

**Wissenschaftliche Einrichtungen Veterinary Public Health
Institut für Fleischhygiene und Technologie
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin**

**Die Lebensmittelkette beim Schaf:
Transfer von Zoonoseerregern
vom Tier zum Lebensmittel**

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

vorgelegt von
Iman Sharief
Tierärztin
aus Jeddah, KSA
Heimatort (Hama, Syrien)

Berlin 2015

Journal-Nr.: 3710

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Jürgen Zentek
Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Reinhard Fries
Zweiter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Thomas Alter
Dritter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Uwe Rösler

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

sheep, epidemiology, abattoirs, Escherichia coli, Salmonella, Yersinia enterocolitica, Listeria innocua, Listeria ivanovii, Listeria monocytogenes, Campylobacter jejuni, Campylobacter lari, Campylobacter coli, meat hygiene, public health, carcasses, pulsed field electrophoresis

Tag der Promotion: 28.04.2015

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek

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

ISBN: 978-3-86387-593-0

Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2015

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 & Buch Verlag 2015 Choriner Str. 85 - 10119 Berlin

verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

Inhaltsverzeichnis

Tabellenverzeichnis	V
Abbildungsverzeichnis	IX
Abkürzungsverzeichnis	X
1 Einleitung	1
2 Literatur	2
2.1 Die Lebensmittelkette beim Schaf	2
2.1.1 Haltung.....	3
2.1.2 Technologie der Fleischgewinnung von Schafen.....	6
2.2 Hygiene der Lebensmittelkette	8
2.2.1 Aerobe Gesamtkeimzahl und Enterobacteriaceae.....	9
2.2.1.1 Der Prozessablauf.....	9
2.2.1.2 Umgebung (Geräte).....	17
2.2.2 Thermophile <i>Campylobacter</i>	18
2.2.2.1 Genus <i>Campylobacter</i>	18
2.2.2.2 <i>Campylobacter</i> beim Menschen.....	18
2.2.2.3 <i>Campylobacter</i> bei Tieren.....	20
2.2.2.4 <i>Campylobacter</i> in der Schaflebensmittelkette.....	23
2.2.3 <i>Listeria</i>	25
2.2.3.1 Genus <i>Listeria</i>	25
2.2.3.2 <i>Listeria</i> beim Menschen.....	26
2.2.3.3 <i>Listeria</i> bei Tieren.....	27
2.2.3.4 <i>Listeria</i> in der Schaflebensmittelkette.....	29
2.2.4 <i>Escherichia coli</i>	31
2.2.4.1 Genus <i>Escherichia</i>	31
2.2.4.2 <i>Escherichia coli</i> beim Menschen.....	32
2.2.4.3 <i>Escherichia coli</i> bei Tieren.....	33
2.2.4.4 <i>Escherichia coli</i> in der Schaflebensmittelkette.....	34
2.2.5 <i>Yersinia enterocolitica</i>	36
2.2.5.1 Die Spezies <i>Yersinia enterocolitica</i>	36
2.2.5.2 <i>Yersinia enterocolitica</i> beim Menschen.....	37
2.2.5.3 <i>Yersinia enterocolitica</i> bei Tieren.....	38
2.2.5.4 <i>Yersinia enterocolitica</i> in der Schaflebensmittelkette.....	38
2.2.6 <i>Salmonella</i>	39
2.2.6.1 Genus <i>Salmonella</i>	39
2.2.6.2 Salmonellen beim Menschen.....	39
2.2.6.3 Salmonellen bei Tieren.....	40
2.2.6.4 Salmonellen in der Schaflebensmittelkette.....	42
3 Eigene Untersuchungen	45
3.1 Schlachtbetrieb und Gewinnungstechnologie	45
3.2 Material	45
3.3 Technik der Probenahme	46
3.3.1 Stanzen.....	46
3.3.2 Tupfer.....	46

INHALTSVERZEICHNIS

3.3.3	Die Ausfahrten	46
3.4	Probentransport und Lagerung.....	53
3.5	Methodik	53
3.5.1	Vorbereitung der Proben	53
3.5.2	Quantitative Verfahren.....	53
3.5.2.1	Bestimmen der aeroben Gesamtkeimzahl (GKZ).....	53
3.5.2.2	Enterobacteriaceae (Eb).....	54
3.5.3	Qualitative Verfahren.....	55
3.5.3.1	Untersuchung auf thermophile <i>Campylobacter</i>	55
3.5.3.2	Untersuchung auf <i>Listeria</i>	65
3.5.3.3	Untersuchung auf <i>Escherichia coli</i>	69
3.5.3.4	Untersuchung auf <i>Yersinia enterocolitica</i>	71
3.5.3.5	Untersuchung auf Salmonellen.....	75
3.5.3.6	Kältekonservierung der Isolate.....	77
3.5.3.7	Statistische Auswertung.....	77
4	Ergebnisse	80
4.1	Quantitative Werte.....	80
4.1.1	Aerobe Gesamtkeimzahl (GKZ)	81
4.1.1.1	Ausfahrten- und Probenahmestelle am Tierkörper.....	81
4.1.1.2	Prozesspositionen und Tierkörperstelle.....	84
	Einfaktorielle Varianzanalyse (ANOVA)	90
	Zweifaktorielle Varianzanalyse.....	93
4.1.2	Enterobacteriaceae (Eb)	95
4.1.2.1	Ausfahrten- und Probenahmestelle am Tierkörper.....	95
4.1.2.2	Prozessposition und Tierkörperstelle.....	99
	Einfaktorielle Varianzanalyse (ANOVA)	104
	Zweifaktorielle Varianzanalyse.....	107
4.2	Qualitative Ergebnisse (Untersuchungen auf Zoonoseerreger).....	110
4.2.1	Ergebnisse der Untersuchungen auf <i>Campylobacter</i>	110
4.2.1.1	Konventionelle mikrobiologische Untersuchungen.....	110
4.2.1.2	Identifizierung von <i>Campylobacter</i> mittels molekularbiologischer Verfahren	112
	<i>Campylobacter</i> -Genus-Identifizierung.....	112
	Speziesdifferenzierung	112
4.2.2	Ergebnisse der Untersuchungen auf <i>Listeria</i>	118
4.2.2.1	Identifizierung des Genus <i>Listeria</i>	118
4.2.2.2	Speziesdifferenzierung.....	119
4.2.3	Ergebnisse der Untersuchungen auf <i>E.coli</i>	120
4.2.3.1	Konventionelle mikrobiologische Untersuchung	120
4.2.3.2	Differenzierung der Isolate mittels PCR.....	121
4.2.4	Ergebnisse der Untersuchungen auf <i>Yersinia</i>	122
4.2.5	Ergebnisse der Untersuchungen auf <i>Salmonella</i>	123
5	Diskussion	124
5.1	Der Schlachtbetrieb.....	124
5.1.1	Technologie und Hygiene	124
5.2	Bedeutung der GKZ und der Enterobacteriaceae	125
5.3	Bedeutung der untersuchten Zoonoseerreger	126
5.3.1	Thermophile <i>Campylobacter</i>	126

INHALTSVERZEICHNIS

5.3.2	<i>Listeria</i>	126
5.3.3	<i>Escherichia coli</i>	126
5.3.4	<i>Yersinia enterocolitica</i>	127
5.3.5	<i>Salmonella</i>	127
5.4	Beprobung und Nachweistechiken	128
5.4.1	Das Probenmaterial	128
5.4.1.1	In den Beständen.....	128
5.4.1.2	Im Schlachtbetrieb	128
5.4.2	Kühlung des Probenmaterials.....	129
5.4.3	Die Beprobungstechnik	130
5.4.3.1	Nachweis thermophiler <i>Campylobacter</i>	130
5.4.3.2	Nachweis von <i>Listeria</i>	132
5.4.3.3	Nachweis von <i>E.coli</i>	133
5.4.3.4	Nachweis von <i>Yersinia enterocolitica</i>	133
5.4.3.5	Nachweis von <i>Salmonella</i>	134
5.5	Die Ergebnisse	134
5.5.1	Quantitative Analysen	134
5.5.1.1	Aerobe Gesamtkeimzahl (GKZ).....	134
5.5.1.2	Enterobacteriaceae	137
5.5.1.3	<i>Escherichia coli</i>	140
5.5.2	Qualitative Analysen	142
5.5.2.1	Thermophile <i>Campylobacter</i>	142
5.5.2.2	<i>Listeria</i>	148
5.5.2.3	<i>Escherichia coli</i>	149
5.5.2.4	<i>Yersinia enterocolitica</i>	150
5.5.2.5	<i>Salmonella</i>	150
6	Zusammenfassung.....	152
7	Summary.....	154
8	Literaturverzeichnis.....	XIII
9	Anhang	XXXVII
9.1	Fleischgewinnungsablauf im Schafschlachtbetrieb.....	XXXVII
9.2	Fließschemata der Untersuchungen	XXXVIII
9.2.1	Fließschema zum Nachweis von thermotoleranten <i>Campylobacter</i> -Species (DIN ISO 10272-1:2004)	XXXVIII
9.2.2	Fließschema zum Nachweis von <i>Listeria</i> (§ 64 LFGB; ISO 11290: 1995)	XXXIX
9.2.3	Fließschema zum Nachweis von <i>E.coli</i> (DIN ISO 16654)	XL
9.2.4	Fließschema zum Nachweis von <i>Yersinia enterocolitica</i> (ISO/DIN 10273: 2003)	XLI
9.2.5	Fließschema zum Nachweis von <i>Salmonella</i> (§ 64 LFGB; ISO 6579: 2002)	XLII

TABELLENVERZEICHNIS

Tabellenverzeichnis

Tabelle 2.1:	Schafhaltung in Deutschland 1994	4
Tabelle 2.2:	Entvliesen: Traditionelle- und Invert-Technik (BISS und HATHAWAY 1998)	8
Tabelle 2.3:	GKZ und Enterobacteriaceae auf Schafkarkassen auf Basis von 5 Kategorien der Vliesverschmutzung (HOLDER und HADLEY 1996)	10
Tabelle 2.4:	GKZ- und Enterobacteriaceae Werte bei Schafen mit kurzem und langem Vlies (HOLDER und HADLEY 1996)	11
Tabelle 2.5:	GKZ und <i>E. coli</i> bei gewaschenen und ungewaschenen Lammkarkassen (BISS und HATHAWAY 1996)	12
Tabelle 2.6:	GKZ und <i>E. coli</i> für 25 TK (gewaschenes und ungewaschenes Vlies) in den Schlachtbetrieben C und D (Mittelwert) (BISS und HATHAWAY 1996)	13
Tabelle 2.7:	Mikrobiologischer Status enthäuteter Karkassen (mit und ohne Gasanwendung) (CENCI GOGA et al. 1996)	13
Tabelle 2.8:	GKZ, <i>E. coli</i> und Coliforme auf Schafkarkassen (\log_{10})	16
Tabelle 2.9:	GKZ und <i>E. coli</i> in einem Schlachtbetrieb (EUSTACE et al. 2007)	17
Tabelle 2.10:	<i>Campylobacter</i> -Isolate von verschiedenen Proben- Kategorie in Indien (CHATTOPADHYAY et al. 2001)	22
Tabelle 2.11:	<i>Listeria</i> - Nachweis in „ready to eat“- Proben in Äthiopien (MENGESHA et al. 2009)	29
Tabelle 2.12:	Inzidenz von bestätigten pathogenen <i>E. coli</i> -Fällen in 10 US-Staaten (2009) bei verschiedenen Altersgruppen (CDC 2010)	32
Tabelle 2.13:	Nachweis von <i>E. coli</i> auf Fleisch aus Australien (MILLARD und ROCKLIFF 2001)	34
Tabelle 2.14:	<i>Salmonella</i> -Serotypen beim Schwein	42
Tabelle 3.1:	Beprobungstermine und Zahl der jeweils entnommenen Proben (Schlachtbetrieb)	51
Tabelle 3.2:	Zahl der Stanzproben je Tierkörperstelle und Position	52
Tabelle 3.3:	Biochemische Bestätigung des Genus <i>Campylobacter</i>	57
Tabelle 3.4:	Auswertung der TSI-Reaktion	57
Tabelle 3.5:	Biochemische Differenzierung der <i>Campylobacter</i> -Spezies	58
Tabelle 3.6:	Primer zur Genus- und Spezies-Identifizierung von <i>Campylobacter</i> mittels PCR	59
Tabelle 3.7:	Komponenten des Mastermix für die PCR-basierte Identifizierung des Genus <i>Campylobacter</i>	60
Tabelle 3.8:	Komponenten des Mastermix für die PCR-basierte Identifizierung von <i>C. jejuni</i> und <i>C. coli</i>	61
Tabelle 3.9:	Komponenten des Mastermix für die PCR-basierte Identifizierung von <i>C. lari</i>	62
Tabelle 3.10:	Biochemische Bestätigung des Genus <i>Listeria</i>	68
Tabelle 3.11:	Biochemische Differenzierung von <i>Listeria</i>	69
Tabelle 3.12:	Primer zur Identifizierung von <i>E. coli</i> mittels PCR	70
Tabelle 3.13:	Komponenten des Mastermix für die PCR-basierte Identifizierung von <i>E. coli</i>	70
Tabelle 3.14:	Biochemische Identifizierung von <i>Yersinia</i> auf Genus-Ebene	72
Tabelle 3.15:	Auswertung des Kligler-Agar	73

TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 3.16:	Biochemische Identifizierung von <i>Yersinia enterocolitica</i>	75
Tabelle 4.1:	Aerobe Gesamtkeimzahl an den beprobten Tierkörperstellen ohne Berücksichtigung der Prozessposition an allen Ausfahrten (in log KbE/cm ²)	81
Tabelle 4.2:	Mittelwert (GKZ) zu den Tierkörperstellen an allen Prozesspositionen	82
Tabelle 4.3:	Ergebnisse des t-Tests: Tierkörperstellen ohne Berücksichtigung der Prozessposition	83
Tabelle 4.4:	Signifikante Unterschiede der GKZ zwischen den Tierkörperstellen	83
Tabelle 4.5:	GKZ in Abhängigkeit von beprobter Tierkörperstelle und Prozessposition (in log KbE / cm ²)	84
Tabelle 4.6:	Mittelwert der GKZ der Tierkörperstelle an Prozessposition 1	84
Tabelle 4.7:	Ergebnisse des t-Tests für Tierkörperstellen an Prozessposition 1	85
Tabelle 4.8:	Signifikante Unterschiede der GKZ zwischen den Tierkörperstellen	86
Tabelle 4.9:	Mittelwert der GKZ der Tierkörperstelle an Prozessposition 2	86
Tabelle 4.10:	Ergebnisse des t-Tests für Tierkörperstellen an Prozessposition 2	87
Tabelle 4.11:	Signifikante Unterschiede der GKZ zwischen den Tierkörperstellen	87
Tabelle 4.12:	Mittelwert der GKZ der Tierkörperstelle an Prozessposition 3	87
Tabelle 4.13:	Ergebnisse des t-Tests für Tierkörperstellen an Prozessposition 3	88
Tabelle 4.14:	Signifikante Unterschiede der GKZ zwischen den Tierkörperstellen	89
Tabelle 4.15:	Mittelwert der GKZ der Tierkörperstellen an Prozessposition 4	89
Tabelle 4.16:	Ergebnisse des t-Tests für Tierkörperstellen an Prozessposition 4	90
Tabelle 4.17:	Signifikante Unterschiede der GKZ zwischen den Tierkörperstellen	90
Tabelle 4.18:	Einfaktorielle ANOVA für die GKZ an Prozessposition 1 für die Tierkörperstellen Hals, Brust, Bauch und Vorderbein	91
Tabelle 4.19:	Einfaktorielle ANOVA für die GKZ an Prozessposition 2 für die Tierkörperstellen Hals, Brust, Bauch und Keule	92
Tabelle 4.20:	Einfaktorielle ANOVA für die GKZ an Prozessposition 3 für die Tierkörperstellen Hals, Brust, Bauch und Keule	92
Tabelle 4.21:	Einfaktorielle ANOVA für die GKZ an Prozessposition 4 für die Tierkörperstellen Hals, Brust, Bauch und Keule	93
Tabelle 4.22:	Zweifaktorielle Varianzanalyse zwischen allen Prozesspositionen und allen Tierkörperstellen	94
Tabelle 4.23:	Zweifaktorielle Varianzanalyse zwischen Prozessposition (2, 3 und 4) und den Tierkörperstellen Hals, Brust, Bauch und Keule	94
Tabelle 4.24:	Zweifaktorielle Varianzanalyse zwischen allen Prozesspositionen und den Tierkörperstelle (Hals, Brust und Bauch)	95
Tabelle 4.25:	Enterobacteriaceae (Eb) an den beprobten Tierkörperstellen ohne Berücksichtigung der Prozessposition (in log KbE / cm ²)	96
Tabelle 4.26:	Mittelwert der Enterobacteriaceae der Tierkörperstelle an allen Prozesspositionen	97
Tabelle 4.27:	Ergebnisse des t-Tests für die Tierkörperstellen ohne Berücksichtigung der Prozessposition	98
Tabelle 4.28:	Signifikante Unterschiede der Enterobacteriaceae zwischen den Tierkörperstellen	98
Tabelle 4.29:	Enterobacteriaceae an alle Positionen in log KbE / cm ²	99
Tabelle 4.30:	Enterobacteriaceae: Mittelwert der Tierkörperstellen an Prozessposition 1	99
Tabelle 4.31:	Ergebnisse des t-Tests für Tierkörperstellen an Prozessposition 1	100

TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 4.32:	Enterobacteriaceae: Signifikante Unterschiede zwischen den Tierkörperstellen	101
Tabelle 4.33:	Enterobacteriaceae : Mittelwert der Tierkörperstellen an Prozessposition 2	101
Tabelle 4.34:	Ergebnisse des t-Tests für Tierkörperstellen an Prozessposition 2	102
Tabelle 4.35:	Enterobacteriaceae: Signifikante Unterschiede zwischen den Tierkörperstellen	102
Tabelle 4.36:	Enterobacteriaceae: Mittelwert der Tierkörperstellen an Prozessposition 3	102
Tabelle 4.37:	Ergebnisse des t-Tests für Tierkörperstellen an Prozessposition 3	103
Tabelle 4.38:	Enterobacteriaceae: Mittelwert der Tierkörperstellen an Prozessposition 4	103
Tabelle 4.39:	Ergebnisse des t-Tests für Tierkörperstellen an Prozessposition 4	104
Tabelle 4.40:	Einfaktorielle ANOVA für Enterobacteriaceae an Prozessposition 1 für die Tierkörperstellen Hals, Brust, Bauch und Vorderbein	105
Tabelle 4.41:	Einfaktorielle ANOVA für Enterobacteriaceae an Prozessposition 2 für die Tierkörperstelle Hals, Brust, Bauch und Keule	106
Tabelle 4.42:	Einfaktorielle ANOVA für Enterobacteriaceae an Prozessposition 3 für die Tierkörperstelle Hals, Brust, Bauch und Keule	106
Tabelle 4.43:	Einfaktorielle ANOVA für Enterobacteriaceae an Prozessposition 4 für die Tierkörperstelle Hals, Brust, Bauch und Keule	107
Tabelle 4.44:	Zweifaktorielle Varianzanalyse zwischen allen Prozesspositionen und allen Tierkörperstellen	108
Tabelle 4.45:	Zweifaktorielle Varianzanalyse zwischen den Prozesspositionen und den gewählten Tierkörperstellen	108
Tabelle 4.46:	Zweifaktorielle Varianzanalyse zwischen allen Prozesspositionen und den gewählten Tierkörperstellen	109
Tabelle 4.47:	Untersuchungsergebnisse auf <i>Campylobacter</i> (Genus)	110
Tabelle 4.48:	Positive <i>Campylobacter</i> - Funde in Abhängigkeit von der Ausfahrt	111
Tabelle 4.49:	<i>Campylobacter</i> Speziesdifferenzierung (konventionell mikrobiologisch)	112
Tabelle 4.50:	Vergleich zwischen konventioneller Methode und dem PCR- Ansatz zur Genus- Identifizierung von <i>Campylobacter</i>	112
Tabelle 4.51:	Vergleich zwischen konventioneller Methode und dem PCR-Ansatz zur Speziesdifferenzierung von <i>Campylobacter</i>	113
Tabelle 4.52:	Vergleich zwischen Ergebnissen der konventionellen Methode und der PCR zur Speziesdifferenzierung von <i>Campylobacter</i>	114
Tabelle 4.53:	Mittels <i>Kpn</i> -I als identisch definierte <i>Campylobacter</i> - Stämme	116
Tabelle 4.54:	Charakterisierung der <i>Campylobacter</i> -Isolate aus 14 Ausfahrten mittels Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE)	117
Tabelle 4.55:	Auftreten von <i>Listeria</i> an den einzelnen Probenqualitäten	118
Tabelle 4.56:	Auftreten von <i>Listeria</i> (Genus) pro Position	118
Tabelle 4.57:	<i>Listeria</i> (Spezies) an den einzelnen Probenqualitäten	119
Tabelle 4.58:	Auftreten von <i>E.coli</i> an den einzelnen Probenqualitäten	120
Tabelle 4.59:	<i>E.coli</i> -Nachweise mittels PCR und Vergleich mit der konventionellen Methode	122
Tabelle 4.60:	Auftreten von <i>Yersinia</i> an den einzelnen Probenqualitäten	122
Tabelle 4.61:	Auftreten von <i>Salmonella</i> an den einzelnen Probenqualitäten	123

TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 5.1:	<i>C.coli</i> und <i>C.jejuni</i> bezüglich der H ₂ S- Bildung	131
Tabelle 5.2:	GKZ in Abhängigkeit von beprobter Tierkörperstelle und Prozessposition (in log KbE / cm ²)	135
Tabelle 5.3:	Enterobacteriaceae in Abhängigkeit von beprobter Tierkörperstelle und Prozessposition (in log KbE / cm ²)	137
Tabelle 5.4:	Mikrobiologische Kriterien für Fleisch und Fleischerzeugnisse	139
Tabelle 5.5:	Bewertung der mikrobiologischen Ergebnisse (Verordnung (EG) Nr. 1441/2007)	139
Tabelle 5.6:	<i>Campylobacter</i> - Spezies an den einzelnen Probenqualitäten in %	142
Tabelle 5.7:	<i>Campylobacter</i> - Nachweis mittels konventioneller Methode und PCR	143
Tabelle 5.8:	Charakterisierung von Isolaten aus 14 Ausfahrten durch Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE) im Schlachbetrieb und in den Beständen	147
Tabelle 5.9:	Nachgewiesene Virulenz-Faktoren in den <i>E.coli</i> Isolaten	148

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 2. 1: Welschschafbestand im Jahr 2006 (VDL 2006) 3

Abbildung 2. 2: Geschlachtete Schafe und Ziegen in 1000 Tonnen in der EU (IFA 2011) 6

Abbildung 3. 1: Probeentnahme- Stelle je Tierkörper an der Position 1 47

Abbildung 3. 2: Probeentnahme- Stelle je Tierkörper an der Position 2 47

Abbildung 3. 3: Probeentnahme- Stelle je Tierkörper an der Position 3 48

Abbildung 3. 4: Probeentnahme- Stelle je Tierkörper an der Position 4 48

Abbildung 3. 5: CAMP- Test: Durchführung und Auswertung..... 69

Abbildung 4. 1: Datengefüge insgesamt: Übersicht..... 80

Abbildung 4. 2: Anzahl der positiven Stanzproben von *Campylobacter* je Position
(je Position: n= 80)..... 110

Abbildung 4. 3: Nachweis unterschiedlicher *Listeria* Spezies in den unterschiedlichen
Probenqualitäten..... 120

Abbildung 4. 4: Anzahl der positiven Stanzproben von *E.coli* je Beprobungsposition am
Tierkörper (je Position: n = 80)..... 121

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Abkürzungsverzeichnis

BfR	Bundesinstitut für Risikobewertung
BaCl ₂	Barium-Chlorid
BHI	Brain Heart Infusion broth
bp	Base pair
BPLS	Brilliantgrün-Phenolrot-Lactose-Saccharose-Agar
BPW	Buffered Pepton Water (gepuffertes Peptonwasser)
BT	Biotype
<i>C.</i>	<i>Campylobacter</i>
C	Cytosin
CaCl ₂	Kalziumchlorid
CCDA	<i>Campylobacter</i> Blutfrei-Agar
CDC	Centers for disease control and prevention
CFR	Case Fatality Rate
CIN-Agar	Cefsulodin-Irgasan-Novobiocin Agar
CNS	Central Nervous System
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
DAEC	Diffus Adhäsive <i>Escherichia coli</i>
DFV	Deutscher Fleischer-Verband
DSM, DSMZ	Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig
EAEC	Enteraggregative <i>Escherichia coli</i>
ECD	<i>Escherichia coli</i> Direkt Agar
ECDC	European Centre for Disease Prevention and Control
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid
EFTA	European Free Trade Association
EHEC	Enterohämorrhagische <i>Escherichia coli</i>
EIEC	Enteroinvasive <i>Escherichia coli</i>
EPEC	Enteropathogene <i>Escherichia coli</i>
et al.	et alii
ETEC	Enterotoxinbildende <i>Escherichia coli</i>
EU	Europäische Union

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

FoodNet	The Foodborne Diseases Active Surveillance Network
G	Guanin
GKZ	Gesamtkeimzahl
H ₂ S	Hydrogensulfid
H ₂ SO ₄	Schwefelsäure
HCl	Hydrochlorid
IfSG	Infektionsschutzgesetz
ISO	International Organization for Standardization
Kap.	Kapitel
KbE	Kolonie bildende Einheiten
KCl	Kaliumchlorid
KOH	Kaliumhydroxid
<i>L.</i>	<i>Listeria</i>
l	Liter
LFGB	Lebensmittel-,Bedarfsgegenstände- und Futtermittelgesetzbuch
LMBG	Lebensmittel- und Bedarfsgegenständegesetz
log	Logarithmus (zu einer beliebigen Basis)
MgCl ₂	Magnesiumchlorid
MKTTn	Müller-Kauffmann-Tetrathionat-Novobiocin
ml	Milliliter
mM	Millimolar
mmol	Millimol
N ₂	Stickstoff
Na	Natrium
Na ₂ HPO ₄	Dinatriumhydrogenphosphat
NaCl	Natriumchlorid
NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O	Natriumhydrogenphosphat -Hydrat
nm	Nanometer
O ₂	Sauerstoff
OCLA	Oxid-Chromogen- <i>Listeria</i> -Selektiv Agar
PBS	Phosphatpufferlösung
PCR	Polymerase Chain Reaction
PFGE	Pulsed Field Gel Electrophoresis

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

PSB	Pepton-Sorbitol-Gallesalz-Bouillon
QS	Qualität und Sicherheit GmbH
R	Resistenz
RKI	Robert Koch Institut
rpm	Rounds per minute
RV	Rappaport-Vassiliadis
S.	<i>Salmonella</i>
s	Sensibel
sec	Sekunde
spp.	Spezies (Plural)
STEC	Shigatoxin produzierende <i>Escherichia coli</i>
T	Thiamin
TSI	Triple Sugar Iron
USA	Vereinigte Staaten von Amerika
UV	Ultraviolett
V	Volt
VO (EG)	Verordnung der EG/EU
VP	Voges-Proskauer
VRBD	Violet Red Bile Dextrose
w/v	weight/volume
WHO	World Health Organization
Y.	<i>Yersinia</i>
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter
µM	Mikromolar
µm	Mikrometer
Σ	Summe
<	kleiner als
>	größer als
=	gleich
≤ - ≥	kleiner gleich - größer gleich

1 Einleitung

Die Übertragung von Zoonosen und lebensmittelbedingten Krankheitsausbrüchen innerhalb der Lebensmittelkette kann über den Verzehr von kontaminierten Lebensmitteln bzw. rohen Lebensmitteln tierischer Herkunft, wie Fleisch und Rohfleischprodukten, Milch, Rohmilchprodukte und Fisch erfolgen. Häufig auch erfolgt ein Übertrag durch Verzehr erhitzter und nachträglich kontaminierter Produkte wie Käse aus pasteurisierter Milch oder auch durch geräucherten Fisch. Gelegentlich werden Zoonoseerreger auch auf pflanzlichen Lebensmitteln wie vorgeschnittenen Salaten gefunden (HARTUNG 2001).

Schafprodukte nehmen bei den Verbrauchern in arabischen Ländern, insbesondere in Syrien einen hohen Stellenwert ein. Dagegen wird in der Schaf- und Ziegenfleischerzeugung mit einer negativen Entwicklung in den Produktionsländern inklusive Deutschland gerechnet.

Campylobacter, *Salmonella*, sowie auch *Listeria*, *Yersinia* und *Escherichia coli* sind die Hauptverursacher für lebensmittelbedingte Erkrankungen in Deutschland und weltweit.

Dies ist auch in der Schaffleischgewinnungslinie zu berücksichtigen.

Aufgabe dieser Studie war es, die Prävalenz von thermophilen *Campylobacter*, *Listeria* spp., *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica* und *Salmonella* in einem Schafschlachtbetrieb in Brandenburg zu testen, um festzustellen, wie weit auch hier lebensmittelbedingte Krankheitserreger aus der Haltung in die Schlachtung hinein und auch innerhalb des Schlachtbetriebs und damit in den Fleischgewinnungsablauf verschleppt werden. Ermittelt wurde das Auftreten der Erreger im Schlachtbetrieb sowie ein möglicher Zusammenhang mit den Ergebnissen der Beprobungen auf verschiedenen Schafhaltungsbetrieben.

2 Literatur

2.1 Die Lebensmittelkette beim Schaf

Auch in der Überwachung Lebensmittel liefernder Tiere müssen zunächst Analysen der Gegebenheiten vorgenommen werden. Rechtlich war bereits mit der VO (EG) 178/2002 die gesamte Lebensmittelkette von der Fütterung der Tiere bis zur Verwertung anfallender Nebenprodukte abgedeckt worden. Mit der Verordnung (EG) 854/2004 wurde erstmals die Einheit von Haltung und Fleischgewinnung herausgestellt und in die Praxis der Überwachung umgesetzt (FRIES 2009).

Wird bereits auf die Gesundheit der in den Betrieb einkommenden Tiere und die Beschaffenheit einkommender und vorhandener Stoffe geachtet und werden bereits in der Haltung vorbeugende Maßnahmen betrieben, ist über das letztlich produzierte Tier über Vorgeschichte und Herkunft mehr bekannt als wenn der Herkunftsbetrieb unbekannt bleibt. Dies ist die Grundlage für den Aufbau der Lebensmittelkette, die Untersuchungs- und Kontrollsysteme erweitern sich über die traditionelle Prüfung der Tiere ante und post mortem hinaus und beinhalten neben Haltingsdaten laborgestützte Untersuchungen, wo notwendig (FRIES 2010).

Die Haupteintragsquelle von Zoonoseerregern liegt in der Primärproduktion. Aus diesem Grund muss der Bekämpfung der Zoonoseerregere in diesem Bereich besondere Aufmerksamkeit geschenkt werden, um eine Übertragung in die Sekundärproduktion und bis zum Verbraucher zu verhindern.

Nach VO (EG) Nr. 853/2004 (Informationen zur Lebensmittelkette) dürfen die Tiere nur geschlachtet werden, wenn dem Schlachtbetrieb bestimmte Informationen des Erzeugers zu den aus seinem Bestand gelieferten Tieren vorliegen.

Danach dürfen die Schlachthofbetreiber keine Tiere in den Räumlichkeiten des Schlachthofs zulassen, wenn sie die relevanten Informationen in Bezug auf die Lebensmittelsicherheit nicht erhalten haben. Diese Informationen müssen den Tiergesundheitsstatus des Herkunftsbetriebes, den Gesundheitsstatus der Tiere, Produktionsdaten (die das Auftreten einer Krankheit anzeigen könnten) und die Ergebnisse der Analysen von Proben (zur Diagnose von Krankheiten, oder Proben im Rahmen der Zoonosen- und Rückstandsüberwachung und -bekämpfung) enthalten. Aber auch auf die Sauberkeit der angelieferten Tiere hat das neue

Hygienepaket- Einfluss. Gemäß VO 853/2004 hat der Lebensmittelunternehmer dafür zu sorgen, dass die Haut oder das Fell von Tieren, die geschlachtet werden, sauber ist.

Im Schlachtbetrieb und während des Schlachtprozesses bieten sich zahlreiche Möglichkeiten für eine Kontamination des Schlachtierkörpers und der Organe sowie für Kreuzkontaminationen zu anderen Schlachtierkörpern mit pathogenen Bakterien an (BUMANN 2010). Die Einhaltung einer guten Hygienepraxis beim Schlachtvorgang kann jedoch die Wahrscheinlichkeit einer Kontamination der bei gesunden Tieren sterilen Muskulatur zumindest verringern und ist von Bedeutung, um einen Eintrag von Zoonoseerregern in die Lebensmittelkette bestmöglich zu minimieren (ZWEIFEL et al. 2004; ADAM und BRÜLISAUER 2010).

2.1.1 Haltung

Deutschland

Die Vereinigung Deutscher Landesschafzuchtverbände (VDL) berichtete im Jahr 2006 über Schafbestände in der Welt (Abb. 2. 1). Der Bestand lag weltweit bei 1.024 Mrd., in der EU bei 86 Millionen (VDL 2006).

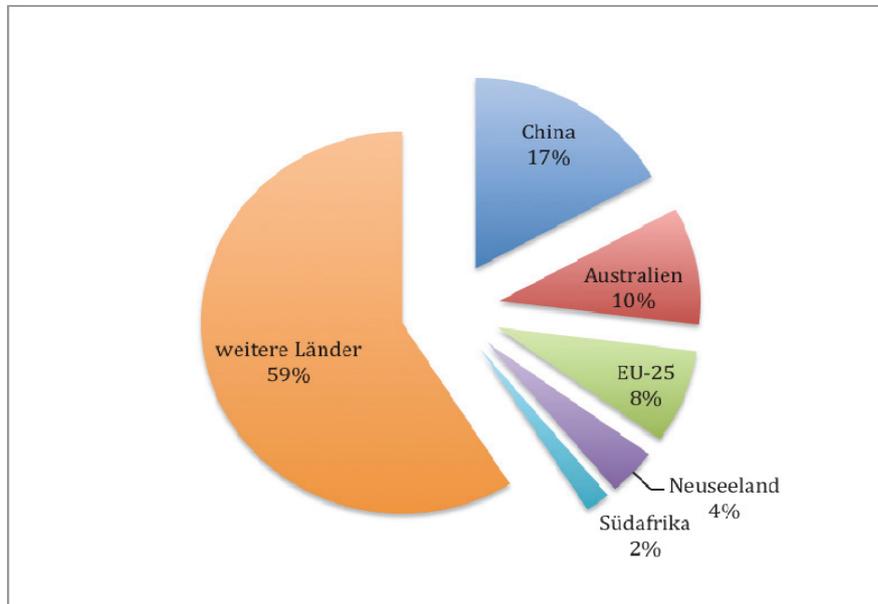


Abbildung 2. 1: WELTSCHAFBESTAND IM JAHR 2006 (VDL 2006)

Literatur

1860 hatte die Schafhaltung in Deutschland mit 20 Millionen Tieren ihren höchsten Stand. Seitdem verzeichnete sie eine abfallende Tendenz, der Bestand erreichte hundert Jahre später seinen Tiefpunkt mit nur noch 700.000 Tieren in Westdeutschland. In der DDR sah es für die Schafe deutlich besser aus. Nach der Wende kam es aber auch dort zu Einschnitten, 2004 grasten insgesamt 2,8 Mio. Schafe in Gesamtdeutschland (STRITTMATTER 2004).

Nach Angaben des statistischen Bundesamtes wurden im Mai 2009 in Deutschland knapp 2,4 Millionen Schafe ermittelt. Der Bestand an Schafen sank im Vergleich zur letzten Erhebung im Mai 2008 um 2,7 % (DESTATIS 2009).

Zur Unterteilung und Beschreibung der unterschiedlichen Haltung kann man unterschiedliche Kriterien heranziehen (Tab. 2. 1) (VDL 1995 und RAHMANN 1998):

- mit oder ohne Schäfer
- standortgebunden oder wandernd
- in Herden oder Kleingruppen

Tabelle 2. 1: Schafhaltung in Deutschland 1994 (VDL 1995 und RAHMANN 1998)

Haltungsformen	Anzahl der Schafhalter	Anzahl der Schafe
Wanderschafherden	862	534.183
Einzelherden	719	366.747
Großschäferei	143	167.436
Standortgebundene Schafherden	1.773	836.816
Guttschäferei	156	82.939
Gemeinde/Genossenschaftsschäferei	154	103.403
Bezirksschäferei	1.164	557.442
Deichschäferei	299	93.032
Standortgebundene Schafhaltung	68.755	959.731
Einzelschafhaltung (bis 4 Schafe)	25.839	71.849
Einzelschafhaltung (bis 5-9 Schafe)	13.685	72.028
Koppelschafhaltung	29.211	811.054
Ganzjährige Stallhaltung	10	4.800
Gesamtzahlen	71.390	2.330.730

Nach KLUMPP et al. (2003) ist das Schaf als Wiederkäuer für die Verwertung von Futter mit niedriger Nährstoffkonzentration und hohem Rohfasergehalt besonders geeignet. Im Gegensatz zum Rind ist das Schaf auch in der Lage, relativ geringwertigen Aufwuchs zu nutzen und durch seine selektive Futteraufnahme eine Ration zusammen zu stellen, deren Nährstoffgehalt über dem Durchschnittswert des gesamten Aufwuchses liegt. Aufgrund dieser Eigenschaften kann die Schafhaltung vielerorts auf Grenzertragsstandorten stattfinden, auf denen wegen geringer Bodenfruchtbarkeit, der Hanglage oder des Klimas der Anbau von

Marktfrüchten oder eine intensive Grünlandnutzung nicht möglich sind (SCHLOLAUT 1992). Die Anpassung an natürliche Standortbedingungen und betriebliche Voraussetzungen brachte eine Vielzahl unterschiedlicher Haltungsformen für Schafe hervor. Unterscheiden lassen sich die Hütelhaltung in ihren Ausprägungen als standortgebundene Hütelhaltung, die auch als Wanderschafhaltung bezeichnet wird (WINKELMANN 2005) sowie die Koppelhaltung (KORN 2001; SCHLOLAUT 1992; BURGKART 1998 und MARTEN 1986).

Syrien

Das International Center for Agricultural Research in the Dry Areas in Syrien (Aleppo) hat 2007 berichtet, dass es rund 15 Millionen Schafe alleine in Syrien gab. Ihre Zahl hat sich in den letzten Jahrzehnten vervierfacht. Ein Grund hierfür ist das rasche Bevölkerungswachstum (ICARDA 2008).

Die Schafhaltung in Syrien basiert fast ausschließlich auf Awassi-Schafen. Diese sind eine heimische Schafrasse, die auch für ungünstige Naturbedingungen gut geeignet ist. Die steigende Nachfrage nach Fleisch, Milch und Wolle führt dazu, dass immer mehr Schafe gehalten werden.

In Syrien gibt es drei verschiedene Schafhaltungssysteme: Extensiv, intensiv und halbintensiv. Die traditionelle Weidehaltung auf den Steppen (Extensivhaltungssystem) ist die verbreitetste Haltungsform, sie nutzt Steppen, die anderweitig nicht bewirtschaftet werden können. Dieses System ist abhängig vom Zustand der Steppen und den Niederschlägen. Im Intensivhaltungssystem werden die Schafe im Stall gehalten. Die Mutterschafe produzieren bei dieser Haltungsart mehr Fleisch und Milch als in der Extensivhaltung. Das Halb-Intensivhaltungssystem verbindet beide. Der Großteil der Schafe wird dabei im Stall gehalten, nur die Mutterschafe suchen sich ihre Nahrung auf der Weide (HIJAZI 2010).

Im Jahr 1999 wurden in Syrien 14 Millionen Schafe gehalten, sie lieferten 75 % des im Lande erzeugten Fleisches und 38 % der in Syrien produzierten Milch. Der Bedarf an Milch, vor allem für den Verzehr als frische Trinkmilch wird jedoch nicht erfüllt. Unter den Bedingungen extensiver Verfahren wird die Milch hauptsächlich zu Käse und Butter verarbeitet. Lediglich 7-8 % der Schafmilch sind als Trinkmilch, Joghurt und Quark verfügbar (KROCKER et al. 1999).

2.1.2 Technologie der Fleischgewinnung von Schafen

Nach der Irish Farmers' Association (IFA) sind Schafe und Ziegen in der EU ein wichtiger Bestandteil der Fleischproduktion. Im Bereich der Schlachtung sind Schafe die Hauptkategorie im Vergleich zu Ziegen (Abb. 2. 2). In den letzten zehn Jahren schwankte die Zahl der geschlachteten Schafe (in 1000 Tonnen) in der EU zwischen 717 und 1.046 (IFA 2011).

Der Gesamtvorgang gliedert sich in Betäubung, Entbluten, Entvliesen, Evisceration und ggf. Spalten des Tierkörpers (Schlachtkörper von als Haustiere gehaltenen Huftieren dürfen in Schlachthöfen in Hälften oder Viertel und Schlachtkörperhälften in maximal drei großmarktübliche Teile zerlegt werden). Der Schlachtkörper und für den menschlichen Verzehr bestimmte andere Teile des Körpers müssen, mit Ausnahme von Schweinen sowie Köpfen und Füßen von Schafen, Ziegen und Kälbern, vollständig enthäutet werden. Die Köpfe und Füße müssen so behandelt werden, dass jede Kontamination anderen Fleisches vermieden wird (VO (EG) 853/2004).

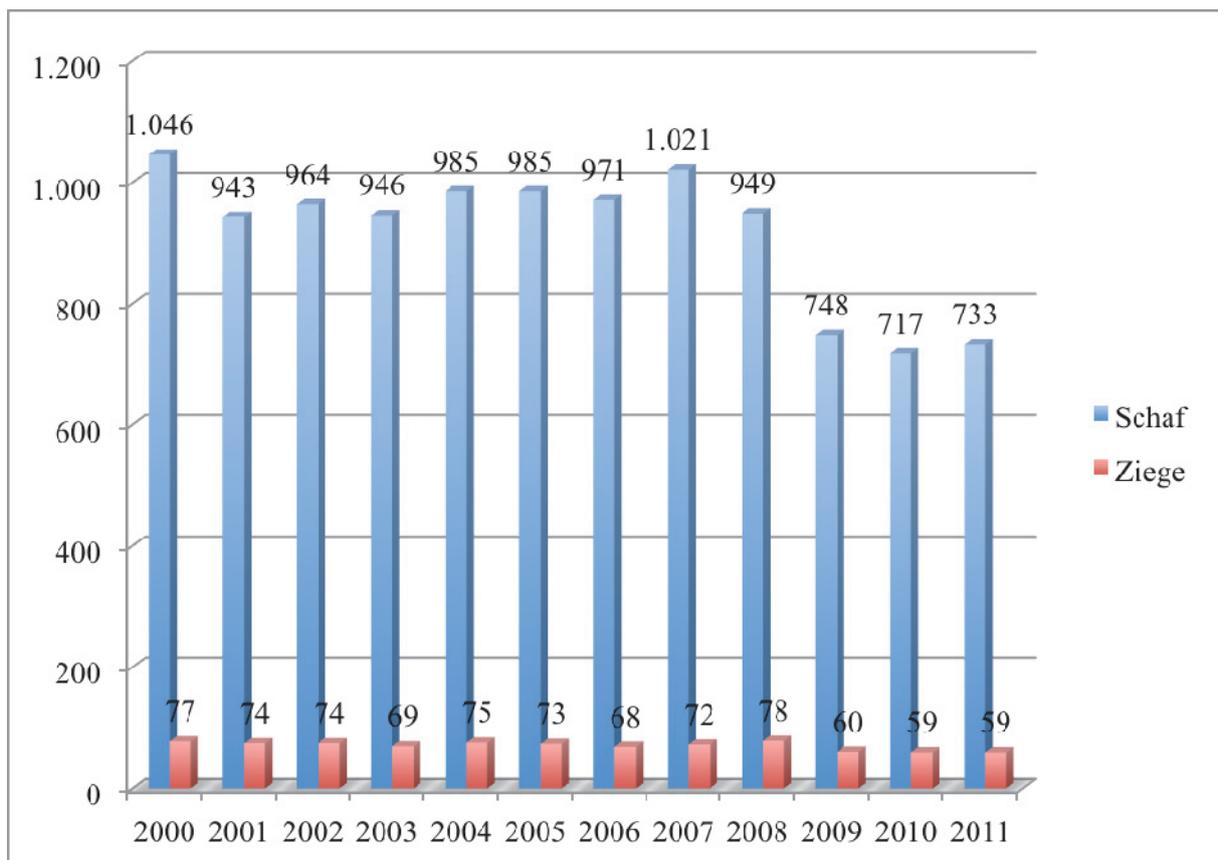


Abbildung 2. 2: Geschlachtete Schafe und Ziegen in 1000 Tonnen in der EU (IFA 2011)

Die Betäubung macht das Tier empfindungs- und wahrnehmungslos (§4 Tierschutzgesetz). Nach der VO (EG) Nr. 1099/2009 (über Schutz von Tieren zum Zeitpunkt der Tötung) dürfen beim Schaf folgende Betäubungsmethoden verwendet werden:

- Kopfschlag (bei Schaf- und Ziegenlämmern bis zu einem Gewicht von 5kg zulässig)
- Feuerwaffenschuß
- Bolzenschuß
- Elektrische Durchströmung

Entblutung

Schafe werden nach der Betäubung auf einen Schlachtschragen gelegt oder mit dem Hinterbein an einen Rahmenhaken oder Rohrbahnhaken gehängt und entblutet.

Das Entbluten erfolgt mittels Durchtrennen der Hauptblutgefäße im Halsbereich. Es muss möglichst rasch nach dem Betäuben vorgenommen werden. Die Zeitdauer zwischen Betäubung und Entbluteschnitt richtet sich nach der Betäubungsart. Beim Halsschnitt ist in der Schweiz darauf zu achten, dass beide Halsschlagadern eröffnet werden und ein möglichst großer Blutverlust in kurzer Zeit erreicht wird, bevor weitere Aktivitäten erfolgen (BVET 2004).

Für die Elektrobetäubung gilt einheitlich, dass bei der Liegendentblutung spätestens 10 Sekunden und bei Entblutung im Hängen spätestens 20 Sekunden nach Beginn des Stromflusses der Entbluteschnitt erfolgen muss (TVT 2001).

Die entbluteten Tierkörper werden nach Absetzen der Hinterfüße und Lösen des Vlieses über den Sprunggelenken an den Fersenbeinen aufgehängt, der Kopf und die Vorderfüße abgesetzt, entvliest und die Becken-, Bauch- und Brusteingeweide entnommen (PRÄNDL et al. 1988).

Entvliessen

Anschließend werden die Schafe vollständig manuell bzw. maschinell entvliest. Das maschinelle Entvliessen wurde entwickelt, um die Kontamination auf Karkassen und die Schlachtprozess-Kosten beim Schaf zu reduzieren (NOTTINGHAM et al. 1974).

In vielen Schlachtbetrieben wird das Entvliessen konventionell (Aufhängen an den Hinterextremitäten) oder invertiert (Aufhängen an den Vorderextremitäten) durchgeführt (Tab. 2. 2).

Tabelle 2. 2: Entvliesen: Traditionelle- und Invert-Technik (BISS und HATHAWAY 1998)

Traditionelle Technik	Invert-Technik
Die Karkassen werden an den Hinterextremitäten aufgehängt und das Vlies zuerst an Hinterextremitäten danach am Bauch und dann an Vorderextremitäten manuell entfernt, das Umdrehen erfolgt direkt nach dem Entvliesen	Die Karkassen werden an den Vorderextremitäten aufgehängt, das Vlies wird an Vorderextremitäten zuerst mechanisch entfernt

Die Entvlies- Technik mittels Gas, um das Vlies von der Karkasse zu lösen, ist in der EU als Verfahren zur Reduzierung des Hautverlusts durch Schnitte und zur Erleichterung des Vorganges zugelassen. Hier wird gepresste Luft mechanisch zur Vliesentfernung unter das Vlies gepresst (VAN HOOFF 2001). Weiterhin berichteten andere Studien aus Italien, dass diese Technik die Oberflächen-Kontamination der Karkassen reduzieren kann (CENCI GOGA et al. 1996 und SEVERINI et al. 2000).

Eviszeration

Anschließend werden die Schafe zum Ausweiden an Rahmenhaken gehängt (BACHARI 2003).

2.2 Hygiene der Lebensmittelkette

VAN HOOFF (2001) prüfte die Entvlies- Technik mittels Gas, das unter die Haut der Karkassen gepumpt wurde, und stellte fest, dass dies der kritischste Punkt für die Kontamination der Schafkarkassen war. Es gab wenige mikrobiologische Unterschiede (in Bezug auf GKZ, Enterobacteriaceae und *Staphylococcus* spp.) zwischen den Karkassen, die mit Gas entvliest wurden, mit Ausnahme der Stelle der Nadeleinführung. Mittels Nadelsterilisation könnte diese mikrobiologische Kontamination reduzieren werden.

Ziel der „Hazard Analysis and Critical Control Points“ (HACCP) ist, die Prävalenz von Pathogenen im Tierkörper zu vermeiden und die mikrobiologische Kontamination während der Bearbeitung soweit wie möglich zu begrenzen (ANONYMOUS 1993). In Irland wurde die mikrobiologische Qualität von Lammkarkassen (Hals, Bein und Flanke) während des Schlachtprozesses an vier Positionen (vor und nach dem Entvliesen, nach der Evisceration und nach dem finalen Waschen vor der Kühlung) geprüft (SIERRA et al. 1997). Ein Unterschied zwischen den Schlachtphasen war nicht festzustellen.

BISS und HATHAWAY (1998) haben die sichtbare und mikrobiologische Kontamination von Lammkarkassen bei der Invert- und der traditionellen- Technik verglichen. Bei der Invert-Technik lagen die Mittelwerte der GKZ und die *E.coli*- Zahlen nach dem Entvliesen am Bein bei $\log 1,86 \text{ KbE/ cm}^2$ bzw. $1,71 \text{ KbE/ cm}^2$ und an der Lende bei $\log 0,13 \text{ KbE/ cm}^2$ bzw. $0,05 \text{ KbE/ cm}^2$. Im weiteren Prozess bis zur Verpackung stiegen diese Werte signifikant an. Bei der traditionellen Technik waren die Werte höher als bei der Invert- Technik, die Mittelwerte der GKZ und *E.coli*- Zahlen lagen nach dem Entvliesen am Bein bei $\log 4,66 \text{ KbE/ cm}^2$ bzw. $2,71 \text{ KbE/ cm}^2$ und an der Lende bei $\log 2,21 \text{ KbE/ cm}^2$ bzw. $0,24 \text{ KbE/ cm}^2$. Im weiteren Prozess war auch hier keine signifikante Auswirkung erkennbar.

BISS und HATHAWAY (1998) haben mögliche kritische Kontrollpunkte dargestellt:

- Zustand der Tiere und des Vlieses vor der Schlachtung (einschließlich Vermeidung des Waschens vor der Schlachtung)
- Invert-Technik beim Entvliesen, Kontakt zwischen Mitarbeitern und Karkassen
- Reduzierung des Kontaktes innerhalb der Schlachtlinie zwischen Tierkörper und Fleischbeschauer
- Kühlung, wobei es in dieser Stelle nur ein niedriges Niveau von Kontamination gibt

2.2.1 Aerobe Gesamtkeimzahl und Enterobacteriaceae

2.2.1.1 Der Prozessablauf

Konventionelle- und Invertiert-Technik

GILL et al. (2000) haben die mikrobiologische Belastung auf Schafkarkassen mittels konventioneller Aufhängen an den Hinterextremitäten und invertierter Aufhängen an den Vorderextremitäten geprüft. Der Mittelwert der GKZ war bei der konventionellen Technik höher als bei der Invert-Technik.

Entvliesen

Die sichtbare und mikrobiologische Kontamination in der Enthäutung entsteht entweder durch direkten Kontakt des Vlieses mit dem Fleisch oder durch den Kontakt mit Händen und Ausrüstungsgegenständen (GILL 1987).

Während des Entvliesens der Lammkarkassen (traditionell bzw. Invert-Technik) stellten sich für die mikrobiologische Kontamination für beide Technik ein signifikanter Unterschied ($p < 0,01$) heraus. Die weitestgehende Reduzierung der sichtbaren und mikrobiologischen Kontamination wurde erzielt, wenn Kontakt zwischen Händen und Karkassen während der

Enthäutung nicht bestand. Die Invert- Technik war besser als die traditionelle geeignet, um die Kontamination zu reduzieren (WHYTE et al. 2002).

Das Vlies

HOLDER und HADLEY (1996) haben die Vlies-Sauberkeit und den Hygienezustand bei Lammkarkassen (England) untersucht. Die Tiere wurden 5 verschiedenen Kategorien zugeordnet:

1. sauber und trocken, nur wenig lose anhaftendes Stroh
2. trocken, nicht-fäkale Verschmutzungen mit anhängendem Stroh
3. anhängende fäkale Verschmutzungen im gesamten Bauchbereich
4. schwere, trockene fäkale Verschmutzungen im gesamten Bauchbereich
5. starke Kontamination der gesamten Unterseite inklusive aller Extremitäten mit feuchten und abtropfenden fäkalen Verschmutzungen

Diesen Kategorien wurden die Mittelwerte der GKZ und der Enterobacteriaceae von Vlieskontamination zugeordnet (Tab. 2. 3).

Tabelle 2.3: GKZ und Enterobacteriaceae auf Schafkarkassen auf Basis von 5 Kategorien der Vliesverschmutzung (HOLDER und HADLEY 1996)

Kategorien	GKZ (KbE/ cm ²)	Enterobacteriaceae (KbE/ cm ²)
1	2,43 ± 0,45	0,18
2	2,71 ± 0,62	0,12
3	3,65 ± 0,67	1,07
4	4,54 ± 0,77	1,17
5	5,10 ± 0,84	1,92
p-Wert zwischen den fünf Kategorien	< 0,001	< 0,001

Mit verstärker Belastung des Vlieses stiegen die Werte für die GKZ und die Enterobacteriaceae an. Auch das Vlies beeinflusste das Ergebnis: Kontaminiertes langes Vlies bewirkte eine hohe GKZ und hohe Werte an Enterobacteriaceae, d. h. Frühjahrslämmer (die nach einigen Monaten Lebensdauer geschlachtet werden) hatten ein kurzes Fell und waren weniger kontaminiert als Schafe mit langem Vlies, dagegen wiesen älter Schafe (die erst im folgenden Winter geschlachtet wurden) ein längeres Vlies auf (Tab. 2. 4).

Tabelle 2. 4: GKZ- und Enterobacteriaceae Werte bei Schafen mit kurzem und langem Vlies (HOLDER und HADLEY 1996)

Untersuchungsziel (log ₁₀ KbE/ cm ²)	Frühjahrlämmer (kurzes Vlies)	Alte Schafe (langes Vlies)
GKZ	2,43±0,45	5,10±0,84
Enterobacteriaceae	0,18	1,92

Auch nach HADLEY et al. (1997) hatten der Vlieszustand Auswirkungen auf die mikrobiologische Belastung der Schafkarkassen: Karkassen mit einem schmutzigen Vlies wiesen große Mengen von Mikroorganismen und Enterobacteriaceae auf.

BYRNE et al. (2007) stellten auf das Vlies bezogene Risikofaktoren zusammen. 200 Schafe wurden in fünf Gruppen unterteilt:

- A: sauber und trocken
- B: sauber und nass
- C: schmutzig und trocken
- D: schmutzig und nass
- E: mit sichtbarem Kot

Die Karkassen wurden nach dem Entvliesen an vier Stellen mittels Tupfer- Methode auf Gesamtkeimzahl (GKZ), Enterobacteriaceae und Coliforme untersucht. Je nach Trockenheit des Vlieses war die Kontamination signifikant unterschiedlich. Bei schmutzigen Schafen waren die Enterobacteriaceae- und Coliformen- Zahlen höher als bei sauberen Schafen, unabhängig von Feuchtigkeit und Trockenheit.

Die Sauberkeit des Vlieses ist ein wichtiger Aspekt in der Hygiene der Schaffleischgewinnung. In Untersuchungen von BISS und HATHAWAY (1995) in Neuseeland beeinflusst bereits der Sauberkeitszustand der lebenden Tiere die mikrobiologische Beschaffenheit des Vlieses und damit die Belastung des ausgeschlachteten Tierkörpers. Ein langes, feuchtes und verschmutztes Vlies war mikrobiologisch belastet (4,63 KbE/ cm²). Ein geschorenes Vlies führte zu niedrigeren Keimgehalten auf der Oberfläche der Karkasse (3,93 KbE/ cm²), Tierkörper von Schafen mit langem Vlies wiesen einen höheren Keimgehalt auf, insbesondere wenn das Vlies gewaschen wurde und feucht blieb, d. h. der Vlies- Status der zum Schlachtbetrieb kommenden Lämmer wurde als Hauptfaktor der mikrobiologischen Qualität der Karkassen angesehen. Das Vlies musste anschließend getrocknet werden, wenn eine Reinigung durchgeführt wurde. Optimal ist ein sauberes, trockenes und kurz geschorenes Vlies (FRIES 2009).

BISS und HATHAWAY (1996) prüften vier Schlachtbetriebe (A, B, C und D) in Neuseeland. Der höchste Mittelwert (GKZ und *E.coli* quantitativ) lag bei den gewaschenen, ungeschorenen Karkassen in den Schlachthöfen A und B (Tab. 2. 5). Die sichtbare Kontamination (Schmutz- und Fäkal-Verunreinigungen) auf gewaschenen Karkassen war niedriger als auf ungewaschenen Karkassen.

In beiden Schlachtbetrieben lagen die Mittelwerte der GKZ und die Zahl der *E.coli* auf geschorenen Lammkarkassen niedriger als die Mittelwerte bei den ungeschorenen Lammkarkassen in Gruppen, die gewaschen worden waren.

In den Schlachtbetrieben C und D wurde der Kontaminationszustand der Extremitäten verglichen, in Schlachtbetrieb C waren GKZ und Zahl der *E.coli* an den Vorder- und Hinterextremitäten der gewaschenen Karkassen höher als bei ungewaschenen Karkassen (Tab. 2. 6). Im Vergleich von Vorder- und Hinterextremitäten lagen die Mittelwerte der GKZ und die Zahl der *E.coli* auf den Vorderextremitäten niedriger als auf den Hinterextremitäten, Dieses gilt sowohl für gewaschene als auch für ungewaschene Vlies.

Im Schlachtbetrieb D wurden die höchsten Werte auf den Vorderextremitäten gefunden (Tab. 2. 7).

Tabelle 2. 5: GKZ und *E.coli* bei gewaschenen und ungewaschenen Lammkarkassen (BISS und HATHAWAY 1996)

	TK	GKZ (Kbe/ cm ²)		Zahl der <i>E.coli</i> (Kbe/ cm ²)	
		gewaschen	ungewaschen	gewaschen	ungewaschen
Schlachtbetrieb A	Sauber/ geschoren	5,02 (4,80-5,24)	3,97 (3,74-4,21)	1,49 (0,99-1,99)	0,89 (0,56-1,23)
	Sauber/ ungeschoren	5,36 (5,25-5,46)	4,54 (4,41-4,67)	2,11 (1,88-2,34)	0,54 (0,29-0,78)
Schlachtbetrieb B	Sauber/ geschoren	4,54 (4,39-4,69)	4,42 (4,22-4,63)	0,99 (0,82-1,17)	0,72 (0,46-0,99)
	Sauber/ ungeschoren	5,16 (4,98-5,33)	4,36 (4,22-4,49)	1,32 (1,05-1,59)	0,38 (0,15-0,61)

Tabelle 2. 6: GKZ und *E.coli* für 25 TK (gewaschenes und ungewaschenes Vlies in den Schlachtbetrieben C und D (Mittelwert) (BISS und HATHAWAY 1996)

	Viertel	GKZ (Kbe/ cm ²)		Zahl der <i>E.coli</i> (Kbe/ cm ²)	
		gewaschen	ungewaschen	gewaschen	ungewaschen
Schlachtbetrieb C	Vorderviertel	3,81 (3,61-4,02)	3,45 (3,25-3,64)	0,62 (0,38-0,87)	0,39 (0,16-0,63)
	Hinterviertel	4,69 (4,43-4,69)	4,41 (4,19-4,63)	1,55 (1,14-1,95)	1,23 (0,79-1,66)
Schlachtbetrieb D	Vorderviertel	4,22 (3,94-4,49)	4,64 (4,32-4,97)	1,37 (0,78-1,95)	1,17 (0,66-1,69)
	Hinterviertel	3,92 (3,45-4,39)	3,79 (3,29-4,29)	1,17 (0,58-1,76)	1,21 (0,64-1,77)

CENCI GOGA et al. (1996) haben das Entvliesen von Lammkarkassen mit und ohne Gas (Italien) geprüft, es wurden Tupferproben entnommen und mikrobiologisch untersucht. Es fanden sich keine großen Unterschiede zwischen beiden Methoden (Tab. 2.7). Die Mittelwerte der mikrobiologischen Kontamination waren für alle untersuchten Karkassen akzeptabel.

Tabelle 2. 7: Mikrobiologischer Status enthäuteter Karkassen (mit und ohne Gasanwendung) (CENCI GOGA et al. 1996)

Untersuchungsziel	konventionell (Kbe/ cm ²)	mittels Gas (Kbe/ cm ²)
GKZ	1,65-2,22	1,97-2,82
Coliforme	0,00-0,08	0,06-0,71
<i>Staphylococcus</i> spp.	0,87-1,38	1,14-1,78

LARSEN et al. (2009) haben die hygienischen Effekte des Entvliesens an Lamm- und Rinderkarkassen einmal mittels Messer und einmal mit Gas (das Gas wurde unter die Haut des Tierkörpers gepumpt) dargestellt. Der Mittelwert der GKZ (Brust) war (während des Schlachtprozesses und nach der Kühlung) bei der Gas- Methode signifikant niedriger (log 1,0 Kbe / cm²) als beim Einsatz von Messern (log 2,0 Kbe / cm²) (p < 0,0001).

Karkassen

Eine Studie in Indien zeigte eine hohe Vielfalt der Mikroflora auf Schafkarkassen im Verlaufe der Evisceration, wobei die Zahl von *Staphylococcus aureus* bei log 3,15 ± 0,18 Kbe/ cm², *Bacillus cereus* bei log 3,10 ± 0,08 Kbe/ cm², *Clostridium* spp. bei log 0,76 ± 0,06 Kbe/ cm²

und *Klebsiella aerogenes* bei $\log 3,22 \pm 0,22$ KbE/ cm² lag. Die höchste Prävalenz zeigte sich bei *Staphylococcus epidermidis* (41,6 % der Karkassen), an zweiter Stelle lag *Klebsiella aerogenes* (31,9 %) und der niedrigste Anteil wurde von *Clostridium* spp. (7,8 %) gestellt (BHANDARE et al. 2010).

In einer Studie (SIERRA et al. 1995b) zum Gehalt von Enterobacteriaceae und fäkalen Coliformen ($< 1 \log_{10}$ KbE/ cm²) beeinflusste die technische Einrichtung der Schlachtbetriebe und die Art des Schlachtvorganges die ermittelten Werte nicht signifikant.

In einer anderen Studie in den USA (HAUGE et al. 2011) reduzierte eine „Pasteurisation“ (mittels Sprüh-Technik mit 82 °C warmem Wasser für 8 s auf den Oberflächen der Lammkarkassen vor der Kühlung) die Gesamtkeimzahl auf Lammkarkassen, wobei der Mittelwert der GKZ auf nicht pasteurisierten Lammkarkassen bei $\log 5,55$ KbE/ cm² lag und auf pasteurisierten Karkassen bei $\log 4,60$ KbE/ cm². Nach 24 h Kühlung sank der Mittelwert bis auf $\log 4,81$ KbE / cm² für unpasteurisierte Lammkarkassen und bis auf $\log 4,28$ KbE/cm² für pasteurisierte Karkassen. Die Enterobacteriaceae- Zahl lag auf nicht pasteurisierten Karkassen bei $\log 3,78$ KbE/ cm², während sie auf pasteurisierten Karkassen bei $\log 1,41$ KbE/ cm² lag, Enterobacteriaceae sanken deutlich nach 24 h Kühlung auf $\log 1,94$ KbE/ cm² auf nicht pasteurisierten Karkassen und auf $\log 0,49$ KbE/ cm² auf pasteurisierten Karkassen ($p < 0,001$).

