen, in denen jeder neue Herdendurchgang zum Zeitpunkt der Schlachtung *Campylobacter*-positiv war, und von Ställen, bei denen nur einzelne Herden *Campylobacter*-positiv zum Zeitpunkt der Schlachtung waren. Das Vorkommen von *Campylobacter*-negativen Herden nach *Campylobacter*-positiven zeigt, dass eine direkte Übertragung von einer Herde auf die folgende z. B. durch eine gute Reinigung und Desinfektion des Stalles vermieden werden kann. Ein Überleben des Keimes in der Umwelt ist aber möglich und kann somit bei erneuter Einbringung in den Stall die neue Herde infizieren. Funktionierende Hygienebarrieren können eine Infektion der folgenden Herde jedoch verhindern. *Campylobacter*-positive Herden in aufeinander folgenden Durchgängen könnten auf eine unzureichende Reinigung und Desinfektion des Stalles oder auf fehlende Barrieren zwischen den potentiellen Kontaminationsquellen in der Umwelt und den Masthähnchen zurückzuführen sein.

Das Vorkommen von *Campylobacter*- positiven und -negativen Herden auf einer Farm wurde ebenfalls in verschiedenen Studien beschrieben (Berndtson et al., 1996b; Jacobs- Reitsma et al., 1995). Diese Daten unterstützen das Fehlen von vertikalen Übertragungsmöglichkeiten, wie es bereits in anderen Studien festgestellt wurde, denn trotz gleicher Kükenherkunft waren nicht alle Herden zum Zeitpunkt der Schlachtung *Campylobacter*- positiv (Payne et al., 1999; Gregory et al., 1997; Berndtson et al., 1996a; Jacobs- Reitsma et al., 1995; Humphrey et al., 1993; Altmeyer et al., 1985). Andere Autoren schließen eine Übertragung von den Elterntieren auf die Hühnerküken jedoch nicht aus (Cox et al., 2002; Jacobs- Reitsma, 1994; Pearson et al., 1993). Die Tatsache, dass Farmen neben *Campylobacter*- positiven Herden auch *Campylobacter*- negative Herden aufwiesen, zeigt zudem, dass *Campylobacter* spp. von anderen Ställen ferngehalten werden können, selbst wenn ein Stall derselben Farm *Campylobacter*- positiv ist.

Das Vorkommen von verschiedenen *Campylobacter*- Spezies in einer Herde und in aufeinander folgenden Herden eines Stalles deutet auf verschiedene Infektionsquellen und beschreibt die Dynamik der Kolonisation.

### **5.3 Multiplex- PCR**

Von den insgesamt 825 isolierten *Campylobacter*- Isolaten wurden 504 als *C. jejuni*, 315 als *C. coli* und 6 als *C. lari* identifiziert. Dabei stimmten die Resultate aus der PCR mit den biochemischen Ergebnissen zu 100% überein.

Bei ausschließlicher Nutzung von biochemischen Tests zur Unterscheidung von *C. jejuni* und *C. coli* berichteten verschiedene Autoren von falsch- positiven bzw. falsch- negativen *C. jejuni*- und *C. coli*- Isolaten, die mittels PCR erkannt wurden (Rönner et al., 2004; Siemer et al., 2004; Hein et al., 2003; Rautelin et al., 1999; Totten et al., 1987). Diese Fehlerquelle konnte in dieser Arbeit durch Bestätigung aller Isolate mit Hilfe einer Multiplex- PCR ausgeschlossen werden. Dabei konnte die Gleichwertigkeit beider Methoden in der Speziesidentifizierung festgestellt werden. Auch Persson and Olsen (2005) und Vacher et al. (2005) berichteten von der Übereinstimmung von biochemischen und PCR- Ergebnissen.

### **5.4 Antibiotika- Resistenz- Testung**

Die Infektion mit resistenten *Campylobacter*- Stämmen und das Potential des Transfers von Antibiotika- Resistenzen von *Campylobacter* spp. über Lebensmittel auf die menschliche Keimflora und andere Pathogene ist von Bedeutung, was sich z.B. durch ansteigende Fluoroquinolon- Resistenzen bei tierischen und humanen Isolaten äußert

(EFSA, 2006; Cui et al., 2005; Gupta et al., 2004; Ibrahim et al., 2004; Ge et al., 2003; Krause and Ullmann, 2003; Mirelis et al., 1999). Eine Gefahr geht hiervon aus, da eine Infektion mit resistenten Bakterien durch Antibiotika nicht mehr effektiv behandelt werden kann. Zudem können Infektionen mit (Fluoro-) Quinolon- resistenten *Campylobacter*- Stämmen länger andauern als Infektionen mit (Fluoro-) Quinolon- sensiblen Stämmen (Engberg et al., 2004; Nelson et al., 2004). In einer dänischen Studie wurde ein mehr als fünffach höheres Risiko eines schwerwiegenden Krankheitsverlaufes innerhalb von 30 bzw. 90 Tagen nach Infektion mit Quinolon- oder Erythromycin- resistenten *Campylobacter*- Stämmen im Vergleich zu Infektionen mit sensiblen *Campylobacter*- Stämmen ermittelt (Helms et al., 2005).

Der unkorrekte Antibiotika- Einsatz in der Mast kann zu ansteigenden Resistenzen führen (Bartholomew et al., 2005; Farnell et al., 2005; Takahashi et al., 2005; Angulo et al., 2004; van Boven et al., 2003; Endtz et al., 1991). Dies zeigte sich auch dadurch, dass *Campylobacter*- Isolate von Geflügelfleisch von Masthähnchen aus biologischer Haltung empfindlicher gegenüber Fluoroquinolone als Isolate von Fleisch von konventionell gehaltenen Masthähnchen waren (Soonthornchaikul et al., 2006; Cui et al., 2005; Price et al., 2005; Frediani- Wolf and Stephan, 2003). Zudem können Antibiotika- Resistenzen im Bestand bis zur Schlachtung verbleiben und auf sensible Bakterien übertragen werden (Gebreel et al., 2005; Griggs et al., 2005; Humphrey et al., 2005; Price et al., 2005; Avrain et al., 2004).

Eine Erfassung der Antibiotika- Resistenzen ist wichtig, um die Rolle des Tierbestandes als Reservoir einzuschätzen und die antibiotischen Behandlungsmöglichkeiten mit Quinolonen und Erythromycin bei schwerwiegenden humanen *Campylobacter*- Infektionen bewerten zu können.

