

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

**Untersuchung zur Prävalenz, Charakterisierung und
antimikrobieller Resistenz von *Y. enterocolitica* in
Wildbeständen von Schwarzwild, Rehwild, Rotwild
und Füchsen im südöstlichen Brandenburg**

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

vorgelegt von
Felix Franz Henning
Tierarzt aus Beeskow

Berlin 2021
Journal-Nr.: 4274

Aus dem Institut für Lebensmittelsicherheit und -hygiene

des Fachbereichs Veterinärmedizin

der Freien Universität Berlin

**Untersuchung zur Prävalenz, Charakterisierung und antimikrobieller Resistenz von
Y. enterocolitica in Wildbeständen von Schwarzwild, Rehwild, Rotwild und Füchsen im
südöstlichen Brandenburg**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Grades eines

Doktors der Veterinärmedizin

an der

Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Felix Franz Henning

Tierarzt

aus Beeskow

Berlin 2021

Journal-Nr.: 4274

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Jürgen Zentek
Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Thomas Alter
Zweiter Gutachter: PD Dr. Markus M. Heimesaat
Dritter Gutachter: Prof. Dr. Stephan Hühn-Lindenbein

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

wild pigs; capreolus capreolus; foxes; yersinia enterocolitica; epidemiology;
prevalence; antibiotics; drug resistance; brandenburg

Tag der Promotion: 04.05.2021

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

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

ISBN: 978-3-96729-112-4

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

Dissertation, Freie Universität Berlin

D188

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

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

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

This document is protected by copyright law.

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

alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© Mensch und Buch Verlag 2021 Choriner Str. 85 - 10119 Berlin
verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

Inhaltsverzeichnis

| | |
|---|----|
| ▪ Inhaltsverzeichnis | I |
| ▪ Abkürzungsverzeichnis | IV |
| 1. Einleitung | 1 |
| 2. Literaturübersicht | 3 |
| 2.1 Charakteristika von <i>Yersinia</i> spp. | 3 |
| 2.2 Morphologie und Erregereigenschaften von <i>Yersinia enterocolitica</i> | 5 |
| 2.3 Pathogenitätsfaktoren | 7 |
| 2.3.1 Chromosomalkodierte Pathogenitätsfaktoren | 8 |
| 2.3.2 Plasmidkodierte Pathogenitätsfaktoren | 10 |
| 2.4 Epidemiologie | 11 |
| 2.4.1 Yersiniose des Menschen | 11 |
| 2.4.2 <i>Yersinia enterocolitica</i> bei Tieren | 17 |
| 2.4.3 <i>Y. enterocolitica</i> in Lebensmitteln und der Umwelt | 19 |
| 2.4.4 <i>Y. enterocolitica</i> in Wildbret | 24 |
| 2.5 Wild und Jagd in Brandenburg | 25 |
| 2.6 Nachweis von <i>Y. enterocolitica</i> | 26 |
| 2.6.1 Kulturelle Nachweisverfahren | 27 |
| 2.6.2 Molekularbiologische Nachweisverfahren | 30 |
| 2.7 Antimikrobielle Resistenzen von <i>Y. enterocolitica</i> | 32 |
| 2.7.1 Agardiffusionstest | 33 |
| 2.7.2 Bouillon- Mikrodilutionsverfahren | 34 |
| 3. Material und Methoden | 35 |
| 3.1 Probenmaterial | 35 |

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|--------|---|-----|
| 3.2 | Verwendete Materialien und Geräte..... | 36 |
| 3.3 | Isolierung von <i>Y. enterocolitica</i> aus Tonsillenproben..... | 38 |
| 3.3.1 | Kälteanreicherung..... | 39 |
| 3.3.2 | Kulturell bakteriologische Untersuchung der Tonsillen..... | 39 |
| 3.3.3 | DNA-Isolierung (Chelex-Methode)..... | 41 |
| 3.4 | Bestätigung und Charakterisierung der <i>Y. enterocolitica</i> -Isolate..... | 42 |
| 3.4.1 | Bestätigung der <i>Y. enterocolitica</i> -Isolate..... | 43 |
| 3.4.2 | Biotypisierung..... | 45 |
| 3.4.3 | Serotypisierung..... | 47 |
| 3.5 | Antimikrobielle Empfindlichkeitsprüfung..... | 49 |
| 3.6 | Statistische Auswertung..... | 53 |
| 4. | Ergebnisse..... | 54 |
| 4.1 | Probenbearbeitung und Identifizierung..... | 54 |
| 4.2 | Prävalenz von <i>Y. enterocolitica</i> im Wild..... | 58 |
| 4.3 | Bio- und Serotypisierung..... | 60 |
| 4.4 | Ergebnisse der Antibiotikaresistenzbestimmung der Isolate..... | 62 |
| 5. | Diskussion..... | 65 |
| 5.1 | Prävalenzuntersuchung von <i>Y. enterocolitica</i> aus Wild in Brandenburg..... | 66 |
| 5.2 | Charakterisierung der Isolate..... | 70 |
| 5.3 | Antimikrobielle Resistenzen..... | 73 |
| 6. | Schlussfolgerungen..... | 75 |
| 7. | Zusammenfassung..... | 77 |
| 8. | Summary..... | 79 |
| 9. | Literaturverzeichnis..... | 81 |
| Anhang | | 109 |
| | Probenmerkmale..... | 110 |
| | <i>Y. enterocolitica</i> Isolate, Bio/Serotypen und PCR Gennachweise..... | 126 |

Inhaltsverzeichnis

| | |
|---|-----|
| Antimikrobielle Resistenztestung der <i>Y. enterocolitica</i> -Stämme | 128 |
| Tabellenverzeichnis..... | 130 |
| Abbildungsverzeichnis | 132 |
| Publikationsverzeichnis..... | 133 |
| Danksagung..... | 134 |
| Selbstständigkeitserklärung..... | 135 |

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|----------------|--|
| % | Prozent |
| °C | Grad Celsius |
| Ail | attachment invasion locus, Membranprotein |
| <i>ail</i> | Gen, welches für das Membranprotein Ail kodiert |
| AK | Altersklasse |
| BfR | Bundesinstitut für Risikobewertung |
| BLAST | Basic Local Alignment Search Tool |
| bp | Basenpaare |
| bzw. | beziehungsweise |
| ca. | circa |
| CAMHB | Cation adjusted Mueller–Hinton Broth |
| CIN | Cefsulidon-Irgasan-Novobiocin |
| CLSI | Clinical and Laboratory Standards Institute |
| DNA | desoxyribonucleic acid |
| <i>E. coli</i> | <i>Escherichia coli</i> |
| EDTA | Ethylendiamintetraacetat |
| EFSA | European Food Safety Authority |
| et al. | et alii |
| EUCAST | European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing |
| g | Gramm |
| h | Stunde (n) |
| i | intermediär |
| <i>inv</i> | Gen, welches für das Membranprotein Invasin kodiert |

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|-----------|---|
| Inv | Invasin |
| ISO | International Organization for Standardization |
| k. A. | keine Angaben |
| Kb | Kilobasen |
| KbE | koloniebildende Einheit(en) |
| kDa | Kilodalton |
| KOH | Kaliumhydroxid |
| LDS | Landkreises Dahme-Spreewald |
| LOS | Landkreises Oder-Spree |
| LPS | Lipopolysaccharid |
| MALDI-TOF | Matrix Assisted Laser Desorption Ionization — Time of Flight Mass Spectrometry (engl.: Matrix-Assistierte Laser-Desorption-Ionisierung mit Flugzeitanalyse) |
| mg | Milligramm |
| min | Minuten |
| ml | Milliliter |
| mm | Millimeter |
| n | Probenanzahl |
| NCBI | National Center for Biotechnology Information |
| nm | Nanometer |
| O-Antigen | Oberflächenantigen |
| OD | optische Dichte |
| OR | Odds-Ratio |
| PBS | phosphatgepufferte Kochsalzlösung |
| PCR | Polymerase Chain Reaction |
| PSB | Peptone-Sorbit-Gallensalz-Bouillon |
| pYV | Virulenzplasmid von <i>Yersinia</i> |

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|------------------|--|
| r | resistent |
| RKI | Robert Koch Institut |
| rRNA | ribosomal Ribonucleic acid |
| s | sensibel |
| <i>S. aureus</i> | <i>Staphylococcus aureus</i> |
| SPN | Landkreis Spree-Neiße |
| <i>spp.</i> | Spezies |
| <i>ssp.</i> | Subspezies |
| t | Tonnen |
| UV | ultraviolett |
| V | Volt |
| <i>Y.</i> | <i>Yersinia</i> |
| <i>Y. e.</i> | <i>Y. enterocolitica</i> |
| YadA | Yersinia-Adhäsionsprotein |
| YOPIS | Young, Old, Pregnant, Immunosuppressed |
| YOPS | <i>Yersinia</i> outer proteins |
| <i>ystA</i> | Gen, welches für das yersinia stable toxin A codiert |
| <i>ystB</i> | Gen, welches für das yersinia stable toxin B codiert |
| z.B. | zum Beispiel |
| µl | Mikroliter |

1. Einleitung

Yersinia (*Y.*) ssp. sind gram-negative Stäbchenbakterien aus der Familie der *Enterobacteriaceae*. Die durch *Y. enterocolitica* hervorgerufene Yersiniose des Menschen ist die dritthäufigste bakterielle durch Lebensmittel übertragene gastrointestinale Erkrankung in Deutschland und eine bedeutende Zoonose. Nur die Campylobacteriose und Salmonellose treten laut der statistischen Erhebung des Robert-Koch-Institutes (2019) häufiger auf. Der bei der humanen Yersiniose in Europa am häufigsten isolierte *Y. enterocolitica* Bio/Serotyp ist 4/O:3 (Bottone 1999). Als Erregerreservoir und Hauptinfektionsquelle gilt vor allem kontaminiertes Schweinefleisch (Bockemühl und Roggentin 2004). Wilde Säugetiere können ebenfalls als Erregerreservoir für *Y. enterocolitica* dienen und gewinnen in Zeiten zunehmender Kritik an Massentierhaltung und durch steigenden Wildfleischkonsum deutlich an Bedeutung. Laut dem Handbuch 2019 des Deutschen Jagdverbandes fielen im Jagdjahr 2017/2018 Wildbretmengen (ohne Decke oder Schwarte) von knapp 36.000 Tonnen (t) an und steigerten sich damit im Vergleich zur Vorsaison um etwa ein Drittel. Wildschweinfleisch wurde mit 19.737t am meisten verzehrt, gefolgt von 12.368t Rehfleisch und 2.633t Rotwildfleisch (Deutscher-Jagdverband 2019).

Dass auch Wildschweine (*Sus scrofa* L.) Träger von *Y. enterocolitica* sind und diese ausscheiden können, wurde in zahlreichen Untersuchungen gezeigt (Bancerz-Kisiel et al. 2015, von Altrock et al. 2015, Arrausi-Subiza et al. 2016). Wild birgt zum einen als Reservoir und Vektor die Gefahr der Verbreitung von *Y. enterocolitica* und stellt zum anderen als Lebensmittel eine potentielle Infektionsquelle für den Menschen dar (Fredriksson-Ahomaa et al. 2011, Bancerz-Kisiel et al. 2015). Über die Verbreitung von *Y. enterocolitica* in Rotwild (*Cervus elaphus* L.), Rehwild (*Capreolus capreolus* L.) und Füchsen (*Vulpes vulpes* L.) ist hingegen nur wenig bekannt. Tierische Überträger von *Yersinia* sind meist symptomlos. Bei der Lebend- und Fleischuntersuchung von Wild wird bei Fehlen von bedenklichen Merkmalen keine mikrobiologische Untersuchung durchgeführt. Folglich ist es wichtig, die Verbreitung von *Y. enterocolitica* in den verschiedenen Wildarten zu kennen, um das Risiko für den Verbraucher abschätzen zu können. Wildtiere sind aufgrund ihrer Lebensweise und ihres Lebensraumes vermutlich besonders prädisponiert, *Yersinia*-Spezies (ssp.) aufzunehmen und zu übertragen. Zusätzlich steigt die Jahresstrecke von Schwarzwild stetig an und lässt den

Rückschluss auf eine steigende Populationsdichte zu (Deutscher-Jagdverband 2019), welche den Eintrag von Zoonoseerregern wie *Y. enterocolitica*, in Hausschweinbestände, vor allem über Freilandschweinehaltung, begünstigen kann.

Ziel dieser Studie ist es, die Prävalenz von *Y. enterocolitica* in Wildbeständen im südöstlichen Brandenburg zu ermitteln. Untersucht wurden die Tonsillen von erlegtem Schwarzwild, Rehwild, Rotwild und Füchsen in den Jahren 2015-2017 in ausgewählten Revieren der Landkreise Oder-Spree (LOS), Dahme-Spreewald (LDS) und Spree-Neiße (SPN) in Brandenburg. Die Tonsillenproben wurden auf das Vorhandensein von *Y. enterocolitica* untersucht und die Isolate hinsichtlich ihres Bio-/Serotyps charakterisiert. Da die systemische humane Yersiniose einer antibiotischen Behandlung bedarf (Fàbrega und Vila 2012) und die Resistenzentwicklung von Bakterien in den letzten Jahren stark an Bedeutung zugenommen hat, stellt die Ermittlung der antimikrobiellen Resistenzen durch einen Agardiffusionstest einen weiteren Schwerpunkt dieser Studie dar.

2. Literaturübersicht

2.1 Charakteristika von *Yersinia* spp.

Taxonomie und Historie

Yersinia gehört zur Familie der *Enterobacteriaceae* und umfasst derzeit 18 Spezies, die in Tabelle 1 aufgeführt sind (Euzéby 1997, Parte 2014). Von besonderer Bedeutung für den Menschen sind die drei humanpathogenen Spezies *Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis* und *Y. enterocolitica*. Die Spezies *Y. ruckeri* ist fischpathogen und gilt als Erreger der „enteric redmouth disease“ der Salmoniden (Ewing et al. 1978). Die übrigen Spezies gelten als apathogen und sind allenfalls für immungeschwächte Patienten von Bedeutung (Bockemühl und Roggentin 2004).

Tabelle 1: Spezies und Pathogenität von *Yersinia* (Fredriksson-Ahomaa und Wacheck 2011, Parte 2014)

| Spezies | Pathogenität |
|--|-------------------------------------|
| <i>Y. pestis</i> | pathogen, nicht-enterale Yersiniose |
| <i>Y. enterocolitica</i> ssp. <i>enterocolitica</i> | pathogen, enterale Yersiniose |
| <i>Y. enterocolitica</i> ssp. <i>paleoartica</i> | |
| <i>Y. pseudotuberculosis</i> ssp. <i>pestis</i> | |
| <i>Y. pseudotuberculosis</i> ssp. <i>pseudotuberculosis</i> | |
| <i>Y. ruckeri</i> | fischpathogen |
| <i>Y. aldovae</i> , <i>Y. aleksiciae</i> , <i>Y. bercovieri</i> , <i>Y. entomophaga</i> , <i>Y. frederiksenii</i> , <i>Y. intermedia</i> , <i>Y. kristensenii</i> , <i>Y. massiliensis</i> , <i>Y. mollaretii</i> , <i>Y. nurmii</i> , <i>Y. pekkanenii</i> , <i>Y. rohdei</i> , <i>Y. similis</i> , <i>Y. wautersi</i> | apathogen |

Die Gattung *Yersinia* ist durch van Loghem (1944) nach dem Schweizer Alexandre Yersin benannt, welcher neben S. Kitasato 1894 erstmalig den Erreger der „schwarzen Pest“ (*Y. pestis*) in Hongkong kultiviert und beschrieben hat (Bibel und Chen 1976). Die durch *Y. pestis* hervorgerufene Pest der Nagetiere und des Menschen ist eine vor allem durch Flöhe und

Aerosole übertragene, hochinfektiöse Erkrankung, welche zurzeit in Europa keine Rolle spielt. In vielen Gebieten Afrikas, Asiens und Amerikas ist sie endemisch und es kommt hin und wieder zu Ausbrüchen (Stenseth et al. 2008). Nach WHO-Angaben infizierten sich im Zeitraum von 2010 bis 2015 weltweit 3248 Menschen mit *Y. pestis* und 584 von ihnen starben (World-Health-Organisation 2017).

Y. pseudotuberculosis gilt primär als tierpathogen. Der Nachweis beim Menschen ist sehr selten, jedoch kann es bei einer Infektion neben terminaler Ileitis, mesenterialer Lymphadenitis und Pseudoappendizitis (Bockemühl und Roggentin 2004) zu einem septisch-typhösen, teils tödlichen Verlauf kommen (Dedié et al. 1993). Einzeltierkrankungen und latente Infektionen sind die Regel und kommen bei vielen Säugetieren und Vögeln vor. Seuchenhafte Verläufe sind selten und vor allem bei Nagetier-, Zootier-, Geflügel- und Ziervogelhaltungen zu beobachten (Aleksic und Bockemühl 1990). Die durch *Y. pseudotuberculosis* und pathogene *Y. enterocolitica* Biovar-Serovar-Kombinationen hervorgerufenen Infektionen des Menschen werden als Yersiniose bezeichnet und sind zumeist oral erworbene, meist enterale Infektionen wie im Kapitel 2.4.1 beschrieben (Aleksic und Bockemühl 1990).

Die Spezies *Y. enterocolitica* wurde 1934 von McIver und Pike in den USA zum ersten Mal beschrieben. Damals noch unter dem Namen *Flavobacterium pseudomallei* isolierten sie das Bakterium aus einem Gesichtabszess eines Farmarbeiters (Bottone 1999). Dieses und vier weitere undefinierte Bakterienisolate aus vornehmlich an Enteritis erkrankten Menschen untersuchten Schleifstein und Coleman (1939) erneut. Kulturelle sowie biochemische Eigenschaften erinnerten sie an *Bacillus lignieri* und *Pasteurella pseudotuberculosis* und nannten das Bakterium in *Bacterium enterocoliticum*.

In der Folge wurde das Bakterium in der Literatur unter verschiedenen Namen beschrieben, wie *Pasteurella X* (Knapp und Thal 1963), bis schließlich Frederiksen (1964) das Bakterium als neue Spezies in die Gattung *Yersinia* überführte und als *Y. enterocolitica* benannte. Aufgrund von Sequenzunterschieden im 16S rRNA-Gen wurde *Y. enterocolitica* in 2 Subspezies unterteilt: die sogenannten „amerikanischen“ Isolate *Y. enterocolitica* ssp. *enterocolitica* Stammtyp ATCC-9610 und die europäischen Isolate *Y. enterocolitica* ssp. *palaearctica* Stammtyp Y-711 (Neubauer et al. 2000).

2.2 Morphologie und Erregereigenschaften von *Yersinia enterocolitica*

Yersinia spp. sind gramnegative, nicht sporenbildende, kokkoide bis pleomorphe Stäbchen. Sie sind etwa 0,8-1 µm breit und 1-3 µm lang (Holt et al. 1994). Mit Ausnahme von *Y. pestis* und einigen Stämmen von *Y. ruckeri* sind Yersinien bei Temperaturen unter 30 °C peritrich begeißelt und damit beweglich. Bei höheren Temperaturen sind sie unbeweglich (Aleksic und Bockemühl 1990). Manche *Yersinia* spp. wie *Y. enterocolitica* sind psychrotolerante Bakterien und wachsen in einem Temperaturspektrum von -5 bis 44 °C (Hanna et al. 1977, Bergann et al. 1995). Ein Überleben und Wachsen ist somit auch im Kühlschrank möglich und wird im Labor bei der sogenannten „Kälteanreicherung“, Inkubation bei 4 °C über mehrere Tage, genutzt, um Yersinien selektiv zu fördern und die Begleitflora, die nicht oder schlechter in diesem Temperaturbereich wachsen kann, zu hemmen. Das Wachstumsoptimum von Yersinien liegt bei 28-30 °C.

