

Aus dem Landesuntersuchungsamt  
für das Gesundheitswesen Nordbayern

und  
dem Institut für Lebensmittelhygiene  
des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin

**Zum Vorkommen von *Campylobacter jejuni*  
und *Campylobacter coli* in Rohmilch von  
Erzeugerbetrieben in Nordbayern mit Versuchen  
zur Überlebensfähigkeit von *Campylobacter jejuni*  
in Milch**

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

vorgelegt von  
Christiane Stiller  
Tierärztin aus Wadern

Berlin 1998  
Journal-Nr.: 2246

Gedruckt mit Genehmigung  
des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. K. Hartung

Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. H.-J. Sinell

Zweiter Gutachter: Prof. Dr. Dr. A. Weber

Tag der Promotion: 19. Februar 1999

Meiner Mutter und in Gedenken meinem Vater

---

# INHALTSVERZEICHNIS

	<b>INHALTSVERZEICHNIS</b>	<b>I</b>
	<b>ABBILDUNGEN</b>	<b>V</b>
	<b>TABELLEN</b>	<b>VI</b>
<b>1</b>	<b>Einleitung und Problemstellung</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Schrifttum</b>	<b>2</b>
2.1	Historischer Überblick und taxonomische Einordnung .....	2
2.1.1	Historischer Überblick .....	2
2.1.2	Taxonomische Einordnung .....	3
2.2	Eigenschaften von <i>Campylobacter jejuni</i> und <i>Campylobacter coli</i> .....	8
2.2.1	Kulturelle Eigenschaften .....	8
2.2.1.1	Nährböden .....	8
2.2.1.2	Anreicherungsmedien .....	10
2.2.1.3	Umgebungsbedingungen .....	12
2.2.2	Kolonie- und Bakterienmorphologie .....	12
2.2.2.1	Koloniemorphologie .....	12
2.2.2.2	Bakterienmorphologie .....	12
2.2.3	Biochemische Differenzierung .....	16
2.2.3.1	Oxidase-Reaktion .....	16
2.2.3.2	Katalase-Reaktion .....	16
2.2.3.3	H <sub>2</sub> S-Bildung .....	17
2.2.3.4	Empfindlichkeit gegen Nalidixinsäure und Cefalotin .....	17
2.2.3.5	Hippurathydrolyse .....	17
2.2.3.6	Kohlenhydratverwertung .....	18
2.2.3.7	Zusammenfassung der charakteristischen Eigenschaften der verschiedenen <i>Campylobacter</i> -Arten .....	18
2.2.3.8	Isolierung und Identifizierung bestimmter <i>Campylobacter</i> -Arten .....	20
2.2.4	Weitere Differenzierungsmethoden .....	21
2.2.4.1	Serotypisierung .....	21
2.2.4.2	Biotypisierung .....	22
2.2.4.3	DNA-Hybridisierung .....	22
2.2.5	Tenazität .....	23
2.2.5.1	Temperatur .....	23
2.2.5.2	Hitze .....	24
2.2.5.3	Begleitflora .....	24