In dieser Arbeit wurden die 79 *Campylobacter*- Poolproben- Isolate als repräsentative Stichprobe von der Grundgesamtheit der Antibiotika- Resistenz- Testung unterzogen. Dieses geschah mittels Mikrodilution, da der Mikrodilutionstest im Vergleich zum Agar- Diffusionstest, zum Agar- Dilutionstest und zum E- Test als einfache und zeitsparende Methode, vor allem bei großem Probenumfang und einer Vielzahl an zu testenden Antibiotika, für *C. jejuni*- und *C. coli*- Stämme vergleichbare Ergebnisse liefert (Halbert et al., 2005; Frediani- Wolf and Stephan, 2003; Lubber et al., 2003a).

#### **5.4.1 Übersicht**

Von den 79 (61 *C. jejuni*, 18 *C. coli*) *Campylobacter*- Isolaten waren 41% (39% bzw. 44%) Ciprofloxacin- und Nalidixinsäure- resistent, 10% (8% bzw. 17%) Ceftazidim- resistent, 30% (30% bzw. 33%) Tetrazyklin- resistent, 30% (31% bzw. 28%) Ampicillin-



resistent und 13% (8% bzw. 28%) resistent gegen Ampicillin in Kombination mit Sulbactam. Alle Isolate waren empfindlich gegenüber Gentamicin. Gegenüber Erythromycin waren alle *C. jejuni*- Isolate sensibel, wohingegen 28% der *C. coli*- Isolate resistent waren.

In verschiedenen Ländern lagen für *C. jejuni*- und *C. coli*- Isolate die Gentamicin-Resistenzen ebenfalls bei 0% im Jahr 2004. Die Erythromycin-Resistenzen lagen für *C. jejuni* zwischen 0% und 28% und für *C. coli* zwischen 4% und 41%. Auch bei Ampicillin variierten die Werte für *C. jejuni* von 4% bis 50% und für *C. coli* von 5% bis 35%. Die Resistenzwerte für (Fluoro-) Quinolone und Tetrazyklin waren in der Mehrzahl hoch, doch auch hier gab es Schwankungen in Abhängigkeit des Landes und der Spezies. So waren bei *C. jejuni* die Enrofloxacin-Resistenzen niedrig und die Tetrazyklin-Resistenzen hatten Werte von 0% bis 80%, bei Nalidixinsäure lagen sie zwischen 0% und 100%. Die Resistenzraten von Isolaten aus nordischen Ländern (Dänemark, Finnland, Norwegen, Schweden) waren im Vergleich zu den anderen Ländern (Österreich, Frankreich, Italien, Niederlande, Spanien) niedrig (EFSA, 2006).

#### **5.4.2 Ampicillin**

31% der *C. jejuni*- und 28% der *C. coli*- Isolate waren resistent gegenüber Ampicillin.

In der EU lagen 2004 die Resistenzraten für *C. jejuni* von Geflügel zwischen 4% und 50%. In Norwegen, Schweden und Finnland waren die Resistenzraten mit 4%, 5% und 6% relativ niedrig im Vergleich zu Frankreich, Spanien, Italien und den Niederlanden mit Resistenzen von 35% bis 50%. Österreich hatte 14% Ampicillin-resistente *C. jejuni*- Isolate vorzuweisen. Die Resistenzraten für *C. coli* reichten 2004 von 5% in den Niederlanden, über 9% in Österreich bis zu 35% in Frankreich. Auch bei humanen *Campylobacter*- Isolaten waren vergleichbare Resistenzraten zu verzeichnen (EFSA, 2006).

#### **5.4.3 Ampicillin/Sulbactam 2:1 ratio**

Die *C. jejuni*- Isolate wiesen mit 8% eine signifikant niedrigere Resistenzrate auf als die *C. coli*- Isolate mit 28%.

In vielen Studien wurde der Einfluss von  $\beta$ -Laktamase-Inhibitoren auf das Resistenzverhalten von *Campylobacter* spp. gegenüber  $\beta$ -Laktame untersucht, und auch in dieser Arbeit soll die Wirkung von Sulbactam näher betrachtet werden.

Bei einem Großteil der *Campylobacter*- Isolate (57%) hatte die Kombination mit Sulbactam keinen senkenden Einfluss auf die MHK-Werte. Bei 43% der Isolate lag der

MHK- Wert für Ampicillin/Sulbactam bis zu fünf Verdünnungsstufen unter dem MHK- Wert für Ampicillin allein. Die Herabsetzung des MHK- Wertes hatte jedoch nicht bei allen Isolaten eine Veränderung im Interpretieren des Resistenzverhaltens zur Folge. So blieben alle fünf Ampicillin- resistenten *C. coli*- Isolate auch gegen eine Kombination mit Sulbactam trotz niedrigerer MHK- Werte resistent. Von den 19 gegen Ampicillin resistenten *C. jejuni*- Isolaten wurden bei einer Kombination mit Sulbactam 14 als sensibel eingeordnet. Der Rückgang der Resistenzrate von 31% auf 8% war signifikant.

Verschiedene Autoren beschrieben ein unterschiedliches Verhalten von *Campylobacter*- Isolaten auf  $\beta$ - Laktamase- Inhibitoren. So konnten Tajada et al. (1996) einen MHK- senkenden Effekt durch Clavulansäure, Sulbactam und Tazobactam feststellen. Van der Auwera and Scorneaux (1985) zeigten, dass weder Sulbactam noch Clavulansäure die Empfindlichkeit von *C. jejuni* gegen  $\beta$ - Laktam- Antibiotika erhöhte. Lachance et al. (1993) berichteten davon, dass Clavulansäure aber nicht Sulbactam oder Tazobactam bei einem von 20  $\beta$ - Laktamase- positiven humanen *C. coli*- Isolaten einen MHK- senkenden Einfluss auf Ampicillin und Amoxicillin hatte und dadurch eine Einstufung als sensibel nach sich zog. Auf  $\beta$ - Laktamase- negative *C. coli*- Stämme hatten die  $\beta$ - Laktamase- Inhibitoren ebenfalls keinen Einfluss. Clavulansäure und Tazobactam, aber nicht Sulbactam senkten bei  $\beta$ - Laktamase- positiven im Gegensatz zu  $\beta$ - Laktamase- negativen *C. jejuni*- Stämmen die MHK- Werte für Ampicillin und Amoxicillin. Tazobactam zeigte die stärkste Hemmwirkung gegen  $\beta$ - Laktamasen, gefolgt von Clavulansäure und Sulbactam. Bei  $\beta$ - Laktamase- positiven *C. jejuni*- Stämmen war jedoch Clavulansäure der beste Inhibitor gegen Ampicillin, Amoxicillin und Ticarcillin (Lachance et al., 1991). Eine Kombination mit Sulbactam ergab bei *C. jejuni*- Isolaten von Rindern in Österreich einen Rückgang der Ampicillin- Resistenz von 7,1% auf 0,8% (EFSA, 2006).