In Griechenland wurde eine Dampf- Sprüh- Technik mit 90 °C für 8-10 s auf Lammkarkassen direkt vor der Kühlung eingesetzt und mit Karkassen ohne Dampfeinsatz verglichen. Bei Lammkarkassen ohne Dampf stiegen die GKZ und Enterobacteriaceae von Position (nach dem Entvliesen) zu Position (nach der Evisceration) an. Im Allgemeinen zeigten die Ergebnisse untereinander keinen signifikanten Unterschied ($p > 0,05$), wobei der Mittelwert der GKZ bei $\log 6,00$ KbE/ cm² vor der Dampf-Anwendung und bei $\log 5,90$ KbE/ cm² nach der Dampf-Anwendung lag. Enterobacteriaceae lagen vor der Dampf-Anwendung bei $\log 4,04$ KbE/ cm² und bei $\log 3,09$ KbE/ cm² danach (MILIOS et al. 2011).

ZWEIFEL und STEPHAN (2003) sammelten von 580 Schafkarkassen in drei Schlachtbetrieben (A, B und C) in der Schweiz Proben mittels der Nass-Trocken-Tupfer-Methode (NTT). Der höchste Wert (GKZ) lag bei $\log 3,8$ KbE/ cm² (Brust) und $3,5$ KbE/ cm² am Hals, der niedrigste Mittelwert lag bei $\log 2,5$ KbE/ cm² an der Schulter. 68,1 % der Karkassen und 15,2 % der untersuchten Proben waren Enterobacteriaceae-positiv (42,2 % an der Brust und 2,6 % an den Hinterbeinen).

Die Struktur der Schlachtbetriebe und die Schlachttechnik könnten die Karkassenkontamination beeinflussen. Gefunden wurden *Salmonella* (10 %), *Aeromonaden* (33 %), *Yersinia enterocolitica* (20 %) und *Escherichia coli* (56,6 %) (SIERRA et al. 1995a).

VANDERLINDE et al. (2005) kontrollierten Lämmer- und Schaf-Karkassen im Zeitraum vom Januar 2000 bis Juni 2001 in Australien. *E.coli* wurde zu 19,9 % auf Lämmerkarkassen und zu 32,5 % auf Schafkarkassen nachgewiesen. Nach dem Ausbeinen hatten die ungekühlten Karkassen den höchsten *E.coli*-Gehalt.

Eine deutliche Variation des mikrobiellen Kontaminationslevels auf Karkassen und Fleisch ($20 \cdot 10^8$ KBE/ cm² bzw. $2 \cdot 10^7$ KBE/ cm²) wurde in Australien während der Schlachtprozesse bei Rind- und Lammfleisch gefunden. Mehr als 70 % der Karkassen hatten 10^3 KBE/ cm², das verwendete Schneidebrett war die Hauptquelle für mikrobielle Ausbreitung während des Ausbeinens. Der Kontaminationsgrad der Karkassen spielte eine Rolle in der Kontamination während des Ausbeinens (WIDDERS et al. 1995).

Im Bereich von lebensmittelrechtlichen Vorschriften in Österreich darf rohe Schaf- und Ziegenmilch von hoher Güteklasse nur wenige Bakterien ($\leq 5,0 \times 10^5$ KBE/ ml) und keine humanpathogenen Krankheitserreger enthalten (SCHODER et al. 2010). Im Rahmen einer Hygieneinspektion wurden in Österreich 53 bäuerliche Milchdirektvermarkter aus der entsprechenden Datenbank der Landesveterinärbehörde ausgewählt, 53 Tankmilchproben (BTM= bulk tank milk) gezogen und die Gesamtkeimzahl, der Gehalt an Coliformen, *E.coli* und *Staphylococcus aureus* bestimmt. 49,1% (26 von 53) bzw. 11,3 % (6 von 53) der BTM-Proben überstiegen die gesetzlichen Grenzwerte von $5,0 \times 10^5$ KBE/ ml für die Gesamtkeimzahl und $2,0 \times 10^3$ KBE/ ml für *Staphylococcus aureus*. Coliforme wurden in 77,4 % (41 von 53) der BTM-Proben gefunden, der Mittelwert des Coliformen-Gehaltes lag bei $\log 7,0 \times 10^4$ KBE/ ml. Die *E.coli*- Zahl lag zwischen $3,0 \times 10^3$ KBE/ ml und $1,0 \times 10^1$ KBE/ ml (SCHODER et al. 2010).

Kühlung

In den USA wurde die Kontamination auf Lammkarkassen nach 24 Stunden Kühlung geprüft, Tupfer- Proben wurden von Hüfte, Brust und Keule genommen. Der Mittelwert der GKZ der entnommenen Proben lag im Frühling bei $\log 4,23$ KBE/ cm², im Winter bzw. im Herbst bei $\log 4,42$ KBE/ cm², d. h. die GKZ war im Frühling niedriger als die GKZ im Winter bzw. im Herbst ($p < 0,05$). für *E.coli* gab es keinen Unterschied zwischen den Jahreszeiten (DUFFY et al. 2001).

In Südaustralien wurden in vier Schlachtbetrieben und 13 sehr kleinen Fleisch verarbeitenden Betrieben die mikrobiologischen Profile vom verarbeitetem Fleisch mittels Schwammtupfer-Proben nach der Kühlung untersucht. Bei 364 Schafkarkassen lag der Mittelwert der GKZ bei $\log 2,59 \text{ KbE/cm}^2$, *E.coli* fand sich auf 36,2 % der gesamten Karkassen mit einer Belastung von $\log_{10} 0,27$ (Tab. 2.8, SUMNER et al. 2003).

Einen geringen Unterschied gab es zwischen der GKZ-Zahl in Schlachtbetrieben und in fleischverarbeitenden Betrieben; in den Schlachtbetrieben lag der Mittelwert der GKZ bei $\log 2,80 \text{ KbE/cm}^2$ auf Karkassen und in den fleischverarbeitenden Betrieben bei $2,44 \text{ KbE/cm}^2$ (SUMNER et al. 2003).

Tabelle 2. 8: GKZ, *E.coli* und Coliforme auf Schafkarkassen (\log_{10})

Land	Untersuchungsziel ($\log \text{KbE/cm}^2$)	nach dem Entvliesen	nach der Kühlung	nach dem Entbeinen	Quelle
USA	GKZ		4,42		DUFFY et al. (2001)
	<i>E.coli</i>		0,70		
	Coliforme		1,18		
Australien	GKZ		3,55	3,3	PHILLIPS et al. (2001)
Südaustralien	GKZ	2,59			SUMNER et al. (2003)
	<i>E.coli</i>	0,27			

Die Hygiene des Kühlungsprozesses kann durch regelmäßige Überwachung der Kühltemperatur gewährleistet werden. Nach JONES 1993 spiegelte der Prozess- Hygiene-Index (ein numerischer Wert) die Möglichkeit des bakteriellen Wachstums wider, er wurde für die Bewertung der Kühlungsprozesse beim Lamm vorgeschlagen.

Im Zeitraum von Juni 1981 bis April 1982 wurden in Ägypten 312 Proben von verschiedenen Organen und Muskeln kranker, normaler, getöteter und missgebildeter Schafkarkassen gesammelt und untersucht. Die bakterielle Belastung war bei getöteten und normalen Schafen im Sommer höher als im Winter, die GKZ im Winter war 3 h nach der Schlachtung höher als 24 h nach der Kühlung. Die Mehrheit der Isolate bestand aus *E.coli*, *Staphylococcus*, *Proteus vulgaris*, *Enterobacter aerogenes*, *Corynebacterium ovis*, *Acaligenes faecalis*, *Actinomyces israelii*, *Citrobacter freundii*, *Pneumokokken* und *Enterokokken* (GODA et al. 1986).

LOVATT et al. (2006) entwickelten einen Prozesshygiene-Index (PHI) zur Bewertung von *E.coli*-Ergebnissen nach der Schlachtung und während der Kühlung (Neuseeland). Die *E.coli*-

Zahl war am Ende des Kühlungsprozesses niedriger als nach der Schlachtung oder mit dem maximalen akzeptablen Level vergleichbar.

In Australien lag der Mittelwert der GKZ bei tiefgefrorenen Karkassen bei 3,55 KbE/ cm² und bei tiefgefrorenen, entbeinten bei 3,30 KbE/ cm² (PHILLIPS et al. 2001).

2.2.1.2 Umgebung (Geräte)

Die Sauberkeit der eingesetzten Messer gilt als hygienewirksam. Traditionell werden die Messer von Hand in Wasser (20 - 40 °C) gewaschen und dann kurz in Wasser mit einer Temperatur von 82 °C getaucht. Alternativ werden zwei Messer eingesetzt.

In einer Untersuchung von EUSTACE et al. (2007) wurde die traditionelle Methode (Handreinigung und dann für 1 bis 30 Sekunden Eintauchen in 60 °C heisses Wasser) geprüft und alternativ die Messer nach dem ersten Waschen direkt auf den Karkassen eingesetzt. Es wurden nur unwesentliche Unterschiede zwischen beiden Prozessen gefunden (Tab. 2. 9). 18,5 % (24 von 130) der untersuchten Messer waren bei der traditionellen Technik *E.coli*-positiv und 22,3 % (29 von 130) beim alternativen Prozess.

Tabelle 2. 9: GKZ und *E.coli* in einem Schlachtbetrieb (EUSTACE et al. 2007)

Messerschnitt	Untersuchungsziel auf den Karkassen (log ₁₀ KbE/ cm ²)	
	GKZ	<i>E.coli</i>
Traditionelle Technik	1,95	0,90
Alternative Technik	1,69	0,76

Der Sauberkeitsgrad der Ausrüstung beeinflusste auch den Kontaminationsgrad der Karkassen: GILL et al. (1999) berichten über Keime auf ungenügend gereinigten Ausrüstungen beim Zerlegungsprozess von Schafkarkassen. Die Karkassen wurden an drei Probenahmestellen auf Schulter, Lende und Bein beprobt (insgesamt 25 Proben mittels der Tupfer- Methode), die Proben wurden über drei Perioden (jeweils 15 Tage) gesammelt. GKZ, Zahl der Coliformen und Zahl der *E.coli* blieben unbeeinflusst, die Zahl der *Aeromonaden* stieg um etwa das Zweifache an. Der Mittelwert (GKZ) im Bereich des Förderbandes lag bei log 5,25 KbE/ cm², bei Coliformen bei log 3,96 KbE/ cm² und für *Aeromonaden* bei 3,26 KbE/ cm². Bei 25 Proben von sauberen Stahlgewebehandschuhen lag der Mittelwert (GKZ) bei log 10,14 KbE/ cm², für Coliforme bei log 5,54 KbE/ cm², für *E.coli* bei log 4,73 KbE/ cm² und für *Aeromonaden* bei log 8,30 KbE/ cm².

2.2.2 Thermophile *Campylobacter*

2.2.2.1 Genus *Campylobacter*

Bei den Bakterien der Gattung *Campylobacter* handelt es sich um gramnegative, sporenlose, schlanke, gebogene Stäbchen, die 0,2 - 0,5 µm breit und 0,5-5 µm lang sind. Sie gehören zur Familie der *Campylobacteriaceae*. Sie erscheinen S-förmig und bewegen sich mit einer charakteristischen, korkenzieherartigen Bewegung, die sie durch eine uni- oder bipolare monotriche Begeißelung erreichen. Die Wachstumstemperatur von *Campylobacter* liegt zwischen 37 °C und 42 °C, das Temperaturoptimum bei 42 °C (LUANGTONGKUM 2005). Die Erreger benötigen eine mikroaerophile Atmosphäre mit einer Sauerstoffkonzentration zwischen 3 % und 15 % und einer Kohlendioxidkonzentration von 3-5 % (HOLT et al. 1994). Sie sind Oxidase- positiv, die Katalasereaktion fällt unterschiedlich aus (SMIBERT 1994; SELBITZ 2002; GLÜNDER und HINZ 2005). Bisher wurden mehr als 20 Spezies identifiziert, von denen *C.jejuni*, *C.coli* und *C.lari* die wichtigsten humanpathogenen Spezies sind (RKI 2005).

2.2.2.2 *Campylobacter* beim Menschen

Campylobacter- Keime sind die häufigste Ursache von bakteriellen Magen-Darm-Entzündungen in Europa, Nordamerika und Australien. Die jährlich gemeldeten Zahlen in diesen Ländern erhöhten sich während der letzten 2-3 Jahrzehnte (JEPSEN et al. 2009).

Europa

Infektionen durch *Campylobacter* sind weltweit verbreitet, Erkrankungen treten in der warmen Jahreszeit in Europa vermehrt auf (RKI 2005).

Berichte über übertragbare Krankheiten werden in den Ländern der EU und EEA/EFTA (European Economic Area/ European Free Trade Association) jährlich erstellt. Im Jahr 2007 waren *Campylobacter*-Infektionen die häufigste Zoonose in der EU mit 200.507 Fällen, was im Vergleich zum Vorjahr (175.561) einen Anstieg von 14,2 % darstellt (EFSA 2009).

Im Jahr 2007 wurden 203.708 *Campylobacter*infektionsfälle aus den 25 Mitgliedstaaten sowie Island, Liechtenstein und Norwegen übermittelt (ECDPC 2009). Die Inzidenz in der EU und den EEA/EFTA Ländern in 2007 lag bei 47 Fällen pro 100.000 Einwohner (MARCHEGGIANI et al. 2009).

In **Deutschland** lag *Campylobacter* in 2008 bei 79,0 pro 100.000 Einwohner (64.742 Fälle) mit einer geringen Absenkung auf 76,6 pro 100.000 Einwohner im Jahr 2009 (62.789 Fälle) (RKI 2009).

Literatur

In Deutschland waren *Campylobacter*-Enteritiden bis zum Jahr 2003 (47.876 übermittelte *Campylobacter*-Enteritiden-Fälle) wie im Vorjahr nach den Salmonellosen die häufigste potenziell mit Lebensmitteln assoziierte Erkrankung. Die Inzidenz betrug im Bundesdurchschnitt 68,3 Erkrankungen pro 100.000 Einwohner (2002), im Jahr 2003 lag sie bei 58,0 Erkrankungen pro 100.000 Einwohner (RKI 2004). Als seltene Komplikationen können das Guillain-Barré-Syndrom (eine mit Lähmungserscheinungen einhergehende Nervenerkrankung) sowie Gelenkentzündungen auftreten (RKI 2004).

Von 1991 bis 2001 stieg in **Dänemark** die Inzidenz von *Campylobacter*-Infektionen bis auf das Vierfache und hat sich seitdem stabilisiert. Im Jahr 2001 wurden 87 Infektionsfälle pro 100.000 Einwohner ermittelt, während es im Jahr 2007 71,5 Fälle pro 100.000 Einwohner waren (JEPSEN et al. 2009). Im Jahr 2007 wurden in Dänemark 3.868 Humanfälle von Campylobacteriose gemeldet. Von 164 geprüften Isolaten waren 91 % *C.jejuni* und 9 % *C.coli* (DFVF 2007).

In **Irland** wurde (für 2008) von 1.758 Fällen von Campylobacteriose berichtet (Health Protection Surveillance Center) mit einer jährlichen Inzidenzrate von 41,4 Fällen pro 100.000 Einwohner (FSAI 2010).

Im Jahr 2008 wurden in **Österreich** laut vorläufigem Jahresbericht 4.963 Fälle von Campylobacteriose registriert. Dies entspricht einer Abnahme von 19,1 % gegenüber dem Jahr 2007. Trotzdem war die Campylobacteriose in allen Bundesländern die häufigste Lebensmittel-assoziierte Infektion. Die Inzidenz lag bei 59,7 Fällen pro 100.000 Einwohner. Wie in den vergangenen Jahren waren die meisten *Campylobacter*-Infektionen auf *C.jejuni* zurückzuführen, zweithäufigste Spezies war *C.coli* (BMG 2008).

USA

Das Foodborne Diseases Active Surveillance Network (FoodNet) des CDC berichtete 2009 aus 10 US- Bundesstaaten über eine *Campylobacter*-Inzidenz von 13,02 pro 100.000 Einwohner (6.033 Fälle von insgesamt 17.468 Labor bestätigten Infektionsfällen) (CDC 2010).

In **Australien** hat sich die *Campylobacter*-Inzidenz während der vergangenen 15 Jahre erhöht, wobei im 2005 bis zu 121,4 Personen /100.000 Einwohner betroffen waren (STAFFORD 2010).

2.2.2.3 *Campylobacter* bei Tieren

Infektionen mit *Campylobacter*

C.jejuni und *C.coli* sind in der Natur nahezu ubiquitär verbreitet. Sie kolonisieren als enterale Kommensalen ein breites Spektrum von Wild- und Haustieren wie freilebende Vögel und Säugetiere, aber auch Nutztiere, vor allem Geflügel und mit geringerer Prävalenz Milchrinder und Schweine. Haushunde und Katzen sind ebenfalls betroffen. Geflügel ist überwiegend mit *C.jejuni* kontaminiert, *C.coli* kommt überwiegend bei Schweinen vor (RKI 2005). Wild- und Haustiere, insbesondere Geflügel, Wildvögel und Rinder sind ein wichtiges Reservoir für *Campylobacter* (MARCHEGGIANI et al. 2009).

Europa

Im Jahr 2008 wurden in **Deutschland** Hühner- und Masthähnchenherden untersucht mit einer Nachweisrate von 53,9 % (BfR 2010). Untersucht wurden auch Rinderherden, 6,73 % der Herden waren positiv, es wurden hauptsächlich *C.jejuni*, gefolgt von *C.coli*, isoliert (BfR 2010).

In **UK** wurden 443 Isolate von *C.jejuni* und *C.coli* aus 2031 Kotproben verschiedener Tiere (Rinder, Schafe, Schweine, eine Reihe Vogelarten und Kleintiere) gesammelt, die höchste Prävalenz lag bei Geflügel mit 41 %, bei Schweinen lag sie bei 26,7 %, bei Vögeln bei 23,7 %, bei Katzen bei 4,5 % und bei Hunden bei 1,3 % (OGDEN et al. 2009).

Von lebendem Geflügel waren 24 von 25 Tupferproben *Campylobacter*- positiv (80,6% *C.jejuni* und 19,4 % *C.coli*), bei geschlachtetem Geflügel waren alle Proben (25 von 25) *Campylobacter* - positiv, davon 62 % *C.jejuni* und 37,2 % *C.coli*. In 0,8 % der Isolate konnte nicht zwischen *C.jejuni* und *C.coli* unterschieden werden (COLLES et al. 2010).

In **Brno** (Tschechische Republik) wurden von insgesamt 302 Zuchtfasanen 70,2 % (n = 212) *Campylobacter* positiv getestet. Bei Wildfasanen waren 27,5 % (n = 55) von 200 Tieren positiv (BORILOVA 2007).

In **Irland** wurden Proben im Einzelhandel untersucht, die Inzidenz von *Campylobacter* lag bei Hähnchen bei 90 %, bei Puten bei 56 % und bei Enten bei 100 % (MORAN et al. 2010).

Von 114 durch Lebensmittel übertragenen Krankheiten (1992 bis 2009 Health Protection Agency) wurde von 73 *Campylobacteriose*- Fällen (64 %) berichtet, davon war Geflügelfleisch mit 38 % (43 von 114) die häufigste Quelle der Infektion, Leber und nicht ausreichend erhitztes Fleisch waren ebenfalls mit diesem Erreger verbunden (LITTLE et al. 2010a).

Thermophile *Campylobacter* wurden in 93 Schlachtbetrieben in UK bei Rindern (54 %) und bei Schweinen (69,3 %) (Darmproben) isoliert (MILNES et al. 2008).

Asien

In **Indien** (Kalkutta) waren von 620 Proben von gesunden und kranken Tieren 128 (20,6 %) der Proben waren *Campylobacter* -positiv, davon waren 90 (14,5 %) *C.jejuni*, 25 (4 %) *C.coli* und 13 (2 %) *C.lari*. Die meisten positiven *Campylobacter*-Isolate fanden sich bei Hühnern und Enten mit 63 Isolaten (39,3 %), bei Rindern mit 22,2 % (CHATTOPADHYAY et al. 2001).

In **Syrien** wurden 480 Hähnchenfleischproben aus dem Handel in verschiedenen Regionen untersucht. Die Prävalenz von *Campylobacter* spp. betrug 27,7 % mit höheren Nachweisraten im Sommer (32,08 %) als im Winter (23,33 %), *C.jejuni* war die dominierende Spezies (MELLY et al. 2007). In einer anderen syrischen Studie wurden 900 Proben aus Masthähnchenschlachtbetrieben mittels Tupfermethode entnommen. *Campylobacter* spp. wurde in 46 % der Hautproben, in 34 % der Leberproben und in 20,7 % der Brustproben ermittelt. *C.jejuni* war die beherrschende Spezies mit 90,1 %, *C.coli* wurde in 9,9 % isoliert (MELLY et al. 2008).

Afrika

In **Senegal** wurden innerhalb zweier Jahre (2000 und 2001) Broiler-Herden aus 70 Farmen geprüft, 63 % der Herden waren *Campylobacter*-positiv, *C.jejuni* war die vorherrschende Spezies ($p < 0.05$) (CARDINALE et al. 2004).

Neuseeland

In Neuseeland wurden unerhitzte Fleischproben verschiedener Tierarten (Einzelhandel) getestet, *C.jejuni* und *C.coli* waren in 89,1 % bei Hühnern, 9,1 % bei Schweinen, in 3,5 % bei Rindern und in 10 % bei nicht abgesetzten Kälbern nachweisbar (WONG et al. 2007).

Durch *Campylobacter* ausgelöste Krankheiten beim Tier

Europa

In **Dänemark** wurden *Campylobacter fetus* subsp. *fetus* bei Mutterschafen mit Abortfällen (missgebildete Lämmer) isoliert (AGERHOLM et al. 2006).

Literatur

In **UK** (Lancashire) wurde auf 15 Milchschaaf- und 4 Schaffarmen (Kotproben) *C.coli* (47,4%), *C.jejuni* (13,7%), *C.fetus* (12,3%) und *C.lari* (0,05%) isoliert (GROVE-WHITE et al. 2010).

Von 134 Farmen im Nordost- und Südwestschottland (Kotproben von Schafen) wurde eine *Campylobacter*- Prävalenz von 26 % ermittelt (*C.jejuni* 14,7 % und *C.coli* 6,9 %). Bei Rindern lag die *Campylobacter*-Prävalenz bei 22 %, *C.jejuni* bei 22,9 % und *C.coli* bei 2,4 % (ROTARIU et al. 2009).

USA

In den US-Bundesstaaten Iowa, Idaho, Süddakota und Kalifornien war *C.jejuni* vorherrschende Ursache für Aborte des Schafs anstelle von *C.fetus*, 66 von 71 *C.jejuni*-Isolaten waren mit Schafabort verbunden (SAHIN 2008).

Asien

CHATTOPADHYAY et al. (2001) fanden bei erkrankten Tiere hohe *Campylobacter*funde als bei gesunden Tieren (Tab. 2. 10).

Tabelle 2.10: *Campylobacter*- Isolate von verschiedenen Proben- Kategorien in Indien (CHATTOPADHYAY et al. 2001).

Quelle	Proben-Zahl	<i>Campylobacter</i> -positiv (%)
Rind		
mit Diarrhoe	45	22,2
gesund	75	5,3
Schaf und Ziege		
mit Diarrhoe	30	33,3
gesund	70	1,4
gesunde Schwein	70	37,1
Hund		
mit Diarrhoe	18	16,6
gesund	12	8,3
Hühner und Enten	160	39,3
Stuhlproben (human)	140	7,1
gesamt	620	

Im Osten der **Türkei** waren von 610 gesunden Schafen 302 (49,5 %) *Campylobacter*-positiv, davon waren 103 (34,1 %) *C.jejuni*-positiv, 100 (33,1 %) *C.coli*-positiv und 16 (11,9 %) positiv für beide Spezies (*C.jejuni* und *C.coli*) (ACIK und CETINKAYA 2006).

Afrika

In **Äthiopien** wurden insgesamt 192 von 485 gesunden Tieren als *Campylobacter*-positiv ermittelt, davon 135 (70,3 %) *C.jejuni*, 51 (26,6 %) *C.coli* und 6 (3,1 %) *C.lari* (KASSA et al. 2007).

Neuseeland

Campylobacter fetus spp. fetus verursacht Abort beim Schaf und führt zu Lämmerverlusten bis zu 70 %. In Neuseeland war *Campylobacter fetus* subsp. fetus die Hauptursache des Schafaborts, *C.jejuni* und *C.coli* auch eingeschlossen (MANNERING 2006).

2.2.2.4 *Campylobacter* in der Schaflebensmittelkette

Im Bestand

Europa

Hauptreservoir sind Geflügel und wilde Vögel (PARK 2002; JONES 2002). *Campylobacter* wurde auch bei Wiederkäuern nachgewiesen (EFSA 2011).

In Lancaster (**UK**) war die Ausscheidungsrate von *Campylobacter* bei Schafen niedriger als die Belastungsrate im Darm, geprüft wurden geschlachtete Schafe im Schlachtbetrieb (JONES et al. 1999).

Auf drei Beweidungstypen in Lancaster (**UK**) wurde die Ausscheidungsrate von *Campylobacter* bei Schafen geprüft. *C.jejuni* war die Hauptspezies mit 90 %, während *C.coli* zu 8 % und *C.lari* zu 2 % nachgewiesen wurden (JONES et al. 1999).

Am Schlachtbetrieb in Preston in **Lancashire** wurde Material des Magendarmtrakts von geschlachteten Lämmern getestet und mit Fäkalproben von Weideschafen verglichen, *Campylobacter* wurde vom Dünndarm der geschlachteten Lämmern zu 91,7 % isoliert, während der Mittelwert bei den Weideschafen bei 29,3 % lag (STANLEY et al. 1998).

Aus Fäkalproben von 120 Schafen im **Baskenland** wurde thermophile *Campylobacter* zu 55,0 % isoliert (OPORTO et al. 2007).

USA

In Ontario (USA) wurde in 2005 *Campylobacter* in einer Menge von 17,6 % der Proben ermittelt, davon waren 22,3 % der Tretmist-, 14,7 % der Wasser- und 8,7 % der Fäkalienproben *Campylobacter*-positiv (SUTHERLAND et al. 2009).

Im Schlachtbetrieb

Europa

In 93 Schlachtbetrieben im **UK** wurden thermophile *Campylobacter* aus Darmproben zu 43,8 % isoliert (MILNES et al. 2009). In **Schottland** wurden Untersuchungen durchgeführt. *C.jejuni* wurde in Kotproben zu 46,3 %, auf Vlies zu 70 % und auf Schafkarkassen zu 71,3 % gefunden, *C.coli* zu 8,7 % von Kotproben, vom Vlies zu 15 % und von Karkassen zu 11,3 % (GARCIA et al. 2010).

In Warteställen dreier Schlachtbetriebe im **Südwestengland** wurden Umgebungstupfer entnommen, in 5,6 % der Fälle wurde *Campylobacter* gefunden (SMALL et al. 2002). In Schlachtbetriebs-Abfällen von Schafen im UK wurden *C.jejuni* und *C.coli* zu einem Anteil von 30,6 % ermittelt (BOLTON et al. 1985).

In **Spanien** gelang von Lammkarkassen aus drei Schlachtbetrieben kein *Campylobacter*-Nachweis (SIERRA et al. 1995a).

Von 653 geschlachteten Schafen aus zwei **schweizerischen** Schlachtbetrieben wurden Blinddarmproben auf *Campylobacter* spp. untersucht, 61,3 % der Farmen waren *Campylobacter*-positiv mit einer Prävalenz von 17,5 % (114 von 653), davon waren 64,9 % *C.jejuni* und 35,1 % *C.coli* (ZWEIFEL et al. 2004).

USA

In den **USA** wurden Karkassen während des Schlachtprozesses und im Kühlraum mittels Schwammproben an Brust, Hüfte und Beinen geprüft, die *Campylobacter*-Nachweisrate lag bei 0,3 % (7 von 2226) aller Proben (DUFFY et al. 2001). Vor und nach der Eviszeration wurde *Campylobacter* in einer Menge von 0,5 % und 0,6 % gefunden (DUFFY et al. 2001).

Australien

In **Australien** waren 1,29 % der geprüften Schafkarkassen *Campylobacter*-positiv (VANDERLINDE et al. 1999). Die Prävalenz von *Campylobacter* lag bei 8,0 % in Kotproben geschlachteter Lämmer (BAILEY et al. 2003).

Im Einzelhandel

Europa

In **UK** wurde auf Rotfleischproben zwischen 2003 und 2005 eine *Campylobacter* - Quote von 7,2 % festgestellt, Hammelfleisch hatte die höchste *Campylobacter*-Kontamination mit 12,6% (LITTLE et al. 2008).

In **Österreich** wurde rohe Schaf- und Ziegenmilch bei Milchdirektvermarktern untersucht, *C.jejuni* wurde in 1,3 % der 160 untersuchten Tankmilchproben nachgewiesen (SCHODER et al. 2010).

Von verschiedenen Fleischprodukten im Einzelhandel in Istanbul (**Türkei**) wurden 120 Hammelkarkassen auf thermophile *Campylobacter* getestet, sie waren zu 21,6 % positiv, *C.coli* stellte die meisten Isolate mit 63,9 % (BOSTAN et al. 2009).

Asien

In **Iran** wurden 722 Fleisch-Proben geprüft, Lammfleisch wies die höchste Prävalenz auf mit 12,0 % *Campylobacter* positiver Proben (RAHIMI et al. 2010).

In **Neuseeland** wurde *C.jejuni* und *C.coli* von frischem Lamm- und Hammelfleisch isoliert, die Prävalenz lag bei beiden Probenarten bei 6,9 %. In der Mehrheit wurde *C.jejuni* isoliert (WONG et al. 2007). Ebenfalls in Neuseeland waren von 272 Schafleberproben 180 (66,2 %) *Campylobacter*-positiv. Die Mehrheit der positiven Proben wies quantitative Werte < 3 MPN/ g (Most Probable Number) auf, 12 (6,7 %) lagen höher als 100 MPN/ g (CORNELIUS et al. 2005).

2.2.3 Listeria

2.2.3.1 Genus Listeria

Listerien sind Gram-positive, nicht sporulierende, stäbchenförmige (0,4-0,5 x 0,5-2 µm), bewegliche Bakterien mit fakultativ anaerobem Stoffwechsel, sie gehören zur Familie der *Listeriaceae*. Das Temperaturoptimum liegt bei 30 - 37°C. Bei 20 - 25°C sind die Bakterien peritrich begeißelt und zeichnen sich durch eine charakteristische Taumelbewegung aus (HOLT et al. 1994). Dagegen ist bei 30-37 °C keine Bewegung zu erkennen und die Flagellin-Synthese ist deutlich reduziert (WAY et al. 2004). Die Gattung *Listeria* umfasst derzeit sechs Arten: *Listeria monocytogenes*, *L.ivanovii*, *L.seeligeri*, *L.innocua*, *L.welshimeri* und *L.grayi* (DOYLE und BEUCHAT 2007). Von den sechs Arten sind nur *L.monocytogenes* und *L.ivanovii* als Krankheitserreger bekannt. *Listeria monocytogenes* ist die einzige Art, die human- und tierpathogen ist (MERTINS 2008). *Listeria denitrificans* wurde aus der Gattung *Listeria* herausgenommen und in eine neue Gattung *Jonesia* platziert als *Jonesia denitrificans* (ROCOURT 1988).

2.2.3.2 *Listeria* beim Menschen

Europa

Die Listeriose befällt primär Schwangere, Neugeborene und Personen mit geschwächtem Immunsystem (SWAMINATHAN und SMIDT 2007), sie ist Lebensmittel-übertragbar mit hohen Raten von Todesfällen in Europa (DENNY und MCLAUHLIN 2009), verursacht durch z. B. Weichkäse aus Rohmilch oder „ready to eat“ Fleisch (SWAMINATHAN und SMIDT 2007). Im Jahr 2009 wurden 14 Listeriose-Fälle in Österreich und Deutschland bekannt, davon 4 Todesfälle in einer Altersgruppe zwischen 58 und 88 Jahren (FRETZ et al. 2010). Etwa 10 % aller in Deutschland an das Robert Koch-Institut (RKI) übermittelten Listeriosefälle mit invasiven Verläufen endeten tödlich (RKI 2010). In den Jahren 2001 bis 2009 wurden insgesamt 3.092 Listeriosefälle übermittelt (Minimum: 217 Erkrankungsfälle in 2001, im Jahr 2006 lag das Maximum bei 513 in und in 2009 bei 396), das entspricht einer durchschnittlichen jährlichen Inzidenz von 0,4 Erkrankungen pro 100.000 Einwohner (RKI 2010).

Seit 2001 wird ein Anstieg von Listeriose-Fällen in den Mitgliedsstaaten der EU festgestellt (LITTLE et al. 2010b). Die Zahl der Erkrankungen blieb mit 1.554 bestätigten Fällen im Jahr 2007 auf dem gleichen Stand wie in 2006. Auch EU-weit weisen Listeriosen beim Menschen eine hohe Sterblichkeitsrate (20 %) auf (EFSA und ECDC 2009). Ein Abflachen wurde im 2008 (11 %) beobachtet, 1.381 Infektionsfälle wurden gemeldet (ECDC und EFSA 2010).

In **Irland** wurden zwischen 2000 und 2003 im Durchschnitt 6,5 Listeriose-Fälle pro Jahr (0,17 pro 100.000 Einwohner pro Jahr) bekannt (FSAI 2009), im Vergleich zu 2008 wurden 13 Fälle (Inzidenz von 0,3 pro 100.000 Einwohner) ermittelt (FSAI 2009).

UK

Im Zeitraum von 1990 bis 2004 (England und Wales) wurden 1.187 Erkrankungen gemeldet, darunter waren 522 (44 %) Todesfälle (GILLESPIE et al. 2006).

Zwischen 2001 und 2007 wurde in **England** von 1242 Fällen berichtet, davon waren 13 % Schwangeren-Fälle, 76 % der Fälle waren Personen ≥ 60 Jahre (GILLESPIE 2010).

In **Frankreich** (Januar bis Juni im 2007) wurden 159 Fälle gemeldet, d. h. 5,6 Fälle/ 1 Million Einwohner (GOULET et al. 2008).

In **Österreich** wurden (1997 bis 2007) 150 Listeriosen kulturell verifiziert, 9,3 % (14 von 150) waren Schwangerschafts-assoziiert. Die jährliche Inzidenz der Listeriose betrug im Durchschnitt 0,168 pro 100.000 Einwohner. Bei den 14 Schwangerschaftsassozierten Listeriosen fanden sich 3 Aborte, 1 Totgeburt sowie ein Todesfall bei einem 15 Tage alten Säugling ($5/14 = 35,7\%$) (KASPER et al. 2009). Nach KASPER et al. (2009) ergab die Serotypisierung der 150 Isolate von *L.monocytogenes* aus Österreich von 1997 bis 2007 folgende Serovar (SV) Verteilung:

SV 4b: 54 %,

SV 1/2a: 31,3 %,

SV 1/2b: 10 %,

SV 1/2c: 2,7 %,

SV 4d: 1,3 %,

SV 3a: 0,7 %

In **Spanien** waren die beherrschenden Serotypen 4b (75,8 %) und 1/2a (18,2 %) (GARRIDO et al. 2008).

In **Italien** wurden von 25 klinischen Isolaten beim Menschen die folgenden Serovaren nachgewiesen: 1/2a (46,3 %), 4b (42,6 %) und 1/2b (11,1 %) (MAMMINA et al. 2009).

USA

Im Jahr 2009 berichtete das Foodborne Diseases Active Surveillance Network (FoodNet) des CDC aus 10 US- Bundesstaaten über eine *Listeria*-Inzidenz von 0,34 pro 100.000 Einwohner (158 Fälle von insgesamt 17.468 Labor bestätigten Infektionsfällen), diese Inzidenz war bei Personen ≥ 50 Jahre sehr hoch (0,82) mit einer Todesrate (CFR= Case Fatality Rate) von 17,5 % (CDC 2010).

2.2.3.3 *Listeria* bei Tieren

Wiederkäuer sind eine wichtige Quelle für die Listeriose bei Menschen. Bei Wiederkäuern kann *L.monocytogenes* neurologische Erkrankungen und Aborte verursacht (ESTEBAN 2009).

Europa

In **UK** war Rindfleisch zu 15,3 % der untersuchten Lebensmittel *Listeria*-positiv (LITTLE et al. 2010b). In UK wies Geflügelfleisch eine Quote von *L.monocytogenes* von 65,6 % (21 von

32) auf, Rindfleisch von 34,6 % (9 von 26) und Schweinefleisch von 28,1 % (9 von 32) (Mac GOWAN et al. 1994).

Im **Baskenland** (Spanien) wurden Fäkalproben untersucht. *L.monocytogenes* fand sich zu 46,3 % bei Milchkühen, zu 30,6 % bei Fleischrindern und zu 14,2 % bei Schafen (ESTEBAN et al. 2009). In **Galicien** (Spanien) wurde *L.monocytogenes* in Milchfarmen zu 6,1 % von Milch-, zu 9,3 % aus Silage- und zu 6,0 % von Kotproben isoliert (VILAR et al. 2010).

In **Irland** wurde auf Milchkuh-Farmen *L.monocytogenes* zu 19 % (57 von 298) isoliert (FOX et al. 2009).

In **Griechenland** wurden Rinder von der Farm über Rindfleisch im Schlachtbetrieb bis zum Endprodukte untersucht, die Prävalenz von *L.monocytogenes* lag im Durchschnitt für Kot bei 19 % (4,8-29 %), für das Fell bei 12 % (10-13 %) und beim Rindfleisch („raw beef products“) bei 10 % (1,6-24 %) (RHOADES et al. 2009).

In **Italien** wurde *L.monocytogenes* in Geflügelfleisch zu 8,5 % und bei geräuchertem Lachs mit einer Prävalenz von 10,6 % isoliert (LATORRE et al. 2007).

USA

In den USA wurde in mit Listeriose infizierten Rinderbeständen eine *L.monocytogenes* Prävalenz von 24,4 % festgestellt, während bei anderen Rinderbeständen (als Kontrolle: nicht mit Listeriose infiziert) 20,2 % ermittelt wurden (NIGHTINGALE et al. 2004). In Zentral- und Südkalifornien wurde *L.monocytogenes* im Kotproben von Rindern zu 3,1 % und von Kälbern zu 3,8 % nachgewiesen (MOHAMMED et al. 2009).

Asien

In **Jordanien** wurden 240 Rind- und Geflügelfleischproben geprüft, isoliert wurden *L.innocua* bis zu 23,3 % (56 von 240), *L.welshimeri* zu 15 % (36 von 240) und *L.monocytogenes* zu 17,1 % (41 von 240). *L.monocytogenes* wurde von 23 (19,2 %) Rindfleisch- und 18 (15 %) Geflügel-Proben isoliert (AWAISHEH 2010).

In der **Türkei** wurde in Hühnerfleisch eine Rate von 18 % *L.monocytogenes* festgestellt, Fisch war zu 1 % und Weichkäse zu 5 % positiv (AKPOLAT et al. 2004).

Afrika

In **Äthiopien** (Addis Ababa) waren 26,6 % der untersuchten „ready to eat“ Proben *Listeria*-positiv, davon war 4,8 % *L.monocytogenes*. Schweinefleisch hatte die höchste Kontaminationsrate mit *Listeria* (62,5 %), Rinderhackfleisch war kontaminiert in 47,7 %, Eis

in 42,7 %, Weichkäse in 16,8 %, Hähnchen in 16,0 % und Kekse in 12,1% der Fälle. *L.monocytogenes* wurde in Eis (11,7 %), Keksen (6,5 %) und Weichkäse (3,9 %) gefunden. Rohes Fleisch war je nach Art zu 3,7 % bis 5,1 % mit *L.monocytogenes* kontaminiert (Tab. 2.11) (MENGESHA et al. 2009).

Tabelle 2.11: *Listeria*- Nachweise in „ready to eat“- Proben in Äthiopien (MENGESHA et al. 2009)

Probenqualität	<i>Listeria</i> -positiv (%)	<i>L.monocytogenes</i> (%)
Schweinfleisch	62,5	-
Rindhackfleisch	47,7	-
Eis	42,7	11,7
Weichkäse	16,8	3,9
Hähnchenfleisch	16,0	-
Kekse	12,1	6,5

2.2.3.4 *Listeria* in der Schaflebensmittelkette

Im Bestand

Europa

Im **Baskenland** wurde in gesunden Schafherden *L.monocytogenes* zu 14,2 % und in Kotproben von 197 Schafen zu 1,5 % nachgewiesen (ESTEBAN et al. 2009).

Bei einem Listeriose- Ausbruch in **Österreich** (Fütterung von kontaminierter Silage) waren 9 Schafe abortiv, 1 Tier war enzephalitisch und 4 waren septikämisch (WAGNER et al. 2005).

Bei dänischen Schafen war *L.monocytogenes* unter anderen Pathogenen eine Ursache für Schafaborte (AGERHOLM et al. 2006).

In **Island** wurde *L.monocytogenes* von gesunden Schafen und aus der Umgebung isoliert, die folgenden Serovaren wurden nachgewiesen: 1/2a, 1/2b und 4b (GUDMUNDSDOTTIR et al. 2004).

USA

In den USA lag die Prävalenz von *L.monocytogenes* (85 Schaffarmen) bei 9,4 % der Proben und von 674 Milchprodukten bei 2,7 % der Proben (HO et al. 2007).

Die Prävalenz von *L.monocytogenes* bei Kleinwiederkäuern (Schaf und Ziege) lag in den USA in Beständen, die Listeriosefälle aufwiesen, bei 32,9 % der Bestandsproben (Fäkal-, Futter- und Umgebungsproben), während bei nicht infizierten Beständen (Kontrolle) 5,9 % der Proben gefunden wurden (NIGHTINGALE et al. 2004).

Asien

In **Indien** wurden von 248 offensichtlich gesunden Schafen und aus der Umgebung von 10 Schafherden Tupfer- Proben (Kot, Nase, Vaginal) entnommen, insgesamt waren von 1002 Proben 16 *Listeria*-positiv (1,60 %), dabei waren 7 (0,7 %) *L.monocytogenes* und 9 (0,9 %) *L.innocua* (YADAV und ROY 2009).

Im Schlachtbetrieb

Im Vergleich zu Lammfleisch sind weitaus mehr Arbeiten zur Mikrobiologie von Rind-, Schweine- und Geflügelfleisch durchgeführt worden (AL-SHEDDY et al. 1995). In der **Türkei** wurde *L.monocytogenes* auf Schafkarkassen in 5 % der Proben gefunden (AKPOLAT et al. 2004).

Proben in **Brasilien** (Kot und Karkassen) in einem Schafschlachtbetrieb (35 Kotproben) waren zu 20 % positiv mit *L.welshimeri* und zu 8,6 % mit *L.innocua*, von 69 Lammkarkassen waren 34,8 % *L.innocua*, 4,3 % *L.monocytogenes* und 1,5 % *L.ivanovii* (ANTONIOLO et al. 2003).

Im Einzelhandel

Europa

In **Nordspanien** wurden Proben aus dem Einzelhandel untersucht (783 Fleischprodukte), 8,5% der verpackten-Feinkost- Fleischprodukte und 2,7 % der Vakuum- verpackten Produkte waren *Listeria*-positiv (GARRIDO et al. 2009). *L.monocytogenes* wurde auch im **UK** in einem Prozentsatz von 40 % (8 von 20 Lammfleischproben) isoliert (MacGOWAN et al. 1994).

Australien

Im Einzelhandel in Brisbane (Australien) wurde *Listeria* spp. in Lammfleisch zu 40 % (20 von 50) nachgewiesen, darunter *L.monocytogenes* (16 %) und *L.innocua* (24 %) (IBRAHIM und Mac RAE 1991). In anderen Studien wurde *L.monocytogenes* nicht nachgewiesen, so etwa in Untersuchungen von Lammfleisch (MILLARD und ROCKLIFF 2001).

Asien

In der südlichen Marmara (**Türkei**) wurden 100 Probe Schaffleisch entweder in den Herstellungsbetrieben oder im Einzelhandel untersucht, *L.monocytogenes* wurde in 5,5 % der Proben festgestellt (KAHRAMAN und AYDIN 2009).

Im Vergleich mit anderen Studien in **Afrika** wurden in Casablanca (**Morocco**) in Lammfleisch keine Listerien gefunden (COHEN et al. 2006).

2.2.4 *Escherichia coli*

2.2.4.1 Genus *Escherichia*

Escherichia coli (*E.coli*) ist ein gramnegatives, stäbchenförmiges und peritrich begeißeltes Bakterium, 1,1 - 1,5 µm breit und 2,0 - 6,0 µm lang. Die Spezies gehört zur Familie der Enterobacteriaceae. Das Temperaturoptimum liegt bei 37 °C (HOLT et al. 1994). *E.coli* ist die vorherrschende fakultativ anaerobe Bakterienspezies der menschlichen Darmflora (NATARO und KAPER 1998). Obwohl *E.coli* ein Kommensale im Säugetierdarm ist, können einige Erregerstämme erhebliche Krankheiten beim Menschen verursachen (KAPER und KARMALI 2008). Sie werden in fakultativ pathogen und obligat pathogen eingeteilt. Die erste Gruppe ist nicht mit spezifischen Virulanzfaktoren ausgestattet, die zweite Gruppe besitzt spezifische Virulanzfaktoren und kann Ursache für intestinale und extraintestinale Infektionskrankheiten sein (BALJER 2011), es wird nach Pathogenen -Typen unterschieden (SCALETSKI et al. 1984; LEVINE 1987; DONNENBERG und KAPER 1992; LEVINE et al. 1993):

- Enteropathogene *E.coli* (EPEC)
- Enteroinvasive *E.coli* (EIEC)
- Enterotoxinbildende *E.coli* (ETEC)
- Enterohämorrhagische *E.coli* (EHEC)
- Enteroaggregative *E.coli* (EAEC)
- Diffus Adhäsive *E.coli* (DAEC)

EHEC: Bestimmte Toxin bildende Stämme (Stx 1 und Stx 2) werden als Shigatoxin produzierende *E.coli* (STEC) bezeichnet (DOYLE und BEUCHAT 2007), einschließlich Serotyp O 157:H7 (HIKO et al. 2008).

Als EHEC werden nur die VTEC/STEC-Stämme bezeichnet, die aus einer menschlichen enterohämorrhagischen Erkrankung isoliert worden sind (BFR 2010). Da im Zusammenhang mit menschlichen EHEC-Erkrankungen immer wieder neue Serotypen ermittelt werden, ist eine genaue Definition humanpathogener STEC nicht möglich, weshalb zur Zeit jeder STEC als potentieller EHEC angesehen werden muss (RKI 2008).

Auf Grund der Schwere der Erkrankung (haemorrhagic Colitis und hämolytisch- urämisches-Syndrom) ist EHEC humanbezogen die wichtigste Gruppe, hervorgerufen vor allem durch

den Serotyp O157:H7, der zunehmend bei verschiedenen Lebensmitteln nachgewiesen werden konnte (MERSHA et al. 2010).

2.2.4.2 *Escherichia coli* beim Menschen

Hier wird auf Publikationen allgemein zu Spezies *E.coli* Bezug genommen.

Europa

Im Jahr 2008 wurden in **Deutschland** insgesamt 835 EHEC-Erkrankungen (1,0 Erkrankungen pro 100.000 Einwohner), sowie 58 Fälle von enteropathischem hämolytisch urämischem Syndrom (HUS) gemeldet (RKI 2009). HUS ist häufig mit einer EHEC- Infektion assoziiert. So wurde bei 71 % der HUS- Fälle eine EHEC- Infektion nachgewiesen (RKI 2009). Das Verotoxin bildende *Escherichia coli* (VTEC) verursachte im Jahr 2007 in der Europäischen Union insgesamt 2.905 Human-Infektionen. Was Tiere und Nahrungsmittel anbelangt, wurde VTEC am häufigsten bei Rindern bzw. in Rindfleisch und seltener auf Gemüse nachgewiesen (EFSA 2009). Die meisten altersspezifischen Inzidenzen liegen sowohl bei EHEC-Erkrankungen als auch bei HUS bei Kindern unter 5 Jahren. Männer und Frauen sind nahezu gleichermaßen betroffen (ECDC 2009; RKI 2009).

Durchfall- Erkrankungen sind weltweit bekannt, in Deutschland lag die Inzidenz von *E.coli* bedingter Enteritis im Jahr 2008 bei 8,5 pro 100.000 Einwohner, während in 2009 eine Zahl von 7,6 gemeldet wurde (RKI 2009).

USA

In 10 US Bundesstaaten wurden im Jahr 2009 459 STEC O157- Fällen von insgesamt 17.468 bestätigten Infektionsfällen (Inzidenz von 0,99 pro 100.000 Einwohner) und 264 Fälle von STEC non-O157 (Inzidenz von 0,57) nachgewiesen, die Inzidenz war am höchsten bei Kindern < 4 Jahre (Tab. 2. 12, CDC 2010).

Tabelle 2. 12: Inzidenz von bestätigten pathogenen *E.coli*-Fällen in 10 US-Staaten (2009) bei verschiedenen Altersgruppen (CDC 2010)

<i>E.coli</i>	< 4 Jahre	≥ 50 Jahr
STEC O157	3,84	0,5
STEC non-O157	2,72	0,27

In den USA ist EAEC einer der häufigsten identifizierten bakteriellen Pathogenen bei Durchfällen (FLORES und OKHUYSEN 2009).

In zwei **Kolumbianischen** Städten wurden insgesamt 267 Stuhl-Proben von Durchfallkranken Kindern < 5 Jahre untersucht. Von 139 klinischen pathogenen *E.coli*-Isolaten waren 20 (14,4 %) positiv für ETEC (5 %), für STEC 4 %, für EPEC 1 %, für EAEC 1,4 % und für DAEC 1 % (GOMEZ-DUARTE et al. 2010).

Asien

In **Teheran** wurde *E.coli* in 38,8 % der untersuchten Proben isoliert, davon 44,7 % STEC, 32,9 % ETEC, 14 % EAEC und 8,4 % EPEC (JAFARI et al. 2008).

2.2.4.3 Escherichia coli bei Tieren

Europa

Wiederkäuer, vor allem Rinder, Schafe und Ziegen, aber auch Wildwiederkäuer werden als wichtiges Reservoir und Hauptinfektionsquelle für EHEC beim Menschen angesehen (RKI 2008). Vereinzelt wurde nachgewiesen, dass auch andere landwirtschaftliche Nutztiere sowie Heimtiere EHEC ausscheiden (RKI 2008). Die Bedeutung von Nichtwiederkäuern für die Verbreitung des Erregers und für Infektionen beim Menschen wird aber als gering eingeschätzt (RKI 2008). In **Deutschland** wurden im Jahr 2008 Rinderherden auf VTEC/STEC geprüft und zu 7,95 % als positiv befunden, darunter die Serotypen O26, O91, O103 und O157. Bei Einzeltieruntersuchungen ergab sich eine Nachweisrate von 2,83 % (6 Bundesländer), wobei die Serovaren O26, O103 und O157 nachgewiesen wurden (BfR 2010).

In **UK** wurde *E.coli* O157 in Kotproben aus verschiedenen Schlachtbetrieben zu 4,7 % bei Rindern und zu 0,3 % bei Schweinen nachgewiesen (MILNES et al. 2008). In einer anderen Studie aus UK (sechs Rinderschlachtbetriebe) lag die Prävalenz von *E.coli* O157 im Wartestall bei 27,2 % und auf dem Fell bei 28,8 % (SMALL et al. 2002).

In **Griechenland** wurden Rinder von der Haltung bis zum finalen Produkt auf *E.coli* (VTEC) geprüft, die Prävalenz von VTEC im Kot lag im Durchschnitt bei 6,2 %, auf dem Fell bei 44 %, auf gekühlten Karkassen bei 0,3 % und bei Hackfleisch vom Rind bei 1,2 % (RHOADES et al. 2009). In einer anderen Studie waren Milchkühe zu 2,2 % und Ziegen zu 0,7 % mit *E.coli* O157 kontaminiert (SOLOMAKOS et al. 2009).

In **Spanien** lag die Prävalenz von *E.coli* O157:H7 bei Milchkühen bei 7,0 % und bei Fleischrindern bei 1,6 %, während die Prävalenz von non- O157:H7 *E.coli* für Milchkühe bei 20,7 % und für Fleischrindern bei 46,0 % lag (OPORTO et al. 2008).

Im Gegensatz dazu wurde, auch in **Spanien** (Geflügelbestände), weder *E.coli* O157 noch STEC isoliert (ESTEBAN et al. 2008).

Afrika

In **Marokko** wurde *E.coli* in 25% der Proben bei Rindfleisch aus Fleischereien, von Supermärkten und von Fleischproben in Rinderschlachtbetrieben ermittelt, 44,2 % der Rinder-Innereien („beef offal“) waren *E.coli*-positiv (COHEN et al. 2006).

In **Äthiopien** wurden in einem Schlachtbetrieb Ziegenkarkassen untersucht, *E.coli* O157:H7 wurde zu 3,3 % in Kotproben, zu 10,0 % in Felltupfern, in 5,0 % der Karkassen vor dem Waschen und zu 8,3 % auf Karkassen nach dem Waschen festgestellt (MERSHA et al. 2009). Gleichfalls in Äthiopien wurde *E.coli* O157:H7 in Fleischerei in Rindfleisch zu 8 % und in Ziegenfleisch zu 2,0 % isoliert (HIKO et al. 2008).

In **Australien** wurde *E.coli* in Fleisch des Einzelhandels von Rind und Schwein gefunden (Tab. 2. 13) (MILLARD und ROCKLIFF 2001).

Tabelle 2. 13: Nachweis von *E.coli* auf Fleisch aus Australien (MILLARD und ROCKLIFF 2001)

Fleisch	Probenzahl	<i>E.coli</i> (%)
Rindfleisch	18	3 (16.6)
Schweinfleisch	11	1 (9.1)
Ochsenfleisch	2	2 (100,0)

2.2.4.4 *Escherichia coli* in der Schaflebensmittelkette

Im Bestand

Europa

Über das Vorkommen von STEC bei kleinen Wiederkäuern (Schaf und Ziege) in **Deutschland** und der Schweiz sind bislang nur wenige Studien vorhanden (BUMANN 2010). Da ein Großteil der EHEC- Erkrankungen beim Mensch auf den Serotyp O157 zurückzuführen ist, wurde in vielen europäischen Prävalenzstudien ausschließlich auf diesen Serotyp untersucht (BUMANN 2010).

E.coli O157 wurde in **Schottland** in Schafbeständen im Winter in 27 % der untersuchten Proben gefunden, die individuelle Prävalenz lag bei 5,8 %, während sie in den Beständen bei 42,8 % lag (SOLECKI et al. 2009). 0,8 % (5 von 595) von untersuchten Milchschaften in **Griechenland** waren *E.coli* O157 positiv (SOLOMAKOS et al. 2009).

In Südosten der **USA** waren Kotproben und Wolle zu 9 % und 18 % *E.coli* O157:H7- positiv (EDRINGTON et al. 2009).

Untersuchungen aus **Spanien** verdeutlichen die unterschiedlichen Nachweisraten von STEC O157 und non-O157 bei Schafen, so ergab die Untersuchung von Kotproben gesunder Lämmer eine wesentlich höhere Nachweisrate von non-O157 STEC (35 %) im Vergleich zu O157 STEC (1 %) (REY et al. 2003). Ebenso lag die Prävalenz von STEC O157: H7 (Nordspanien) bei 8,7 % von insgesamt 122 Milchschaaf-Herden, die individuelle Prävalenz lag bei 7,3 %. Die Prävalenz von non-O157 STEC in denselben Herden lag bei 50,8 % (OPORTO et al. 2008).

Im Schlachtbetrieb

Europa

In **UK** (Warteställe) lag die Prävalenz von *E.coli* bei 2,2 % und auf dem Fell bei 5,5% (SMALL et al. 2002). In einer weiteren Studie wurde die Prävalenz von *E.coli* O157 in Darmproben (im Schlachtbetrieb) geprüft, die Prävalenz lag bei 0,7 % (MILNES et al. 2008).

In **Irland** wurden im Schlachtbetrieb Kot- und Vliesproben gesunder Lämmer untersucht. Der Nachweis von *E.coli* O157:H7 gelang bei keiner der Kotproben. 5,75 % der untersuchten Vliesproben, 1,5 % der Karkassen vor der Kühlung und 1 % der Karkassen nach der Kühlung waren jedoch positiv (LENAHAN et al. 2007).

In der **Schweiz** wurden Blinddarmproben von Schafen in zwei Schafschlachtbetrieben auf Shiga-Toxin produzierende *Escherichia coli* (STEC) untersucht, 29,9 % der untersuchten Proben waren STEC-positiv, in 55,3 % der 76 non-O157 Isolate wurde *stx2* festgestellt (ZWEIFEL et al. 2004).

USA

In den USA lag die Prävalenz von *E.coli* O157:H7 beim Schaf auf dem Fell bei 12,8 % und auf den Karkassen vor der Evisceration bei 1,6 % und nach der Evisceration bei 2,9 %. Die Prävalenz von non-O157 STEC auf dem Fell lag bei 86,2 %, auf Karkassen vor der Evisceration bei 78,6 % und nach der Evisceration bei 81,6 % (KALCHAYANAND et al. 2007).

In einer Studie von HAUGE et al. (2011) wurde *E.coli* vor der Kühlung in 26 % (23 von 90) „pasteurisierter“ Karkassen (Wasser bei 82 °C für 8 s vor der Kühlung) und in 66 % (59 von 90) der unpasteurisierten Karkassen isoliert. 24 h nach der Kühlung lag der *E.coli*-Level niedrig (21 %, 19 von 90) bei den pasteurisierten Karkassen und bei 43 % bei den

unpasteurisierten Karkassen. Nach 5 Tagen der Kühlung konnte *E.coli* auf den pasteurisierten Karkassen nicht isoliert werden, während der Mittelwert der *E.coli*-Zahl auf unpasteurisierten Karkassen bei $\log 0,89 \text{ KbE/ cm}^2$ lag.

Afrika

In **Marokko** wurden Fleischproben aus der Fleischerei, von Supermärkten und in Schlachtbetrieben auf *E.coli* getestet, 44,2 % aller Lammfleischproben waren *E.coli*-positiv, der Mittelwert lag bei $\log 2,1 \pm 1,0 \text{ KbE/ cm}^2$ (COHEN et al. 2006).

In **Äthiopien** wurden in einem Schlachtbetrieb Schafkarkassen untersucht, von insgesamt 711 Proben waren 36 *E.coli* O157:H7-positiv, von diesen positiven Proben waren 5,4 % Fäkalproben, 8,0 % Hauttupfer, 9,8 % Karkassen vor dem Waschen und 8,9 % Karkassen nach dem Waschen (MERSHA et al. 2009).

Im Einzelhandel

Afrika

In **Marokko** wurde *E.coli* auf Lammfleisch zu 44,2 % (Fleischerei und Supermärkte) nachgewiesen (COHEN et al. 2006). In **Äthiopien** lag die Prävalenz von *E.coli* O157:H7 bei Lamm- und Schaffleisch bei 2,5 % (HIKO et al. 2008).

Australien

Im Einzelhandel wurde *E.coli* auf Lammfleisch in 22,2 % der Proben gefunden (MILLARD und ROCKLIFF 2001). Ebenfalls in Australien wurde *E.coli* in 16,7 % der Proben im gewürfelten Lammfleisch des Einzelverkaufs gefunden, darunter 0,6 % *E.coli* O157 (PHILLIPS et al. 2008).

Asien

Im Gegensatz dazu wurde in der **Türkei** *E.coli* O157:H7 in Lammfleisch und auf Fleischerzeugnissen nicht festgestellt (KAHRAMAN und AYDIN 2009).

2.2.5 *Yersinia enterocolitica*

2.2.5.1 Die Spezies *Yersinia enterocolitica*

Bakterien der Gattung *Yersinia* gehören zur Familie der Enterobacteriaceae. Sie sind gramnegative Stäbchenbakterien und etwa $0,5-0,8 \times 1,0-3,0 \mu\text{m}$ groß. Das Temperaturoptimum liegt bei 28-30 °C. Dieser Keim ist normalerweise unbeweglich, kann

aber bei Temperaturen unter 30 °C beweglich sein (HOLT et al. 1994). Medizinisch bedeutsam sind vier pathogene Spezies: *Y.pestis*, *Y.pseudotuberculosis*, *Y.ruckeri* und *Y.enterocolitica*. *Y.enterocolitica* ist Darm- pathogen und die am häufigsten nachgewiesene Spezies beim Menschen (DOYLE und BEUCHAT 2007).

2.2.5.2 *Yersinia enterocolitica* beim Menschen

Europa

In der EU lag die Zahl der *Yersinia*- Infektionen beim Menschen im Jahr 2008 bei 8.346 Fällen und damit um 7 % unter der des Jahres 2007 (8.792), wobei das Bakterium meistens in Schweinefleisch vorkam (EFSA und ECDC 2010). Für 2009 wurde 7.595 Fälle bekannt, was eine signifikante Absenkung der Yersiniose bei Menschen seit dem Jahr 2005 bedeutet (EFSA 2011).

Yersinia enterocolitica findet sich im Darm von Säugetieren. Eine besonders wichtige Rolle für Erkrankung beim Menschen spielen Schweine, bei denen *Y.enterocolitica* in den Tonsillen und im Darm vorkommt (HARTUNG 2001). *Y.enterocolitica* wird weltweit in gemäßigten bis kühleren Regionen gefunden. Als Infektionsquellen für den Menschen werden fäkal kontaminierte Nahrungsmittel tierischer Herkunft, Trinkwasser und infizierte Personen beschrieben. Vorwiegend Kleinkinder und Kinder sind (Durchfallerkrankungen) betroffen (HARTUNG 2001).

In **Deutschland** wurden im Jahr 2000 insgesamt 4.778 *Y.enterocolitica*- Infektionen (10,7 Erkrankungsmeldungen / 100.000 Einwohner) bekannt, damit sind die Werte im Vergleich zu 1999 (5.321 gemeldete Fälle) um etwa 10,2 % zurückgegangen (HARTUNG 2001).

Infektionen beim Menschen werden hauptsächlich (ca. 89 %) auf *Y.enterocolitica* O:3, aber auch auf O:9 (6 %) oder O:5,27 (1 %), zurückgeführt (RKI 2005).

Die Inzidenz der Yersiniose beim Menschen ist 2008 nach den Angaben des RKI um 13 % auf 4.352 gemeldete Fälle zurückgegangen. In 2008 lag die Inzidenz bei 5,3, sie sank in 2009 auf 4,5 (RKI 2009). Von den zu 88 % serotypisierten Erregern wurde bei 88 % der Stämme der Serotyp O:3 festgestellt, gefolgt von O:9 (7 %) und O:5,27 (0,8 %) (BfR 2010).

USA

Aus 10 US Bundesstaaten im Jahr 2009 wurden 150 *Yersinia*- Fälle von insgesamt 17.468 anderen bestätigten Infektionsfällen angegeben, die *Yersinia*- Inzidenz lag bei 0,32 pro 100.000 Einwohner (CDC 2010).

2.2.5.3 *Yersinia enterocolitica* bei Tieren

Europa

In **Deutschland** (2008) wurde *Y.enterocolitica* hauptsächlich bei Rindern und Schweinen nachgewiesen. Rinder waren bei Einzeltieruntersuchungen (Stichproben bei Hühnern, Rindern, Schweinen, Pferden, Zeigen und Schafen) in 2,82 % positiv (in 2007: 0,50 %). Einzeltierproben (Stichproben) von Schweinen stiegen im Vergleich zum Vorjahr (2007) von 0,56 % auf 0,97 % an (BFR 2010). Apathogene *Y.enterocolitica* wurden in Süddeutschland bei Hunden zu 5 %, bei Katzen zu 3 % und bei Nagern zu 3 % festgestellt (BUCHER et al. 2008).

UK

In **Großbritannien** wurde *Y.enterocolitica* aus dem Darm von Schweinen zu 10,2 % und bei Rindern zu 4,5 % isoliert (MILNES et al. 2008). Hier wurde auch ein saisonaler Trend von Dezember bis Mai beobachtet. Das Alter bei Rindern (älter) und der Aufenthalt über Nacht im Schlachtbetrieb bei Schweinen erwiesen sich als Risikofaktoren für die Übertragung von *Y.enterocolitica* (MILNES et al. 2009).

In **Schottland** wurden in einem Schlachtbetrieb Darmproben entnommen, *Y.enterocolitica* wurde zu 26,1 % bei Schweinen und zu 6,3 % bei Rindern nachgewiesen (McNALLY et al. 2004).

In **Lettland** wurde *Y.enterocolitica* aus Schweinetonsillen isoliert, 35 % der Proben waren positiv (TERENTJEVA und BERZINS 2010).