2.2.5.4	Bestrahlung .....	25
2.2.5.5	Wasseraktivität .....	25
2.2.5.6	pH-Wert .....	25
2.2.5.7	Nahrungsmittelinhaltsstoffe und Zusatzstoffe .....	25
2.2.5.8	Gase .....	26
2.2.5.9	Desinfektionsmittel .....	26
2.2.6	Verhalten von <i>Campylobacter jejuni/coli</i> gegenüber Antibiotika und Chemotherapeutika .....	26
2.3	Vorkommen .....	28
2.3.1	Campylobacteriose bei Mensch und Tier .....	28
2.3.1.1	Infektionszyklen .....	28
2.3.1.2	Symptome und Verlauf der Campylobacteriose beim Menschen .....	29
2.3.1.3	Vorkommen von <i>Campylobacter jejuni</i> und <i>Campylobacter coli</i> bei Tieren .....	34
2.3.2	<i>Campylobacter jejuni</i> und <i>Campylobacter coli</i> in der Umwelt .....	41
2.3.3	<i>Campylobacter jejuni</i> und <i>Campylobacter coli</i> in Lebensmitteln .....	44
2.3.3.1	<i>Campylobacter jejuni</i> und <i>Campylobacter coli</i> in Milch und Milchprodukten .....	45
2.3.3.2	<i>Campylobacter jejuni</i> und <i>Campylobacter coli</i> in Fleisch .....	49
2.3.3.3	<i>Campylobacter jejuni</i> und <i>Campylobacter coli</i> in Geflügelfleisch .....	50
2.3.3.4	<i>Campylobacter jejuni</i> und <i>Campylobacter coli</i> in sonstigen Lebensmitteln .....	51
2.4	Das Lactoperoxidase-System .....	52
<b>3</b>	<b>Eigene Untersuchungen (Teil 1): Versuche zum Nachweis von <i>Campylobacter jejuni/coli</i> in der Rohmilch von Erzeugerbetrieben</b> .....	<b>56</b>
3.1	Material und Methodik .....	56
3.1.1	Untersuchungsmaterial und Probennahme .....	56
3.1.2	Nährböden und Reagenzien .....	56
3.1.3	Isolierung und Kultivierung von <i>Campylobacter ssp.</i> .....	58
3.1.3.1	Direktausspatelung .....	58
3.1.3.2	Anreicherung .....	59
3.1.3.3	Auswertung .....	59
3.2	Ergebnisse .....	60

<b>4</b>	<b>Eigene Untersuchungen (Teil 2): Versuche zur Reisolierung von <i>Campylobacter jejuni</i> aus experimentell mit niedrigen Keimzahlen inokulierter Milch</b>	<b>61</b>
4.1	Material und Methodik .....	61
4.1.1	Untersuchungsmaterial und Probennahme .....	61
4.1.2	Nährböden und Reagenzien .....	62
4.2	Reisolierung von <i>Campylobacter jejuni</i> nach Inokulation in verschiedene Milchen 62	
4.2.1	Koloniezahlbestimmung von <i>Campylobacter jejuni</i> in Reinkultur .....	62
4.2.1.1	Quantitativer Nachweis .....	63
4.2.1.2	Kontrollen .....	63
4.2.2	UHT- Milch .....	64
4.2.3	Pasteurisierte Milch .....	64
4.2.4	Rohmilch .....	64
4.2.4.1	Feststellung der vorhandenen Begleitflora .....	64
4.2.5	Experimentelle Inokulation von <i>Campylobacter jejuni</i> in wärme- behandelte Milch .....	66
4.2.6	Experimentelle Inokulation von <i>Campylobacter jejuni</i> in Rohmilch .....	66
4.2.7	Auswertung .....	67
4.3	Ergebnisse .....	67
4.3.1	Voruntersuchungen .....	67
4.3.2	Untersuchungen zum Überleben von <i>Campylobacter jejuni</i> nach experimenteller Inokulation in verschiedenen Milchen .....	67
<b>5</b>	<b>Eigene Untersuchungen (Teil 3): Versuche zur Reisolierung von <i>Campylobacter jejuni</i> aus experimentell mit hohen Keimzahlen inokulierter Milch</b>	<b>81</b>
5.1	Material und Methodik .....	81
5.1.1	Untersuchungsmaterial und Probennahme .....	81
5.1.2	Nährböden und Reagenzien .....	81
5.1.3	Isolierung und Kultivierung von <i>Campylobacter jejuni</i> .....	81
5.2	Reisolierung von <i>Campylobacter jejuni</i> nach experimenteller Inokulation in UHT-Milch .....	81
5.2.1	Versuchsaufbau und -durchführung .....	81
5.2.2	Auswertung .....	83
5.3	Ergebnisse .....	84
5.3.1	Reisolierungsrate .....	84
5.3.2	Bestimmung des pH-Wertes .....	87