Yersinien sind fakultativ anaerob, alkalistabil und reduzieren Nitrat zu Nitrit. Sie sind oxidase-negativ, katalase-positiv, homofermentativ und meist urease-positiv. Letzteres ist ein wichtiges Differenzierungsmerkmal innerhalb der Gattung, da alle *Yersinia*-Spezies außer *Y. pestis*, *Y. nirmii* und *Y. ruckeri* zur Spaltung von Harnstoff fähig sind (Bercovier und Mollaret 1984, Aleksic und Bockemühl 1990, Holt et al. 1994).

Y. enterocolitica wird in mehrere Bio- und Serotypen eingeteilt. Die von Niléhn (1969) vorgeschlagene Einteilung in 5 Biotypen (1-5) anhand ihrer Indolbildung, Äskulin- und Salicinfermentation, Laktosefermentation, der Säurebildung aus Xylose, Trehalose, Saccharose, Sorbose und Sorbitol, o-Nitrophenyl-β-galactopyranosid (ONPG)-Hydrolyse, Ornithindecaboxylase, Voges-Proskauer-Reaktion und Nitratreduktion wurde von Wauters (1970) modifiziert, um Stämme aus dem Biotyp 1 weiter zu differenzieren. Wauters hat das Schema weiter überarbeitet und schließlich mit Kandolo und Janssens (1987) ein Biotypisierungsschema (Tabelle 2) entwickelt, welches die Einteilung nach ihrer Pathogenität zulässt und um den hauptsächlich apathogenen Biotyp 1A vom pathogenen Biotyp 1B zu differenzieren. Diese Unterscheidung gelang durch die Verwendung der Salicin/Äskulinreaktion und Pyrizinamidase-reaktion, welche beim Biotyp 1A stets positiv ausfallen (Aleksic und Bockemühl 1990). Biovar 1B umfasst alle humanpathogenen *Y. enterocolitica*, die erstmals in Amerika isoliert wurden. Die Biovare 2, 3, 4 und 5 enthalten

alle humanpathogenen *Y. enterocolitica*, die erstmals in Europa isoliert wurden (Neubauer et al. 2000). Die Differenzierung in amerikanische und europäische Stämme in Anlehnung an den Isolierungsort wurde später in eine Einteilung in zwei Subspezies, *Y. enterocolitica* ssp. *enterocolitica* (ehemals „American strains“) und *Y. enterocolitica* ssp. *paleoartica* (ehemals „European strains“) geändert, weil nach der Isolierung eines europäischen Stamms in den USA diese Einteilung nicht mehr sinnvoll erschien (Neubauer et al. 2000).

Tabelle 2: Biotypisierungsschema von *Y. enterocolitica* durch spezifische Stoffwechseleigenschaften (Wauters et al. 1987)

| Biochemischer Nachweis | 1A | 1B | 2 | 3 | 4 | 5 |
|------------------------------|----|----|-----|---|---|-----|
| Aeskulinhydrolyse 24 h | + | - | - | - | - | - |
| Salicin 24 h | + | - | - | - | - | - |
| Pyrazinamidase | + | - | - | - | - | - |
| β-Glucuronidase | + | - | - | - | - | - |
| Prolinpeptidase | V | - | - | - | - | - |
| Tween-Esterase | + | + | - | - | - | - |
| Indol | + | + | (+) | - | - | - |
| Xylose (Säure Produktion) | + | + | + | + | - | V |
| Nitratreduktion | + | + | + | + | + | - |
| Sorbose | + | + | + | + | + | - |
| Trehalose (Säure Produktion) | + | + | + | + | + | - |
| Ornithin Decarboxylase | + | + | + | + | + | + |
| Inositol | + | + | + | + | + | + |
| Voges-Proskauer-Reaktion | + | + | + | + | + | (+) |

48 h Inkubation bei 28 °C, + Reaktion positiv, (+) Reaktion schwach positiv, - Reaktion negativ, v Reaktion variabel

Die Einteilung in Serovare erfolgt auf Grundlage eines Schemas der Oberflächenantigene (O-Antigene, bezeichnet mit arabischen Ziffern) und Geißelantigene (H-Antigene, bezeichnet mit lateinischen Buchstaben), die auch diagnostische Bedeutung haben (Schiemann 1989). Die H-Antigene sind speziesspezifisch und können somit auch zur Identifizierung der Spezies herangezogen werden. Die O-Antigene sind nicht speziesspezifisch. Bisher sind 28 O-Gruppen und 18 H-Gruppen von *Y. enterocolitica* bekannt. Anhand der O-Antigene können, mit Beachtung der Biotypeneinteilung (Bottone 1999), Aussagen über die Pathogenität getroffen werden (Aleksic und Bockemühl 1990). In Europa stellen vornehmlich O:3, O:9 und O:5,27

die humanpathogenen *Y. enterocolitica* Serovare dar und in den USA insbesondere die Serovare O:8, O:4,32, O:18, O:20 und O:21 (Aleksic und Bockemühl 1990).

Die Beziehungen zwischen Biotyp und Serotyp sind in Tabelle 3 dargestellt (Tennant et al. 2003).

Tabelle 3: Zuordnung der Biotypen zu den Serotypen von *Y. enterocolitica* (Tennant et al. 2003)

| Biotyp | Serotyp(en) |
|--------|--|
| 1A | O:4; O:5; O:6,30; O:6,31; O:7,8; O:7,13; O:10; O:14; O:16; O:21; O:22; O:25; O:37; O:41,42; O:46; O:47; O:57; NT |
| 1B | O:4,32; O:8; O:13a; O:13b; O:16; O:18; O:20; O:21; O:25; O:41,42; NT |
| 2 | O:5,27; O:9; O:27 |
| 3 | O:1,2,3; O:3; O:5,27 |
| 4 | O:3 |
| 5 | O:2,3 |

NT: nicht typisierbare

2.3 Pathogenitätsfaktoren

Zur Überwindung der Abwehrmechanismen des Wirtes besitzt *Y. enterocolitica* mehrere Pathogenitätsfaktoren, welche sich in chromosomalkodierte- und plasmidkodierte Pathogenitätsfaktoren einteilen lassen (Heesemann 1990). Durch diese Faktoren ist das Bakterium in der Lage, in den Wirt einzudringen, in ihm zu überleben und sich zu vermehren. Die Expression dieser Faktoren ist temperaturabhängig. Bei niedrigen Temperaturen werden vor allem chromosomalkodierte Faktoren, welche die Besiedlung ermöglichen, gebildet und nach einer Anpassung an höhere Temperaturen, wie sie in den warmblütigen Wirten vorherrschen, werden vor allem plasmidkodierte Faktoren synthetisiert, um die unspezifische Immunabwehr des Wirtes auszuschalten (Bottone 1997). Die Virulenzfaktoren, der Genort, die Funktion und die optimale Expressionstemperatur sind in Tabelle 4 dargestellt.

Tabelle 4 Virulenzfaktoren von *Y. enterocolitica*

| Protein | Funktion/Wirkung | codiert auf |
|--|---|--------------------|
| Attachment-invasion Locus (Ail) v = 37 °C | äußeres Membranprotein, für Adhäsion und Invasion der Epithelzellen verantwortlich, Serumresistenz | Chromosom |
| Yersinia heatstable toxin (Yst) v = 28 °C | unter anderem Schädigung des Darmepithels, dadurch intestinale Flüssigkeitssekretion in das Darmlumen, Diarrhö | Chromosom |
| Invasin v = 28 °C | äußeres Membranprotein, Adhäsion und Invasion der Oberflächenepithelzellen | Chromosom |
| Yersinia adhesion A (YadA) v = 37 °C | fimbrielles äußeres Membranprotein, für Adhäsion- und Invasionsvermögen verantwortlich, bindet an Kollagen oder auch Fibronektin der Epithelzellen, Schutz vor komplementvermittelter Phagozytose und Opsonierung | Plasmid |
| Yersinia outer protein (Yop) v = 37 °C | werden in Wirtszelle injiziert, hemmen unter anderem die Phagozytoseaktivität von Makrophagen und neutrophilen Granulozyten, somit wird Entgehen der unspezifischen Immunabwehr ermöglicht, zytotoxisch | Plasmid |

v= Mindesttemperatur für Synthese; entnommen von Cornelis et al. 1987, Skurnik und Toivanen 1992, Bottone 1997, Bottone 1999, Neubauer et al. 2001, Bucher et al. 2002

2.3.1 Chromosomalkodierte Pathogenitätsfaktoren

Für die Adhäsion und Invasion pathogener *Y. enterocolitica*-Stämme sind die beiden chromosomalkodierten Außenmembranproteine Inv (Invasin) und Ail (Attachment invasion locus) verantwortlich.

Das *inv*-Gen kodiert für ein äußeres Membranprotein (92 kDa) und ermöglicht das Eindringen in das Epithel, indem es an Integrin bindet und die Zellpenetration einleitet. Somit ist Inv an der bakteriellen Invasion im Anfangsstadium der Infektion beteiligt (Heesemann 1990, Bottone 1997). Eine maximale Expression bei neutralem pH-Wert erfolgt um 28 °C, aber bei einem pH-Wert 6, wie im Dünndarmmilieu üblich, führt die Absenkung des pH-Wertes auch bei 37 °C zu

einer vermehrten Expression und damit hoher Pathogenität im Dünndarm (Pepe et al. 1994). Das Invasin-Gen kann auch bei apathogenen *Y. enterocolitica*-Stämmen vorhanden sein, wird bei apathogenen Isolaten jedoch nicht funktional exprimiert (Pierson und Falkow 1990).

Das *ail*-Gen wird hingegen nur bei pathogenen *Y. enterocolitica*-Stämmen nachgewiesen (Heesemann 1990). Es kodiert für ein 17 kDa äußeres Membranprotein, welches ebenfalls für die Zellpenetration nötig ist (Bottone 1997) und bei 37 °C maximal exprimiert wird (Bottone 1999). Des Weiteren vermittelt das Ail-Protein die Resistenz gegenüber der komplementvermittelten Abwehr und führt so zu einer Serumresistenz von *Y. enterocolitica* (Pierson und Falkow 1990, Carniel 1995).

Das *yst*-Gen, welches für das hitzestabile Enterotoxin Yst (*Yersinia* heatstable toxin) kodiert, stellt einen weiteren chromosomalkodierten Faktor dar und wird bei 28 °C exprimiert (Heesemann 1990). Dieses aus 30 Aminosäuren bestehende Peptid verfügt über eine sehr große Temperaturtoleranz und ist sowohl gegen Hitze (121 °C für 30min) als auch gegen Kälte (- 40 °C für 5 Monate) unempfindlich (Boyce et al. 1979). Es wird vermutet, dass Yst für die Primärschädigung des Darms verantwortlich ist, eine intestinale Flüssigkeitssekretion in das Darmlumen auslöst und somit an der Ausbildung einer Diarrhoe beteiligt sein könnte (Revell und Miller 2001). Das *yst*-Gen ist sowohl bei pathogenen als auch bei apathogenen *Y. enterocolitica*-Stämmen im Genom kodiert (Neubauer et al. 2001), wobei unterschiedliche Yst-Proteine unterschiedlichen Bioserotypen zugeordnet werden konnten: YstA den pathogenen und YstB den apathogenen Stämmen (Bhagat und Viridi 2007).

Als gramnegatives Bakterium besitzt *Y. enterocolitica* die ebenfalls chromosomalkodierten Lipopolysaccharide (LPS) der Zellmembran (Heesemann 1990). Die LPS variieren im Aufbau in Abhängigkeit von der Temperatur und enthalten die zur Serotypisierung verwendeten O-Antigene. Sie sind an der Resistenz gegenüber den Abwehrsystemen des Wirtes beteiligt (Al-Hendy et al. 1992).

Der Genkomplex *ure* ermöglicht es Yersinien, das Enzym Urease zu bilden, welches Harnstoff zu Ammoniak und Kohlensäure hydrolysiert. Dies erleichtert die Darmpassage, indem es den pH-Wert des Darms alkalisiert und somit die Überlebenschance des Bakteriums in saurem Milieu erhöht (de Koning-Ward und Robins-Browne 1997). Im Rattenmodell wurde die Bedeutung bei oralen Infektionen untermauert und festgestellt, dass die Virulenz bei Urease-negativen Stämmen deutlich verringert ist (Gripenberg-Lerche et al. 2000).

Auf der chromosomalen, sogenannten Hochpathogenitätsinsel (HPI, high-pathogenicity island) kodieren hochpathogene Yersinen, insbesondere Stämme des Biotyps 1B, Gene für die Synthese von Siderophoren und Yersiniabactin und sind somit in der Lage, Eisen aus der Umgebung und Eisen, welches an eukaryontischen Zellen gebunden ist, aufzunehmen. Eisen stellt einen wichtigen Faktor für das Wachstum und die Vermehrung von *Y. enterocolitica* dar (Carniel 2001).

2.3.2 Plasmidkodierte Pathogenitätsfaktoren

Das etwa 70 kb große Virulenzplasmid pYV (plasmid for *Yersinia* virulence) kodiert für zahlreiche Gene und wurde bisher nur bei pathogenen Yersinien gefunden, wodurch es diagnostisch eine große Bedeutung hat (Carniel 1995). Das Vorhandensein des pYV ermöglicht es *Y. enterocolitica*-Stämmen, im lymphatischen Gewebe zu überleben und sich zu vermehren, ohne eliminiert zu werden (Cornelis et al. 1998). Zu weiteren plasmid-kodierten Eigenschaften gehören das calciumabhängige Wachstum, die Serumresistenz (Perry und Brubaker 1983), die Mannose-resistente Hämagglutination und Expression zahlreicher äußerer Membranproteine (Kapperud et al. 1987). Letztere haben besondere Bedeutung. Diese Polypeptide oder Yops (*Yersinia* outer proteins) werden bei Kontakt mit einer Wirtszelle in diese injiziert (Bockemühl und Roggentin 2004) und spielen eine wichtige Rolle in der Phagozytose- und Serumresistenz (Dedié et al. 1993). Die Yops werden temperaturabhängig bei 37 °C exprimiert. Das Adhäsिन YadA (*Yersinia* adhesin A) wird ebenfalls nur bei 37 °C exprimiert und ist ein fimbrielles äußeres Membranprotein, welches die Adhäsion der Bakterienzelle an die Epithelzelle durch Bindung an Fibronektine und Kollagene vermittelt (Neubauer et al. 2001). Sowohl die Yops als auch YadA werden durch den Transkriptionsfaktor virF (Virulence Factor) reguliert. VirF wird ebenfalls nur bei 37 °C exprimiert, was die starke Temperaturabhängigkeit von Yops und YadA unterstreicht (Cornelis et al. 1998).

Die diagnostische Evaluierung der Pathogenität von *Y. enterocolitica* anhand des Vorhandenseins des pYV kann zu falsch negativen Ergebnissen führen, da bei der *in-vitro*-Vermehrung das Plasmid verloren gehen kann (Bercovier und Mollaret 1984, Bottone 1997). Aufgrund dessen werden in PCR-Untersuchungen (Fredriksson-Ahomaa et al. 2007) und in Kolonie-Hybridisierungen (Kwaga et al. 1992) auch chromosomale Virulenzfaktoren zur Pathogenitätseinschätzung herangezogen.

2.4 Epidemiologie

Die Epidemiologie von *Y. enterocolitica* ist komplex und bis heute noch nicht vollkommen geklärt. Der Erreger ist weltweit verbreitet, zeigt allerdings ein gehäuftes Vorkommen in gemäßigten und subtropischen Gebieten Europas, Nord-, Zentral- und Ostasiens, Australiens, Südafrikas, Nord- und Südamerikas. In den tropischen Gebieten Südasiens und Afrikas ist das Bakterium hingegen nur sehr selten zu finden (Bockemühl und Roggentin 2004). Der Nachweis von *Y. enterocolitica* gelingt sowohl aus der belebten als auch aus der unbelebten Umwelt. Wie zahlreiche Studien belegen, wurde das Bakterium sowohl im Erdreich und Oberflächenwasser (Kapperud 1981, Bockemühl und Roggentin 2004) als auch in Nahrungsmitteln (Fredriksson-Ahomaa et al. 2007, Gupta et al. 2015, Jamali et al. 2015) sowie in kaltblütigen (Shayegani et al. 1986) und warmblütigen Tieren (Fredriksson-Ahomaa et al. 2011, Bancercz-Kisiel et al. 2015) und mit ihnen auch beim Menschen (Burnens et al. 1996, Lafleur et al. 2018) nachgewiesen.

2.4.1 Yersiniose des Menschen

Als Yersiniose bezeichnet man die Infektion mit den enteropathogenen Yersinien-Spezies *Y. pseudotuberculosis* und *Y. enterocolitica*. Die Yersiniose ist in Deutschland eine meldepflichtige Zoonose. Der Infektionsweg des Menschen verläuft vor allem oral-alimentär über kontaminierte Lebensmittel (Schiemann 1989, Kapperud 1991) und Trinkwasser (Aldova et al. 1981) oder über direkten Kontakt zu Tieren, insbesondere Hunden und Katzen (Fredriksson-Ahomaa et al. 2006) und selten über kontaminierte Bluttransfusionen (Strobel et al. 2000). Wildtiere bilden ein natürliches Reservoir des Bakteriums und tragen zum einen zur Zirkulation von *Y. enterocolitica* zwischen Haus- und Wildtieren bei und zum anderen können Wildtiere beim Verzehr von belastetem Wildbret direkt als Überträger fungieren (Fredriksson-Ahomaa et al. 2011, Avagnina et al. 2012, Syczyło et al. 2018). Als Hauptreservoir für die human-pathogenen *Y. enterocolitica*-Stämme O:3 und O:9 gelten Schweine (Fredriksson-Ahomaa et al. 2006). Als wichtigster Vektor und somit Hauptinfektionsquelle für den Menschen gilt rohes oder nicht vollständig gegartes Schweinefleisch (Bockemühl und Roggentin 2004, Rosner et al. 2012). Einen Überblick über die Verteilung von den bedeutendsten Serotypen aus Isolaten verschiedener Herkunft gibt Tabelle 5. Eine bedeutende

Kontaminationsquelle für Lebensmittel stellen Schlachthöfe und Verarbeitungsbetriebe dar, weil *Y. enterocolitica* durch seine psychophilen Eigenschaften Bestandteil der Kühlhausflora sein und sich somit in unverpackten und verpackten, gekühlten Lebensmitteln anreichern kann (Kapperud 1991).