In **Neuseeland** wurden mit *Yersinia* infizierte Ziegenherden untersucht. *Y.enterocolitica* war die am häufigsten isolierte Spezies bei Tieren < 1 Jahr (LANADA et al. 2005).

2.2.5.4 *Yersinia enterocolitica* in der Schaflebensmittelkette

Im Bestand

In Schafherden in **Australien** wurde die Serovar O:2,3 am häufigsten gefunden, auch hier war *Y.enterocolitica* die am häufigsten isolierte Spezies bei Tieren < 1 Jahr. *Y.enterocolitica* trat nur von Winter bis Frühsommer auf (SLEE und SKILBECK 1992). Aus Schafdarmproben wurde Biotyp 5 und Serotyp O:2,3 isoliert (SLEE und BUTTON 1990). Im Gegensatz dazu wurde *Yersinia enterocolitica* in einer Untersuchung von BAILEY et al. (2003) bei Schafherden nicht gefunden.

Im Schlachtbetrieb

In Schlachtbetrieben in **Großbritannien** wurde *Y.enterocolitica* in 8 % der Proben aus Schafdärmen isoliert (MILNES et al. 2008).

In **Schottland** waren 10,7 % der untersuchten Fäkalproben *Y.enterocolitica*-positiv (McNALLY et al. 2004). Als Risikofaktoren wurden der Zeitraum vom Dezember bis Mai und die Fütterung im Wartestall festgestellt (MILNES et al. 2009).

In einer Untersuchung aus **Griechenland** wurde *Y.enterocolitica* in Schlachtbetrieben (Schafkarkassen) nicht gefunden (KECHAGIA et al. 2007).

Im Einzelhandel

Deutschland: Im Rahmen von Lebensmittel-Planproben (2004) wurde *Y.enterocolitica* nur in Proben von Schweinefleisch, dies in 1,85 % der Fälle (2003: 8 %) nachgewiesen (BFR 2006). Im Jahr 2008 waren 3,1 % der Planproben von Schweinefleisch (2007: 9,3 %) positiv. In diesem Jahr (2008) waren auch 23,53 % der Fisch- und Meerestier- und Rohmilchproben zu 4,76 % positiv (BFR 2010).

Eine Studie in **Österreich** zeigte, dass mehr als die Hälfte der untersuchten bäuerlichen Direktvermarkter die Haupthygiene-Voraussetzung nicht erfüllte, wobei *Y.enterocolitica* aus 3,1 % der untersuchten Tankmilch von Schafen und Ziegen isoliert wurde (SCHODER et al. 2010).

2.2.6 Salmonella

2.2.6.1 Genus Salmonella

Salmonellen gehören zu den stäbchenförmigen Bakterien, der Durchmesser beträgt etwa 0,7 bis 1,5 µm und die Länge etwa 2,0 bis 5,0 µm. Sie sind gramnegativ, vorwiegend aktiv beweglich, peritrich begeißelt, chemoorganotroph mit oxidativem und fermentativem Energiestoffwechsel und nicht sporenbildend (HOLT et al. 1994). Das Temperaturoptimum liegt bei 37 °C. Sie werden der Familie der Enterobacteriaceae zugeordnet. Derzeit sind mehr als 2.500 Serotypen von *Salmonella* bekannt (FOLEY und LYNNE 2008).

2.2.6.2 Salmonellen beim Menschen

Global werden 93,8 Million Fälle (61,8-131,6 Million) von Magen-Darmentzündung wegen *Salmonella* pro Jahr bekannt, dies mit 155.000 Todesfällen (MAJOWICZ et al. 2010).

Europa

Die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) und das Europäische Zentrum für die Prävention und Kontrolle von Krankheiten (ECDC) haben einen Gemeinschaftsbericht über Zoonosen in der EU und EEA/EFTA veröffentlicht, die Zahl der Salmonellen-Erkrankungen lag 2007 bei 151.995 gegenüber 164.011 im Jahr 2006 (EFSA 2009).

In der EU sind Salmonelleninfektionen die zweithäufigsten unter den gemeldeten zoonotischen Infektionen beim Menschen, die Zahl sank im Jahr 2008 auf 131.468 Fällen, was im Vergleich zum Vorjahr (151.995) einen Rückgang von 13,5 % darstellt (EFSA 2010).

In **Deutschland** (2008) wurden insgesamt 42.909 Salmonellen-Infektionen gemeldet. Im Vergleich zum Vorjahr mit insgesamt 55.408 übermittelten Fällen nahmen die Salmonellosen um 23% ab (RKI 2009).

Die höchste altersspezifische Inzidenz trat bei Kindern unter 10 Jahren auf, dies mit einem Maximum bei Kleinkindern. Todesfälle durch Salmonellose sind in Deutschland selten. Im Jahr 2008 wurden 33 Salmonellose bedingte Todesfälle mit einem Altersmedian von 79 Jahren an das RKI übermittelt (RKI 2009).

In **Dänemark** (2007) lag die Inzidenz von *Salmonella* bei 30,1 pro 100.000 Einwohner (10,4% für *S.Enteritidis* und 6,3 % für *S.Typhimurium*) (DTU 2009).

USA

FoodNet hat im Jahr 2009 aus 10 US-Bundesstaaten 7039 *Salmonella*-Fälle von insgesamt 17.468 anderen Labor-bestätigten Infektionsfällen gemeldet, d h. 15,19 pro 100.000 Einwohner (CDC 2010).

In **Neuseeland** verursachte im Jahr 1998 ein Stamm von *S.Brandenburg* zahlreiche Humaninfektionen, signifikant assoziiert mit beruflichem Kontakt zu Schafen (BAKER et al. 2007).

2.2.6.3 Salmonellen bei Tieren

Europa

Beim Tier wird *Salmonella* am häufigsten in Geflügelherden nachgewiesen (EFSA 2009). In **Großbritannien** ist Geflügel die häufigste Quelle für *Salmonella*-Infektion, bei Puten lag die Prävalenz von Salmonellen bei 32,8 % und bei 8,9 % der Putenherden (DANGUY et al. 2010). In Großbritannien war die Salmonellose (*S.Typhimurium* Phage-Type DT40 und

Literatur

Phage-Type DT56 Variante) ein häufiger Grund für Todesfälle bei Grünfinken, Haussperlingen und Möwen (PENNYCOTT et al. 2006).

In Nord- England wurde *S.enterica* in Wildvögeln isoliert, die meisten Isolate waren *S.Typhimurium*, die mit Human-und Nutztier-Erkrankungen assoziiert waren (HUGHES et al. 2008).

Auch in **Schottland** wurde Salmonellose bei Gartenvögeln (1995 bis 2008) diagnostiziert, *S.Typhimurium* (Phage-Type DT40 und DT56 Variante) wurde auch hier bei Haussperling und Finken in zahlreichen Fällen isoliert (PENNYCOTT et al. 2010). In Großbritannien waren *S.Typhimurium*, *S.Mbandaka* und *S.Dublin* die häufigsten Serotypen (MILNES et al. 2008).

In einer Untersuchung an Geflügel in **Spanien** lag die Prävalenz von Salmonellen am höchsten auf der Haut von Mastgeflügel-Karkassen (55 %) und am niedrigsten in Erzeugnissen aus Geflügel, insbesondere in Hamburgers mit 20 %, während auf Mastgeflügel-Karkassen im Einzelhandel ein Durchschnitt von 49 % ermittelt wurde, die häufigsten Serotypen waren *S.Enteritidis*, *S.Poona*, *S.Paratyphi B* und *S.Worthington* (CAPITA et al. 2003).

In Spanien wurde 60 Herden auf 34 Geflügelfarmen untersucht und *Salmonella* auf 2,9 % der Farmen nachgewiesen (ESTEBAN et al. 2008).

Im Zeitraum von 2002 bis 2004 in **Irland** wurde *Salmonella* in rohem Rindfleisch und Hackfleisch zu 0,16 % (90 von 53.820) nachgewiesen, während gekochtes Fleisch und gekochte Fleischerzeugnisse *Salmonella*-negativ waren (JORDAN et al. 2006). Die häufigsten Serotypen (2004) bei Rindern waren *S.Dublin* und *S.Typhimurium*, während beim Geflügel *S.Kentucky* und *S.Typhimurium* dominant waren (JORDAN et al. 2006).

USA

In den **USA** ist die Mehrzahl der *Salmonella*-Infektion (Lebensmittel bedingte Krankheiten) verbunden mit dem Verzehr von Produkten wie Fleisch, Geflügel, Eier, Milch oder Meeresfrüchte. Nutztiere wurden als wichtige Quelle für Human-Salmonellose identifiziert (FOLEY et al. 2008).

Asien

Bei Mastgeflügelfleisch aus **Thailand** wurden Salmonellen mit Prävalenzen von 61 % (121 von 200 Proben) und in Hühnereiern zu 14 % (7 von 50 Einzelverkauf) nachgewiesen

(VINDIGNI et al. 2007). In Bangkok wurde *Salmonella* im Einzelverkauf vom Rindfleisch 82% der Proben (41 von 50) isoliert (VINDIGNI et al. 2007).

Afrika

Der Serotyp *S.Typhimurium* war verantwortlich für einen signifikanten Prozentsatz von invasiven Neu-Typhus-*Salmonella* (NTS) in Subsahara-Afrika (Malawi und Kenia) bei Mensch und Tier (KINGSLEY et al. 2009).

In **Marokko** (2002 bis 2004) wurde *Salmonella* bei Rindfleisch weder im Schlachthof noch in Fleischerei isoliert (COHEN et al. 2006).

Prävalenzrate beim Schwein aus verschiedenen Ländern sind in Tab. 2. 14 wiedergegeben.

Tabelle 2. 14: *Salmonella*-Serotypen beim Schwein

Jahr	Land	Probe	<i>Salmonella</i>	Prävalenz %	Quelle
2003	Thailand	Rohfleisch	<i>S.Anatum</i>	30	VINDIGNI et al. (2007)
			<i>S.Rissen</i>	12,9	
2003	Irland	Rohfleisch	<i>S.Typhimurium</i>	58,1	JORDAN et al. (2006)
2004	Irland	Rohfleisch	<i>S.Derby</i>	19,6	
2003	Großbritannien	Blinddarm	<i>S.Typhimurium</i>	54	MILNES et al. (2008)
			<i>S.Derby</i>	25	

2.2.6.4 Salmonellen in der Schaflebensmittelkette

Im Bestand

Europa

Über das Vorkommen von *Salmonella* bei kleinen Wiederkäuern ist bisher nur wenig berichtet worden (BUMANN 2010). In **Großbritannien** konnte nur aus 1,1 % (30 Isolate von insgesamt 2820 Proben) der untersuchten Kotproben von Schlachtschafen *Salmonella* isoliert werden, von 30 Isolate waren 19 Isolate *S.enterica* subsp. *diarizonae* (63,3 %), 4 *S.Dublin* (13,3 %) und 2 *S.Derby* (6,7%) (MILNES et al., 2008). In **UK** (2002) lag die *Salmonella*-Prävalenz in Schafdärmen im Schlachtbetrieb bei 1,1 % gegenüber 0,1 % in den Jahren 1999-2000 (MILNES et al. 2008).

In UK wurden Fäkalproben im Bestand (direkt nach der Ausscheidung) und transportierte Fäkalien außerhalb des Bestandes (Gülle) untersucht, *Salmonella* wurde zu 8,3 % in frischen Fäkalien und zu 11 % in Gülle nachgewiesen (HUTCHISON et al. 2005).

USA

In den USA waren Kot- und Vlies- Proben zu 7 bis 50 % der Proben *Salmonella*- positiv, während Salmonellen auf Schafkarkassen nicht gefunden wurden (EDRINGTON et al. 2009). In Untersuchungen von SMALL et al. (2002) lag die Vlies-Kontamination bei 7,8 % der Proben.

Im Schlachtbetrieb

Europa

Die Verbreitung von *Salmonella* kann abhängen von der Jahreszeit sein: *S.Typhimurium* DT120 wurde in einem Schafschlachtbetrieb im **Nordengland** zwischen November 1999 und April 2000 in 59 % der Kot- und Bodenproben isoliert, im Juni sank die Inzidenz, im August, September und Oktober wurde der Erreger überhaupt nicht gefunden (PURVIS et al. 2005).

In **England** lag der Durchschnitt der Isolate im Wartestall mehrerer Schlachtbetriebe zwischen 1,1 % (SMALL et al. 2002) und 6,5 % (36 von 556) (SMALL et al. 2006), während die Prävalenz auf dem Vlies bei 7,8 % lag (SMALL et al. 2002). In Untersuchungen von MILNES et al. (2008) lag die Prävalenz von *Salmonella* bei 1,1 % der untersuchten Darmproben.

Die häufigsten Serovare beim Schaf in Großbritannien waren *S.enterica* subsp. *diarizonae* (61: k: 1,5,7) und *S. Dublin* (MILNES et al. 2008).

In **Spanien** lag die Prävalenz von Salmonellen auf Lammkarkassen in drei Schlachtbetrieben bei 10 % (Beprobung mittels Kompressen nach dem finalen Waschen der Karkassen) (SIERRA et al. 1995a).

In der **Schweiz** wurden je 100 Schafe und Ziegen nach der Schlachtung mittels PCR auf *Salmonella*- Spezies untersucht (Tonsillen- und Kotproben). Die Prävalenz in den Schlachtschafen war signifikant höher im Vergleich zu den Schlachtziegen: Beim Schaf lag die Salmonellen-Nachweisrate in den Tonsillen bei 20 %, bei Ziegen bei 1 %. *Salmonella* wurde auch in zwei Schafschlachtbetrieben in der Schweiz mit einer Gesamtprävalenz von 11,0 % der 653 untersuchten Blinddarmproben nachgewiesen (ZWEIFEL et al. 2004).

Dagegen konnten Salmonellen aus Kotproben von Schafen und Ziegen nicht nachgewiesen werden (STOLLE et al. 2010).

USA

In den USA wurden gekühlte Lammkarkassen zweimal (einmal im Herbst bzw. Winter und einmal im Frühling) untersucht. Die Nachweisrate von *Salmonella* lag nach 24 h für beide

Jahreszeiten bei 1,5 %, im Herbst und Winter bei 1,9 %, während sie im Frühling 1,2 % aufwies (DUFFY et al. 2001). In einer anderen Studie aus den USA wurde *Salmonella* auf dem Vlies in 14,4 %, vor der Evisceration der Karkassen in 4,3 % und nach der Evisceration in 1,8 % der Fälle isoliert. Die Mehrheit der identifizierten Isolate war *S.Heidelberg* (KALCHAYANAND et al. 2007).

In **Australien** waren Schafkarkassen in einem Prozentsatz von 5,74 % *Salmonella*- positiv (VANDERLINDE et al. 1999), in einer anderen Studie (Schafkarkassen) zu 0,1 % (PHILLIPS et al. 2001). Von Lämmern wurden *S.Infantis* und *S.Typhimurium* isoliert (PHILLIPS et al. 2008).

In **Neuseeland** (1995 bis 2002) wurde *S.Brandenburg* von Schafen und Lämmern in Prozentsätzen bis zu 79,7 % (1621 von 2035) isoliert (BAKER et al. 2007).

Asien: In einer indischen Untersuchung wurde *Salmonella* auf Schafkarkassen nicht gefunden (BHANDARA et al. 2010).

Im Einzelhandel

Europa

Über Salmonellengefahren für den Menschen durch Fleisch von kleinen Wiederkäuern liegen bisher nicht genügend Kenntnisse vor. Das könnte daran liegen, dass Lebensmittel von Schaf und Ziegen in westlichen Ländern erst in den letzten Jahren an Beliebtheit gewonnen haben und andere Lebensmittel liefernde Tiere wie Rind, Schwein und Geflügel bevorzugt wurden (STOLLE et al. 2010).

In **Irland** wurde *Salmonella* von Schaffleisch zu 0,2 % (16 von 6794) isoliert, in gekochtem Fleisch und gekochten Fleischprodukten wurde *Salmonella* nicht gefunden (JORDAN et al. 2006).

Australien

In Einzelhandel wurde *Salmonella* in entbeintem Fleisch zu 1,3 % nachgewiesen (PHILLIPS et al. 2001), während gefrorene Fleischproben zu 6,5 % *Salmonella*-positiv waren (VANDERLINDE et al. 1999). In Australien (ebenfalls Einzelhandel) wurde gewürfeltes Lammfleisch geprüft, in 0,6 % der Fälle (2 von 360 Proben) wurde *Salmonella* nachgewiesen (PHILLIPS et al. 2008).

3 Eigene Untersuchungen

3.1 Schlachtbetrieb und Gewinnungstechnologie

Die Untersuchungen erfolgten in einem Schafschlachtbetrieb in Brandenburg. Hier werden an jeweils drei Tagen in der Woche ca. 500 Schafe (d. h. 1.500 Schafe pro Woche) geschlachtet. Die Schafe werden elektrisch bei einer Stromstärke von 0,8 Ampere für ca. 8 Sekunden betäubt (Fa. Karl Schermer GmbH; Typ EC- 2), entblutet und danach an einem Hinterbein bis zum Ende der Entblutung aufgezo-gen. Anschließend werden sie vor dem Entvliesen an die Vorderbeine umgehängt, Kopf, vordere und hintere Unterfüße werden entfernt. Nun wird das Vlies durch einen Schnitt eröffnet und das Bindegewebe zwischen Fell und Tierkörper mit der Faust gelöst, um das Vlies bis zur Hälfte des Tierkörpers abziehen zu können. Das Vlies wird danach maschinell vollständig entfernt. Nach dem Entvliesen wird der Tierkörper im weiteren Verlauf an Position 3 wieder an den Hinterbeinen aufgehängt, die Körperhöhle wird mittels eines Messers eröffnet und die inneren Organe entnommen. Zum Abschluss werden die Tierkörper in nicht gespaltenem Zustand in den Kühlraum transportiert (Anhang 9.1 „Fleischgewinnungsablauf im beprobten Schlachtbetrieb“).

3.2 Material

Im Zeitraum von Juli 2008 bis August 2009 wurden im Verlauf von 14 Ausfahrten insgesamt 423 Proben gezogen (Tab. 3. 1).

Die Stellen der Probenahme wurden unter Berücksichtigung der verwendeten Schlachttechnik ausgewählt. Beprob-t wurden vier Stellen eines jeden Schlachtkörpers, indem mittels destruktiven Verfahrens jeweils eine Fläche von 5 cm² ausgestanzt und entnommen wurde.

Vier Positionen wurden ausgewählt:

- Position 1: vor der Enthäutung (an den Vorderbeinen aufgehängt)
- Position 2: nach der Enthäutung (an die Hinterbeine umgehängt)
- Position 3: nach der Evisceration
- Position 4: Kühlraum

Die Proben wurden in rückwärtiger Richtung zuerst im Kühlraum (Position 4) entnommen, um die Reihenfolge vom reinen zum unreinen Bereich einhalten zu können.

3.3 Technik der Probenahme

3.3.1 Stanzen

Mittels scharf geschliffener Rundstanzen wurde jeweils auf einer Fläche von 5 cm² durch mäßigen Druck und Drehbewegung die Haut eingeschnitten und von der Basis mittels Skalpell abgetrennt. Die Stanze wurde vor jedem Probenahmetag sterilisiert und zwischen jeder Beprobungsstelle gereinigt, in Alkohol getaucht und anschließend abgeflammt.

Ab Ausfahrt 2 bis zum Ende der Untersuchung wurden 2 Stanzen (insgesamt 10 cm²) an jeder Stelle entnommen und in einen Stomacherbeutel verbracht (gepoolt).

3.3.2 Tupfer

Der Boden im Sammelstall, die Fellabzugsmaschine, die Ablage der Tierkörper (TK) nach dem Abziehen des Vlieses, der Türgriff innen im Kühlraum, die Wand im Kühlraum und die Messer wurden mittels feuchter Baumwollkompressen auf einer Fläche von 10 x 10 cm durch mäßigen Druck und leichte Drehbewegung nicht- destruktiv beprobt.

3.3.3 Die Ausfahrten

Die nachfolgende Darstellung verdeutlicht den Hintergrund des Gesamtprojektes. Alle gezogenen Proben wurden gekühlt direkt ins Institut transportiert und am Folgetag aufgearbeitet.

Ausfahrt 1

Am 23.07.2008 wurden 32 Stanzproben (à 5 cm²) entnommen. Um die laufenden Gewinnungsarbeiten nicht zu stören, wurden an den beiden ersten Positionen (1 und 2) 8 Proben von 8 Tierkörpern gezogen und einzeln untersucht: An Position 1 wurde immer ein TK für je eine Beprobungsstelle gewählt (TK1: Hals, TK2: Brust, TK3: Bauch, TK4: Vorderbein bzw. Keule an Position 2, TK5: Hals, TK6: Brust, TK7: Bauch und am TK8: Vorderbein bzw. Keule an Position 2) (Abb. 3. 1 und Abb. 3. 2).

An Position 3 und 4 wurden je Position zwei Tierkörper genommen und von einem TK alle vier Stellen entnommen (TK1: Hals, Brust, Bauch und Keule, TK2: Hals, Brust, Bauch und Keule) (Tab. 3. 2), (Abb. 3. 3 und Abb. 3.4).

Eigene Untersuchungen

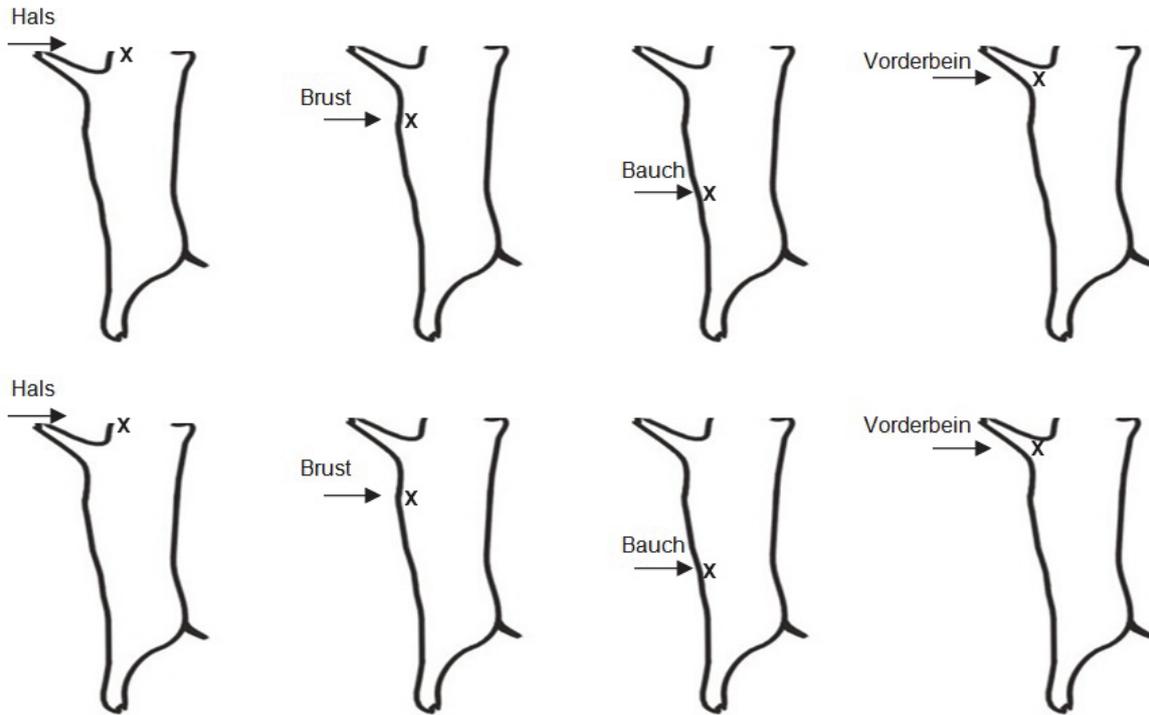


Abbildung 3. 1: Probeentnahme- Stelle je Tierkörper an der Position 1 (TK1-8)

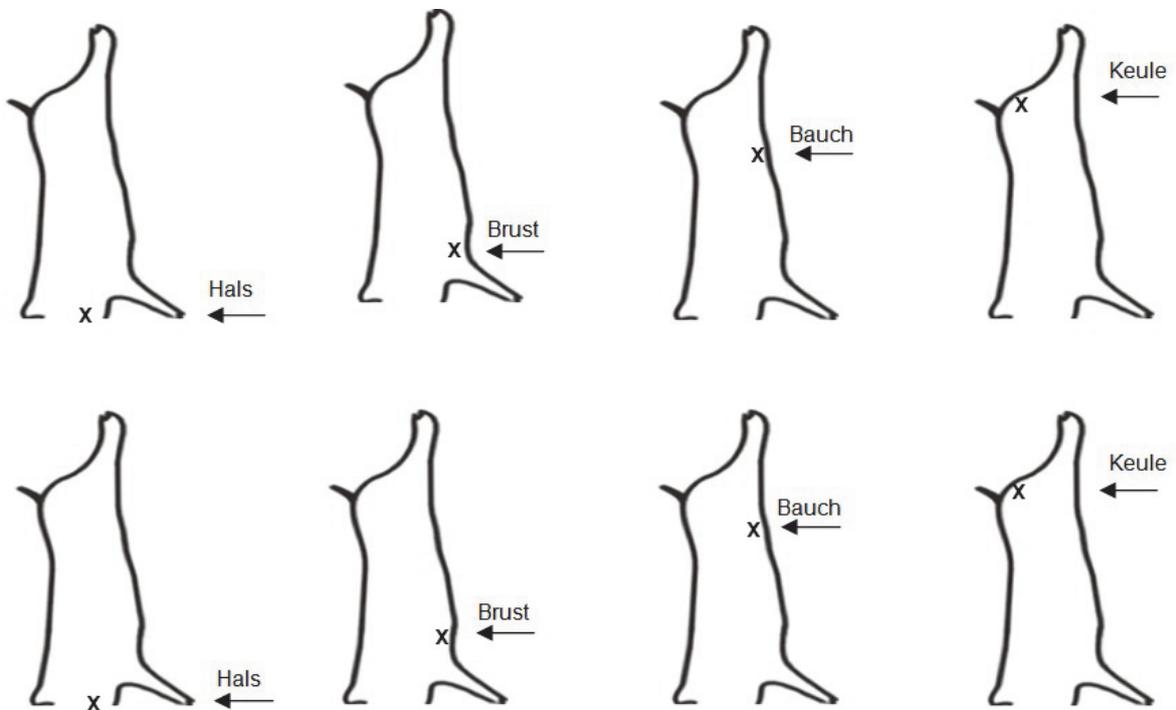


Abbildung 3. 2: Probeentnahme- Stelle je Tierkörper an der Position 2 (TK9-16)

Eigene Untersuchungen



Abbildung 3. 3: Probeentnahme- Stelle je Tierkörper an der Position 3 (2 TK: TK 17 und 18)



Abbildung 3. 4: Probeentnahme- Stelle je Tierkörper an der Position 4 (2 TK: TK 19 und 20)

Ausfahrt 2

Am 15.09.2008 wurden 32 Stanzproben (à 10 cm²) entnommen. Ab dieser Ausfahrt wurden pro Position 8 Tierkörper ausgewählt und jeweils beprobt (TK1: Hals, TK2: Brust, TK3: Bauch, TK4: Keule bzw. Vorderbein an Position 1, TK5: Hals, TK6: Brust, TK7: Bauch und am TK8: Keule bzw. Vorderbein an Position 1) (Tab. 3. 2).

Ausfahrt 3

Am 05.011.2008 wurden 32 Stanzproben gewonnen. Die Probenahme erfolgten wie bei Ausfahrt 2.

Ausfahrt 4

Am 24.11.2008 wurde 32 Stanzen und 9 Ausrüstungsproben im Schlachtbetrieb gezogen (2 x vom Boden des Wartestalls vor der Betäubebucht, 2 x Wand im Kühlraum, 2 x

Eigene Untersuchungen

Vliesabzuggerät, 2 x Messer und 1 x von der Ablage des TK nach dem Abziehen des Vlieses). Die Stanzprobenahmen erfolgten wie bei Ausfahrt 2.

Ausfahrt 5

Bei der fünften Ausfahrt (11.12.2008) wurden insgesamt 24 Proben entnommen (16 Stanzen, 2 x vom Boden des Wartestalls vor der Betäubebucht, 2 x Messer, 1 x von der Ablage des TK nach dem Abziehen des Vlieses, 1 x Fellabzugmaschine und 2 x Wandkühlung im Kühlraum).

Bei den Stanzproben wurden pro Position nicht 8, sondern 4 Tierkörper ausgewählt und jeweils an einer Stelle beprobt. Pro Position wurden TK1 (Hals), TK2 (Brust), (TK3) Bauch und mit TK4 an Position 1 das Vorderbein beprobt (Tabelle 3.2).

Ausfahrt 6

Am 19.01.2009 wurden insgesamt 40 Proben gewonnen: 2 Proben vom Boden des Wartestalls vor der Betäubebucht, 2 x Messer, 1 x von der Ablage des TK nach dem Abziehen des Vlieses, 1 x Fellabzugmaschine und 2 x Wand Kühlraum. Die Stanzprobenahmen erfolgten wie bei Ausfahrt 2.

Ausfahrt 7

Am 31.01.09 wurden 40 Proben gewonnen: 32 Stanzen, 2 Proben vom Boden des Wartestalls vor der Betäubebucht, 2 x Messer, 1 x von der Ablage des TK nach dem Abziehen des Vlieses, 1 x Fellabzugmaschine und 2 x Wand Kühlraum. Die Auswahl der Stanzproben war identisch mit derjenigen auf der Ausfahrt 2.

Ausfahrt 8

Bei der achten Ausfahrt am 07.02.2009 wurden 25 Proben entnommen (16 Stanzen, 2 x Proben vom Boden des Wartestalls vor der Betäubebucht, 2 x Proben von der Wand Kühlraum, 1 x von der Ablage des TK nach dem Abziehen des Vlieses, 1 x Fellabzugmaschine, 2 x Messer und eine Probe vom Türgriff innen im Kühlraum). Die Stanzprobenahmen erfolgten wie bei Ausfahrt 5.

Ausfahrt 9

Am 21.02.2009 wurden folgende Proben gewonnen: 16 Stanzen, 2 x Proben vom Boden des Wartestalls vor der Betäubebucht, 3 x Messer, 1 x von der Ablage des TK nach dem Abziehen

Eigene Untersuchungen

des Vlieses, 1 x Fellabzugmaschine, 2 x Wand Kühlraum und eine Probe vom Türgriff innen im Kühlraum. Die Stanzprobenahmen erfolgten wie bei Ausfahrt 5.

Ausfahrt 10

Datum 20.03.2009: Die Ausrüstungsproben waren identisch mit denen der neunten Ausfahrt, zusätzlich wurde eine Probe vom Sterilisationsbecken für die Messer gewonnen. Die 16 Stanzprobenahmen erfolgten wie bei Ausfahrt 5.

Ausfahrt 11

Auch am 29.04.09 wurden 16 Stanzen wie bei Ausfahrt 5 gezogen. Die Ausrüstungsproben waren identisch mit denen der neunten Ausfahrt.

Ausfahrt 12

Am 30.05.2009 wurden 2 x Proben vom Boden des Wartestalls vor der Betäubebucht, 3 x Messer, 1 x von der Ablage des TK nach dem Abziehen des Vlieses, 1 x Fellabzugmaschine, 2 x Wand Kühlraum und eine Probe vom Türgriff innen im Kühlraum. Die 16 Stanzproben wurden wie bei Ausfahrt 5 entnommen.

Ausfahrt 13

Am 09.07.2009 wurden 2 x Proben vom Boden des Wartestalls vor der Betäubebucht, 3 x Messer, 1 x von der Ablage des TK nach dem Abziehen des Vlieses, 1 x Fellabzugmaschine, 2 x Wand Kühlraum und eine Probe vom Türgriff innen im Kühlraum entnommen. Die 16 Stanzproben wurden entnommen wie bei Ausfahrt 5.

Ausfahrt 14

Bei der letzten Ausfahrt am 03.08.2009 wurden 2 x Proben vom Boden des Wartestalls vor der Betäubebucht, 3 x Messer, 1 x von der Ablage des TK nach dem Abziehen des Vlieses, 1 x Fellabzugmaschine, 2 x Proben von dem Wand Kühlraum und eine vom Türgriff innen im Kühlraum entnommen. Die 16 Stanzproben wurden entnommen wie bei Ausfahrt 5.

Die entnommenen Stanzproben sind in der Tab. 3. 2 wiedergegeben.

Eigene Untersuchungen

Tabelle 3. 1: Beprobungstermine und Zahl der jeweils entnommenen Proben (Schlachtbetrieb)

Datum	Karkassen					Umgebung							gesamt
	Hals	Brust	Bauch	Vorderbein	Keule	Boden vom Pferch vor der Betäubung	Messer	Ablage TK nach der Enthäutung	Fellabzugsmaschine	Wand Kühlraum	Türgriff Kühlraum	Steribecken für Messer	
23.07.08	8	8	8	2	6								32
15.09.08	8	8	8	2	6								32
05.11.08	8	8	8	2	6								32
24.11.08	8	8	8	2	6	2	2	1	2	2			41
11.12.08	4	4	4	1	3	2	2	1	1	2			24
19.01.09	8	8	8	2	6	2	2	1	1	2			40
31.01.09	8	8	8	2	6	2	2	1	1	2			40
07.02.09	4	4	4	1	3	2	2	1	1	2	1		25
21.02.09	4	4	4	1	3	2	3	1	1	2	1		26
20.03.09	4	4	4	1	3	2	3	1	1	2	1	1	27
29.04.09	4	4	4	1	3	2	3	1	1	2	1		26
30.05.09	4	4	4	1	3	2	3	1	1	2	1		26
09.07.09	4	4	4	1	3	2	3	1	1	2	1		26
03.08.09	4	4	4	1	3	2	3	1	1	2	1		26
gesamt	80	80	80	20	60	22	28	11	12	22	7	1	423

Eigene Untersuchungen

Tabelle 3. 2: Zahl der Stanzproben je Tierkörperstelle und Prozessposition

Position	TK-Stelle	Ausfahrten													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	Hals	TK1,TK5	TK1,TK5	TK1,TK5	TK1,TK5	TK1	TK1,TK5	TK1,TK5	TK1						
	Brust	TK2,TK6	TK2,TK6	TK2,TK6	TK2,TK6	TK2	TK2,TK6	TK2,TK6	TK2						
	Bauch	TK3,TK7	TK3,TK7	TK3,TK7	TK3,TK7	TK3	TK3,TK7	TK3,TK7	TK3						
	Vorderbein	TK4,TK8	TK4,TK8	TK4,TK8	TK4,TK8	TK4	TK4,TK8	TK4,TK8	TK4						
2	Hals	TK9,TK13	TK9,TK13	TK9,TK13	TK9,TK13	TK5	TK9,TK13	TK9,TK13	TK5						
	Brust	TK10,TK14	TK10,TK14	TK10,TK14	TK10,TK14	TK6	TK10,TK14	TK10,TK14	TK6						
	Bauch	TK11,TK15	TK11,TK15	TK11,TK15	TK11,TK15	TK7	TK11,TK15	TK11,TK15	TK7						
	Keule	TK12,TK16	TK12,TK16	TK12,TK16	TK12,TK16	TK8	TK12,TK16	TK12,TK16	TK8						
3	Hals	TK17,TK18	TK17,TK21	TK17,TK21	TK17,TK21	TK9	TK17,TK21	TK17,TK21	TK9						
	Brust	TK17,TK18	TK18,TK22	TK18,TK22	TK18,TK22	TK10	TK18,TK22	TK18,TK22	TK10						
	Bauch	TK17,TK18	TK19,TK23	TK19,TK23	TK19,TK23	TK11	TK19,TK23	TK19,TK23	TK11						
	Keule	TK17,TK18	TK20,TK24	TK20,TK24	TK20,TK24	TK12	TK20,TK24	TK20,TK24	TK12						
4	Hals	TK19,TK2	TK25,TK29	TK25,TK29	TK25,TK29	TK13	TK25,TK29	TK25,TK29	TK13						
	Brust	TK19,TK20	TK26,TK30	TK26,TK30	TK26,TK30	TK14	TK26,TK30	TK26,TK30	TK14						
	Bauch	TK19,TK20	TK27,TK31	TK27,TK31	TK27,TK31	TK15	TK27,TK31	TK27,TK31	TK15						
	Keule	TK19,TK20	TK28,TK32	TK28,TK32	TK28,TK32	TK16	TK28,TK32	TK28,TK32	TK16						
gesamt der Stanzproben		32	32	32	32	16	32	32	16	16	16	16	16	16	16

3.4 Probentransport und Lagerung

Stanzproben und Tupfer wurden direkt nach der Entnahme in eine sterile Stomachertüte verbracht und in einer Kühlbox mit Kühlelementen gekühlt. Bei der Ankunft im Labor lag die gemessene Temperatur der Proben zwischen + 0,2 °C und 5,0 °C. Die Lagerung erfolgte über Nacht bei 4-7 °C im Kühlschrank. Am nächsten Tag wurde mit den Untersuchungen begonnen.

3.5 Methodik

Anreicherungen, Medien und weitere notwendige Hilfsmittel wurden, soweit nicht anders angegeben, in der institutseigenen Nährbodenküche hergestellt.

3.5.1 Vorbereitung der Proben

Die Stanzproben (à 5 cm² bzw. à 10 cm²) aus den Stomacherbeuteln wurden mit 50ml gepufferten Peptonwassers (BPW) im Verhältnis 1:10 (Stanzfläche von 5 cm²) bzw. 1:5 (Stanzfläche mit 2 x 5 cm²) suspendiert. Die Kompressen wurden in 100 ml (Verdünnung 100) suspendiert und im Stomacher- Gerät 400 bei normaler Geschwindigkeit (60 s) gestomachert und anschließend in den Kühlschrank in einen Ständer gestellt.

3.5.2 Quantitative Verfahren

3.5.2.1 Bestimmen der aeroben Gesamtkeimzahl (GKZ)

Die GKZ wurde nach der amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB ermittelt. Die Berechnung erfolgte in Anlehnung an die DIN-Vorschrift 10113-1.

Aus dem gestomacherten Beutel wurde 1ml Flüssigkeit (10⁰) mit einer sterilen Glaspipette entnommen, in das erste mit 9 ml Natriumchlorid-Peptonwasser (0,85%) gefüllte Reagenzröhrchen der Verdünnungsreihe pipettiert (10⁻¹) und mit einem Mischgerät durch dreimaliges Aufsetzen für je 3-5s gevortext. Diese dezimale Verdünnungsreihe wurde bis 10⁻⁴ weiter angelegt. Für jede Verdünnungsstufe wurde eine separate sterile Pipette verwendet.

Jeweils 0,1 ml der entsprechenden Verdünnung wurde auf 2 Standard-I-Nähragarplatten (Merck®) (Standard-I-Agar) ausgespatelt, dabei wurde mit der höchsten Verdünnung begonnen. Bevor die Teilmengen auf die Platten übergeführt wurden, wurde die Pipette dreimal gefüllt und geleert. Die Teilmengen wurden mit separaten Spateln auf der Oberfläche der Agarplatten in kreisender Bewegung gleichmäßig verteilt, die Agarplatten standen anschließend 10 min. zur Trocknung und wurden danach bei 30 °C für 48 h bebrütet. Die Auswertung der bebrüteten Platten erfolgte durch Auszählen der Koloniebildenden Einheiten

Eigene Untersuchungen

(KbE). Zur Berechnung des gewichteten Mittelwertes wurden die Koloniezahlen der niedrigsten und der nächsthöheren auswertbaren Verdünnungsstufe (Platten, auf denen 1 bis 300 KbE gewachsen waren) herangezogen, die Berechnung erfolgte nach folgender Formel:

$$\bar{c} = \frac{\sum c}{n_1 \times 1 + n_2 \times 0,1} \times d \times k$$

Es bedeuten:

- \bar{c} gewogenes arithmetisches Mittel der Koloniezahlen
- $\sum c$ Summe der Kolonien aller Petrischalen, die zur Berechnung herangezogen wurden (niedrigste und nächst höhere auswertbare Verdünnungsstufe)
- n_1 Anzahl der Petrischalen der niedrigsten auswertbaren Verdünnungsstufe
- n_2 Anzahl der Petrischalen der nächst höheren auswertbaren Verdünnungsstufe
- d Faktor der niedrigsten ausgewerteten Verdünnungsstufe; hierbei handelt es sich um die auf n_1 bezogene Verdünnungsstufe.
- k Konstante (=10), da nur 0,1 ml ausgespatelt wurden

Die Oberflächenkeimzahl (n_{OKZ}) je cm^2 wurde nach folgender Gleichung berechnet:

$$n_{OKZ} = \frac{\bar{c} \times V}{A}$$

- \bar{c} gewogenes arithmetisches Mittel der Koloniezahlen
- V das Gesamtvolumen der zur Ausschüttelung verwendeten Verdünnungslösung
- A die Probenahmefläche in cm^2 , d. h. $\frac{\bar{c} \times 50}{5}$ (bei einer Stanze) bzw.

5

$$\frac{\bar{c} \times 50}{10} \text{ wenn 2 Stanzen entnommen wurden (10 cm}^2\text{)}$$

3.5.2.2 Enterobacteriaceae (Eb)

Je Verdünnungsstufe (10^{-0} bis 10^{-2}) wurde 0,1 ml auf 2 Platten Violet Red Bile Dextrose (VRBD) pipettiert, gespatelt und bei 30 °C für 48 h bebrütet. Nach der Auswertung wurden Eb-verdächtige Kolonien auf Standard-I-Agar subkultiviert, bei 37 °C für 24 h bebrütet und der Oxidase-Test durchgeführt. Oxidase-negative Kolonien mit einem Durchmesser größer als 0,5 mm und einem durch die Ausfällung von Gallensalzen verursachten rot-violetten Präzipitationshof wurden ausgezählt nach der Formel:

Eigene Untersuchungen

$$\bar{c} = \frac{\sum c}{n_1 \times 1 + n_2 \times 0,1} \quad \times d \times 10 \times \frac{50}{5} \quad \text{oder} \quad \times \frac{50}{10}$$

Für Symbole und rechnerische Ableitung gilt die Erklärung entsprechend der Ableitung der Gesamtkeimzahl.

3.5.3 Qualitative Verfahren

Alle Proben (Stanzen und Kompressen) wurden qualitativ auf die folgenden Untersuchungsziele untersucht: *Campylobacter*, *Listeria*, *E.coli*, *Yersinia enterocolitica* und *Salmonella*.

3.5.3.1 Untersuchung auf thermophile *Campylobacter*

3.5.3.1.1 Konventionelle Untersuchung

Die Untersuchung wurde mit geringen Modifikationen nach DIN ISO 10272-1: 2004 (D) durchgeführt (Anhang), 10 ml aus den Stomacherbeuteln wurden in 90 ml Bolton Bouillon (Oxoid®) als selektive Anreicherung gegeben und zuerst für 4 h bei 37 °C unter aeroben Bedingungen inkubiert, danach wurde in einer Bebrütungsbank mit kontrollierter Atmosphäre unter mikroaerophilen Bedingungen (5 % O₂, 10 % CO₂, 85 % N₂) bei 42°C für 48 h bebrütet. Mit einer sterilen Impföse wurde aus der bebrüteten Anreicherungsbouillon Material entnommen und auf der Oberfläche eines blutfreien selektiven Mediums mCCDA (Oxoid®) ausgestrichen und unter erneut mikroaerophilen Bedingungen bei 42 °C für 48 h bebrütet¹.

Bestätigung des Genus *Campylobacter*

Verdächtige weißgraue Kolonien wurden auf 5 % Columbia Blut Agar (Oxoid®) ausgestrichen, 48 h bei 42 °C mikroaerophil bebrütet und die folgenden biochemische Untersuchungen durchgeführt (Tabelle 3.3):

- **Mikroskopie**

Die Kolonien wurden mikroskopisch auf das Verhalten in der Gram- Färbung untersucht. Verdächtig waren gramnegative, gebogene Bakterien unterschiedlicher Länge.

¹ Interne Qualitätssicherung (QS): Als Positivkontrolle wurden ein *Campylobacter coli* (DSM 4689) bzw. *Campylobacter jejuni* (DSM 4688) und als Negativkontrolle *E.coli* (ATCC 25922) dem gesamten Procedere analog und parallel mitgeführt.

Eigene Untersuchungen

- **Wachstum bei 25 °C**

Von den isolierten Kolonien wurde mittels Impföse ein Röhrchen mit Brucella- Bouillon beimpft. Die Bebrütung erfolgte unter mikroaeroben Bedingungen bei 25 °C für 2-5 Tage. Es war zu untersuchen, ob Wachstum vorliegt oder nicht.

- **Oxidasenachweis**

Von jeder einzelnen Platte wurde mit einer Öse eine gut isolierte Kolonie entnommen und auf Oxidasereagenz-Filterpapier (Bactident[®]; Merck) ausgestrichen. Das Auftreten einer bläulichen (malvenfarbigen), violetten oder tiefblauen Färbung innerhalb von 60 s weist auf eine positive Reaktion hin, ausbleibender Farbumschlag zeigte eine negative Reaktion.

- **Untersuchung zur Morphologie und Motilität**

Die ausgewählten Kolonien wurden mittels Mikroskops auf Morphologie und Motilität untersucht. Für die Motilität wurden die Kolonien von Columbia-Blutagar in einem Tropfen Brucella-Bouillon auf einen Objektträger aufgeschwemmt und mittels Phasenkontrastmikroskops mit 400- facher Vergrößerung auf Beweglichkeit und Morphologie untersucht.

Eine spiralförmige "Korkenzieher"-artige Motilität weist auf *Campylobacter* hin.

- **Triple Sugar Iron (TSI)-Agar**

Dieses Medium wurde zur Prüfung auf Fermentation von Glukose, Laktose, Saccharose sowie zur Prüfung der Hydrogensulfid (H₂S)-Produktion verwendet. Mit einer Stichöse wurde Standard-I-Agar mit der ausgewählten Kolonien beimpft, die Agarschrägfläche in Form von Längsausstrichen und der Agar der Hochschicht in Form einer Stickskultur. Es wurde 2-5 Tage bei 42°C in einer mikroaeroben Atmosphäre bebrütet.

Thermotolerante *Campylobacter* spp. sind Glukose-, Laktose- und Saccharose-negativ, sie zeigen keine Gasbildung (Tab. 3. 3, 3. 4).

- **Hydrogensulfidbildung (H₂S)**

Die H₂S-Bildung wurde im bebrüteten TSI-Agar zur weiteren Differenzierung herangezogen, eine positive Reaktion zeigte sich durch Schwarzfärbung (Tab. 3. 3, 3. 4).

Eigene Untersuchungen

Tabelle 3. 3: Biochemische Bestätigung des Genus *Campylobacter*

<i>Campylobacter</i> spp.	Merkmale
Morphologie	spiralgig gebogene Stäbchen
Beweglichkeit	+
Gramfärbung	Gramnegativ
Oxidaseaktion	+
Wachstum bei 25 °C	-
Glukoseabbau	-
Laktoseabbau	-
Saccharoseabbau	-
Gasbildung	-
H ₂ S-Bildung	-*

* leichte H₂S-Entwicklung nach 5 Tagen (manchmal durch *C.coli* Spuren einer Schwärzung) (DIN ISO 10272-1: 2004)

Tabelle 3. 4: Auswertung des TSI-Agar

Hochschichtagar	Gelb	Glukosepositiv (Glukose-Umsetzung)
	Rot oder unverändert	Glukosenegativ (keine Glukose-Umsetzung)
	Schwarz	Bildung von Schwefelwasserstoff (H ₂ S)
	Blasen oder Risse	Gasbildung aus Glukose
Agarschrägfläche	Gelb	Laktose- und/oder Saccharosepositiv (ein Zucker oder beide Zucker werden abgebaut)
	Rot oder unverändert	Laktose- und/oder Saccharosenegativ (kein Zuckerabbau)

Identifizierung von *Campylobacter*-Spezies

Zur Differenzierung der als *Campylobacter* spp. (Genus) identifizierten Isolate (Spezies) wurden weitere Untersuchungen durchgeführt:

- **Katalasenachweis**

Eine Impföse mit Kultur aus dem TSI-Agar oder vom Standard I-Agar (Merck®) wurde in einen Tropfen 3 %ige Wasserstoffperoxidlösung (H₂O₂) (ID Color Katalase ID-ASE, Fa. BioMerieux®) auf einen sauberen Objektträger gegeben. Deutliche Blasenbildung innerhalb von 30 s zeigte ein positives Ergebnis an.

- **Sensibilität gegenüber Nalidixinsäure und Cefalotin**

Von der Reinkulturplatte (Columbia- Blutagar) wurde eine gerade sichtbare homogene Bakteriensuspension in Brucella-Bouillon in einer Konzentration, die 0,5 McFarland entspricht, hergestellt und auf eine Muller-Hinton-Blutagar-Platte (5 %ig) gegossen. Nach einer Kontaktzeit von 5 Minuten wurde die überschüssige Suspension entfernt und die Platte im Brutschrank bei 37 °C 10 min. lang getrocknet. Auf die Agaroberfläche wurden je ein Testscheibchen mit Nalidixinsäure (30 µg) und Cefalotin (30 µg) aufgelegt und unter mikroaeroben Bedingungen bei 37 °C für 24 h bebrütet². Das Bakterienwachstum wurde wie folgt bewertet:

Wachstum bis zum Scheibchen zeigte Resistenz an, das Vorliegen einer Wachstumshemmzone jeglicher Größe galt als sensibel (Tab. 3. 5).

- **Nachweis der Hippurat-Hydrolyse**

Von isolierten Kolonien wurde agarfreie Zellmasse mittels einer Impföse in ein Röhrchen mit 0,4 ml 1,0 %iger Natriumhippuratlösung gegeben. Nach Schütteln zur gründlichen Durchmischung erfolgte eine Bebrütung für 2 h im Brutschrank bei 37 °C. Danach wurden vorsichtig 0,2 ml 3,5 %ige Ninhydrinlösung (frisch hergestellt) auf die Oberfläche der Natriumhippuratlösung aufgebracht. Schüttelbewegungen waren zu vermeiden. Nach zusätzlicher Bebrütung bei 37 °C für 10 min. im Brutschrank wurde abgelesen. Eine positive Reaktion zeigte sich durch eine dunkelviolette Färbung, hellviolette Färbung zeigte eine negative Reaktion an (Tab. 3. 5).

Tabelle 3. 5: Biochemische Differenzierung der *Campylobacter*-Spezies

Merkmale	<i>C.jejuni</i>	<i>C.coli</i>	<i>C.lari</i>	<i>C.upsaliensis</i>
Nalidixinsäure	S ^a	S ^a	R	S
Cefalotin	R	R	R	S
Katalase	+	+	+	- oder leicht
Hippurat-Hydrolyse	+	-	-	-

+ = positiv, - = negativ, S = sensibel, R = resistent, (+) = leicht positiv

^a Anmerkung: Es wurde eine Zunahme der Resistenz bestimmter Stämme von *C.jejuni* und *C.coli* gegenüber Nalidixinsäure festgestellt (DIN ISO 10272-1: 2004).

² Interne Qualitätssicherung (QS): Nalidixinsäure- (30 µg) und Cefalotin-Testscheibchen (30 µg) wurden bei -30 °C im Tiefkühlschrank aufbewahrt.

3.5.3.1.2 Molekularbiologische Untersuchung mittels Polymerase Chain Reaction (PCR)

Die Genus- und Speziesidentität der Isolate wurden auch mittels PCR geprüft. Hierzu wurden die identifizierten Isolate auf Blutplatten (5 %ig) unter mikroaerophilen Bedingungen bei 42°C für 2 Tage angezchtet.

Gewinnung des DNA-Extraktes

Die DNA- Aufbereitung erfolgte mittels Kochmethode. Dafür wurde eine Keimsuspension hergestellt, indem eine Impföse mit Bakterienmaterial in ca. 2 ml Physiologische Kochsalz-Lösung eingebracht und beides gut vermischt wurde. 1ml der Suspension wurde in ein 1,5 ml Reaktionsgefäß (Eppendorf) pipettiert und 5 min. bei 10.000 rpm zentrifugiert. Der Überstand wurde abpipetiert, verworfen und das Pellet in 200 µl A. bidest resuspendiert und wiederum bei 10.000 rpm für 5min. zentrifugiert, der Überstand wurde wieder abgenommen und das Pellet in 500 µl A.bidest erneut resuspendiert. Diese Bakteriensuspension wurde für 10 min. bei 100 °C im Thermoblock gekocht, danach auf Eis (10 min.) gestellt und 1 min. bei 14.000 rpm zentrifugiert. Der Überstand wurde in ein neues Eppendorf- Gefäß gegeben, bei -20 °C aufbewahrt oder direkt für die PCR verwendet.

Primer- Sequenz

Vier Primer, nach Wang et al. (2002) und Eyers et al. (1993) wurden ausgewählt (Tab. 3. 6): Zum Genus-Nachweis eine *Campylobacter*-spezifische Sequenz aus der 23S rRNA, die anderen Primer dienten der Erkennung der Spezies (Gensequenz *hipO* für *C.jejuni*, Gensequenz *glyA* für *C.coli* und 23S rRNA für *C.lari*)

Tabelle 3. 6: Primer zur Genus- und Spezies- Identifizierung von *Campylobacter* mittels PCR

Untersuchungsziel	Ziel-Gene	Primer Bezeichnung	Sequenz (5'--> 3')	Produktgröße (bp)	Quelle
<i>Campylobacter</i>	23s rRNA	23SF 23SR	TATACCGGTAAGGAGTGCTGGAG ATCAATTAACCTTCGAGCACCG	650	Wang et al. (2002)
<i>C.jejuni</i>	<i>hipO</i>	CJF CJR	ACTTCTTTATTGCTTGCTGC GCCACAACAAGTAAAGAAGC	323	Wang et al. (2002)
<i>C.coli</i>	<i>glyA</i>	CCF CCR	GTAACAACCAAGCTTATCGTG TCCAGCAATGTGTGCAATG	126	
<i>C.lari</i>	23s rRNA	Therm1 lari	TATTCCAATACCAACATTAGT CTCTTAACGACTACGGCA	260	Eyers et al. (1993)

Eigene Untersuchungen

Drei PCR- Ansätze wurden durchgeführt: Der erste Ansatz (eine konventionelle PCR) zur Identifizierung des Genus *Campylobacter* anhand einer Sequenz aus der *23s rRNA*. Eine Multiplex-PCR detektierte das *hipO* Gen von *C.jejuni* und das *glyA* Gen von *C.coli*, der dritte Ansatz diente der Identifizierung eines *C.lari*-spezifischen Bereichs auf dem *23s rRNA* Gen (Tab. 3. 6).

Identifizierung des Genus *Campylobacter*

Die hier verwendete PCR wurde nach WANG et al. (2002) durchgeführt. Konzentrationen und Volumina [μl] für den PCR- Reaktionsansatz zur Amplifikation des Ziel-Gen- Abschnitts sind in Tab. 3. 7 dargestellt.

Tabelle 3. 7: Komponenten des Mastermix für die PCR-basierte Identifizierung des Genus *Campylobacter*

Reaktionsansatz	Konzentration	Volumen [μl]
Aqua bidest	auf 25 μl	19,3
Deoxynukleosidtriphosphat	200 μM	0,5
10× Puffer (500 mM Tris-HCl, 100 mM KCl, 50 mM $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ und 20 mM MgCl_2)	1x	2,5
Primer 23SF	0,5 μM	0,05
Primer 23SR	0,5 μM	0,05
FastStart [®] Taq DNA Polymerase (Roche Diagnostics, GmbH, Mannheim)	0,5 unit	0,1
Template		2,5

Die Komponenten dieses Mastermix wurden in ein 0,2ml PCR-Reaktionsgefäß pipettiert. Für die Negativ-Kontrolle wurde an Stelle des DNA-Materials die entsprechende Menge an A.bidest zugegeben. Der PCR-Ansatz durchlief im Thermocycler (Primus 96 plus, MWG[®]Biotech) folgendes Temperatur- Zeit- Programm:

- Initiale Denaturierung: bei + 95 °C für 6 min
- Es folgten 30 Zyklen, bestehend aus
 - Denaturierungs-Phase bei + 95 °C für 0,5 min
 - Annealing- Phase bei + 61 °C für 0,5 min
 - Extentions- Phase bei + 72 °C für 0,5 min
- Nach Zyklus 30: finale Extentions- Phase bei +72 °C für 7 min. und Kühlung auf +6°C

***C.jejuni* und *C.coli* – Identifizierung**

Zur Unterscheidung zwischen *C.jejuni* und *C.coli* wurden die Primer *hipO* für *C.jejuni* und *glyA* für *C.coli* eingesetzt und eine PCR nach WANG et al. (2002) durchgeführt. Konzentrationen und Volumina [µl] der Reagenzien für den Reaktionsansatz sind in Tab. 3. 8 aufgelistet.

Tabelle 3. 8: Komponenten des Mastermix für die PCR- basierte Identifizierung von *C.jejuni* und *C.coli*

Reaktionsansatz	Konzentration	Volumen [µl]
Aqua bidest	auf 25 µl	18,55
Deoxynucleosid Triphosphat	200 µM	0,5
10× Puffer (500 mM Tris-HCl, 100 mM KCl, 50 mM (NH ₄) ₂ SO ₄ und 20 mM MgCl ₂)	1x	2,5
Primer CJF für <i>C.jejuni</i>	0,5 µM	0,125
Primer CJR für <i>C.jejuni</i>	0,5 µM	0,125
Primer CCF für <i>C.coli</i>	1 µM	0,25
Primer CCR für <i>C.coli</i>	1 µM	0,25
FastStart [®] Taq DNA Polymerase (Roche Diagnostics, GmbH, Mannheim)	0,5 unit	0,2
Template		2,5

Der Reagenzien-Mix wurde für jede Probe in ein 0,2 ml PCR-Reaktionsgefäß pipettiert. Die DNA-Amplifikation erfolgte im Thermocycler (Primus 96 plus, MWG[®]- Biotech) nach folgendem Temperatur-Zeit-Programm:

- Initiale Denaturierung: bei + 95 °C für 6 min
- 30 Zyklen, bestehend aus
 - Denaturierungsphase bei + 95 °C für 0,5 min
 - Annealing- Phase bei + 61 °C für 0,5 min
 - Extentions- Phase bei + 72° C für 0,5 min
- Nach Zyklus 30: letzte Extentions- Phase bei + 72 °C für 7min. Kühlung auf + 6 °C

***C.lari* – Identifizierung**

Die Identifizierung von *C.lari* wurde nach EYERS et al. (1993) durchgeführt (Tab. 3. 6). Konzentrationen und Volumina [μ l] der Reagenzien für den PCR-Reaktionsansatz sind in Tab. 3.9 wiedergegeben.

Tabelle 3. 9: Komponenten des Mastermix für die PCR-basierte Identifizierung von *C.lari*

Reaktionsansatz	Konzentration	Volumen [μ l]
Aqua bidest	auf 25 μ l	17,7
Deoxynukleosidtriphosphat	200 μ M	0,5
10 \times Puffer (100 mM Tris-HCl [pH 8,3], 500 mM KCl und 50 mM $[\text{NH}_4]_2\text{SO}_4$)	1x	2,5
MgCl ₂	1,5 mM	1,5
Primer Therm1	0,25 μ M	0,1
Primer Lari	0,25 μ M	0,1
AmpliTa [®] Gold DNA Polymerase (Roche Molecular Systems, New Jersey, USA)	0,5 unit	0,1
Template		2,5

Der Mastermix wurde in ein 0,2ml PCR-Reaktionsgefäß pipettiert. Die DNA-Amplifikation erfolgte im Thermocycler (Trio- Thermoblock, Biometra) nach folgendem Temperatur-Zeit-Programm:

- Initiale Denaturierung: bei + 95 °C für 8 min.
- 45 Zyklen, bestehend aus
 - Denaturierungs-Phase bei + 94 °C für 1min
 - Annealing- Phase bei + 56 °C für 1 min
 - Extentions- Phase bei + 72 °C für 1 min
- Nach Zyklus 45: letzte Extentions- Phase bei + 72 °C für 5min. und Kühlung auf +6°C

Gelelektrophoretische Auftrennung

Für die Herstellung des Agarosegels wurde 1,5 g Agarose eingewogen, zu 100 ml 1x TBE-Puffer gegeben und mit einem beheizbaren Magnetprüher unter ständigem Rühren zum Kochen gebracht, bis die Agarose vollständig gelöst war. Danach wurde die Agarose-Lösung im Wasserbad auf 50 °C abgekühlt und luftblasenfrei in die horizontale Gelgießkammer mit eingesetztem Kamm gegossen. Nach ca. 30 min. bei Raumtemperatur wurde 1 x TBE- Puffer darauf gegossen und der Geltaschen-Kamm nach Erstarren aus dem Gel entfernt. Jeweils 8 μ l

Eigene Untersuchungen

Amplifikat von jeder Probe wurden mit 3 µl Ladepuffer gemischt und in die Geltaschen des Agarosegels pipettiert. Die Auftrennung wurde in der Elektrophorese-Kammer im elektrischen Gleichstromfeld „Elektrophorese-Power Supply“ für 60 min. (bei *C.lari* 90 min.) unter einer Spannung von 150 Volt durchgeführt.

Marker

Zur Ermittlung der Bandengröße der Amplifikate wurden gleichzeitig in jedem Gel für die Identifizierung der spezifischen Banden für Genus (650 bp), *C.jejuni* (323 bp) und *C.coli* (126 bp) 5 µl der DNA-Marker pBR328 (Roth®) mitgeführt, während für *C.lari* (260 bp) die DNA-Marker DNA-Hind III + Φx174 DNA-Hae III (Finnzymes®) verwendet wurden.

Visualisierung der aufgetrennten PCR-Produkte

Die Darstellung der Amplifikationsprodukte erfolgte durch Färbung mit 0.005 % w/v Ethidium-Bromid für 20 min. und Entfärbung in Aqua dest. über 15min. Die aufgetrennten DNA-Banden wurden mittels ultravioletten Lichts sichtbar gemacht, danach erfolgte die Dokumentation der aufgetrennten Banden mit dem Photo-Auswertungssystem DIAS-II (Serva®).

3.5.3.1.3 Molekularbiologische Untersuchung mittels Pulsed Field Gel Elektrophorese (PFGE)

Die Untersuchung erfolgte in Anlehnung an das CAMPYNET- Standard- Protokoll für *Campylobacter jejuni* und *Campylobacter coli* (ON et al. 2000). Als Restriktionsenzym wurde KpnI verwendet.

Anzucht und Vorbereitung

Die konventionell und mittels PCR als *Campylobacter* identifizierten Isolate (bei -20 °C gelagert) wurden auf Schafblutplatten (5 %ig) unter mikroaerophilen Bedingungen bei 42 °C für 2 Tage angezüchtet. Es wurde eine 1 %ige Megabase-Agarose-Lösung (Fa. BioRad®) in Aqua bidest hergestellt (1 g Megabase-Agarose wurde zu 100 ml Aqua bidest gegeben und gekocht bis die Agarose vollständig gelöst) und im Wasserbad auf 56 °C gekühlt.

Zur Herstellung der Keimsuspension wurde Bakterienmaterial von der Blutplatte mittels Impföse in ca. 2 ml eiskalter Pett IV-Lösung mit einer Konzentration von MacFarland 6-7 eingegeben. Die Zelldichte wurden mit dem Photometer (Titertek Multiskan® Plus MKII) bei 630 nm gemessen. 150 µl dieser Keimsuspension wurden mit 350 µl Agarose gemischt, in

Eigene Untersuchungen

eine Gießblock-Form (BioRad[®]) gefüllt und gekühlt. Nach 10 min. im Kühlschrank wurden die erstarrten Agarose-Blöckchen (10 mm hoch, 5 mm breit und 1,5 mm dick) aus der Form entnommen und jeweils in ein Eppendorf-Tube gegeben.

Deproteinisierung (Bakterienzellmembran-Lyse)

Jedes Blöckchen wurde mit 1,5ml ESP-Puffer versetzt. Die Inkubation erfolgte über Nacht bei 56 °C im Thermomixer bei ca. 550 rpm. Der Puffer wurde am nächsten Tag entfernt und durch frischen ESP- Puffer ersetzt und weitere 18-24 h unter den gleichen Bedingungen inkubiert.

Nach dem Entfernen dieses ESP-Puffers wurden die Blöckchen sechsmal mit je 1,5 ml TE-Puffer pH 8 gewaschen (Horizontalschüttler, 550 rpm, jeweils mind. 20 min.) und in 1,5 ml TE- Puffer im Kühlschrank bis zur Untersuchung aufbewahrt.