Diese Arbeit zeigt, dass Sulbactam in der Lage war, bei weniger als der Hälfte der *Campylobacter*- Isolate die MHK- Werte für Ampicillin zu senken. Es konnte somit nur bei einem gewissen Anteil der *Campylobacter*- Isolate die Empfindlichkeit gegen Ampicillin steigern. Wahrscheinlich waren diese Isolate  $\beta$ - Laktamase- positiv. Für das Fehlen eines Einflusses auf das Resistenzverhalten durch Sulbactam kommen mehrere Gründe in Frage. Entweder waren die Isolate  $\beta$ - Laktamase- negativ oder hatten eine  $\beta$ - Laktamase, die Sulbactam keinen Angriffspunkt lieferte. Aber auch andere Resistenzmechanismen wie die Unmöglichkeit der Penetration von Ampicillin oder Sulbactam ins Zellinnere, eine verminderte Affinität des Antibiotikums zum

Zielmolekül oder ein verstärkter Efflux könnten eine fehlende Wirkung von Sulbactam erklären (Tajada et al., 1996; Lachance et al., 1991).

#### 5.4.4 Ceftazidim

8% der *C. jejuni*- und 17% der *C. coli*- Isolate waren gegen Ceftazidim resistent.

Lachance et al. (1993) berichteten von 89% Ceftazidim- resistenten humanen *C. coli*- Isolaten. Die im Vergleich zu dieser Arbeit hohe Resistenzrate ist eventuell auf das humane Reservoir und die Wahl eines anderen Breakpoints ( $\leq 8$  µg/ml statt  $\leq 16$  µg/ml) zurückzuführen.

#### 5.4.5 Ciprofloxacin

39% bzw. 44% der *C. jejuni*- bzw. *C. coli*- Isolate waren resistent gegenüber Ciprofloxacin.

Für *C. jejuni*- Isolate wurden in Frankreich, Österreich, den Niederlanden, Italien und Spanien Resistenzraten von 13%, 37%, 40%, 76% und 100% ermittelt. Für *C. coli*- Isolate lagen die Werte zwischen 13% und 96% (EFSA, 2006). Die Ursache der in vielen Ländern ansteigenden Ciprofloxacin- Resistenz wird im Einsatz von Quinolonen, v.a. Enrofloxacin, in der Veterinärmedizin gesehen (EFSA, 2006; Bartholomew et al., 2005; Cui et al., 2005; Angulo et al., 2004; Gupta et al., 2004; Ibrahim et al., 2004; Ge et al., 2003; Krause and Ullmann, 2003; Mirelis et al., 1999).

Fluoroquinolon- resistente und empfindliche *Campylobacter*- Stämme alleine zeigten in Abwesenheit von Fluoroquinolonen ein ähnliches Kolonisationsverhalten in Masthähnchen. Bei gleichzeitigem Vorkommen wurden die empfindlichen von den resistenten Stämmen verdrängt (Humphrey et al., 2005; Luo et al., 2005). Dies deutet auf eine erhöhte Fitness der Fluoroquinolon- resistenten *Campylobacter*- Stämme, und macht das Gefahrenpotential für humane Infektionen deutlich.

Bei humanen Isolaten war ebenfalls ein Anstieg der Fluoroquinolon- Resistenz zu verzeichnen, v.a. gegen Ciprofloxacin aber auch gegen Levofloxacin, Moxifloxacin und Gatifloxacin. Die Häufigkeit der Kreuzresistenz zwischen den Fluoroquinolonen ist hoch. Ein Großteil der gegen Erythromycin, Clarithromycin und/oder Tetrazyklin resistenten Stämme war empfindlich gegenüber Fluoroquinolone, wobei Gatifloxacin und Moxifloxacin die besten Wirksamkeiten aufwiesen. So können die neueren Fluoroquinolone bei der Therapie von *Campylobacter*- assoziierten Krankheiten hilfreich sein. Dabei ist das Auftreten von Kreuzresistenzen bei Ciprofloxacin-

resistenten Stämmen zu beachten (EFSA, 2006; Lehtopolku et al., 2005; Takayama et al., 2005; Krausse and Ullmann, 2003; Mirelis et al., 1999).

#### **5.4.6 Erythromycin**

Alle 61 *C. jejuni*- und 13 von 18 *C. coli*- Isolaten waren gegenüber Erythromycin sensibel. Zwei Isolate der fünf Erythromycin- resistenten *C. coli*- Isolate zeigten eine low- level- Resistenz, die anderen drei Isolate eine high- level- Resistenz.

In verschiedenen Ländern waren die Erythromycin- Resistenzen ebenfalls niedrig, vor allem bei *C. jejuni* (EFSA, 2006; Gupta et al., 2004; Ibrahim et al., 2004; Wittwer et al., 2005; Mirelis et al., 1999). So waren in Finnland, den Niederlanden, Norwegen und Schweden wie in dieser Arbeit alle *C. jejuni*- Isolate Erythromycin- sensibel. In Österreich, Dänemark und Frankreich waren die Resistenzraten mit 1% bis 4% niedrig, während in Italien und Spanien 18% bzw. 28% der Isolate Erythromycin- resistent waren. Bei *C. coli* lagen die Resistenzraten wie in dieser Arbeit im Allgemeinen höher. In den Niederlanden, Frankreich, Österreich und Ungarn lagen sie zwischen 4% und 10%. In Italien und Spanien waren 19% bzw. 41% der Isolate Erythromycin- resistent (EFSA, 2006).

Aufgrund der in dieser Arbeit und auch bei humanen *Campylobacter*- Isolaten ermittelten geringen Resistenzentwicklung von *C. jejuni* gegen Erythromycin, ist Erythromycin als Mittel der Wahl zur Behandlung von schwerwiegenden Campylobacteriose- Fällen anzusehen. Lediglich *C. coli* weist in dieser Arbeit eine hohe Resistenzrate auf. *C. coli* stellt mit 9% aber nur einen geringen Anteil an humanen Erkrankungen durch *Campylobacter* spp. in Deutschland dar (EFSA, 2006).