<b>6</b>	<b>Diskussion der Ergebnisse</b>	<b>88</b>
6.1	Bedeutung von <i>Campylobacter jejuni</i> und <i>Campylobacter coli</i> als Krankheitserreger .....	88
6.2	Qualitative Untersuchungen zum Vorkommen von <i>Campylobacter jejuni</i> in Rohmilch .....	88
6.3	Reisolierung von <i>Campylobacter jejuni</i> aus verschiedenen Milchen nach experimenteller Inokulation niedriger Keimzahlen .....	90
6.3.1	Reisolierung von <i>Campylobacter jejuni</i> nach Inokulation in Rohmilch ....	90
6.3.2	Reisolierung von <i>Campylobacter jejuni</i> nach Inokulation in pasteurisierte und UHT-Milch .....	91
6.3.3	Vergleichende Betrachtung zur Überlebensfähigkeit von <i>Campylobacter jejuni</i> in verschiedenen Milchen .....	92
6.3.3.1	Vorbemerkungen: Zum Wachstum von <i>Campylobacter jejuni</i> auf Nährböden .....	92
6.3.3.2	Interpretation .....	94
6.4	Überlebensraten von <i>Campylobacter jejuni</i> nach experimenteller Inokulation hoher Keimzahlen in UHT-Milch .....	98
6.5	Zusammenfassende Betrachtung und Schlußfolgerungen .....	99
6.6	Methodische Erkenntnisse .....	100
<b>7</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>101</b>
	<b>Summary</b>	
	<b>On the existence of <i>Campylobacter jejuni</i> and <i>Campylobacter coli</i> in raw milk from dairy farms in Northern Bavaria with examinations on the survival of <i>Campylobacter jejuni</i> in milk</b>	<b>102</b>
	<b>LITERATUR</b>	<b>103</b>
	<b>DANKSAGUNG</b>	<b>137</b>
	<b>LEBENS LAUF</b>	<b>139</b>

---

## ABBILDUNGEN

Abb. 1	Erscheinungsformen der Gattung <i>Campylobacter</i> .....	4
Abb. 2	Typische <i>Campylobacter-jejuni/coli</i> -Kultur .....	13
Abb. 3	<i>Campylobacter-jejuni</i> -Kultur mit überwiegend kokkoiden Formen .....	14
Abb. 4	Einzelnes <i>Campylobacter-jejuni</i> -Bakterium .....	15
Abb. 5	Wellenlänge und Amplitude von <i>Campylobacter</i> -Keimen .....	15
Abb. 6	Identifizierung und Differenzierung von <i>Campylobacter jejuni</i> , <i>Campylobacter coli</i> und <i>Campylobacter laridis</i> .....	20
Abb. 7	Infektionszyklen von <i>Campylobacter jejuni</i> und <i>Campylobacter coli</i> .....	29
Abb. 8	Durch <i>Campylobacter</i> -Infektionen bedingte Erkrankungen in den USA in den Jahren 1973 bis 1987 - jahreszeitliche Schwankungen .....	33
Abb. 9	Überleben von <i>Campylobacter jejuni</i> und <i>Escherichia coli</i> in einem kontinuierlich von Trinkwasser durchströmten Versuchstank .....	42
Abb. 10	Überleben von <i>Campylobacter jejuni</i> und <i>Escherichia coli</i> in Flußwasser .....	43
Abb. 11	Überleben von <i>Campylobacter jejuni</i> und <i>Escherichia coli</i> in Abwasser .....	43
Abb. 12	Versuchsaufbau .....	83
Abb. 13	Reisolierungsrate bei einer Lagerungstemperatur von 4°C .....	84
Abb. 14	Reisolierungsrate bei einer Lagerungstemperatur von 22°C .....	85
Abb. 15	Reisolierungsrate bei einer Lagerungstemperatur von 37°C .....	86
Abb. 16	Klassifizierung des Wachstums von <i>Campylobacter jejuni</i> auf Nährböden .....	94
Abb. 17	Vergleich der Reisolierung von <i>Campylobacter jejuni</i> aus Rohmilch und UHT-Milch bei einer inokulierten Keimzahl von 500 KBE/ml (I).....	95
Abb. 18	Vergleich der Reisolierung von <i>Campylobacter jejuni</i> aus Rohmilch und UHT-Milch bei einer inokulierten Keimzahl von 500 KBE/ml (II).....	95
Abb. 19	Vergleich der Reisolierung von <i>Campylobacter jejuni</i> aus Rohmilch und UHT-Milch bei einer inokulierten Keimzahl von 100 KBE/ml (I).....	96
Abb. 20	Vergleich der Reisolierung von <i>Campylobacter jejuni</i> aus Rohmilch und UHT-Milch bei einer inkubierten Keimzahl von 100 KBE/ml (II).....	97
Abb. 21	Prinzipieller Verlauf der Reisolierung von <i>Campylobacter jejuni</i> in Abhängigkeit von der Zeit und von der Temperatur .....	97