Restriktionsverdau

Von jedem Agarose-Blöckchen wurde eine 1 mm-Scheibe abgeschnitten und in einem Eppendorfgefäß mit 1 ml Äquilibrium-Puffer bei Raumtemperatur äquilibriert. Nach 30min. wurde der Puffer gegen 50 µl Restriktionsendonuklease-Lösung mit 60 U KpnI (Roche[®]) ausgetauscht. Die Inkubation erfolgte über Nacht bei 37 °C.

Herstellung des Elektrophorese-Gels

1,4 % Agarose (Pulsed Field Certified Agarose, BioRad[®]) wurde in 0,5 x TBE- Puffer (45 mMol Tris, 45 mmol Borsäure, 1 mmol EDTA) gekocht, im Wasserbad abgekühlt und dann gegossen (ca. 5ml der Agarose wurden zum Verschliessen der Gelslots als Rest im Wasserbad aufbewahrt). Die Gießform und der Kamm waren vorher mit absoluten Ethanol gereinigt worden. Die Arbeiten erfolgten auf einem Nivelliertisch.

Durchführung der PFGE

25 µl ES- Puffer und 50 µl Ladepuffer wurden zu den Proben aus dem Restriktionsverdau in das Proben- Gefäß zugegeben. Nach ca. 5min. wurde die gesamte Flüssigkeit abgegossen und die Agarose-Scheibchen in die Slots des vorbereiteten Gels überführt. Als DNA-Längenmarker im Gel wurde ein Lambda Ladder PFGE Marker (Pulse Marker 50-1.000 kb, Sigma[®]) verwendet. Die Slots wurden mit der restlichen flüssigen Agarose überschichtet. Das Gel wurde in die bereits mit Laufpuffer gefüllte Gelkammer eingesetzt und das Programm

Eigene Untersuchungen

gestartet (für *KpnI*: Pulsfrequenz: 4-20 Sekunden, Dauer: 20 h, Spannung: 200 V, Temperatur: 14 °C).

Darstellung und Dokumentation

Nach Beendigung des Laufprogramms wurde das Gel in 0,005 % w/v Ethidiumbromid-Lösung für 30 min. gefärbt und im Anschluss 20 min. lang in destilliertem Wasser entfärbt. Die aufgetrennten DNA-Banden wurden unter ultravioletten Licht sichtbar (320 nm) gemacht. Danach erfolgte die Dokumentation der aufgetrennten DNA-Banden mittels des Photo-Auswertungssystems DIAS-II (Serva®).

Die Auswertung erfolgte visuell (TENOVER et al. 1995). Optische Gleichheit von Banden bedeutete, dass mit dem oder den eingesetzten Restriktionsenzym kein Unterschied gefunden werden konnte.

Wenn 1-3 Banden unterschiedlich sind, kann eine Mutation erfolgt sein (innerhalb einer Bande schneidet das Enzym zusätzlich: die betreffende Bande verschwindet, es können 2 kleinere entstehen). Diese „Subtypen“ zeigen eine nahe Verwandtschaft mit den Ursprungstypen (TENOVER et al. 1995).

3.5.3.2 Untersuchung auf *Listeria*

Die Untersuchung auf *Listeria* erfolgte in Anlehnung an § 64 LFGB und nach ISO 11290 (1995).

10 ml der Ausgangs-Suspension im Stomacherbeutel wurden in 90 ml Oxoid-Novol-Enrichment-Broth-*Listeria* (ONE Bouillon-Anreicherung) gegeben und bei 30 °C für 24-48 h bebrütet. Bei Schwarzfärbung der Bouillon nach 24 h wurde auf Oxoid-Chromogen-*Listeria*-Selektivnährboden (OCLA Oxoid®) ausgestrichen und bei 37 °C für 24-48 h bebrütet, andernfalls wurde die Bouillon bis 48 h weiter bebrütet³. Bei Wachstum von blauen Kolonien mit trübem Hof (*L.monocytogenes*) oder ohne Hof (*Listeria* spp.) wurde auf Standard-I-Nähragar (Merck®) und 5 %igem Columbia Blut Agar subkultiviert (Anhang).

³ QS: Für alle Arbeitsschritte wurde als Positivkontrolle *Listeria monocytogenes* (DSM 20600^T) und als Negativkontrolle *Enterococcus faecalis* (DSM 2570) mitgeführt.

Reaktionen zur Bestätigung des Genus

Die folgenden biochemischen Untersuchungen wurden durchgeführt (ISO 11290, 1995):

- **Mikroskopie**

In der Gram-Färbung sind Listerien grampositive dünne kurze Stäbchen von etwa 0,4 µm bis 0,5 µm Durchmesser und 1 µm bis 2 µm Länge.

- **Katalase und Oxidase:** Vergleiche die Reaktionen unter *Campylobacter* (3.6.3.1.1).

- **Voges-Proskauer-Reaktion und Methylrot-Test (VPR/MR)**

Bei der VPR und dem MR-Test handelt es sich um das selbe Nährmedium, aber um einem getrennten Ansatz. In je ein VPR/MR-Röhrchen wurde eine gerade sichtbare homogene Bakteriensuspension aus Kolonien der Reinkulturplatte (Columbia-Blutagar oder Standard-I-Agar) hergestellt, nach Schütteln erfolgte eine Bebrütung bei 37 °C für 24-48 h. Für die VP-Reaktion wurden 3 ml Barrit- Reagenz (Alpha Naphtol- Lösung) hinzugegeben und gut gemischt, dann wurde 1ml 40 %iger Kalilauge hinzugegeben und gevortext. Für die MR-Reaktion wurden 5 Tropfen Methylrot-Indikator Lösung hinzugegeben.

Die Ergebnisse der VP- und MR-Reaktion zeigten sich in einen Farbumschlag (bei einem negativen Ergebnis Gelbfärbung, ein positives Ergebnis zeigte eine Rotfärbung an (Tab.3.10).

- **Urease-Tätigkeit**

Mit einer Stichöse wurde Urease-Nährmedium mit der ausgewählten Kolonien von Columbia- Blutagar oder Standard-I-Agar beimpft. Die Agarschrägfläche wurde in Form von Längsausstrichen und der Hochschichtagar in Form einer Stichkultur beimpft. Bebrütet wurden bei 37 °C für 2-5 Tage. Farbumschlag nach rosa bis pink stand für ein positives Ergebnis, Farbumschlag nach gelb stand für ein negatives Ergebnis (Tab. 3. 10).

- **H₂S-Bildung (Kligler)**

Zur Prüfung auf das H₂S-Bildungsvermögen wurde das Kligler -Medium verwendet, wie bei der TSI-Reaktion für *Campylobacter* angegeben (3.6.3.1.1). Die Inkubation erfolgte bei 37 °C für 24 h bei aerobem Wachstum, eine positive Reaktion zeigte sich durch Schwarzfärbung.

Eigene Untersuchungen

- **Oxidations/Fermentations-Test (O/F)**

Mit einem Impfdraht wurde die ausgewählte Kolonie von Columbia-Blutagar in je 2 Röhrcen (Hochschichtagar) als StICKkultur beimpft, ein Röhrcen mit sterilem Paraffin für die fermentative Reaktion abgedeckt und bei 37 °C für 2-4 Tage bebrütet. Ein positives Ergebnis wurde durch Gelbfärbung angezeigt, bei „negativ“ erfolgte kein Farbumschlag (Tab.3.10).

- **Beweglichkeit bei 25 °C**

Die Kultur wurde mit einem Impfdraht in ein Beweglichkeit-Agar-Röhrcen 0,5-1,0 cm tief beimpft und bei 25 °C für 2-5 Tage bebrütet. Beweglichkeit zeigte sich durch Trübungswachstum um die beimpfte Zone, die die Form eines „Schirms“ annehmen kann.

- **Indolbildung**

Ein Indol-Röhrcen wurde mittels einer Impföse mit einer Kolonie beimpft, die Bebrütung erfolgte bei 37 °C für 2-5 Tage, überschichtet wurde mit 0,5 ml Kovács- Reagenz: positive Indolreaktion zeigte sich als Rotfärbung, bei einem Indol-negativen Ergebnis ergab sich keine Verfärbung.

- **Äskulin-Abbau**

Ein Röhrcen mit Äskulin wurde mittels Impföse mit einer isolierten Kolonie beimpft und bei 37 °C für 2-5 Tage bebrütet. Danach wurde einige Tropfen einer 10 %igen Eisen-III Citrat-Lösung zugegeben. Äskulin- Abbau zeigte sich als Schwarzfärbung, bei einem negativen Ergebnis zeigte sich kein Farbumschlag.

- **Nitrat Test**

Ein Röhrcen mit Nitrat-Bouillon wurde mittels Impföse mit einer isolierten Kolonie beimpft, gevortext und bei 37°C 48 h bebrütet. Danach wurde einige Tropfen einer Griess-Ilosvays Lösung zugegeben. Bei einem positiven Ergebnis zeigte sich sofort eine Pink-Farbe. Wenn es keinen Farbumschlag gab, wurde in einem weiteren Schritt Zinkstaub hinzugegeben. Bei einem positiven Ergebnis zeigte sich kein Farbumschlag, bei einem negativen Ergebnis zeigte sich eine Pink-Färbung.

Eigene Untersuchungen

Tabelle 3. 10: Biochemische Bestätigung des Genus *Listeria*

Reaktionen	<i>Listeria</i> Merkmale
Mikroskopie	grampositive kleine gerade Stäbchen
Beweglichkeit (25 °C)	+
Oxidase	-
Katalase	+
VPR/MR	(+) +
Urease	-
O/F (Glukose)	+ / +
Äskulin	+
Indol	-
H ₂ S (Kligler)	-
Nitrat-Test	-

- **CAMP- Test**

Auf Blut Agar Base Nr.2 mit 5 % Schafblut wurden mit je einem dünnen geraden Impfstrich Kulturen von *Staphylococcus aureus* DSM 12463 und *Rhodococcus equi* DSM 43349 an der rechten bzw. linken Seite als vertikale Linien ausgestrichen. Kontrollkulturen von *Listeria monocytogenes* DSM 19094 und *Listeria ivanovii* wurden in 2 bis 3 mm Abstand im rechten Winkel dazu ausgestrichen. Die Teststämme wurden in gleicher Weise im rechten Winkel zu diesen Kulturen so ausgestrichen, dass sich die Teststämme und diese Kulturen nicht berührten, sondern dort, wo sie sich am nächsten kamen, etwa 2 bis 3 mm voneinander entfernt waren (ausgestrichen parallel zu den Kontrollkulturen). Der Agar wurde für 24 h bei 37 °C bebrütet.

Die Auswertung erfolgte nach folgendem Muster:

1. *L.monocytogenes*: Kleine abgerundete Zone mit verstärkter Hämolyse mit S.aureus und negativ mit R.equi
2. *L.ivanovii*: Negativ mit S.aureus, aber vollständige Hämolyse mit R.equi (Abb. 3. 5).

Eigene Untersuchungen

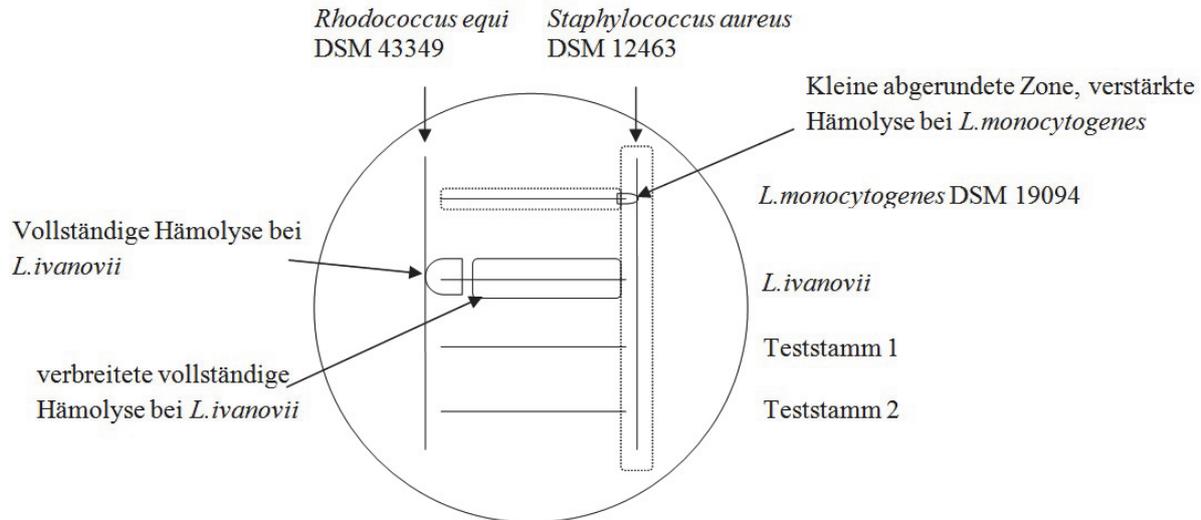


Abbildung 3. 5: CAMP- Test: Durchführung und Auswertung

Tabelle 3. 11: Biochemische Differenzierung von *Listeria*

Merkmale	<i>L.monocytogenes</i>	<i>L.innocua</i>	<i>L.grayi</i>	<i>L.ivanovii</i>	<i>L.denitrificans</i>
vollständige Hämolyse	+	-	-	+	-
Nitrat	-	-	-	-	+
Rhamnose	+	D	-	-	-
D-Xylose	-	-	-	+	+
Arabinose	-	-	-	-	+
Manitol	-	-	+	-	-
VPR	+	+	+	+	-
CAMP -Test	<i>S.aureus</i>	+	-	-	-
	<i>R.equi</i>	-	-	-	+

D: unterschiedliche Reaktion

Anmerkung: Es existieren seltene Stämme von *L.monocytogenes*, die keine Hämolyse oder eine positive Reaktion im CAMP-Test unter den Bedingungen zeigen, wie sie in ISO 11290-2 (1995) beschrieben werden.

3.5.3.3 Untersuchung auf *Escherichia coli*

3.5.3.3.1 Konventionelle Untersuchung

Der Nachweis von *E.coli* erfolgte nach DIN ISO 16654. 1 ml des Inhaltes eines Stomacherbeutel wurde in 10 ml Brila- Bouillon (Brilliantgrün mit 2 % Galle) gegeben und gevortext. Anschließend wurde bei 44 °C für 48 h bebrütet und danach mit steriler Impföse auf *E.coli* Direkt Agar (ECDC-Agar) ausgestrichen und bei 44 °C für 24 h bebrütet. Mittels

Eigene Untersuchungen

Fluoreszenz im UV- Licht (366 nm) und eines positiven Indoltests (Rotfärbung) mittels Kovac's-Reagenz kann unter den entstandenen Kolonien *E.coli* gefunden werden⁴. Falls keine Fluoreszenz im UV-Licht nachgewiesen wurde, wurden die Platten bei Zimmertemperatur bis zum nächsten Tag (48 h) belassen und nochmals auf Fluoreszenz geprüft (Anhang 9.3.3).

3.5.3.3.2 Molekularbiologische Untersuchung mittels Polymerase Chain Reaction (PCR)

Zur Bestätigung wurde das PCR- Verfahren nach OSEK et al. (2000) durchgeführt. Die Gewinnung des DNA- Extraktes der Isolate erfolgte auf dieselbe Weise wie die Gewinnung des DNA- Extraktes der *Campylobacter*- Isolate.

Eingesetzt wurden die Primer EC1 und EC2 (Tab. 3. 12).

Tabelle 3. 12: Primer zur Identifizierung von *E.coli* mittels PCR

Target Gene	Primer	Sequenz (5'-- > 3')	Produkte-Größe (bp)	Quelle
<i>uspA</i>	EC1	CCGATACGCTGCCAATCAGT	884	Osek et al. (2000)
	EC2	ACGCAGACCGTAAGGGCCAGAT		

Konzentrationen und Volumina der Reagenzien für den Reaktionsansatz sind in Tab. 3. 13 angegeben.

Tabelle 3. 13: Komponenten des Mastermix für die PCR-basierte Identifizierung von *E.coli*

Komponenten	Konzentration	Volumen [μ l]
Aqua bidest	Auf 25 μ l	18,9
Deoxynucleosidtriphosphat	200 μ M	0,5
10 \times Puffer (500 mM Tris-HCl, 100 mM KCl, 50 mM (NH ₄) ₂ SO ₄ und 20 mM MgCl ₂)	1x	2,5 μ l
Primer EC1	1 μ M	0,25
Primer EC2	1 μ M	0,25
FastStart [®] Taq DNA Polymerase (Roche Diagnostics, GmbH, Mannheim)	0,25 unit	0,1
Template		2,5

⁴ QS: Als Positivkontrolle wurden *E.coli* ATCC 25922 und als Negativkontrolle *Staphylococcus aureus* DSM 799 mitgeführt. Die isolierten Kolonien wurden auf Schrägagar (Standard-II-Nähragar) überimpft, bei 37 °C für 24 h bebrütet und im Kühlschrank bei 4-6 °C aufbewahrt.

Eigene Untersuchungen

Die Amplifikation erfolgte im Thermocycler (Biometra Trio-Thermoblock, Fa. Biotron, Göttingen) nach folgendem Temperatur-Zeit-Programm:

- Initial-Denaturierung: + 94 °C für 5 min
- 35 Zyklen bestehend aus: Denaturierungs- Phase bei + 94 °C für 60 s
Annealing- Phase bei + 56 °C für 60 s
Extentions- Phase bei + 72 °C für 60 s
- letzte Extentions- Phase: + 72 °C für 5 min
- Kühlung: + 6 °C

Gelelektrophoretische Auftrennung

Zur Herstellung des Agarosegels (2 %) wurden 2,0 g Agarose eingewogen und in 100 ml 1x TBE- Puffer gelöst. Zur Ermittlung der Bandengröße der Amplifikate wurden 5 µl der DNA-Marker pBR328 (Roth[®]) mit 884 bp verwendet, die Amplifikate wurden in die Geltaschen des Agarosegels pipettiert. In der Elektrophorese- Kammer wurde für 60 min. ein elektrisches Gleichstromfeld mit 150 Volt Spannung angelegt.

Die Darstellung der Amplifikationsprodukte erfolgte durch Färbung mit 0.005 % w/v Ethidium-Bromid für 20 min. und durch eine 15-minütige Entfärbung in Aqua dest. Die aufgetrennten DNA- Banden wurden mittels ultravioletten Lichts sichtbar gemacht, danach erfolgte die Dokumentation der aufgetrennten DNA-Banden mit Hilfe des Photo-Auswertungssystems DIAS-II (Serva[®]).

3.5.3.4 Untersuchung auf *Yersinia enterocolitica*

Zum Nachweis von *Yersinia* wurde nach ISO/DIN 10273 (2003) vorgegangen, 10 ml Suspension wurden in 90 ml Oßmer-Bouillon und 5 ml in 95 ml „Pepton Sorbitol and Bile Salts“ (PSB-Bouillon) gegeben. Die Oßmer- Bouillon wurde bei 25 °C für 48 h, die PSB bei 25 °C für 3-5 Tage bebrütet. Die Oßmer- Bouillon wurde auf Cefsulodin Irgasan Novobiocin (CIN-Agar) ausgestrichen, während 0,5 ml der PSB- Bouillon für 20 s in 4,5 ml KOH (alkalische Behandlung) gegeben und danach auf CIN-Agar ausgestrichen wurden. Die Bebrütung erfolgte bei 30 °C für 24-48 h. Es wurde auch direkt von PSB-Bouillon auf CIN-Platten ausgestrichen und bei 30 °C für 24-48 h bebrütet. Charakterische Kolonien (transparente, leicht erhabene Kolonien ≤ 1 mm mit rosa bis rotem Zentrum: „Kuhaugen“)

Eigene Untersuchungen

wurden auf Standard-I-Agar (Merck®) zur weiteren Charakterisierung ausgestrichen und bei 30 °C für 24 h bebrütet⁵ (Anhang 9.3.4).

Bestätigung des Genus *Yersinia*

Zur Genus-Bestätigung wurden folgende Reaktionen durchgeführt:

- **Mikroskopie**

In der Gram-Färbung erscheint *Yersinia* spp. als gramnegatives Stäbchen, am Ende oft mit Körnchen.

- **Oxidase**

Die Reaktion erfolgte so, wie bereits für *Campylobacter* beschrieben wurde.

- **Hydrogensulfidbildung (H₂S)**

Zur Untersuchung der H₂S- Bildung wurde das Kligler-Medium verwendet. Auch diese Reaktion erfolgte so, wie bereits für *Campylobacter* beschrieben. Die Bebrütung erfolgte bei 30 °C für 24 h.

- **Lysin-und Ornithin- Decarboxylase**

Die Beimpfung erfolgte knapp unterhalb der Oberfläche des Flüssigmediums, bebrütet wurde bei 30 °C für 24 h. Eine violette Färbung zeigte eine positive Reaktion, Gelbfärbung zeigte eine negative Reaktion an (Tab. 3. 14).

Tabelle 3. 14: Biochemische Identifizierung von *Yersinia* auf Genus-Ebene

Test	Reaktion
Hydrogensulfid	-
Oxidase	-
Lysindecaboxylase	-
Ornithindecaboxylase	+

⁵ QS: Als Positivkontrolle wurden *Yersinia enterocolitica* DSM 4780 und als Negativkontrolle *E.coli* ATCC 25922 mitgeführt.

Identifizierung des Spezies *Yersinia enterocolitica*

- **Harnstoffabbau (Ureasenachweis)**

Von Standard-I-Agar wurden gewachsene Kolonien mittels Impföse in das flüssige 0,5 ml-Harnstoff-Tryptophan-Medium unterhalb der Oberfläche beimpft, gevortext und für 24 h bei 30 °C bebrütet. Eine rosaviolette Färbung zeigte eine positive Ureasereaktion an, eine orangegelbe Färbung wurde als negativ gewertet (Tabelle 3.16).

- **Tryptophandesaminase**

Zum Nachweis der Tryptophandesaminase wurde die Boullion zur Prüfung der Ureasefähigkeit verwendet. Die ausgewählten Kolonien wurden mittels Impföse unterhalb der Oberfläche des flüssigen 0,5 ml-Tryptophandesaminase-Mediums beimpft, gut gemischt und für 24 h bei 30 °C bebrütet. Nach der Bebrütung wurden drei Tropfen von 7,5 %igem Eisen-III-Chlorid hinzugegeben. Braunfärbung zeigte eine positive Reaktion an (Tabelle 3.16).

- **Kligler-Medium**

Mit einem Impfdraht wurde Kligler-Agar mit der zu prüfenden Kolonie von Standard-I-Agar beimpft. Die Agarschrägfläche wurde in Form eines Längsausstriches und der Hochschichtagar als Stichkultur beimpft. Bebrütet wurde 24-48 h bei 30 °C. Die Auswertung ist in Tab. 3. 15 dargestellt.

Tabelle 3. 15: Auswertung des Kligler-Agar

<u>Hochschichtagar</u> Gelb	Glukose-positiv (Glukoseverwertung)
Rot oder unverändert	Glukose-negativ (keine Glukoseverwertung)
Schwarz	Hydrogensulfidbildung (H ₂ S)
Blasen oder Spalten	Gasbildung aus Glukose
<u>Schräge Oberfläche</u> Gelb	Laktose-positiv (Laktoseabbau)
Rot oder unverändert	Laktose-negativ (kein Laktoseabbau)

- **Kohlenhydrat-Vergärung**

Als Substrat für die Prüfung der Kohlenhydratfermentation wurden Saccharose, Rhamnose und Trehalose eingesetzt. Die ausgewählten Kolonien wurden mittels Impföse unterhalb der Oberfläche des Flüssigmediums beimpft, gut gemischt und für 24 h bei 30 °C bebrütet. Eine gelbe Färbung zeigte eine positive Reaktion an, Rotfärbung eine negative Reaktion.

Eigene Untersuchungen

- **Citrat-Verwertung**

Mit einem Impfdraht wurde der Citrat-Agar mit einer Kolonie vom Nähragar beimpft. Die Agarschrägfläche wurde in Form von Längsausstrichen und der Hochschichtagar als Stichkultur beimpft. Es wurde 24-48 h bei 30 °C bebrütet.

Bei Farbumschlag des Mediums nach blau wurde die Reaktion als positiv, bei ausbleibendem Farbumschlag als negativ gewertet (Tab. 3. 16).

- **Tween-Esterase-Test**

Die ausgewählten Kolonien wurden auf dem Tween-Esterase-Agar (TWE) ausgestrichen. Bei einer positiven Reaktion wurde ein milchig trüber Hof um den Impfstrich sichtbar (Mikrokristalle von Calciumoleat). Die Bebrütung erfolgte bei 30 °C für 24-48 h.

Untersuchung auf Pathogenität der *Yersinia enterocolitica*-Isolate

- **Äskulinabbau**

Mit einem Impfdraht wurde Äskulin-Agar mit der Kolonie vom Standard-I-Agar beimpft. Die Agarschrägfläche wurde in Form von Längsausstrichen und der Hochschichtagar als Stichkultur beimpft. Es wurde 24-48 h bei 30 °C bebrütet. Bei Farbumschlag des Mediums ins Schwarz um den Ausstrich wurde die Reaktion als positiv gewertet, ausbleibender Farbumschlag stand für negativ (Tab. 3. 16).

- **Pyrazinamidase-Test**

Eine große Schrägfläche des Mediums wurde beimpft; die Bebrütung erfolgte bei 30 °C für 48 h. Nach Bebrütung wurde 1ml einer 1 %igen Eisen-(II)-Ammoniumferrosulfat-Lösung (AFS) hinzugegeben. Das Auftreten einer blassrosa-braunen Färbung zeigte eine positive Reaktion an (Tab. 3. 16).

- **Calciumabhängigkeit bei 37 °C**

Mit einem kleinen Teil einer Kolonie vom Standard-I-Agar (Merck®) wurde eine Bakteriensuspension von 10^3 pro ml in Kochsalzlösung (NaCl 0,85 %) hergestellt. 0,1 ml der Bakteriensuspension wurde auf 2 Trypto-Casein-Soja-Agar Platten als Vergleichsplatten und noch auf 2 Platten von Trypto-Casein-Soya-Agar mit Magnesium und Oxalat ausgespatelt. Je eine Platte wurde bei 25 °C und die andere bei 37 °C für 48 h bebrütet.

Eigene Untersuchungen

Unterschieden wurden 2 Möglichkeiten: die Kolonien waren bei 25 °C einheitlich groß bzw. bei 37 °C in Anwesenheit von Magnesium und Oxalat war eine Hemmung der Kulturen zu beobachten: Eine Kultur spaltete sich dann in kleine Kolonien von etwa 0,1 mm Durchmesser und große Kolonien von 0,5 mm bis 1 mm Durchmesser auf (wobei die kleinen Kolonien > 20 % der Gesamtzahl ausmachen).

Die im Wachstum gehemmten Kolonien waren calciumabhängig und wurden als suspekt auf Pathogenität angesehen.

Tabelle 3. 16: Biochemische Identifizierung von *Yersinia enterocolitica*

Test	Reaktion	
<i>Y. enterocolitica</i> -Bestätigung	Harnstoff	-
	Tryptophandesaminase	-
	Glucose	+
	Lactose	-
	Gasbildung aus Glukose	-
	Saccharose	+
	Rhamnose	-
	Trehalose	-
	Citrat	-
	Tween-Esterase-Test	+
<i>Y. enterocolitica</i> -Bestätigung der Pathogenität	Äskulinabbau	-
	Pyrazinamidase	-
	Calciumabhängigkeit	+

(Quelle: ISO 10273: 2003)

3.5.3.5 Untersuchung auf Salmonellen

Die Untersuchung wurde in Anlehnung an die amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren (§ 64 LFGB) durchgeführt. Zum *Salmonella*- Nachweis wurde jede Probe in Stomacherbeutel mit gepuffertem Peptonwasser (BPW) gegeben, gestomachert und bei 37 °C für 18-20 h bebrütet [ISO 6579: 2002]. Aus dieser bebrüteten Voranreicherung erfolgte am nächsten Tag die Überimpfung von 1ml in 10 ml Muller-Kauffmann-Tetrathionat-Novobiocin (MKTTN) nach Zugabe von 20 ml/Liter Jod-Kaliumjodid-Lösung, die nach Durchmischung für 24 h bei 37 °C bebrütet wurde. Außerdem wurde 0,1 ml aus der Stomachertüte in 10ml Rappaport and Vassiliadis-Bouillon (RVS) übertragen, die ebenfalls nach der Durchmischung bei 42 °C für 24 h bebrütet wurden. Danach wurde aus jeder der beiden Anreicherungen mit einer sterilen Impföse Material entnommen und jeweils auf die selektiven Nährböden Rambach und Brillantgrün-Phenolrot-Lactose-Saccharose-Agar (BPLS)

Eigene Untersuchungen

ausgestrichen. Nun wurden beide Anreicherungen (MKTTN- und RV) weitere 24 h bei 37 °C bzw. 42 °C bebrütet und anschließend erneut auf Rambach- und BPLS- Agar ausgestrichen. Auch die beimpften Agar-Platten wurden für 24 h bei 37 °C bebrütet. Bei Vorliegen verdächtiger Kolonien (Rambach-Agar: rot; BPLS-Agar: rot mit leuchtend rotem Hof) wurde eine verdächtige Kolonie auf Standar-I-Agar-Platten (Merck®) subkultiviert und bei 37 °C für 24 h bebrütet⁶ (Anhang 9.3.5).

Bestätigung von *Salmonella*

Die Bestätigung von Salmonellen erfolgte serologisch durch Agglutinationstest mit polyvalentem Serum I und II (vorläufig).

- **Agglutinationstest**

Zur Identifizierung von *Salmonella* und der Serovare der Isolate mit Antiserum (Sifin®) wurde das Kauffmann-White-Schema verwendet. Die verdächtigen Kolonien von beiden selektiven Nährmedien wurden auf Standard-I-Agar (Merck®) subkultiviert und bei 37 °C für 24 h bebrütet. Für die serologische Untersuchung sind Nährmedien (Standard-I-Agar Merck®) wichtig, weil die selektiven Medien die Antigenstruktur der Isolate beeinflussen können.

Etwas Bakterienmasse wurde auf einem Objektträger in einem Tropfen physiologischer Kochsalzlösung (zur Kontrolle auf Selbstagglutination) verrieben. Danach wurden mit polyvalenten *Salmonella*- Testseren (polyspezifisches Testreagens Anti-*Salmonella* I (A-E), polyspezifisches Testreagens „Anti-*Salmonella* II“ (Sifin®)) Bakterienmasse zu einer Suspension verrieben und der Objektträger über einer dunklen Unterlage bewegt.

Positiv: Sichtbare Agglutination nach 1 bis 20 Schwenkungen. Bei stark positiver Reaktion tritt eine Agglutination (grob- oder feinflockig) bereits beim Einreiben der Bakterienmasse auf, bei schwach positivem Ergebnis erst nach 10 bis 20 Schwenkungen.

Negativ: Eine milchig-trüb bleibende Suspension oder eine nach mehr als 20 Schwenkungen auftretende Reaktion gilt als negativ. Im Anschluss an alle Isolierungsarbeiten war eine vollständige serologische Identifizierung nach dem Kauffman-White-Schema vorgesehen.

⁶ QS: Als Positivkontrolle wurden *Salmonella typhimurium* DSM 5569 und als Negativkontrolle *E.coli* ATCC 25922 verwendet.

3.5.3.6 Kältekonservierung der Isolate

Alle aus dem Probenmaterial isolierten und identifizierten Stämme wurden im Anschluss an die Untersuchungen aufbewahrt. Hierfür wurde eine Öse Koloniematerial von isolierten *Campylobacter*- Stämme in ein Kryoröhrchen (Cryobank™) eingimpft, *Listeria* und *E.coli* wurden in Glycerolröhrchen suspendiert. Kryoröhrchen und Glycerolröhrchen wurden vorsichtig geschüttelt und bei -30°C gelagert.

3.5.3.7 Statistische Auswertung

Die Schlachttierkörper- und Umgebungsproben wurden in eine Excel-Datei übertragen, die Ergebnisse der Laboruntersuchungen der Tierkörperstellen (Stanzproben) wurden mit dem Statistik-Programm PASW Version 20 für Windows (SPSS) statistisch ausgewertet. Für die statistische Auswertung wurden die Gesamtkeimzahl- und Enterobacteriaceae- Werte mit Ausnahme der Lieferantenummer, der Labornummer, der Tierkörpernummer und dem Beprobungstag Variablen mit einem nominalen Skalenniveau⁷ verwendet. Für die einzelnen Variablen wurden die Mittelwerte und Standardabweichungen bestimmt. Mit Hilfe des t-Tests, der einfaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA (Analysis of variance)) und der zweifaktoriellen Varianzanalyse wurden univariate⁸ Analysen zur Information über mögliche Unterschiede, Vergleiche und Abhängigkeiten zwischen Tierkörperstellen untereinander und dann mit den Positionen erstellt. Dabei wurde das Signifikanzniveau bei 5% festgesetzt, als Nullhypothese galt die Annahme, dass kein Zusammenhang zwischen den Variablen besteht. P-Werte < 0,05 galten als signifikante Ergebnisse (es besteht ein Zusammenhang zwischen den Variablen).

t-Test

Dieses Verfahren wird anhand von Stichprobenergebnissen durchgeführt, um die beobachteten arithmetischen Mittelwerte zweier Gruppen miteinander (hier z.B. Tierkörperstelle Hals und Brust) zu vergleichen und zu entscheiden, ob ein Unterschied zwischen den beiden Gruppen zufällig zu erklären oder als signifikant einzustufen ist.

Der Levene-Test untersucht, ob die Varianz⁹ der Testvariablen in den beiden Fallgruppen

⁷ Das nominale Skalenniveau ist das „unterste“ in der Typologie, da keine Voraussetzungen über Beziehungen zwischen den Werten erforderlich sind. Jeder Wert definiert eine einzelne Kategorie und dient als Label oder Name der Kategorie.

⁸ eine Analyse, die nur eine Variable berücksichtigt, wird als univariat bezeichnet

⁹ Varianz/Standardabweichung: Varianz und Standardabweichung ermitteln die (quadrierten) Abweichung jedes Einzelwertes vom Mittelwert.

Eigene Untersuchungen

gleich groß ist. Hintergrund: Es gibt zwei Varianten des t-Tests bei unabhängigen Stichproben. Die eine liefert korrekte Ergebnisse, wenn die Varianz der Testvariablen in den beiden Fallgruppen gleich groß ist. Die andere Variante ist dagegen richtig, wenn die Varianz der Testvariablen in den beiden Fallgruppen unterschiedlich ist. Der Levene-Test untersucht, ob die Varianz der Testvariablen in beiden Fallgruppen gleich ist (BROSIOUS 2008).

In welchem Bereich der Mittelwert in der Grundgesamtheit wahrscheinlich liegt, ergibt sich indirekt aus dem 95 % Konfidenzintervall der Differenz, hier werden untere und obere Wert angegeben.

Einfaktorielle Varianzanalyse (ANOVA)

Die einfaktorielle Varianzanalyse (ANOVA= Analysis of variance) wird für eine abhängige Variable als Methode zum Vergleichen von drei und mehr Gruppenmittelwerten eingesetzt. Mit einer einfaktoriellen ANOVA wird die Aussage getätigt, ob zwischen den einzelnen Positionen ein Unterschied besteht (hier z.B. Tierkörperstelle Hals, Brust, Bauch und Vorderbein (nur Position 1) / Keule (Position 2-4)).

Geprüft werden der F-Wert¹⁰ und die Wahrscheinlichkeit dieses F-Werts unter der Nullhypothese (Signifikanz). Das Signifikanzniveau für den Test auf Unterschiedlichkeit der Gruppen lag wie in den meisten Fällen bei $\alpha = 0,05$.

Die Nullhypothese wurde abgelehnt, wenn $p < 0,001$ ist (dieser Wert ist kleiner als ein Signifikanzniveau von $\alpha < 0,05$), d.h. es liegt mindestens ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen vor.

Allerdings testet die einfaktorielle Varianzanalyse den Unterschied zwischen allen Gruppen simultan. Ein signifikantes Ergebnis einer einfaktoriellen Varianzanalyse erlaubt nur die allgemeine Aussage, dass zwischen den untersuchten Gruppen ein irgendwie gearteter Unterschied vorliegt (RASCH et al. 2010).

Bei der Varianzanalyse wird die gesamte Streuung der Stichprobe in die Streuung innerhalb der Gruppen (Quadratsumme innerhalb der Gruppen = QSI) und die Streuung zwischen den Gruppen (Quadratsumme zwischen den Gruppen = QSZ) zerlegt. Die Streuung innerhalb der Gruppen gibt an, wie sehr die einzelnen Werte in den Gruppen um den jeweiligen Gruppenmittelwert streuen. Die Streuung zwischen den Gruppen mißt die Streuung der

¹⁰ Als Prüfwert wird der F-Wert berechnet. Als F-Test wird eine Gruppe von Tests bezeichnet, bei denen die Teststatistik unter der Nullhypothese einer F-Verteilung folgt. Ein F-Wert wird berechnet, indem die Treatmentvarianz (Varianz zwischen Gruppen) durch die Fehlervarianz (Varianz innerhalb der Gruppen) geteilt wird.

Eigene Untersuchungen

Gruppenmittelwerte um den Mittelwert der gesamten Stichprobe.

Wichtig für die Auswertung sind hier der F-Wert und die Angabe der Wahrscheinlichkeit dieses F-Werts unter der Nullhypothese (Spalte „Signifikanz“) (BROSIUS 2008).

Zweifaktorielle Varianzanalyse

Es handelt sich um eine Methode, bei der zwei Faktoren miteinander verglichen werden. Hier sollte ermittelt werden, ob es einen signifikanten Unterschied zwischen den Faktoren Position 1, 2, 3 und 4 gibt. Daneben sollte zusätzlich der Einfluss des Faktors „Tierkörperstelle“ untersucht werden.

Zusätzlich gibt diese Analyse eine Aussage über eine mögliche Wechselwirkung zwischen den beiden Faktoren (Position und Tierkörperstelle).

4 Ergebnisse

Die Proben wurden in Abhängigkeit von Ausfahrt, Position im Prozessablauf und Probenahmestelle am Tierkörper analysiert, in dieser Reihenfolge sind die Ergebnisse angeordnet.

4.1 Quantitative Werte

Zunächst wird eine Beschreibung der errechneten Werte vorgenommen (z. B. Tab. 4.1), danach wird eine Signifikanz- und Varianzanalyse durchgeführt (z. B. Tab. 4.3).

Die folgende Grafik stellt zur besseren Übersicht das gesamte Datengefüge dar (Abb.4.1). Alle geschlachteten Tiere wurden an 5 Tierkörperstellen an jeweils 4 technischen Positionen beprobt, dies an 14 Probenahmeausfahrten.

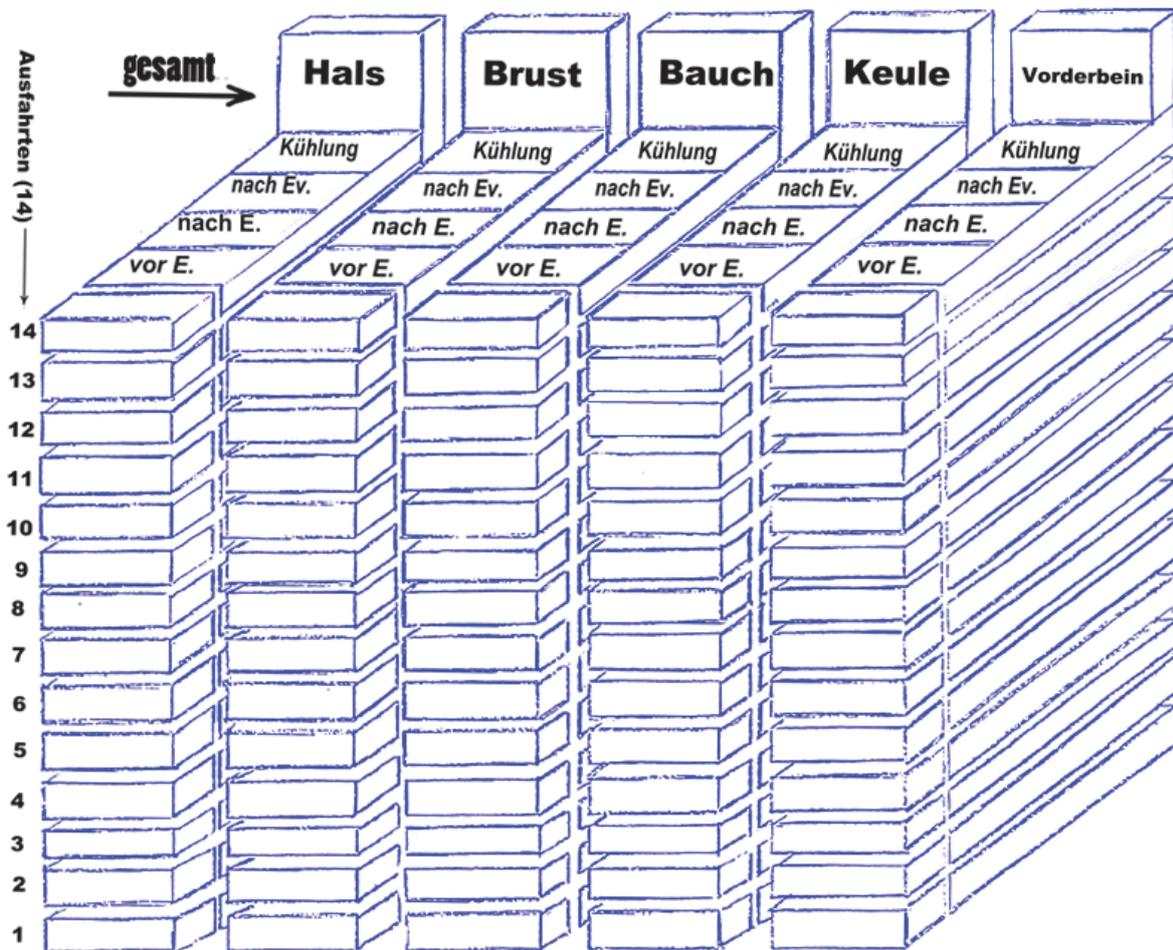


Abbildung 4. 1: Datengefüge insgesamt: Übersicht

Ausfahrten (14)
 Tierkörperstellen (5)
 technische Positionen (4)
 vor E: vor der Enthäutung, nach E: nach der Enthäutung, nach Ev: nach der Eviszeration

} gesamt: Alle Tierkörperstellen ohne technische Positionen

4.1.1 Aerobe Gesamtkeimzahl (GKZ)

4.1.1.1 Ausfahrten- und Probenahmestelle am Tierkörper

Hier sind die fünf Probenahmestellen am Tierkörper ohne Berücksichtigung der Prozessposition in Abhängigkeit von der Ausfahrt dargestellt (die hinteren Säule in Abb.4.1).

Berechnet wurden die Mittelwerte der GKZ (\bar{x}) und die Standardabweichung (s) im Durchschnitt der Probenanzahl (n = 8 bzw. 4) je Ausfahrt (Tab. 4. 1).

Im einzelnen reichen die Werte der GKZ (\bar{x}) von 1,70 log KbE / cm² (Vorderextremität) bis zu 4,84 KbE / cm² an der Brust. Der höchste Durchschnittswert fand sich bei Ausfahrt 6 (\bar{x} = 4,47 KbE / cm²) und der niedrigste bei Ausfahrt 14 (\bar{x} = 3,08 KbE / cm²).

Der Durchschnitt (\bar{x}) lag zwischen log 3-4 am Hals, Brust und am Bauch, an der Keule zwischen log 2-4, während am Vorderbein mehr unterschiedliche Werte auftraten (zwischen log 1-4). Im einzelnen reichen die Werte der Standardabweichung (s) von 0,00 log KbE / cm² bis zu 2,11 KbE / cm² (Vorderextremität).

Tabelle 4. 1: Aerobe Gesamtkeimzahl an den beprobten Tierkörperstellen ohne Berücksichtigung der Prozessposition an allen Ausfahrten (in log KbE/ cm²)

Aus- fahrt	Hals			Brust			Bauch			Keule			Vorderbein			Ø (\bar{x})
	n	\bar{x}	s	n	\bar{x}	s	n	\bar{x}	s	n	\bar{x}	s	n	\bar{x}	s	
1	8	3,84	0,90	8	4,58	0,66	8	4,41	0,67	6	2,94	0,76	2	4,17	0,10	3,99
2	8	3,84	0,90	8	4,58	0,66	8	4,41	0,67	6	2,94	0,76	2	4,17	0,10	3,99
3	8	3,82	0,65	8	4,42	0,48	8	4,55	0,49	6	3,66	0,44	2	3,58	0,67	4,00
4	8	3,92	0,93	8	4,43	0,29	8	4,28	0,43	6	3,82	0,04	2	3,37	1,23	3,96
5	4	4,26	0,59	4	4,42	0,22	4	4,20	0,51	3	3,04	0,53	1	1,83	0,00	3,55
6	8	4,48	1,16	8	4,84	0,80	8	4,67	0,44	6	3,85	0,99	2	4,48	2,11	4,47
7	8	4,09	0,52	8	4,50	0,58	8	4,35	0,54	6	4,24	0,17	2	3,40	1,16	4,12
8	4	3,23	0,54	4	4,14	1,16	4	4,41	1,18	3	2,14	0,47	1	4,30	0,00	3,64
9	4	4,76	0,71	4	3,90	0,66	4	4,52	0,48	3	3,86	0,74	1	4,13	0,00	4,23
10	4	4,32	0,86	4	4,04	0,46	4	4,51	0,74	3	3,21	0,93	1	1,70	0,00	3,55
11	4	3,51	0,48	4	3,97	0,42	4	4,56	0,58	3	2,91	1,18	1	3,20	0,00	3,63
12	4	3,14	0,27	4	4,31	0,46	4	4,05	0,64	3	3,48	0,63	1	2,15	0,00	3,43
13	4	4,00	0,94	4	4,31	0,41	4	3,89	1,13	3	2,36	0,71	1	2,15	0,00	3,34
14	4	3,03	0,82	4	3,42	0,30	4	3,91	0,20	3	2,84	0,55	1	2,18	0,00	3,08
Ø	80	3,87	0,73	80	4,28	0,53	80	4,34	0,62	60	3,24	0,64	20	3,20	0,38	3,79

n: Zahl der Proben, \bar{x} : Durchschnitt der GKZ, s: Standardabweichung

Ø: Durchschnitt der Mittelwerte der Gesamtkeimzahl

Ergebnisse

Im Rahmen der statistischen Auswertung wurde die erste Ausfahrt nicht einbezogen, weil bei dieser Ausfahrt an den Prozesspositionen 3 und 4 die selben Tierkörper beprobt wurden.

Tabelle (4. 2) gibt daher noch einmal die letzten eingesetzten Werte für die Tierkörperstellen wieder. Die erste Tierkörperstelle (Hals) umfasst 72 Proben, die im Durchschnitt bei $\log 3,82 \text{ KbE} / \text{cm}^2$ lag. Die zweite (Brust) hat 72 Proben, die im Durchschnitt bei $\log 4,28 \text{ KbE} / \text{cm}^2$ lag. Ob die Tierkörperstellen ohne Berücksichtigung der Ausfahrte einen Unterschied aufweisen, wurde mit dem t-Test untersucht (Tab. 4. 3).

Tabelle 4. 2: Mittelwert (GKZ) zu den Tierkörperstellen an allen Prozesspositionen

Tierkörperstelle	n	\bar{x}	s	Standardfehler des Mittelwertes
Hals	72	3,82	1,07	0,13
Brust	72	4,28	0,81	0,10
Bauch	72	4,31	0,79	0,09
Vorderbein	18	3,31	1,15	0,27
Keule	54	3,31	0,95	0,13

n: Zahl der Proben, \bar{x} : Durchschnitt der GKZ, s: Standardabweichung

Das Ergebnis des Levene-Tests ist in der Spalte Signifikanz ausgewiesen. Der Signifikanzwert von 0,048 (z. B. zwischen Hals und Brust) besagt, dass die Varianz der Variablen mit einer Wahrscheinlichkeit von 4,80 % an den beiden betrachteten Tierkörperstellen identisch ist.

Der Mittelwert am Hals liegt im Durchschnitt um $0,457 \text{ KbE} / \text{cm}^2$ niedriger als der Mittelwert an der Brust (in der Spalte Mittlere Differenz). Ob Hals und Brust voneinander unterschiedlich sind, zeigen die Signifikanzwerte (in der Tabelle Signifikanz 2-seitig): 0,004 (Tab. 4.3). Der Mittelwert vom Hals ist mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % (Konfidenzintervall der Differenz) zwischen 0,144 und 0,769 niedriger als der Mittelwert der Brust (Tab. 4. 3). Entsprechendes gilt für die anderen Tierkörperstellen.

Ergebnisse

Tabelle 4. 3: Ergebnisse des t-Tests: Tierkörperstellen ohne Berücksichtigung der Prozessposition

GKZ	Levene-Test (Varianzgleichheit)		t-Test (Mittelwertgleichheit)						
			T	df	Signifikanz (2-seitig)	Mittlere Differenz	Standard- fehler der Differenz	95% Konfidenzintervall der Differenz	
	F	Signifikanz						Untere	Obere
Hals und Brust	3,987	0,048	-2,891	142	0,004	-0,457	0,158	-0,769	-0,144
Hals und Bauch	3,486	0,064	-3,145	142	0,002	-0,492	0,157	-0,802	-0,183
Hals und Vorderbein	1,257	0,265	1,765	88	0,081	0,505	0,286	-0,064	1,074
Hals und Keule	0,014	0,906	2,756	124	0,007	0,506	0,184	0,143	0,869
Brust und Bauch	0,050	0,824	-0,266	142	0,791	-0,035	0,133	-0,299	0,228
Brust und Vorderbein	7,697	0,007	4,118	88	0,000	0,962	0,234	0,498	1,426
Brust und Keule	5,351	0,022	6,132	124	0,000	0,963	0,157	0,652	1,274
Bauch und Vorderbein	8,022	0,006	4,347	88	0,000	0,997	0,229	0,541	1,453
Bauch und Keule	4,935	0,028	6,442	124	0,000	0,998	0,155	0,692	1,305
Vorderbein und Keule	1,763	0,189	0,003	70	0,997	0,001	0,273	-0,543	0,545

F: Treatmentvarianz (zwischen Gruppen) / Fehlervarianz (innerhalb der Gruppen)

df: Freiheitsgrad

Mittels t-Test konnte ein signifikanter Unterschied zwischen den Tierkörperstellen Hals und Brust ($p = 0,004$), Hals und Bauch ($p = 0,002$), Hals und Keule ($p = 0,007$) und zwischen Brust und Vorderbein ($p = 0,000$) gefunden werden (dieser Unterschied wurde auch zwischen Brust und Keule, Bauch und Vorderbein und Bauch und Keule gefunden (Tab. 4. 3 und 4.4).

Tab. 4.4 stellt die signifikanten Unterschiede zwischen den Tierkörperstellen zusammen.

Tabelle 4. 4: Signifikante Unterschiede der GKZ zwischen den Tierkörperstellen

Tierkörperstelle	Hals	Brust	Bauch	Vorderbein	Keule
Hals	-	signifikant	signifikant	n. s.	signifikant
Brust	signifikant	-	n. s.	signifikant	signifikant
Bauch	signifikant	n. s.	-	signifikant	signifikant
Vorderbein	n. s.	signifikant	signifikant	-	n. s.
Keule	signifikant	signifikant	signifikant	n. s.	-

signifikant: signifikant unterschiedliche GKZ, n.s.: GKZ nicht signifikant unterschiedlich

4.1.1.2 Prozesspositionen und Tierkörperstelle

Nunmehr wurde für alle 14 Ausfahrten gemeinsam die Gesamtkeimzahl (\bar{x}) für die fünf Probenahmestellen an Tierkörper an den vier beprobten technischen Positionen berechnet:

Prozessposition 1: vor der Enthäutung

Prozessposition 2: nach der Enthäutung

Prozessposition 3 nach der Evisceration

Prozessposition 4: im Kühlraum

Die Werte reichten von 2,78 log KbE / cm² (Keule) bis zu 4,45 KbE / cm² (Bauch). Der höchste Durchschnittswert (\bar{x}) fand sich an Position 4 (\bar{x} = 4,1 KbE / cm² (Tab. 4. 5).

Tabelle 4. 5: GKZ in Abhängigkeit von beprobter Tierkörperstelle und Prozessposition (in log KbE / cm²)

Position	Hals			Brust			Bauch			Vorderbein*			Keule**			Ø (\bar{x})
	n	\bar{x}	s	n	\bar{x}	s	n	\bar{x}	s	n	\bar{x}	s	n	\bar{x}	s	
1	18	3,73	1,30	18	4,26	0,91	18	4,26	0,68	18	3,31	1,15	-	-	-	3,89
2	18	3,96	1,42	18	4,30	1,19	18	4,26	1,18	-	-	-	18	2,78	1,12	3,83
3	18	3,79	0,75	18	4,22	0,41	18	4,27	0,66	-	-	-	18	3,52	0,77	3,95
4	18	3,80	0,69	18	4,33	0,56	18	4,45	0,53	-	-	-	18	3,64	0,70	4,10

* Das Vorderbein wurde an Positionen: 2, 3 und 4 nicht beprobt

** Die Keule wurde an Position 1 nicht beprobt

n: Zahl der Proben, \bar{x} : Durchschnitt der GKZ, s: Standardabweichung, -: Keine Beprobung

Prozessposition 1 (vor der Enthäutung)

An der Prozessposition 1 wurden die höchsten Durchschnittswerte an der Brust und am Bauch (4,26 KbE/cm²) gefunden (Tab. 4. 6).

Tabelle 4. 6: Mittelwert der GKZ für die Tierkörperstelle an Prozessposition 1

Tierkörperstelle	n	\bar{x}	s	Standardfehler des Mittelwertes
Hals	18	3,73	1,30	0,31
Brust	18	4,26	0,91	0,21
Bauch	18	4,26	0,68	0,16
Vorderbein	18	3,31	1,15	0,27

n: Zahl der Proben, \bar{x} : Durchschnitt der GKZ, s: Standardabweichung

Das Ergebnis des Levene-Tests ist in der Spalte Signifikanz der Tabelle 4. 7 ausgewiesen. Der Signifikanzwert von 0,118 (z. B. zwischen Hals und Bauch) besagt, dass die Varianz der

Ergebnisse

Variablen mit einer Wahrscheinlichkeit von 11,8 % an den beiden betrachteten Tierkörperstellen identisch ist (Tab. 4. 7).

Der Mittelwert am Hals liegt im Durchschnitt um 0,538 KbE / cm² niedriger als der Mittelwert am Bauch (in der Spalte Mittlere Differenz). Ob Hals und Bauch voneinander unterschiedlich sind, zeigen die Signifikanzwerte (in der Tabelle Signifikanz 2-seitig): 0,130 (Tab. 4. 7). Der ausgewiesene Signifikanzwert von 0,130 besagt, dass dies mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 13,00 % der Fall ist. Der Mittelwert vom Hals ist mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % zwischen 0,167 und 1,243 niedriger als der Mittelwert vom Bauch (Tab. 4. 7). Entsprechendes gilt für andere Tierkörperstellen.

Tabelle 4. 7: Ergebnisse des t-Tests für Tierkörperstellen an Prozessposition 1

GKZ	Levene-Test (Varianzgleichheit)		t-Test (Mittelwertgleichheit)						
			T	df	Signifikanz (2-seitig)	Mittlere Differenz	Standard- fehler der Differenz	95% Konfidenzintervall der Differenz	
	F	Signifikanz						Untere	Obere
Hals und Brust	0,798	0,378	-1,413	34	0,167	-0,529	0,374	-1,290	0,232
Hals und Bauch	2,568	0,118	-1,551	34	0,130	-0,538	0,347	-1,243	0,167
Hals und Vorderbein	0,030	0,864	1,007	34	0,321	0,413	0,410	-0,420	1,246
Brust und Bauch	0,882	0,354	-0,033	34	0,974	-0,009	0,268	-0,553	0,535
Brust und Vorderbein	1,992	0,167	2,723	34	0,010	0,942	0,346	0,239	1,645
Bauch und Vorderbein	6,497	0,015	3,010	34	0,005	0,951	0,316	0,309	1,592

F: Treatmentvarianz (zwischen Gruppen)/Fehlervarianz (innerhalb der Gruppen)

df: Freiheitsgrad

Mittels t-Tests konnte ein signifikanter Unterschied zwischen den Tierkörperstellen Brust und Vorderbein ($p = 0,010$) und zwischen Bauch und Vorderbein ($p = 0,005$) gezeigt werden. Es wurden keine weiteren signifikanten Ergebnisse zwischen den anderen Tierkörperstellen nachgewiesen (Tab. 4. 7 und 4.8). Tab. 4.8 stellt die signifikanten Unterschiede zwischen den Tierkörperstellen zusammen.

Ergebnisse

Tabelle 4. 8: Signifikante Unterschiede der GKZ zwischen den Tierkörperstellen

Tierkörperstelle	Hals	Brust	Bauch	Vorderbein	Keule
Hals	-	n. s.	n. s.	n. s.	n. s.
Brust	n. s.	-	n. s.	signifikant	n. s.
Bauch	n. s.	n. s.	-	signifikant	n. s.
Vorderbein	n. s.	signifikant	signifikant	-	n. s.
Keule	n. s.	n. s.	n. s.	n. s.	-

signifikant: signifikant unterschiedliche GKZ, n.s.: GKZ nicht signifikant unterschiedlich

Prozessposition 2 (nach der Enthäutung)

An der Position 2 wurde der höchste Durchschnittswert an der Brust (4,30 Kbe / cm²) gefunden (Tab. 4. 9).

Tabelle 4. 9: Mittelwert der GKZ für die Tierkörperstellen an Prozessposition 2

Tierkörperstelle	n	\bar{x}	s	Standardfehler des Mittelwertes
Hals	18	3,96	1,42	0,33
Brust	18	4,30	1,19	0,28
Bauch	18	4,26	1,18	0,28
Keule	18	2,78	1,12	0,26

n: Zahl der Proben, \bar{x} : Durchschnitt der GKZ, s: Standardabweichung

Das Ergebnis des Levene-Tests ist in der Spalte Signifikanz ausgewiesen. Der Signifikanzwert von 0,418 (z. B. zwischen Hals und Keule) besagt, dass die Varianz der Variablen mit einer Wahrscheinlichkeit von 41,8 % an den beiden betrachteten Tierkörperstellen identisch ist (Tab. 4. 10).

Der Mittelwert am Hals liegt im Durchschnitt 1,180 Kbe / cm² höher als der Mittelwert an der Keule (in der Spalte Mittlere Differenz). Ob Hals und Keule voneinander unterschiedlich sind, zeigen die Signifikanzwerte (in der Tabelle Signifikanz 2-seitig): 0,009 (Tab.4.10). Der ausgewiesene Signifikanzwert von 0,009 besagt, dass dies mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 0,9 % der Fall ist (Tab. 4. 10). Der Mittelwert vom Hals ist mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % zwischen 2,047 und 0,313 höher als der Mittelwert der Keule (Tab. 4. 10). Entsprechendes gilt für andere Tierkörperstellen.

Ergebnisse

Tabelle 4. 10: Ergebnisse des t-Tests für Tierkörperstellen an Prozessposition 2

GKZ	Levene-Test (Varianzgleichheit)		t-Test (Mittelwertgleichheit)						
			T	df	Signifikanz (2-seitig)	Mittlere Differenz	Standard- fehler der Differenz	95% Konfidenzinterv all der Differenz	
	F	Signifikanz						Untere	Obere
Hals und Brust	1,466	0,234	-0,795	34	0,432	-0,347	0,437	-1,235	0,541
Hals und Bauch	1,383	0,248	-0,704	34	0,486	-0,306	0,434	-1,188	0,577
Hals und Keule	0,671	0,418	2,767	34	0,009	1,180	0,426	0,313	2,047
Brust und Bauch	0,003	0,955	0,106	34	0,917	0,042	0,395	-0,761	0,844
Brust und Keule	0,297	0,589	3,955	34	0,000	1,527	0,386	0,742	2,312
Bauch und Keule	0,243	0,652	3,877	34	0,000	1,486	0,383	0,707	2,264

F: Treatmentvarianz (zwischen Gruppen)/Fehlervarianz (innerhalb der Gruppen)

df: Freiheitsgrad

Mittels t-Test konnte ein signifikanter Unterschied zwischen den Tierkörperstellen Hals und Keule ($p = 0,009$) ermittelt werden (Tab. 4. 10 und 4. 11).

Tab. 4. 11 stellt die signifikanten Unterschiede zwischen den Tierkörperstellen zusammen.

Tabelle 4. 11: Signifikante Unterschiede der GKZ zwischen den Tierkörperstellen

Tierkörperstelle	Hals	Brust	Bauch	Vorderbein	Keule
Hals	-	n. s.	n. s.	n. s.	signifikant
Brust	n. s.	-	n. s.	n. s.	signifikant
Bauch	n. s.	n. s.	-	n. s.	signifikant
Vorderbein	n. s.	n. s.	n. s.	-	n. s.
Keule	signifikant	signifikant	signifikant	n. s.	-

signifikant: signifikant unterschiedliche GKZ, n.s.: GKZ nicht signifikant unterschiedlich

Prozessposition 3 (nach der Evisceration)

Hier wurde der höchste Durchschnittswert am Bauch ($4,27 \text{ KbE} / \text{cm}^2$) ermittelt (Tab. 4. 12).

Tabelle 4. 12: Mittelwert der GKZ für die Tierkörperstellen an Prozessposition 3

Tierkörperstelle	n	\bar{x}	s	Standardfehler des Mittelwertes
Hals	18	3,79	0,75	0,18
Brust	18	4,22	0,41	0,10
Bauch	18	4,27	0,66	0,16
Keule	18	3,52	0,77	0,18

n: Zahl der Proben, \bar{x} : Durchschnitt der GKZ, s: Standardabweichung

Ergebnisse

Das Ergebnis des Levene-Tests ist in der Spalte Signifikanz ausgewiesen. Der Signifikanzwert von 0,060 (z. B. zwischen Brust und Bauch) besagt, dass die Varianz der Variablen mit einer Wahrscheinlichkeit von 6,0 % an den beiden betrachteten Tierkörperstellen identisch ist (Tab. 4. 13).

Der Mittelwert an der Brust liegt im Durchschnitt um 0,054 KbE / cm² niedriger als der Mittelwert am Bauch (in der Spalte Mittlere Differenz). Ob Hals und Bauch voneinander unterschiedlich sind, zeigen die Signifikanzwerte (in der Tabelle Signifikanz 2-seitig): 0,772 (Tab.4.13). Der ausgewiesene Signifikanzwert von 0,772 besagt, dass dies mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 77,2 % der Fall ist (Tab. 4. 13). Der Mittelwert von der Brust ist mit einer Wahrscheinlichkeit von 95% zwischen 0,321 und 0,428 niedriger als der Mittelwert vom Bauch (Tab. 4. 13). Entsprechendes gilt für andere Tierkörperstellen.

Tabelle 4. 13: Ergebnisse des t-Tests für Tierkörperstellen an Prozessposition 3

GKZ	Levene-Test (Varianzgleichheit)		t-Test (Mittelwertgleichheit)						
			T	df	Signifikanz (2-seitig)	Mittlere Differenz	Standard- fehler der Differenz	95% Konfidenzinterv- all der Differenz	
	F	Signifikanz						Untere	Obere
Hals und Brust	4,512	0,041	-2,145	34	0,039	-0,431	0,201	-0,840	-0,023
Hals und Bauch	0,117	0,734	-2,061	34	0,047	-0,485	0,235	-0,963	-0,007
Hals und Keule	0,440	0,511	1,043	34	0,304	0,264	0,253	-0,250	0,778
Brust und Bauch	3,788	0,060	-0,292	34	0,772	-0,054	0,184	-0,428	0,321
Brust und Keule	11,176	0,002	3,366	34	0,002	0,695	0,206	0,275	1,115
Bauch und Keule	1,242	0,273	3,120	34	0,004	0,749	0,240	0,261	1,237

F: Treatmentvarianz (zwischen Gruppen)/Fehlervarianz (innerhalb der Gruppen)

t : ein statistischer Hypothesentest, df: Freiheitsgrad

Mittels t-Test konnte ein signifikanter Unterschied zwischen den Tierkörperstellen Hals und Brust ($p = 0,039$), Hals und Bauch ($p = 0,047$), Brust und Keule ($p = 0,002$) und zwischen Bauch und Keule ($p = 0,004$) ermittelt werden (Tab. 4. 13 und 4. 14).

Tab. 4. 14 stellt die signifikanten Unterschiede zwischen den Tierkörperstellen zusammen.