#### **5.4.7 Gentamicin**

Alle 79 *Campylobacter*- Isolate waren empfindlich gegenüber Gentamicin.

Für Gentamicin waren die Resistenzraten für *C. jejuni* und *C. coli* in verschiedenen Studien gering (EFSA, 2006; Takayama et al., 2005; Wittwer et al., 2005; Mirelis et al., 1999). Die Resistenzraten lagen in den meisten europäischen Ländern bei 0%. Lediglich 2% der *C. jejuni*- Isolate in Italien und 1% bzw. 7% der *C. coli*- Isolate in Österreich und Spanien wiesen eine Gentamicin- Resistenz auf (EFSA, 2006).

Bei humanen Isolaten wurde ebenfalls eine große Empfindlichkeit gegenüber Gentamicin festgestellt (EFSA, 2006; Takayama et al., 2005; Mirelis et al., 1999).

#### 5.4.8 Nalidixinsäure

39% bzw. 44% der *C. jejuni*- bzw. *C. coli*- Isolate waren gegen Nalidixinsäure resistent.

In verschiedenen europäischen Ländern schwankten die Resistenzen für Nalidixinsäure deutlich. Die Werte für *C. jejuni* lagen in den nordischen Ländern Dänemark, Finnland, Norwegen und Schweden zwischen 0% und 5%. In Frankreich, Italien, Österreich, Spanien und den Niederlanden waren 14% bis 50% der *C. jejuni*- Isolate und 28% bis 96% der *C. coli*- Isolate Nalidixinsäure- resistent (EFSA, 2006).

Bei humanen Isolaten waren ebenfalls hohe Resistenzraten von 10% bis 50% zu verzeichnen (EFSA, 2006).

#### 5.4.9 Tetrazyklin

30% der *C. jejuni*- und 33% *C. coli*- Isolate waren Tetrazyklin- resistent.

Ein Anstieg der Tetrazyklin- Resistenz war sowohl bei humanen und als auch bei Geflügel- *Campylobacter*- Isolaten zu verzeichnen (EFSA, 2006; Cui et al., 2005; Gibreel et al., 2004b; Ge et al., 2003; Mirelis et al., 1999). Die Resistenzen für *C. jejuni*- Isolate von Geflügel waren in Schweden, Dänemark und Finnland mit 0% bis 10% niedrig, im Vergleich zu 20% bis 80% in Spanien, Österreich, Frankreich, den Niederlanden und Italien. Für *C. coli* wurden Resistenzraten von 39% bis 86% ermittelt (EFSA, 2006).

Bei humanen Isolaten wurden Resistenzen von 22% bis 32% festgestellt. Nur Litauen hatte mit 0,6% einen sehr niedrigen Wert vorzuweisen (EFSA, 2006).

#### 5.4.10 Antibiotika- Resistenz- Muster

37% (29/79) der *Campylobacter*- Isolate waren gegenüber allen getesteten Antibiotika (-Kombinationen) empfindlich. Bei den *C. jejuni*- Isolaten waren es 39% (24/61) und bei den *C. coli*- Isolaten 28% (5/18). Dies zeigt ein generell stärkeres Resistenzverhalten von *C. coli*.

Verschiedene Autoren berichteten ebenfalls davon, dass *C. coli*- Isolate in Summe resistenter waren als *C. jejuni*- Isolate, vor allem gegen Aminoglykoside, Makrolide, Tetrazyklin und Quinolone (EFSA, 2006; Takayama et al., 2005; Desmonts et al., 2004; Gupta et al., 2004; Ibrahim et al., 2004; Ishihara et al., 2004; Ge et al., 2003; Pezzotti et al., 2003; Mirelis et al., 1999). In der EU waren 56% bis 95% der *C. jejuni*- Isolate und 23% bis 30% der *C. coli*- Isolate sensibel gegen alle getesteten Antibiotika (EFSA, 2006). In der Schweiz war die Mehrzahl (67%) der *Campylobacter*- Isolate empfindlich gegenüber allen Antibiotika (Wittwer et al., 2005).

Bei den resistenten *Campylobacter*- Isolaten waren sowohl Einfach- als auch Mehrfachresistenzen mit Resistenzen gegenüber bis zu sieben der acht Antibiotika (Antibiotika- Kombinationen) vorhanden. Dabei waren 10% (11% bzw. 6%) der *Campylobacter*- Isolate (61 *C. jejuni*, 18 *C. coli*) resistent gegen ein einzelnes Antibiotikum, 23% (23% bzw. 22%) resistent gegen zwei Antibiotika, 16% (13% bzw. 28%) resistent gegen drei Antibiotika, 6% (7% bzw. 6%) resistent gegen vier Antibiotika und 8% (7% bzw. 11%) resistent gegen mehr als vier Antibiotika.

Die Verteilung der multiresistenten *Campylobacter*- Isolate variierte in den einzelnen europäischen Ländern, in den meisten Fällen waren Einfach- bis Dreifachresistenzen häufig (EFSA, 2006; Wittwer et al., 2005).

In vielen Studien wurde von der Kreuzresistenz Ciprofloxacin und Nalidixinsäure berichtet (Jesse et al., 2006; Corcoran et al., 2005; Griggs et al., 2005, Sanéz et al., 2000). Auch in dieser Arbeit wiesen alle Nalidixinsäure- resistenten *Campylobacter*- Isolate eine Ciprofloxacin- Resistenz auf. Eine alleinige Resistenz gegen Nalidixinsäure, die ebenfalls in verschiedenen Studien erwähnt wurde (Jesse et al., 2006; Griggs et al., 2005; Ge et al., 2003; Pezzotti et al., 2003; Sanéz et al., 2000), konnte in dieser Arbeit nicht detektiert werden.

Jesse et al. (2006) zeigten, dass die Kreuzresistenz mit einer Thr86Ile- Mutation verbunden war. Die alleinige Resistenz gegen Nalidixinsäure zeigte eine Thr86Ala- Mutation. Griggs et al. (2005) konnten jedoch beide Mutationen einzeln in beiden Phänotypen und eine große Spannweite bei den MHK- Werten bei Isolaten mit derselben *gyrA*- Mutation nachweisen. Diese Feststellung und das Beschreiben von Doppel- Mutationen im *gyrA*- Gen bei hohen Resistenzwerten deuten auf zusätzliche Resistenzmechanismen (Corcoran, 2005; Ruiz et al., 2005).