Tabelle 5 Verteilung einiger Serotypen auf Isolate verschiedener Herkunft

| Probenherkunft | Anzahl der Isolate | O:3 (%) | O:9 (%) | O:5,27 (%) | O:8 (%) | k.A. | Referenz |
|--|---------------------------|----------------|----------------|-------------------|----------------|-------------|---------------------------------|
| klinische Proben von an Yersiniose erkrankten Menschen in Deutschland, 2008 und 2016 | 3831 | 3361 (87,7) | 277 (7,2) | 30 (0,8) | 18 (0,5) | 145 (3,8) | Rosner et al., 2010 |
| Rehfleisch | 20 | 0 (0) | 0 (0) | 1 (5,0) | 2 (10,0) | 17 (85,0) | Bancerz-Kisiel et al., 2015 |
| Rotwildfleisch | 11 | 2 (18,2) | 0 (0) | 1 (9,1) | 1 (9,1) | 7 (63,6) | Bancerz-Kisiel et al., 2015 |
| Wildschweinfleisch | 21 | 0 (0) | 0 (0) | 6 (28,6) | 5 (23,8) | 10 (47,6) | Bancerz-Kisiel et al., 2015 |
| Schweinefleisch | 32 | 1 (3,1) | 1 (3,1) | 6 (18,8) | 7 (21,9) | 15 (46,8) | Bonardi et al., 2010 |
| Hackfleisch vom Schwein | 9 | 5 (55,6) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | 4 (44,4) | Fredriksson-Ahomaa et al., 1999 |
| Schweinezunge | 94 | 92 (97,9) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | 2 (2,1) | Terech- |
| Flusswasser | 4 | 1 (25,0) | 0 (0) | 1 (25,0) | 1 (25,0) | 1 (25,0) | Majewska et al., 2016 |

k.A.: keine Angabe

Besonders empfänglich für Yersiniose sind Bevölkerungsgruppen, die zu den sogenannten „YOPIS“ (Young, Old, Pregnant, Immunosuppressed), also immungeschwächte Personen wie alte Menschen, Kinder, Schwangere und chronisch kranke Menschen, gehören. Aufgrund der seit 2001 bestehenden Meldepflicht gemäß §7 des Infektionsschutzgesetzes labordiagnostisch nachgewiesener Yersiniosen in Deutschland konnten laut dem Infektionsepidemiologischen Jahrbuch des RKI (2019) unter den meldepflichtigen Krankheiten für 2018 2384 Yersiniose-Fälle registriert werden, was einer Inzidenz von 2,9 Erkrankungen pro 100.000 Einwohner entspricht. Damit ist die Yersiniose nach der Campylobacteriose (67.872 Fälle) und Salmonellose (13.529 Fälle) die dritthäufigste meldepflichtige, bakterielle gastrointestinale Erkrankung in Deutschland. Die Fallzahlen nahmen von 2002 bis 2014 mit Ausnahme von 2011

deutlich ab (Abbildung 1), verzeichneten danach leichte Anstiege bei nahezu gleichbleibender Inzidenz.

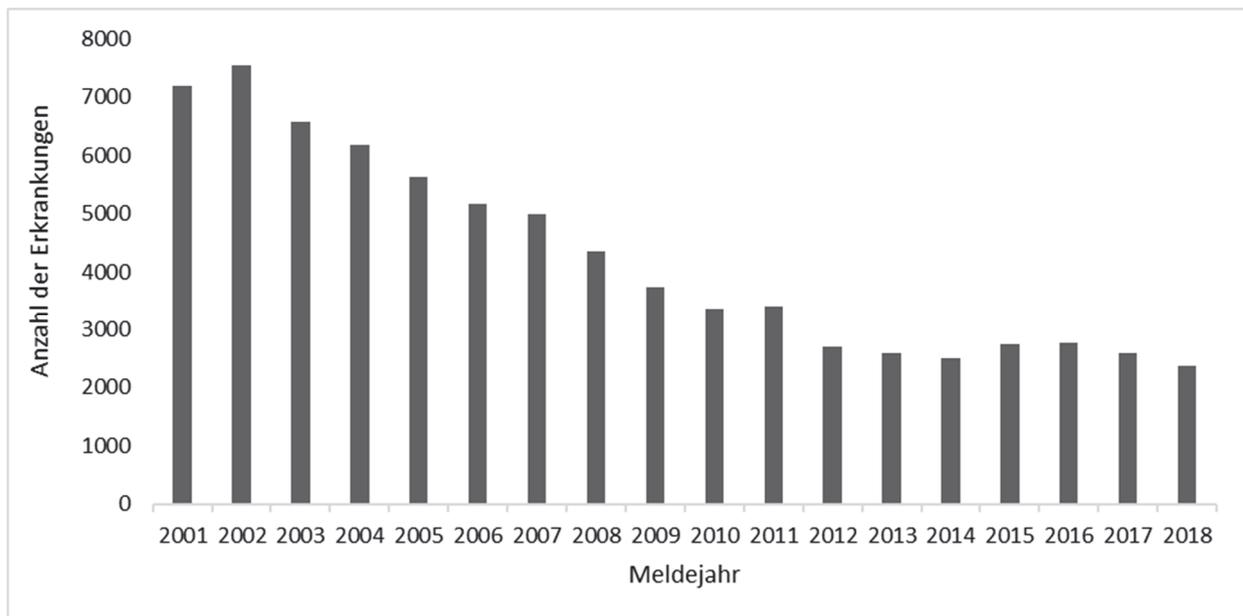


Abbildung 1: Gemeldete Yersiniosen in Deutschland in den Jahren 2001-2018 (Robert-Koch-Institut 2019)

Wie Abbildung 2 zeigt, haben Kinder unter fünf Jahren, mit deutlichem Peak bei ein- und zweijährigen, die höchste Inzidenz. Mit steigendem Alter stagniert die Inzidenz und bleibt auch im hohen Alter niedrig. Im Geschlechtervergleich erkranken mehr männliche (54%, 3,1 Erkrankungen/100.000 Einwohner) als weibliche (46%, 2,6 Erkrankungen/100.000 Einwohner) Personen. Der für Erkrankungsfälle vorherrschende Serotyp, sofern übermittelt, ist mit Abstand O:3 (85%), gefolgt von den Serotypen O:9 (8,5%), O:5,27 (3,6%) und O:8 (2,4%). Die Yersiniose ist eine Einzelfallerkrankung und nur sehr selten wird von Ausbrüchen mit mehreren Personen berichtet. In Deutschland wurden 2018 nur 11 Ausbrüche gemeldet, wobei pro Ausbruch nur 2-3 Personen erkrankten (Robert-Koch-Institut 2019).

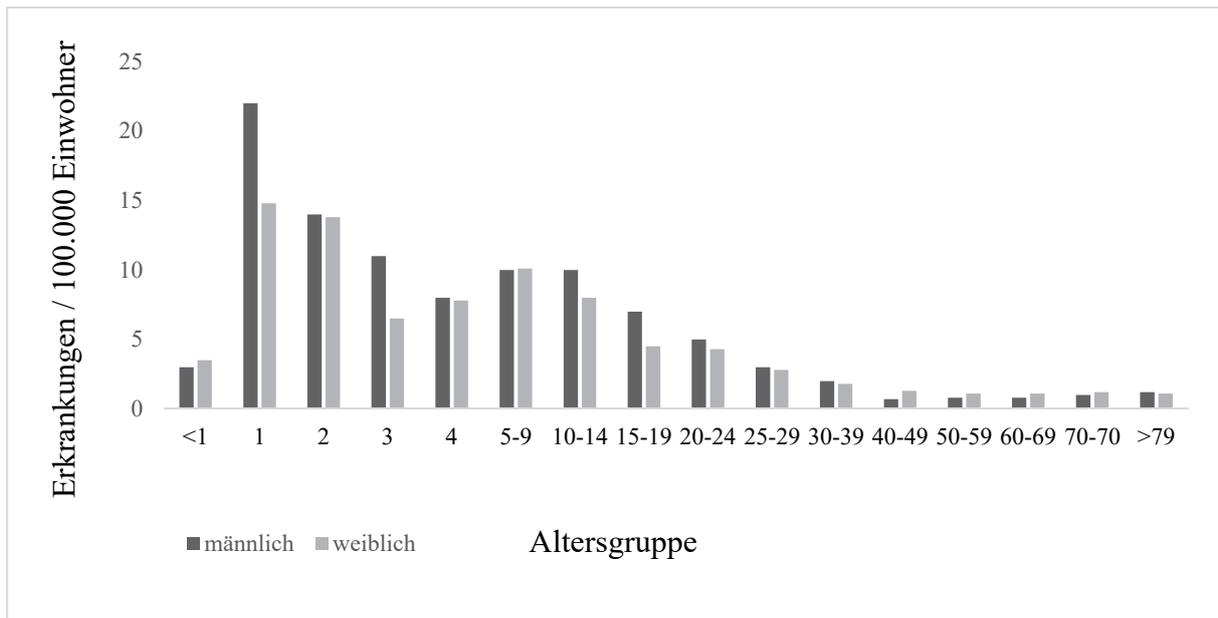


Abbildung 2: Übermittelte Yersiniosen pro 100.000 Einwohner nach Alter und Geschlecht in 2018 (Robert-Koch-Institut 2019)

Zwischen den Bundesländern sind hohe Inzidenzunterschiede zu verzeichnen. Die Inzidenz in Hessen (3,3 Erkrankungen/100.000 Einwohner), Rheinland-Pfalz (3,1 Erkrankungen/100.000 Einwohner) und in den ostdeutschen Flächenländern liegt deutlich über dem Bundesdurchschnitt (2,9 Erkrankungen/100.000 Einwohner) und ist in Thüringen (10 Erkrankungen/100.000 Einwohner) am höchsten. Die Inzidenz in Brandenburg liegt 2018 bei 4,4 Erkrankungen/100.000 Einwohnern (Abbildung 4). Die Verteilung von *Y. enterocolitica*-Infektionen in Deutschland im Zeitraum 2001-2008 ist in Abbildung 3 dargestellt (Rosner et al. 2010).

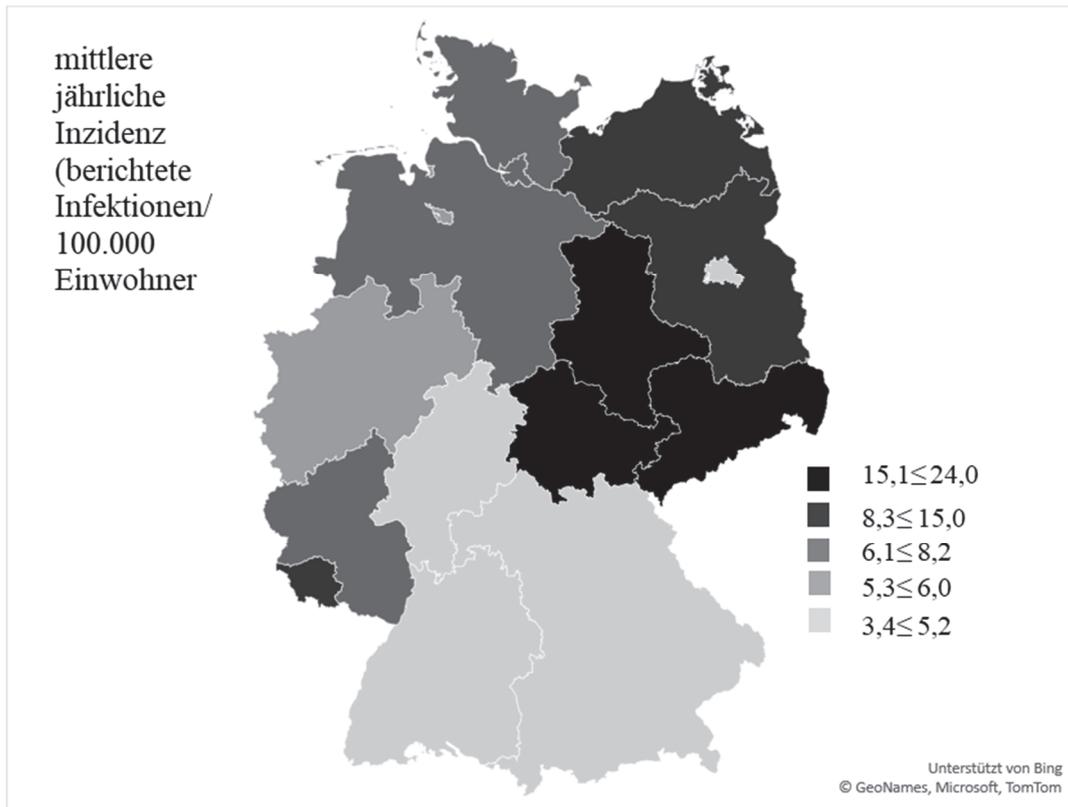


Abbildung 3: Mittlere jährliche Inzidenz gemeldeter *Y. enterocolitica*-Infektionen in Deutschland von 2001-2008 (Rosner et al. 2010)

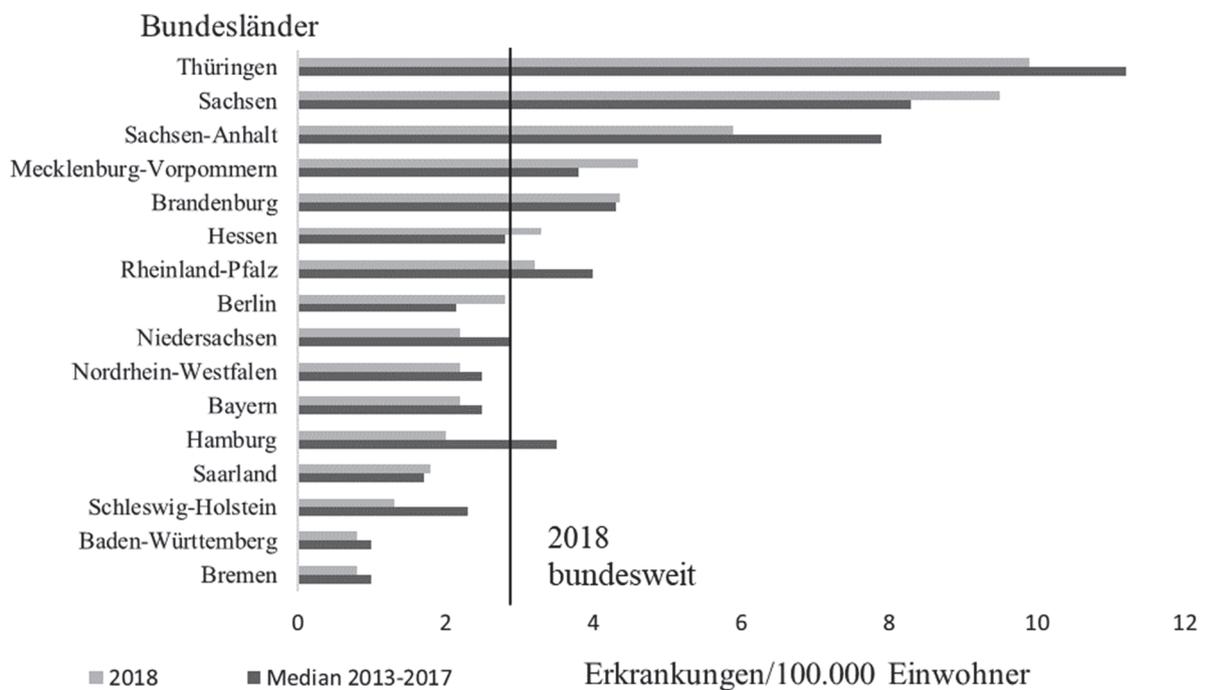


Abbildung 4: Übermittelte Yersiniosen 2018 nach Bundesland im Vergleich zu den Vorjahren (Robert-Koch-Institut 2019)

Anhand der von der EFSA (European Food Safety Authority) erhobenen Daten der gesamten Europäischen Union bestätigt sich, dass sich der abnehmende Trend in den letzten Jahren auf gleichbleibendem Niveau stabilisiert. Insgesamt wurden 2017 6.823 Fälle in der EU gemeldet. Die Inzidenz liegt damit bei 1,77 Erkrankten/100.000 Einwohner und ist damit deutlich geringer als die Inzidenz in Deutschland (2,9 Erkrankte/100.000 Einwohner). Die Yersiniose ist, genauso wie in Deutschland, die dritthäufigste bakterielle lebensmittelassoziierte Zoonose und forderte im Jahr 2017 drei Todesopfer. Die höchste Inzidenz in der EU hat Finnland (7,69 Erkrankte/100.000 Einwohner) gefolgt von der Litauen (6,11 Erkrankte/100.000 Einwohner) (EFSA 2018).

Skjerve et al. (1998) gehen aufgrund von häufig milden Verläufen von Yersiniose-Erkrankungen ohne Arztbesuch und Erfassung sowie fehlender oder mangelhafter Diagnostik von einer enormen Dunkelziffer aus. Sie nehmen bis zu zehnfach höhere Fallzahlen an.

Pathogenese und Klinik der humanen Yersiniose

Der klinische Verlauf der Erkrankung ist vom Alter des Wirts abhängig, vor allem bei Kleinkindern ist die Yersiniose durch gastrointestinale Symptome gekennzeichnet, wobei *Y. enterocolitica* unter bestimmten Voraussetzungen und überwiegend bei Erwachsenen zur Streuung im Körper neigt (Bottone 1999).

Nach einer oral-alimentären Aufnahme kommt es nach einer Inkubationszeit von etwa 3 bis 10 Tagen bei Kleinkindern zu einer fiebrigen Enteritis mit mesenterialer Lymphadenitis, abdominalen Schmerzen, Pharyngitis, Nausea, Vomitus und wässriger, selten blutiger Diarrhoe, wobei Teenager meist von einer Pseudoappendizitis und Erwachsene eher von Enteritis und Arthritis betroffen sind. Bei älteren Menschen stehen immunitätsbedingte Folgeerkrankungen im Vordergrund wie reaktive Arthritis, Erythema nodosum, Glomerulonephritis und Myokarditis (Bottone 1997, Neubauer et al. 2001, Bockemühl und Roggentin 2004). In den meisten enteralen Fällen ist die Yersiniose selbstlimitierend und klingt nach einigen Tagen ab. In der Regel dauert die klinische Phase der Erkrankung bei Kindern 3 bis 28 Tage und bei Erwachsenen 1 bis 2 Wochen (Bottone 1997).

Die reaktive Arthritis kann etwa 1 bis 3 Wochen nach einer Infektion mit *Y. enterocolitica* auftreten und manifestiert sich vor allem in den distalen Gliedmaßen. Die Arthritis heilt nach 4

bis 12 Wochen aus, kann aber auch persistieren und ist gekennzeichnet durch allgemeine Entzündungsanzeichen und teilweise durch seröse Gelenksergüssen (Dedié et al. 1993). Prädisponiert für die reaktive Arthritis sind Patienten mit dem Histokompatibilitätsantigen HLA-B27 (Hoogkamp-Korstanje 1990).

Eine weitere extraintestinale Verlaufsform ist die Septikämie, welche zwar eher selten auftritt aber lebensbedrohlich sein kann. Prädisponiert sind Menschen mit immunsupprimierenden Vorerkrankungen, zum Beispiel HIV, Krebs, Diabetes mellitus und Leberzirrhose (Aleksic und Bockemühl 1996), mit gestörtem Eisenhaushalt durch Blutkrankheiten wie aplastische Anämie, Sichelzellenkrankheit. Auch die therapeutische Gabe von Desferrioxamin im Rahmen einer Dialysebehandlung kann zu einer höheren Wahrscheinlichkeit, an Yersiniose zu erkranken, führen (Heesemann et al. 1993, Bottone 1997). Die Verwendung kontaminierter Blutkonserven kann auch zu einer extraintestinalen Symptomatik mit Septikämie führen und betrifft vor allem erwachsene Personen (Hoogkamp-Korstanje 1990). Bei einer Septikämie kann es in diversen Organen aufgrund der Streuung der Erreger zu Abszessbildung und metastatischen Arthritiden, Pneumonien, Meningitiden und Endokarditiden kommen, welche klinisch von Fieber, Erbrechen sowie Kopf- und Gliederschmerzen begleitet werden (Dedié et al. 1993). Vereinzelt können Infektionen mit *Y. enterocolitica* infolge einer Sepsis z.B. durch kontaminierte Bluttransfusionen auch zum Tod führen (Fрати et al. 2015).