---

## TABELLEN

Tabelle 1	Nomenklaturen des Genus <i>Campylobacter</i> .....	3
Tabelle 2	Katalase-positive Spezies des Genus <i>Campylobacter</i> und deren Bedeutung ...	5
Tabelle 3	Katalase-negative Spezies des Genus <i>Campylobacter</i> und deren Bedeutung ...	6
Tabelle 4	Unterteilung der Gattungen <i>Campylobacter</i> und <i>Helicobacter</i> .....	7
Tabelle 5	Feste Selektivnährböden zum Nachweis von <i>Campylobacter jejuni</i> , <i>Campylobacter coli</i> und <i>Campylobacter laridis</i> .....	9
Tabelle 6	Anreicherungsmedien zum Nachweis von <i>Campylobacter jejuni</i> und <i>Campylobacter coli</i> in Milch und Milchprodukten .....	11
Tabelle 7	Wellenlänge und Amplitude verschiedener katalase-positiver <i>Campylobacter ssp.</i> .....	16
Tabelle 8	Differentialdiagnostische Merkmale von <i>Campylobacter</i> und <i>Helicobacter</i> ...	19
Tabelle 9	Übersicht der verfügbaren serologischen Verfahren .....	21
Tabelle 10	Maximale Überlebenszeiten von <i>Campylobacter jejuni</i> bei verschiedenen Temperaturen .....	23
Tabelle 11	Resistenzverhalten von 50 <i>Campylobacter-jejuni/coli</i> -Isolaten von Broilern gegenüber 13 Antibiotika .....	27
Tabelle 12	Isolierungen thermophiler <i>Campylobacter ssp.</i> von klinisch gesunden Menschen und Tieren sowie aus Wasser .....	28
Tabelle 13	Fälle von <i>Campylobacter-jejuni</i> -Enteritis beim Menschen mit schweren Komplikationen .....	31
Tabelle 14	Fälle von Massenerkrankungen an <i>Campylobacteriose</i> .....	34
Tabelle 15	<i>Campylobacter jejuni</i> und <i>Campylobacter coli</i> bei verschiedenen Tierarten ..	35
Tabelle 16	Untersuchungen und Infektionsversuche bei verschiedenen Tierarten .....	36
Tabelle 17	Untersuchungen zum Vorkommen von <i>Campylobacter jejuni</i> und <i>Campylobacter coli</i> in Rohmilch .....	45
Tabelle 18	<i>Campylobacter</i> -Enteritiden nach dem Verzehr von Rohmilch .....	47
Tabelle 19	Kontamination der Milch mit <i>Campylobacter jejuni/coli</i> .....	48
Tabelle 20	<i>Campylobacter</i> in Lebensmitteln nichttierischer Herkunft und in Eiern und Eiprodukten .....	49
Tabelle 21	Isolierungsraten von <i>Campylobacter jejuni</i> und <i>Campylobacter coli</i> von aus dem Einzelhandel stammenden Brathühnchen .....	50
Tabelle 22	Isolierung von <i>Campylobacter jejuni</i> von Eischalenoberflächen nach Kontamination und bei verschiedenen Umgebungsbedingungen .....	52
Tabelle 23	Natürlich antibakteriell wirkende Systeme in der Milchdrüse und in der Milch .....	53