## **5.5 Genotypisierung ausgewählter *Campylobacter*- Isolate mittels AFLP**

Um die genetische Diversität von *Campylobacter* spp. zu erkennen, ist die DNA-Sequenzierung die beste Methode. Sie ist jedoch zeit- und kostenaufwendig. Aus diesem Grunde wurde in dieser Arbeit die AFLP- Analyse zur Charakterisierung des gesamten Genoms benutzt.

Duim et al. (1999) erzielten für *Campylobacter* spp. die besten Ergebnisse mit den Endonukleasen *HindIII* und *HhaI* unter Verwendung der Primer *Hind/HindA* und *Hha/HhaA*.

In dieser Arbeit wurden die 79 *Campylobacter*- Poolproben- Isolate als repräsentative Stichprobe von der Grundgesamtheit und zusätzlich 157 *Campylobacter*- Einzelproben- Isolate von wiederkehrend *Campylobacter*- positiven Masthähnchenherden der AFLP- Analyse unterzogen.

### 5.5.1 Poolproben

Diese Arbeit zeigt die genetische Diversität von *Campylobacter*- Isolaten bei Mastgeflügel. So wurden 35 Cluster für 61 *C. jejuni*- Isolate und 11 Cluster für 18 *C. coli*- Isolate identifiziert. Auch andere Autoren bestätigten die genetische Diversität bei *Campylobacter* spp. (El- Shibiny et al. 2005; Rivoal et al., 2005; Wittwer et al., 2005; Hein et al. 2003; Dingle et al., 2001). Verschiedene Autoren berichteten von der Fähigkeit des horizontalen Transfers von Genmaterial bei *Campylobacter* spp. (Avrain et al., 2004; de Boer, 2002). In Studien konnte nachgewiesen werden, dass Rekombinationen bei *C. jejuni* häufig vorkommen (Fearnhead et al., 2005; Schouls et al., 2003; de Boer, 2002; Suerbaum et al., 2001). Während Fearnhead et al. (2005) schätzten, dass die Rekombinationsrate ähnlich hoch ist wie die Mutationsrate, gingen Schouls et al. (2003) davon aus, dass die Rekombination 50-mal häufiger auftritt als Mutationen.

Duim et al. (2001) berichteten davon, dass *C. coli* genotypisch weniger variabel als *C. jejuni* bei der AFLP- Analyse ist. Dies konnte in dieser Studie nicht festgestellt werden.

Das Vorkommen von identischen AFLP- Genotypen in verschiedenen Herden zu unterschiedlichen Zeitpunkten ist ein weiteres Ergebnis dieser Arbeit. In einigen Fällen gehören die Mastanlagen zu einer gemeinsamen Geflügelschlachtfirma. Sie erhalten ihre Küken vom selben Züchter, haben einen gemeinsamen Futtermittellieferanten und einen gemeinsamen Transportfuhrpark incl. Fängertruppe und Transportkisten. Sie werden zudem von denselben Tierärzten und Produktionsleitern betreut. Dies war der Fall für die AFLP- Genotypen der Cluster CP4, CP7, CP9, JP3, JP6, JP7, JP11, JP13, JP14, JP31, JP34 und JP35. Dieses Ergebnis verdeutlicht das Vorkommen von identischen Infektionsquellen innerhalb einer Geflügelschlachtfirma. Die vertikale Übertragung von *Campylobacter* spp. von Zuchttieren auf die Küken wurde von vielen Autoren ausgeschlossen (Payne et al., 1999; Gregory et al., 1997; Berndtson et al., 1996a; Jacobs- Reitsma et al., 1995; Humphrey et al., 1993; Altmeyer et al., 1985). Und auch diese Arbeit unterstützt das Fehlen von vertikalen Übertragungswegen, denn neben *Campylobacter*- positiven Herden existierten *Campylobacter*- negative Herden zu gleichen Zeitpunkten. Der Eintrag von *Campylobacter* spp. auf die Farm durch Futtermittellieferanten, Transportfahrzeuge, Transportboxen, Fänger und

Betreuungspersonal ist jedoch eine mögliche Erklärung. So kann z.B. durch einen vorangegangenen Besuch einer *Campylobacter*-positiven Farm oder Kontakt zu einer anderen *Campylobacter*-Quelle und anschließend unzureichenden Hygienemaßnahmen eine Übertragung von *Campylobacter* spp. erfolgen. Das Vorkommen von *Campylobacter*-positiven und *Campylobacter*-negativen Masthähnchenherden bei derselben Geflügelschlachtfirma zum gleichen Zeitpunkt zeigt, dass es einigen Mästern durch funktionierende Hygienebarrieren gelungen zu sein scheint, einen Übertrag auf die eigenen Herden zu verhindern, während dies anderen Mästern nicht gelang.

AFLP-Genotypen derselben Cluster wurden in Herden gefunden, die in verschiedenen Geflügelschlachtfirmen geschlachtet wurden. Dies war der Fall bei den AFLP-Genotypen der Cluster CP7, CP9, JP3, JP7, JP11, JP14, JP15 und JP22. Dieses Ergebnis lässt vermuten, dass gewisse *Campylobacter*-Stämme an Geflügel angepasst sind (Cardinale et al., 2006; Siemer et al., 2005; Colles et al., 2003; Manning et al., 2003). Die relative genetische Stabilität in Raum und Zeit wurde auch von Manning et al. (2001) beschrieben und könnte ein Ergebnis der Adaption an bestimmte Umweltbedingungen sein.

In den Masthähnchenherden der Mastanlagen 27, 29 und 51 waren die Sommer- und Winterhalbjahres-Isolate in denselben Clustern vorzufinden. Dies bestätigt die zeitliche genetische Stabilität, und ist zudem ein Hinweis auf eine persistierende Infektionsquelle.