Die Behandlung von Yersiniosen richtet sich nach dem jeweiligen Krankheitsbild. Bei leichten enterischen Verläufen ist eine symptomatische Therapie ohne Antibiotikumeinsatz indiziert. Bei schweren Verläufen oder einer Septikämie sollten nach der Erregerdiagnostik und Resistenztest wirksame Antibiotika angewendet werden. Gut wirksam und empfehlenswert ist die kombinierte Anwendung von Aminoglykosiden und Cephalosporinen der dritten Generation (Galindo et al. 2011, Fàbrega und Vila 2012).

2.4.2 *Yersinia enterocolitica* bei Tieren

Bockemühl und Roggentin (2004) beschreiben, dass bei den meisten warmblütigen Tieren und auch bei Reptilien, Fischen, Muscheln und Insekten ein Nachweis von *Y. enterocolitica* gelingt, jedoch meistens keine Krankheitssymptomatik auftritt. Manifeste Infektionen treten zumeist, wie beim Menschen, im juvenilen Lebensabschnitt auf und äußern sich bei Schweinen, Wiederkäuern, Hunden und Katzen durch Diarrhöe, Enteritiden, Enterokolitiden und Sistieren

der körperlichen Entwicklung. Ebenso treten gelegentlich mesenteriale Lymphadenitis und intestinale Mikroabszesse auf (Fredriksson-Ahomaa et al. 2001, Neubauer et al. 2001). Üblicherweise dienen Kot- oder Tonsillenproben als Probenmaterial. Untersuchungen bei experimentellen Infektionen von Schweinen zeigen, dass die Nachweisrate von *Y. enterocolitica* in Tonsillen höher ist als in Kotproben (Fukushima et al. 1984, Nielsen et al. 1996) und dass das Bakterium dort noch lange persistieren kann, auch wenn keine Yersinien mehr über den Kot ausgeschieden werden (Kapperud 1991). Persistent infizierte Schweine sowie verschiedene andere Nutz- und Haussäuge und Wildtiere spielen eine wichtige Rolle als natürliches Reservoir von *Y. enterocolitica*. In Tabelle 6 sind Prävalenzen verschiedener Tierarten dargestellt.

Zu den Prävalenzen im Hausschweinebestand gibt es zahlreiche Untersuchungen, die das Hausschwein bzw. dessen Erzeugnisse als Hauptüberträger der Yersiniose des Menschen herausstellen (Fredriksson-Ahomaa et al. 2001, Fredriksson-Ahomaa et al. 2011, Bonardi et al. 2014, Råsbäck et al. 2018). Die Prävalenzen bei Wildtieren wurden im Vergleich selten untersucht und die vorhandenen Daten weisen auf eine nicht zu unterschätzende Bedeutung als Reservoir und Überträger von *Y. enterocolitica* in die Lebensmittelkette, direkt über Wildbret und indirekt durch Übertragung in den Hausschweinebestand, hin.

Fredriksson-Ahomaa et al. (2009) konnten in der Schweiz bei 35% (53/153) der beprobten Wildschweine *Y. enterocolitica* aus Tonsillenmaterial mittels PCR-Untersuchung nachweisen, hingegen nur 9% (14/153) mittels kultureller Nachweismethode. In Polen wurden in 25,3% (110/434) der Rektalabstriche erlegter Wildschweine *Y. enterocolitica* isoliert. In der selben Studie war die Prävalenz von Rotwild mit 21,6% (63/293), Rehwild mit 9,4% (11/117) und Damwild mit 13,3% (2/15) deutlich geringer als die von Schwarzwild (Syczyło et al. 2018). Nowakiewicz et al. konnten in 2,09% (6/286) Rotfüchsen *Y. enterocolitica* nachweisen (2016). Eine weitere Studie aus Polen zeigt, dass 26,5% (40/151) der beprobten Wildschweine Träger von *Y. enterocolitica* sind (Bancerz-Kisiel et al. 2015). In Niedersachsen wurden 17,1% (19/111) der erlegten Wildschweine als kulturell positiv identifiziert (von Altröck et al. 2015). Sannö et al. (2018) konnten in 31% (28/90) erlegter schwedischer Wildschweine *Y. enterocolitica* nachweisen. (Arrausi-Subiza et al. 2016) kamen bei erlegten Wildschweinen in Spanien zu mit 33,35% (24/72) zu einem ähnlichen Ergebnis. Diese hohen Prävalenzen lassen auf ein bedeutsames Potential von Kontaminationen mit Wildbret schließen.

Tabelle 6 Prävalenzen von *Y. enterocolitica* bei Tieren

| Tierart | Anzahl der Proben | Anzahl der Positiven | % | Land | Referenz | Nachweismethode |
|-------------|-------------------|----------------------|---------|-----------------------------|---------------------------------|-----------------|
| Hausschwein | 50 | 30 | 60 | Deutschland | Fredriksson-Ahomaa et al., 2001 | kulturell |
| | 105 | 32 | 30,5 | Schweden | Rasbäck 2018 | kulturell |
| | 212 | 72 | 34 | Schweiz | Fredriksson-Ahomaa et al., 2011 | molekular |
| Wildschwein | 150 | 23 | 15,3 | Italien | Bonardi et al., 2014 | kulturell |
| | 434 | 110 | 25,3 | Polen | Syczyło et al., 2018 | molekular |
| | 153 | 53 | 35 | Schweiz | Fredriksson-Ahomaa et al., 2009 | molekular |
| | 153 | 14 | 9 | | kulturell | |
| | 151 | 40 | 26,5 | Polen | Bancerz-Kisiel et al., 2015b | kulturell |
| | 111 | 19 | 17,1 | Deutschland | von Altröck et al., 2015 | kulturell |
| | 90 | 28 | 31 | Schweden | Sannö et al., 2018 | molekular |
| 72 | 24 | 33,3 | Spanien | Arrausi-Subiza et al., 2016 | molekular | |
| Rotwild | 293 | 63 | 21,6 | Polen | Syczyło et al., 2018 | molekular |
| | 77 | 8 | 10,4 | Schweiz | Joutsen et al., 2013 | kulturell |
| Rehwild | 117 | 11 | 9,4 | Polen | Syczyło et al., 2019 | molekular |
| | 55 | 7 | 12,7 | Schweiz | Joutsen et al., 2013 | kulturell |
| Damwild | 15 | 2 | 13,3 | Polen | Syczyło et al., 2020 | molekular |
| Rotfuchs | 286 | 6 | 2,09 | Polen | Nowakiewicz et al., 2016 | molekular |
| Ziege | 575 | 17 | 3 | Deutschland | Arnold et al., 2006 | kulturell |
| Hund | 4325 | 198 | 4,6 | Europa | Stamm et al., 2013 | MALDI |
| Katze | 2624 | 8 | 0,3 | Europa | Stamm et al., 2013 | MALDI |

2.4.3 *Y. enterocolitica* in Lebensmitteln und der Umwelt

Yersinien können bis zu einem Jahr in der Umwelt überleben. Die wenigsten *Y. enterocolitica*-Isolate aus Umweltproben wie Oberflächen-, Brunnen-, Abwasser, Trinkwasser und Klärschlamm (Tabelle 7) gehören den pathogenen Bio/Serotypen an (Langeland 1983, Falcao

et al. 2004, Cheyne et al. 2010, Terech-Majewska et al. 2016). Vereinzelt wurden Isolate gefunden, welche mit Magendarminfektionen in Zusammenhang gebracht werden (Aleksić und Bockemühl 1988, Massa et al. 1988, Bockemühl und Roggentin 2004).

Tabelle 7 *Y. enterocolitica* in der Umwelt

| Probenursprung | Land | Referenz |
|-----------------------|-------------|------------------------------|
| Flusswasser | Polen | Terech-Majewska et al., 2016 |
| Oberflächenwasser | Kanada | Cheyne et al., 2010 |
| Trinkwasser | Kanada | |
| Abwasser | Brasilien | Falcao et al., 2004 |
| Klärschlamm | Norwegen | Langeland, 1983 |

Bedeutender und zahlreicher sind die Berichte über den Nachweis von *Y. enterocolitica* in diversen Lebensmitteln. In Deutschland werden nach dem nationalen Rückstandskontrollplan Lebensmittel- und Futtermittelplanproben diverser Herkunft durch die zuständigen Veterinär- und Lebensmittelüberwachungsämter entnommen und auf Rückstände, Kontaminanten, unerwünschte Stoffe und Zoonoseerreger untersucht und die Ergebnisse an das BfR übermittelt. Ebenso werden Ergebnisse aus diagnostischen Proben und Monitoringprogrammen erhoben. Die Ergebnisse, unter anderem im Hinblick auf den Nachweis von *Y. enterocolitica* in diesen Proben, fließen in den jährlichen Zoonosebericht des BfR ein. Eine Auswahl der Ergebnisse des Zoonoseberichts der Jahre 2011-2016 ist in Tabelle 8 dargestellt.

Unabhängig davon existieren viele Publikationen zum Nachweis von Yersinien in verschiedenen Lebensmitteln (Tabelle 9). Das Vorkommen pathogener Yersinien in Milch und Milchprodukten ist selten und von geringer Bedeutung für humane Infektionen (Bonardi et al. 2018), ebenso in Rind- und Geflügelfleisch, Fisch und Tofu (Fredriksson-Ahomaa et al. 1999, Fredriksson-Ahomaa et al. 2001, Vishnubhatla et al. 2001, Fredriksson-Ahomaa und Korkeala 2003, Bucher et al. 2008, Li et al. 2018).

Tabelle 8 Auszug aus den Zoonoseberichten des BfR von 2013 bis 2016 (2015) (2016) (2017) (2018)

| Lebensmittel | | Probenanzahl | Anzahl der <i>Y. enterocolitica</i> - positiven | % |
|-------------------------------|------|--------------|---|-------|
| Fleisch ohne Geflügel, gesamt | 2013 | 250 | 4 | 1,6 |
| | 2014 | 370 | 4 | 1,08 |
| | 2015 | 181 | 12 | 6,63 |
| | 2016 | 125 | 24 | 19,2 |
| Schweinefleisch | 2013 | 190 | 4 | 2,11 |
| | 2014 | 280 | 4 | 1,43 |
| | 2015 | 105 | 11 | 10,48 |
| | 2016 | 73 | 22 | 30,14 |
| Wildfleisch | 2013 | k.A. | k.A. | k.A. |
| | 2014 | 32 | 0 | 0 |
| | 2015 | 17 | 0 | 0 |
| | 2016 | 30 | 2 | 6,67 |
| Hackfleisch vom Schwein | 2013 | 174 | 9 | 5,17 |
| | 2014 | 92 | 3 | 3,26 |
| | 2015 | 103 | 5 | 4,85 |
| | 2016 | 119 | 16 | 13,45 |
| Hackfleischzubereitungen | 2013 | 281 | 15 | 5,34 |
| | 2014 | 805 | 59 | 7,33 |
| | 2015 | 734 | 89 | 12,13 |
| | 2016 | 272 | 14 | 5,15 |

k.A.= keine Angabe

Tabelle 9 *Y. enterocolitica* in Lebensmitteln

| Lebensmittel | Probenanzahl | Anzahl <i>Y. enterocolitica</i> - positive | % | Land | Referenz |
|-----------------|--------------|--|-----|-------------|--------------------------------|
| Tankmilch | 509 | 17 | 3,1 | Italien | Bonardi et al., 2018 |
| Rindfleisch | 101 | 0 | 0 | Deutschland | Bucher et al., 2008 |
| Geflügelfleisch | 102 | 1 | 1 | | |
| Tofu | 50 | 6 | 12 | USA | Vishnubhatla et al., 2001 |
| Fisch | 200 | 0 | 0 | Finnland | Fredriksson- Ahomaa et al., |
| grüner Salat | 101 | 3 | 3 | | |
| Meeresfrüchte | 220 | 6 | 2,7 | Deutschland | Li et al., 2018 |

Der Eintrag von pathogenen *Y. enterocolitica* in nicht-porzine Lebensmittel erfolgt am wahrscheinlichsten über Kreuzkontaminationen zum Beispiel während des Schlachtprozesses oder durch direkten Kontakt mit rohen Schweineerzeugnissen (de Boer 1995, Bockemühl und Roggentin 2004). Rohes oder unzureichend erhitztes Schweinefleisch gilt als Hauptinfektionsquelle der Yersiniose des Menschen. Entlang des Schlachtprozesses und der Fleischuntersuchung ergeben sich zahlreiche Möglichkeiten der Kontamination von Erzeugnissen durch Schlachtkörperbestandteile mit potentiell hohem Erregerdruck, wie lymphatischem Gewebe und Darminhalt. Besonders bei Tätigkeiten wie Anusumschneiden, Rachenringlösen und Lymphknoteninzisionen besteht ein hohes Risiko der Kontamination. Das Risiko, dass durch verunreinigte Messer oder Tropfwasser der Erreger auf weitere Karkassen verschleppt wird, ist hoch (Kapperud 1991, Fredriksson-Ahomaa et al. 2001). Inzwischen wird im Rahmen der Fleischuntersuchung weitestgehend auf Inzisionen verzichtet. In zahlreichen Studien wurden Prävalenzen von pathogenen *Y. enterocolitica* in rohem Schweinefleisch und dessen Erzeugnissen ermittelt und sind in Tabelle 10 dargestellt (Fredriksson-Ahomaa et al. 1999, Fredriksson-Ahomaa et al. 2000, Johannessen et al. 2000, Boyapalle et al. 2001, Vishnubhatla et al. 2001, Bonardi et al. 2010, Messelhäusser et al. 2011, Laukkanen-Ninios et al. 2014, Özdemir und Arslan 2015). Deutlich wird, dass die Nachweisraten mittels molekularbiologischer Methoden höher ausfallen als beim kulturellen Nachweis. Durch den Nachweis mittels PCR wurden auch in anderen Lebensmitteln *Y. enterocolitica* nachgewiesen (Tabelle 11). Diese geringen Prävalenzen bestätigen jedoch, dass rohe Schweinefleischprodukte als wichtigste Quelle von *Y. enterocolitica* gelten (Fredriksson-Ahomaa et al. 2001). Bei Erzeugnissen wie Rohwürsten wirken auf *Y. enterocolitica* wachstumshemmende Faktoren wie die Absenkung des pH-Werts, eine a_w -Wert-Senkung durch Wasserverlust und erhöhten Salzgehalt sowie steigende Konkurrenz der mikrobiellen Flora mit den Starterkulturen. In ungereiften Rohwürsten sind *Y. enterocolitica* hingegen überlebensfähig, da die zuvor benannten Faktoren hierbei noch nicht zum Tragen kommen (Kleemann und Bergann 1996, Mitrovic et al. 2019).

Tabelle 10 *Y. enterocolitica* in Lebensmitteln vom Schwein

| Lebensmittel | Probenanzahl | kulturell- Positive (%) | molekularbiologisch- Positive (%) | Referenz |
|--------------------------|--------------|----------------------------|--------------------------------------|---------------------------------|
| Schweinefleisch | 155 | k.A. | 60 (38,7) | Laukkanen-Ninios et al., 2014 |
| | 125 | 19 (15,2) | k.A. | Bonardi et al., 2010 |
| | 300 | 6 (2) | 50 (16,7) | Johannessen et al., 2000, |
| Hackfleisch vom Schwein | 60 | 3 (5) | k.A. | Özdemir und Arslan, 2015 |
| | 102 | k.A. | 5 (5) | Messelhüsser et al., 2011 |
| | 255 | 4 (1,6) | 63 (24,7) | Fredriksson-Ahomaa et al., 1999 |
| Hackfleischzubereitungen | 100 | 32 (32) | 47 (47) | Vishnubhatla et al., 2001 |
| | 350 | 0 (0) | 133 (38) | Boyapalle et al., 2001 |
| Schweinezunge | 51 | 40 (78,4) | 47 (92,2) | Fredriksson-Ahomaa et al., 1999 |
| | 15 | 7 (46,7) | 10 (66,7) | Vishnubhatla et al., 2001 |
| Innereien vom Schwein | 34 | 17 (50) | 21 (61,8) | Fredriksson-Ahomaa et al., 2000 |

k.A.= keine Angabe

Tabelle 11 Vergleichende Darstellung von Nachweismethoden von *Y. enterocolitica*-Nachweisen in Lebensmitteln

| Lebensmittel | Probenanzahl | kulturell- Positive (%) | molekularbiologisch- Positive (%) | Referenz |
|----------------------|--------------|----------------------------|--------------------------------------|----------------------------------|
| Geflügel | 43 | 0 (0) | 0 (0) | Fredriksson-Ahomaa et al., 2001b |
| | 108 | 0 (0) | 1 (0,9) | Lindblad et al., 2006 |
| | 98 | 0 (0) | 9 (9) | Grötzbach, 2007 |
| Salat | 101 | 0 (0) | 3 (3) | Fredriksson-Ahomaa et al., 2001b |
| | 200 | 0 (0) | 6 (3) | Johannessen et al., 2002 |
| Tofu | 50 | 0 (0) | 6 (12) | Vishnubhatla et al., 2001 |
| Fisch | 200 | 0 (0) | 0 (0) | Fredriksson-Ahomaa et al., 2001b |
| Hackfleisch vom Rind | 100 | 23 (23) | 31 (31) | Vishnubhatla et al., 2001 |
| Salami | 97 | 0 (0) | 11 (11) | Thisted Lambertz et al., 2007 |
| Darm vom Schwein | 350 | 28 (8) | 278 (79) | Boyapalle et al., 2001 |

2.4.4 *Y. enterocolitica* in Wildbret

Prävalenzen von *Y. enterocolitica* in Wildbret sind speziesdifferenziert zu betrachten, weil sehr unterschiedlich (Tabelle 12). Generell ist die Datenlage je nach Wirtsspezies gering und oft wenig allgemeingültig. Der mikrobiologische Status von Muskelfleisch ist bei einem gesunden und ausgeruhten Tier als keimarm einzustufen (Fehlhaber 1992). Eine Kontamination des Fleisches erfolgt größtenteils auf dem sekundären Weg, bei dem das Fleisch während des Schlachtvorganges/ Erlegens, der Fleischgewinnung und –verarbeitung mit Mikroorganismen aus seiner Umwelt kontaminiert wird (Wachek 2008). Da Wildbret oft in risikoreichem ungünstigem hygienischem Umfeld erlegt und aufgebrochen wird, besteht eine besonders hohe Gefahr der Kontamination der Karkasse. Des Weiteren begünstigen schlechte Schüsse und eine längere Dauer zwischen Schuss und Aufbrechen die Gefahrenlage (Avagnina et al. 2012).