Tabelle 24	Vorkommen des Lactoperoxidase-Systems . . . . .	54
Tabelle 25	Art und Anzahl der auf <i>Campylobacter jejuni</i> und <i>Campylobacter coli</i> untersuchten Proben . . . . .	56
Tabelle 26	Auf <i>Campylobacter</i> untersuchte Milchproben. . . . .	60
Tabelle 27	Selektivnährböden und -bouillons zur Bestimmung der Begleitflora . . . . .	64
Tabelle 28	Keimbelastung der 129 untersuchten Rohmilchproben . . . . .	66
Tabelle 29	Verwendete Abkürzungen . . . . .	68
Tabelle 30	Überleben von <i>C. jejuni</i> in schwach keimbelasteter Rohmilch (I) . . . . .	69
Tabelle 31	Überleben von <i>C. jejuni</i> in mittelstark keimbelasteter Rohmilch (I) . . . . .	69
Tabelle 32	Überleben von <i>C. jejuni</i> in stark keimbelasteter Rohmilch (I) . . . . .	70
Tabelle 33	Überleben von <i>C. jejuni</i> in schwach keimbelasteter Rohmilch (II) . . . . .	70
Tabelle 34	Überleben von <i>C. jejuni</i> in mittelstark keimbelasteter Rohmilch (II) . . . . .	71
Tabelle 35	Überleben von <i>C. jejuni</i> in stark keimbelasteter Rohmilch (II) . . . . .	71
Tabelle 36	Überleben von <i>C. jejuni</i> in schwach keimbelasteter Rohmilch (III) . . . . .	72
Tabelle 37	Überleben von <i>C. jejuni</i> in mittelstark keimbelasteter Rohmilch (III) . . . . .	72
Tabelle 38	Überleben von <i>C. jejuni</i> in stark keimbelasteter Rohmilch (III) . . . . .	73
Tabelle 39	Überleben von <i>C. jejuni</i> in UHT-Milch mit 0,3% Fettgehalt (I) . . . . .	74
Tabelle 40	Überleben von <i>C. jejuni</i> in UHT-Milch mit 0,3% Fettgehalt (II) . . . . .	74
Tabelle 41	Überleben von <i>C. jejuni</i> in UHT-Milch mit 0,3% Fettgehalt (III) . . . . .	75
Tabelle 42	Überleben von <i>C. jejuni</i> in UHT-Milch mit 1,5% Fettgehalt (I) . . . . .	75
Tabelle 43	Überleben von <i>C. jejuni</i> in UHT-Milch mit 1,5% Fettgehalt (II) . . . . .	76
Tabelle 44	Überleben von <i>C. jejuni</i> in UHT-Milch mit 1,5% Fettgehalt (III) . . . . .	76
Tabelle 45	Überleben von <i>C. jejuni</i> in UHT-Milch mit 3,5% Fettgehalt (I) . . . . .	77
Tabelle 46	Überleben von <i>C. jejuni</i> in UHT-Milch mit 3,5% Fettgehalt (II) . . . . .	77
Tabelle 47	Überleben von <i>C. jejuni</i> in UHT-Milch mit 3,5% Fettgehalt (III) . . . . .	78
Tabelle 48	Überleben von <i>C. jejuni</i> in pasteurisierten Milchen (I) . . . . .	79
Tabelle 49	Überleben von <i>C. jejuni</i> in pasteurisierten Milchen (II) . . . . .	79
Tabelle 50	Überleben von <i>C. jejuni</i> in pasteurisierten Milchen (III) . . . . .	80
Tabelle 51	Logarithmen der reisolierten Keimzahlen bei einer Lagerungstemperatur von 4°C . . . . .	84
Tabelle 52	Logarithmen der reisolierten Keimzahlen bei einer Lagerungstemperatur von 22°C . . . . .	85
Tabelle 53	Logarithmen der reisolierten Keimzahlen bei einer Lagerungstemperatur von 37°C . . . . .	86
Tabelle 54	pH-Wert der Milch in den einzelnen Versuchsreihen. . . . .	87