Ergebnisse

Tabelle 4. 14: Signifikante Unterschiede der GKZ zwischen den Tierkörperstellen

Tierkörperstelle	Hals	Brust	Bauch	Vorderbein	Keule
Hals	-	signifikant	signifikant	n. s.	n. s.
Brust	signifikant	-	n. s.	n. s.	signifikant
Bauch	signifikant	n. s.	-	n. s.	signifikant
Vorderbein	n. s.	n. s.	n. s.	-	n. s.
Keule		signifikant	signifikant	n. s.	-

signifikant: signifikant unterschiedliche GKZ, n.s.: GKZ nicht signifikant unterschiedlich

Prozessposition 4 (Kühlraum)

Auch hier wurde der höchste Durchschnittswert am Bauch (4,45 KbE / cm²) ermittelt (Tab. 4.15).

Tabelle. 4. 15: Mittelwert der GKZ für die Tierkörperstellen an Prozessposition 4

Tierkörperstelle	n	\bar{x}	s	Standardfehler des Mittelwertes
Hals	18	3,80	0,69	0,16
Brust	18	4,33	0,56	0,13
Bauch	18	4,45	0,53	0,12
Keule	18	3,64	0,70	0,16

n: Zahl der Proben, \bar{x} : Durchschnitt der GKZ, s: Standardabweichung

Das Ergebnis des Levene-Tests ist in der Spalte Signifikanz ausgewiesen. Der Signifikanzwert von 0,655 (z. B. zwischen Bauch und Keule) besagt, dass die Varianz der Variablen mit einer Wahrscheinlichkeit von 65,5 % an den beiden betrachteten Tierkörperstellen identisch ist (Tab. 4. 16).

Der Mittelwert am Bauch liegt im Durchschnitt um 0,807 KbE / cm² höher als der Mittelwert an der Keule (in der Spalte Mittlere Differenz). Ob Bauch und Keule voneinander unterschiedlich sind, zeigen die Signifikanzwerte (in der Tabelle Signifikanz 2-seitig): 0,000 (Tab. 4. 16). Der ausgewiesene Signifikanzwert von 0,000 besagt, dass dies mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 0,0 % der Fall ist. Der Mittelwert vom Bauch ist mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % zwischen 1,227 und 0,387 höher als der Mittelwert der Keule (Tab. 4. 16). Entsprechendes gilt für andere Tierkörperstellen.

Ergebnisse

Tabelle 4. 16: Ergebnisse des t-Tests für Tierkörperstellen an Prozessposition 4

GKZ	Levene-Test (Varianzgleichheit)		t-Test (Mittelwertgleichheit)						
			T	df	Signifikanz (2-seitig)	Mittlere Differenz	Standard- fehler der Differenz	95% Konfidenzinterv all der Differenz	
	F	Signifikanz						Untere	Obere
Hals und Brust	0,585	0,450	-2,482	34	0,018	-0,521	0,210	-0,947	-0,094
Hals und Bauch	0,703	0,408	-3,126	34	0,004	-0,641	0,205	-1,058	-0,224
Hals und Keule	0,076	0,784	0,717	34	0,478	0,166	0,232	-0,305	0,637
Brust und Bauch	0,001	0,972	-0,664	34	0,511	-0,121	0,182	-0,490	0,249
Brust und Keule	0,163	0,689	3,252	34	0,003	0,687	0,211	0,258	1,116
Bauch und Keule	0,204	0,655	3,908	34	0,000	0,807	0,207	0,387	1,227

F: Treatmentvarianz (zwischen Gruppen)/Fehlervarianz (innerhalb der Gruppen)

t : ein statistischer Hypothesentest, df: Freiheitsgrad

Mittels t-Test konnte ein signifikanter Unterschied zwischen den Tierkörperstellen Hals und Brust ($p = 0,018$), Hals und Bauch ($p = 0,004$), Brust und Keule ($p = 0,003$) und zwischen Bauch und Keule ($p = 0,000$) (Tab. 4. 16 und 4. 17).

Tab. 4. 17 stellt die signifikanten Unterschiede zwischen den Tierkörperstellen zusammen.

Tabelle 4. 17: Signifikante Unterschiede der GKZ zwischen den Tierkörperstellen

Tierkörperstelle	Hals	Brust	Bauch	Vorderbein	Keule
Hals	-	signifikant	signifikant	n. s.	n. s.
Brust	signifikant	-	n. s.	n. s.	signifikant
Bauch	signifikant	n. s.	-	n. s.	signifikant
Vorderbein	n. s.	n. s.	n. s.	-	n. s.
Keule	n. s.	signifikant	signifikant	n. s.	-

signifikant: signifikant unterschiedliche GKZ, n.s.: GKZ nicht signifikant unterschiedlich

Einfaktorielle Varianzanalyse (ANOVA)

Bei der einfaktoriellen Varianzanalyse wurden für alle Positionen die Tierkörperstellen Hals, Brust, Bauch und Vorderbein (nur Position 1) bzw. Keule (Positionen 2, 3 und 4) miteinander verglichen. Es wird geprüft, ob zwischen den einzelnen Positionen ein Unterschied besteht (vergl. 3.5.3.7). Je Prozessposition lagen für jede Tierkörperstelle 18 Werte vor (Tab. 4. 5).

Prozessposition 1 (vor der Enthäutung)

Hier wurden die vier Tierkörperstellen Hals, Brust, Bauch und Vorderbein miteinander verglichen.

Die Streuung innerhalb der Tierkörperstellen (Quadratsumme innerhalb der Gruppen = QSI) ist gleich null, während gleichzeitig eine Streuung zwischen den Tierkörperstellen (Quadratsumme zwischen der Gruppen = QSZ) vorliegt (3,515). Die einzelnen Tierkörperstellen weisen sehr unterschiedliche Mittelwerte auf, innerhalb der Tierkörperstellen jedoch sind alle Werte gleich.

Mit einer Wahrscheinlichkeit von $p < 0,020$ wird die Nullhypothese abgelehnt, d. h. der Unterschied zwischen den vier Tierkörperstellen ist signifikant (Tab. 4. 18).

Tabelle 4. 18: Einfaktorielle ANOVA für die GKZ an Prozessposition 1 für die Tierkörperstellen Hals, Brust, Bauch und Vorderbein

GKZ	Quadratsumme	df	Mittel der Quadrate	F-Wert	Signifikanz
Zwischen den Tierkörperstellen	11,38	3	3,80	3,515	0,020
Innerhalb der Tierkörperstellen	73,41	68	1,08	-	-
Gesamt	84,79	71	-	-	-

F-Wert: Treatmentvarianz (zwischen Gruppen)/Fehlervarianz (innerhalb der Gruppen)
df: Freiheitsgrad

Die Wahrscheinlichkeit hier beträgt 0,020 bzw. 2,0 %, man kann also ausgehen, dass die vier Tierkörperstellen nicht den gleichen durchschnittlichen Mittelwert aufweisen.

Prozessposition 2 (nach der Enthäutung)

Hier wurden die vier Tierkörperstellen Hals, Brust, Bauch und Keule miteinander verglichen.

Die Streuung innerhalb der Tierkörperstellen ist gleich null, während gleichzeitig eine Streuung zwischen den Tierkörperstellen vorliegt (6,068). Die einzelnen Tierkörperstellen weisen sehr unterschiedliche Mittelwerte auf, innerhalb der Tierkörperstellen jedoch sind alle Werte gleich.

Mit einer Wahrscheinlichkeit von $p < 0,001$ wird die Nullhypothese abgelehnt, d. h. der Unterschied zwischen den vier Tierkörperstellen ist signifikant (Tab. 4. 19).

Ergebnisse

Tabelle 4. 19: Einfaktorielle ANOVA für die GKZ an Prozessposition 2 für die Tierkörperstellen Hals, Brust, Bauch und Keule

GKZ	Quadratsumme	df	Mittel der Quadrate	F-Wert	Signifikanz
Zwischen den Tierkörperstellen	27,66	3	9,22	6,068	0,001
Innerhalb der Tierkörperstellen	103,34	68	1,52	-	-
Gesamt	131,00	71	-	-	-

F-Wert: Treatmentvarianz (zwischen Gruppen)/Fehlervarianz (innerhalb der Gruppen)

df: Freiheitsgrad

Die Wahrscheinlichkeit beträgt hier 0,001 bzw. 0,1 %, man kann also darum ausgehen, dass die vier Tierkörperstellen nicht den gleichen durchschnittlichen Mittelwert aufweisen.

Prozessposition 3 (nach der Eviceration)

Hier wurden die vier Tierkörperstelle Hals, Brust, Bauch und Keule miteinander verglichen.

Die Streuung ist hier innerhalb der Tierkörperstellen gleich null, während gleichzeitig eine große Streuung zwischen den Tierkörperstellen vorliegt (5,229). Die einzelnen Tierkörperstellen weisen sehr unterschiedliche Mittelwerte auf, innerhalb der Tierkörperstellen jedoch sind alle Werte gleich.

Mit einer Wahrscheinlichkeit von $p < 0,003$ wird die Nullhypothese abgelehnt, d. h. der Unterschied zwischen den vier Tierkörperstellen ist signifikant (Tab. 4. 20).

Tabelle 4. 20: Einfaktorielle ANOVA für die GKZ an Prozessposition 3 für die Tierkörperstellen Hals, Brust, Bauch und Keule

GKZ	Quadratsumme	df	Mittel der Quadrate	F-Wert	Signifikanz
Zwischen den Tierkörperstellen	6,92	3	2,31	5,229	0,003
Innerhalb der Tierkörperstellen	29,99	68	0,44	-	-
Gesamt	36,91	71	-	-	-

F-Wert: Treatmentvarianz (zwischen Gruppen)/Fehlervarianz (innerhalb der Gruppen)

df: Freiheitsgrad

Die Wahrscheinlichkeit beträgt hier 0,003 bzw. 0,3 %, man kann also ausgehen, dass die vier Tierkörperstellen nicht den gleichen durchschnittlichen Mittelwert aufweisen.

Prozessposition 4 (Kühlraum)

An Prozessposition 4 wurden die Tierkörperstellen Hals, Brust, Bauch und Keule miteinander verglichen.

Die Streuung ist innerhalb der Tierkörperstellen gleich null, während gleichzeitig eine große Streuung zwischen den Tierkörperstellen vorliegt (7,106). Die einzelnen Tierkörperstellen weisen sehr unterschiedliche Mittelwerte auf, innerhalb der Tierkörperstellen jedoch sind alle Werte gleich.

Mit einer Wahrscheinlichkeit von $p < 0,001$ wird die Nullhypothese abgelehnt, d. h. der Unterschied zwischen den vier Tierkörperstellen ist signifikant (Tab. 4. 21).

Tabelle 4. 21: Einfaktorielle ANOVA für die GKZ an Prozessposition 4 für die Tierkörperstellen Hals, Brust, Bauch und Keule

GKZ	Quadratsumme	df	Mittel der Quadrate	F-Wert	Signifikanz
Zwischen den Tierkörperstellen	8,31	3	2,77	7,106	0,000
Innerhalb der Tierkörperstellen	26,52	68	0,39	-	-
Gesamt	34,83	71	-	-	-

F-Wert: Treatmentvarianz (zwischen Gruppen)/Fehlervarianz (innerhalb der Gruppen)

df: Freiheitsgrad

Die Wahrscheinlichkeit beträgt hier 0,000 bzw. 0,0 %, man kann also ausgehen, dass die überprüfte Hypothese nicht richtig ist, die vier Tierkörperstellen also nicht alle den gleichen durchschnittlichen Wert aufweisen.

Zweifaktorielle Varianzanalyse

Hier wird gefragt, ob es einen signifikanten Unterschied zwischen den bzw. allen Tierkörperstellen gibt, daneben soll zusätzlich der Einfluss des Faktors „Prozessposition“ auf die Tierkörperstelle untersucht werden. Zusätzlich erlaubt die zweifaktorielle Varianzanalyse Aussagen über eine mögliche Wechselwirkung zwischen den beiden Faktoren „Tierkörperstelle“ und „Prozessposition“.

Alle Prozesspositionen und alle Tierkörperstellen

Für die zweifaktorielle Varianzanalyse wurden alle Prozesspositionen und alle Tierkörperstellen miteinander auf mögliche Wechselwirkungen geprüft. Der F-Wert von 13,821 besagt, dass die Tierkörperstellen Hals, Brust, Bauch, Vorderbein und Keule sich stark

Ergebnisse

unterscheiden, d. h. zwischen allen Tierkörperstellen liegt ein deutlicher signifikanter Unterschied ($p = 0,000$) vor, die Nullhypothese wird abgelehnt. $p = 0,488$ und der F-Wert von 0,812 besagen, dass kein signifikanter Unterschied zwischen allen Prozesspositionen besteht. Der F-Wert von $F = 1,001$ ($p = 0,435$) zeigt an, dass die Wechselwirkung nicht signifikant ist: Es besteht auf Grund dieses Ergebnisses keine Wechselwirkung zwischen den Faktoren „Tierkörperstellen“ und „Prozesspositionen“ (Tab. 4. 22).

Tabelle 4. 22 : Zweifaktorielle Varianzanalyse zwischen allen Prozesspositionen und allen Tierkörperstellen

Faktoren	df	F	Signifikanz
alle Positionen	3	0,812	0,488
alle Tierkörperstelle	4	13,821	0,000
alle Positionen und alle Tierkörperstelle	8	1,001	0,435

F: Treatmentvarianz (zwischen Gruppen)/Fehlervarianz (innerhalb der Gruppen)

df: Freiheitsgrad

Prozessposition (2, 3, 4) und Tierkörperstelle (Hals, Brust, Bauch und Keule)

Hier wurden die Prozesspositionen (nach der Enthäutung, nach der Evisceration und im Kühlraum) und die Tierkörperstellen (Hals, Brust, Bauch und Keule) miteinander verglichen und geprüft, ob es eine mögliche Wechselwirkung gibt.

Bei einer Wahrscheinlichkeit von $p < 0,001$ wurde ein F-Wert von 15,353 ermittelt. Zwischen den Tierkörperstellen Hals, Brust, Bauch und Keule liegt ein deutlicher signifikanter Unterschied ($p = 0,000$) vor, die Nullhypothese wird abgelehnt.

Bei einer Wahrscheinlichkeit von $p = 0,302$ wurde ein F-Wert von 1,203 ermittelt, es bestand also kein signifikanter Unterschied zwischen allen Prozesspositionen. Der F-Wert von $F = 1,447$ ($p = 0,198$) zeigt an, dass die Wechselwirkungen nicht signifikant waren. Die Nullhypothese wird angenommen, dass keine Wechselwirkung zwischen den Faktoren „Tierkörperstellen“ und „Prozesspositionen“ besteht (Tab. 4. 23).

Tabelle 4. 23: Zweifaktorielle Varianzanalyse zwischen Prozessposition (2, 3 und 4) und den Tierkörperstellen Hals, Brust, Bauch und Keule

Faktoren	df	F	Signifikanz
Position (2,3,4)	2	1,203	0,302
Tierkörperstelle (Hals, Brust, Bauch und Keule)	3	15,353	0,000
Position (2,3,4) und Tierkörperstelle (Hals, Brust, Bauch und Keule)	6	1,447	0,198

F: Treatmentvarianz (zwischen Gruppen)/Fehlervarianz (innerhalb der Gruppen), df: Freiheitsgrad

Alle Prozesspositionen und die Tierkörperstellen (Hals, Brust und Bauch)

Hier wurden alle Prozesspositionen und die Tierkörperstellen Hals, Brust und Bauch miteinander verglichen und auf eine mögliche Wechselwirkung geprüft.

Bei einer Wahrscheinlichkeit von $p = 0,002$ wurde ein F-Wert von 6,486 ermittelt. Die Tierkörperstellen unterscheiden sich somit stark an den Hals, Brust und Bauch, d. h. zwischen den Tierkörperstellen (Hals, Brust und Bauch) liegt ein deutlicher signifikanter Unterschied ($p = 0,002$) vor, die Nullhypothese wird abgelehnt.

Mit einer Wahrscheinlichkeit von $p = 0,896$ und dem F-Wert von 0,200 besteht kein signifikanter Unterschied zwischen allen Prozesspositionen.

Der F-Wert von $F = 0,114$ ($p = 0,995$) zeigt an, dass die Wechselwirkung nicht signifikant ist. Auf Grund dieses Ergebnisses wird die Nullhypothese angenommen, es besteht keine Wechselwirkung zwischen den Faktoren „Tierkörperstellen“ und „Prozesspositionen“ (Tab.4.24).

Tabelle 4. 24: Zweifaktorielle Varianzanalyse zwischen allen Prozesspositionen und den Tierkörperstelle (Hals, Brust und Bauch)

Faktoren	df	F	Signifikanz
alle Positionen	3	0,200	0,896
Tierkörperstelle (Hals, Brust, Bauch)	2	6,486	0,002
alle Positionen und Tierkörperstelle (Hals, Brust, Bauch)	6	0,114	0,995

F: Treatmentvarianz (zwischen Gruppen)/Fehlervarianz (innerhalb der Gruppen)

df: Freiheitsgrad

4.1.2 Enterobacteriaceae (Eb)

4.1.2.1 Ausfahrten- und Probenahmestelle am Tierkörper

Hier sind die fünf Probenahmestellen am Tierkörper ohne Berücksichtigung der technischen Prozessposition in Abhängigkeit von der Ausfahrt dargestellt (alle Ausfahrten wurden einbezogen). Von insgesamt 320 Stanzproben waren 110 (34,4 %) Enterobacteriaceae-positiv.

Die Mittelwerte (\bar{x}) und die Standardabweichung (s) wurden im Durchschnitt der Probenanzahl ($n = 8$ bzw. 4) je Ausfahrt berechnet (Tab. 4. 25). Im einzelnen reichten die Werte (\bar{x}) von $1,40 \log \text{ KbE} / \text{cm}^2$ bis zu $2,46 \text{ KbE} / \text{cm}^2$ am Bauch. Der höchste Durchschnittswert fand sich bei Ausfahrt 1 ($\bar{x} = 2,01 \text{ KbE} / \text{cm}^2$) und der niedrigste bei Ausfahrt 8 ($\bar{x} = 1,44 \text{ KbE} / \text{cm}^2$). Der Durchschnitt (\bar{x}) lag im allgemeinen zwischen log 1-2.

Ergebnisse

Im einzelnen reichten die Werte der Standardabweichung (s) von 0,00 log KbE / cm² bis zu 0,96 KbE / cm² (Bauch).

Tabelle 4. 25: Enterobacteriaceae (Eb) an den beprobten Tierkörperstellen ohne Berücksichtigung der Prozessposition (in log KbE / cm²)

Ausfahrt	Hals			Brust			Bauch			Keule			Vorderbein			Ø (\bar{x})
	n	\bar{x}	s	n	\bar{x}	s	n	\bar{x}	s	n	\bar{x}	s	n	\bar{x}	s	
1	8	1,98	0,68	8	2,06	0,68	8	2,46	0,84	6	1,69	0,47	2	1,85	0,64	2,01
2	8	1,66	0,39	8	1,72	0,43	8	2,36	0,96	6	< 1,40	0,00	2	< 1,40	0,00	1,71
3	8	1,63	0,44	8	1,53	0,19	8	1,61	0,32	6	1,50	0,15	2	< 1,40	0,00	1,54
4	8	1,66	0,32	8	1,70	0,41	8	1,74	0,44	6	1,62	0,53	2	< 1,40	0,00	1,62
5	4	1,65	0,50	4	1,74	0,31	4	1,66	0,35	3	< 1,40	0,00	1	< 1,40	0,00	1,57
6	8	1,47	0,14	8	1,64	0,49	8	1,65	0,28	6	1,45	0,12	2	< 1,40	0,00	1,52
7	8	1,64	0,49	8	1,79	0,37	8	1,78	0,46	6	1,60	0,38	2	< 1,40	0,00	1,64
8	4	1,47	0,15	4	1,47	0,15	4	1,47	0,15	3	< 1,40	0,00	1	< 1,40	0,00	1,44
9	4	1,66	0,52	4	1,55	0,30	4	1,47	0,15	3	< 1,40	0,00	1	< 1,40	0,00	1,50
10	4	< 1,40	0,00	4	1,67	0,54	4	1,55	0,17	3	< 1,40	0,00	1	< 1,40	0,00	1,48
11	4	1,55	0,17	4	1,47	0,15	4	1,82	0,34	3	1,71	0,54	1	< 1,40	0,00	1,59
12	4	< 1,40	0,00	4	< 1,40	0,00	4	1,55	0,17	3	1,55	0,26	1	< 1,40	0,00	1,46
13	4	1,47	0,15	4	1,57	0,34	4	1,86	0,54	3	< 1,40	0,00	1	< 1,40	0,00	1,54
14	4	< 1,40	0,00	4	1,47	0,15	4	< 1,40	0,00	3	1,70	0,52	1	< 1,40	0,00	1,48
Ø	80	1,58	0,28	80	1,63	0,32	80	1,74	0,37	60	1,52	0,21	20	1,43	0,05	1,58

n: Zahl der Proben, x: Durchschnitt der Enterobacteriaceae, s: Standardabweichung

Ø: Durchschnitt der Mittelwerte der Enterobacteriaceae

Im Rahmen der statistischen Auswertung wurde die erste Ausfahrt nicht einbezogen, weil bei dieser Ausfahrt die gleichen Tierkörper an den Positionen 3 und 4 beprobt wurden.

Tabelle (4. 26) gibt daher noch einmal die Werte für alle Tierkörperstellen wieder. Die erste Tierkörperstelle (Hals) umfasst 72 Proben, die im Durchschnitt bei log 1,56 KbE / cm² lag. Die zweite Tierkörperstelle Brust umfasst ebenfalls 72 Proben im Mittel bei log 1,62 KbE/cm².

Ob die Tierkörperstelle ohne Berücksichtigung der Ausfahrt einen Unterschied aufweisen, wurde mit dem t-Test untersucht (Tab. 4. 27).

Ergebnisse

Tabelle 4. 26: Mittelwert der Enterobacteriaceae für die Tierkörperstelle an allen Prozesspositionen

Tierkörperstelle	n	\bar{x}	s	Standardfehler des Mittelwertes
Hals	72	1,56	0,32	0,04
Brust	72	1,62	0,34	0,04
Bauch	72	1,73	0,49	0,06
Vorderbein	18	1,40	0,00	0,00
Keule	54	1,51	0,28	0,04

n: Zahl der Proben, \bar{x} : Durchschnitt der Enterobacteriaceae, s: Standardabweichung

Das Ergebnis des Levene-Tests ist in der Spalte Signifikanz ausgewiesen. Der Signifikanzwert von 0,037 (z. B. zwischen Hals und Bauch) besagt, dass die Varianz der Variablen mit einer Wahrscheinlichkeit von 3,70 % an den beiden betrachteten Tierkörperstellen identisch ist.

Der Mittelwert am Hals liegt zum Beispiel im Durchschnitt um 0,162 KbE/cm² niedriger als der Mittelwert der Proben vom Bauch (Spalte Mittlere Differenz). Ob Hals und Bauch voneinander unterschiedlich sind, zeigen die Signifikanzwerte (in der Tabelle Signifikanz 2-seitig): 0,021 (Tab. 4. 27). Der Mittelwert am Hals ist mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % (Konfidenzintervall der Differenz) zwischen 0,025 und 0,299 niedriger als der Mittelwert am Bauch (Tab. 4. 27). Entsprechendes gilt für die anderen Tierkörperstellen.

Ergebnisse

Tabelle 4. 27: Ergebnisse des t-Tests für die Tierkörperstellen ohne Berücksichtigung der Prozessposition

Enterobacteria ceae	Levene-Test (Varianzgleichheit)		t-Test (Mittelwertgleichheit)						
			T	df	Signifikanz (2-seitig)	Mittlere Differenz	Standard- fehler der Differenz	95% Konfidenzintervall der Differenz	
	F	Signifikanz						Untere	Obere
Hals und Brust	0,708	0,402	-0,974	142	0,332	-0,054	0,055	-0,164	0,056
Hals und Bauch	4,434	0,037	-2,338	142	0,021	-0,162	0,069	-0,299	-0,025
Hals und Vorderbein	23,400	0,000	2,135	88	0,036	0,164	0,077	0,011	0,316
Hals und Keule	3,009	0,085	1,054	124	0,294	0,058	0,055	-0,051	0,167
Brust und Bauch	2,302	0,131	-1,533	142	0,127	-0,108	0,070	-0,247	0,031
Brust und Vorderbein	32,249	0,000	2,699	88	0,008	0,218	0,081	0,057	0,378
Brust und Keule	6,520	0,012	1,967	124	0,051	0,112	0,057	-0,001	0,225
Bauch und Vorderbein	17,584	0,000	2,807	88	0,006	0,326	0,116	0,095	0,556
Bauch und Keule	9,771	0,002	2,953	124	0,004	0,220	0,075	0,073	0,368
Vorderbein und Keule	11,687	0,001	-1,588	70	0,117	-0,106	0,067	-0,239	0,027

F: Treatmentvarianz (zwischen Gruppen) / Fehlervarianz (innerhalb der Gruppen)

df: Freiheitsgrad

Mittels t-Tests konnte ein signifikanter Unterschied zwischen den Tierkörperstellen Hals und Bauch ($p = 0,021$), Hals und Vorderbein ($p = 0,036$), Brust und Vorderbein ($p = 0,008$), Bauch und Vorderbein ($p = 0,006$) und zwischen Bauch und Keule ($p = 0,004$) gefunden werden (Tab. 4. 27 und 4. 28). Tab. 4. 28 stellt die signifikanten Unterschiede zwischen den Tierkörperstellen zusammen.

Tabelle 4. 28: Signifikante Unterschiede für die Enterobacteriaceae zwischen den Tierkörperstellen

Tierkörperstelle	Hals	Brust	Bauch	Vorderbein	Keule
Hals	-	n. s.	signifikant	signifikant	
Brust	n. s.	-	n. s.	signifikant	n. s.
Bauch	signifikant	n. s.	-	signifikant	signifikant
Vorderbein	signifikant	signifikant	signifikant	-	n. s.
Keule	n. s.	n. s.	signifikant	n. s.	-

signifikant: signifikant unterschiedliche Enterobacteriaceae, n.s.: Enterobacteriaceae nicht signifikant unterschiedlich

4.1.2.2 Prozessposition und Tierkörperstelle

Nunmehr wurden für alle 14 Ausfahrten die Werte für die Enterobacteriaceae an den fünf Probenahmestellen am Tierkörper und an den vier beprobten technischen Prozesspositionen berechnet:

- 1: vor der Enthäutung
- 2: nach der Enthäutung
- 3: nach der Evisceration
- 4: im Kühlraum

Die Werte reichten von 1,40 log KbE / cm² (Keule) bis zu 1,85 KbE / cm² (Bauch). Der höchste Durchschnittswert (\bar{x}) fand sich an Position 4 ($\bar{x} = 1,7$ KbE / cm²), der höchste Wert für (s) am Bauch bei 0,74 KbE / cm² (Tab. 4. 29).

Tabelle 4. 29: Enterobacteriaceae an allen Positionen in log KbE / cm²

Position	Hals			Brust			Bauch			Vorderbein*			Keule**			Ø (\bar{x})
	n	\bar{x}	s	n	\bar{x}	s	n	\bar{x}	s	n	\bar{x}	s	n	\bar{x}	s	
1	18	1,41	0,14	18	1,61	0,35	18	1,58	0,37	18	1,40	0,00	-	-	-	1,50
2	18	1,54	0,30	18	1,62	0,28	18	1,85	0,74	-	-	-	18	1,40	0,00	1,60
3	18	1,52	0,24	18	1,56	0,33	18	1,74	0,41	-	-	-	18	1,54	0,36	1,60
4	18	1,78	0,44	18	1,69	0,40	18	1,73	0,33	-	-	-	18	1,58	0,31	1,70

* Vorderbein wurde an Positionen: 2, 3 und 4 nicht beprobt

** Keule wurde an Position 1 nicht beprobt

n: Zahl der Proben, \bar{x} : Durchschnitt der GKZ, s: Standardabweichung, -: keine Beprobung

Prozessposition 1 (vor dem Enthäuten)

Hier wurde der höchste Durchschnittswert an der Brust (1,61 KbE/cm²) gefunden (Tab. 4.30).

Tabelle 4. 30: Mittelwert der Enterobacteriaceae für die Tierkörperstelle an Prozessposition 1

Tierkörperstelle	n	\bar{x}	s	Standardfehler des Mittelwertes
Hals	18	1,41	0,14	0,03
Brust	18	1,61	0,35	0,08
Bauch	18	1,58	0,37	0,09
Vorderbein	18	1,40	0,00	0,00

n: Zahl der Proben, \bar{x} : Durchschnitt der Enterobacteriaceae, s: Standardabweichung

Ergebnisse

Das Ergebnis des Levene-Tests ist in der Spalte Signifikanz der Tab. 4. 31 ausgewiesen. Der Signifikanzwert von 0,008 (z. B. zwischen Hals und Bauch) besagt, dass die Varianz der Variablen mit einer Wahrscheinlichkeit von 0,8 % in den beiden betrachteten Tierkörperstellen identisch ist (Tab. 4. 31).

Der Mittelwert am Hals liegt im Durchschnitt um 0,167 KbE / cm² niedriger als der Mittelwert am Bauch (in der Spalte Mittlere Differenz). Ob Hals und Bauch voneinander unterschiedlich sind, zeigen die Signifikanzwerte (in der Spalte Signifikanz 2-seitig): 0,085 (Tab. 4. 31). Der ausgewiesene Signifikanzwert von 0,085 besagt, dass dies mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 8,5 % der Fall ist.

Der Mittelwert am Hals ist mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % zwischen 0,024 und 0,358 niedriger als der Mittelwert vom Bauch (Tab. 4.31). Entsprechendes gilt für andere Tierkörperstellen.

Tabelle 4. 31: Ergebnisse des t-Tests für Tierkörperstellen an Prozessposition 1

Enterobacteriaceae	Levene-Test (Varianzgleichheit)		t-Test (Mittelwertgleichheit)						
			T	df	Signifikanz (2-seitig)	Mittlere Differenz	Standardfehler der Differenz	95% Konfidenzintervall der Differenz	
	F	Signifikanz						Untere	Obere
Hals und Brust	8,885	0,005	-2,188	34	0,036	-0,196	0,089	-0,377	-0,014
Hals und Bauch	7,888	0,008	-1,774	34	0,085	-0,167	0,094	-0,358	0,024
Hals und Vorderbein	4,784	0,036	0,334	34	0,740	0,011	0,033	-0,056	0,079
Brust und Bauch	0,003	0,960	0,239	34	0,813	0,029	0,120	-0,217	0,275
Brust und Vorderbein	20,364	0,000	2,490	34	0,018	0,207	0,083	0,038	0,375
Bauch und Vorderbein	17,167	0,000	2,023	34	0,051	0,178	0,088	-0,001	0,356

F: Treatmentvarianz (zwischen Gruppen)/Fehlervarianz (innerhalb der Gruppen)

df: Freiheitsgrad

Mittels t-Tests konnte ein signifikanter Unterschied zwischen den Tierkörperstellen Hals und Brust ($p = 0,036$) und zwischen Brust und Vorderbein ($p = 0,018$) gezeigt werden. Es wurden keine weiteren signifikanten Ergebnisse zwischen den anderen Tierkörperstellen nachgewiesen (Tab. 4. 31 und 4.32). Tab. 4.32 stellt die signifikanten Unterschiede zwischen den Tierkörperstellen zusammen.

Ergebnisse

Tabelle 4.32: Signifikante Unterschiede für die Enterobacteriaceae zwischen den Tierkörperstellen

Tierkörperstelle	Hals	Brust	Bauch	Vorderbein	Keule
Hals	-	signifikant	n. s.	n. s.	
Brust	signifikant	-	n. .	signifikant	n. s.
Bauch	n. s.	n. s.	-	n. s.	n. s.
Vorderbein	n. s.	signifikant	n. s.	-	n. s.
Keule	n. s.	n. s.	n. s.	n. s.	-

signifikant, signifikant unterschiedliche Enterobacteriaceae, n.s., Enterobacteriaceae nicht signifikant unterschiedlich

Prozessposition 2 (nach dem Enthäuten)

An der Prozessposition 2 wurde der höchste Durchschnittswert am Bauch (1,86 KbE / cm²) gefunden (Tab. 4. 33).

Tabelle 4. 33: Mittelwert der Enterobacteriaceae für die Tierkörperstelle an Prozessposition 2

Tierkörperstelle	n	\bar{X}	s	Standardfehler des Mittelwertes
Hals	18	1,54	0,30	0,07
Brust	18	1,62	0,28	0,07
Bauch	18	1,86	0,74	0,17
Keule	18	1,40	0,00	0,00

n: Zahl der Proben, \bar{X} : Durchschnitt der Enterobacteriaceae, s: Standardabweichung

Das Ergebnis des Levene-Tests ist in der Spalte Signifikanz der Tab. 4. 34 ausgewiesen. Der Signifikanzwert von 0,000 (z. B. zwischen Hals und Keule) besagt, dass die Varianz der Variablen mit einer Wahrscheinlichkeit von 0,0 % an den beiden betrachteten Tierkörperstellen identisch ist (Tab. 4. 34).

Der Mittelwert am Hals liegt im Durchschnitt um 0,143 KbE / cm² höher als der Mittelwert an der Keule (in der Spalte Mittlere Differenz). Ob Hals und Keule voneinander unterschiedlich sind, zeigen die Signifikanzwerte (in der Tabelle Signifikanz 2-seitig): 0,051 (Tab. 4. 34). Der ausgewiesene Signifikanzwert von 0,051 besagt, dass dies mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5,1% der Fall ist. Der Mittelwert vom Hals ist mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % zwischen 0,288 und 0,001 niedriger als der Mittelwert an der Keule (Tab. 4. 34).

Ergebnisse

Tabelle 4. 34: Ergebnisse des t-Tests für Tierkörperstellen an Prozessposition 2

Enterobacteria- ceae	Levene-Test (Varianzgleichheit)		t-Test (Mittelwertgleichheit)						
			T	df	Signifikanz (2-seitig)	Mittlere Differenz	Standard- fehler der Differenz	95% Konfidenzinterv- all der Differenz	
	F	Signifikanz						Untere	Obere
Hals und Brust	0,122	0,729	-0,768	34	0,448	-0,075	0,098	-0,274	-0,124
Hals und Bauch	3,267	0,080	-1,659	34	0,106	-0,312	0,188	-0,693	0,070
Hals und Keule	23,483	0,000	2,019	34	0,051	0,143	0,071	-0,001	0,288
Brust und Bauch	2,941	0,095	-1,270	34	0,213	0,237	0,186	-0,615	0,142
Brust und Keule	56,714	0,000	3,255	34	0,003	0,218	0,067	0,082	0,355
Bauch und Keule	13,126	0,001	2,616	34	0,013	0,455	0,174	0,102	0,808

F: Treatmentvarianz (zwischen Gruppen)/Fehlervarianz (innerhalb der Gruppen), df: Freiheitsgrad

Mittels t-Tests konnte ein signifikanter Unterschied zwischen den Tierkörperstellen Brust und Keule ($p = 0,003$) und zwischen Bauch und Keule ($p = 0,013$) ermittelt werden (Tab. 4.34 und 4.35). Tab. 4.35 stellt die signifikanten Unterschiede zwischen den Tierkörperstellen zusammen.

Tabelle 4. 35: Enterobacteriaceae: Signifikante Unterschiede zwischen den Tierkörperstellen

Tierkörperstelle	Hals	Brust	Bauch	Vorderbein	Keule
Hals	-	n. s.	n. s.	n. s.	
Brust		-	n. s.		signifikant
Bauch	n. s.	n. s.	-	n. s.	signifikant
Vorderbein	n. s.		n. s.	-	n. s.
Keule	n. s.	signifikant	signifikant	n. s.	-

signifikant: signifikant unterschiedliche Enterobacteriaceae, n. s.: Enterobacteriaceae nicht signifikant unterschiedlich

Prozessposition 3 (nach der Evisceration)

An der Prozessposition 3 wurde der höchste Durchschnittswert am Bauch ($1,74 \text{ KbE/ cm}^2$) gefunden (Tab. 4. 36).

Tabelle 4. 36: Enterobacteriaceae: Mittelwert der Tierkörperstellen an Prozessposition 3

Tierkörperstelle	n	\bar{x}	s	Standardfehler des Mittelwertes
Hals	18	1,52	0,24	0,06
Brust	18	1,56	0,33	0,08
Bauch	18	1,74	0,41	0,10
Keule	18	1,54	0,36	0,09

n: Zahl der Proben, \bar{x} : Durchschnitt der Enterobacteriaceae, s: Standardabweichung

Ergebnisse

Das Ergebnis des Levene-Tests ist in der Spalte Signifikanz (Tab. 4. 37) ausgewiesen. Der Signifikanzwert von 0,330 (z. B. zwischen Brust und Bauch) besagt, dass die Varianz der Variablen mit einer Wahrscheinlichkeit von 33,0 % an den beiden betrachteten Tierkörperstellen identisch ist (Tab. 4. 37). Der Mittelwert an der Brust liegt im Durchschnitt um 0,184 KbE/cm² niedriger als der Mittelwert am Bauch (in der Spalte Mittlere Differenz). Ob Brust und Bauch voneinander unterschiedlich sind, zeigen die Signifikanzwerte (in der Tabelle Signifikanz 2-seitig): 0,152 (Tab. 4. 37). Der ausgewiesene Signifikanzwert von 0,152 besagt, dass dies mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 15,2 % der Fall ist. Der Mittelwert von der Brust ist mit einer Wahrscheinlichkeit von 95% zwischen 0,071 und 0,439 niedriger als der Mittelwert am Bauch (Tab. 4. 37). Mittels t-Tests konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Tierkörperstellen ermittelt werden (Tab. 4. 37).

Tabelle 4. 37: Ergebnisse des t-Tests für Tierkörperstellen an Prozessposition 3

Enterobacteria- ceae	Levene-Test (Varianzgleichheit)		t-Test (Mittelwertgleichheit)						
			T	df	Signifikanz (2-seitig)	Mittlere Differenz	Standard- fehler der Differenz	95% Konfidenzintervall der Differenz	
	F	Signifikanz						Untere	Obere
Hals und Brust	1,140	0,293	-0,350	34	0,728	-0,034	0,097	-0,230	-0,163
Hals und Bauch	4,455	0,042	-1,937	34	0,061	-0,218	0,112	-0,446	0,011
Hals und Keule	0,494	0,487	-0,141	34	0,889	-0,014	0,102	-0,222	0,194
Brust und Bauch	0,978	0,330	-1,467	34	0,152	-0,184	0,125	-0,439	0,071
Brust und Keule	0,032	0,859	0,167	34	0,868	0,019	0,116	-0,217	0,256
Bauch und Keule	1,110	0,300	1,567	34	0,126	0,203	0,130	-0,060	0,467

F: Treatmentvarianz (zwischen Gruppen)/Fehlervarianz (innerhalb der Gruppen), df: Freiheitsgrad

Prozessposition 4 (Kühlraum)

An der Prozessposition 4 wurde der höchste Durchschnittswert am Hals (1,78 KbE/cm²) gefunden (Tab. 4. 38).

Tabelle 4. 38: Enterobacteriaceae: Mittelwert der Tierkörperstellen an Prozessposition 4

Tierkörperstelle	n	\bar{x}	s	Standardfehler des Mittelwertes
Hals	18	1,78	0,44	0,10
Brust	18	1,69	0,40	0,09
Bauch	18	1,73	0,33	0,08
Keule	18	1,58	0,31	0,07

n: Zahl der Proben, \bar{x} : Durchschnitt der Enterobacteriaceae, s: Standardabweichung

Ergebnisse

Das Ergebnis des Levene-Tests ist in der Spalte Signifikanz (Tab. 4. 39) ausgewiesen. Der Signifikanzwert von 0,262 (z. B. zwischen Bauch und Keule) besagt, dass die Varianz der Variablen mit einer Wahrscheinlichkeit von 26,2 % an den beiden betrachteten Tierkörperstellen identisch ist (Tab. 4. 39). Der Mittelwert am Bauch liegt im Durchschnitt um 0,150 KbE / cm² höher als der Mittelwert an der Keule (in der Spalte Mittlere Differenz). Ob Bauch und Keule voneinander unterschiedlich sind, zeigen die Signifikanzwerte (in der Tabelle Signifikanz 2-seitig): 0,168 (Tab. 4. 39). Der ausgewiesene Signifikanzwert von 0,168 besagt, dass dies mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 16,8% der Fall ist. Der Mittelwert vom Bauch ist mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % zwischen 0,367 und 0,067 niedriger als der Mittelwert von der Keule (Tab. 4. 39). Mittels t-Tests konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Tierkörperstellen ermittelt werden (Tab. 4. 39).

Tabelle 4. 39: Ergebnisse des t-Tests für Tierkörperstellen an Prozessposition 4

Enterobacteria- ceae	Levene-Test (Varianzgleichheit)		t-Test (Mittelwertgleichheit)						
			T	df	Signifikanz (2-seitig)	Mittlere Differenz	Standard- fehler der Differenz	95% Konfidenzintervall der Differenz	
	F	Signifikanz						Untere	Obere
Hals und Brust	0,406	0,528	0,627	34	0,535	0,088	0,141	-0,198	0,375
Hals und Bauch	1,332	0,257	0,371	34	0,713	0,048	0,130	-0,217	0,313
Hals und Keule	3,467	0,071	1,554	34	0,129	0,198	0,128	-0,061	0,458
Brust und Bauch	0,136	0,715	-0,328	34	0,745	-0,040	0,122	-0,288	0,208
Brust und Keule	1,409	0,244	0,923	34	0,363	0,110	0,119	-0,132	0,352
Bauch und Keule	1,301	0,262	1,408	34	0,168	0,150	0,107	-0,067	0,367

F: Treatmentvarianz (zwischen Gruppen)/Fehlervarianz (innerhalb der Gruppen), df: Freiheitsgrad

Einfaktorielle Varianzanalyse (ANOVA)

Bei der einfaktoriellen Varianzanalyse wurden für alle technischen Positionen die vier Tierkörperstellen Hals, Brust, Bauch und Vorderbein (nur Position 1) bzw. Keule (Position 2, 3 und 4) miteinander verglichen. Je Prozessposition lagen für jede Tierkörperstelle 18 Werte vor (Tab. 4. 29).

Prozessposition 1 (vor der Enthütung)

Hier wurden die vier Tierkörperstellen Hals, Brust, Bauch und Vorderbein miteinander verglichen.

Die Streuung innerhalb der Tierkörperstellen (Quadratsumme innerhalb der Gruppen = QSI) ist gleich null, während gleichzeitig eine Streuung zwischen den Tierkörperstellen (Quadratsumme zwischen der Gruppen = QSZ) vorliegt (2,998). Die einzelnen Tierkörperstellen weisen sehr unterschiedliche Mittelwerte auf, innerhalb der Tierkörperstellen jedoch sind alle Werte gleich.

Mit einer Wahrscheinlichkeit von $p < 0,037$ wird die Nullhypothese abgelehnt, d. h. der Unterschied zwischen den vier Tierkörperstellen ist signifikant (Tab. 4. 40).

Tabelle 4. 40: Einfaktorielle ANOVA für Enterobacteriaceae an Prozessposition 1 für die Tierkörperstellen Hals, Brust, Bauch und Vorderbein

Enterobacteriaceae	Quadratsumme	df	Mittel der Quadrate	F-Wert	Signifikanz
Zwischen den Tierkörperstellen	0,636	3	0,212	2,998	0,037
Innerhalb der Tierkörperstellen	4,807	68	0,071	-	-
gesamt	5,443	71	-	-	-

F-Wert: Treatmentvarianz (zwischen Gruppen)/Fehlervarianz (innerhalb der Gruppen)
df: Freiheitsgrad

Die Wahrscheinlichkeit hier beträgt 0,037 bzw. 3,7 %, man kann also ausgehen, dass die vier Tierkörperstellen nicht den gleichen durchschnittlichen Mittelwert aufweisen.

Prozessposition 2 (nach der Enthütung)

Hier wurden die vier Tierkörperstellen Hals, Brust, Bauch und Keule miteinander verglichen.

Die Streuung innerhalb der Tierkörperstellen (QSI) ist gleich null, während gleichzeitig eine Streuung zwischen den Tierkörperstellen (QSZ) vorliegt (3,636). Die einzelnen Tierkörperstellen weisen sehr unterschiedliche Mittelwerte auf, innerhalb der Tierkörperstellen jedoch sind alle Werte gleich.

Mit einer Wahrscheinlichkeit von $p < 0,017$ wird die Nullhypothese abgelehnt, d. h. der Unterschied zwischen den vier Tierkörperstellen ist signifikant (Tab. 4. 41).

Ergebnisse

Tabelle 4. 41: Einfaktorielle ANOVA für Enterobacteriaceae an Prozessposition 2 für die Tierkörperstellen Hals, Brust, Bauch und Keule

Enterobacteriaceae	Quadratsumme	df	Mittel der Quadrate	F-Wert	Signifikanz
Zwischen den Tierkörperstellen	1,953	3	0,651	3,636	0,017
Innerhalb der Tierkörperstellen	12,175	68	0,179	-	-
gesamt	14,128	71	-	-	-

F-Wert: Treatmentvarianz (zwischen Gruppen)/Fehlervarianz (innerhalb der Gruppen)
df: Freiheitsgrad

Die Wahrscheinlichkeit beträgt hier 0,017 bzw. 1,7 %, man kann also darum ausgehen, dass die vier Tierkörperstellen nicht den gleichen durchschnittlichen Mittelwert aufweisen.

Prozessposition 3 (nach der Eviszeration)

Hier wurden die vier Tierkörperstelle Hals, Brust, Bauch und Keule miteinander verglichen.

Die Streuung innerhalb der Tierkörperstellen (QSI) ist gleich null, während gleichzeitig eine große Streuung zwischen den Tierkörperstellen (QSZ) vorliegt (1,583). Die einzelnen Tierkörperstellen weisen sehr unterschiedliche Mittelwerte auf, innerhalb der Tierkörperstellen jedoch sind alle Werte gleich.

Mit einer Wahrscheinlichkeit von $p < 0,202$ wird die Nullhypothese angenommen, d. h. der Unterschied zwischen den vier Tierkörperstellen ist nicht signifikant (Tab. 4. 42).

Tabelle 4. 42: Einfaktorielle ANOVA für Enterobacteriaceae an Prozessposition 3 für die Tierkörperstellen Hals, Brust, Bauch und Keule

Enterobacteriaceae	Quadratsumme	df	Mittel der Quadrate	F-Wert	Signifikanz
Zwischen den Tierkörperstellen	0,559	3	0,186	1,583	0,202
Innerhalb der Tierkörperstellen	8,012	68	0,118	-	-
gesamt	8,571	71	-	-	-

F-Wert: Treatmentvarianz (zwischen Gruppen)/Fehlervarianz (innerhalb der Gruppen)
df: Freiheitsgrad

Die Wahrscheinlichkeit beträgt hier 0,202 bzw. 20,2 %, man kann also ausgehen, dass die vier Gruppen nicht den gleichen durchschnittlichen Mittelwert aufweisen.

Prozessposition 4 (im Kühlraum)

An Prozessposition 4 wurden die Tierkörperstellen Hals, Brust, Bauch und Keule miteinander verglichen.

Ergebnisse

Die Streuung innerhalb der Tierkörperstellen (QSI) ist gleich null, während gleichzeitig eine große Streuung zwischen den Tierkörperstellen (QSZ) vorliegt (0,915). Die einzelnen Tierkörperstellen weisen sehr unterschiedliche Mittelwerte auf, innerhalb der Tierkörperstellen jedoch sind alle Werte gleich.

Mit einer Wahrscheinlichkeit von $p < 0,438$ wird die Nullhypothese angenommen, d. h. der Unterschied zwischen den vier Tierkörperstellen ist nicht signifikant (Tab. 4. 43).

Tabelle 4. 43: Einfaktorielle ANOVA für Enterobacteriaceae an Prozessposition 4 für die Tierkörperstellen Hals, Brust, Bauch und Keule

Enterobacteriaceae	Quadratsumme	df	Mittel der Quadrate	F-Wert	Signifikanz
Zwischen den Tierkörperstellen	0,386	3	0,129	0,915	0,438
Innerhalb der Tierkörperstellen	9,547	68	0,140	-	-
gesamt	9,932	71	-	-	-

F-Wert: Treatmentvarianz (zwischen Gruppen)/Fehlervarianz (innerhalb der Gruppen)

df: Freiheitsgrad

Die Wahrscheinlichkeit beträgt hier 0,438 bzw. 43,8 %, man kann also darum ausgehen, dass die vier Tierkörperstellen nicht den gleichen durchschnittlichen Mittelwert aufweisen.

Zweifaktorielle Varianzanalyse

Hier wurde gefragt, ob es einen signifikanten Unterschied zwischen den bzw. allen Tierkörperstellen gibt, daneben soll zusätzlich der Einfluss des Faktors „Prozessposition“ auf die Tierkörperstelle untersucht werden. Zusätzlich erlaubt die zweifaktorielle Varianzanalyse Aussagen über eine mögliche Wechselwirkung zwischen den beiden Faktoren.

Alle Prozesspositionen und alle Tierkörperstellen

Für die zweifaktorielle Varianzanalyse wurden alle Prozesspositionen und alle Tierkörperstellen miteinander auf mögliche Wechselwirkungen geprüft. Der F-Wert von 4,555 besagt, dass die Tierkörperstellen Hals, Brust, Bauch, Vorderbein und Keule sich stark unterscheiden, d. h. zwischen allen Tierkörperstellen liegt ein deutlicher signifikanter Unterschied ($p = 0,001$) vor, die Nullhypothese wird abgelehnt.

Der Wert $p = 0,024$ und der F-Wert von 3,207 besagen, dass ein signifikanter Unterschied zwischen den Prozesspositionen besteht, die Nullhypothese wird abgelehnt.

Der F-Wert von $F = 1,201$ ($p = 0,298$) zeigt an, dass die Wechselwirkung nicht signifikant ist.

Ergebnisse

Es besteht auf Grund dieses Ergebnisses keine Wechselwirkung zwischen den Faktoren „Tierkörperstelle“ und „Prozessposition“ (Tab. 4. 44).

Tabelle 4. 44 : Zweifaktorielle Varianzanalyse zwischen allen Prozesspositionen und allen Tierkörperstellen

Faktoren	df	F	Signifikanz
alle Positionen	3	3,207	0,024
alle Tierkörperstelle	4	4,555	0,001
alle Positionen und alle Tierkörperstelle	8	1,201	0,298

F-Wert: Treatmentvarianz (zwischen Gruppen)/Fehlervarianz (innerhalb der Gruppen)

df: Freiheitsgrad

Prozessposition 2, 3 und 4 und Tierkörperstelle 1, 2, 3 und 5

Hier wurden die Prozesspositionen (nach der Enthäutung, nach der Evisceration und im Kühlraum) und die Tierkörperstellen (Hals, Brust, Bauch und Keule) miteinander verglichen und geprüft, ob es eine mögliche Wechselwirkung zwischen den Prozesspositionen und Tierkörperstellen gibt.

Bei einer Wahrscheinlichkeit von $p = 0,004$ wurde ein F-Wert von 4,547 ermittelt. Es besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den Hals, Brust, Bauch und Keule, unabhängig von den Prozesspositionen, die Nullhypothese wird abgelehnt.

$P = 0,222$ und der F-Wert von 1,518 besagen, dass kein signifikanter Unterschied zwischen den Prozesspositionen besteht, die Nullhypothese wird angenommen.

Der F-Wert von $F = 1,040$ ($p = 0,400$) zeigt an, dass die Wechselwirkung nicht signifikant ist. Auf Grund dieses Ergebnisses besteht keine Wechselwirkung zwischen den Faktoren „Tierkörperstelle“ und „Prozessposition“ (Tab. 4. 45).

Tabelle 4. 45 : Zweifaktorielle Varianzanalyse zwischen den Prozesspositionen und den gewählten Tierkörperstellen

Faktoren	df	F	Signifikanz
Prozesspositionen	2	1,518	0,222
die gewählten Tierkörperstelle	3	4,547	0,004
Positionen und die gewählten Tierkörperstelle	6	1,040	0,400

F-Wert: Treatmentvarianz (zwischen Gruppen)/Fehlervarianz (innerhalb der Gruppen)

df: Freiheitsgrad

Ergebnisse

Alle Prozesspositionen und die Tierkörperstellen 1, 2 und 3

Hier wurden alle Prozesspositionen und die Tierkörperstellen Hals, Brust und Bauch miteinander verglichen und auf eine mögliche Wechselwirkung geprüft.

Bei einer Wahrscheinlichkeit von $p = 0,041$ wurde ein F-Wert von $F = 3,256$ ermittelt. Es besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den Hals, Brust und Bauch, unabhängig von den Prozesspositionen, die Nullhypothese wird abgelehnt.

$p = 0,051$ und der F-Wert von $2,631$ besagen, dass kein signifikanter Unterschied zwischen den Prozesspositionen besteht, die Nullhypothese wird angenommen.

Der F-Wert von $F = 1,042$ ($p = 0,399$) zeigt an, dass die Wechselwirkung nicht signifikant ist. Auf Grund dieses Ergebnisses besteht keine Wechselwirkung zwischen den Faktoren „Tierkörperstelle“ und „Prozessposition“ (Tab. 4. 46).

Tabelle 4. 46 : Zweifaktorielle Varianzanalyse zwischen allen Prozesspositionen und den gewählten Tierkörperstellen

Faktoren	df	F	Signifikanz
alle Positionen	3	2,631	0,051
die gewählten Tierkörperstellen	2	3,256	0,041
alle Positionen und die gewählten Tierkörperstellen	6	1,042	0,399

F-Wert: Treatmentvarianz (zwischen Gruppen)/Fehlervarianz (innerhalb der Gruppen)

df: Freiheitsgrad

4.2 Qualitative Ergebnisse (Untersuchungen auf Zoonoseerreger)

4.2.1 Ergebnisse der Untersuchungen auf *Campylobacter*

4.2.1.1 Konventionelle mikrobiologische Untersuchungen

4.2.1.1.1 Identifizierung des Genus *Campylobacter*

Von den insgesamt untersuchten 423 Proben waren 85 Proben *Campylobacter*- positiv (20,1%), es wurden 88 Isolate gewonnen. Der höchste Wert wurde am Boden im Sammelstall mit 68,2% ermittelt (Tab. 4. 47).

Tabelle 4. 47: Untersuchungsergebnisse auf *Campylobacter* (Genus)

Probenarten	n	positiv (%)	Isolate
Stanzen	320	58 (18,1)	61
Boden Sammelstall	22	15 (68,2)	15
Ablage der TK	11	2 (18,2)	2
Fellabzugmaschine	12	3 (25,0)	3
Messer	28	7 (25,0)	7
Steribecken	1	0 (0,0)	0
Türgriff Kühlraum	7	0 (0,0)	0
Wand Kühlraum	22	0 (0,0)	0
Gesamt	423	85 (20,1)	88

n: Zahl der gesamten Proben

Stanzproben

Von den insgesamt 423 Proben wurden 320 Stanzproben auf *Campylobacter* untersucht. Von den insgesamt untersuchten 320 Stanzproben waren 58 Proben *Campylobacter*- positiv (18,1 %) (Tabelle 4. 39), die höchste Zahl lag an der Position 4 (im Kühlraum) mit 22 positiven Proben (Abb. 4. 2)

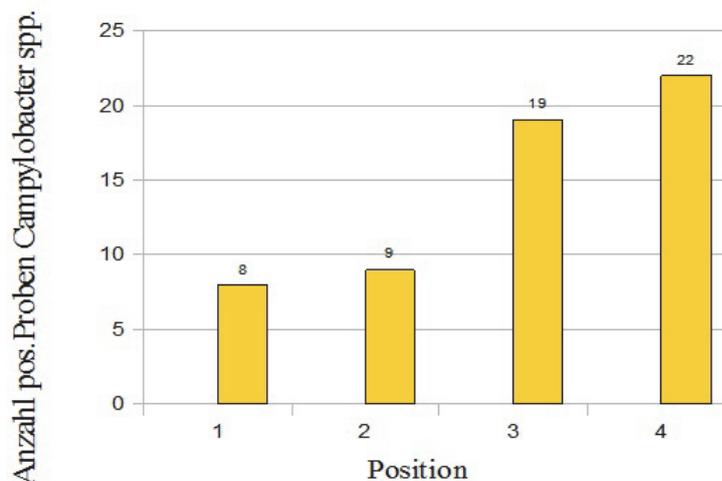


Abbildung 4. 2: Anzahl der positiven Stanzproben von *Campylobacter* je Position (je Position: n= 80)

Ergebnisse

An Position 1 (vor der Enthäutung) waren 10,0 % der Stanzen *Campylobacter*- positiv, an Position 2 (nach der Enthäutung) 11,3 %, an Position 3 (nach der Eviseration) 23,8 % und an Position 4 (im Kühlraum) 27,5 %. Insgesamt waren 18,1 % der Proben positiv.

Ausfahrten

Bei der dritten und neunten Ausfahrt wurde *Campylobacter* nicht nachgewiesen. Das höchste Ergebnis wurde bei der vierten Ausfahrt (17 positive Proben) erzielt (Tab. 4. 48).

Tabelle 4. 48: Positive *Campylobacter*- Funde in Abhängigkeit von der Ausfahrt

Ausfahrt	n	Probenarten					gesamt
		Boden Sammelstall	Ablage TK	Fellabzugsmaschine	Messer	Stanzen	
1	32	-	-	-	-	8	8
2	32	-	-	-	-	7	7
3	32	-	-	-	-	-	-
4	41	2	1	-	-	14	17
5	24	2	-	1	2	4	9
6	40	2	-	-	-	5	7
7	40	2	-	-	1	7	10
8	25	2	-	-	-	1	3
9	26	-	-	-	-	-	-
10	27	2	-	1	1	1	5
11	26	1	-	1	-	-	2
12	26	2	-	-	1	4	7
13	26	-	-	-	2	7	9
14	26	-	1	-	-	-	1
gesamt	423	15	2	3	7	58	85

4.2.1.1.2 Speziesdifferenzierung

Von den insgesamt gewonnenen 88 Isolaten wurden 80 aus tiefgefrorenen Kulturen (-20 °C) subkultiviert (8 Isolate sind nicht angewachsen) und mittels biochemischer Untersuchung weiter differenziert. *C.jejuni* wurde in 71,3 % (57/80) und *C.coli* in 23,8 % (19/80) der Fälle nachgewiesen. *C.lari* wurde in 5,0 % (4/80) und nur am Boden (Sammelstall) nachgewiesen (Tab. 4. 49).

Ergebnisse

Tabelle 4. 49: *Campylobacter* Speziesdifferenzierung (konventionell mikrobiologisch)

Probenarten	<i>Campylobacter</i> Isolate	<i>C.jejuni</i>		<i>C.coli</i>		<i>C.lari</i>	
		n	%	n	%	n	%
Stanzen	56*	46	82,1	10	17,9		
Boden Sammelstall	13*	3	23,1	6	46,2	4	30,8
Ablage der TK	2	2	100,0				
Fellabzugsmaschine	2*	1	50,0	1	50,0		
Messer	7	5	71,4	2	28,6		
Insgesamt	80	57	71,3	19	23,8	4	5,0

*Von 88 tiefgefrorenen Isolaten (-20° C) sind 8 Isolate nicht gewachsen. (vergl. Tab. 4.42)

4.2.1.2 Identifizierung von *Campylobacter* mittels molekularbiologischer Verfahren

4.2.1.2.1 Polymerase Chain Reaktion (PCR-Ansatz)

Campylobacter-Genus-Identifizierung

Zum Vergleich mit der konventionellen Methode wurde für die Genus- Identifizierung gleichzeitig ein PCR- Ansatz für alle Isolate durchgeführt. Von 80 untersuchten *Campylobacter*- Isolaten waren 74 (92,5 %) mittels PCR positiv (Tab. 4. 50).

Tabelle 4. 50: Vergleich zwischen konventioneller Methode und dem PCR- Ansatz zur Genus-Identifizierung von *Campylobacter*

Probenarten	n	Konventionelle mikrobiologische Methode (positiv)	nicht gewachsen	PCR	
				bestätigt	nicht bestätigt
Stanzen	320	61	5	54	2
Boden Sammelstall	22	15	2	12	1
Ablage der TK	11	2	1	2	
Fellabzugsmaschine	12	3		2	
Messer	28	7		4	3
Steribecken	1	0		0	
Türgriff Kühlraum	7	0		0	
Wand Kühlraum	22	0		0	
gesamt	423	88	8	74	6

n: Zahl der Proben

Speziesdifferenzierung

Die Speziesdifferenzierung ergab: *C.jejuni* stellte mit 55,7 % (49/88) die meisten Isolate, gefolgt von *C.lari* 14,8 % (13/88) und dann *C.coli* 11,4 % (10/88). Die Prävalenzrate von *C.jejuni* und *C.coli* war im Vergleich zur konventionellen Methode niedriger (Tab. 4. 51 und 4. 52).

Ergebnisse

Mittels PCR wurden gemischte *C.jejuni-C.coli* in 1,1 % (1/88) und gemischte *C.jejuni-C.lari* in 4,5% (4/88) der Isolate identifiziert.

Isolate, die mittels PCR nicht identifiziert werden konnten, wurden nicht zu den Spezies gerechnet, sondern als *C.spp* bezeichnet. Dies waren 3,4 % (3/88)

Hier wurde *C.jejuni* auf Oberflächen (Stanzproben) am häufigsten (65,6 %) identifiziert. *C.coli* und *C.lari* waren die vorherrschenden Spezies am Boden des Sammelstalls (33,3 %) (Tab.4.52).

Tabelle 4. 51: Vergleich zwischen konventioneller Methode und dem PCR-Ansatz zur Genus- und Speziesdifferenzierung von *Campylobacter*

	konventionell	PCR
Genus	80	74
<i>C.jejuni</i>	57	49
<i>C.coli</i>	19	10
<i>C.lari</i>	4	13
<i>C.jejuni und C.coli</i>	-	1
<i>C.jejuni und C.lari</i>	-	4
<i>C.spp.</i>	-	3

Ergebnisse

Tabelle 4. 52: Vergleich zwischen Ergebnissen der konventionellen Methode und der PCR zur Speziesdifferenzierung von *Campylobacter*

Proben	<i>Campylobacter</i> Isolate	untersuchte Isolate	konventionell						PCR												
			<i>C.jejuni</i>		<i>C.coli</i>		<i>C.lari</i>		<i>C.jejuni</i>		<i>C.coli</i>		<i>C.lari</i>		gemischt <i>C.jejuni</i> - <i>C.coli</i>		gemischt <i>C.jejuni</i> - <i>C.lari</i>		<i>C.spp</i>		negativ
			n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n
Stanzen	61	56	46	(82,1)	10	(17,9)			40	65,6	3	4,9	7	11,5	1	1,6	4	6,6	1	1,6	5
Boden Sammelstall	15	13	3	(23,1)	6	(46,2)	4	(30,8)	4	26,7	5	33,3	5	33,3					1	6,7	
Ablage TK	2	2	2	(100)					2												
Fellabzugs- maschine	3	2	1	(50)	1	(50,0)			1	60,0	1	20,0							1	20,0	
Messer	7	7	5	(71,4)	2	(28,6)			2	28,6	1	14,3	1	14,3							3
gesamt	88	80*	57	(71,3)	19	(23,8)	4	(5,0)	49	55,7	10	11,4	13	14,8	1	1,1	4	4,5	3	3,4	8

*Von 88 tiefgefrorenen Isolaten (-20° C) sind 8 Isolate nicht gewachsen

4.2.1.2.2 Ergebnisse der Molekularbiologischen Speziesdifferenzierung mittels PFGE

Von 88 ursprünglich gewonnenen *Campylobacter*- Isolaten waren insgesamt 16 Isolate nicht gewachsen¹¹, es wurden 72 Isolate molekularbiologisch mittels der Pulsed Field Gel Elektrophorese (PFGE) geprüft. Hierzu wurden die Isolate einer Makrorestriktionsanalyse unterzogen. Die Fragmente wurden mittels des Restriktionsenzym *Kpn*-I erstellt und mittels PFGE dargestellt. In 8 Fällen war mittels des Enzyms *Kpn*-I kein Restriktionsmuster möglich: Es gelang nicht, das Genom mittels dieses Restriktionsenzym zu schneiden. Insgesamt wurden von 62 geprüften Isolaten mittels PFGE 28 Muster identifiziert, es wurden auch Subtypen (z. B: K-2-1, K-8-1, K-11-1, K-13-1 und K-26-1) identifiziert. Bei den unterschiedlichen Spezies *C.jejuni* und *C.coli* traten ein identisches Bandenmuster Kpn-6 und das Bandenmuster Kpn-13 auf (Tab. 4.53).