Tabelle 12 *Y. enterocolitica* in Wildbret

| Wildbret | Probenanzahl | Anzahl Positiver (%) | Region | Referenz | Nachweismethode |
|--------------------------------------|--------------|----------------------|----------------|-----------------------------|-----------------|
| Wildbret, nicht weiter differenziert | 60 | 23 (38,3) | Süddeutschland | Bucher et al., 2008 | PCR |
| | 51 | 3 (6) | Deutschland | Messelhäusser et al., 2011 | PCR |
| Wildwiederkäuer Rehfleisch | 34 | 16 (47,1) | Süddeutschland | Wachek, 2008 | PCR |
| | 78 | 3 (4,9) | Italien | Avagnina et al., 2012 | kulturell |
| Wildschweinfleisch | 20 | 12 (60%) | Polen | Bancerz-Kisiel et al., 2015 | k.A. |
| | 14 | 4 (28,6) | Süddeutschland | Wachek, 2008 | PCR |
| | 72 | 10 (15,4) | Italien | Avagnina et al., 2012 | kulturell |
| Rotwildfleisch | 20 | 11 (55) | Polen | Bancerz-Kisiel et al., 2015 | k.A. |
| | 56 | 4 (7,1) | Italien | Avagnina et al., 2012 | kulturell |
| | 16 | 7 (43,8) | Polen | Bancerz-Kisiel et al., 2015 | k.A. |

2.5 Wild und Jagd in Brandenburg

Im Jagdjahr 2016/17 wurden in Brandenburg auf 2.573.714 Hektar bejagbarer Fläche insgesamt 168.766 Stück Schalenwild (Rot-, Reh-, Schwarz-, Dam-, Muffelwild) erlegt. Die Rotfuchsstrecke liegt im gleichen Jagdjahr bei 25.020 Stück. Die Rehwildstrecke betrug 68.550 Stück. Im Vergleich der Bundesländer wurden in Brandenburg in dieser Saison mit Abstand die meisten Stücken Schwarzwild (76.512) erlegt und nach Bayern die zweitmeisten Stücken Rotwild (10.667) laut Landesjagdbericht Brandenburg 2016/17. Diese Zahlen unterstreichen den großen Stellenwert der Jagd in Brandenburg und lassen Rückschlüsse auf eine hohe Wilddichte zu. Insbesondere die Wildschweinpopulation wächst sowohl deutschlandweit als auch in Brandenburg und führt zu immer größeren Streckenzahlen (Abbildung 5 und Abbildung 6). Die Anzahl der Jagdscheininhaber steigt deutschlandweit stetig an und liegt 2019 bei 388.281, davon kommen 13.740 aus Brandenburg (Deutscher-Jagdverband 2019). Der Jäger kommt in der Regel als erster in Kontakt mit erlegtem Wild und „bricht das Stück auf“, darunter wird in der Jägersprache das Eröffnen der Bauch- und Brusthöhle und der Entnahme ihrer Organe verstanden. Das Tier wird von der kundigen Person sowohl vor als auch nach dem Schuss auf sogenannte bedenkliche Merkmale, wie z. B. abnorme Verhaltensweisen und Störungen des Allgemeinzustandes, Verklebungen an Organen, Abweichungen von der Muskulatur oder der Organe in Farbe, Geruch oder Konsistenz und fremder Inhalt in Körperhöhlen, untersucht und beurteilt. Die rechtliche Grundlage hierzu gibt die „Verordnung über Anforderungen an die Hygiene beim Herstellen, Behandeln und Inverkehrbringen von bestimmten Lebensmitteln tierischen Ursprungs“ (Tier-LMHV, Tierische Lebensmittel-Hygieneverordnung vom 18. April 2018 (BGBl. I S. 480 (619) und im Falle der Abgabe größerer Mengen im Sinne des Gesetzgebers oder bei Abgabe von Wild an Wildverarbeitungsbetriebe die VO (EG) Nr. 853/2004 sowie VO (EG) 178/2002 Art.18. Der Pro-Kopf-Wildbretverzehr liegt in Deutschland bei ca. 1.400g pro Jahr (Bvdf 2018), wobei dieser laut einer nicht repräsentativen Umfrage des Deutschen Jagdverbandes in Jägerhaushalten bei ca. 13.200g pro Jahr liegt (Hoffmann 2013). Zu beachten ist jedoch, dass die Bewertung der tatsächlichen Verzehrsmengen nicht zu ermitteln sind, da ein hoher Anteil von Wildbret direkt vom Jäger an den Verbraucher abgegeben wird und somit nicht in die Statistik einfließt. Laut Apelt (2007) verbleiben circa zwei Drittel des bei der Jagd gewonnenen Wildbrets im Jägerhaushalt oder werden von diesem direkt an den Endverbraucher oder lokale Gaststätten abgegeben.

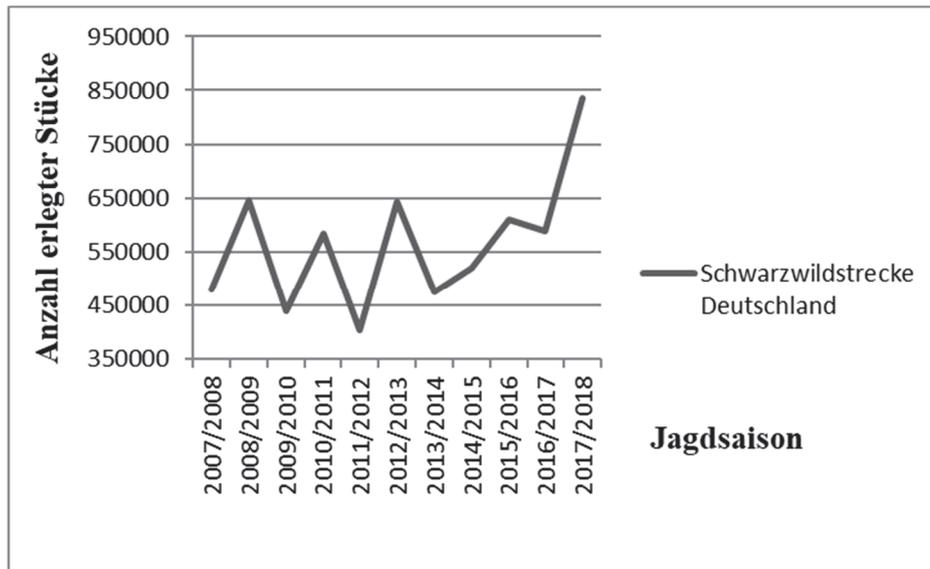


Abbildung 5 Streckenentwicklung Schwarzwild, deutschlandweit

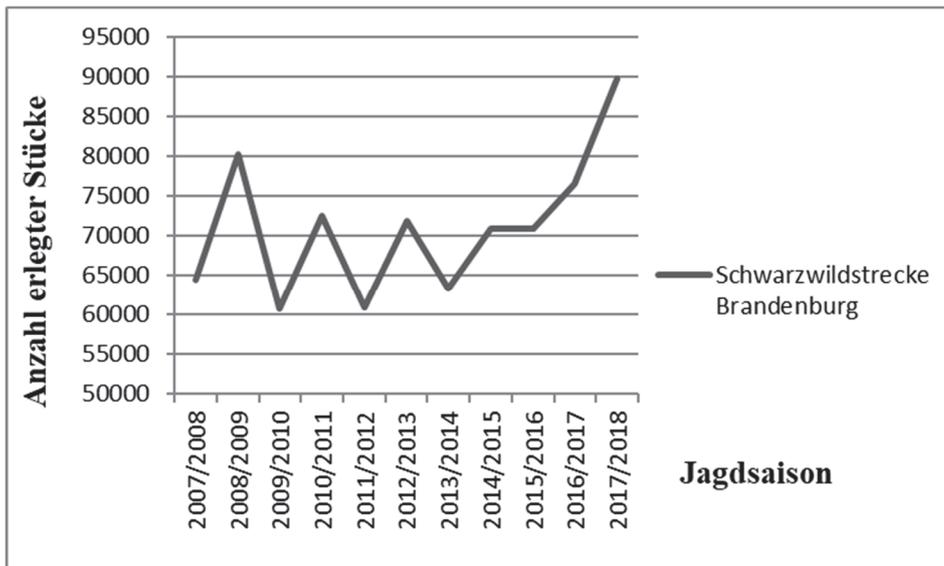


Abbildung 6 Streckenentwicklung Schwarzwild, Brandenburg

2.6 Nachweis von *Y. enterocolitica*

Die Auswahl der Nachweismethode richtet sich nach dem Ausgangsmaterial und dem Untersuchungsziel. In der nachfolgenden Darstellung wurden aus der Vielzahl beschriebener Nachweisverfahren nur die gebräuchlichsten ausgewählt.

2.6.1 Kulturelle Nachweisverfahren

Kulturelle Nachweisverfahren sind direkte Verfahren, die meist aus einem Anreicherungsverfahren, Kultivierung und Vereinzelung auf Selektivnährböden und einer biochemischen Untersuchung verdächtiger Kolonien bestehen. Dieser mehrstufige Ansatz resultiert aus der Tatsache, dass *Y. enterocolitica* oft nur in geringer Keimzahl vorhanden ist und somit leicht durch die Begleitflora unterdrückt bzw. überlagert wird, wodurch die Sensitivität des Nachweises von Yersinien erheblich reduziert ist (Schiemann 1982). Insbesondere bei persistent Infizierten und Rekonvaleszenten wird ein flüssiges Anreicherungsverfahren empfohlen (Aleksic und Bockemühl 1990).

Für den Nachweis von *Y. enterocolitica* in Futtermitteln oder Produkten, die für den menschlichen Verzehr vorgesehen sind, sowie für Umgebungsproben im Herstellungsbereich von Lebensmitteln existiert die amtliche Methode ISO Norm 10273:2017.

Voranreicherung

Um die meist geringe Ausgangskeimzahl von *Y. enterocolitica* zu erhöhen und gleichzeitig die Begleitflora zu minimieren oder an der Vermehrung zu hemmen, wurden mehrere selektive als auch nicht-selektive Nährmedien zur Anreicherung entwickelt.

Als selektive Anreicherungsmedien werden die modifizierte Rappaport-Bouillon (MRB) und die Irgasan-Ticarcillin-Kaliumchlorat-Bouillon (ITC) verwendet. Diese unterdrücken das Wachstum der unerwünschten Begleitflora durch die Verwendung der Antibiotika Irgasan, Ticarcillin (beide in ITC-Bouillon) und Carbencillin (in MRB) und ermöglichen so den Nachweis von *Y. enterocolitica* auch in stark kontaminierten Proben (Aleksic und Bockemühl 1990). Die MRB ist eine Weiterentwicklung des zur Salmonellendiagnostik eingesetzten Rappaport-Mediums und enthält im Unterschied dazu mehr Magnesiumchlorid und weniger Malachitgrün. Die mit MRB versetzten Proben werden zwischen 22-29 °C für 2-4 Tage zur Voranreicherung inkubiert (Wauters 1973). Die ITC-Bouillon wird 48h bei 25 °C inkubiert und gilt als besonders geeignet zum Nachweis von *Y. enterocolitica* O:3 (Wauters et al. 1988). Die Verwendung von ITC-Bouillon ist auch Teil der ISO Norm 10273:2017.

Die wenig- oder nicht-selektiven Nährmedien werden in der Regel bei der Kälteanreicherung verwendet. Dabei wird die Psychrotoleranz von *Y. enterocolitica* ausgenutzt, um das Wachstum

der Begleitflora zu hemmen. Zur Verwendung kommen verschiedene phosphatgepufferte Lösungen wie phosphatgepufferte Kochsalzlösung, (PBS = phosphate buffered saline), die Phosphatpufferlösung nach Sørensen oder die phosphatgepufferte Pepton-Sorbit-Galle-Bouillon (PSB)(Schiemann 1982, Doyle und Hugdahl 1983, Bonardi et al. 2010, Bonardi et al. 2018). Die Proben werden bei 4 °C für zwei bis drei Wochen inkubiert. Damit ist die Kälteanreicherung ein sehr zeitaufwändiges Verfahren. Allerdings werden apathogene Yersinien nicht unterdrückt und können die Probe mit zunehmender Kälteanreicherungsdauer überwuchern (de Boer 1992, Fredriksson-Ahomaa und Korkeala 2003, Bonardi et al. 2010).

Eine weitere Möglichkeit, die Begleitflora zu minimieren, stellt die Behandlung mit 0,25-0,5%iger Kalilauge vor dem Ausstrich dar (Aulisio et al. 1980). *Y. enterocolitica* ist im Vergleich zur Begleitflora relativ alkalistabil und somit lässt sich die Isolierungsrate des Bakteriums durch eine Behandlung mit Kalilauge im Anschluss an eine Anreicherung erhöhen (de Boer 1995).

Feste Nährmedien

Zur Isolierung von *Y. enterocolitica* aus Kot- oder Lebensmittelproben sind nicht-selektive Nährmedien, wie z.B. Trypton-Soja-Agar, ungeeignet. Zwar wachsen Yersinien auch auf diesen Nährmedien gut, werden aber zumeist von der Begleitflora überdeckt (Swaminathan et al. 1982). Aus diesem Grund modifizierte Wauters (1973) den Salmonella-Shigella (SS)-Agar durch Zugabe von Natriumdesoxycholat und Calciumchlorid zum SSDC-Agar. Durch die hohe Toleranz von *Y. enterocolitica* gegenüber Desoxycholat eignet sich dieser Agar besonders gut für die Anzucht und *Y. enterocolitica* bildet charakteristische graue Kolonien mit unscharfem Rand. Spezies wie *Proteus*, *Morganella*, *Serratia* und *Aeromonas* können ebenfalls auf SSDC wachsen und erschweren die Identifizierung (de Boer 1992).

Der in der Routinediagnostik am häufigsten verwendete Selektivnährboden ist der Cefsulidon-Irgasan-Novobiocin-Agar (CIN) (Petsios et al. 2016). Der CIN-Agar wurde von Schiemann (1979) entwickelt und hemmt durch die antimikrobiellen Substanzen Cefsulidon, Irgasan und Novobiocin viele andere *Enterobacteriaceae* zum Vorteil von *Y. enterocolitica*. Die Fermentation von Mannit führt zu einer himbeerfarbenen zentralen Koloniefärbung und trägt wesentlich zur für *Y. enterocolitica* typischen Koloniemorphologie bei. Nach einer Bebrütung von 24h-48h bei 28°-30°C wird das Aussehen der Kolonien aufgrund des klaren Hofes und des roten Zentrums oft mit Kuhaugen verglichen. Eine ähnliche Koloniemorphologie zeigen

Stämme von einigen *Enterobacteriaceae* wie *Serratia*, *Aeromonas*, *Proteus* und *Morganella*, sie erschweren somit die eindeutige Differenzierung (de Boer und Seldam 1987, Laukkanen et al. 2010).

Biochemische Identifizierung von *Y. enterocolitica*

Die auf dem Selektivnährboden angezüchteten verdächtigen Kolonien werden auf eine weitere nicht-selektive oder selektive Agarplatte überimpft, erneut inkubiert (Schiemann und Wauters 1992) und dann weiterführend untersucht. Als erste orientierende Untersuchungen zur Selektion verdächtiger Kolonien gilt der Ureasenachweis. Der Abbau von Harnstoff zu Ammoniak und Carbamat wird durch das Enzym Urease katalysiert, welches bei *Y. enterocolitica*-Stämmen vorkommt (Aleksic und Bockemühl 1990). Weitere biochemische Vorprüfungen wie die Testung auf Beweglichkeit, Lysin-Decarboxylase und Oxidase sind beschrieben (Kerber 1997).

Zur genauen biochemischen Identifizierung und Differenzierung von *Y. enterocolitica* stehen, neben der aufwändigen Einzeltestung, mehrere kommerzielle Testsysteme zur Verfügung. Das API[®] 20E System (Fa. BioMérieux, Nürtingen) stellt ein immer noch häufig genutztes System (Neubauer et al. 1998, Arnold et al. 2004) dar. Weitere Testsysteme sind API[®] Rapid 32 IDE (Fa. BioMérieux, Nürtingen) und Micronaut E (Merlin Diagnostika GmbH, Bornheim-Hersel). Diese kommerziellen Systeme sind praktisch, unterscheiden aber nicht zwischen allen 18 zurzeit bekannten *Yersinia*-Spezies. Das API[®] 20E unterscheidet zum Beispiel nur zwischen sechs Spezies (Hallanvuori 2009).

Eine neuere Möglichkeit der Identifizierung stellt die Kombination der Matrix-assistierten-Laser-Desorption-Ionisierung (MALDI) mit der Flugzeitanalyse (TOF, time of flight) freigesetzter Ionen zur Massenspektrometrie dar. Diese erlaubt die Identifikation von *Y. enterocolitica* nach Spezies und Biotyp (Ayyadurai et al. 2010, von Altmann et al. 2015). Das Proteinprofil der isolierten Reinkulturen wird mit einer Datenbank abgeglichen und stellt eine sehr schnelle, sichere und kostengünstige Methode dar, welche in der Routinediagnostik der Lebensmittelmikrobiologie eingesetzt wird (Gupta et al. 2015). Rizzardi et al. (2013) berichten von Problemen bei der Unterscheidung von Biotyp 1A und Biotyp 1B und empfehlen hierzu klassische biochemische Methoden.

Bio- und Serotypisierung und biochemisch erfassbare Pathogenität

Die Biotypisierung erfolgt üblicherweise nach der von Wauters (1987) beschriebenen Einteilung von *Y. enterocolitica* in die Biotypen 1A, 1B, 2-5 und beinhaltet die in Kapitel 2.2, Tabelle 2, aufgeführten Reaktionen. Die Biotypen 1B und 2-5 werden mit human- und tierpathogenen Erkrankungen in Zusammenhang gebracht, Stämme des Biotyp 1A hingegen gelten als nicht pathogen, wenngleich seit einiger Zeit vermehrt darüber diskutiert wird, ob das weiterhin so gilt (Tennant et al. 2003, Huovinen et al. 2010).

Die Differenzierung in Serotypen erfolgt anhand der Unterscheidung der LPS O-Antigene. Eine einfache Methode stellt die Objektträgeragglutination mit spezifischen Antisera dar, welche kommerziell erhältlich sind (Neubauer et al. 2001). Den Antigenen O:3, O:5,27, O:8 und O:9 werden oft pathogene *Y. enterocolitica* zugeordnet (Bottone 1999). Eine eindeutige Aussage über die Pathogenität eines *Y. enterocolitica*-Stammes ist jedoch nicht möglich, da die Antigene O:3, O:5, O:8 und O:9 auch bei apathogenen *Y. enterocolitica* und anderen *Yersinia* spp. vorkommen (Aleksic und Bockemühl 1990), allerdings wird der Verdacht auf ein möglicherweise pathogenes Isolat bestärkt.

Die Bestimmung der Pathogenität eines *Y. enterocolitica*-Stammes sollte aufgrund der Biotypisierung und der Serotypisierung geschehen (Bottone 1999, Fredriksson-Ahomaa und Korkeala 2003).

2.6.2 Molekularbiologische Nachweisverfahren

Zur Identifizierung der verschiedenen Serotypen und deren Pathogenität *Y. enterocolitica*-verdächtiger Isolate aus Lebensmittelproben sind die beschriebenen kulturellen Nachweismethoden nicht für alle Serotypen optimal und außerdem, durch die Inkubationszeiten, sehr zeitaufwändig (Petsios et al. 2016).

Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR), als molekularbiologisches Verfahren, wird inzwischen üblicherweise zum Pathogenitätsnachweis von *Y. enterocolitica* aus Lebensmittelproben genutzt und stellt im Vergleich zu kulturellen Nachweisverfahren ein wesentlich schnelleres und sensitiveres Verfahren dar (Fredriksson-Ahomaa und Korkeala 2003). Es existiert eine Vielzahl von unterschiedlichen PCR-Protokollen zum Nachweis von *Y. enterocolitica*-Pathogenitätsfaktoren. Ein potentieller Pathogenitätsnachweis ist über die Detektion

verschiedener chromosomal- und plasmidkodierter Gene von Virulenzfaktoren möglich (Neubauer et al. 2001). Bei Protokollen, welche plasmidkodierte Zielgene detektieren, besteht die Möglichkeit für falsch-negative Ergebnisse durch den Verlust des Plasmids während der Subkultivierung oder während der Lagerung (Neubauer et al. 2000, Thoerner et al. 2003). Falsch-positive Ergebnisse können z.B. durch Kontamination während des Ansatzes der PCR vorkommen oder durch die Wahl zu unspezifischer Primer entstehen (Fredriksson-Ahomaa und Korkeala 2003). Bei der Multiplex-PCR werden mehrere Zielgene gleichzeitig detektiert und zumeist plasmid- und chromosomalkodierte Virulenzgene kombiniert (Bhaduri und Cottrell 1998, Boyapalle et al. 2001, Myers et al. 2006). Virulenzgene sind als Zielgene besonders gut geeignet, weil sie zum einen zur Identifikation von *Yersinien* in Lebensmitteln dienen und zum anderen eine Pathogenitätsbestimmung zulassen. Gebräuchliche Zielgene sind *ail* (attachment invasion locus, Adhäsion), *inv* (invasion, Invasin) und *ystB* (Enterotoxin). Das 16S rRNA-Gen wird, je nach verwendetem Primer, zur Spezies- und auch Gattungsbestimmung von *Yersinia* spp. genutzt. Das Vorhandensein des *ail* Genes in Kombination mit dem *inv* Gen ist typisch für die Biotypen 1B und 2-5. Charakteristisch für den Biotyp 1A ist der Nachweis vom Virulenzgen *ystB*. Um eine sichere Aussage hinsichtlich der Pathogenität zu erreichen, ist die Kombination mehrerer Zielgene aus chromosomal- und plasmidkodierten Virulenzgenen entscheidend (Petsios et al. 2016). Neben den beschriebenen Virulenzgenen können auch einige Serogruppen mittels PCR bestimmt werden. Hierfür werden die Genregionen *wbbU*, *per*, *wbcA* und *wzt* in einer von Garzetti et al. (2014) entworfenen Multiplex-PCR verwendet, um Stämme von *Y. enterocolitica* den Serotypen O:3 (*wbbU*), O:9 (*per*), O:8 (*wbcA*) und O:5,27 (*wzt*) zuzuordnen (Abbildung 7).

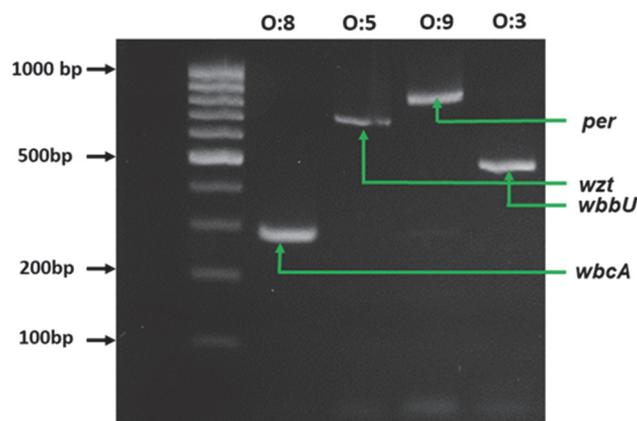


Abbildung 7 Schema zur molekularbiologischen Serotypisierung von *Y. enterocolitica* (Garzetti et al. 2014)

Die Real-Time-PCR stellt ein weiteres schnelles und sensitives molekularbiologisches Verfahren dar und ist bei der Untersuchung von Lebensmittelproben, basierend auf dem *ail*-Gen weit verbreitet (Lambertz et al. 2008). Sie ist gekennzeichnet durch geringen Zeit- und Arbeitsaufwand. Um falsch-negative Ergebnisse zu vermeiden, ist eine Amplifikationskontrolle Bestandteil der Untersuchung. Eine kulturelle Isolierung der Bakterien ist jedoch bei positiven PCR-Ergebnissen notwendig, um die Lebensfähigkeit zu belegen und die weitere Charakterisierung durchzuführen (Prohaska 2009).

Die 16S-rDNA Gensequenzierung ist ein modernes Verfahren zur Identifikation von Bakterien, indem speziesspezifische Genorte amplifiziert und sequenziert werden. Die Sequenzen der variablen Genorte können mit Datenbanken verglichen werden und dienen der Identifizierung der Bakterienspezies (Woo et al. 2008).

2.7 Antimikrobielle Resistenzen von *Y. enterocolitica*

Infektionen des Menschen mit *Y. enterocolitica* werden, je nach Verlaufsform, antimikrobiell therapiert. Eine Indikation besteht immer bei schwerem klinischen Verlauf, Manifestationen in Gelenken oder einer Septikämie (Bockemühl und Roggentin 2004). Die Zunahme von bakteriellen Resistenzen ist ein weltweit beobachtetes Problem, welches eine Gefahr für die öffentliche Gesundheit darstellt und gesamtgesellschaftlich viel diskutiert wird. Mehrere Studien haben sich mit der antimikrobiellen Resistenzlage von *Y. enterocolitica* beschäftigt und verschiedene Resistenzen, mitunter auch Multiresistenzen nachweisen können (Terentjeva und Bērziņš 2010, Bonke et al. 2011, Fredriksson-Ahomaa et al. 2011, Bonardi et al. 2014, Özdemir und Arslan 2015). Die verbreitete Resistenz gegenüber Penicillin, Ampicillin und Cephalosporinen der ersten Generation liegt an dem häufigen Vorhandensein der Gene *blaA* und *blaB*, welche für die Enzyme β -Lactamase A (Breitspektrum-Lactamase) bzw. B (Cephalosporinase) vieler *Y. enterocolitica*-Isolate kodieren (Pham et al. 2000, Stock et al. 2000, Bonke et al. 2011). Laut CLSI Dokument M100-S24 2014 sind *Y. enterocolitica* im Wesentlichen resistent gegenüber Ampicillin, Amoxicillin-Clavulansäure, Ticarcillin und einigen Cephalosporinen der ersten Generation. *Enterobacteriaceae* im Allgemeinen gelten als resistent gegenüber Clindamycin, Daptomycin, Fuzidinsäure, Glykopeptide, Linezolid, Rifampizin und den meisten Makroliden, wie Erythromycin (Pham et al. 2000, Rastawicki et al. 2000, CLSI 2014)).

2.7.1 Agardiffusionstest

Der Agardiffusionstest ist eine weit verbreitete Untersuchungsmethode in human- und veterinärmedizinischen Labors. Diese Methode ist kostengünstig und einfach durchzuführen, jedoch nicht vollständig automatisierbar.

In einem standardisierten Verfahren, durch z.B. das Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) oder European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) beschrieben, lassen sich verlässliche Ergebnisse erzielen.

Die Bestimmung der Empfindlichkeit von Erregern gegenüber Chemotherapeutika erfolgt auf festen Nährmedien, wie etwa dem Mueller-Hinton-Agar. Zur Qualitätssicherung werden Kontrollstämme wie z.B. *E. coli* ATCC® 25922 und/oder *S. aureus* ATCC® 25923 bei jeder Versuchsreihe mit untersucht. Auf dem Agar wird eine Bakteriensuspension, mit 0,5 McFarland Trübungsstandard, in Reinkultur, homogen durch einen Spatel oder Wattetupfer verteilt. Anschließend werden handelsübliche Wirkstoffträger, die das zu testende Chemotherapeutikum enthalten, auf die Platten gelegt und bebrütet. Das Antibiotikum verteilt sich durch Diffusion in das Kulturmedium mit zum steigenden Abstand des Plättchens sinkender Konzentration (Wirkstoffgradient). Das Wachstum der empfindlichen Bakterien wird ab einer gewissen Konzentration gehemmt und es bleiben wachstumsfreie Hemmhöfe um die Testblättchen. Die Durchmesser der Hemmhöfe werden ausgemessen und nach einem Bewertungsschlüssel in die Kategorien „sensibel“ (S), „intermediär“ (I) und „resistent“ (R) eingeteilt. Aufgrund der Korrelation zwischen der minimalen Hemmkonzentration und dem Hemmhofdurchmesser wurden Tabellen erarbeitet, welche eine Beurteilung über das in-vitro Verhalten von Bakterien gegenüber einem Chemotherapeutikum erlauben und in der weltweit gültigen ISO 20776-1 definiert sind:

Sensibel (S): Als sensibel gegen ein bestimmtes Antibiotikum wird ein Bakterienstamm dann bezeichnet, wenn er in vitro von einer Konzentration dieses Wirkstoffs inhibiert wird, die mit einer hohen therapeutischen Erfolgswahrscheinlichkeit assoziiert ist.

Intermediär (I): Als intermediär gegen ein bestimmtes Antibiotikum wird ein Bakterienstamm dann bezeichnet, wenn er in vitro von einer Konzentration dieses Wirkstoffs inhibiert wird, die mit einem unsicheren therapeutischen Ergebnis assoziiert ist.

Resistent (R): Als resistent gegen ein bestimmtes Antibiotikum wird ein Bakterienstamm dann bezeichnet, wenn er in vitro von einer Konzentration dieses Wirkstoffs inhibiert wird, die mit einer hohen Wahrscheinlichkeit des Therapieversagens assoziiert ist.

2.7.2 Bouillon- Mikrodilutionsverfahren

Dieses Verfahren stellt die Methode der Wahl bei in-vitro Empfindlichkeitsprüfungen dar, ist jedoch im Vergleich zum Agardiffusionstest kostenintensiv und aufwendig. Im Unterschied zum Agardiffusionstest erlaubt es das Bouillon-Mikrodilutionsverfahren neben der qualitativen auch eine quantitative Aussage für die Empfindlichkeit von Bakterien durch ein Reihenverdünnungsverfahren zu treffen (Meyer et al. 2011). Eine standardisierte Menge an Bakterien wird in Gegenwart unterschiedlicher Konzentrationen des betreffenden Chemotherapeutikums in kommerziellen Mikrotiterplatten inkubiert. Als minimale Hemmkonzentration wird die niedrigste Wirkstoffkonzentration bezeichnet, bei welcher kein sichtbares Wachstum der Bakterien mehr feststellbar ist (CLSI 2014).

3 Material und Methoden

3.1 Probenmaterial

In dieser Arbeit wurden von Oktober 2015 bis Januar 2017 von 782 erlegten Stücken Wild (Schwarzwild, Rehwild, Rotwild, Füchsen) Tonsillen als Untersuchungsmaterial gewonnen. Insgesamt wurden aus 41 Revieren in drei verschiedenen Landkreisen, Landkreis Dahme-Spreewald (LDS), Landkreis Oder-Spree (LOS), Landkreis Spree-Neiße (SPN), Brandenburgs auf einer Gesamtfläche von 6325km² Proben gesammelt (Abbildung 8). Die Entnahme der Tonsillen erfolgte zum Teil direkt nach dem Aufbrechen oder in gekühlten (max. 4 °C) Wildsammelstellen bis maximal 13 Tage nach dem Erlegungsdatum. Für die sterile Entnahme der Tonsillen erfolgte ein Hautschnitt vom Kinnwinkel (*Angulus mentalis*) zum Halsansatz (*Regio praesternalis*), insofern der Schnitt nicht schon durch das Aufbrechen vorhanden war. Caudodistal vom harten Gaumen (*Palatum durum*) wurden die Tonsillen mit einem Skalpell heraus präpariert und in einem Kunststoffgefäß bis maximal 13 Tage bei 4 °C gelagert und bei gleicher Temperatur zur Untersuchung ins Labor transportiert. Die Tonsillen wurden qualitativ auf das Vorkommen von *Y. enterocolitica* wie in Kapitel 3.3 beschrieben untersucht.



Abbildung 8 Geographische Übersicht der Probenherkunft bezogen auf die Landkreise, Karte nach Brandenburgviewer, <https://bb-viewer.geobasis-bb.de/>

3.2 Verwendete Materialien und Geräte

Die Tabellen 13 und 14 enthalten eine Auflistung der verwendeten Materialien und Geräte, wobei auf eine Auflistung von Standard-Laboraausstattung weitgehend verzichtet wurde.

Tabelle 13 Verwendete Materialien

| Material | Hersteller |
|-----------------------------------|--------------------------------------|
| 10 mM dNTP Mix | Fermentas, Waltham, USA |
| 96-Well Platte, Low-Profile | Bio-Rad, München, D |
| Agarose | Biozym, Wien, A |
| Antimikrobielle Testblättchen | Mast Diagnostica; Reinfeld, D |
| Anti-Y. enterocolitica Testseren | Sifin Diagnostics GmbH, Berlin, D |
| BagFilter | Interscience, St Nom la Bretèche, FR |
| Chelex® 100 Resin | Bio-Rad, München, D |
| Coral load PCR Buffer | Qiagen, Hilden, D |
| Cryobank | Mast Diagnostica; Reinfeld, D |
| Gene Ruler, 100 bp | Thermo Scientific, Bonn, D |
| GRGreen | Excellgen, Rockville, USA |
| Impfnadel | VWR, Dresden, D |
| Impföse | VWR, Dresden, D |
| Oxidase Teststreifen | Merck, Darmstadt, D |
| PCR Buffer 10x | Qiagen, Hilden, D |
| Pipettenspitzen; 10, 100, 1000 µl | Nerbe plus, Winsen/Luhe, D |
| Primer | Metabion, München, D |
| Purification Kit | Fermentas, Waltham, USA |
| Rotiphorese® 10x TBE-Puffer | Carl Roth, Karlsruhe, D |
| Safelock-Reaktionsgefäße; 2 ml | Sarstedt, Nümbrecht, D |

Tabelle 14 Verwendete Geräte und Hersteller

| Gerät | Hersteller |
|-------------------------|--|
| AlphaImager® | Alpha Innotec Corporation, Montreal, KDN |
| Inkubator | VWR International GmbH, Darmstadt, D |
| Kolbenhubpipetten | Eppendorf, Hamburg, D |
| Magnetrührer | Heidolph Instruments GmbH & CO. KG, Schwabach, D |
| MALDI-TOF MS, Mikroflex | Bruker Daltonics, Billerica, USA |
| NanoDrop | Thermo Fisher Scientific, Bonn, D |
| Stomacher-Smasher | bioMérieux Industry, Hazelwood, USA |
| Thermocycler | Bio-Rad, München, D |
| Thermomixer | Eppendorf, Hamburg, D |
| Vakuumtrockner | Eppendorf, Hamburg, D |
| Vortexer | Scientific Industries Bohemia, New York, USA |
| Zentrifuge | Eppendorf, Hamburg, D |
| Zentrifuge | Eppendorf, Hamburg, D |

3.3 Isolierung von *Y. enterocolitica* aus Tonsillenproben

In Abbildung 9 wird der Ablauf der Isolierung von *Y. enterocolitica* aus den Tonsillenproben schematisch dargestellt.

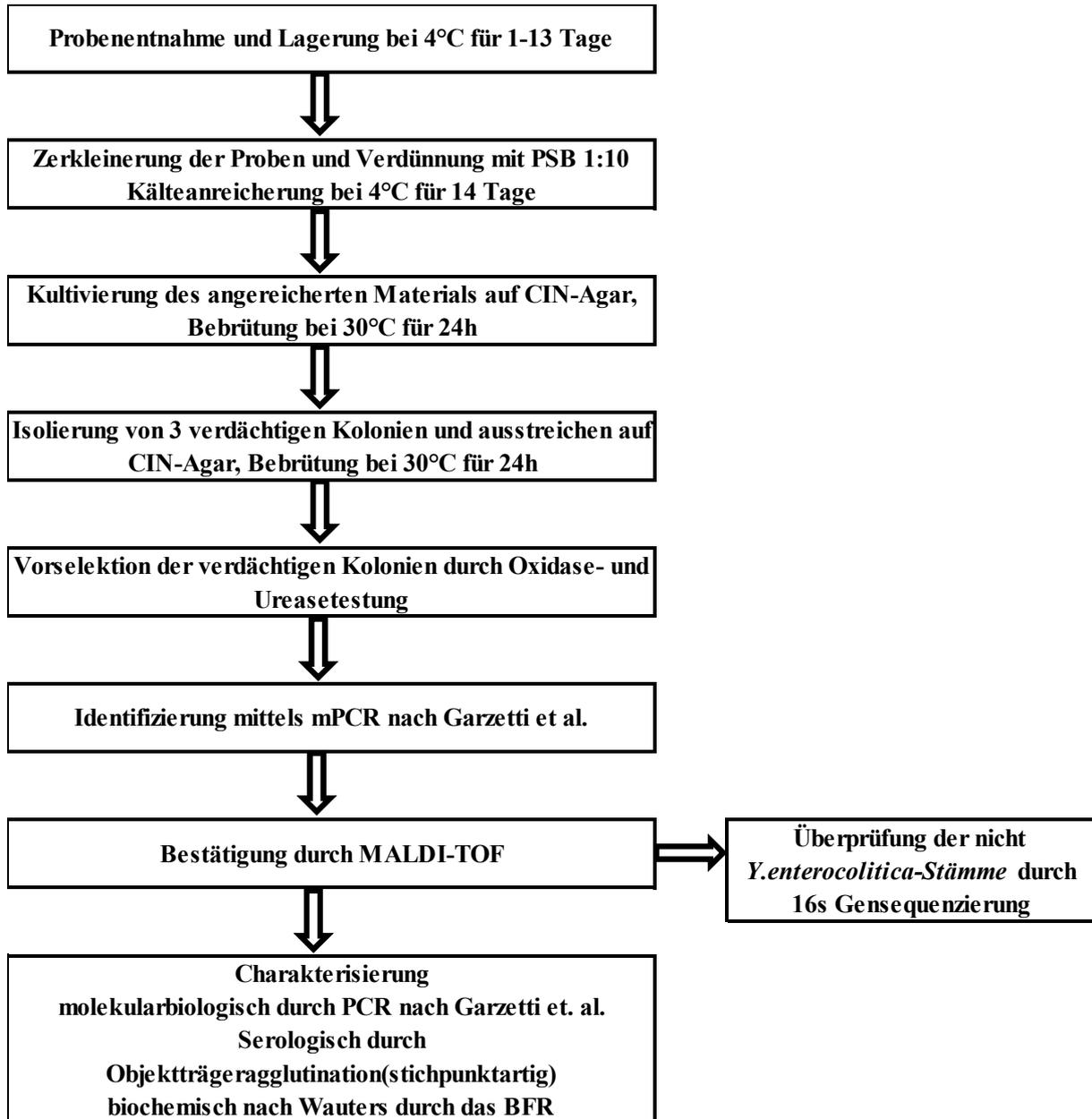


Abbildung 9 Modifiziertes Verfahrensschema zur Isolierung von *Y. enterocolitica* aus tierischem Probenmaterial in Anlehnung an die DIN EN ISO 10273:2017

3.3.1 Kälteanreicherung

Die Tonsillen wurden steril mit einer Schere in etwa linsengroße Stücke zerkleinert, 1:10 mit Pepton-Sorbit-Gallensalz-Bouillon (Tabelle 15) verdünnt und in FilterBags mit einem Stomacher 2 min homogenisiert. Danach wurden die Proben 14 d bei 4 °C für die Kälteanreicherung gelagert.