Das Vorkommen von unterschiedlichen AFLP-Genotypen in verschiedenen Herden eines Stalles wurde auch von anderen Autoren beschrieben (Cardinale et al., 2006; El-Shibiny et al., 2005; Rivoal et al., 2005; Hein et al., 2003). Das Vorfinden von verschiedenen AFLP-Genotypen in zeitlich unterschiedlichen Herden der Mastbetriebe 01, 27, 28, 31, 35, 41, 42, 43, 54, 56, 102, 113, 116 und 117 ist ein Hinweis auf verschiedene Infektionsquellen oder auf das Durchsetzen von unterschiedlichen *Campylobacter*-Stämmen zum Zeitpunkt der Probennahme. Dieses Ergebnis kann jedoch auch auf die Art der Probenuntersuchung zurückzuführen sein. So wurde von 10 Tieren einer Herde, die in der Poolprobe *Campylobacter*-positiv waren, lediglich ein Isolat in die weitere Untersuchung mit einbezogen. Beim Bestehen von mehreren AFLP-Genotypen in der Herde nebeneinander konnte damit nur ein AFLP-Genotyp detektiert werden.



### 5.5.2 Einzelproben von wiederkehrend *Campylobacter*- positiven Masthähnchenherden

Bei der Untersuchung der 157 *Campylobacter*- Einzelproben- Isolate (67 *C. jejuni*, 90 *C. coli*) wurden insgesamt 47 verschiedene Cluster detektiert. Bei *C. jejuni* wurden 17 und bei *C. coli* 30 Cluster (J1 bis J17, C1 bis C30) erkannt.

Auch dieses Ergebnis kann die Feststellung von Duim et al. (2001) nicht bestätigen, dass *C. coli* genotypisch weniger variabel bei der AFLP- Analyse ist als *C. jejuni*. Im Gegenteil, es wurden mehr Cluster bei den *C. coli*- Isolaten erkannt als bei den *C. jejuni*- Isolaten.

In den Mastherden konnten jeweils AFLP- Genotypen von ein bis acht Clustern detektiert werden. Das Vorkommen eines einzelnen herdenspezifischen oder eines dominierenden Genotyps wurde schon in verschiedenen Studien (Cardinale et al., 2006; Ring et al., 2005; Hein et al., 2003; Manning et al., 2001; Newell et al., 2001) beschrieben und lässt eine einzelne Infektionsquelle vermuten oder die Verdrängung anderer Genotypen durch einen hoch kolonisationsfähigen Stamm. El- Shibiny et al. (2005) und Bull et al. (2006) berichteten davon, dass gewisse Genotypen zu verschiedenen Zeitpunkten im Mastzyklus dominieren und dann von neuen Isolaten verdrängt werden. Studien mit experimentell infizierten Masthähnchen haben gezeigt, dass einige *Campylobacter*- Stämme fähig sind, dominant zu werden, indem sie die Kolonisation durch andere Stämme verhindern (Barrow and Page, 2000; Korolik et al., 1998).

Über das Vorkommen mehrerer Genotypen in der Herde wurde ebenfalls von verschiedenen Autoren (Cardinale et al., 2006; Rivoal et al., 2005; Hein et al., 2003; Hiatt et al., 2002; Petersen et al., 2001) berichtet, was auf verschiedene Infektionsquellen und ein gleichzeitiges Bestehen von verschiedenen Stämmen nebeneinander, entweder aufgrund gleicher Kolonisationsfähigkeit der Stämme oder noch nicht abgeschlossener Verdrängung durch den dominanten Klon, deutet. Auch Höök et al. (2005) konnten während der Mast mehrere Genotypen innerhalb einer Herde nachweisen und beobachteten ebenfalls wie El- Shibiny et al. (2005) das Bestehen von mehreren Genotypen nebeneinander im Gastrointestinaltrakt von einzelnen Masthähnchen.

Das Isolieren von gleichen oder ähnlichen Genotypen in sukzessiven Herden wurde von mehreren Autoren beschrieben (Hiatt et al., 2002; Shreeve et al., 2002; Petersen and Wedderkopp, 2001; van de Giessen et al., 1992) und lässt die Persistenz des Erregers mit genetischer Stabilität im Stall oder in der Umwelt vermuten. Manning et al. (2001) berichteten von genetisch stabilen *C. jejuni*- Stämmen über kurze und lange

Zeiträume. Auch van de Giessen et al. (1992) konnten gleiche RAPD- Genotypen und Penner- Serotypen in sukzessiven Herden feststellen. Sie fanden in der Außenwelt jedoch keine Infektionsquellen und schlossen damit auf eine Persistenz des Erregers im Stall. Die Kolonisation mit sporadischen Isolaten kam ebenfalls vor, eine Bekämpfung dieser gestaltet sich jedoch aufgrund ihrer verschiedenen Infektionsquellen schwieriger.

Das Fehlen von gleichen oder ähnlichen AFLP- Genotypen in einigen Durchgängen ist eventuell darauf zurückzuführen, dass die Herde mit mehreren Genotypen infiziert war, aber nur einige aufgrund der gewählten Probengröße isoliert wurden. Bei dieser Arbeit muss berücksichtigt werden, dass von jeder Herde 10 Tiere beprobt wurden, und von jeder einzelnen Probe eine einzelne Kolonie für weitere Untersuchungen herangezogen wurde, und dadurch eventuell weitere AFLP- Genotypen nicht entdeckt wurden. Das Fehlen von gleichen Genotypen in sukzessiven Herden kann jedoch auch für eine genetische Instabilität bei *Campylobacter* spp. sprechen. So berichteten verschiedene Autoren von häufigen Rekombinationen bei *Campylobacter* spp. (Fearnhead et al., 2005; Schouls et al., 2003; de Boer, 2002; Suerbaum et al., 2001).

Das Vorfinden von AFLP- Genotypen desselben Clusters bei Herden der Ställe A und H von zwei verschiedenen Mastanlagen könnte darauf zurückzuführen sein, dass die Mastanlagen derselben Geflügelschlachtfirma angehören, und so eine Kreuzkontamination über Transportfahrzeuge incl. Transportkisten und Fängertruppe, den Futtermittellieferanten oder den betreuenden Personen (Produktionsleiter, Tierarzt) möglich wäre.

Die zum Teil starke genetische Ähnlichkeit der *Campylobacter*- Isolate in einer Herde kann auf wenige genomische Rearrangements des dominanten Klonen hinweisen. Wassenaar et al. (1998) konnten in Masthähnchenherden einen oder zwei PFGE- Genotypen feststellen. Eine Herde beherbergte jedoch 14 ähnliche, aber nicht identische Genotypen, die identische fla- Genotypen und identische oder ähnliche Penner- Serotypen, Biotypen und Phagentypen umfassten. Dies deutet auf einen klonalen Ursprung und lässt genomische Rearrangements vermuten.