Vertikale Durchgängigkeit:

Innerhalb einer Ausfahrt wurden gleiche Muster mehrfach beobachtet:

- Bei der Ausfahrt 7 Muster 9 am Messer und an Stanzprobe (Hals und Brust)
- Bei der Ausfahrt 10 Muster 8-1 auf der Fellabzugsmaschine, am Messer und an Stanzen (Brust)
- Bei der Ausfahrt 13 die Muster 4 und 5 auf Messer und auf Stanzen (Hals, Brust und Bauch) (Tab. 4.54)

Horizontale Durchgängigkeit:

Identische Muster wurden auch bei verschiedenen Ausfahrten gefunden:

- Muster 6 bei Ausfahrt 6 (an der Brust und am Bauch) und 13 (am Bauch)
- Muster 8 bei Ausfahrt 6 (an der Brust) und 10 (am Boden des Sammelstalls)
- Muster 15 bei Ausfahrt 4 (an der Brust) und 5 (am Hals)
- Muster 24 bei Ausfahrt 2 (an der Brust und am Bauch) und 4 (an der Keule)
- Muster 26 bei Ausfahrt 2 (am Hals) und 4 (am Hals, Brust und am Bauch) (Tab. 4.54)
- Muster 11: Muster 11-1 bei Ausfahrt 4 (an der Brust und am Bauch) und 7 (an der Keule) und Muster 11 bei Ausfahrt 7 (am Bauch), Muster 11 und 11-1 sind ähnlich
- Muster 2 und 2-1 bei Ausfahrt 12 (Boden des Sammelstalls bzw. Messer)
- Muster 8 und 8-1 bei Ausfahrt 10 (am Boden des Sammelstalls bzw. an der Brust, am Messer und an der Fellabzugsmaschine)
- Muster 26 und 26-1 bei Ausfahrt 2 (am Hals bzw. an der Brust) (Tab.4.54)

¹¹ 8 Isolate nach der ersten Aufbewahrung bei -20°C (nach der Durchführung der konventionellen Methode und bevor PCR- Ansatz)

8 nach der zweiten Aufbewahrung (nach PCR- Ansatz) nicht gewachsen

Ergebnisse

Tabelle 4. 53: Mittels *Kpn*-I als identisch definierte *Campylobacter*- Stämme

Banden muster (PFGE nach Restriktions- verdau) <i>Kpn</i> -I	Herkunft	Spezies	Anzahl der Isolate	Tierkörperstelle	Position
Kpn-1	Stanze	<i>C.jejuni</i>	1	Brust	3
Kpn-2 Kpn-2-1	Boden Sammelstall Messer	<i>C.jejuni</i>	2 1		
Kpn-3	Boden Sammelstall	<i>C.coli</i>	1		
Kpn-4	Stanze, Messer	<i>C.jejuni</i>	6	Hals,Brust	1,2,3,4
Kpn-5	Stanze, Messer	<i>C.coli</i>	2	Bauch	1
Kpn-6 Kpn-6	Stanze	<i>C.jejuni</i> <i>C.coli</i>	2 1	Brust,Bauch Bauch	4 2
Kpn-7	Stanze	<i>C.jejuni</i>	1	Bauch	4
Kpn-8 Kpn-8-1	Stanze, Boden Sammelstall Stanze,Messer,Fellabzugsmaschine	<i>C.coli</i>	2 3	Brust Brust	3 3
Kpn-9	Stanze, Messer	<i>C.jejuni</i>	3	Hals,Brust	2,3
Kpn-10	Boden Sammelstall	<i>C.jejuni</i>	1		
Kpn-11 Kpn-11-1	Stanze	<i>C.jejuni</i>	1 3	Bauch Brust,Bauch,Keule	3 3,4
Kpn-12	Stanze	<i>C.jejuni</i>	2	Hals, Brust	4
Kpn-13 Kpn-13 Kpn-13-1	Stanze	<i>C.coli</i> <i>C.jejuni</i> <i>C.jejuni</i>	1 1 1	Keule Brust Brust	4 4 3
Kpn-14	Boden Sammelstall	<i>C.lari</i>	1		
Kpn-15	Stanze	<i>C.jejuni</i>	3	Hals,Brust, Bauch	1,3,4
Kpn-16	Stanze	<i>C.jejuni</i>	1	Bauch	3
Kpn-17	Boden Sammelstall	<i>C.lari</i>	1		
Kpn-19	Fellabzugsmaschine	<i>C.jejuni</i>	1		
Kpn-20	Ablage Tierkörper	<i>C.jejuni</i>	1		
Kpn-21	Stanze	<i>C.coli</i>	1	Hals	2
Kpn-22	Stanze	<i>C.jejuni</i>	2	Bauch	3
Kpn-23	Stanze	<i>C.jejuni</i>	1	Brust	3
Kpn-24	Stanze	<i>C.jejuni</i>	5	Brust,Bauch, Keule	3,4
Kpn-25	Stanze	<i>C.jejuni</i>	1	Bauch	4
Kpn-26 Kpn-26-1	Stanze	<i>C.jejuni</i>	7 1	Hals, Bauch, Brust Brust	1,2,3,4 3
Kpn-28	Stanze	<i>C.jejuni</i>	1	Bauch	1
Kpn-30	Boden Sammelstall	<i>C.lari</i>	1		
Kpn-31	Stanze	<i>C.jejuni</i>	1	Keule	3

Ergebnisse

Tabelle 4. 54: Charakterisierung der *Campylobacter*-Isolate aus 14 Ausfahrten mittels Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE)

Probenarten	Ausfahrten														
	1	2	4	5	6	7	8	10	11	12	13	14	n		
Schlachtbetrieb	n		n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	
Boden Sammelstall			n.a.	n.a.	2	1	17	3	n.a.	2					
Ablage Tierkörper			n.a.	1				8				20	1		
Fellabzugmaschine					1			8-1	19						
Messer					2	9	1	8-1			4	1			
Stanzen	21	1	1	15	6	9	1	8-1		1	4	5			
	22	2	4	n.a.	7	11	1			2-1	5	1			
	n.a.	6	1		8	12	2			n.a.	6	1			
		26	1	6	9	13	2								
		26-1	1	28	1	11-1	1								
				31	1										
			11-1	2											
			n.a.	2											

n. a.: nicht auswertbar (nicht gewachsen, nicht geschnitten oder Mischkultur)

Die Zahlen charakterisieren die unterschiedlichen Muster

n: Zahl des Vorkommens der Bandenmuster

4.2.2 Ergebnisse der Untersuchungen auf *Listeria*

4.2.2.1 Identifizierung des Genus *Listeria*

Von den insgesamt 423 untersuchten Proben waren 47 Proben *Listeria*- positiv (11,1 %), davon 6 (27,3 %) Proben (von 22) vom Boden des Sammelstalles. *Listeria* wurde nicht gefunden im Steribecken, am Türgriff und an der Wand im Kühlraum (Tab. 4. 55).

Tabelle 4. 55: Auftreten von *Listeria* an den einzelnen Probenqualitäten

Probenarten	<i>Listeria</i>		
	n	positive Proben	(%)
Stanzen	320	36	11,3
Boden Sammelstall	22	6	27,3
Ablage der TK	11	0	0,0
Fellabzugsmaschine	12	2	16,7
Messer	28	3	10,7
Steribecken	1	0	0,0
Türgriff Kühlraum	7	0	0,0
Wand Kühlraum	22	0	0,0
gesamt	423	47	11,1

Stanzproben

Von insgesamt 320 Stanzproben waren 36 Proben *Listeria* positiv (11,3 %). Vor der Enthäutung und im Kühlraum wurden am häufigsten positive Proben registriert, während die Belastung an der zweiten und dritten Position niedriger lag (Tab. 4. 56).

An der Position 1 „vor Enthäutung“ waren 12,5 % der Stanzen *Listeria*-positiv, an der Position 2 („nach Enthäutung“) 8,8 %, nach der Evisceration 11,3 % und im Kühlraum 12,5% (Tab. 4. 56).

Tabelle 4. 56: Auftreten von *Listeria* (Genus) pro Position

Position	Probenzahl	<i>Listeria</i> spp.	(%)
1	80	10	12,5
2	80	7	8,8
3	80	9	11,3
4	80	10	12,5
gesamt	320	36	11,3

4.2.2.2 Speziesdifferenzierung

Die häufigste Spezies war *L.ivanovii* mit 27 Isolaten (57,4 %), an zweiter Stelle stand *L.denitrificans* mit 13 Isolaten (27,7 %) und an dritter Stelle kam *L.monocytogenes* mit 4 Isolaten (8,5 %). Einmal wurde *L.innocua* (2,1 %) isoliert. Die übrigen zwei Isolate (4,3 %) konnten den vier genannten Spezies nicht zugeordnet werden und wurden unter *Listeria* spp. zusammengefasst (Tab. 4. 57).

Auf den TK-Oberflächen (Stanzproben) wurden *L.ivanovii* (23 von 36) und *L.denitrificans* (11 von 36) am häufigsten nachgewiesen, dagegen war *L.monocytogenes* nur am Boden des Sammelstalls nachweisbar.

Auch die Nachweisfrequenz der Spezies war in Abhängigkeit von den Proben unterschiedlich. Hier wurde *L.ivanovii* am häufigsten auf Oberflächen (Stanzproben) gefunden, während *L.ivanovii* an der Fellabzugsmaschine überhaupt nicht gefunden wurde. *L.monocytogenes* wurde nur am Boden des Sammelstalles gefunden. *L.innocua* wurde am seltensten und nur an Stanzproben gefunden (Abb. 4. 3).

Tabelle 4. 57: *Listeria* (Spezies) an den einzelnen Probenqualitäten

Probenarten	<i>L.denitrificans</i> *	<i>L.innocua</i>	<i>L.ivanovii</i>	<i>L.monocytogenes</i>	Spezies	gesamt
Stanzen	11	1	23		1	36
Boden Sammelstall			2	4		6
Fellabzugs- maschine	1				1	2
Messer	1		2			3
gesamt	13	1	27	4	2	47
(%)	27,7	2,1	57,4	8,5	4,3	

* *L.denitrificans* wurde taxonomisch neu zugeordnet (Rocourt 1988), ist hier aber in der alten Bezeichnung belassen worden

Ergebnisse

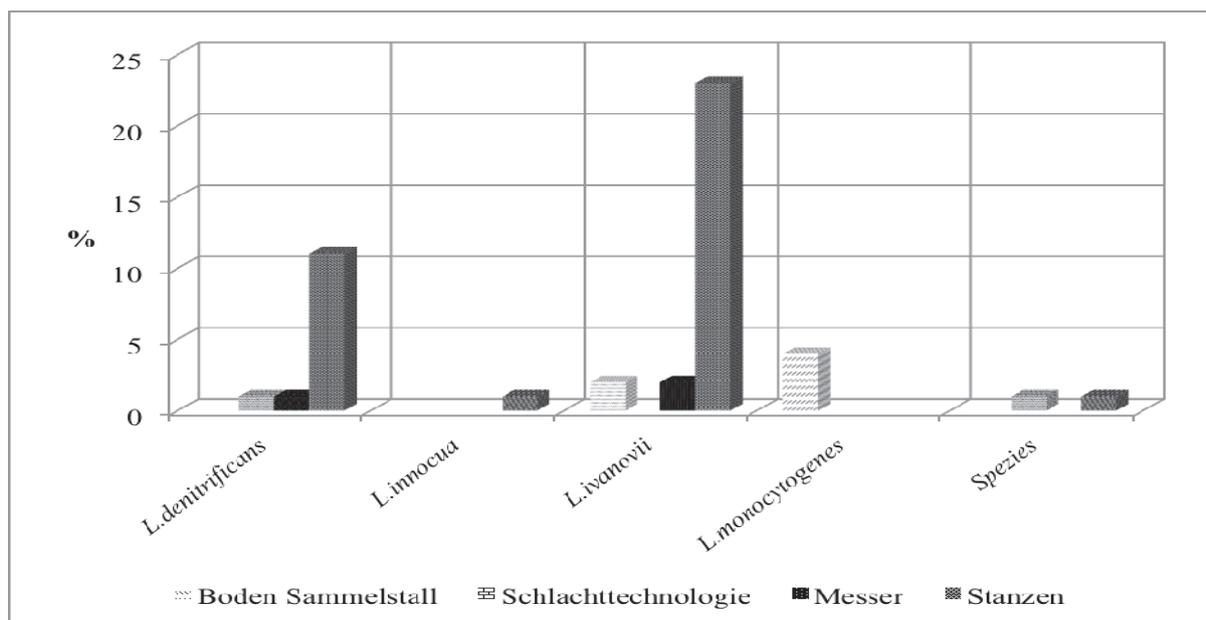


Abbildung 4. 3: Nachweis unterschiedlicher *Listeria* Spezies in den unterschiedlichen Probenqualitäten

4.2.3 Ergebnisse der Untersuchungen auf *E.coli*

4.2.3.1 Konventionelle mikrobiologische Untersuchung

Von insgesamt 423 untersuchten Proben konnten in 254 Proben *E.coli* nachgewiesen werden (60,1 %), davon in allen der 22 Sammelstall-Proben (100,0 %) und auch in allen der 12 Fellabzugsmaschine-Proben (100,0 %).

In 181 Proben der 320 Stanzproben wurde *E.coli* (56,6 %) nachgewiesen. Im Steribecken wurde der Keim nicht gefunden (Tab. 4. 58).

Tabelle 4. 58: Auftreten von *E.coli* an den einzelnen Probenqualitäten

Probenarten	<i>E.coli</i>		
	n	positive Proben	(%)
Stanzen	320	181	56,6
Boden Sammelstall	22	22	100,0
Ablage Tierkörper	11	9	81,8
Fellabzugsmaschine	12	12	100,0
Messer	28	20	71,4
Steribecken	1	0	0,0
Türgriff Kühlraum	7	5	71,4
Wand Kühlraum	22	5	22,7
gesamt	423	254	60,1

Ergebnisse

Stanzproben

Insgesamt 56,6 % der untersuchten Stanzproben (181 von 320) zeigten ein positives *E.coli*-Ergebnis mit einem steigenden Level von *E.coli*- Anzahl über die vier Positionen (Abb. 4. 4): An der Position 1 „vor Enthäutung“ zu 40,0 %, an der Position 2 „nach Enthäutung“ zu 47,5 %, nach der Evisceration zu 66,3 % und im Kühlraum zu 72,5 %. Insgesamt waren 56,6 % der Proben positiv.

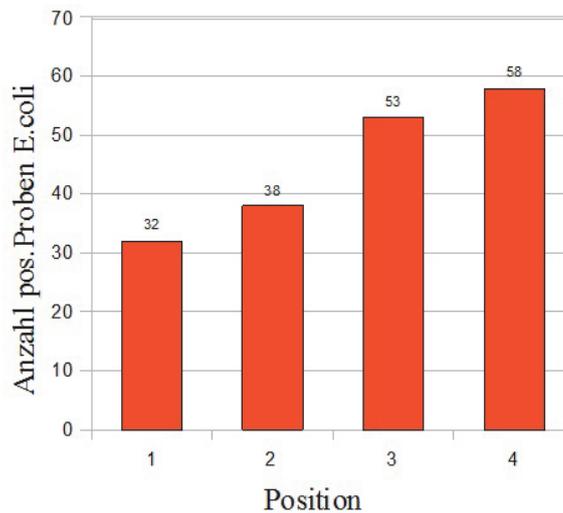


Abbildung 4. 4: Anzahl der positiven Stanzproben von *E.coli* je Beprobungsposition am Tierkörper (je Position: n = 80)

4.2.3.2 Differenzierung der Isolate mittels PCR

Von den insgesamt 423 Proben waren 254 *E.coli*- positiv (konventionelle Methode). 254 untersuchte positive Isolate wurden auch mittels PCR geprüft, davon waren 244 *E.coli* positiv (96,1%) und 10 mittels PCR negativ (3,5 %) (Tab. 4. 59).

Ergebnisse

Tabelle 4. 59: *E.coli* Nachweise mittels PCR und Vergleich mit der konventionellen Methode

Probenqualität	n	konventioneller positive Proben	Zahl der untersuchten Isolate	PCR-Ergebnisse		
				Positive	(%)	negativ
Stanzen	320	181	181	175	96,7	6
Boden Sammelstall	22	22	22	19	86,4	3
Ablage TK	11	9	9	9	100,0	-
Fellabzugsmaschine	12	12	12	12	100,0	-
Messer	28	20	20	20	100,0	-
Steribecken	1	0	-	-	-	-
Türgriff Kühlraum	7	5	5	4	80,0	1
Wand Kühlraum	22	5	5	5	100,0	-
gesamt	423	254	254	244	96,1	10

n: Zahl der Proben

4.2.4 Ergebnisse der Untersuchungen auf *Yersinia*

Die Untersuchungen auf Yersinien ergaben ein negatives Ergebnis (Tab. 4. 60).

Tabelle 4. 60: Auftreten von *Yersinia* an den einzelnen Probenqualitäten

Probenarten	<i>Yersinia</i>	
	n	Positive Proben
Stanzen	320	0
Boden Sammelstall	22	0
Ablage Tierkörper	11	0
Fellabzugsmaschine	12	0
Messer	28	0
Steribecken	1	0
Türgriff Kühlraum	7	0
Wand Kühlraum	22	0
gesamt	423	0

n: Zahl der Proben

Ergebnisse

4.2.5 Ergebnisse der Untersuchungen auf *Salmonella*

Die Untersuchungen auf Salmonellen ergaben ein negatives Ergebnis (Tab. 4. 61).

Tabelle 4. 61: Auftreten von *Salmonella* an den einzelnen Probenqualitäten

Probenarten	<i>Salmonella</i>	
	n	Positive Proben
Stanzen	320	0
Boden Sammelstall	22	0
Ablage Tierkörper	11	0
Fellabzugsmaschine	12	0
Messer	28	0
Steribecken	1	0
Türgriff Kühlraum	7	0
Wand Kühlraum	22	0
gesamt	423	0

n: Zahl der Proben

5 Diskussion

5.1 Der Schlachtbetrieb

5.1.1 Technologie und Hygiene

Die Beprobung im Schlachtbetrieb erfolgte nach Elektrobetäubung und Blutentzug an den folgenden Stationen:

- beim Entvliesen
- nach dem Entvliesen
- nach der Eviszeration
- in der Kühlung

Nach der Eviszeration und bevor die Karkassen in den Kühlraum überführt werden, wurden die Karkassen kurz mit Wasser gewaschen, die Methode ist bei verschiedenen Autoren beschrieben, um die GKZ zu reduzieren (PHEBUS et al. 1997; DORSA et al. 1996; PRASAI et al. 1995). Auch das Waschen nach der Evisceration mit Wasser von 74 °C oder mehr ist eine effiziente Methode zur Hygienisierung von Schlachtkörpern, insbesondere in Bezug auf *E.coli* O157:H7 (BOSILEVAC et al. 2006; CASTILLO et al. 1998). Auch Dampf wurde (DORSA et al. 1996) beschrieben, die Methode reduzierte in einem norwegischen Schlachtbetrieb die GKZ bis auf log 1,1 KbE / cm² nach der Kühlung (LARSEN et al. 2009). Die größte Gefahr der Übertragung von Keimen auf die Oberfläche der Karkassen kommt vom Vlies. Die Sauberkeit des Vlieses ist ein wichtiger Aspekt in der Hygiene der Schaffleischgewinnung. Nach BISS und HATHAWAY (1995) beeinflusst der Sauberkeitszustand der lebenden Tiere die mikrobiologische Beschaffenheit des Vlieses und damit die Belastung des ausgeschlachteten Tierkörpers, Tierkörper von Schafen mit langem Vlies wiesen einen höheren Keimgehalt auf (4,63 KbE/ cm²), insbesondere wenn das Vlies gewaschen wurde und feucht blieb. Der Vlies- Status der Lämmer wurde als Hauptfaktor zur mikrobiologischen Qualität der Karkassen angesehen, insbesondere am Ende des Schlachtprozesses (Kühlung). Dies stellten auch BISS und HATHAWAY (1996) fest: Das Waschen der Tiere vor der Schlachtung erhöhte die GKZ und die *E.coli*- Zahl. Ein schmutziges Vlies spielte eine große Rolle in Kontaminationsgrad und Hygiene-Zustand, bei schmutzigen Schafen waren die Enterobacteriaceae- und Coliformenzahlen höher als bei sauberen Schafen (BYRNE et al. 2007). Karkassen von Schafen mit kurzem Vlies waren weniger kontaminiert als Schafe mit langem Vlies (HOLDER und HADLEY 1996).

Direkter Kontakt zwischen den Karkassen beeinflusste den Kontaminationsgrad, eine Verhinderung dieses Kontaktes reduzierte die Kontamination der Karkassen mit Fäkalien (GARCIA et al. 2010). WHYTE et al. (2002) fanden, dass die weitestgehende Reduzierung der sichtbaren und mikrobiologischen Kontamination erzielt wurde, wenn kein Kontakt zwischen Händen und Karkassen während der Enthäutung auftrat.

5.2 Bedeutung der GKZ und der Enterobacteriaceae

Unter dem Begriff „Gesamtkeimzahl“ versteht man alle lebenden Mikroorganismen in einer definierten Menge an Probenmaterial (SCHLEGEL 2005). Sie dient dazu, den mikrobiologischen Status eines Produktes zu ermitteln, ohne jedoch eine konkrete Differenzierung dieser Mikroflora vorzunehmen (PRÄNDL 1988). Desweiteren gibt sie die Anzahl aerober, „lebensfähiger Mikroorganismen in einer bestimmten Probenmenge“ an (SCHMIDHOFER 1988). Jedoch gibt diese Methode keine Auskunft über die Zusammensetzung der einzelnen Genera und Spezies der Mikroorganismen im Lebensmittel (MARRIOTT 1992). Laut FEHLHABER (1992) gilt, dass, je höher die Gesamtkeimzahl ist, es umso wahrscheinlicher wird, dass pathogene Mikroorganismen, toxische mikrobielle Stoffwechselprodukte und Verderbniserreger vorkommen. Außerdem besteht bei hoher Gesamtkeimzahl der Verdacht auf Hygienemängel bzw. Herstellungsfehler. Die Beurteilung anhand der Gesamtkeimzahl muss unter Berücksichtigung der Art und Herstellungsweise des Lebensmittels erfolgen. So sind z. B. bei Rohwurst Werte zwischen 10^5 und 10^7 KBE/g durchaus akzeptabel (FEHLHABER 1992). Nach SINELL (1985 und 2004) ist die Gesamtkeimzahl im Rohwurst ab einer Konzentration von 10^8 KBE/g als erhöht anzusehen und kann in diesem Fall ein Hinweis auf mangelnde Hygiene im gesamten Fleischgewinnungs- und Verarbeitungsprozess sein.

Derartige Zahlen sind jedoch für das Ergebnis „frische Fleisch“ nicht vertretbar.

Enterobacteriaceae befinden sich im Darmkanal von Mensch und Tier, einige Gattungen findet man auch auf Pflanzen, im Erdboden und in Gewässern. Die Familie der Enterobacteriaceae umfasst zahlreiche verschiedene Gattungen, darunter *Escherichia*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Citrobacter*, *Shigella*, *Yersinia* und *Enterobacter* als die wichtigsten Vertreter (BAUMGART et al. 1993; ROLLE und MAYR 1993; SINELL 2004).

Enterobacteriaceae gehören zu den Mikroorganismen, die Lebensmittel negativ beeinflussen. Sie sind am Verderb von Lebensmitteln beteiligt und verursachen beispielsweise eine schmierig-schleimige Oberfläche, graugrünliche Farbveränderungen sowie fauligen Geruch

und Geschmack (SCHREITER 1981). Sie werden außerdem als Umweltindikatoren herangezogen.

5.3 Bedeutung der untersuchten Zoonoseerreger

5.3.1 Thermophile *Campylobacter*

Campylobacter ist der häufigste Grund für Magen-Darm-Infektionen beim Menschen (MILLER und MANDRELL 2005; BUZBY et al. 1997 und ADAK et al. 2005). Dabei sind 90 % der *Campylobacter*- bedingten Erkrankungen durch *C.jejuni* und der Rest durch *C.coli* bedingt (GILLESPIE et al. 2002). In England waren 96,6 % der *Campylobacter*-Fälle beim Menschen bedingt durch die Lebensmittelkette, von insgesamt 1145 *C.jejuni*- Isolat von Tieren und deren Umfeld waren Geflügel (56,5 %), Rinder (35,0 %) und Schafe (4,3 %) die Hauptlieferanten von *C.jejuni*- Erkrankungen beim Menschen. Es folgten die Wildtiere mit 2,3 %, sowie 1,1 % aus der Umgebung (WILSON 2008).

5.3.2 *Listeria*

Listerien können vom Fleisch nahezu aller Tierarten kultiviert werden (JEMMI et al. 2002). Auch über das Vorkommen von Listerien auf Wildtierkörpern wird häufiger berichtet (DEUTZ et al. 2000; HAYASHIDANI et al. 2002; PAULSEN et al. 2003; ZIEGENFUSS 2003; KORONKIEWICZ et al. 2004).

Während bei schlachtfrischen Tierkörpern von einer geringen Belastung mit Listerien auszugehen ist, kann es im Laufe der Verarbeitung der Tierkörper zu einer erheblichen Zunahme des Listeriengehaltes kommen (OZARI und STOLLE 1990).

Listerien wurden auch in Lebensmittelketten von Schafen nachgewiesen, bei Schafherden im Baskenland zu 14,2% (ESTEBAN et al. 2009), auf Karkassen im Schlachtbetrieb in der Türkei in 5% der Proben (AKPOLAT et al. 2004) und auf Lammfleisch des Einzelhandels in UK zu 40% (MACGOWAN et al. 1994).

5.3.3 *Escherichia coli*

Escherichia coli ist ein natürlich vorkommender Keim im Darm von Vögeln und warmblütigen Säugetieren. Ebenso ist er Bestandteil der Darmflora des Menschen. Bestimmte Stämme von *Escherichia coli* können bei Tieren und Menschen schwerwiegende Erkrankungen hervorrufen. Die Bedeutung von *Escherichia coli* als Verursacher von Infektionen des Menschen ist seit den 1920er Jahren bekannt. *E.coli* spielt als häufigster Verursacher von bakteriellen Harnwegsinfektionen eine wichtige Rolle (BfR 2012).

STEC und EHEC können blutige Durchfallerkrankungen und das Hämolytisch-Urämische Syndrom verursachen. Sie kommen natürlicherweise im Darm von Rindern, Schafen und Ziegen vor. Bei der Lebensmittelproduktion sind besonders tierische Lebensmittel wie Fleisch- und Milchprodukte gefährdet, mit STEC/EHEC- Keimen verunreinigt zu werden. Auch die direkte Übertragung vom Tier auf den Menschen und von Mensch zu Mensch spielt eine wichtige Rolle bei der Verbreitung von STEC/EHEC-Infektionen (BfR 2012).

Im Jahr 2011 kam es in Deutschland zu einem großen EHEC-Ausbruch aufgrund von mit EHEC- Keimen verunreinigten Bockshornkleeisamen, die in der Sprossenproduktion eingesetzt wurden (BfR 2012).

5.3.4 *Yersinia enterocolitica*

In Deutschland sind im Jahr 2002 weit über 7400 Menschen an einer Infektion mit *Yersinia enterocolitica* erkrankt. Das Bakterium belegt damit Platz 3 aller meldepflichtigen bakteriellen Darminfektionen des Menschen hinter *Salmonella* und *Campylobacter* in Deutschland (RKI 2004). Als Hauptinfektionsquelle bei Yersiniosen gilt rohes oder ungenügend erhitztes Schweinefleisch (TAUXE et al. 1987). Dies unterstreicht die Bedeutung von *Yersinia enterocolitica* als „food-borne-pathogen“.

5.3.5 *Salmonella*

Bakterien der Gattung *Salmonella* sind in der Natur weit verbreitet, sie werden bei vielen kalt- und warmblütigen Tieren in allen Erdteilen nachgewiesen. Sie sind heute in vielen Ländern der Welt eine von den wichtigsten bakteriellen Durchfallerregern bei Menschen. Sie werden häufig von Tieren, besonders durch tierische Lebensmittel, auf Menschen übertragen. In Deutschland gehört die Salmonellose neben den akuten Atemwegserkrankungen zu den häufigsten Infektionskrankheiten überhaupt. Der Anteil der gemeldeten Krankheitsfälle wird jedoch nur auf 10 bis 20 % der tatsächlichen Erkrankungen geschätzt (BfR 2012). In den letzten Jahren konnten 90 % der lebensmittelbedingten Infektionen auf Salmonellen zurückgeführt werden. Besonders begünstigt wird die Verbreitung von Salmonellen durch eine mangelhafte Kühlung von Lebensmitteln (BfR 2012). Dadurch kann speziell im Sommer durch rapide Vermehrung der Bakterien in Lebensmitteln rasch eine kritische Infektionsdosis erreicht werden (BfR 2012).

Die meisten der über 2.500 Serovaren können bei Menschen und allen Tierarten vorkommen. Einige Serovaren, wie *S.Typhi*, *S.Paratyphi*, aber auch *S.Gallinarum* und *S.Dublin* sind

wirtsspezifisch und typischerweise nur bei Menschen bzw. Hühnern und Rindern zu finden (BfR 2012).

5.4 Beprobung und Nachweistechiken

5.4.1 Das Probenmaterial

5.4.1.1 In den Beständen

Die Tiere stammten aus unterschiedlichen Beständen in Brandenburg.

Innerhalb dieser Untersuchung wurden 321 Proben auch in der Haltung gewonnen (MEEYAM 2010). Ebenfalls am Schlachtbetrieb wurden Vlies-, Lymphknoten- und Kotproben entnommen, die jedoch zu den Beständen gerechnet wurden, weil sie eine Aussage über die Tiere des Bestandes zulassen.

Die Lymphknoten des Magen-Darm-Traktes spielen eine zentrale Rolle bei der Abwehr von Mikroorganismen, die im Begriff sind, in die Darmwand einzudringen.

Die 321 Proben wurden aus 10 unterschiedlichen Schafbeständen unterschiedlicher Art gewonnen (Tränkwasser, Futter, Tretmist, Klauenabstriche, Klauenbad, Trogabstriche, Lecksteinabstriche und Wasserleitungs-Isolierungen), um auch Faktoren erfassen zu können, die den Eintrag oder die Verbreitung von pathogenen Erregern oder die Keimflora auf einem Schafbetrieb beeinflussen.

In Südosten der US- Bundesstaaten wurden Kotproben und Vlies geprüft, die Proben waren zu 9 % und 18 % *E.coli* O157:H7- positiv, die *Salmonella*-Rate in den Kotproben betrug 7 % (EDRINGTON et al. 2009).

5.4.1.2 Im Schlachtbetrieb

Prozesspositionen

Die Proben wurden unmittelbar nach dem Einbringen der Tiere in den Schlachtbetrieb und an vier Prozesspositionen (vor dem Entvliesen, nach dem Entvliesen, nach der Eviszeration und im Kühlraum) gewonnen. Zur Erfassung der Auswirkung aller Produktionsschritte wurden nach der Eviszeration direkt vor dem Eintritt der Tierkörper in die Kühlung zum dritten Mal Proben entnommen, zur Einschätzung des Kühlungseinflusses wurde dort eine vierte Beprobung durchgeführt. In unterschiedlichen Bereichen im Schlachtbetrieb wurden auch Umgebungsproben entnommen, um Auswirkung der Ausrüstung des Schlachtbetrieb auf den Tierkörper und umgekehrt zu erkennen.

Es ist zu beachten, dass wegen der Entfernung zwischen Probenahmeort und Untersuchungslabor die Proben ca. 30 Minuten nach dem Eintritt in die Kühlung genommen

wurden und somit die genannten Effekte der Kühlung noch nicht zum Tragen kommen konnten. Diese Position stellt somit den Status der Karkassen am Ende der Technologie dar. Die Proben wurden in rückwärtiger Richtung zuerst im Kühlraum entnommen, um die Reihenfolge vom reinen zum unreinem Bereich einhalten zu können.

Tierkörper

Die Probenentnahme erfolgte an unterschiedlichen Tierkörpern an allen Prozesspositionen außer der ersten Ausfahrt, wo an Prozesspositionen 3 (nach der Eviszierung) und 4 (im Kühlraum) die Tierkörperstellen am selben Tierkörper beprobt wurden.

Die Probenentnahme erfolgte an Hals und Brust, weil diese Stellen die stärkste Kontamination aufweisen (ZWEIFEL 2002). Zwar sind für jeden Schlachtbetrieb spezifische Kontaminationsrisiken gegeben, Hals und Brust werden jedoch zur Beprobung von Schafschlachtetierkörpern empfohlen (ELLERBROEK et al. 1993; SIERRA et al. 1995; BELL und HATHAWAY 1996; DUFFY et al. 1999; ZWEIFEL 2002).

Die Festlegung der Probeentnahmestellen erfolgte an Schlachtetierkörperstellen mit einem erhöhten Kontakt zu Oberflächen der Schlachtlinie bzw. zu Geräten und Händen. ROBERTS et al. (1980) schlugen besonders belastete Körperstellen zur Beprobung vor, was durch innerbetriebliche Untersuchungen zu ermitteln sei.

Um den mikrobiellen Ausgangsstatus der Tiere zu Beginn der Fleischgewinnung zu erfassen, wurde die erste Probe vor dem Entvliesen genommen. Die Auswirkungen der Enthäutungsstechniken insgesamt auf den Hygienestatus wurden dann durch Probenentnahme nach dem Entvliesen (Hals, Brust und Bauchbereich) geprüft.

Zusätzlich wurden Umgebungsproben gewonnen: vom Boden des Wartestalls vor der Betäubebucht, vom Wand im Kühlraum, vom Vliesabzuggerät, vom Messer und von der Ablage der TK nach dem Abziehen des Vlieses), um mögliche Kontaminationen durch den Kontakt zwischen den Tierkörpern bzw. Händen und der Schlachtausrüstung zu erkennen.

5.4.2 Kühlung des Probenmaterials

Alle Proben wurden im Kühlraum des Schlachtbetriebes gekühlt. Die Proben wurden danach in einer Kühlbox unmittelbar ins Institut transportiert und im Kühlschrank bis zum nächsten Tag aufbewahrt. Nach der Bearbeitung wurden alle Proben aus hygienischen Gründen im Autoklav hitzebehandelt und ordnungsgemäß entsorgt.

Als mögliche Ursache für gefundene niedrigere Keimzahlwerte weisen HOLDER et al. (1997) darauf hin, dass ihre Proben im Schlachtbetrieb gefroren wurden, während die Proben einer anderen Arbeit gekühlt transportiert wurden.

BAILEY et al. (2000) zeigten, dass sich die Keimzahl während einer Lagerungszeit von zwei Wochen bei -18° C nicht veränderte. Auch für Salmonellen konnten die Autoren zeigen, dass Salmonellen über diesen Zeitraum bei Gefriertemperaturen von -18° C nicht signifikant reduziert oder abgetötet werden.

Auch wurden festgestellt, dass gramnegative Bakterien allgemein tiefgefrierempfindlich sind und dass es zu Einbußen kommt, jedoch nur über längere Zeitspannen (FRIES und EGGERDING 1997).

5.4.3 Die Beprobungstechnik

5.4.3.1 Nachweis thermophiler *Campylobacter*

Isolierung

Die selektive Anreicherung erfolgte mittels Bolton-Bouillon (Oxoid[□]) nach dem Entwurf der DIN ISO DIS 10272 (2004). Bolton- Bouillon zeigte im Vergleich mit zwei anderen Anreicherungsmedien (*Campylobacter*- Anreicherungsbouillon, Preston- Bouillon) die besten Ergebnisse hinsichtlich des Wachstums von *Campylobacter* und der Unterdrückung der Begleitflora (BAYLIS et al. 2000).

Als Selektivnährböden wurde mCCDA Oxoid[□] gewählt, der für den Entwurf der DIN ISO 10272 von 2004 gewählt worden war. mCCDA ist selektiver und spezieller als die verglichenen Medien nach GHAZWAN et al. (2009).

Am Nachweisgang, wie er in der DIN vorgegeben ist, wurde geringfügige Änderung vorgenommen:

Zur Vorbereitung der Bestätigung von *Campylobacter* wurden die ausgewählten Kolonien auf Selektivagar nicht in 10 ml Brucella-Bouillon, wie im Entwurf DIN ISO DIS 10272 von 2004 angegeben, sondern direkt auf Blutplatten (Columbia-Agar) beimpft und in einer mikroaeroben Atmosphäre bebrütet.

Identifizierung

Die Angaben zum Verhalten von *C.coli* bezüglich der H₂S-Bildung (DIN ISO DIS 10272 2004; SMIBERT 1994; VANDAMME und GOOSSENS 1992) sind unterschiedlich (Tab.5.1).

Tabelle 5. 1: *C.coli* und *C.jejuni* bezüglich der H₂S- Bildung

Quelle	<i>C.coli</i>	<i>C.jejuni</i>
DIN ISO DIS 10272 (2004)	(+)	-
Smibert (1994)	+	
Vandamme und Goossens (1992)	-	

- **Konventionelle Methode**

Als mögliche Schwachstelle der konventionellen *Campylobacter*-Diagnostik muss die Differenzierung zwischen *C.coli* und *C.jejuni* angesehen werden. Einziges Unterscheidungsmerkmal zwischen *C.jejuni* und *C.coli* ist das Vermögen von *C.jejuni*, Hippurat zu hydrolysieren, welches *C.coli* fehlt (BOES et al. 2005).

Der Hippurattest ist jedoch fehleranfällig: Die Ergebnisse der Hippurat-Hydrolyse sind nicht immer gut ablesbar. Auch können im Falle von Mischkulturen widersprüchliche Ergebnis auftreten (MILLER et al. 2000).

Sensibilität gegenüber Nalidixinsäure und Cefalotin zur Identifizierung und zum Vergleich von *C.lari* und *C.coli*: Festgestellt wird eine Zunahme der Resistenz bestimmter Stämme von *C.jejuni* und *C.coli* gegenüber Nalidixinsäure (DIN ISO 10272-1: 2004; BOSTAN et al. 2009; RAHIMI et al. 2010). Daher sind diese Tests mit einer eingeschränkten Aussagekraft verbunden, stellen jedoch zentrale Parameter dar.

- **PCR-Ansatz**

Vor diesem Hintergrund bietet sich die PCR an, um eine exaktere Speziesdifferenzierung zu gewährleisten.

Die Polymerase Chain Reaktion (PCR) gilt als alternative, schnelle und sensible Untersuchung zur Identifizierung von *C.jejuni* und *C.coli* von Menschen und Tieren (ERTAS et al. 2003), wobei alle konventionell identifizierten positiven *C.jejuni* und *C.coli* Isolate (ERTAS et al. 2003) auch positiv mittels PCR waren.

In dieser Studie wurde die PCR durchgeführt, um das Genus *Campylobacter* zu bestätigen. 84,1 % der identifizierten *Campylobacter*-Isolate waren auch PCR-positiv.

Zur Genus-Bestätigung mittels PCR wurde eine *Campylobacter*-spezifische Sequenz aus der 23S rRNA nach Wang et al. (2002) verwendet, ebenso zur Identifizierung von *C.jejuni* und *C.coli*, während der Primer zur Identifizierung von *C.lari* von EYERS et al. (1993) übernommen wurde (6 Paare in einer Multiplex- PCR). Nach WANG et al. (2002) liegt die

Empfindlichkeit der Multiplex-PCR für *C.jejuni* zwischen 10^8 bis 10^{13} KBE/ ml, für *C.coli* von 10^6 bis 10^{13} KBE/ ml.

5.4.3.2 Nachweis von *Listeria*

L.monocytogenes ist ein wichtiger zoonotischer Erreger, Lebensmittel sind Carrier für die Human- Listeriose (DOYLE und BEUCHAT 2007), die Assoziation von *Listeria* und Schafen ist bekannt.

Isolierung

Die selektive Anreicherung erfolgte mittels ONE Bouillon in Anlehnung an § 64 LFGB und nach der Standardmethode ISO 11290:1995.

Als Selektivnährboden wurde der OCLA-Agar (Oxoid®) gewählt. OCLA hat eine ähnliche Zusammensetzung wie ALOA. Statt Phosphatidylinositol wird jedoch bei OCLA Sojalecithin zugesetzt, welches das Enzym Phosphatidylcholin-Phospholipase C (PC-PLC) detektiert, hier erscheinen auch pathogene *L.ivanovii* mit Hof, da auch diese PC-PLC besitzen.

L.monocytogenes bildet Phospholipasen, die das im Nährboden enthaltene Lecithin spalten und zu trüben Präzipitationszonen um die Kolonien führen.

In der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren werden als selektive Nährböden der OXFORD-Agar und der PALCAM-Agar angegeben (CURTIS et al. 1989). Da diese aber eine Unterscheidung zwischen apathogenen und pathogenen Spezies allein nicht zulassen (REISSBRODT 2004), und da für eine Abgrenzung der apathogenen von den pathogenen Spezies weitere Untersuchungen nötig sind, wurde in den hier vorliegenden Untersuchungen das Selektiv-Medium OCLA-Agar gewählt.

WILLIS et al. (2006) stellten fest, dass OCLA eine gleichwertige Wiederfindungsrate hat wie ALOA und dass das kostengünstigere Sojalecithin eine passende Alternative zu Phosphatidylinositol ist. OCLA könne daher als Alternative für ALOA in die Standardmethode aufgenommen werden.

Identifizierung

Mittels biochemischer Untersuchungen wurden 4 Spezies (*L.ivanovii*, *L.denitrificans*, *L.monocytogenes* und *L.innocua*) identifiziert, 2 von 47 Isolaten konnten keiner dieser vier Spezies zugeordnet werden. Diese Isolate wurden unter *Listeria* spp. zusammengefasst.

Andere Methoden (Serotypisierung und PFGE) können weitere Informationen zur *Listeria*-Epidemiologie ermöglichen (ESTEBAN et al. 2009; GIANFRANCESCHI et al. 2009).

5.4.3.3 Nachweis von *E.coli*

Isolierung

Zur Isolation wurde die selektive flüssige Anreicherung Brila- Bouillon nach DIN ISO 16654 verwendet und als Selektivnährböden der Fluorocult® ECD-Agar. Der ECD-Nährboden entspricht der deutsch-DIN-Norm 10110 für die Untersuchung von Fleisch und Lebensmitteln und der ISO-Norm 6391 (1996) für die Zählung von *E.coli* in Fleisch und Fleischerzeugnissen.

Die Gallensalz Mischung dieses Agars hemmt weitgehend die Begleitflora, mittels Fluoreszenz auf ECD- Agar unter UV- Licht und mittels der positiven Indol-Reaktion kann *E.coli* von anderen gewachsenen Kolonien unterschieden werden. Die Kombination Fluoreszenz mit positiver Indol- Reaktion hat eine Spezialität von 99,2 % und eine Sensibilität von 85,8 % (HEIZMANN et al. 1988).

Die Mehrheit der *E.coli* enthält das Enzym β -Glucuronidase, das 4-Methylumbelliferyl- β -D-Glucuronidase (MUG) in die Glucuron Säure und Methylumbelliferon spaltet. Methylumbelliferon fluoresziert unter UV-Licht. Diese Reaktion β -D-Glucuronidase-identifizierte zu 61,1 % VTEC (BEUTIN et al. 1994): *E.coli* O157:H7 ist nicht β -D-Glucuronidase -aktiv (FENG und LAMPEL 1994; MONDAY et al. 2001). Diese Serovar kann somit hier unterrepräsentiert sein.

5.4.3.4 Nachweis von *Yersinia enterocolitica*

Isolierung

Nach DIN ISO 10273 (2003) wurde die OSSMER- Bouillon (WAUTERS 1973; SCHIEMANN 1979) als flüssige Anreicherung verwendet. Diese Untersuchungsmethode und die Anreicherungszeit waren nicht optimal zur Identifizierung von pathogenen *Y.enterocolitica* beim Schwein (Tonsillen) (VAN DAMME et al. 2010). Im Vergleich dazu ergab die Reduzierung der Bebrütungszeit von 5 auf 2 Tage in PSB- Bouillon ein besseres Ergebnis bei Proben vom Schwein (VAN DAMME et al. 2010).

In der OSSMER-Bouillon sind die antibiotischen Substanzen Irgasan und Bacitracin enthalten. Beide Substanzen hemmen das Wachstum von störenden Begleitkeimen und unterstützen die Vermehrung von *Yersinia enterocolitica*. Nach der Bebrütung wurde KOH als alkalische Behandlung verwendet, um die störende Begleitflora weiter zu reduzieren, *Y.enterocolitica*- Stämme zeigen mehr Toleranz gegenüber alkalischen Lösung als andere gramnegative Bakterien (AULISIO et al. 1980).

Als Selektivnährböden wurde CIN-Agar gewählt. Der CIN-Agar wirkt durch Zusatz von Antibiotika (Cefsulodin, Irgasan und Novobiocin) hemmend auf das Wachstum von *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* sowie *Proteus mirabilis*. Durch die Fermentation von Mannit bilden *Yersinia*-Stämme Kolonien mit einem himbeerroten Zentrum, umgeben von einer klaren Randzone (SCHIEMANN 1979).

Die Wirksamkeit der Anreicherungsverfahren hängt ab von den Serotypen von *Yersinia* spp. und von dem untersuchten Lebensmitteltyp, deshalb könnte die Verwendung verschiedener Anreicherungsmedien und Nährböden ein höhere Ergebnisquote erzielen (DE BOER 1992).

5.4.3.5 Nachweis von *Salmonella*

Diese Untersuchung wurde nach DIN ISO 6579:2002 durchgeführt. Für die selektive Anreicherung wurden die Kombination RV-Medium und Tetrathionat-Bouillon eingesetzt. Das RV-Medium ist in § 64 LFGB vorgeschrieben und erbringt hohe Nachweisraten (ATANASSOVA et al. 1998; MÜLLER et al. 1997; WICHMANN-SCHAUER et al. 2000). Die Tetrathionat-Bouillon erbrachte höhere Nachweisraten als die Selenit-Cystin-Bouillon (MÜLLER et al. 1997).

Die Wahl der Differenzialnährböden fiel auf den in § 64 LFGB vorgeschriebenen BPLS-Agar sowie den Rambach[®]-Agar (Merck). Der Rambach[®]-Agar gilt als zuverlässiges und selektives Diagnostikmedium zur Identifizierung von *Salmonella* Spezies (GARRICK und SMITH 1994; CARRIQUE-MAS et al. 2009) und wurde aufgrund der in der Literatur beschriebenen guten Ergebnisse ausgewählt (ATANASSOVA et al. 1998; MÜLLER et al. 1997; WEBER und WACOWITZ 1994; WICHMANN-SCHAUER et al. 2000).

Der Rambach[®]-Agar ist effektiver als der Xylose-Lysine-Desoxycholate (XLD)-Agar (EL-SHERIF und ELMOSSALAMI 1998).

Mittels des gleichen Verfahrens (Voranreicherung und Anreicherung) fand sich *Salmonella abortus ovis* bei Schafaborten in Keimzahlen von $6,5 \times 10^3$ bis $6,5 \times 10^4$ Kbe/g (STING et al. 1997).

5.5 Die Ergebnisse

5.5.1 Quantitative Analysen

5.5.1.1 Aerobe Gesamtkeimzahl (GKZ)

In dieser Studie lagen die Keimgehalte ohne Berücksichtigung der Prozessposition, jedoch in Abhängigkeit von der Ausfahrt, an Hals, Brust und Bauch zwischen $\log_{10} 3$ und $\log_{10} 4$, während an der Keule Werte zwischen $\log_{10} 2$ und $\log_{10} 4$ und an dem Vorderbein zwischen

Diskussion

$\log_{10} 1$ und $\log_{10} 4$ festgestellt wurden. In einzelnen reichten die GKZ- Werte von 1,70 KbE/cm² am Vorderbein bis zu 4,84 KbE/cm² an der Brust (Tabelle 4. 1).

Der höchste Mittelwert der GKZ lag im Durchschnitt aller Prozesspositionen am Bauch bei $\log 4,31$ KbE/cm² und der niedrigste am Vorderbein und an der Keule bei $\log 3,31$ KbE/cm² (Tab. 4. 2).

In Abhängigkeit von der beprobten Tierkörperstelle und der Prozessposition reichten die Werte (\bar{x}) von 2,78 KbE / cm² (Keule an Prozessposition 2) bis zu 4,45 KbE / cm² (Bauch an Prozessposition 4). Der höchste Durchschnittswert (\bar{x}) fand sich an der Prozessposition 4 in der Kühlung ($\bar{x} = 4,10$ KbE / cm²) und der niedrigste an der Prozessposition 2 nach dem Entvliesen ($\bar{x} = 3,83$ KbE / cm²) (Tab. 5. 2).

Tabelle 5. 2: GKZ in Abhängigkeit von beprobter Tierkörperstelle und Prozessposition (in log KbE / cm²)

Position	Hals			Brust			Bauch			Vorderbein*			Keule**			Ø (\bar{x})
	n	\bar{x}	s	n	\bar{x}	s	n	\bar{x}	s	n	\bar{x}	s	n	\bar{x}	s	
1	18	3,73	1,30	18	4,26	0,91	18	4,26	0,68	18	3,31	1,15	-	-	-	3,89
2	18	3,96	1,42	18	4,30	1,19	18	4,26	1,18	-	-	-	18	2,78	1,12	3,83
3	18	3,79	0,75	18	4,22	0,41	18	4,27	0,66	-	-	-	18	3,52	0,77	3,95
4	18	3,80	0,69	18	4,33	0,56	18	4,45	0,53	-	-	-	18	3,64	0,70	4,10

* Vorderbein: an Positionen 2, 3 und 4 nicht beprobt

** Keule: an Position 1 nicht beprobt

n: Zahl der Proben, \bar{x} : Durchschnitt der GKZ, s: Standardabweichung, -: Keine Beprobung

Ohne Berücksichtigung der Prozesspositionen wurde ein signifikanter Unterschied zwischen den Tierkörperstellen Brust und Vorderbein ($p = 0,000$) festgestellt. Dieser war höher als der Unterschied zwischen den anderen Tierkörperstellen (Tab. 4. 3).

Innerhalb der Prozessposition: Beim Entvliesen (Position 1) zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen Bauch und Vorderbein ($p = 0,005$) im Vergleich zu anderen Tierkörperstellen (Tab. 4. 7).

Nach Beendigung des Entvliesens (Position 2) wurde ein signifikanter Unterschied nur zwischen Hals und Keule ($p = 0,009$) ermittelt (Tab. 4. 10).

Diskussion

Nach der Evisceration (Position 3) konnte ein signifikanter Unterschied zwischen Brust und Keule ($p = 0,002$) ermittelt werden, der höher war als der Unterschied zwischen anderen Tierkörperstellen (Tab. 4. 13).

In der Kühlung (Position 4) errechnete sich der höchste signifikante Unterschied zwischen Bauch und Keule ($p = 0,000$) (Tab. 4. 16).

Zwischen den Prozesspositionen gab es keinen signifikanten Unterschied ($p = 0,488$, Tab. 4. 22).

Vergleich mit den Literaturangaben

BISS und HATHAWAY (1998) fanden die höchste Werte nach dem Entvliesen (Position 2) bei $\log 4,66 \text{ KbE/cm}^2$, während sich der höchste Durchschnittswert ($4,10 \text{ KbE/cm}^2$) in dieser Untersuchung an Position 4 (Kühlraum) fand.

Ansteigende Werte im Ablauf weisen auf technisch-hygienische Mängel hin (HAUGE et al. 2011). Vor der Kühlung wurde eine GKZ von $\log 5,55 \text{ KbE/cm}^2$ (im Durchschnitt von Brust und Keule) gefunden (HAUGE et al. 2011). Dies ist höher als in der eigenen Untersuchung.

Diese Untersuchung ergab nach dem Entvliesen einen signifikanten Unterschied zwischen Hals und Keule von $p = 0,009$. Im Vergleich dazu gab es in der Literatur während des Entvliesens einen signifikanten Unterschied zwischen den Tierkörperstellen von $p < 0,01$ (GILL et al. 2000).

In dieser Untersuchung stieg die GKZ an der Brust und am Bauch bis zur letzten Prozessstufe auf $4,33 \text{ KbE/cm}^2$ bzw. $4,45 \text{ KbE/cm}^2$ an (Tab. 5.2), in der Literatur stiegen die Werte an der Hüfte bis zur letzten Prozessstufe an ($\log 3,49 \text{ KbE/cm}^2$) (BISS und HATHAWAY 1998), an Keule, Flanke und Brust lagen sie (im Durchschnitt) bei $\log 2,80 \text{ KbE/cm}^2$ (SUMNER et al. 2003), somit niedriger als die Ergebnisse in dieser Untersuchung. GILL et al. (1999) fanden an drei Probenahmestellen an allen Prozesspositionen ähnliche GKZ-Werte (an der Schulter bei $\log 4,54 \text{ KbE/cm}^2$, an der Lende bei $4,48 \text{ KbE/cm}^2$ und am Bein bei $4,62 \text{ KbE/cm}^2$), es gab keinen signifikanten Unterschied zwischen den Tierkörperstellen ($p > 0,05$).

In der Literatur lag der höchste Mittelwert (Einzelwerte) bei $\log 3,8 \text{ KbE/cm}^2$ an der Brust, der niedrigste Wert lag bei $\log 2,5 \text{ KbE/cm}^2$ an der Schulter (ZWEIFEL und STEPHAN 2003), die hier vorgelegten Untersuchungen ergaben als höchsten Mittelwert eine GKZ von $\log 4,34 \text{ KbE/cm}^2$ am Bauch und den niedrigsten am Vorderbein ($\log 3,20 \text{ KbE/cm}^2$) (Tab.4.1).

5.5.1.2 Enterobacteriaceae

Von insgesamt 320 Stanzproben waren 110 (34,4 %) Enterobacteriaceae-positiv. Die Werte (\bar{x}) reichten ohne Berücksichtigung der Prozessposition und in Abhängigkeit von der Ausfahrt von $< 1,40 \text{ KbE} / \text{cm}^2$ an allen Tierkörperstellen bis zu $2,46 \text{ KbE} / \text{cm}^2$ am Bauch (Tab. 4. 25). Die Werte lagen im Allgemeinen zwischen $\log_{10} 1$ und $\log_{10} 2$.

Ohne Berücksichtigung der Prozessposition lag der höchste Mittelwert am Bauch bei $\log 1,73 \text{ KbE}/\text{cm}^2$ und der niedrigste am Vorderbein bei $\log 1,40 \text{ KbE} / \text{cm}^2$ (Tab. 4. 26).

In Abhängigkeit von der beprobten Tierkörperstelle und der Prozessposition reichten die Werte (\bar{x}) von $< 1,40 \text{ KbE} / \text{cm}^2$ (Vorderbein und Keule) bis zu $1,85 \text{ KbE} / \text{cm}^2$ (Bauch). In Abhängigkeit von der Prozessposition fand sich der höchste Durchschnittswert (\bar{x}) im Kühlraum (Prozessposition 4, $\bar{x} = 1,70 \text{ KbE} / \text{cm}^2$) und der niedrigste beim Entvliesen (Prozessposition 1, $\bar{x} = 1,50 \text{ KbE} / \text{cm}^2$) (Tab. 5. 3).

Tabelle 5. 3: Enterobacteriaceae in Abhängigkeit von beprobter Tierkörperstelle und Prozessposition (in $\log \text{KbE} / \text{cm}^2$)

Position	Hals			Brust			Bauch			Vorderbein *			Keule **			\bar{x}
	n	\bar{x}	s	n	\bar{x}	s	n	\bar{x}	s	n	\bar{x}	s	n	\bar{x}	s	
1	18	1,41	0,14	18	1,61	0,35	18	1,58	0,37	18	1,40	0,00	-	-	-	1,5
2	18	1,54	0,30	18	1,62	0,28	18	1,85	0,74	-	-	-	18	1,40	0,00	1,6
3	18	1,52	0,24	18	1,56	0,33	18	1,74	0,41	-	-	-	18	1,54	0,36	1,6
4	18	1,78	0,44	18	1,69	0,40	18	1,73	0,33	-	-	-	18	1,58	0,31	1,7

* Vorderbein: an Positionen: 2, 3 und 4 nicht beprobt

** Keule: an Position 1 nicht beprobt

n: Zahl der Proben, \bar{x} : Durchschnitt der GKZ, s: Standardabweichung, -: keine Beprobung

Ohne Berücksichtigung der Prozesspositionen wurde ein signifikanter Unterschied zwischen Bauch und Keule ($p = 0,004$) festgestellt, der höher war als der Unterschied zwischen den anderen Tierkörperstellen (Tab. 4. 27).

Innerhalb der Prozessposition: Beim Entvliesen zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen Brust und Vorderbein ($p = 0,018$), der höher war als der Unterschied zwischen anderen Tierkörperstellen (Tab. 4. 31).

Nach dem Entvliesen (Prozessposition 2) konnte ein signifikanter Unterschied zwischen den Tierkörperstellen Brust und Keule ($p = 0,003$) ermittelt werden im Vergleich zu anderen

Tierkörperstellen (Tab. 4. 34). Dagegen wurde nach der Evisceration und in der Kühlung (Prozesspositionen 3 und 4) kein signifikanter Unterschied zwischen den Tierkörperstellen ermittelt (Tab. 4. 37 und 4. 39).

Zwischen den Prozesspositionen gab es einen signifikanten Unterschied von $p = 0,024$ (Tab. 4. 44).

Vergleich mit den Literaturangaben

In der Literatur wurden Werte von $< 1 \log_{10} \text{ KbE/cm}^2$ festgestellt (SIERRA et al. 1995b), in dieser Untersuchung lagen die Werte im Allgemeinen höher, allerdings auch nur zwischen $\log_{10} 1$ und $\log_{10} 2$.

In einer anderen Studie lag die Zahl der Enterobacteriaceae im Kühlraum (24 h nach der Kühlung) bei $1,94 \text{ KbE/cm}^2$ (im Durchschnitt von Brust und Keule) (HAUGE et al. 2011), in der vorliegende Studie lag der höchste Durchschnittswert niedriger ($\log 1,70 \text{ KbE/cm}^2$ im Kühlraum).

SIERRA et al. (1997) ermittelten einen signifikanten Unterschied nach der Eviszeration zwischen den Tierkörperstellen (Hals, Bein und Flanke) ($p < 0,001$), während in dieser Studie nach der Evisceration kein signifikanter Unterschied zwischen den Tierkörperstellen ermittelt werden konnte.

Von insgesamt 320 Stanzproben waren hier 110 (34,4 %) Enterobacteriaceae-positiv. ZWEIFEL und STEPHAN (2003) fanden einen Prozentsatz von 42,2 % an der Brust und 2,6 % an den Hinterbeinen.

Die VO (EG) Nr. 1441/2007

Die Ergebnisse dieser Studie liegen in dem Rahmen, der durch die VO (EG) Nr. 1441/2007 festgelegt ist.

Gesamtkeimzahl

Insgesamt wurden 320 Proben auf Gesamtkeimzahl und Enterobacteriaceae geprüft. Im Allgemeinen lag der Mittelwert der GKZ im Durchschnitt bei $\log 3,8 \text{ KbE/cm}^2$ (Tab. 4. 1). Nach der VO (EG) Nr. 1441/2007 zur Bewertung mikrobiologischer Ergebnisse liegen die Grenzwerte zwischen $\log 3,5 \text{ KbE/cm}^2$ und $5,0 \text{ KbE/cm}^2$ (Tab. 5. 4 und Tab. 5. 5). Die hier erarbeiteten Ergebnisse waren somit akzeptabel, weil sie zwischen den Minimal- und Maximal- Grenzwerten ($3,5 < 3,8 < 5,0$) liegen.

Enterobacteriaceae

Im Allgemeinen lag der Mittelwert für Enterobacteriaceae im Durchschnitt bei log 1,58 KbE/cm² (Tab. 4. 25). Die Grenzwerte der Enterobacteriaceae nach der VO (EG) Nr. 1441/2007 liegen zwischen 1,5 KbE/cm² und 2,5 KbE/cm² (Tab. 5. 4 und Tab. 5.5). Die Ergebnisse in dieser Studie zeigten auch hier einen akzeptablen Wert, weil sie zwischen den Minimal- und Maximal- Grenzwerten (1,5 < 1,58 < 2,5) liegen.

Tabelle 5. 4: Mikrobiologische Kriterien für Fleisch und Fleischerzeugnisse

Lebensmittelkategorie	Mikroorganismen	Grenzwerte		Analytische Referenzmethode	Stufe, für die das Kriterium gilt	Maßnahmen im Fall unbefriedigender Ergebnisse
		m	M			
Schlachtkörper von Rindern, Schafen, Ziegen und Pferden	Aerobe mesophile Keimzahl	3,5 log KbE/cm ² tagesdurchschnittlicher Log-Wert	5,0 KbE/cm ² tagesdurchschnittlicher Log-Wert	ISO 4833	Schlachtkörper nach dem Zurichten, aber vor dem Kühlen	Verbesserungen in der Schlachthygiene und Überprüfung der Prozesskontrolle
	Enterobacteriaceae	1,5 log KbE/cm ² tagesdurchschnittlicher Log-Wert	2,5 KbE/cm ² tagesdurchschnittlicher Log-Wert	ISO 21528-2	Schlachtkörper nach dem Zurichten, aber vor dem Kühlen	Verbesserungen in der Schlachthygiene und Überprüfung der Prozesskontrolle

m: Minimum, M: Maximum

Tabelle 5. 5: Bewertung der mikrobiologischen Ergebnisse (Verordnung (EG) Nr. 1441/2007)

Bereich (KbE/cm ²)	befriedigend	akzeptabel	unbefriedigend
Gesamtkeimzahl (GKZ)	< 3,5 log	3,5 - 5,0 log	> 5,0 log
Enterobacteriaceae (EB)	< 1,5 log	1,5 - 2,5 log	> 3,0 log

Die vorgegebenen Grenzwerte aus der Verordnung (EG) Nr. 1441/2007 beziehen sich auf den Schlachtkörper nach dem Zurichten, aber vor dem Kühlen. Die ermittelten Ergebnisse nach der Evisceration können somit mit diesen Werten verglichen werden. Die hier aufgeführten Durchschnittswerte von GKZ und Enterobacteriaceae liegen im befriedigenden und akzeptablen Bereich.

5.5.1.3 *Escherichia coli*

Konventionelle Technik

In dieser Studie wurde in 60,1 % der Proben *E.coli* nachgewiesen. Der Nachweis gelang fast in allen Probenqualitäten: In 100,0 % der Sammelstall-Bodenproben und der Fellabzugsmaschinen-Proben, in 81,8 % der Schafablage-Proben und in 71,4 % der Messer- und Türgriff- Proben im Kühlraum (Tab. 4. 58).

Molekularbiologische Technik

Die konventionelle Identifizierung von *E.coli* wurde mittels molekularbiologischer Untersuchung (PCR) überprüft, 96,1 % der *E.coli* Isolate waren PCR- positiv mit dem Gen *uspA* („universal stress Protein A“ nach OSEK et al. 2000). Eingesetzt wurden die Primer Ec1 und Ec2 (Tab. 3. 12). In 3,9 % (10 von 254 Isolaten) gelang eine Bestätigung der Diagnose-*E.coli* nicht.

Bestände

Mittels der konventionellen Methodik wurde *E.coli* in verschiedenen Probenqualität (MEEYAM 2010) gefunden: die höchste Rate fand sich in Kotproben 97,1 % (68 von 70), im Vlies waren 86,7 % (26 von 30) und in Lymphknoten 25,9 % (22 von 85) der Proben positiv. In der Untersuchung von MEEYAM (2010) waren 94,7 % der untersuchten *E.coli*- Isolate (Bestand) PCR-positiv.

Vergleich mit den Literaturangaben

Hygiene Indikatur

In dieser Untersuchung erfolgte keine Prüfung auf Pathogenität, hier war *E.coli* als Umfeld- und Hygieneparameter gefragt. *E.coli* stieg im Verlauf der Fleischgewinnung an: von Position 1 (vor der Enthäutung mit 40,0 %), auf Position 2 (nach der Enthäutung mit 47,5 %), über Position 3 (nach der Eviszeration, 66,3 %) auf Position 4 (im Kühlraum) mit 72,5 %. 75 % der gekühlten Schafkarkassen waren *E.coli*- positiv (VANDERLINDE et al. 1999) und der Mittelwert der *E.coli*- Zahl lag bei $\log 0,70 \text{ Kbe/cm}^2$ auf Schafkarkassen im Kühlraum (DUFFY et al. 2001).

***E.coli* mit Pathogenitätspotential**

E.coli O157 wurde im Wartestall in 2,2 % der Proben (SMALL et al. 2002), VTEC O157 in Darmproben in 0,7% der Proben (MILNES et al. 2008) gefunden.