Tabelle 15 Zusammensetzung Pepton-Sorbit-Gallensalz-Bouillon

| | verwendete Menge | Hersteller | Artikelnummer |
|------------------------------------|-------------------------|---------------------|----------------------|
| Casein, enzym. Verdaut | 5g | Merck, Darmstadt, D | 1.072.131.000 |
| Sorbit | 10g | Merck, Darmstadt, D | M180458 |
| NaCl | 5g | | |
| Di-Natriumhydrogenphosphat | 8,23g | Merck, Darmstadt, D | 1.065.860.500 |
| Natriumhydrogenphosphat-Monohydrat | 1,2g | | |
| Gallensalze (No.3) | 1,5g | Oxoid, Wesel, D | LP0056 |
| Wasser | 1000ml | | |

3.3.2 Kulturell bakteriologische Untersuchung der Tonsillen

Aus der Kälteanreicherung wurde mittels Einwegimpfösen ein fraktionierter Verdünnungsausstrich auf Cefsulidon-Irgasan-Novobiocin Agar (Tabelle 17) angelegt und bei 30 °C 20-24 h inkubiert. *Y. enterocolitica*-Kolonien wachsen auf CIN-Agar nach 24 h in typischer „Kuhaugenmorphologie“. Die Kolonien sind etwa 1 mm groß, glatt und mit einem klaren bis rosa Hof mit dunkelrotem Zentrum. Pro Probe wurden drei makroskopisch verdächtige Kolonien mit typischer Morphologie zur Anzucht von Reinkulturen auf CIN-Agar ausgestrichen und 24 h bei 30 °C inkubiert. Die Testung verdächtiger Kolonien auf Oxidase-Aktivität erfolgte mittels eines Oxidase-Tests. Zur Untersuchung der Urease-Aktivität wurde Urea-Schrägagar-Röhrchen mit Koloniematerial beimpft und 72 h bei 28 °C bebrütet (Tabelle 18). Von oxidase-negativen und urease-positiven Kulturen wurde mithilfe der Chelex-Methode DNA isoliert (Kapitel 3.3.3).

Zur Lagerung der *Y. enterocolitica*-Isolate wurden alle Stämme nach endgültiger Isolation und Identifikation in die Stammsammlung des Institutes für Lebensmittelsicherheit und -hygiene der Freien Universität Berlin aufgenommen und mithilfe von Cryobanks bei -80 °C cryokonserviert. Sowohl für die Inkubation der verwendeten Stämme bei 4 °C und 28 °C als auch für die jeweiligen dekadischen Verdünnungen wurde Brucella-Bouillon (Tabelle 16) verwendet.

Tabelle 16 Zusammensetzung Brucella-Bouillon

| | verwendete Menge [g/l] | Hersteller | Artikelnummer |
|------------------------|-------------------------------|---------------------|----------------------|
| pankreatisch verdautes | | | |
| Casein | 10 | | |
| peptisch verdautes | | BD, Franklin Lakes, | |
| Tiergewebe | 10 | New Jersey, USA | 211088 |
| Dextrose | 1 | | |
| Hefeextrakt | 2 | | |
| Natriumchlorid | 5 | | |
| Natriumbisulfit | 0,1 | | |

Tabelle 17 Zusammensetzung CIN-Agar (nach Schiemann, ISO-Norm 10273)

| | verwendete Menge [g/l] | Hersteller | Artikelnummer |
|---------------------------|-------------------------------|-------------------|----------------------|
| YERSINIA SELECTIVE | | | |
| AGAR BASE: | | Oxoid, Wesel, D | CM0653 |
| D-Mannitol | 20,0 | | |
| Spezial Peptone | 20,0 | | |
| Hefeextrakt | 2,0 | | |
| Natriumpyruvat | 2,0 | | |
| Natriumchlorid | 1,0 | | |
| Magnesiumsulfat | 0,01 | | |
| Natriumdesoxycholat | 0,5 | | |
| Neutralrot | 0,03 | | |
| Kristallviolett | 0,001 | | |
| Agar | 12,5 | | |
| pH 7.4 ± 0.2 bei 25°C | | | |
| YERSINIA SELECTIVE | | | |
| SUPPLEMENT 2 Vials/l | | Oxoid, Wesel, D | SR0109 |
| Cefsulodin | 0,015 | | |
| Irgasan | 0,004 | | |
| Novobiocin | 0,0025 | | |

Tabelle 18 Zusammensetzung Urease-Schrägagar-Röhrchen

| | verwendete Menge | Hersteller | Artikelnummer |
|-----------------------------|-------------------------|-----------------------------------|----------------------|
| Phenolrot | 0,012 g | Merck, Darmstadt, D | 1370380100 |
| Hefeextrakt | 0,1 g | BD Franklin Lakes, New Jersey, US | 0127-17 |
| Kaliumdihydrogenphosphat | 7,63 g | Merck, Darmstadt, D | 104871 |
| di-Natriumhydrogen-phosphat | 9,59 g | Merck, Darmstadt, D | 106574 |
| Harnstoff | 20 g | Merck, Darmstadt, D | 1084887 |
| Aqua dest. | 1000ml | | |

3.3.3 DNA-Isolierung (Chelex-Methode)

In einem 1,5ml-Reaktionsgefäß wurde Koloniematerial von CIN-Agar Platten mit 250 µl 0,1% Tris-EDTA -Puffer (Tabelle 19) vermischt und 10 min bei 16.800 x g zentrifugiert. Der Überstand wurde dekantiert und verworfen. Das Pellet wurde in 500 µl 5%iger Chelexlösung

(Tabelle 20) resuspendiert und für 60 min bei 56 °C und anschließend bei 95 °C für 15 min in einem Thermomixer inkubiert. Nach anschließender Zentrifugation (siehe oben) wurden 100 µl Überstand für die Amplifikation mittels PCR entnommen und bis zur weiteren Verwendung bei 4 °C aufbewahrt.

Tabelle 19 Tris-EDTA (TE), pH 8

| | Menge | Hersteller | Artikelnummer |
|------------|---------------|----------------------------------|----------------------|
| Aqua dest. | 990 ml | | |
| Tris-HCl | 1,21 g | Sigma-Aldrich GmbH, Steinheim, D | T3253 |
| EDTA | 0,292 g | Sigma-Aldrich GmbH, Steinheim, D | E5134 |
| Salzsäure | bis erreicher | Merck, Darmstadt, D | 1090571000 |

Tabelle 20 Chelexlösung

| | Menge | Hersteller | Artikelnummer |
|------------------|--------------|---------------------|----------------------|
| Chelex® 100Resin | 5g | Bio-Rad, München, D | 142-1253 |
| Aqua dest. | 100ml | | |

3.4 Bestätigung und Charakterisierung der *Y. enterocolitica*-Isolate

Mittels einer Multiplex-PCR in Anlehnung an Garzetti et al. (2014) wurden zur Identifikation die für *Y. enterocolitica* spezifische 16S rRNA, die Gene für das Adhäsins *ail*, das Invasin *inv* und das Enterotoxin-Gen *ystB* amplifiziert. Alle dadurch identifizierten *Y. enterocolitica*-Isolate wurden anschließend mittels MALDI-TOF bestätigt und zusätzlich wurden die durch MALDI-TOF nicht bestätigten Proben mittels einer 16S rRNA-Gensequenzierung überprüft. Biotypisiert wurden die Stämme nach Wauters et al. (1987) im Bundesinstitut für Risikobewertung, Berlin. Die Serotypisierung erfolgte in Anlehnung einer von Garzetti et al. beschriebenen mPCR, welche auf Amplifikation der O-Antigene beruht und zusätzlich stichpunktartig durch Objektträgeragglutination mit monospezifischen Testseren der O-Antigene. Zur Unterscheidung der Serotypen O:5 und O:5,27 schloss sich eine Singleplex-PCR an (Garzetti et al. 2014).

3.4.1 Bestätigung der *Y. enterocolitica*-Isolate

MALDI-TOF

Die Identifikation der *Y. enterocolitica*-Isolate erfolgte mittels Massenspektrometrie (nach Murugaiyan et al. 2014). Mit dem MALDI-TOF Verfahren ist die Speziesdiagnostik von Mikroorganismen schnell und sicher durch eine stetig aktualisierte Referenzdatenbank möglich. Von frischen Kulturen (24 h bebrütet) wurde Koloniematerial mit einer Nadel direkt auf zwei Spots einer Microflex-Platte (MSP 96 target polished steel) auf die vorgesehenen Targetbereiche aufgetragen (Triplikate). Danach wurde 1 µl Matrix-Lösung hinzugefügt und luftgetrocknet. Bis zur Messung am Institut für Tier- und Umwelthygiene der FU Berlin, erfolgte die Lagerung der Platte bei Raumtemperatur im Dunkeln. Die Ergebnisse werden einem Score von 0-3 zugeteilt und wie in Tabelle 21 eingestuft. Werte mit einem Score > 1,99 wurden als positiv bewertet.

Tabelle 21 Bedeutung der Scorewerte im MALDI-TOF

| Range | Interpretation |
|--------------|-------------------------------------|
| 2.00 - 3.00 | High-confidence identification |
| 1.70 - 1.99 | Low-confidence identification |
| 0.00 - 1.69 | No organism identification possible |

16S rRNA-Gensequenzierung

Die 16S rRNA-Gensequenzierung wurde mit den Stämmen durchgeführt, die zwar in der PCR eine 16S-Bande aufwiesen, jedoch kein *Y. enterocolitica*-positives Ergebnis im MALDI-TOF-Verfahren zeigten, um deren Spezies sicher zu bestimmen. Für diesen PCR-Ansatz wurden die Primerpaare wie in Tabelle 22 eingesetzt. Das Temperaturprotokoll ist in Tabelle 23 und der PCR-Mastermix in Tabelle 24 dargestellt. Die Agarosegel-Elektrophorese und Bildentwicklung wurden wie im Kapitel 3.4.2.2 durchgeführt, mit dem Unterschied, dass für die Visualisierung der PCR-Produkte ein 1,5%iges-Agarosegel verwendet wurde. Die anschließende Aufreinigung der Amplifikate erfolgte mithilfe eines Purification Kit. Die DNA-Konzentration wurde mittels Nanodrop bestimmt und gegebenenfalls mithilfe eines Vakuumtrockners auf 10-

50 µg/µl eingestellt. Die Sequenzierung erfolgte durch die Firma GATC Biotech AG, Konstanz unter Verwendung der Primer dargestellt in Tabelle 25. Die erhaltenen Sequenzen wurden mit der NCBI (National Center for Biotechnology Information) BLAST (Basic Local Alignment Search Tool)-Datenbank verglichen.

Tabelle 22 Verwendete Primer für die PCR von 16S rRNA

| Target | Primer | Primersequenzen (5' - 3') | Fragmentlänge | |
|----------|------------|---------------------------|---------------|------|
| | | | (bp) | µMol |
| 16S-rRNA | 16SrRNA F1 | AGAGTTTGATCCTGGCTCAG | ca. 1500 | 0,5 |
| | 16SrRNA R1 | AAGGAGGTGATCCAGCCGCA | | 0,5 |

Tabelle 23 Temperaturprofil für die PCR von 16S rRNA

| Schritt | Temperatur in °C | Dauer in sek | |
|-------------------|------------------|--------------|-------------------|
| Denaturierung | 94 | 300 | |
| Denaturierung | 94 | 30 | } 30x wiederholen |
| Primer-Annealing | 62 | 60 | |
| Elongation | 72 | 60 | |
| Finale Elongation | 72 | 300 | |
| Kühlung | 12 | | |

Tabelle 24 Mastermix für die PCR von 16S rRNA

| Reagenzien | Volumen je Ansatz in µl |
|--------------------------|-------------------------|
| 10x Puffer | 2,5 |
| MgCl ₂ [25mM] | 1,5 |
| dNTPs [10mM] | 1 |
| Taq-Pol [5U/µl] | 0,1 |
| DNA | 1 |
| Primer R [50µM] | 0,25 |
| Primer F [50µM] | 0,25 |
| H ₂ O | 18,4 |
| gesamt | 25 |

Tabelle 25 Verwendete Primer für die Sequenzierung der 16S rRNA

| Target | Primer | Primersequenzen (5' - 3') |
|----------|------------|----------------------------|
| 16S-rRNA | 16SrRNA S1 | CTC CTA CGG GAG GCA GCA GT |
| | 16SrRNA S8 | GTT GCG CTC GTT GCG GGA CT |

3.4.2 Biotypisierung

Konventionelle Biotypisierung

Die biochemische Biotypisierung wurde vom BfR, Berlin im Konsiliarlabor für Yersinien nach Wauters et al. (1987) durchgeführt.

Biotypisierung mittels multiplex-PCR

Die molekularbiologische Bestätigung, dass es sich bei der durch die Chelex-Methode isolierten DNA um *Y. enterocolitica*-DNA handelt, erfolgte durch die Amplifikation des ribosomalen 16S Genfragments mit einer Länge von 330 bp (Garzetti et al. 2014). Zur Differenzierung der Biotypen der Stämme wurden die Gene *ail* (attachment invasion locus, Adhäsion) und *ystB* (Enterotoxin) amplifiziert. Das Vorhandensein des *ail* Gens ist typisch für den Biotyp 1B oder 2-5. Charakteristisch für den Biotyp 1A ist der Nachweis vom Virulenzgen *ystB*. Das Temperaturprotokoll ist in Tabelle 26, der PCR-Mastermix in Tabelle 27 und die Zusammensetzung der Primer in Tabelle 28 beschrieben.

Tabelle 26 Temperaturprofil multiplex-PCR Identifizierung und Serotypisierung

| Schritt | Temperatur in °C | Dauer in sek | |
|-------------------|------------------|--------------|-------------------|
| Denaturierung | 95 | 300 | |
| Denaturierung | 95 | 40 | } 30x wiederholen |
| Primer-Annealing | 58 | 40 | |
| Elongation | 72 | 60 | |
| Finale Elongation | 72 | 480 | |
| Kühlung | 12 | | |

Tabelle 27 Mastermix für die multiplex-PCR zur Identifikation bzw. molekularbiologischen Biotypisierung

| Reagenzien | Volumen je Ansatz in μl |
|------------------------------|------------------------------------|
| 10x Puffer | 2,5 |
| MgCl ₂ [25mM] | 1,3 |
| dNTPs [10mM] | 0,25 |
| Taq-Pol [5U/ μl] | 0,1 |
| DNA | 2 |
| Primermix | 1,1 |
| H ₂ O | 17,75 |
| gesamt | 25 |

Tabelle 28 Primermix für die multiplex-PCR zur Identifikation bzw. molekularbiologischen Biotypisierung (Garzetti et al. 2014)

| Target | Primer | Primersequenzen (5' - 3') | Fragmentlänge (bp) | μMol |
|-------------|--------|---------------------------|--------------------|-----------------|
| <i>inv</i> | inv_F | TGGCATCAATCTCGTGATTTCG | 1009 | 0,8 |
| | inv_R | GTTGCCCTGAATATCTAAAGTGAC | | 0,8 |
| <i>ail</i> | ail_F | TGTTAATGTGTACGCTGCGAGT | 431 | 0,4 |
| | ail_R | GTTTGGAGTATTCATATGAAGCGTC | | 0,4 |
| 16S rRNA | 16S_F | AATACCGCATAACGTCTTCGGA | 330 | 0,2 |
| | 16S_R | CTTCTTCTGCGAGTAACGTCAAT | | 0,2 |
| <i>ystB</i> | ystB_F | AACTTTTTGGACACCGCACAG | 208 | 0,8 |
| | ystB_R | GTCTGAGTATCGCACGCT | | 0,8 |

Die PCR-Produkte wurden mittels Agarosegel-Elektrophorese aufgetrennt (Tabelle 29). Je Probe wurden 8 μl PCR-Produkt mit 2 μl GRGreen-Mix (Tabelle 30) aufgetragen. Die Auftrennung erfolgte unter einer Spannung von 80 V für 45 min. Anschließend wurden die PCR-Produkte unter UV-Licht mithilfe des Alphaimagers® sichtbar gemacht und dokumentiert.

Tabelle 29 Agarosegel 3%

| | Menge | Hersteller | Artikelnummer |
|-----------------------------|-------|-------------------------|---------------|
| Agarose | 3g | Biozym, Wien, A | 840004 |
| Rotiphorese® 10x TBE-Puffer | 10ml | Carl Roth, Karlsruhe, D | 3061.2 |
| Aqua dest. | 90ml | | |

Tabelle 30 GRGreen-Mix

| | Anteil | Hersteller | Artikelnummer |
|-----------------------|---------------|---------------------------|----------------------|
| Coral load PCR Buffer | 98% | Qiagen, Hilden, D | 1032517 |
| GRGreen | 2% | Excellgen, Rockville, USA | EG-1071 |

3.4.3 Serotypisierung

Serotypisierung mittels Objektträgeragglutination

Zusätzlich zur Serotypisierung durch die multiplex-PCR (Kapitel 3.3.3.2) wurde die Objektträgeragglutination stichprobenhaft bei 10 *Y. enterocolitica*-Isolaten zur Bestätigung der Serotypen durchgeführt. Für diese Antigen-Antikörper-Reaktion wurden die monospezifischen Testseren Anti-*Y. enterocolitica* O:3, O:5, O:8, O:9 und O:27 eingesetzt. Die Durchführung und Auswertung erfolgten gemäß der beigelegten Gebrauchsanweisung. Ein Tropfen des entsprechenden Testserums wurde auf einen Objektträger gegeben und mit Koloniematerial vermengt bis sich eine homogene, milchige Suspension bildete. Nach mehrmaligem Schwenken kam es bei positiven Reaktionen zu fein- bis grobflockigen, mit bloßem Auge erkennbaren Agglutinationen. Blieb die Suspension milchig-trüb wurde das Ergebnis negativ beurteilt.

Serotypisierung mittels multiplex-PCR

Die molekularbiologische Bestätigung und Serotypisierung der *Yersinia*-Isolate erfolgte mittels Multiplex-PCR in Anlehnung an das von Garzetti et al. (2014) beschriebene Protokoll, welches in Tabelle 31 dargestellt ist. Es wurde mit Modifikationen in Bezug auf die eingesetzte Konzentration der Primer (Tabelle 32) durchgeführt (Garzetti et al. 2014).

Zur Differenzierung der am häufigsten auftretenden Serotypen O:3, O:9, O:8, O:5 und O:5,27 wurden wie von Garzetti et al. (2014) beschrieben, spezifische Gene ausgewählt. Serotyp O:3 wird über die Amplifikation des Gens *wbbU* nachgewiesen. Der Serotyp O:9 wird durch *per* detektiert. Charakteristisch für den Serotyp O:8 ist *wbcA* und für O:5 bzw. O:5,27 *wzt*.

Die multiplex-PCR wurde in einem Thermocycler C1000 mit in Tabelle 26 Kapitel 3.4.2.2 beschriebenen Temperaturprofil durchgeführt. Um die Serotypen O:5 und O:27 zu unterscheiden, folgte eine Singleplex PCR unter Verwendung der Primer dargestellt in Tabelle 33 (Garzetti et al. 2014).

Die PCR-Produkte wurden wie bereits in Kapitel 3.4.2.2 beschrieben behandelt und sichtbar gemacht.