## **5.6 Mästeraudit**

Die Fragebogenaktion beruhte auf der freiwilligen Mitarbeit der Geflügelschlachtfirmen und der Mäster. Es wurde auf die wahrheitsgetreue Beantwortung der Fragen durch die Mäster gebaut. Eine Überprüfung der Angaben war nicht immer möglich, vor allem nicht die konsequente Einhaltung der Hygienepraktiken.

Die Testung der Variablen ergab, dass drei Faktoren (Haltungsform, Herdengröße, Tränkeform) einen signifikanten Einfluss auf die *Campylobacter*-Belastung der Masthähnchenherden hatten. Im Sommerhalbjahr wurde grundsätzlich keine Variable als Einflussfaktor erkannt. Dies kann darauf zurückzuführen sein, dass die Prävalenzen im Sommer generell hoch sind, und sich dadurch keine Unterschiede zeigen.

### **5.6.1 Faktoren mit Einfluss auf die *Campylobacter*-Prävalenz**

Die Haltungsform hatte im Winterhalbjahr einen signifikanten Einfluss auf die *Campylobacter*-Prävalenz mit einer 5,8fach höheren Wahrscheinlichkeit, bei Freilandhaltung oder biologischer Haltung *Campylobacter*-positiv zu sein. Dabei gilt es zu beachten, dass nur eine geringe Anzahl an Mastanlagen mit Freilandhaltung und biologischer Haltung in diese Studie miteinbezogen wurden. Heuer et al. (2001) und Fernández et al. (1993) konnten ebenfalls einen signifikanten Unterschied in der *Campylobacter*-Prävalenz in Abhängigkeit von der Haltungsform mit höheren Prävalenzen in Herden mit Freilauf erkennen. Wittwer et al. (2005) konnten dies jedoch nicht feststellen. Masthähnchen aus Freilandhaltung oder biologischer Haltung haben einen verstärkten Kontakt zur Außenwelt und sind dadurch einer Vielzahl an möglichen Infektionsquellen ausgesetzt. So wurden Wildtiere wie Hirsche, Füchse, Hasen, Dachse, Enten, Möwen, Tauben und Falken als Träger von *Campylobacter* spp. erkannt (Lillehaug et al., 2005; Newell and Fearnley, 2003; Oyarzabal et al., 1995; Glünder et al., 1991). Aber auch Haus- und Heimtiere können als Reservoir dienen (EFSA, 2006; Bender et al., 2005; Wieland et al., 2005; Gregory et al., 1997). Rivoal et al. (2005) konnten die Außenerde als Infektionsquelle identifizieren, die eventuell von der vorangegangenen Herde infiziert wurde. Sie demonstrierten zusätzlich das Bestehen von mehreren Kontaminationsquellen, denn in einer Herde wurden, auch im Verlauf der Mast, verschiedene *Campylobacter*-Stämme isoliert. Bei Einhaltung von Hygienemaßnahmen kam es erst nach Freigang zur *Campylobacter*-Besiedlung, während bei anderen Herden ohne Hygienebarrieren ein *Campylobacter*-Eintrag schon nach zwei Wochen stattfand. Dies macht eine Vermeidung der *Campylobacter*-Infektion durch Kontaminationsquellen nach Auslauf nahezu unmöglich. Hier könnten Maßnahmen auf Seiten des Tierbestandes greifen. So wäre eine Immunisierung der Tiere eine Variante, um eine Besiedlung der Tiere mit *Campylobacter*-Stämmen zu unterbinden. Versuche der Verdrängungskolonisation mit apathogenen *Campylobacter*-Stämmen (Chen et al., 2001; Weber, 2000) oder Impfung mit avirulenten *Salmonella*-Stämmen, die ein *Campylobacter*-Antigen tragen (Sizemore et al., 2005; Wyszzyńska et al., 2004) zeigten jedoch nur einen gewissen Schutz. Die Zufütterung von Futtersäuren (Heres et al., 2004) hatte keinen signifikanten Einfluss.

Der Einsatz von Bakteriophagen (Atterbury et al., 2005; Wagenaar et al., 2005; Connerton et al., 2004), Bakteriozinen (Stern et al., 2005; Svetoch et al., 2005) sowie Pro- und Prebiotika (Ding et al., 2005; Rastall, 2004) konnten eine Reduktion von *Campylobacter* spp. bewirken. So kann der Einsatz dieser Behandlungsmöglichkeiten die *Campylobacter*-Belastung zwar nicht vollständig vermeiden, jedoch auf ein akzeptables Maß reduzieren.

In dieser Arbeit war die Herdengröße im Winterhalbjahr als auch bei der Ganzjahresbetrachtung streng assoziiert mit *Campylobacter*-Infektionen, wobei vor allem Herden mit einer Tierzahl bis zu 15.000 und über 25.000 betroffen waren. Barrios et al. (2006) und Berndtson et al. (1996b) berichteten von einer steigenden *Campylobacter*-Prävalenz bei größeren Herden. Andere Studien wiederum fanden keinen Zusammenhang zwischen Herdengröße und *Campylobacter*-Belastung (Cardinale et al., 2004; Evans and Sayers, 2000; Humphrey et al., 1993). Bei großen Tierzahlen ergeben sich mehr Eintragsmöglichkeiten von *Campylobacter* spp. durch größere Volumina an Wasser, Futter, Einstreu und Luft sowie durch ansteigende Personalbewegungen. Für die höhere *Campylobacter*-Belastung bei Herdengrößen bis 15.000 Tieren gibt es folgende Erklärungsversuche. Herden in der Freiland- und biologischen Haltung wiesen kleine Herdengrößen auf, und durch das alleinige Risiko aufgrund der Haltungsform tragen sie zum Unterschied bei. Zusätzlich betreiben einige Landwirte neben anderen Tierhaltungen eine Hähnchenmast von kleinem Umfang. Andere Haustiere wie Schweine, Rinder und Schafe sind symptomlose Träger von *Campylobacter* spp. und dienen als Reservoir (EFSA, 2006; Gregory et al., 1997). Durch das Nebeneinander von mehreren Tierhaltungen und ein vorausgehendes Handling mit *Campylobacter*-positiven Tieren erhöht sich die Infektionsgefahr (Gregory et al., 1997; Berndtson et al., 1996b).