---

## DANKSAGUNG

Mein besonderer Dank geht an Herrn Prof. Dr. H.-J. Sinell für die interessante Themenstellung und die Betreuung der Arbeit.

Vielen Dank an Herrn Prof. Dr. Dr. A. Weber vom LUA Nürnberg für die Übernahme der Zweitkorrektur. Außerdem danke ich ihm für die Anleitung im Umgang mit dem Erreger und die zur Verfügung gestellte Literatur.

Ich danke Herrn Dr. H. Burow und Herrn Dr. C. Baumann für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes sowie der Materialien und Laborgeräte, die zur Durchführung der Untersuchungen benötigt wurden. Insbesondere bedanke ich mich für ihre konstruktiven Denkanstöße in schwierigen Phasen.

Dank an Frau TÄ Unkauf und ihre Mitarbeiterinnen für die Bereitstellung der Proben, die Hilfe bei der Durchführung und Auswertung und die vielen sinnvollen Anregungen bei der Anfertigung dieser Arbeit.

Herrn Dr. Ewringmann danke ich für die Hilfe beim Mikroskopieren.

Herrn Prof. Dr. P. Teufel vom BGVV Berlin gilt mein Dank für die Anleitung im Umgang mit *Campylobacter* sowie die bereitwillige Überlassung tierischer *Campylobacter-jejuni*-Referenzstämme.

Herrn Dr. Tucher und seinen Assistentinnen vom LUA Erlangen danke ich für die Überlassung des für die experimentelle Kontamination verwendeten humanen *Campylobacter-jejuni*-Referenzstammes.

Ich bedanke mich bei allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des LUA Nürnberg, die mich bei der Durchführung dieser Arbeit unterstützt haben.

Kristin Wankmiller danke ich für die Übersetzung der Zusammenfassung.

Ganz besonders danke ich meiner Mutter für die vielen Monate selbstloser Hilfe im Haushalt und bei der Betreuung meiner beiden Söhne. Die Unterstützung durch meine Mutter hat das Gelingen dieser Arbeit erst möglich gemacht.

Ebenso danke ich meinem Mann für die Unterstützung im Umgang mit dem Computer.

---

## LEBENS LAUF

Name: Christiane Stiller geb. Prinz  
Geburtsdatum: 21. Mai 1964  
Geburtsort: Wadern  
Eltern: Christa Prinz geb. Frank  
Karl-Heinz Prinz

Familienstand: Verheiratet seit dem 12. August 1992 mit Stefan Stiller  
1994 Geburt von Sohn Michael  
1996 Geburt von Sohn Alexander

Schulische  
Ausbildung: 1970-1974 Grundschule Wadern  
1974-1983 Hochwald-Gymnasium Wadern  
1983 Abitur

Studium: 1983-1987 Studium der Klassischen Philologie an der Universität  
des Saarlandes in Saarbrücken  
1987-1993 Studium der Veterinärmedizin an der Freien Universität  
Berlin  
1993 Approbation

Seit Juli 1993 Anfertigung meiner Dissertation am Institut für Lebensmittelhygiene  
und Lebensmitteltechnologie der Freien Universität Berlin über das Landesunter-  
suchungsamt für das Gesundheitswesen Nordbayern, Abteilung Veterinärmedizin, in  
Nürnberg