In der Literatur lag die Prävalenz von *E.coli* O157:H7 vor der Eviszeration bei 1,6 % und von non-O157 STEC bei 78,6 % (KALCHAYANAND et al. 2007). Nach der Eviszeration lag *E.coli* O157:H7 bei 2,9 % und non-O157 STEC bei bis zu 81,6 % (KALCHAYANAND et al.

2007), *E.coli* O157:H7 fand sich zu 1,5 % vor der Kühlung und zu 1 % nach der Kühlung (LENAHAN et al. 2007). Auf Enteropathogenen-*E.coli* fokussierte Studien aus dem Südosten der USA (EDRINGTON et al. 2009) fanden 9 % der Kot- und 18 % der Vliesproben *E.coli* O157:H7 positiv.

Vergleich der Techniken (konventionell und molekularbiologisch):

Die konventionelle und molekularbiologische Methodik ergaben eine Übereinstimmung von 96,1 % (244/254) bei beiden Methoden. Bei 3,94 % (10/254) der Isolate ergab sich ein unterschiedliches Ergebnis: Hier wurde die konventionelle Diagnose mittels PCR nicht bestätigt.

Vergleich der Techniken (Enterobacteriaceae und *E.coli*):

Der höhere prozentuale Anteil von *E.coli*-Nachweisen kann begründet werden mit dem eingesetzten Anreicherungsverfahren für *E.coli*: Die Nachweisgrenze für *E.coli* lag niedriger als diejenige für die Gesamtfamilie der Enterobacteriaceae.

Nachweisgrenze Stanzproben für Enterobacteriaceae:

Bei einer Analysefläche von 10 cm² für die Stanzproben und einer aufnehmenden Originalflüssigkeit von 50 ml lag die finale Nachweisgrenze bei 500 KbE/cm² für die Gesamtfamilie der Enterobacteriaceae.

Nachweisgrenze Kompressen für Enterobacteriaceae:

Bei einer Analysefläche von 100 cm² für Flächenanalysen und bei einer aufnehmenden Originalflüssigkeit von 100 ml lag die finale Nachweisgrenze bei 100 KbE/cm² für die Gesamtfamilie der Enterobacteriaceae.

Nachweisgrenze für den qualitativen Nachweis von *E.coli*:

Im Gegensatz zu quantitativen Verfahren, bei denen im Titerverfahren auf die Menge analysiert wird, basiert ein qualitatives Verfahren auf einer Anreicherung eines grundsätzlich vorhandenen Taxons.

5.5.2 Qualitative Analysen

5.5.2.1 Thermophile *Campylobacter*

Ergebnisse der konventionellen Technik

20,1 % aller Proben waren *Campylobacter* positiv, eine hohe Prävalenz zeigte sich an den Bodenproben im Sammelstall (mit 68,2 %), den Messerproben (25 %), den Proben von der Fellabzugsmaschine (25 %), der Ablage des Tierkörpers (18,2 %) und auch an den Karkassenoberflächeproben (Stanzen) (18,1 %) (Tab. 4. 3).

Auf den Karkassenoberflächen (Stanzen) lagen die Werte bei 18,1 %. Die Belastung mit *Campylobacter* stieg im Prozessablauf an (Abb. 4. 2):

10,0 % an Position 1 (vor der Enthäutung)

11,3 % an Position 2 (nach der Enthäutung)

23,8 % an Position 3 (nach der Eviszeration)

27,5 % an Position 4 (im Kühlraum)

Mittels konventioneller Methoden wurden die drei Spezies *C.jejuni*, *C.coli* und *C.lari* nachgewiesen (Tab. 5. 6).

Tabelle 5. 6: *Campylobacter*- Spezies an den einzelnen Probenqualitäten in %

Probenqualität	n	Spezies Isolate in %		
		<i>C.jejuni</i>	<i>C.coli</i>	<i>C.lari</i>
Karkassen (Stanzen)	56	82,1	17,9	-
Boden Sammelstall	13	23,1	46,2	30,8
Ablage Tierkörper	2	100,0	-	-
Fellabzugsmaschine	2	50,0	50,0	-
Messer	7	71,4	28,6	-
gesamt	80	71,3	23,8	5,0

C.jejuni stellte den Großteil der Isolate (71,3 %), *C.coli* lag mit 23,8 % an zweiter Stelle und *C.lari* stellte die wenigsten Isolate (5,0 %).

Ergebnisse der molekularbiologische Analytik

Auch mittels PCR stand *C.jejuni* mit 55,7 % der Isolate an erster Stelle (Tab. 5. 7), jedoch niedriger als mit der konventionellen Methode (71,3 %) (Tab. 5. 6). Im Vergleich zur konventionellen Methode lag *C.lari* (14,8 %) höher als *C.coli* (11,4 %) (Tab. 5.7). Beide Isolate (*C.lari* und *C.coli*) wurden am häufigsten im Boden des Sammelstalls gefunden.

Tabelle 5. 7: *Campylobacter*- Nachweis mittels konventioneller Methode und PCR

Probenqualität	Spezies Prävalenz (%)					
	konventionell			PCR		
	<i>C.jejuni</i>	<i>C.coli</i>	<i>C.lari</i>	<i>C.jejuni</i>	<i>C.coli</i>	<i>C.lari</i>
Karkassen (Stanzen)	82,1	17,9		65,6	4,9	11,5
Boden Sammelstall	23,1	46,2	30,8	26,7	33,3	33,3
Ablage Tierkörper	100,0					
Fellabzugsmaschine	50,0	50,0		60,0	20,0	
Messer	71,4	28,6		28,6	14,3	14,3
gesamt	71,3	23,8	5,0	55,7	11,4	14,8

Bestände

In den Beständen lag die *Campylobacter*- Prävalenz bei 20,4 % aller Proben (MEEYAM 2010). *Campylobacter* wurde in Kotproben (43,6 %), im Vlies (20,0 %) und in den untersuchten Lymphknoten (15,3%) gefunden.

Von den Umgebungsproben war *Campylobacter* am häufigsten im Tretmist mit 40,9 % vorhanden (9 von 22). Grund hierfür wird die Kotkontamination sein. Im Tränkwasser lag die Prävalenz bei 8,7 % (2 von 23) und im Futter bei 4,3 % (1 von 23). Diese Proben stammten vom Trog, in die die Tiere leicht hinein treten konnten (MEEYAM 2010).

Dort gefunden wurde *C.jejuni* mit 66,7 %, *C.coli* mit 30,3 % und *C.lari* mit 3,0%.

Nach MEEYAM (2010) wurden auch mittels PCR *C.jejuni* am häufigsten gefunden, aber in einer niedrigeren Rate (35,5%) als mit der konventionellen Methodik (66,7 %). Die Prävalenz von *C.lari* (30,9 %) war höher als die Prävalenz von *C.coli* 26,5 %. In Kotproben wurde *C.coli* mittels PCR am häufigsten gefunden (47,2 %), es folgte *C.lari* (38,9 %), gefolgt von *C.jejuni* (8,3 %) (MEEYAM 2010).

Vergleich mit den Literaturangaben

In anderen Untersuchungen war die Prävalenz im Schlachtbetrieb (Stanzproben) sehr unterschiedlich: 1,29 % bei VANDERLINDE et al. (1999), wobei keine Angabe der Position erfolgt ist. In Untersuchungen von DUFFY et al. (2001a) lag sie bei 0,3 % der gesamten Proben, vor der Kühlung fanden sich 0,6 % positive Proben (DUFFY et al. 2001b).

Dagegen wurde in verschiedenen Schlachtbetrieben in UK eine Prävalenz in Höhe von 43,8% festgestellt (MILNES et al. 2009). Im Wartestall lag die Prävalenz mit 5,6 % niedriger

(SMALL et al. 2002) als die Ergebnisse in dieser Studie. Im Einzelhandel wurde eine Prävalenz von *Campylobacter* im Lammfleisch von 21,6 % gefunden (BOSTAN et al. 2009). Eine hohe *C.jejuni*- Prävalenz fand sich auf Schafkarkassen: 71,3 % (GARCIA et al. 2010) oder 64,9 % (ZWEIFEL et al. 2004).

***C.coli*:**

GARCIA et al. (2010) ermittelten Werte von *C.coli* bis zu 8,7 % der untersuchten Proben. In der Studie von ZWEIFEL et al. (2004) lag *C.coli* mit 35,1 % höher. GARCIA et al. (2010) fanden *C.coli* auf Karkassenoberflächen zu 71,3 % im Vergleich zu den Ergebnissen dieser Studie (17,9%), im Einzelhandel stellte *C.coli* die meisten Isolate (63,9 %, BOSTAN et al. 2009). ERTAS et al. (2003) ermittelten mittels PCR im Schlachtbetrieb Werte von *C.coli* bis zu 32,0 %. AÇIK und ÇETINKAYA 2006 wiesen *C.coli* zu 33,1 % der untersuchten Kot- und Gallenblase-Proben in klinischen gesunden Schafen nach.

***C.lari*:**

C.lari trat auch bei Humaninfektion in UK in 2000 auf mit 0,1 % (CDSC 2000).

***C.jejuni*:**

ERTAS et al. (2003) ermittelten mittels PCR im Schlachtbetrieb Werte von *C.jejuni* bis zu 34,0 %. AÇIK und ÇETINKAYA 2006 wiesen *C.jejuni* in Kot- und Gallenblase-Proben klinisch gesunder Schafen in einem Prozentsatz bis zu 34,1 % nach.

Mischkulturen:

Mittels PCR wurden *C.jejuni* und *C.coli* auch gemischt (1,1 %) identifiziert (Tab. 4. 43), hohe Werte von *C.jejuni*- *C.coli* gemeinsam (bis zu 11,9 %) wurden in Darmproben nachgewiesen (AÇIK und ÇETINKAYA 2006).

In Lancaster (UK) war *C.jejuni* die hauptsächlich nachgewiesene Spezies mit 90 % bei Weideschafen, *C.coli* trat zu 8 % und *C.lari* zu 2,0 % auf (JONES et al. 1999). *C.coli* war auch das häufigste Isolat in Kotproben mittels PCR (47,4 %). *C.jejuni* wurde nachgewiesen zu 13,7 %, *C.fetus* zu 12,3 % und *C.lari* zu 0,05 % (GROVE-WHITE et al. 2010).

Vergleich der Techniken

In dieser Studie stimmten die Spezies in der konventionellen und der molekularbiologischen Methodik zu 81,8 % (72/88) überein. Bei 18,18 % (16/88) der Isolate waren die Ergebnisse widersprüchlich. Obwohl die Isolierung der Stämme nach den mikrobiologischen Standardtests durchgeführt wurde, lagen möglicherweise Mischkulturen vor, die durch Aggregation von zwei bzw. mehr von *C.jejuni*- Stämmen in Anreicherungskultur entstanden

sein könnten. Kolonien, die aus solchen Aggregaten entstehen, wären natürlicherweise heterogen. Die Isolation einer *C.jejuni*- Reinkultur durch Auswahl von Einzelkolonien wird deshalb nicht immer zu einem einzelnen Stamm führen (MILLER et al. 2000). Auch die biochemischen Reaktionen sind nicht immer eindeutig (Hippurat-Hydrolyse und Sensibilität gegenüber Nalidixinsäure und Cefalotin, 5.4.3.1).

Übertrag und Herkunft der Isolate

Zur Erkennung von Quellen und Übertragungswegen wurde eine Analyse der Isolate mittels Pulsed Field Gel Elektrophorese (PFGE) durchgeführt. Für diese mikrobiologische Technik wurde als Restriktionsenzym das *Kpn-I* Enzym eingesetzt.

Parallel zu den 14 Ausfahrten zu dem Schlachtbetrieb wurden von 10 entsprechenden Beständen 321 Proben gewonnen (MEEYAM 2010). Die Isolate, die bei diesen Gelegenheiten gewonnen wurden, wurden hier mit den im Schlachtbetrieb gewonnenen Isolaten verglichen.

Mittels PFGE wurden 28 Muster im Schlachtbetrieb gefunden (Tab. 4. 53).

Innerhalb eines Ausfahrttermins (**vertikale Durchgängigkeit**: Tab. 4. 54) wurden identische Mustere mehrere Male bei verschiedenen Probenqualitäten gefunden (Ausfahrten 7, 10 und 13).

Im Vergleich zwischen den Ausfahrten (**horizontale Durchgängigkeit**: Tab. 4. 54) wurden

- Muster 24 und Muster 26 bei Ausfahrte 2 und 4
- Muster 9 bei Ausfahrt 6 und 7

ermittelt.

Isolate aus verschiedenen Ausfahrten, die das selbe Muster aufweisen, sind Anhaltspunkte für eine Übertragung des Erregers über unbekanntes Verbindungen zwischen den Ausfahrten. Denkbar ist auch dieselbe Quelle der Tiere.

In jedem Fall zeigt sich, dass *Campylobacter*- Keime von Tieren zum Schlachtbetrieb übertragen werden können wie z. B. Muster 26-1 bei der Ausfahrt 2 (Stanzproben im Schlachtbetrieb und Lymphknoten im Bestand) (Tab. 5. 8). Nach dem Eintrag wird *Campylobacter* in den Schlachtbetrieb verteilt und zieht sich teilweise über die gesamte Fleischgewinnungslinie (Tab. 4.53 und 4.54).

Im Schlachtbetrieb wurden mehr unterschiedliche Muster gefunden als in den Beständen, was auf Kreuz-Kontaminationen aus verschiedenen Herkünften hinweisen kann. Auch diese stärkere Vielfalt weist darauf hin, dass die Schafe die Keime vom Stall zum Schlachtbetrieb übertragen. Obwohl *Campylobacter* hauptsächlich in Beständen auftrat (Fäkalproben und

Diskussion

Proben, die mit Fäkalien in Verbindung stehen, wie Boden des Sammelstalls, Vlies und Tretmist), wurde *Campylobacter* auch in der Schlachttechnologie (Messer und Karkassen) gefunden. Auch dies lässt den Schluss zu, dass die Schafe diesen Erreger aus der Primärproduktion in die Schlachtung übertragen können.

Diskussion

Tabelle 5. 8: Charakterisierung von Isolaten aus 14 Ausfahrten durch Pulsed Field Fel Electrophoresis (PFGE): Schlachtbetrieb und in den Beständen

Probenarten		Ausfahrten Muster(n)													
Bestand	Schafproben	1	2	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
		Umgebungsproben	n.a.(4) 5(1) 24-1(1) 27(1)	n.a.(1) 26-1(1)	26(1)	n.a.(1) 11-1(1)	n.a.(2) 9(1)	9(3) 11(1)	33(1)	n.a.(2) 18(11) 32(1)	29(1) 34(1)		1(7) 21-1(1)	n.a.(1) 6(2) 9(4)	5(1)
Schlachtbetrieb	Umgebungsproben			n.a.(1) 11-1(3)	n.a.(2)		11(2)	11-1(1)	18(2)			1(4)			
	Stanzproben			n.a.(3) n.a.(1)	n.a.(2) n.a.(1) n.a.(2)	10(1) 30(1)	14(1) n.a.(1)	17(1) n.a.(1)		3(1) 8(1) 8-1(1) 8-1(1)	n.a.(1) 19(1)	2(2)	4(1) 5(1)	20(1)	
	Stanzproben	21(1) 22(2) n.a.(6)	23(1) 24(4) 25(1) 26(1) 26-1(1)	13-1(1) 15(2) 24(1) 26(6) 28(1) 31(1) 11-1(2) n.a.(2)	15(19) n.a.(3)	6(2) 7(1) 8(1) 9(1)	9(1) 11(1) 12(2) 13(2) 11-1(1)	16(1)		8-1(1)		1(1) 2-1(1) n.a.(3)	4(5) 5(1) 6(1)		

n.a.: nicht auswertbar. Die Zahlen charakterisieren die unterschiedlichen Muster
Die Zahl in Klammern gibt die Anzahl der Isolate für jedes Muster wieder

5.5.2.2 *Listeria*

Listeria (11,1 %) wurde in unterschiedlichen Proben gefunden, am häufigsten am Boden des Sammelstalls mit 27,3 %, in den Fellabzugsmaschinenproben zu 16,7 %, auf den Karkassen in 11,3% und auf Messern zu 10,7 % (Tab. 4. 55). GARRIDO et al. (2009) fanden 8,5 % der Fleischprodukte im Einzelhandel *Listeria* positiv. Eine hohe Prävalenz von 40 % der untersuchten Lammfleischproben wurde auch im Einzelhandel in Brisbane in Australien festgestellt (IBRAHIM und MAC RAE 1991).

Hier wurde *L.monocytogenes* in 8,5 %, *L.innocua* in 2,1 % und *L.ivanovii* in 57,4 % der Proben nachgewiesen (Tab. 4. 57). In der Literatur trat *L.monocytogenes* auf gekühlten Karkassen bis zu 5 % (AKPOLAT et al. 2004) und bis zu 4,3 % auf (ANTONIOLO et al. 2003), während *L.innocua* in 34,8 % und *L.ivanovii* in 1,5 % nachgewiesen wurden (ANTONIOLO et al. 2003). Im Einzelhandel wurde *L.innocua* bis zu 24 % der Proben nachgewiesen (IBRAHIM und MAC RAE 1991).

In den Beständen

Listeria wurde in 14,33 % der untersuchten Bestands-Proben gefunden (MEEYAM 2010). Proben von den Tieren waren zu 6,2 % *Listeria*-positiv, davon 2,6 % der Kotproben, 20 % der Vliesproben, 3,5 % der Lymphknoten und 50,0 % der Klauenabstriche.

Auch im Umfeld wurde *Listeria* (27 %) gefunden, davon in Tretmist (59,1 %), auf den Lecksteinen (30 %), im Raufutter (26,1 %), in Raufuttertrögen (25 %), im Tränkwasser (17,4 %) und im Futter (8,7 %) (MEEYAM 2010). Die hohe Prävalenz der Listeriafälle lag bei infizierten (mindestens ein Listeriafall) Kleinwiederkäuern (Schaf und Ziege) in den USA bei 32,9 % der Bestände (Fäkal-, Futter- und Umgebungsproben), während bei nicht infizierten Beständen (Kontrolle: keine Listeriose) 5,9 % positive Proben gefunden wurden (NIGHTINGALE et al. 2004). Eine niedrige *L.monocytogenes*-Quote (1,5 %) wurde in Kotproben aus dem Baskenland nachgewiesen (ESTEBAN et al. 2009).

MEEYAM (2010) fand im Bestand *L.monocytogenes* in 43,1 %, *L.innocua* in 23,5 % und *L.ivanovii* in 9,8 % der Proben. *L.monocytogenes* wurde auch in Island von gesunden Schafen und aus der Umgebung isoliert (GUDMUNDSDOTTIR et al. 2004). Von gesunden Schafen in Indien wurde *L.innocua* in 3,6 % der Proben isoliert (YADAV und ROY 2009).

Bei einem Listeriose- Ausbruch in Österreich (Fütterung von kontaminierter Silage) waren 9 Schafe abortiv (WAGNER et al. 2005).

Übertrag und Herkunft der Isolate

In den Beständen war die *Listeria*- Prävalenz in Umgebungsproben (27 %) höher als in Proben von Schafen (6,2 %).

Die Ergebnisse im Schlachtbetrieb deuten darauf hin, dass die Belastung von *Listeria* in Umgebungsproben höher ist als die Belastung der Karkassen. Eine hohe Prävalenz wurde im Wartestall (Boden Sammelstall) nachgewiesen (27,3 %), d. h. es kann sein, dass die Schafe den Erreger vom Bestand in den Schlachtbetrieb mitgebracht haben oder die Kontamination von Schafen aus anderem Bestand entstanden ist.

Auf jeden Fall wurde *Listeria* in den Beständen und Schlachtbetrieb gefunden, eine Erregerverschleppung entlang der Lebensmittelkette scheint zu existieren.

5.5.2.3 *Escherichia coli*

Pathogenitätshinweis

E.coli wurde auf Fluorocult® ECD-Agar isoliert. Nach Isolierung und Interpretation in hygienischer Hinsicht wurden die Isolate auf die Virulenz-Faktoren *hyl*, *vt1*, *vt2* und *eae* geprüft. Die Ergebnisse zeigen, dass 3 % der Isolate Virulenz- Faktoren besaßen (Tab. 5.9). Allerdings kann die tatsächliche Prävalenz höher liegen:

Für die Isolierung von *E.coli* wurde Fluorocult ECD-Agar verwendet- Dieses Medium verwendet die Eigenschaft von *E.coli*, β -D-glucuronidase abzubauen (darstellbar durch Fluoreszenz). Mit diesem Test können nicht alle VTEC und O:157 getroffen werden (BEUTIN et al 1994; FENG und LAMPEL 1994; MONDAY et al. 2001), d. h., die hier erarbeiteten Ergebnisse können Technik- bedingt zu niedrig liegen.

Tabelle 5. 9: Nachgewiesenen Virulenz-Faktoren in den *E.coli* Isolaten

Virulenz-Faktoren	n	Positiv
<i>hyl</i>	110	3
<i>vt1</i>	110	3
<i>vt2</i>	110	2
<i>eae</i>	110	2

Die Mehrheit der Studien in Schafbeständen fokussiert auf enteropathogene-*E.coli*. Die Prävalenz von *E.coli* O 157:H7 lag bei 8,7 %, während die individuelle Prävalenz bei 7,3 % lag (OPORTO et al. 2008). Im Vergleich dazu wurde eine höhere Prävalenz von *E.coli* O157

in einem Bestand im Schottland (bis zu 42,8 % in einer Menge von $\log 10^2$ EbK/g) nachgewiesen, während die individuelle Prävalenz bei 5,8 % lag (SOLECKI et al. 2009).

5.5.2.4 *Yersinia enterocolitica*

Die Isolierungsraten von *Y. enterocolitica* in Lebensmitteln sind in der Literatur sehr unterschiedlich. Die Angaben schwanken zwischen 0 % und 96,5 % (WAUTERS et al. 1988; VELAZQUEZ et al. 1993; STARK 1994; KARIB und SEEGER 1994; KLEEMANN und BERGANN 1994; DE BOER 1994, 1995; TOORA et al. 1994; SIERRA et al. 1996; NORTJE et al. 1999; FLOCCARI et al. 2000; JOHANNESSEN et al. 2000; FREDRIKSSON-AHOMAA et al. 1999, 2001).

Yersinia enterocolitica wurde in dieser Studie weder im Schlachtbetrieb noch in Beständen (MEEYAM 2010) nachgewiesen. Auch in einem griechischen Schafschlachtbetrieb wurde *Y. enterocolitica* nicht gefunden (KECHAGIA et al. 2007).

In anderen Studie lag die Prävalenz von *Y. enterocolitica* in Darmproben bei 8,0 % (MILNES et al. 2008) und in Darmproben bei 10,7 % (MCNALLY et al. 2004).

Aus Untersuchungen von Planproben geht hervor, dass *Y. enterocolitica* im Jahr 2005 in Deutschland ausschließlich in Schweinefleischproben vorgekommen ist (HARTUNG 2006, EFSA 2006). Auch eine aktuelle Studie des Robert Koch Instituts hat gezeigt, dass rohes Schweinehackfleisch den wichtigsten Risikofaktor für den Erwerb einer Yersiniose darstellt (RKI 2012).

Durch *Yersinia* spp. verursachte Lebensmittel-bedingte Infektionen stehen sowohl in Deutschland als auch in Europa an dritter Stelle, *Y. enterocolitica* war zu 89 % beteiligt (EFSA 2006).

5.5.2.5 *Salmonella*

Auch die auf *Salmonella* untersuchten Proben waren in der vorliegenden Studie im Schlachtbetrieb und in den Beständen (MEEYAM 2010) negativ. In England lag der Durchschnitt der *Salmonella*-Isolate im Wartestall bei mehreren Schafschlachtbetrieben zwischen 1,1 % (SMALL et al. 2002) und 6,5 % (SMALL et al. 2006). Diese Zahlen sind ebenfalls als niedrig anzusehen.

Angaben zur *Salmonella*-Prävalenz auf Karkassen vom Schaf belaufen sich auf 10 % (SIERRA et al. 1995a), 5,74 % (VANDERLINDE et al. 1999), in der Kühlung auf 1,5 % (DUFFY et al. 2001) und in einer Studie von PHILLIPS et al. (2001) auf 0,1 %. In Australien

Diskussion

wurde *Salmonella* im gefrorenen Fleisch zu 6,5 % nachgewiesen (VANDERLINDE et al. 1999).

Die *Salmonella*- Prävalenz (Schafdarm) in einem Schlachtbetrieb in UK (2002) lag bei 1,1 % gegenüber 0,1 % in den Jahren 1999-2000 (MILNES et al. 2008) und bis zu 7 % in den USA (EDRINGTON et al. 2009). In Vliesproben wurde *Salmonella* in Quoten zwischen 7,8 % (SMALL et al. 2002) und 50 % (EDRINGTON et al. 2009) gefunden, außerdem wurde *Salmonella* zu 8,3 % in frischen Fäkalien und zu 11 % in Gülle nachgewiesen (HUTCHISON et al. 2005).

6 Zusammenfassung

Die Lebensmittelkette beim Schaf: Transfer von Zoonoseerregern vom Tier zum Lebensmittel

Diese Studie behandelt das Auftreten von thermophilen *Campylobacter*- Keimen, *Listeria*, *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica* und *Salmonella* in einem Schafschlachtbetrieb in Brandenburg. Es war zu prüfen, wie weit diese Erreger innerhalb des Schlachtbetriebs und über den Fleischgewinnungsablauf verschleppt werden. Gleichzeitig sollte ein möglicher Zusammenhang mit den zugehörigen Schafhaltungsbetrieben ermittelt werden.

Die Untersuchungen wurden im Zeitraum von Juli 2008 bis August 2009 durchgeführt. Insgesamt wurden 423 Proben von 14 Ausfahrten gewonnen, 320 Proben mittels Stanze an vier Prozesspositionen und an fünf Stellen am Tierkörper (vor der Enthäutung, nach der Enthäutung, nach der Evisceration und im Kühlraum) sowie 103 Umgebungsproben mittels Tupfer (Boden im Sammelstall, Fellabzugmaschine, Ablage der Tierkörper nach dem Abziehen des Vlieses, Türgriff innen im Kühlraum, Wand im Kühlraum und Messer).

Die Proben wurden qualitativ auf *Campylobacter*, *Listeria*, *E.coli*, *Yersinia* und *Salmonella* getestet. Quantitativ wurden auf die Gesamtkeimzahl- und auf Enterobacteriaceae geprüft. An *Campylobacter*- Isolatent wurden Verfolgsuntersuchungen mittels PFGE (Enzym Kpn-I) und *E.coli*- Isolatent mittels PCR durchgeführt.

Ergebnisse:

Allgemeine Hygiene

Für Stanzproben lagen die Durchschnittswerte für die GKZ bei \log_{10} 3,79 KbE/cm², für Enterobacteriaceae bei 1,58 KbE/cm². Im Prozessverlauf wurde ein Anstieg der Keimzahl bis zur Kühlung (Prozessposition 4) beobachtet. Die Belastung der Tierkörperstellen war, bezogen auf GKZ und Enterobacteriaceae, signifikant unterschiedlich und abhängig von der Prozessposition.

Zoonoseerreger

Thermophile *Campylobacter*, *Listeria* spp. und *E.coli* traten in 20,1 %, 11,1 % und 60,1 % aller Proben (Stanz- und Umgebungsproben) auf. *Yersinia enterocolitica* und *Salmonella* wurden nicht gefunden.

Zusammenfassung

Campylobacter wurde mittels konventioneller Technik in 20,1 % (85 von 423) der gesamten Proben nachgewiesen, die höchste Präsenz fand sich in den Proben des Sammelstalles (68,2%). *Campylobacter* wurde nicht nachgewiesen in Steribecken, am Türgriff und an der Wand im Kühlraum. Auf den Tierkörpern war die Prävalenz im Kühlraum (27,5 %) am höchsten. Die gewonnenen Isolate wurden mittels konventioneller und molekularbiologischer Techniken weiter differenziert. Vor allen *C.jejuni* (71,3 % / 55,7 %), *C.coli* (23,8 % / 11,4 %) und *C.lari* (5,0 % / 14,8 %) wurden nachgewiesen.

Listeria wurde in 11,1 % (47 von 423) aller Proben nachgewiesen, mit höchster Präsenz in den Proben des Sammelstalles (27,3 %). Nicht nachgewiesen wurde *Listeria* in Steribecken, am Türgriff, an Wänden im Kühlraum sowie auch auf der Ablage der Tierkörper nach dem Entvliesen. In der Fleischgewinnungslinie lag die höchste Prävalenz vor der Enthäutung (12,5 %) und im Kühlraum (12,5 %).

Die gewonnenen Isolate teilen sich auf in *L.ivanovii* (57,4 %; 27 von 47), *L.denitrificans* (27,7 %; 13 von 47), *L.monocytogenes* (8,5; 4 von 47 %) und ein Isolat *L.innocua* (2,1 %; 1 von 47).

E.coli wurde in 60,1 % (254 von 423) aller untersuchten Proben isoliert, am häufigsten vom Boden des Sammelstalles und von den Fellabzugsmaschinen- Proben (je 100,0%). In der Fleischgewinnungslinie war die Prävalenz im Kühlraum am höchsten (72,5 %).

Bei den *Campylobacter*-Isolaten konnten mittels PFGE an unterschiedlichen Probenqualitäten Zusammenhänge dargestellt werden: Innerhalb einer Ausfahrt und auch über verschiedene Ausfahrten hinweg gaben die Bandenmuster Hinweise auf das Auftreten von *Campylobacter* gleicher genetischer Ausprägung. Eine Übertragung von *Campylobacter* aus unterschiedlichen Beständen in den Schlachtbetrieb und die Schlachtlinien hinein ist nicht ausgeschlossen.

Campylobacter, *Listeria* und *E.coli* wurden allgemein nachgewiesen, vor allem aber in den Proben des Wartestalls, was ebenfalls auf eine Verschleppung aus den Herden in den Schlachtbetrieb hinweist.

7 Summary

Foodborne in sheep: Transfer of zoonotic agents from animals to food

This study deals with the occurrence of thermophilic *Campylobacter*, *Listeria*, *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica* and *Salmonella* in a sheep slaughterhouse in Brandenburg, Germany. The aim of this study was to investigate, how these zoonotic agents are distributed within the slaughterhouse and the processing line. Simultaneously, an interrelation between slaughterhouse and the relevant sheep farms was to investigate.

Investigations were carried out from July 2008 to August 2009. A total of 423 samples was obtained from 14 excursions. 320 samples using excision method at four process positions of the line, five points of the carcass (before depelting, after depelting, after evisceration and at chilling) and 103 environmental swab samples (floor of the lairage stable floor, fleece depelting machine, deposition board of carcasses after removing the fleece, doorknobs as well as wall of the chilling room and knives) were collected.

The excision samples were analysed for Aerobic Plate Count (APC) and Enterobacteriaceae Count (EC) and all samples qualitative for *Campylobacter*, *Listeria*, *E.coli*, *Salmonella* and *Yersinia*. *Campylobacter* and *E.coli* isolates were characterized by PFGE (Kpn I enzyme) and PCR respectively.

Results:

Hygiene

For excision samples the mean APC (\log_{10} CFU/cm²) was 3.79, the mean EC (\log_{10} CFU/cm²) was 1.58. An increase in the number of bacteria during the process until chilling was observed (process position 4). The microbiological carriage of the carcasses for APC and EB was significantly different depending upon the process position.

Zoonotic agents

Thermophilic *Campylobacter*, *Listeria* spp. and *E.coli* were identified with an average of 20.1 %, 11.1 % and 60.1 % of all samples respectively. *Yersinia enterocolitica* and *Salmonella* were not found in any sample here.

Campylobacter was detected in 20.1 % (85 of 423) by conventional technique, the highest detection rate was obtained in samples from lairage stable floor samples (68.2 %).

Summary

Campylobacter was not detected in sterilisation bassins, at doorknobs or on the walls in the chilling room. The highest findings on the carcasses was in the chilling room (27.5 %) (process position 4). The *Campylobacter* isolates were differentiated using conventional and PCR technique: *C. jejuni* (71.3 % / 55.7 %), *C. coli* (23.8 % / 11.4%) and *C. lari* (5.0 % / 14.8 %) were detected.

Listeria was detected in 11.1 % (47 of 423) of samples, mostly in samples from lairage stable floor samples (27.3 %). *Listeria* was not detected in sterilisation bassins, on doorknobs, at the wall in the chilling room or on the deposition board of carcasses after depelting. The highest prevalence on the carcasses was found before depelting (12.5 %) and in the chilling room (12.5 %).

Listeria isolates were *L. ivanovii* (57.4 %; 27 of 47), *L. denitrificans* (27.7 %; 13 of 47), *L. monocytogenes* (8.5; 4 out of 47 %) and *L. innocua* (2.1%; 1 of 47) were found.

E. coli was detected in 60.1 % (254 of 423) of all samples, most of them were from the samples of the lairage stable floor and fleece depelting machine (100.0 % each). The highest prevalence on the carcasses was found in the chilling room (72.5 %).

For *Campylobacter* isolates using PFGE, a relationship between some sample qualities was observed: Within particular excursions and also for different ones, the patterns of PFGE indicate the same genetic sequences of *Campylobacter*. Hence, transfer of *Campylobacter* from farm in to the slaughterhouse and the meat production process can not be excluded.

In conclusion, thermophilic *Campylobacter*, *Listeria* and *E. coli* were identified on carcasses and in environmental samples especially in the lairage stable floor samples. A transfer of these pathogens from the farms to the slaughterhouse can be assumed.

8 Literaturverzeichnis

Acik, M. N und B. Cetinkaya (2006):

Heterogeneity of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* strains from healthy sheep. *Veterinary Microbiology* 115, 370 - 375

Adak, G. K., S. M. Meakins, H. Yip , B. A. Lopman und S. J. O'Brien (2005):

Disease risks from foods, England and Wales, 1996–2000. *Emerging Infectious Diseases* 11, 365 - 372

Adam, K. und F. Brülisauer (2010):

The application of food safety interventions in primary production of beef and lamb: a review. *International Journal of Food Microbiology* 141, 43 - 52

Agerholm, J. S., B. Aalbaek, A. M. Fog-Larsen, M. Boye, E. Holm, T. K. Jensen, T. Lindhardt, L. E. Larsen und D. Buxton (2006):

Veterinary and medical aspects of abortion in Danish sheep. *Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica* 114, 146 - 152

Akpolat, N. O., S. Elci, S. Atmaca und K. Gül (2004):

Listeria monocytogenes in products of animal origin in Turkey. *Veterinary Research Communications* 28, 561 - 567

Al-sheddy, I. A., D. Y. Fung und C. L. Kastner (1995):

Microbiology of fresh and restructured lamb meat: a review. *Critical reviews in microbiology* 21, 31 - 52

Altekruse, S. F., N. J. Stern, P. I. Fields und D. L. Swerdlow (1999):

Campylobacter jejuni-An emerging foodborne pathogen. *Emerging Infectious Diseases* 5, 28 -35

Aonymous (1993):

Generic HACCP for raw beef. National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods, USDA.

Food Microbiology 10, 449 - 488

Antoniollo, P. C ., S. Bandeira Fda, M. M. Jantzen, E. H. Duval und W. P. de Silva (2003):

Prevalence of *Listeria* spp. in feces and carcasses at a lamb packing plant in Brazil. *Journal of Food Protection* 66, 328 - 330

Aulisio, C. C. G., I. J. Mehlmann und A. C. Sanders (1980):

Alkali method for rapid recovery of *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis* from food.

Applied and Environmental Microbiology 39, 135 -140

Awaisheh, S. S. (2010):

Incidence and contamination level of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* spp. in ready-to-eat meat products in Jordan.

Literaturverzeichnis

Journal of Food Protection 73, 535 - 540

Bachari, M. (2003)

Transmissible Spongiforme Enzephalopathie beim Schaf- Daten zum Schaf und zum Schaffleischverzehr als notwendiger Hintergrund zur Einschätzung des Schafes als Risikofaktor.

Vet. med. Diss., Journal-Nr. 2740, Freie Universität Berlin

Bailey, J. S., N. A. Cox, S. E. Craven und D. E. Cosby (2002)

Serotype tracking of *Salmonella* through integrated broiler chicken operations.

Journal of Food Protection 65, 742–745.

Bailey, G. D., B. A. Vanselow, M. A. Hornitzky, S. I. Hum, G. J. Eamens, P. A. Gill, K. H. Walker und J. P. Cronin (2003):

A study of the foodborne pathogens: *Campylobacter*, *Listeria* and *Yersinia*, in faeces from slaughter-age cattle and sheep in Australia.

Communicable Diseases Intelligence 27, 249 - 257

Baylis, C. L., S. Mac Phee, K. W. Martin, T. J. Humphrey und R. P. Betts (2000):

Comparison of three Enrichment Media for the Isolation of *Campylobacter* spp. From Foods.

Journal of Applied Microbiology 89, 884 - 891

Baker, M. G., C. N. Thornley, L. D. Lopez, N. K. Garrett und C. M. Nicol (2007):

A recurring salmonellosis epidemic in New Zealand linked to contact with sheep.

Epidemiology and Infection 135, 76 - 83

Baljer, G. (2011):

Zur Bewertung von *Escherichia coli* in der Lebensmittelmikrobiologie.

Rundschau für Fleischhygiene und Lebensmittelüberwachung 8, 258 - 269

Baumgart, J. (1993):

Mikrobiologische Untersuchung von Lebensmitteln.

Hrsg.: 3. Auflage, Behrs Verlag, Hamburg, S. 35-44

ISBN 3-86022-114-0

Bertling, L. (2006):

Vier Jahre Zeit für die Einführung. EU Kommission hat Übergangsregelungen für die Verordnungen des Hygienepakets festgelegt.

Fleischwirtschaft 864, 47 - 48

Beutin, L., S. Aleksic, S. Zimmermann und K. Gleier (1994):

Virulence factors and phenotypical traits of verotoxigenic strains of *Escherichia coli* isolated from human patients in Germany.

Medical Microbiology and Immunology 1, 13 - 21

BfR (2006):

Epidemiologische Situation der Zoonosen in Deutschland im Jahr 2004 - Übersicht über die Meldungen der Bundesländer.

BfR Wissenschaft 04/2006, Berlin

ISBN: 3-938163-12-7

Literaturverzeichnis

BfR (2010):

Erreger von Zoonosen in Deutschland im Jahr 2008 - Mitteilungen der Länder zu Lebensmitteln, Tieren, Futtermitteln und Umweltproben.

BfR Wissenschaft 06/2010, Berlin

ISBN: 3-938163-58-5

BfR (2012):

Lebensmittelsicherheit, Mikrobielle Risiken von Lebensmitteln, Bakterien, *Escherichia coli*

http://www.bfr.bund.de/de/escherichia_coli-54352.html, zuletzt besucht am 13.06.2012

BfR (2012):

Lebensmittelsicherheit, Mikrobielle Risiken von Lebensmitteln, Bakterien, *Salmonella*

http://www.bfr.bund.de/de/bedeutung_der_salmonellen_als_krankheitserreger-537.html,

zuletzt besucht am 13.06.2012

Bhandare, S., A. M. Paturkar, V. S. Waskar und R. J. Zende (2010):

Prevalence of microorganisms of hygienic interest in an organized abattoir in Mumbai, India.

Journal of Infection in developing countries 4, 454 - 458

Biss, M. E. und S. C. Hathaway (1995):

Microbiological and Visible Contamination of Lamb Carcass According to Preslaughter Presentation Status: Implication for HACCP.

Journal of Food Protection 58, 776 - 783

Biss, M. E. und S. C. Hathaway (1996):

Microbiological contamination of ovine carcasses associated with the presence of wool and faecal material.

Journal of Applied Microbiology 81, 594 - 600

Biss, M. E. und S. C. Hathaway (1998):

A HACCP-based approach to hygienic slaughter and dressing of lamb carcasses.

New Zealand Veterinary Journal 46, 167 - 172

BMG. (2008):

Campylobacter-Jahresbericht 2008 der Nationalen Referenzzentrale

http://www.bmg.gv.at/cms/site/attachments/9/7/8/CH0954/CMS1237550818447/jb_campylobacter_revised.pdf, zuletzt besucht am 26.08.2011

Boes, J., L. Nersting, E. M. Nielsen, S. Kranker, C. Enoe, H. C. Wachmann und D. L. Baggesen (2005):

Prevalence and diversity of *Campylobacter jejuni* in pig herds on farms with and without cattle or poultry.

Journal of Food Protection 68, 722–727

Bolton, F. J., H. C. Dawkins und D. N. Hutchinson (1985):

Biotypes and serotypes of thermophilic *campylobacters* isolated from cattle, sheep and pig offal and other red meats.

The Journal of Hygiene 95, 1 - 6

Literaturverzeichnis

- Borilova, G., M. Nebola und I. Steinhäuserova (2007):
Occurrence and antibiotic resistance of *Campylobacter* spp. isolated from pheasants (*Phasianus colchicus* spp. *torquatus*).
Archiv für Lebensmittelhygiene 58, 183 - 187
- Bosilevac, J.M., X. Nou, G. A. Barkocy-Gallagher, T. M. Arthur und M. Koohmaraie (2006):
Treatments using hot water instead of lactic acid reduce levels of aerobic bacteria and Enterobacteriaceae and reduce the prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 on previsceration beef carcasses.
Journal of Food Protection 69, 1808 - 1813
- Bostan, K., A. Aydin und M. K. Ang (2009):
Prevalence and antibiotic susceptibility of thermophilic *Campylobacter* species on beef, mutton, and chicken carcasses in Istanbul, Turkey.
Microbial Drug Resistance 15, 143 - 9
- Brosius, F. (2008):
SPSS 16 für Dummies.
2. Auflage, Wiley-VCH Verlag, S. 165-168; 223-247
ISBN 978-3-527-70432-3
- Bucher, M., C. Meyer, B. Grötzbach, S. Wacheck, A. Stolle und M. Fredriksson-Ahomaa (2008):
Epidemiological data on pathogenic *Yersinia enterocolitica* in Southern Germany during 2000-2006.
Foodborne Pathogens and Disease 5, 273 - 280
- Bumann, C. A. M. (2010):
Nachweis lebensmittelhygienisch relevanter bakterieller Zoonoseerreger bei kleinen Wiederkäuern aus der Schweiz.
Vet. Med. Diss., Journal-Nr. 12069, Ludwig-Maximilians-Universität München
- Burgkart, M. (1998):
Praktische Schafhaltung.
BLV Verlagsgesellschaft, München, S. 35-50
ISBN 978-3-4051-5269-7
- Buzby, J. C., B. Mishu Allos und T. Roberts (1997):
The economic burden of *Campylobacter*-associated Guillain-Barré syndrome.
Journal of Infectious Diseases 176, 192 - 197
- BVET (2004):
Schlachtung: Betäubung von Rind, Schaf und Ziegen.
Bundesamt für Veterinärwesen, BSE-Merkblatt, Schweizerische Eidgenossenschaft
- Byrne, B., G. Dunne, J. Lyng und D. J. Bolton (2007):
The development of a „clean sheep policy“ in compliance with the new Hygiene Regulation (EC) 853/2004 (Hygiene 2).
Food Microbiology 24, 301 - 304

Literaturverzeichnis

Capita, R., M. Alvarez-Astorga, C. Alonso-Calleja, B. Moreno, M. del Camino Garcia-Fernandez (2003):

Occurrence of *Salmonella* in retail chicken carcasses and their products in Spain.

International Journal of Food Microbiology 81, 169 - 173

Cardinale, E., F. Tall, E. F. Gueye, M. Cisse und G. Salvat (2004):

Risk factors for *Campylobacter* spp. Infection in Senegalese broiler-chicken flocks.

Preventive Veterinary Medicine 64, 15 - 25

Castillo, A., L. M. Lucia, K. J. Goodson, J. W. Savell und G. R. Acuff (1998):

Comparison of water wash, trimming, and combined hot water and lactic acid treatments for reducing bacteria of faecal origin on beef carcasses.

Journal of Food Protection 61, 823 - 828

CDC (2010):

Preliminary FoodNet data on the incidence of infection with pathogens transmitted commonly through food - 10 states, 2009.

Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR) 59, 418 - 422

Cenci Goga, B. T., M. Trevisani, A. R. Loschi und M. Severini (1996):

Pelt removal and lamb carcass contamination. In Concerted Action CT 94-1456: Factors affecting the microbial quality of Meat 3. Slaughter and Dressing.

Edited by. M.H. Hinton and C. Rowlings. University of Bristol Press, UK, pp. 145 - 148

Chattopadhyay, U. K.; M. Rashid, S. K. Sur und D. Pal (2001):

The occurrence of campylobacteriosis in domestic animals and their handlers in and around Calcutta.

Journal of Medical Microbiology 50, 933 - 934

Cohen, N., H. Ennaji, M. Hassa und H. Karib (2006):

The bacterial quality of red meat and offal in Casablanca (Morocco).

Molecular Nutrition and Food Research 50, 557 - 562

Colles, F. M., N. D. McCarthy, S. K. Sheppard, R. Layton und M. C. Maiden (2010).
Comparison of *Campylobacter* populations isolated from a free-range broiler flock before and after slaughter.

International Journal of Food Microbiology 137, 259 – 264

Cornelius, A. J., C. Nicol und J. A. Hudson (2005):

Campylobacter spp. in New Zealand raw sheep liver and human campylobacteriosis cases.

International Journal of Food Microbiology 99, 99 – 105

Curtis, G. D. W., R. G. Mitchell, A. F. King und E. J. Griffin (1989):

A selective differential medium for the isolation of *Listeria monocytogenes*.

Letters in Applied Microbiology 8, 95-98

Literaturverzeichnis

Danguy des Déserts, J., R. H. Davies, K. Vaughan, I. McLaren, P. Canning, A. Wintrip, D. Mueller-Doblies und J. J. Carrique-Mas (2010):
A Longitudinal Study of *Salmonella* Infection in Different Types of Turkey Flocks in Great Britain.

Zoonoses and Public Health 58, 200 - 208

De Boer, E. (1992):

Isolation of *Yersinia enterocolitica* from foods.

International Journal of Food Microbiology 2, 75 – 84

De Boer, E. (1994):

Vorkommen von *Yersinia*-Arten in Geflügelprodukten.

Fleischwirtschaft 74, 329 - 330

Denny, J. und J. Mclauchlin (2009):

Human *Listeria monocytogenes* Infections in European Opportunity for Improved European Surveillance, Eurosurveillance.

Journal of Clinical Microbiology 13, 2925 - 2930

Deutz, A., K. Fuchs, P. Pless, U. Utz Pieber und J. Köfer (2000):

Hygienerisiken bei Wildfleisch - Oberflächenkeimgehalte und humanpathogene Keime.

Fleischwirtschaft 80, 106 - 108

Donnenberg, M. S. und J. B. Kaper (1992):

Enteropathogenic *Escherichia coli*.

Infection and Immunity 60, 3953 - 3961

Dorsa, W. J., C. N. Cutter, G. R. Siragusa und M. Koohmaraie (1996):

Microbial decontamination of beef and sheep carcasses by steam, hot water spray washes, and a steamvacuum sanitizer.

Journal of Food Protection 59, 127 - 135

Doyle, M. P. und L. R. Beuchat, Eds. (2007):

Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers, Third Edition.

ASM Verlag (American Society of Microbiology) Press, Washington, D.C., USA, S. 187-189

DTU (2007):

Annual Report on Zoonoses in Denmark 2007

Technical University of Denmark

http://www.dfvf.dk/Files/Filer/Zoonosecentret/Publikationer/Annual%20Report/Annual_Report_2007.pdf, zuletzt besuch am 28.09.2012

DTU (2009):

Annual Report on Zoonoses in Denmark 2009

http://www.dfvf.dk/Files/Filer/Zoonosecentret/Publikationer/Annual%20Report/Annual_Report_2009_2nd_eddition.pdf, zuletzt besucht am 28.09.2012

Literaturverzeichnis

Duffy, E. A., K. E. Belk, J. N. Sofos, S. B. LeValley, M. L. Kain, J. D. Tatum, G. C. Smith und C. V. Kimberling (2001):

Microbial contamination occurring on lamb carcasses processed in the United States.

Journal of Food Protection 64, 503 - 508

ECDC (2009):

Annual Epidemiological Report on Communicable Diseases in Europe 2009.

http://ecdc.europa.eu/en/publications/publications/0910_sur_annual_epidemiological_report_on_communicable_diseases_in_europe.pdf, zuletzt besucht am 11.2.2013

Edrington, T. S., M. Long, T. T. Ross, J. D. Thomas, T. R. Callaway, R. C. Anderson, F. Craddock, M. W. Salisbury und D. J. Nisbet (2009):

Prevalence and antimicrobial resistance profiles of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* isolated from feedlot lambs.

Journal of Food Protection 72, 1713 - 1717

EFSA (2009):

Bericht der EFSA und des ECDC zeigt Anstieg von *Campylobacter*-Infektionen beim Menschen und Rückgang der Salmonellosen; Zahl der Listeriosen weiterhin besorgniserregend

<http://www.efsa.europa.eu/de/press/news/zoonoses090120.htm>, zuletzt besucht am 29.4.2013

EFSA (2010):

EFSA und ECDC veröffentlichen den Jahresbericht 2008 zu Zoonosen und lebensmittelbedingten Ausbrüchen in der EU

<http://www.efsa.europa.eu/de/press/news/zoonoses100128.htm>, zuletzt besucht am 29.4.2013

EFSA (2011):

Scientific Report of efsa and ecdc: The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2009

The EFSA Journal 2011 9(3): 2090

<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/2090.pdf>, zuletzt besucht am 23.3.2012

Fredriksson-Ahomaa, M., S. Hielm und H. Korkeala (1999):

High prevalence of yadA-positive *Yersinia enterocolitica* in Pig Tongues and Minced Meat at the Retail Level in Finland.

Journal of Food Protection 62, 123 - 127

Fredriksson-Ahomaa, M., U. Lyhs, T. Korte und H. Korkeala (2001):

Prevalence of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in food samples at retail level in Finland.

Archiv für Lebensmittelhygiene

El-Sherif, A. M. und M. K. Elmoosalami (1998):

Rambach agar as a new plate differential medium for the identification of some enteric pathogens in meat products.

Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung 2, 160 - 163

Literaturverzeichnis

- Ertas, H. B., G. Özbey, A. Kiliç und A. Muz (2003):
Isolation of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from the Gall Bladder Samples of Sheep and Identification by Polymerase Chain Reaction.
Journal of Veterinary Medicine B Infectious Disease Veterinary Public Health 50, 294 - 297
- Esteban, J. I., B. Oporto, G. Aduriz, R. A. Juste und A. Hurtado (2008):
A survey of food-borne pathogens in free-range poultry farms.
International Journal of Food Microbiology 123, 177 - 182
- Esteban, J. I., B. Oporto, G. Aduriz, R. A. Juste und A. Hurtado (2009):
Faecal shedding and strain diversity of *Listeria monocytogenes* in healthy ruminants and swine in Northern Spain.
BMC Veterinary Research 5: 2. doi: 10. 1186/1746-6148-5-2.
- Eustace, I., J. Midgley, C. Giarrusso, C. Laurent, I. Jenson und J. Sumner (2007):
An alternative process for cleaning knives used on meat slaughter floors.
International Journal of Food Microbiology 113, 23 - 27
- Eyers, M., S. Chapelle, G. Van Camp, H. Goossens und R. De Wachter (1993):
Discrimination among thermophilic *Campylobacter* species by polymerase chain reaction amplification of 23S rRNA gene fragments.
Journal of Clinical Microbiology 31, 3340 - 3343
- Fehlhaber, K. (1992):
Anforderungen an ein Lebensmittel Lebensmittelverderb in: K. Fehlhaber und E. T. Jahnetschke P
Veterinärmedizinische Lebensmittelhygiene.
Gustav Fischer Verlag, Jena, Stuttgart, S. 126 - 137
- Feng, P. und K. A. Lampel (1994):
Genetic analysis of uidA expression in enterohaemorrhagic *Escherichia coli* serotype O157:H7.
Microbiology 8, 2101 - 2107
- Floccari, M. E., M. M. Carranza und J. L. Panda (2000):
Yersinia enterocolitica biogroup 1A, serotype O:5 in chicken carcasses.
Journal of Food Protection 63, 1591 - 1593
- Flores, J. und P. C. Okhuysen (2009):
Enterotoxigenic *Escherichia coli* infection.
Current Opinion in Gastroenterology 25, 8 - 11
- Foley, S. L., A. M. Lynne und R. Nayak (2008):
Salmonella challenges: Prevalence in swine and poultry and potential pathogenicity of such isolates.
Journal of Animal Science 86, 149 - 162
- Foley, S. L. und A. M. Lynne (2008):
Food animal-associated *Salmonella* challenges: Pathogenicity and antimicrobial resistance.
Journal of Animal Science 86, 173 - 187

Literaturverzeichnis

- Fox, E., T. O'Mahony, M. Clancy, R. Dempsey, M. O'Brien und K. Jordan (2009):
Listeria monocytogenes in the Irish dairy farm environment.
Journal of Food Protection 72, 1450 - 1456
- Fretz, R., U. Sagel, W. Ruppitsch, A. Pietzka, A. Stoger, S. Huhulescu, S. Heuberger, J. Pichler, P. Much, G. Pfaff, K. Stark, R. Prager, A. Flieger, O. Feenstra und F. Allerberger (2010):
Listeriosis outbreak caused by acid curd cheese Quargel, Austria and Germany 2009
Eurosurveillance 2010, 15
<http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19477>, zuletzt besucht am 13.05.2013
- FRIES, R. und EGGERDING, B. (1997):
Reduzierung der Bakterienzahlen im tiefgefrorenen sterilen Geflügelfleisch.
Archiv für Lebensmittelhygiene 48, 121 - 144
- Fries, R., H. Strauss-Ellermann, U. Paulat, L. Brautigam, H. Irsigler, A. Kobe and C. Hallmann (2005):
Air sacculitis in poultry--human relevance of *E.coli*-isolates from the body cavity of turkeys unfit for human consumption.
Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift 118, 386-392
- Fries, R. (2009):
Nutztiere in der Lebensmittelkette.
Eugen Ulmer KG, Stuttgart, S. 179-181, 283
ISBN 978-3-8252-2975-7 (UTB)
- Fries, R. (2010):
Folgerung für die Überwachung: Der Lebensmittelkettenansatz.
Proc. 10. Fachtagung Fleisch- und Geflügelfleischhygiene für Angehörige der Veterinärverwaltung, Berlin, Dahlem Koserstr. 20, 2.-3.3.2010, S. III-VI
ISBN 978-3-00-031226-7
- FSAI (2009):
Report on Zoonoses in Irland, 2006 and 2007.
Food Safety Authority of Irland, Dublin, S. 29 - 31
ISBN 1-904465-66-8
- FSAI (2010):
Zoonoses in Irland, 2008.
Food Safety Authority of Irland, Dublin, S. 3 - 5
ISBN 1-904465-71-4
- Garcia, A. B., W. B. Steele, S. W. Reid und D. J. Taylor (2010):
Risk of carcass contamination with *Campylobacter* in sheep sent to slaughter into an abattoir in Scotland.
Preventive Veterinary Medicine 95, 99 - 107

Literaturverzeichnis

- Garrido, V., L. Torroba, I. Garcia-Jalon und A. I. Vitas (2008):
Surveillance of listeriosis in Navarre, Spain, 1995-2005--epidemiological patterns and characterisation of clinical and food isolates.
Eurosurveillance 13, 1 - 6
- Garrido, V., A. I. Vitas und I. Garcia-Jalon (2009):
Survey of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat products: Prevalence by brands and retail establishments for exposure assessment of listeriosis in Northern Spain.
Food Control 20, 986 - 991
- Gianfranceschi, M. V., M. C. D'Ottavio, A. Gattuso, A. Bella und P. Aureli (2009):
Distribution of serotypes and pulsotypes of *Listeria monocytogenes* from human, food and environmental isolates (Italy 2002 - 2005).
Food Microbiology 5, 520 - 6
- Gill, C. O. (1987):
Prevention of microbial contamination in the lamb processing plant, in Elimination of Pathogenic Organisms from Meat and Poultry (ed F.J.M. Smulders).
Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam, S. 203 - 220
- Gill, C. O., L. P. Baker und T. Jones (1999):
Identification of inadequately cleaned equipment used in a sheep carcass-breaking process.
Journal of Food Protection 62, 637 - 643
- Gill, C. O., J. Bryant und D. A. Brereton (2000):
Microbiological conditions of sheep carcasses from conventional or inverted dressing processes.
Journal of Food Protection 63, 1291 - 1294
- Gillespie, I. A., S. J. O'Brien, J. A. Frost, G. K. Adak, P. Horby, A. V. Swan, M. J. Painter und K. R. Neal (2002):
A case-case comparison of *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* infection: a tool for generating hypotheses.
Emerging Infectious Diseases 8, 937 - 942
- Gillespie, I. A., J. McLauchlin, K. A. Grant, C. L. Little, V. Mithani, C. Penman, C. Lane und M. Regan (2006):
Changing Pattern of Human Listeriosis, England and Wales, 2001–2004.
Emerging Infectious Diseases 12, 1361 - 1366
- Gillespie, I. A., P. Mook, C. L. Little, K. A. Grant und J. McLauchlin (2010):
Human Listeriosis in England, 2001–2007: Association with neighbourhood deprivation.
Eurosurveillance 15, 1 - 10
- Glünder, G. und K. H. Hinz (2005):
Campylobakteriose
in: O. Siegmann und U. Neumann (Hrsg.): Kompendium der Geflügelkrankheiten.
Schlütersche Verlag, Hannover, S. 237 - 240

Literaturverzeichnis

- Goda, F. F., N. A. Wassef, A. A. Ibrahim und S. Roushdy (1986):
Studies on microorganisms secured from different organs of slaughtered sheep with special reference to the microbial load in certain muscles
Beiträge zur tropischen Landwirtschaft und Veterinärmedizin 24, 85 - 95
- Gomez-Duarte, O. G., O. Arzuza, D. Urbina, J. Bai, J. Guerra, O. Montes, M. Puello, K. Mendoza und G. Y. Catro (2010):
Detection of *Escherichia coli* enteropathogens by multiplex polymerase chain reaction from children's diarrheal stools in two Caribbean-Colombian cities.
Foodborne Pathogens Disease 7, 199 - 206
- Goulet, V., C. Hedberg, A. LeMonnier und H.deValk (2008):
Increasing Incidence of Listeriosis in France and other European countries.
Emerging Infectious Diseases 14, 734 - 740
- Grove-White, D. H., A. J. Leatherbarrow, P. J. Cripps, P.J. Diggle und N. P. French (2010):
Temporal and Farm-management-associated variation in the faecal-pat prevalence of *Campylobacter jejuni* in ruminants.
Epidemiology and Infection 138, 549 - 558
- Gudmundsdottir, K. B., B. Aalbaek, S. Sigurdarson und E. Gunnarsson (2004):
The diversity of *Listeria monocytogenes* strains from 10 icelandic sheep farms.
Journal of Applied Microbiology 96, 913 - 921
- Hadley, P. J., J. S. Holder und M. H. Hinton (1997):
Effects of fleece soiling and skinning method on the microbiology of sheep carcasses.
Veterinary Research 140, 570 - 574
- Hartung, M. (2001):
Bericht über die epidemiologische Situation der Zoonosen in Deutschland für 2000.
BfR Hefte 06, S. 165 - 172
ISSN 0948-0307, ISBN 3-931675-72-6
- Hauge, S. J., M. Wahlgren, O. J. Rotterrud und T. Nesbakken (2011):
Hot water surface pasteurisation of lamb carcasses: Microbial effects and cost-benefit consideration.
International Journal of Food Microbiology 146, 69 - 75
- Hayashidani, H., N. Kanzaki, Y. Kaneko, A. T. Okatani, T. Taniguchi, K. Kaneko und M. Ogawa (2002):
Occurrence of yersiniosis and listeriosis in wild boars in Japan.
Journal of Wildlife Diseases 38, 202-205
- Heizmann, W., P. C. Doller, B. Gutbrod und H. Werner (1988):
Rapid identification of *Escherichia coli* by Fluorocult media and positive indole reaction.
Journal of Clinical Microbiology 12, 2682 - 2684

Literaturverzeichnis

Hijazi, O. (2010):

Energieeffizienz und Emissionen unterschiedlicher Schafhaltungssysteme in Syrien.

2. gemeinsamer Agrosnet Doktorandentag, Rostock, 23. 6. 2010

http://www.atb-potsdam.de/fileadmin/docs/Jahresberichte/atb_forschungsbericht_2010_2011_web.pdf

zuletzt besucht am 29.10.2013

Hiko, A., D. Asrat und G. Zewde (2008):

Occurrence of *Escherichia coli* O157:H7 in retail raw meat products in Ethiopia.

Journal of Infection in Developing Countries 2, 389 - 393

Ho, A. J., V. R. Lappi und M. Wiedmann (2007):

Longitudinal monitoring of *Listeria monocytogenes* contamination patterns in a farmstead dairy processing facility.

Journal of Dairy Science 90, 2517 – 2524

Holder, J. S., und P. J. Hadley (1996):

The cleanliness of fleeces and lamb carcass hygiene. In: Factors Affecting the Microbial Quality of Meat. 2. Slaughter and Dressing.

Edited by M. H. Hinton and C. Rowlings. EU Concerted Action CT94-1456: Microbial Control in the Meat Industry, University of Bristol Press, S. 113 - 144

ISBN 0-86292-436-7

Holt, J. G., N. R. Krieg, P. H. A. Sneath, J. T. Stanley und S. T. Williams, Eds. (1994):

Bergey's Manual of Determinative Bacteriology.

9th edition, Williams and Wilkins, Baltimore, Maryland, USA, S. 41; 179-180; 186-187; 566-567.

ISBN 0-683-00603-7

Hughes, L. A., S. Shopland, P. Wigley, H. Bradon, A. H. Leatherbarrow, N. J. Williams, M. Bennett, E. de Pinna, B. Lawson, A. A. Cunningham und J. Chantrey (2008):

Characterisation of *Salmonella* enterica serotype Typhimurium isolates from wild birds in northern England from 2005 - 2006.

BMC Veterinary Research 4: 4. doi: 10.1186/1746-6148-4-4.

Hutchison, M. L., L. D. Walters, S. M. Avery, C. A. Reid, D. Wilson, M. Howell, A. M. Johnston und S. Buncic (2005):

A comparison of wet-dry swabbing and excision sampling methods for microbiological testing of bovine, porcine, and ovine carcasses at red meat slaughterhouses.

Journal of Food Protection 68, 2155 - 2162

Hutchison, M. L., D. J. I. Thomas, A. H. Small, S. Buncic und M. Howell (2007):

Implementation of compulsory Hazard Analysis Critical Control Point System and Its effect on concentrations of carcass and environmental surface bacterial indicators in United Kingdom red meat slaughterhouses.

Journal of Food Protection 70, 1633 - 1639

Ibrahim, A und I. C. Mac Rae (1991):

Incidence of *Aeromonas* and *Listeria spp.* in red meat and milk samples in Brisbane, Australia.

International Journal of Food Microbiology 12, 263 - 269

Literaturverzeichnis

ICARDA. (2008):

Review of agriculture in the dry areas, More Milk from Awassi Sheep.
International Center for Agricultural Research in the Dry Areas
http://www.icarda.org/publications/caravan/caravan24/focus_13.htm
zuletzt besuch am 10.11.2011

IFA (2011):

EU Sheep and Goat Meat Market Situation.
<http://www.ifa.ie/LinkClick.aspx?fileticket=x3x9AcKgpc4%3D&tabid=716>
zuletzt besucht am 1.12.2012

DIN (2003):

EN ISO 6579 - Horizontales Verfahren zum Nachweis von *Salmonella spp.*
Ref.-Nr. DIN EN ISO 6579:2003-03
DIN Deutsche Institut für Normung e. V., Berlin

DIN (2004):

DIN ISO 10272 – Mikrobiologie, Horizontales Verfahren zum Nachweis von *thermophile Campylobacter*-Spezies
DIN Deutsche Institut für Normung e. V., Berlin

ISO (2003):

ISO 10273 – Horizontal method for the detection of presumptive pathogenic *Yersinia enterocolitica*.