Die Tränkeform hatte ebenfalls einen signifikanten Einfluss auf den *Campylobacter*-Status im Winterhalbjahr mit einer fast 5fach größeren Wahrscheinlichkeit, *Campylobacter*-belastet zu sein, wenn Nippeltränken mit Auffangschale anstatt Nippeltränken ohne Auffangschale benutzt wurden. Stehendes Tränkwasser bietet *Campylobacter* spp. im warmen Stallklima einen hervorragenden Lebensraum. Amöben, Algen und andere Einzeller, die sich im abgestanden Wasser befinden, unterstützen ein Überleben von *Campylobacter* spp. in diesem Medium (Axelsson et al., 2005; Snelling et al., 2005). Eine Kontamination der Tiere gestaltet sich einfacher und die Ausbreitung innerhalb der Herde wird beschleunigt. Hinzu kommt, dass eine gründliche Reinigung und Desinfektion der Auffangschalen nach jedem Durchgang erfolgen muss, um eine Infektion der folgenden Herde zu vermeiden. So ist die

niedrigere *Campylobacter*- Prävalenz in Herden mit Nippeltränken ohne Auffangschale eventuell ein Hinweis auf funktionierende Hygienebarrieren, die einen *Campylobacter*-Eintrag und eine -Verbreitung verhindern.

### **5.6.2 Faktoren ohne Einfluss auf die *Campylobacter*- Prävalenz**

Variablen, die in anderen Studien als Risikofaktoren erkannt wurden, aber nicht in dieser, waren Hygienemaßnahmen, wie die Benutzung von separater Kleidung für jeden Stall, Desinfektionsbäder für die Schuhe sowie die Reinigung und Desinfektion der Hände vor dem Betreten des Stalles (Cardinale et al., 2004; Evans and Sayers, 2000; Gregory et al., 1997; Berndtson et al., 1996b; van de Giessen et al., 1996; Humphrey et al., 1993). Die konsequente Einhaltung von Hygienemaßnahmen scheint eine effektive Maßnahme zur signifikanten Reduktion der *Campylobacter*- Infektion in Masthähnchenherden zu sein. Ein vollständiger Ausschluss des Infektionsrisikos ist aber nicht zu erwarten (van de Giessen et al. 1998). Andere Autoren hingegen berichteten von keinem signifikanten Einfluss von Hygienemaßnahmen (Bouwknegt et al., 2003; Refrégier- Petton et al., 2001; Humphrey et al., 1997). In dieser Studie könnte ein nicht erkannter Einfluss auf die *Campylobacter*- Prävalenz darauf zurückzuführen sein, dass Hygienemaßnahmen nicht konsequent eingehalten wurden. Selbst wenn zwar separate Kleidung für jeden Stall benutzt wurde, aber eine Händereinigung und -desinfektion unterblieb, könnten *Campylobacter* spp. über kontaminierte Hände in die Herde eingetragen werden. Und auch ein Benutzen von Schuhdesinfektionsbädern bleibt ohne Wirkung bei Einsatz nicht geeigneter Desinfektionsmittel, zu geringen Desinfektionsmittelkonzentrationen, oder wenn durch Schmutz auf den Schuhen dieses nicht effektiv wirken kann. Hygienemaßnahmen können nur dann Wirkung zeigen, wenn sie konsequent, d.h. jeden Tag auf allen Stufen, eingehalten werden.

Das Schlachtalter hatte in dieser Arbeit, wie auch von Wedderkopp et al. (2000) und Jacobs- Reitsma et al. (1994) beschrieben, keinen Einfluss auf die *Campylobacter*-Belastung. In anderen Studien hingegen wurde die Altersabhängigkeit der *Campylobacter*- Prävalenz beschrieben (Barrios et al., 2006; Bouwknegt et al., 2003; Evans and Sayers, 2000; Berndtson et al., 1996b).

Von einigen Autoren wird die fraktionierte Schlachtung als Infektionsgefahr betrachtet. Sowohl die Fänger als auch unzureichend gereinigte und desinfizierte Transportboxen wurden als Vektoren angesehen (Hansson et al., 2005; Ramabu et al., 2004; Newell et al., 2001; Berndtson et al., 1996b). Russa et al. (2005) und Barrios et al. (2006) konnten jedoch keinen signifikanten Zusammenhang zwischen der partiellen

Schlachtung und einem steigenden Risiko der *Campylobacter*-Kolonisation der verbleibenden Tiere erkennen. Auch in dieser Studie konnte kein Einfluss der fraktionierten Schlachtung auf das Vorkommen von *Campylobacter* spp. gesehen werden. Dies ist ein Hinweis darauf, dass mögliche Vektoren, wie Transportfahrzeuge, Transportkisten und Fänger kein Kontaminationsrisiko darstellten.

Bouwknegt et al. (2003) und Refrégier- Petton et al. (2001) konnten ein steigendes Risiko bei mehr als fünf bzw. drei Ställen auf der Anlage feststellen. In dieser Studie konnte kein Zusammenhang zwischen Stallanzahl und *Campylobacter*-Prävalenz erkannt werden.

Wie in anderen Studien (Cardinale et al., 2004; Humphrey et al., 1997; Berndtson et al., 1996b) konnte in dieser Arbeit kein Zusammenhang zwischen Wasserquelle (Gemeinde- oder Brunnenwasser) und *Campylobacter*-Prävalenz festgestellt werden.

Die Anwesenheit von anderen Tieren auf der Farm wird häufig als Risikofaktor betrachtet (Bouwknegt et al., 2003; Cardinale et al., 2004; van de Giessen et al., 1996). Eine strikte Trennung von Betriebsbereichen ist deshalb sinnvoll. In dieser Studie konnte jedoch kein Zusammenhang zwischen strikter Trennung von Betriebsbereichen und der *Campylobacter*-Prävalenz erkannt werden. Auch Berndtson et al. (1996b) sahen keinen Zusammenhang zwischen der Anwesenheit von Schweinen, Katzen und Hunden auf der Farm und der *Campylobacter*-Prävalenz.

Refrégier- Petton et al. (2001) konnten eine steigende *Campylobacter*-Prävalenz feststellen, wenn zwei oder mehr Personen Herdenpflege betrieben. Dadurch sind die Eintragungsmöglichkeiten in die Mast erhöht. In dieser Arbeit konnte ein solcher Zusammenhang nicht festgestellt werden.

Berndtson et al. (1996b) sahen eine ansteigende *Campylobacter*-Prävalenz bei kurzen Serviceperioden. In dieser Studie konnte kein Zusammenhang zwischen Dauer der Serviceperiode und dem *Campylobacter*-Status der Masthähnchenherde erkannt werden.