Ref.-Nr. ISO 10273: 2003 (E)

ISO (1995):

ISO 11290 - Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes*.
Ref.-Nr. ISO 11290: 1995

Jafari, F., L. Shokrzadeh, M. Hamidian, S. Salmanzadeh-Ahrabi und M. R. Zali (2008):

Acute diarrhea due to enteropathogenic bacteria in patients at hospitals in Tehran.
Japanese Journal of Infectious Diseases 61, 269 - 273

Jemmi, T., H. Schmid und R. STEPHAN (2002):

Listeria monocytogenes - Gesundheitsrisiko und Hygieneindikator.
Amtstierärztlicher Dienst und Lebensmittelkontrolle 9, 98 - 101

Jepsen, M. R., J. Simonsen und S. Ethelberg (2009):

Spatio-temporal cluster analysis of the incidence of *Campylobacter* cases and patients with general diarrhea in a Danish county, 1995–2004.
International Journal of Health Geographics 20, 8 - 11

Johannessen, G. S., G. Kapperud und H. Kruse (2000):

Occurrence of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in Norwegian pork products determined by a PCR method and traditional culturing method.
International Journal of Food Microbiology 54, 75 - 80

Literaturverzeichnis

Jones, R. J. (1993):

The establishment of provisional quality assurance guidelines for assessing the hygienic adequacy of the lamb carcass cooling process.

New Zealand Veterinary Journal 41, 105 - 110

Jones, K., S. Howard und J. S. Wallace (1999):

Intermittent shedding of thermophilic *Campylobacters* by sheep at pasture.

Journal of Applied Microbiology 86, 531 - 536

Jones K. (2002):

Campylobacter in water, sewage and the environment.

Journal of Applied Microbiology 90, 68 - 79

Jordan, E., J. Egan, C. Dullea, J. Ward, K. McGillicuddy, G. Murray, A. Murphy, B. Bradshaw, N. Leonard, P. Rafter und S. McDowell (2006):

Salmonella surveillance in raw and cooked meat and meat products in the Republic of Ireland from 2002 to 2004.

Journal of Food Microbiology 112, 66 – 70

Kahraman, T und A. Aydin (2009):

Prevalence of *Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in meat and meat products in Turkey.

Archiv für Lebensmittelhygiene 60, 6 - 11

Kalchayanand, N., T. M. Arthur, J. M. Bosilevac, D. M. Brichta-Harhay, M. N. Guerini, S. D. Shackelford, T. L. Wheeler und M. Koohmaraie (2007):

Microbiological characterization of lamb carcasses at commercial processing plants in the United States.

Journal of Food Protection 70, 1811 - 1819

Kaper, J. B. und M. A. Karmali (2008):

The continuing evolution of a bacterial pathogen.

Proceedings of the National Academy of Sciences 105, 4535 - 4536

Karib, H. und H. Seeger (1994):

Vorkommen von Yersinien- und *Campylobacter*-Arten in Lebensmitteln.

Fleischwirtschaft 74, 1104 - 1106

Kasper, S., S. Huhulescu, B. Auer, I. Heller, F. Karner, R. Würzner, M. Wagner und F. Allerberger (2009):

Epidemiology of listeriosis in Austria.

Wiener Klinische Wochenschrift 121, 113 - 119

Kassa, T., S. Gebre-Selassie und D. Asrat (2007):

Antimicrobial susceptibility patterns of thermotolerant *Campylobacter* strains isolated from food animals in Ethiopia.

Veterinary Microbiology 119, 82 - 87

Literaturverzeichnis

Kechagia, N., C. Nicolaou, V. Ioannidou, E. Kourti, A. Ioannidis, N. J. Legakis und S. Chatzipanagiotou (2007):

Detection of chromosomal and plasmid--encoded virulence determinants in *Yersinia enterocolitica* and other *Yersinia* spp. isolated from food animals in Greece.

International Journal of Food Microbiology 118, 326 - 331

Kingsley, R. A., C. L. Msefula, N R. Thomson, S. Kariuki, K. E. Holt, M. A. Gordon, D. Harris, L. Clarke, S. Whitehead, V. Sangal, K. Marsh, M. Achtman, M. E. Molyneux, M. Cormican, J. Parkhill, C. A. MacLennan, R. S. Heyderman und G. Dougan (2009):

Epidemic multiple drug resistant *Salmonella* Typhimurium causing invasive disease in sub-Saharan Africa have a distinct genotype.

Genome Research 19, 2279 - 2287

Kleemann, J. und TH. Bergann (1994):

Yersinia spp. In frischer Rohwurst, Untersuchungen zum Vorkommen und zur Charakterisierung der *Yersinia enterocolitica*-Isolate.

Fleischwirtschaft 74, 1101 - 1103

Klumpp, C., A. M. Häring und S. Boos (2005):

Die Entwicklungspotenziale der Ökologischen Schafhaltung in Deutschland.

Universität Hohenheim, Institut für Landwirtschaftliche Betriebslehre

<http://www.orgprints.org/5275/>, zuletzt besucht 03.04.2012

Korn, S. (2001):

Schafe in Koppel und Hütehaltung.

2. Auflage, Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart, S. 9-14

ISBN 978-3-8001-3197-6

Koronkiewicz, A., E. Daczowska-Kozon, K. Markiewicz, A. Wojciechowska, E. Zmuda und W. Dabrowski (2004):

Game animals as carriers of enteric pathogens.

Folia Universitatis Agriculturae Stetinesis, Scientia Alimentaria 238, 79-84

Krocker, M., M. R. Al-Merestani und S. Moussa (1999):

Untersuchungen zur Tränkeaufnahme und zur Wachstumsleistung von Awassi-Schafklämmern bei mutterloser Aufzucht in Syrien, Studies on Behaviour of Liquid Intake of Awassi Sheep Lambs.

Deutscher Tropentag 1999 in Berlin Session: Sustainable Technology Development in Animal Agriculture

ftp://ftp.gwdg.de/pub/tropentag/proceedings/1999/referate/STD_A9.pdf

zu letzt besucht 31.10.2013

Lanada, B., R. S. Morris, R. Jackson und S. G. Fnwick (2005):

Prevalence of *Yersinia* species in goat flocks.

Australian Veterinary Journal 83, 563 - 566

Larsen, H. D., J. P. Teilmann, M. Wahlgren und H. Christensen (2009):

Hygienic effect on steam vacuuming lamb and cattle carcasses in a Norwegian slaughterhouse

Fleischwirtschaft International 24, 77 - 82

Literaturverzeichnis

Latorre, L., A. Parisi, R. Fracalvieri, G. Normanno, M. C. La Porta, E. Goffredo, L. Palazzo, G. Ciccacese, N. Addante und G. Santagada (2007):
Low prevalence of *Listeria monocytogenes* in foods from Italy.
Journal of Food Protection 70, 1507 - 1512

Lenahan, M., S. O'Brien, K. Kinsella, T. Sweeney und J. J. Sheridan (2007):
Prevalence and molecular characterization of *Escherichia coli* O157:H7 on Irish lamb carcasses, fleece and in faeces samples.
Journal of Applied Microbiology 103, 2401 - 2409

Levine, M. M. (1987):
Escherichia coli that cause diarrhea: enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic, and enteroadherent.
Journal of infectious diseases 155, 377 - 389

Levine, M. M., C. Ferreccio, V. Prado, M. Cayazzo, P. Abrego, J. Martinez, L. Maggi, M. M. Baldini, W. Martin und D. Maneval (1993):
Epidemiologic studies of *Escherichia coli* diarrheal infections in a low socioeconomic level peri-urban community in Santiago, Chile.
American Journal of Epidemiology 138, 849 - 869

Little, C.L., J. F. Richardson, R. J. Owen, E. de Pinna und E. J. Threlfall (2008):
Campylobacter and *Salmonella* in raw red meats in the United Kingdom: Prevalence, characterization and antimicrobial resistance pattern, 2003-2005.
Food Microbiology 25, 538 - 543

Little, C. L., F. J. Gormley, N. Rawal und J. F. Richardson (2010a):
A recipe for disaster: outbreaks of campylobacteriosis associated with poultry liver pate in England and Wales.
Epidemiology and Infection 23, 1 - 4

Little, C. L., S. M. Pires, I. A. Gillespie, K. Grant und G. L. Nichols (2010b):
Attribution of Human *Listeria monocytogenes* Infections in England and Wales to Ready-to-Eat Food Sources Placed on the Market: Adaptation of the Hald Salmonella Source Attribution Model.
Foodborne Pathogens and Disease 7, 749 - 756

Lovatt, S. J., R. G. Bell und G. J. Le Roux (2006):
Establishment of critical hygiene indices for meat cooling processes evaluated by a temperature function integration method.
Journal of Food Protection 69, 2084 - 2090

Luangtongkum, T. (2005):
Campylobacter spp. in Conventional and Organic Poultry Operations.
Vet. med. Diss., School of The Ohio State University

MacGowan, A. P., K. Bowkr, J. McLauchlin, P. M. Bennett und D. S. Reeves (1994):
The occurrence and seasonal changes in the isolation of *Listeria* spp. in shop bought food stuffs, human faeces, sewage and soil from urban sources.
International Journal of Food Microbiology 21, 325 - 334

Literaturverzeichnis

Majowicz, S. E., J. Musto, E. Scallan, F. J. Angulo, M. Kirk, S. J. O'Brien, T. F. Jones, A. Fazil und R. M. Hoekstra (2010):
The global burden of nontyphoidal *Salmonella* gastroenteritis.
Clinical Infectious Diseases 50, 882 - 889

Mammaia, C., A. Aleo, C. Romani, N. Pellissier, P. Nicoletti, P. Pecile, A. Nastasi und M. M. Pontello (2009):
Characterization of *Listeria monocytogenes* isolates from human Listeriosis cases in Italy.
Journal of Clinical Microbiology 47, 2925 - 2930

Mannering, S. A., D. M. West, S. G. Fenwick, R. M. Marchant und K. O'Connell (2006):
Pulsed-field gel electrophoresis of *Campylobacter jejuni* sheep abortion isolates.
Veterinary Microbiology 115, 237 - 242

Marcheggiani, S., M. F. Blasi, L. Mancini und E. Funari (2009):
Emerging diseases in rural areas of the European Region, the example of campylobacteriosis
The International Meeting on Health & Environment: Challenges for the Future Roma,
National Institute of Health, Department of the Environment and Primary Prevention december
9.11.2009
<http://www.iss.it/binary/imhe/cont/MarcheggianiIHMEpresentation.pdf>, zuletzt besucht am
15.05.2012

Marriott, N. G. (1992):
Mikroorganismen und Hygiene Grundlagen der Lebensmittelhygiene.
Behrs Verlag, Hamburg, S. 37 - 74

Marten, J. (1986):
Leitsatz Stallbau für Schafe.
Kuratorium für Technik und Bauwesen in der Landwirtschaft
Hrsg.: KTBL-Arbeitsblatt 1072, Darmstadt

McNally, A., T. Cheasty, C. Fearnley, R. W. Dalziel, G. A. Paiba, G. Manning und D.G. Newell (2004):
Comparison of the biotypes of *Yersinia enterocolitica* isolated from pigs, cattle and sheep at
slaughter and from humans with yersiniosis in Great Britain during 1999–2000.
Letters in Applied Microbiology 39, 103 - 108

Meeyam, T. (2010):
Zoonotic Agents in Sheep Farms in Brandenburg, Germany
Vet. med. Diss., Journal-Nr. 3447, Freie Universität Berlin

Melly, H., M. A. Al-Emadi, A. E. Arwana, T. Alter, A. Hamedy und K. Fehlhaber (2007):
Prevalence of *Campylobacter* spp. in Syrian poultry.
Archiv für Lebensmittelhygiene 58, 180 - 183

Melly, H., M. A. Al-Emadi, A. E. Arwana, T. Alter, A. Hamedy und K. Fehlhaber (2008):
Hohe Kontaminationsrate von Hähnchenschlachtkörpern in Syrien: Prävalenz von
thermophilen *Campylobacter* spp. bei Masthähnchen in Syrien.
Fleischwirtschaft 88 (7), 110 - 112

Literaturverzeichnis

Mengesha, D., B. M. Zewde, M. T. Toquin, J. Kleer, G. Hildebrandt und W. A. Gebreyes (2009):

Occurrence and distribution of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* species in ready-to-eat and raw meat products.

Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift 122, 20 - 24

Mersha, G., D. Asrat, B. M. Zewde und M. Kyule (2009):

Occurrence of *Escherichia coli* O157:H7 in faeces, skin and carcasses from sheep and goats in Ethiopia.

Letters in Applied Microbiology 50, 71 - 76

Mertins, S. (2008):

Einfluss des Kohlenstoff-Metabolismus auf die Aktivität des Virulenzfaktors PrfA von *Listeria monocytogenes*.

Vet. med. Diss., Journal Nr. 2955, Bayerische Julius-Maximilians-Universität Würzburg

Miller, W. G., A. H. Bates, S. T. Horn, M. T. Brandl, M. R. Wachtel and R. E. Mandrell (2000):

Detection on surfaces and in Caco-2 cells of *Campylobacter jejuni* cells transformed with new gfp, yfp, and cfp marker plasmids.

Applied and Environmental Microbiology 66, 5426 - 5436

Milios, K., M. Mataragas, A. Pantouvakis, E. H. Drosinos und P. E. Zoiopoulos (2011):

Evaluation of control over the microbiological contamination of carcasses in a lamb carcass dressing process operated with or without pasteurizing treatment.

International Journal of Food Microbiology 146, 170 - 175

Millard, G und S. Rockliff (2001):

Microbiological Quality of Meats Other Than Chicken.

Act Health Protection Service.

Miller, W. G. und R. E. Mandrell (2005):

Prevalence of *Campylobacter* in the food and water supply: Incidence, outbreaks, isolation and detection.

In: J. M. Ketley und M. E. Konkel (eds.): *Campylobacter: Molecular and Cellular Biology*.

Horizon Bioscience, Norfolk, UK, S. 101 - 163

Milnes, A. S., I. Stewart, F. A. Clifton-Hadley, R. H. Davies, D. G. Newell, A. R. Sayers, T. Cheasty, C. Cassar, A. Ridley, A. J. C. Cook, S. J. Evans, C. J. Teale, R. P. Smith, A. McNally, M. Toszeghy, R. Futter, A. Kay und G. A. Paiba (2008):

Intestinal carriage of verocytotoxigenic *Escherichia coli* O157, *Salmonella*, thermophilic *Campylobacter* and *Yersinia enterocolitica*, in cattle, sheep and pigs at slaughter in Great Britain during 2003.

Epidemiology and Infection 136, 739 - 751

Milnes, A. S., A. R. Sayers, I. Stewart, F. A. Clifton-Hadley, R. H. Davies, D. G. Newell, A. J. Cook, S. J. Evans, R. P. Smith und G. A. Paiba (2009):

Factors related to the carriage of Verocytotoxigenic *E.coli*, *Salmonella*, thermophilic *Campylobacter* and *Yersinia enterocolitica* in cattle, sheep and pigs at slaughter.

Epidemiology and Infection 137, 1135 - 1148

Literaturverzeichnis

- Mohammed, H. O., E. Atwill, L. Dunbar, T. Ward, P. McDonough, R. Gonzalez und K. Stipetic (2009):
The risk of *Listeria monocytogenes* infection in beef cattle operations.
Journal of Applied Microbiology 108, 349 - 356
- Monday, S. R., T. S. Whittam und P. C. Feng (2001):
Genetic and evolutionary analysis of mutations in the *gusA* gene that cause the absence of beta-glucuronidase activity in *Escherichia coli* O157:H7.
Journal of Infectious Diseases 7, 918 - 921
- Moran, L., P. Scates und R.H. Madden (2010):
Prevalence of *Campylobacter* spp. in raw retail poultry on sale in Northern Ireland.
Journal of Food Protection 72, 1830 - 1835
- Nataro, J. P. und J. B. Kaper (1998):
Diarrheagenic *Escherichia coli*.
Clinical Microbiology Reviews 11, 142 - 201
- Nightingale, K. K., Y. H. Schukken, C. R. Nightingala, E. D. Fortes, A. J. Ho, Z. Her, Y. T. Grohn, P. L. McDonough und M. Wiedmann (2004):
Ecology and transmission of *Listeria monocytogenes* infecting ruminants and in the farm environment.
Applied and Environmental Microbiology 70, 4458 - 4467
- Nortjé, G. L., S. M. Vorster, R. P. Greebe und P. L. Steyn (1999):
Occurrence of *Bacillus cereus* and *Yersinia enterocolitica* in South African retail meats.
Food Microbiology 16, 213 - 217
- Nottingham, P. M., N. Penny und J. C. L. Harrison (1974):
Microbiology of beef Processing I. Beef dressing hygiene.
New Zealand Journal of Agricultural Research 17, 79 - 83
- Ogden, I. D., J. F. Dallas, M. MacRae, O. Rotariu, K. W. Reay, M. Leitch, A. P. Thomson, S. K. Sheppard, M. Maiden, K. J. Forbes und N. J. Strachen (2009):
Campylobacter excreted into the environment by animal sources: Prevalence, concentration shed, and host association.
Foodborne Pathogens and Disease 6, 1161 - 1170
- On, S., M.-L. Hänninen und F. Thomson-Carter (2000):
„CAMPYNET“ Prototype standardized Protocol for Pulsed-field gel electrophoresis-based DNA Typing of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*.
- Oporto, B., J. I. Esteban, G. Aduriz, R. A. Juste und A. Hurtado (2007):
Prevalence and strain diversity of thermophilic *Campylobacters* in cattle, sheep and swine farms.
Journal of Applied Microbiology 103, 977 - 984

Literaturverzeichnis

- Oporto, B., J. I. Esteban, G. Aduriz, R. A. Juste und A. Hurtado (2008):
Escherichia coli O157:H7 and non-O157 Shiga toxin-producing *E. coli* in healthy cattle, sheep and swine herds in Northern Spain.
Zoonoses Public Health 55, 73 - 81
- Osek, J., P. Gallien, D. Protz und M. Truszczynski (2000):
Rapid and specific differentiation of enterotoxin-producing *Escherichia coli* strains from other gram-negative enteric bacteria using multiplex PCR.
Berliner Münchener Tierärztliche Wochenschrift 113, 265 - 270
- Ozari, R. und F. A. Stolle (1990):
Zum Vorkommen von *L. monocytogenes* in Fleisch und Fleisch-Erzeugnissen einschl. Geflügelfleisch des Handels.
Archiv für Lebensmittelhygiene 41, 47-50
- Park, S. F. (2002):
The physiology of *Campylobacter* species and its relevance to their role as foodborne pathogens.
International Journal of Food Microbiol 74, 177 - 188
- Paulsen, P., F. Hilbert, R. Winkelmayr, S. Mayrhofer, P. Hofbauer und F. J. M. Smulders (2003):
Zur tierärztlichen Fleischuntersuchung von Wild, dargestellt an der Untersuchung von Rehen in Wildfleischbearbeitungsbetrieben.
Archiv für Lebensmittelhygiene 54, 137-140
- Pennycott, T. W., A. Park und H. A. Mather (2006):
Isolation of different serovars of *Salmonella enterica* from wild birds in Great Britain between 1995 and 2003.
Veterinary Research 158, 817 - 820
- Pennycott, T. W., H. A. Mather, G. Bennett und G. Foster (2010):
Salmonellosis in garden birds in Scotland, 1995 to 2008: geographic region, *Salmonella enterica* phage type and bird species.
Veterinary Research 166, 419 - 421
- Phebus, R. K., A. L. Nutsch, D. E. Schafer, R. C. Wilson, M. J. Riemann, J. D. Leising, C. L. Kastner, J. R. Wolf und R. K. Prasai (1997):
Comparison of steam pasteurization and other methods for reduction of pathogens on surfaces of freshly slaughtered beef.
Journal of Food Protection 60, 476 - 484
- Phillips, D., J. Sumner, J. F. Alexander und K. M. Dutton (2001):
Microbiological quality of Australian sheep meat.
Journal of Food Protection 64, 697 - 700
- Phillips, D., D. Jordan, S. Morris, I. Jenson und J. Sumner (2008):
A national survey of the microbiological quality of retail raw meats in Australia.
Journal of Food Protection 71, 1232 - 1236

Literaturverzeichnis

Prändl, O (1988):

Schlachtviehtransport - Verladen der Tiere

In: O. Prändl, A. Fischer, T. Schmidhofer, H.J. Sinell (Hrsg.): Fleisch „ Technologie und Hygiene der Gewinnung und Verarbeitung“.

Ulmer Verlag, Stuttgart, S. 38 - 43

Prasai, R. K., R. K. Phebus, C. M. G. Zepeda, C. L. Kastner, A. E. Boyle und D. Y. C. Fung (1995):

Effectiveness of trimming and/or washing on microbiological quality of beef carcasses. *Journal of Food Protection* 58, 1114 - 1117

Prieto, M., M. L. Garcia, M. R. Garcia, A. Otero und B. Moreno (1991):

Distribution and Evolution of Bacteria on Lamb Carcasses During Aerobic Storage.

Journal of Food Protection 54, 945 – 949

Purvis, G. M., K. Hullah, S. J. Pascoe, S. J. Evans und R. H. Davies (2005):

Persistence of *Salmonella* Typhimurium DT120 in abattoir paddocks holding sheep.

Veterinary Record 157, 165 - 167

Rahimi, E., M. Ameri und H. R. Kazameini (2010):

Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* species isolated from raw camel, beef, lamb, and goat meat in Iran.

Foodborne Pathogens and Disease 7, 443 - 447

RAHMANN, G. (1998):

Managementaspekte einer tiergerechten Schafhaltung bei Beweidung von Biotypen. Ins Gras beißen für den Naturschutz

<http://www.wiz.uni-kassel.de/ntier/EQULFA98.html>, zuletzt besucht am 01.10.2012

Rasch, B., M. Friese, W. J. Hofmann und E. Naumann (2010):

Quantitative Methoden 1.Einführung in die Statistik für Psychologen und Sozialwissenschaftler.

Springer Berlin Heidelberg, S. 57 - 60

ISBN 978-3-642-05271-2

Reich, F. (2007):

Quantifizierung und Prävalenz thermophiler *Campylobacter* spp. in der Broilerschlachtung und Fleischverarbeitung im Rahmen einer Langzeitstudie.

Vet. med. Diss., Hannover, Tierärztliche Hochschule

<http://d-nb.info/985358424/34>

Rey, J., J. E. Blanco, M. Blanco, A. Mora, G. Dahbi, J. M. Alonso, M. Hermoso, J. Hermoso, M. P. Alonso, M. A. Usera, E. A. González, M. I. Bernárdez und J. Blanco (2003):

Serotypes, phage types and virulence genes of shiga-producing *Escherichia coli* isolated from sheep in Spain.

Veterinary Microbiology 94, 47 - 56

Literaturverzeichnis

Rhoades, J. R., G. Duffy und K. Koutsoumanis (2009):
Prevalence and concentration of verocytotoxigenic *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* in the beef production chain: A review.
Food Microbiology 26, 357 - 376

RKI (2004):
Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2003
http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Jahrbuch/Jahrbuch_2003.pdf?__blob=publicationFile,
zuletzt besucht am 23.10.2012
ISBN 3-89606-085-6

RKI (2005):
Epidemiologisches Bulletin Nr. 35/1999
Campalobacter-Infektionen
http://edoc.rki.de/documents/rki_fv/reLFCbM73iwS6/PDF/25xdKt3XR1q2PI.pdf
zuletzt besucht am 14.10.2012

RKI (2008):
Infektionsschutz: Erkrankungen durch Enterohämorrhagische *Escherichia coli* (EHEC)
http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_EHEC.html
zuletzt besucht am 6.3.2013

RKI (2009):
Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2008 vom 1.3.2009
http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Jahrbuch/Jahrbuch_2008.pdf?__blob=publicationFile,
zuletzt besucht am 23.10.2012
ISBN 978-3-89606-III-9

RKI (2010):
Epidemiologisches Bulletin Nr. 34 vom 30 August 2010
http://edoc.rki.de/documents/rki_fv/reCfJag5U31Bw/PDF/225zy9Y042Tlm6.pdf
zuletzt besucht am 24.9.2012

RKI (2012):
Epidemiologisches Bulletin Nr. 6 vom 13. Februar 2012
http://edoc.rki.de/documents/rki_fv/renvwq2wTq1dU/PDF/27Lt4UJtc2DkK.pdf
zuletzt besucht am 15.3.2013

Roberts, T. A., Mac Fie, H. J. H. und W. R. Hudson (1980):
The effect of incubation temperature and site of sampling on assessment of the numbers of bacteria on red meat carcass at commercial abattoirs.
Journal of Hygiene Cambridge 85, 371 - 380

Rocourt, J. (1988):
Taxonomy of the genus *Listeria*.
Infection 16, 89 - 91

Rolle, M. und A. Mayer (1993):
Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre.
Hrsg.: 6. Auflage, Enke Verlag, Stuttgart

Literaturverzeichnis

Rotariu, O., J. F. Dallas, I. D. Ogden, M. MacRae, S.K. Sheppard, M. C. Maiden, F. J. Gormley, K. J. Forbes und N. J. Strachan (2009):

Spatiotemporal homogeneity of *Campylobacter* subtypes from cattle and sheep across northeastern and southwestern Scotland.

Applied and Environmental Microbiology 75, 6275 - 6281

Sahin, O., P. J. Plummer, D. M. Jordan, K. Sulaj, S. Pereira, S. Robbe-Austerman, L. Wang, M. J. Yaeger, L. J. Hoffman und Q. Zhang (2008):

Emergence of a tetracycline-resistant *Campylobacter jejuni* clone associated with outbreaks of ovine abortion in the United States.

Journal of Clinical Microbiology 46, 1663 - 1671

Scaletski, I. C., M. L. Silva, und L. R. Trabulsi (1984):

Distinctive patterns of adherence of enteropathogenic *Escherichia coli* to HeLa cells.

Infection and Immunity 45, 534 - 536

Schiemann, D. A. (1979):

Synthesis of a selective agar medium for *Yersinia enterocolitica*.

Canadian Journal of Microbiology 25, 1298 - 1304

Schlegel, M (2005):

Mikrobiologische Untersuchung portionierter Fleischerzeugnisse und Salatzubereitungen in Küchen sozialer Einrichtungen unter besonderer Berücksichtigung der Lagerzeit und Temperatur.

Vet. med. Diss., ID-Code: 3535, Ludwig-Maximilians-Universität München

Schlolaut, W. und G. Wachendörfer (1992):

Handbuch Schafhaltung.

5. Auflage, DLG Verlag, Frankfurt am Main, S. 215-220

Schmidhofer, T., (1988):

Untersuchungsmethoden

In: O. Prändl, A. Fischer, T. Schmiedhofer und H. J. Sinell: Handbuch der Lebensmitteltechnologie Fleisch-Technologie und Hygiene der Gewinnung und Verarbeitung.

Ulmer Verlag, Stuttgart, S. 679 - 753

Schoder, D., A. Zangana und M. Wagner (2010):

Sheep and Goat raw milk consumption: a hygienic matter of concern?

Archiv für Lebensmittelhygiene 61, 229 - 234

Schreiter, M. (1981):

Mikrobiologie des Fleisches und der Fleischerzeugnisse

in: Münch, H. D., C. Saupe, K. Wegner und K. Zickrick: Mikrobiologie tierischer Herkunft-Eine Einführung.

Harri Deutsch Verlag, Thun, Frankfurt am Main, S. 321-349

Selbitz, H.-J. (2002):

Bakterielle Krankheiten der Tiere

In: Rolle/Mayr (Anton Mayr (Hrsg.)), Medizinische Mikrobiologie, Infektion- und Seuchenlehre.

8. Auflage, Enke MVS Medizinverlage Stuttgart GmbH & Co. KG, Stuttgart, S. 417 - 588

ISBN: 3-8304-1060-3

ISBN 978-3-8304-1060-7

Selbitz, H. J. und A. Mayr (2007):

Bakterielle Krankheiten der Tiere

In: Rolle/Mayr (Anton Mayr (Hrsg.)), Medizinische Mikrobiologie, Infektion- und Seuchenlehre.

8. Auflage, Enke MVS Medizinverlage Stuttgart GmbH & Co. KG, Stuttgart, S. 426 - 429

ISBN: 3-8304-1060-3

ISBN 978-3-8304-1060-7

Severini, M., D. Ranucci, B. T. Cenci Goga und D. Miraglia (2000):

Microbiological aspects of ovine pelt removal assisted by air inflation.

Proceeding 46th ICOMST, Buenos Aires, Argentina: 680 - 681

Sierra, M. L., G. Fandos, E. Gonzalez-Fandos, M. L. Garcia-Lopez, M. C. G. Fernandez und M. Prieto (1995a):

Prevalence of *Salmonella*, *Yersinia*, *Aeromonas*, *Campylobacter*, and Cold-Growing *Escherichia coli* on Freshly Dressed Lamb Carcasses.

Journal of Food Protection 58, 1183 - 1185

Sierra, M. L., E. Gonzalez-Fandos, M. L. Garcia Lopez, M. C. Garcia Fernandez und B. Moreno (1995b):

Contamination of lamb carcasses at the abattoir. Microflora of freshly dressed lamb carcasses: indicator and spoilage organisms.

Archiv für Lebensmittelhygiene 46, 135 - 137

Sierra, M. L., J. J. Sheridan und L. McGuire (1997):

Microbial quality of lamb carcasses during processing and the acridine orange direct count technique (a modified DEFT) for rapid enumeration of total viable counts.

International Journal of Food Microbiology 36, 61 - 67

Sinell, H. J. (1985):

Mikrobiologische Normen in Lebensmitteln aus hygienischer Sicht.

Fleischwirtschaft 65, 672 - 677

Sinell, H. J. (2004):

Einführung in die Lebensmittelhygiene.

3. Auflage, Parey Verlag, Berlin und Hamburg, S. 40-42

Slee, K. J. und C. Button (1990):

Enteritis in sheep and goats due to *Yersinia enterocolitica* infection.

Australian Veterinary Journal 67, 396 - 398

Literaturverzeichnis

- Slee, K. J. und N.W. Skilbeck (1992):
Epidemiology of *Yersinia pseudotuberculosis* and *Y. enterocolitica* infections in sheep in Australia.
Journal of Clinical Microbiology 30, 712 - 715
- Small, A., C. A. Reid, S. M. Avery, N. Karabasil, C. Crowley und S. Buncic (2002):
Potential for the spread of *Escherichia coli* O157, *Salmonella*, and *Campylobacter* in the lairage environment at abattoirs.
Journal of Food Protection 65, 931 - 936
- Small, A., C. James, S. James, R. Davies, E. Liebana, M. Howell, M. Hutchison und S. Buncic (2006):
Presence of *Salmonella* in the red meat abattoir lairage after routine cleansing and disinfection and on carcasses.
Journal of Food Protection 69, 2342 - 2351
- Smibert, R. M. (1994):
Genus *Campylobacter*
in: J. G. Holt (Eds.): Bergey's Manual of Determinative Bacteriology.
9th edition, Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland, USA, S. 41, 58 - 61
ISBN 0-683-00603-7
- Solecki, O., M. MacRae, N. Strachan, B. A. Lindstedt und I. Ogden (2009):
E. coli O157 from Sheep in Northeast Scotland: Prevalence, Concentration Shed, and Molecular Characterization by Multilocus Variable Tandem Repeat Analysis.
Foodborne Pathogens and Disease 6, 849 - 854
- Solomakos, N., A. Govaris, A. S. Angelidis, S. Pournaras, A. R. Burriel, S. K. Kritas und D. K. Papageorgiou (2009):
Occurrence, virulence genes and antibiotic resistance of *Escherichia coli* O157 isolated from raw bovine, caprine and ovine milk in Greece.
Food Microbiology 26, 865 - 871
- Stafford, R (2010):
A Study of the Epidemiology of Sporadic *Campylobacter* Infection in Australia.
PhD Thesis., School of Population Health, The University of Queensland.
- Stanley, K. N., J. S. Wallace, J. E. Currie, P. J. Diggle und K. Jones (1998):
Seasonal variation of thermophilic *Campylobacters* in lambs at slaughter.
Journal of Applied Microbiology 84, 1111 – 1116
- Stark, R. (1994):
Untersuchung zum Vorkommen von *Salmonella*-Spezies, *Yersinia enterocolitica* und *Campylobacter jejuni/coli* in unerhitzten Lebensmitteln.
Vet. Med. Diss. Universität Leipzig
- Statistisches Bundesamt (2009):
http://www.destatis.de/jetspeed/portal/cms/Sites/destatis/Internet/DE/Presse/pm/2009/08/PD09_309_413_templateId=renderPrint.psml, zuletzt besucht am 4.3.2012

Literaturverzeichnis

- Sting, R., C. Nagel und G. Steng (1997):
Nachweismethoden für *Salmonella abortus ovis* sowie Untersuchungen in Schafherden im nördlichen Baden-Württemberg.
Journal of Veterinary Medicine, Series B 44, 87-98
- Stolle, A., S. Lupp, C. Thum, S. Wachek und H. H. Grove (2010):
Salmonella spp. In Tonsillen und Faeces von Schlachtschafen und-ziegen.
<http://www.amtstieraerzte.de/zeitschrift-amtstieraerztlicher-dienst/adt-abstracts/445-atd-32010-salmonella-spp-in-tonsillen-und-faeces-von-schlachtschafen-und-ziegen>
zuletzt besucht am 13.05.2013
- Strittmatter, K (2004):
Schafzucht
Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart, S. 14-24
ISBN 978-3-8001-3192-1
- Sumner, J., E. Petrenas, P. Dean, P. Dowsett, G. West, R. Wiering und G. Raven (2003):
Microbial contamination on beef and sheep carcasses in South Australia.
International Journal of Food Microbiology 81, 255 - 160
- Sutherland, S. J., J. T. Gray, P. I. Menzies, S. E. Hook und S. T. Millman (2009):
Transmission of foodborne zoonotic pathogens to riparian areas by grazing sheep.
Canadian Journal of Veterinary Research 73, 125 - 131
- Swaminathan, B. und P. G. Smidt (2007):
The epidemiology of human listeriosis.
Microbes and Infection 9, 1236 - 1243
- Tauxe, R. W., G. Wauters, V. Goossen, R. Van Noyen, J. Vandepitte, S. M. Martin, P. De Mol und G. Thiers (1987):
Yersinia enterocolitica infections and pork: the missing link
Lancet 1987, 1129 - 1132
- Tenover, F. C., R. D. Arbeit, R. V. Goering, P. A. Mickelsen, B. E. Murray, D. H. Persing und B. Swaminathan (1995):
Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing.
Journal of Clinical Microbiology 33, 2233 - 2239
- Terentjeva, M und A. Berzins (2010):
Prevalence and antimicrobial resistance of *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis* in slaughter pigs in Latvia.
Journal of Food Protection 73, 1335 - 1338
- Toora, S., E. Budu-Amoako, R. F. Ablett und J. Smith (1994):
Isolation of *Yersinia enterocolitica* from ready-to-eat foods and pork by a simple two step procedure.
Food Microbiology 11, 369 - 374

Literaturverzeichnis

TVT (2001):

Tierschutzgerechtes Schlachten von Rindern, Schweinen, Schafen und Ziegen
Tierärztliche Vereinigung für Tierschutz e.V., Merkblatt Nr. 89, Bramsche.

Vandamme, P. und H. Goossens (1992):

Taxonomy of *Campylobacter*, *Arcobacter*, and *Helicobacter*: a review.

Zentralblatt für Bakteriologie 216, 447 - 472

Van Damme, I., I. Habib und L. De Zutter (2010):

Yersinia enterocolitica in slaughter pig tonsils: Enumeration and detection by enrichment versus direct plating culture.

Food Microbiology 1, 158 - 161

Van Hoof, J., M. Severini und S. Buncic (2001):

Draft Opinion of the Scientific Committee on Measures relating to Veterinary Public Health on Ovine Gas Depelting.

European Commission Health & Consumer Protection Directorate- General. Directorate C- Scientific Opinions. Management of scientific committeesII; scientific cooperation and networks.

Vanderlinde, P. B., B. Shay und J. Murray (1999):

Microbiological status of Australian sheep meat.

Journal of Food Protection 62, 380 - 385

Vanderlinde, P., I. Jenson und J. Sumner (2005):

Using national microbiological data to set meaningful performance criteria for slaughter and dressing of animals at Australian export abattoirs.

International Journal of Food Microbiology 104, 155 - 159

VDL (1995):

Schafe 94/95. Fakten, Zahlen und agrarpolitische Entscheidungen zur Schafhaltung in Deutschland-Vereinigung Deutscher Landesschafzuchtverbände e. V. (VDL), Bonn, 64 S.

Velazquez, L. C. D., M. A. Escudero und A. M. De Guzman (1993):

Biovars, serovars and phagovars of *Yersinia enterocolitica* isolated from 450 samples of cold food in San Luis, Argentina.

Journal of Food Protection 56, 333 - 335

Verordnung (EG) Nr. 853/2004

ABI. Der EU L 139/55 vom 29. April 2004

mit spezifischen Hygienevorschriften für Lebensmittel tierischen Ursprungs

Verordnung (EG) Nr. 1441/2007. Zur Änderung der Verordnung (EG) Nr. 2073/2005 über mikrobiologische Kriterien für Lebensmittel

Verordnung über die hygienischen Anforderungen und amtlichen Untersuchungen beim Verkehr mit Fleisch (Fleischhygiene-Verordnung- FIHV) vom 29. Juni 2001 BGBl. I S. 1366 i.d.F. vom 15.1.2003.

Literaturverzeichnis

Verordnung (EG) Nr. 1099/2009

ABI. Der EU L 303/1 vom 24. September 2009

über den Schutz von Tieren zum Zeitpunkt der Tötung

Vilar, M. J., F. J. Pena, I. Prez, F. J. Dieguez, M. L. Sanjuan, J. L. Rodriguez-Otero und E. Yus (2010):

Presence of *Listeria*, *Arcobacter*, and *Campylobacter* spp. in dairy farms in Spain.

Berliner Münchener Tierärztliche Wochenschrift 123, 58 - 62

Vindigni, S. M., A. Srijan, B. Wongstitwilairoong, R. Marcus, J. Meek, P. L. Riley und C. Mason (2007):

Prevalence of foodborne microorganisms in retail foods in Thailand.

Foodborne Pathogens and Disease 4, 208 - 215

Wagner, M., D. Melzner, Z. Bago, P. Winter, M. Egerbacher, F. Schilcher, A. Zangana und D. Schoder (2005):

Outbreak of clinical listeriosis in sheep: evaluation from possible contamination routes from feed to raw produce and humans.

Journal of Veterinary Medicine B Infectious Disease Veterinary Public Health 52, 278 - 283

Wang, G., C. G. Clark, T. M. Taylor, C. Pucknell, C. Barton, L. Price, D. L. Woodward und F. G. Rodgers (2002):

Colony Multiplex PCR Assay for Identification and Differentiation of *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis*, and *C. fetus* subsp. *Fetus*.

Journal of Clinical Microbiology 40, 4744 – 4747

Wauters, G. (1973):

Improved methods for the isolation and the recognition of *Yersinia enterocolitica*.

Contributions to Microbiology and Immunology 2, 68 - 70

Wauters, G., V. Goosens, M. Janssens und J. Vandepitte (1988):

New enrichment method for isolation of pathogenic *Yersinia enterocolitica* serogroup O:3 from pork.

Applied and Environmental Microbiology 54, 851 - 854

Way, S. S., L. J. Thompson, J. E. Lopes, A. M. Hajjar, T. R. Kollmann, N. E. Freitag und C. B. Wilson (2004):

Characterization of flagellin expression and its role in *Listeria monocytogenes* infection and immunity.

Cellular Microbiology 6, 235 - 242

Willis C., T. Baalham, M. Greenwood und F. Presland (2006):

Evaluation of a new chromogenic agar for the detection of *Listeria* in food.

Journal of Applied Microbiology 101, 711 - 717

Wilson D. J., E. Gabriel, A. J. H. Leatherbarrow, J. Cheesbrough, S. Gee, E. Bolton, A. Fox, P. Fearnhead, C. A. Hart und P. J. Diggle (2008):

Tracing the Source of Campylobacteriosis.

Public Library of Science Genetics 9, e 1000203

Literaturverzeichnis

Whyte, R. T., J. S. Holder, D. B. Tinker, V. M. Allen, R. P. White und M. H. Hinton (2002):
Assessment and development of procedures and apparatus to reduce contamination of lamb carcasses during pelt removal in low-throughput abattoirs.
Journal of Food Protection 65, 41 - 49

Widders, P. R., K. J. Coates, S. Warner, J. C. Beattie, I. R. Morgan und M. W. Hickey (1995):
Controlling microbial contamination on beef and lamb meat during processing.
Australian Veterinary Journal 72, 208 - 211

Winkelmann, J. (2005):
Schaf- und Ziegenkrankheiten
3. Auflage, Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart, S. 11 - 12
ISBN 3-8001-4668-1
ISBN 9-783-8001-4668-0

Wong, T. L., L. Hollis, A. Cornelius, C. Nicol, R. Cook und J. A. Hudson (2007):
Prevalence, numbers, and subtypes of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in uncooked retail meat samples.
Journal of Food Protection 70, 566 - 573

Yadav, M. M. und A. Roy (2009):
Prevalence of *Listeria* spp. Including *Listeria monocytogenes* from apparently sheep of Gujarat State; India.
Zoonoses Public Health 56, 515 - 524

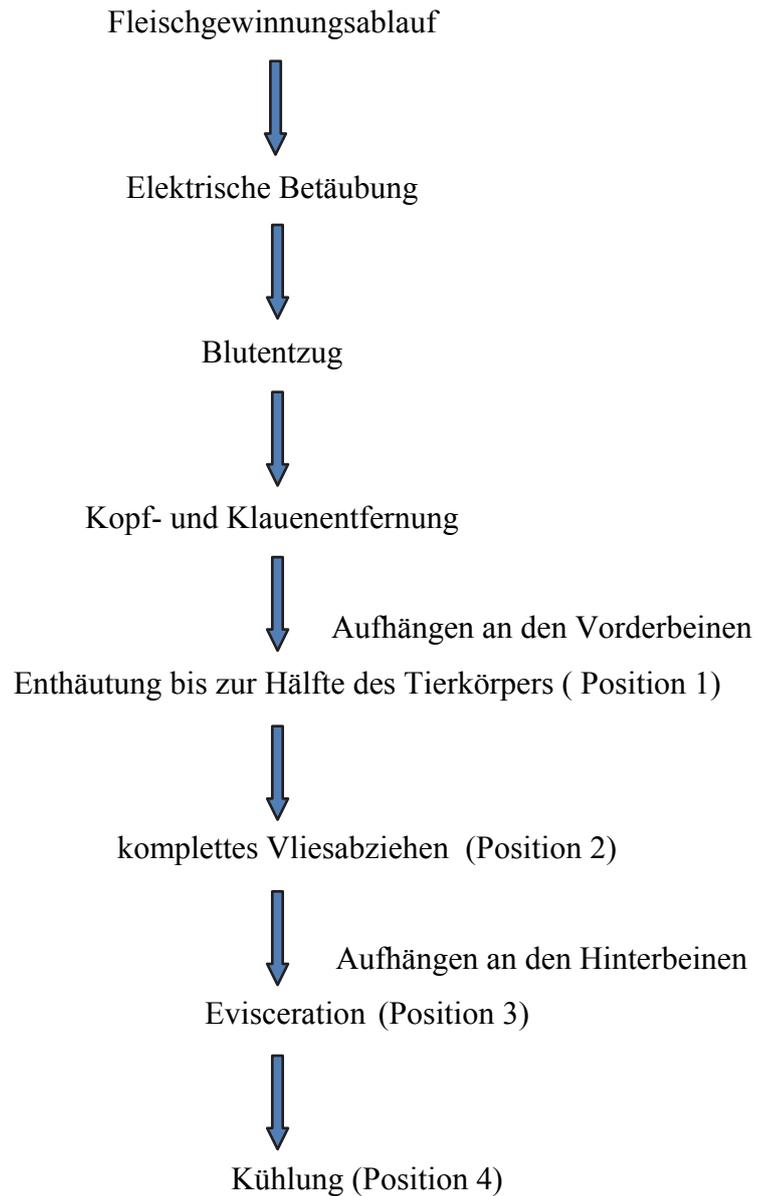
Ziegenfuss, J. (2003):
Hygienestatus von erlegtem Schwarzwild (*Sus scrofa scrofa*) im Wartburgkreis.
Vet. med. Diss., Hannover, Tierärztliche Hochschule

Zweifel, C. und R. Stephan (2003):
Microbiological monitoring of sheep carcass contamination in three Swiss abattoirs.
Journal of Food Protection 66, 946 - 952

Zweifel, C., M. A. Zychowska und R. Stephan (2004):
Prevalence and characteristics of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp. Isolated from slaughtered sheep in Switzerland.
International Journal of Food Microbiology 92, 45 - 53

9 Anhang

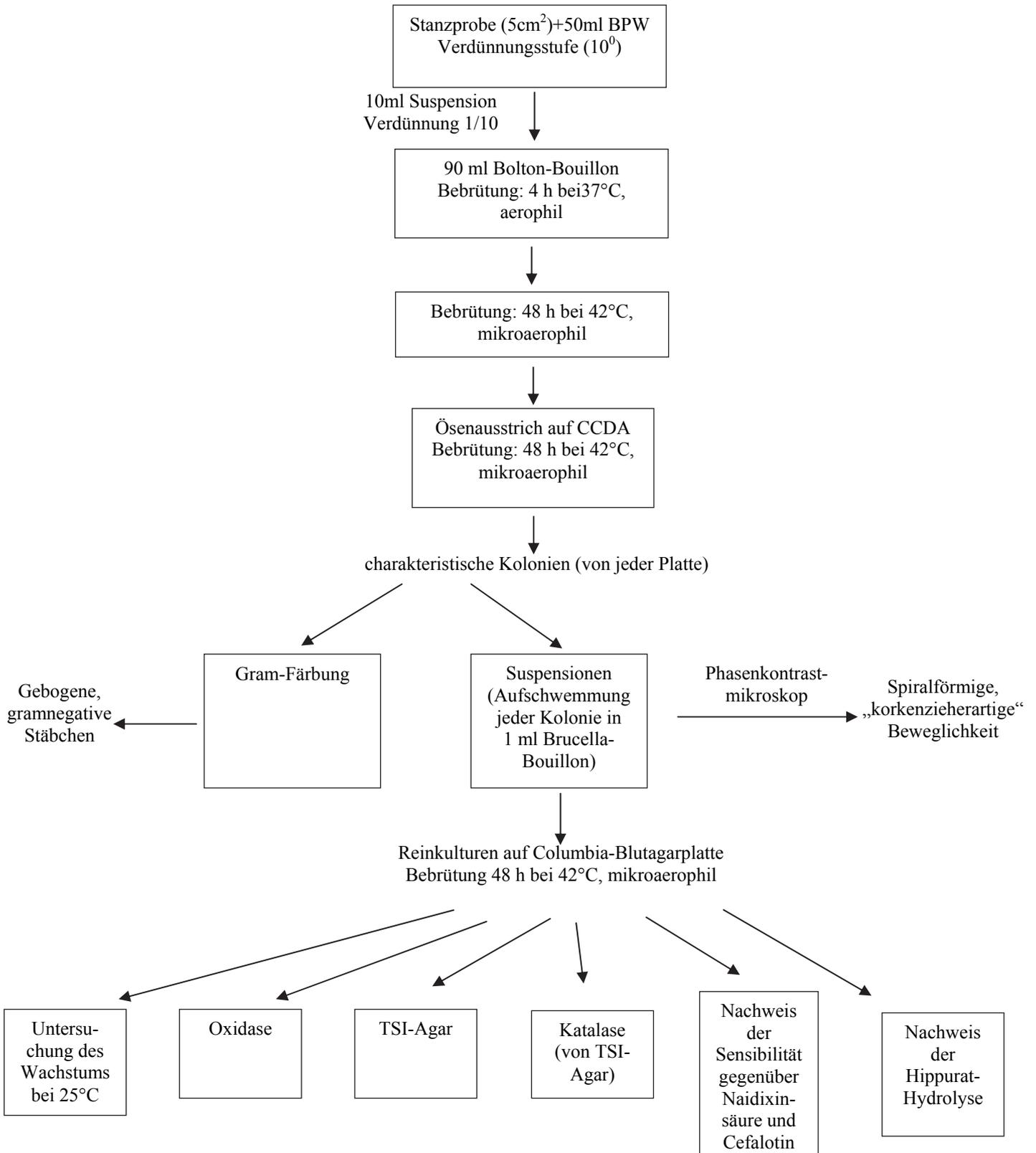
9.1 Fleischgewinnungsablauf im Schafschlachtbetrieb



ANHANG

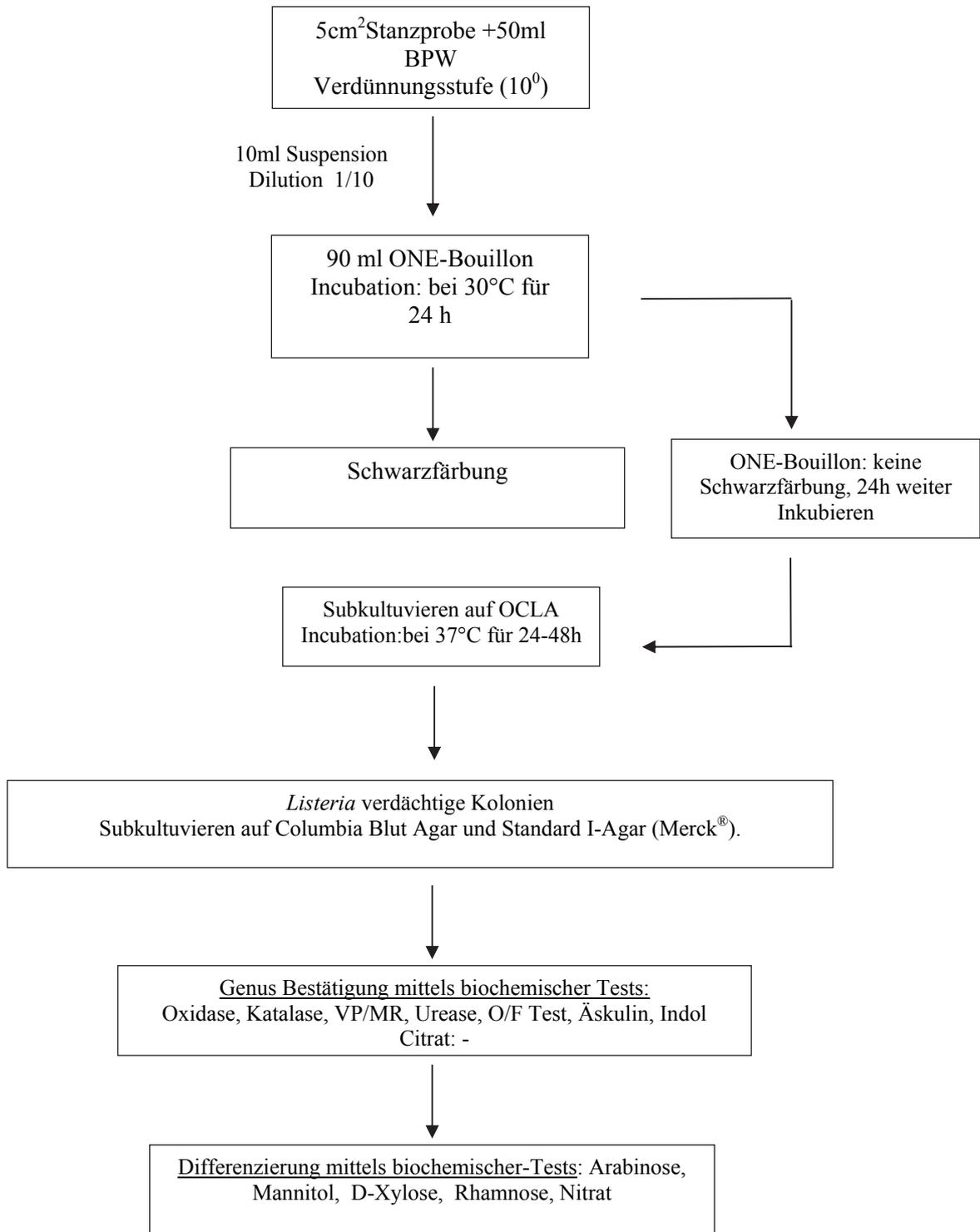
9.2 Fließschemata der Untersuchungen

9.2.1 Fließschema zum Nachweis von thermotoleranten *Campylobacter*-Species (DIN ISO 10272-1:2004)



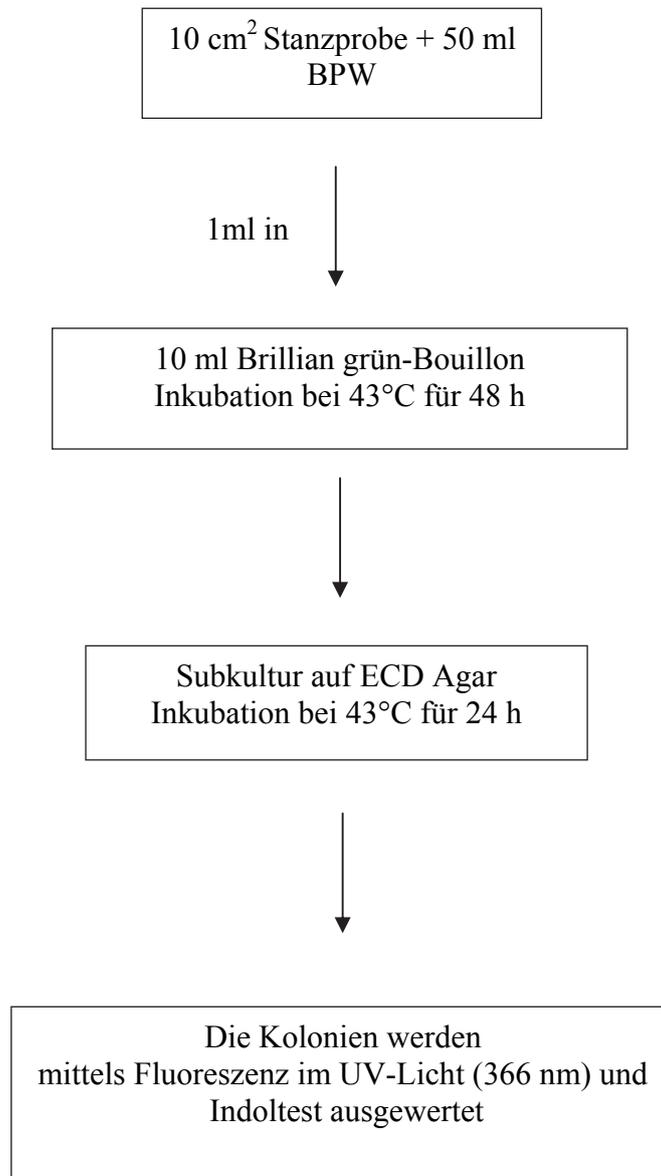
ANHANG

9.2.2 Fließschema zum Nachweis von *Listeria* (§ 64 LFGB; ISO 11290: 1995)



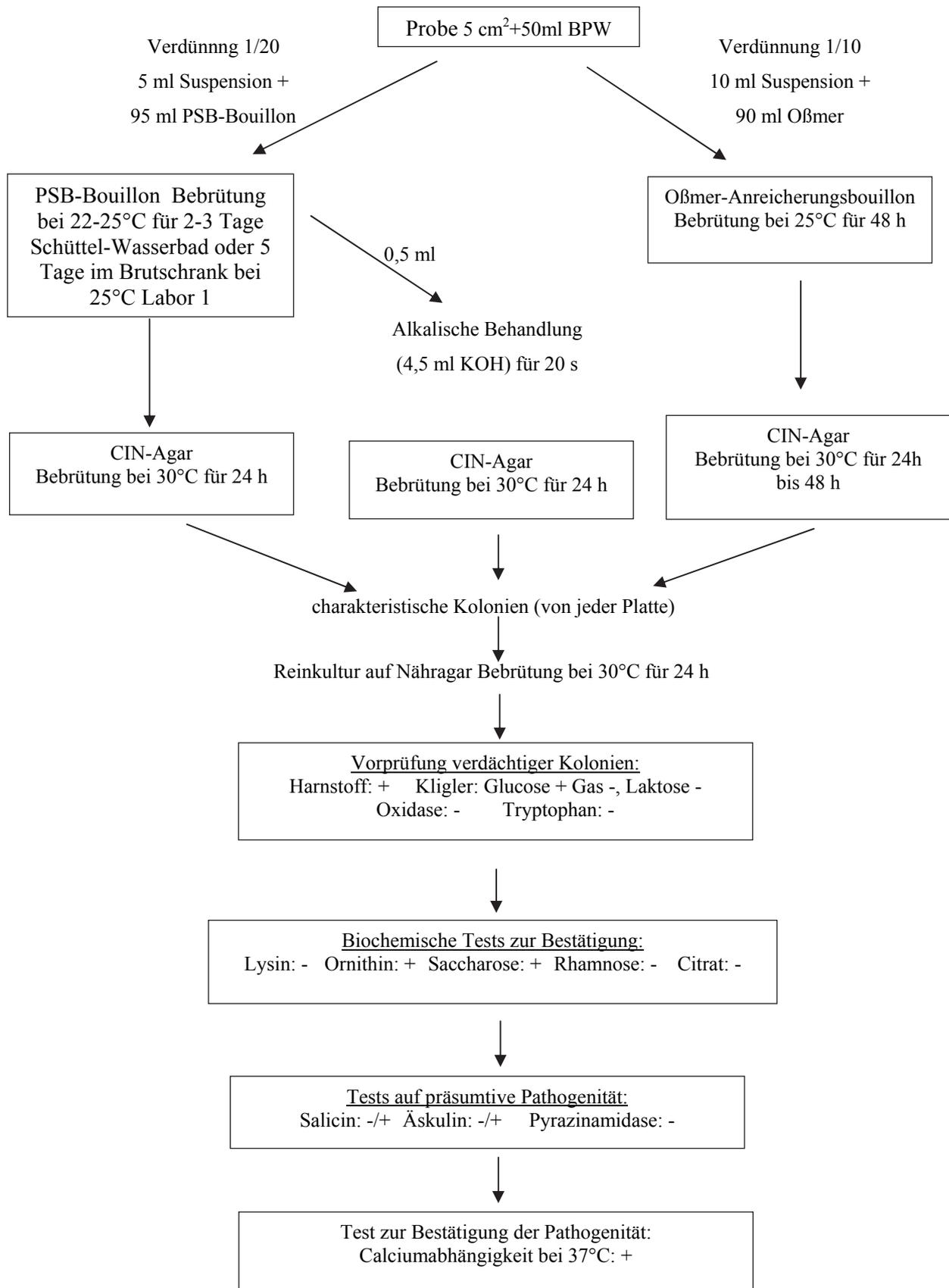
ANHANG

9.2.3 Fließschema zum Nachweis von *E.coli* (DIN ISO 16654)



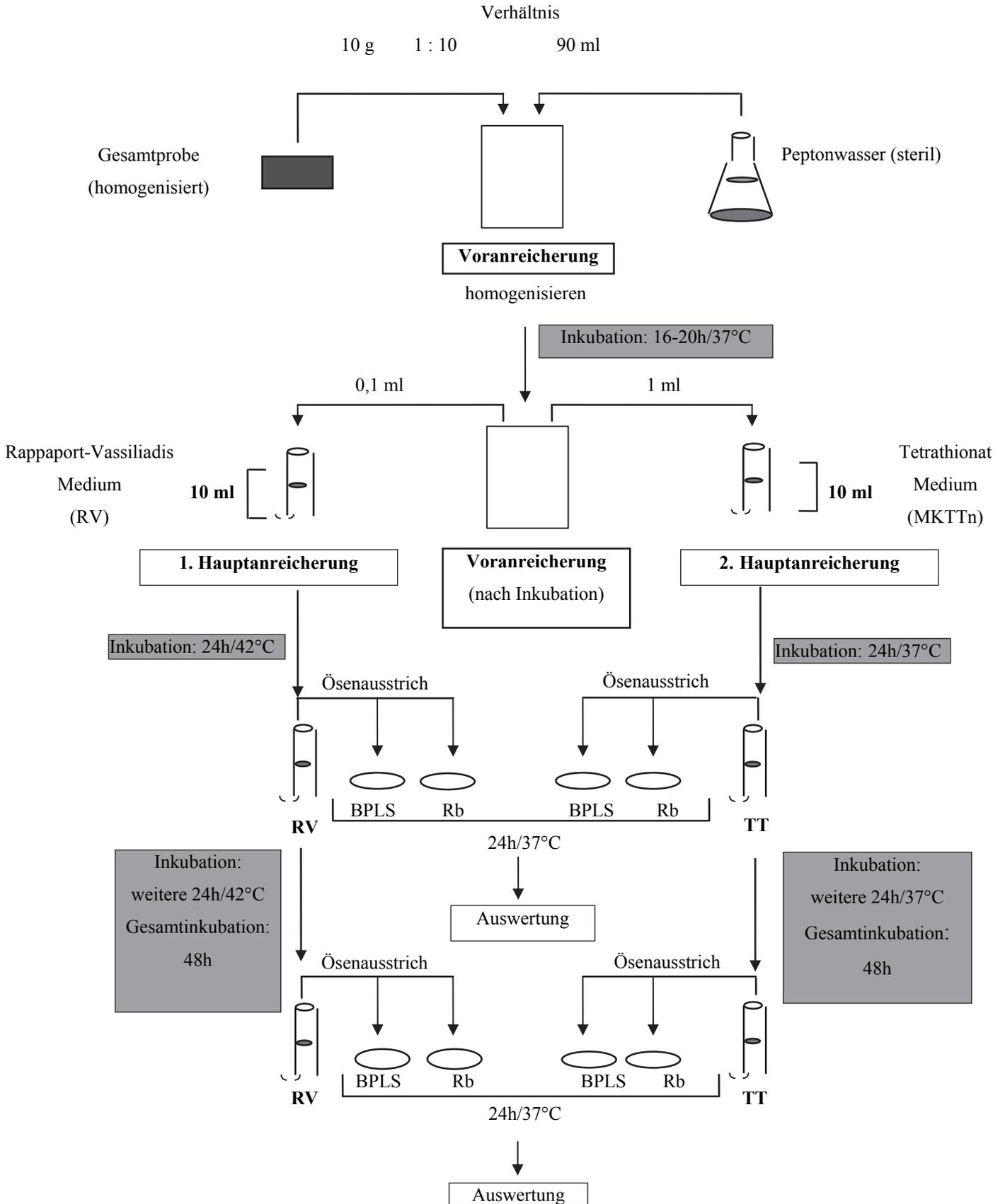
ANHANG

9.2.4 Fließschema zum Nachweis von *Yersinia* (ISO/DIN 10273: 2003)



ANHANG

9.2.5 Fließschema zum Nachweis von *Salmonella* (§ 64 LFGB; ISO 6579: 2002)



DANKSAGUNG

Danksagung

An erster Stelle gilt mein herzlicher Dank Herrn Professor Fries für die Überlassung des Themas und die freundliche Unterstützung beim Anfertigen der Arbeit. Ich danke außerdem den Mitarbeitern des Institutes für Fleischhygiene und –technologie für die Wissenschaftliche und praktische Unterstützung: Hier gilt meinbesonderer Dank der wissenschaftlichen Mitarbeiterin Frau Yvonne Schneider, die mir nicht nur geholfen, sondern auch bei der Probenentnahme und der Probenaufarbeitung tatkräftig unterstützt hat und bei allen auftretenden Problemen stets ein offenes Ohr hatte und wertvolle Tipps zur Lösung geben konnte.

Meinen Kollegen Nina Langkabel, Annika Feiler und Tobias Gäng möchte ich ganz herzlichen für die konstruktive Kritik und Unterstützung danken.

Weiterhin danke ich auch Frau Bräutigam, Frau Irsigler, Frau Jaeger, Frau Ludewig und Frau Kern, die für Hilfen immer bereit waren.

Ich danke weiterhin ganz besonders dem Besitzer des Schlachthofs Herrn Nesges, der nicht nur den Kontakt zu den Landwirten hergestellt hat, sondern auch immer hilfesbereit war. Ich danke ebenfalls den Landwirten für die Bereitschaft, mich bei der Probeentnahme zu unterstützen und meine Frage bereitwillig zu beantworten.

Besonderer Dank gilt meiner Kollegin Tongkorn Meeyam aus Thailand, die mit mir in diesem Projekt zusammengearbeitet hat.

Ich bedanke mich bei meiner Familie, insbesondere meiner Mutter und meinem Mann. Ohne euch wären weder dieses Studium noch diese Arbeit möglich gewesen.

Bei allen Freunden, die mich in jeglicher Hinsicht unterstützt haben, bedanke ich mich für ihre unendliche Geduld und den gewährten Rückhalt.

SELBSTSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG

Selbstständigkeitserklärung

Ich versichere hiermit, dass ich die vorliegende Dissertation

„Die Lebensmittelkette beim Schaf-Transfer von Zoonoseerregern
vom Tier zum Lebensmittel“

selbstständig und nur auf Grundlage der angegebenen Hilfsmittel und Literaturquellen verfasst habe und diese Arbeit nicht für ein früheres Promotionsvorhaben eingereicht worden ist.

Berlin, den 17.01.2014

Iman Sharief