Tabelle 31 Mastermix für die multiplex-PCR zur molekularbiologischen Serotypisierung

| Reagenzien | Volumen je Ansatz in μl |
|--------------------------|---|
| 10x Puffer | 2,5 |
| MgCl ₂ [25mM] | 1,3 |
| dNTPs [10mM] | 0,25 |
| Taq-Pol [5U/ μ l] | 0,1 |
| DNA | 2 |
| Primermix | 1,04 |
| Aqua dest. | 17,81 |
| gesamt | 25 |

Tabelle 32 Primermix für die multiplex-PCR zur molekularbiologischen Serotypisierung

| Target | Primer | Primersequenzen (5' - 3') | Fragmentlänge (bp) | μMol |
|---------------------|---------------|----------------------------------|---------------------------|----------------------------|
| <i>per</i> (O:9) | per_F | TCCTTCTCCAAATATATAGGTGCCA | 837 | 1,2 |
| | per_R | ATGCGGCATTAGATGAGATGGA | | 1,2 |
| <i>wzt</i> (O:5,27) | wzt_F | GTTAGTTCCTGCATCTGATCGCC | 662 | 0,4 |
| | wzt_R | ATCCAGCATCCATGGCTCC | | 0,4 |
| <i>wbb</i> U (O:3) | wbbu_F | ACCTCGTATTTTTGAAGATGATCGC | 463 | 0,4 |
| | wbbu_R | GTACTCAATAACTTGCTGTTTCGGA | | 0,4 |
| <i>wbc</i> A (O:8) | wbca_F | TGATGAACGAGGCGAGTTTGTT | 269 | 0,08 |
| | wbca_R | TACTCCGTCTGTTATGCGGATTTAG | | 0,08 |

Tabelle 33 Primermix für die Singleplex PCR zur Differenzierung von O:5 und O:27 (Garzetti et al. 2014)

| Target | Primer | Primersequenzen (5' - 3') | Fragmentlänge | |
|--------|---------|---------------------------|---------------|------|
| | | | (bp) | µMol |
| O5,27 | O5,27_F | TTCCAGCACACGTCGAACAAGTTC | 627 | 100 |
| | O5,27_R | AGGAAGATATCCAGTGCCGCT | | |

3.5 Antimikrobielle Empfindlichkeitsprüfung

Die *Yersinia*-Isolate wurden gegenüber 17 antibiotischen Wirkstoffen auf ihre Empfindlichkeit getestet. Zur Qualitätssicherung wurden die Stämme *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 und *Escherichia coli* ATCC 25922 als Kontrollstämmen verwendet. Beide Stämme wurden bei 37 °C bebrütet.

Die Auswahl der eingesetzten antimikrobiellen Wirkstoffe erfolgte anhand von in anderen Studien verwendeten Wirkstoffen (Bonardi et al. 2010, Terentjeva und Bērziņš 2010, Meyer et al. 2011, Fàbrega und Vila 2012, Novoslavskij et al. 2013, Özdemir und Arslan 2015), welche sich mit der Empfindlichkeitsprüfung von *Y. enterocolitica* befassten und im Hinblick auf deren Zulassung in human- sowie veterinärmedizinischen Präparaten und/oder deren besonderen Resistenzlage als aussagekräftig erachtet wurde. Die verwendeten Wirkstoffe mit Angabe der jeweiligen Konzentration der Testblättchen sind in Tabelle 34 dargestellt und die Konzentrationen entsprechen den Vorgaben des CLSI (2014).

Tabelle 34 Beschickung verwendeter Testblättchen (Mast Diagnostica GmbH, Reinfeld, D)

| Antimikrobieller Wirkstoff | µg/Testblättchen | Artikelnummer |
|-----------------------------------|-------------------------|----------------------|
| Kanamycin | 30µg | 111112 |
| Sulfamethoxazol/Trimethoprim | 23,75/1,25µg | 113122 |
| Cefuroxim | 30µg | 113050 |
| Cefalotin | 30µg | 113012 |
| Aztreonam | 30µg | 110146 |
| Trimethoprim | 5µg | 112026 |
| Ciprofloxacin | 5µg | 113142 |
| Streptomycin | 10µg | 111946 |
| Chloramphenicol | 30µg | 113016 |
| Ampicillin | 10µg | 110122 |
| Tetracyclin | 30µg | 112010 |
| Amoxicillin/Clavulansäure | 20/10µg | 110116 |
| Erythromycin | 15µg | 110515 |
| Cefotaxim | 30µg | 113018 |
| Nalidixinsäure | 30µg | 111426 |
| Cefazolin | 30µg | 113054 |
| Gentamicin | 10µg | 110712 |

Die Empfindlichkeitstestung wurde über einen Agardiffusionstest nach der Kirby-Bauer-Methode auf Müller-Hinton-Agar durchgeführt und entspricht mit leichten Abweichungen, welche im folgenden Text erläutert sind, den Vorgaben des CLSI (Clinical And Laboratory Standards Institute) (CLSI 2014).

Schritt 1: Die zu untersuchenden Isolate und die Kontrollstämme wurden aus dem Cryobank-Röhrchen auf Plate Count- Agarplatten (Tabelle 35) für 24 h bei 30 °C bebrütet.

Tabelle 35 Zusammensetzung Plate Count Agar

| | verwendete Menge [g/l] | Hersteller | Artikelnummer |
|-------------------|-------------------------------|---------------------|----------------------|
| Pepton aus Casein | 5,0 | | |
| Hefeextrakt | 2,5 | Merck, Darmstadt, D | 1054630500 |
| D(+)-Glucose | 1,0 | | |
| Agar-Agar | 14,0 | | |

Schritt 2: Von jeder Platte wurden mit einer Öse 5 Kolonien entnommen, in 5 ml Müller-Hinton-Bouillon (Tabelle 36) suspendiert und 16-20 h bei 30 °C bebrütet. Im Unterschied zu

CLSI wurde keine CAMHB (Kationenadjustierte Müller-Hinton-Bouillon) verwendet. Vorversuche zeigten, dass die Auswahl des Mediums keinen signifikanten Einfluss auf die Untersuchungsergebnisse hat.

Tabelle 36 Müller-Hinton-Bouillon

| | Menge in g/l |
|---|---------------------|
| Rindfleisch, getrocknete Infusion aus 300 g | 2 |
| Caseinhydrolysat | 17,5 |
| Stärke | 1,5 |

pH 7,3 ± 0,1

Schritt 3: Das CLSI empfiehlt, die Bakteriensuspensionen der Übernachtskultur auf einen Trübungsstandard von 0,5 McFarland einzustellen. Dies entspricht einer optischen Dichte von 0,125 bei 550 nm und einer Bakteriendichte von etwa $1-4 \times 10^8$ KBE/ml. Mit einem Photometer wurde die optische Dichte der Bakteriensuspension bestimmt und entsprechend dem Ergebnis mit MHB verdünnt und für das weitere Verfahren verwendet.

Schritt 4: Auf jeweils drei Müller-Hinton-Agarplatten (Tabelle 37) wurden pro Stamm 100 µl Bakteriensuspension mit einem sterilen Spatel ausplattiert.

Tabelle 37 Müller-Hinton-Agar

| | Menge in g/l |
|---|---------------------|
| Rindfleisch, getrocknete Infusion aus 300 g | 2 |
| Caseinhydrolysat | 17,5 |
| Stärke | 1,5 |
| Agar | 17 |

pH 7,3 ± 0,1

Schritt 5: Nach dem Abtrocknen der Agarplatte wurden mithilfe eines Dispensers 6 Testblättchen pro Platte der verschiedenen antimikrobiellen Wirkstoffe auf die Agaroberfläche gestempelt und anschließend bei 37 °C für 16-20 h bebrütet.

Schritt 6: Nach der Inkubation wurde der maximale und minimale Diameter pro Hemmhof mit einem Lineal gemessen und der Durchschnitt dieser beiden Durchmesser in einer Tabelle erfasst.

Die Bewertung der Hemmhöfe wurde anhand des Bewertungsschlüssels für *Enterobacteriaceae* des CLSI durchgeführt, da für *Yersinia* explizit keine Grenzwerte vorhanden sind (Tabelle 38). Die Bewertung der Kontrollstämme ist in Tabelle 39 dargestellt.

Die Stämme wurden je nach ermittelten Diametern in „sensibel“ (S), „intermediär“ (I) und „resistent“ (R) eingestuft, wobei in der Auswertung die intermediären und die resistenten Stämme zusammengefasst wurden.

Tabelle 38 Hemmhofbewertungsschlüssel für *Enterobacteriaceae* bei parenteraler Anwendung (entsprechend den Vorgaben des CLSI (2014))

| Antimikrobieller Wirkstoff | µg/Testblättchen | Durchmesser in mm | | |
|------------------------------|------------------|-------------------|--------------------|----------------|
| | | R | I | S |
| Kanamycin | 30µg | ≤13 | 14-17 | ≥18 |
| Sulfamethoxazol/Trimethoprim | 23,75/1,25µg | ≤10 | 11-15 | ≥16 |
| Cefuroxim | 30µg | ≤14 | 15-17 (oral 15-22) | ≥18 (oral ≥23) |
| Cefalotin* | 30µg | ≤14 | 15-17 | ≥18 |
| Aztreonam | 30µg | ≤17 | 18-20 | ≥21 |
| Trimethoprim | 5µg | ≤10 | 11-15 | ≥16 |
| Ciprofloxacin | 5µg | ≤21 | 22-25 | ≥26 |
| Streptomycin | 10µg | ≤11 | 12-14 | ≥15 |
| Chloramphenicol | 30µg | ≤12 | 13-17 | ≥18 |
| Ampicillin | 10µg | ≤13 | 14-16 | ≥17 |
| Tetracyclin | 30µg | ≤11 | 12-14 | ≥15 |
| Amoxicillin/Clavulansäure | 20/10µg | ≤13 | 14-17 | ≥18 |
| Erythromycin** | 15µg | ≤23 | 14-22 | ≥13 |
| Cefotaxim | 30µg | ≤22 | 23-25 | ≥26 |
| Nalidixinsäure | 30µg | ≤13 | 14-18 | ≥19 |
| Cefazolin | 30µg | ≤19 | 20-22 | ≥23 |
| Gentamicin | 10µg | ≤12 | 13-14 | ≥15 |

*aus CLSI M100-S24 (2014)

**aus Meyer et al. (2007), bezieht sich auf CLSI Dokument von 2002

Tabelle 39 Hemmhofbewertungsschlüssel für Qualitätskontrollstämmen (entsprechend den Vorgaben des CLSI)

| Antimikrobieller Wirkstoff | µg/Testblättchen | <i>Escherichia coli</i> | <i>Staphylococcus aureus</i> |
|------------------------------|------------------|-------------------------|------------------------------|
| | | ATCC 25922 | ATCC 25923 |
| Kanamycin | 30µg | 17-25 | 19-26 |
| Sulfamethoxazol/Trimethoprim | 23,75/1,25µg | 23-29 | 24-32 |
| Cefuroxim | 30µg | 20-26 | 27-35 |
| Cefalotin | 30µg | 15-21 | 29-37 |
| Aztreonam | 30µg | 28-36 | - |
| Trimethoprim | 5µg | 21-28 | 19-26 |
| Ciprofloxacin | 5µg | 30-40 | 22-30 |
| Streptomycin | 10µg | 12-20 | 14-22 |
| Chloramphenicol | 30µg | 21-27 | 19-26 |
| Ampicillin | 10µg | 16-22 | 27-35 |
| Tetracyclin | 30µg | 18-25 | 24-30 |
| Amoxicillin/Clavulansäure | 20/10µg | 18-24 | 28-36 |
| Erythromycin | 15µg | - | 22-30 |
| Cefotaxim | 30µg | 29-35 | 25-31 |
| Nalidixinsäure | 30µg | 22-28 | - |
| Cefazolin | 30µg | 21-27 | 29-35 |
| Gentamicin | 10µg | 19-26 | 19-27 |

3.6 Statistische Auswertung

Die Analysen wurden mithilfe der Software SPSS Version 18.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) durchgeführt. Die logistische Regression wurde benutzt um mehrere Merkmale und mögliche Einflussfaktoren für den Nachweis von *Y. enterocolitica* aus einer Probe zu ermitteln. Als signifikant wurde ein p-Wert $\leq 0,05$ angesehen.

In die logistische Regression wurden die Merkmale Wildart, Altersklasse, Geschlecht, Jagdbezirk und Lagerungsdauer der Probe berücksichtigt.

4 Ergebnisse

4.1 Probenbearbeitung und Identifizierung

Die Proben wurden im Zeitraum von Oktober 2015 bis Januar 2017 entnommen und bearbeitet. Sie stammen aus wildreichen Regionen mit räumlichem Schwerpunkt in Süd-Ost Brandenburg aus den Landkreisen Oder-Spree, Dahme-Spreewald und Spree-Neiße (Abbildung 8). Der überwiegende Teil der Proben wurde in den Revieren der Landeswaldoberförsterei Peitz und dem kommunalen Eigenbetrieb Stadtforst Fürstenwalde akquiriert. Die Tonsillen wurden zum Teil von frisch erlegtem Wild im Rahmen von Gesellschafts- oder Einzeljagden direkt entnommen oder stammen von erlegten Tieren, welche in Wildsammelstellen zwischengelagert wurden und der Erlegungszeitpunkt maximal 12 Tage zurücklag. Von den insgesamt 782 untersuchten Proben (Tabelle S 1) stammten 316 Proben von Rehen, 310 Proben von Schwarzwild, 110 Proben von Rotwild und 46 Proben von Füchsen. Die Probenverteilung unter den Wildarten ist in Abbildung 10 dargestellt. Um potentielle Einflüsse auf die *Yersinia*-Prävalenz zu ermitteln, wurde für jedes beprobte Tier neben dem Landkreis auch das Geschlecht, das Alter und die Lagerungsdauer bis zur Bearbeitung der Proben dokumentiert. Die Zusammensetzung der Probengesamtheit ist nach Wildart, Geschlecht und Altersklasse in Tabelle 40 und Tabelle 41 dargestellt.

Für die Prävalenzstudie wurden die 782 Tonsillenpaare von den Wildarten Reh-, Schwarz-, Rotwild und Füchsen qualitativ auf das Vorkommen von *Y. enterocolitica* unter Anwendung einer modifizierten DIN EN ISO-Norm 10273:2017 (Abbildung 9) untersucht.

Tabelle 40 Probenverteilung nach Altersklassen und Geschlecht von Reh- und Schwarzwild

| Altersklassen | Rehwild n (%) | | Schwarzwild n (%) | |
|----------------------|---------------|------------|-------------------|------------|
| | m | w | m | w |
| 0 (ca. 0-12 Monate) | 34 (10,8%) | 44 (13,9%) | 74 (23,9%) | 72 (23,2%) |
| 1 (ca. 12-24 Monate) | 52 (16,5%) | 73 (23,1%) | 56 (18,1%) | 54 (17,4%) |
| 2 (>24 Monate) | 30 (9,5%) | 83 (26,3%) | 9 (2,8%) | 45 (14,5%) |
| Gesamt | 316 (100%) | | 310 (100%) | |

m= männliche Individuen, w= weibliche Individuen

Tabelle 41 Probenverteilung nach Altersklassen und Geschlecht von Rotwild und Füchsen

| Altersklassen | Rotwild n (%) | | Füchse n (%) | |
|----------------------|-------------------|------------|------------------|------------|
| | m | w | m | w |
| 0 (ca. 0-12 Monate) | 9 (8,2%) | 22 (20,0%) | 2 (4,3%) | 3 (6,5%) |
| 1 (ca. 12-24 Monate) | 13 (11,2%) | 21 (19,1%) | 10 (21,7%) | 12 (26,1%) |
| 2 (>24 Monate) | 11 (10,0%) | 34 (30,9%) | 14 (30,4%) | 5 (10,9%) |
| Gesamt | 110 (100%) | | 46 (100%) | |

m= männliche Individuen, w= weibliche Individuen

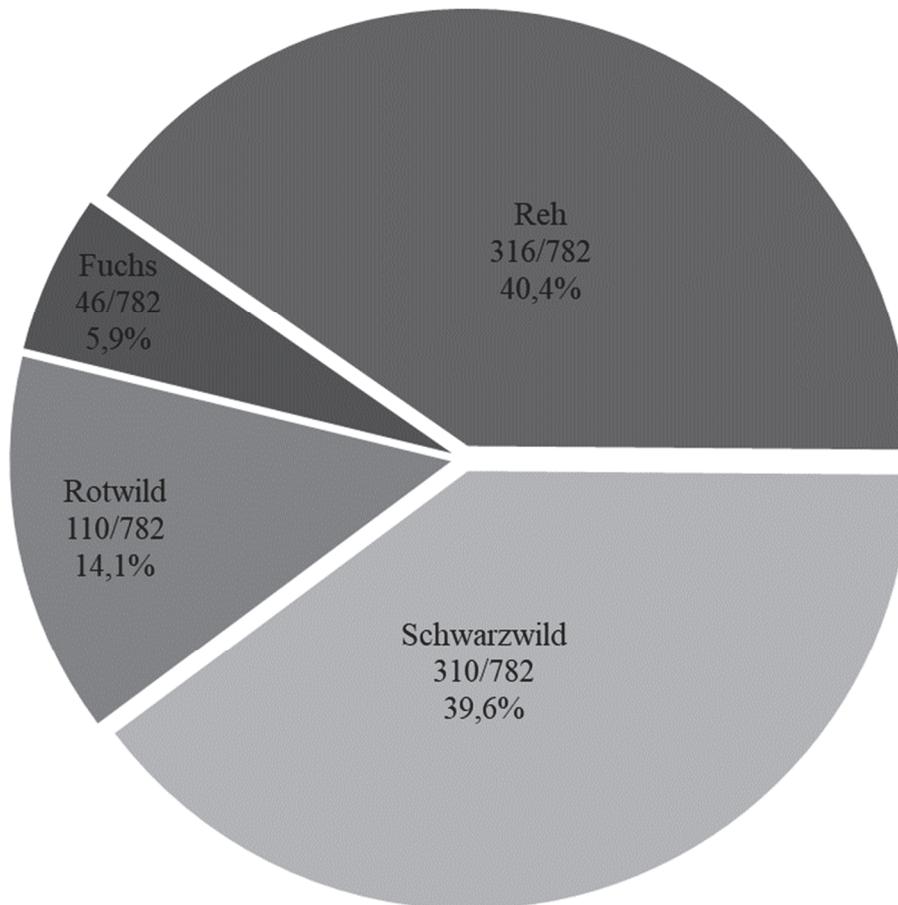


Abbildung 10 Wildartenverteilung der Probengesamtheit

Im Gegensatz zur Methodik der DIN EN ISO 10273:2017 wurde dabei auf die alkaline Behandlung mit KOH verzichtet. Die zusätzlich im Anhang der DIN EN ISO 10271:2017 beschriebene Kälteanreicherung wurde in dieser Arbeit standardmäßig verwendet. Zur Identifikation und Charakterisierung wurde ein multiplex PCR-Protokoll nach Garzetti et al. (2014) verwendet (Tabelle 27). Anhand dieser Methodik wurden 126 Proben (Tabelle S 2) als *Y. enterocolitica* positiv getestet. Von diesen 126 PCR-positiven Isolaten konnten 95 Isolate mittels Massenspektrometrie als *Y. enterocolitica* bestätigt werden. Das entspricht einer Gesamtprävalenz von 12,1% (95/782). Die Proben, die nicht durch MALDI als *Y. enterocolitica* bestätigt werden konnten, wurden mittels 16S-Gensequenzierung überprüft. Die Ergebnisse sind in Tabelle 42 den Ergebnissen aus MALDI gegenübergestellt. Die Mehrzahl der Proben wurde als *Serratia* (28) identifiziert und je eine Probe als zugehörig zu *Rhanella*, *Pseudomonas* und *Y. enterocolitica*. Die Ergebnisse der 16S-Gensequenzierung bestätigten in 27 Fällen das MALDI-Ergebnis, vier Proben (36, 111, 419, 743) stimmen nicht überein.

Tabelle 42 Ergebnisse der 16S-Gensequenzierung MALDI-negativer Proben im Vergleich zum MALDI Ergebnis

| Proben-ID | 16s-Gensequenzierung | MALDI |
|-----------|--------------------------|--------------------|
| 23 | <i>Serratia</i> | <i>Serratia</i> |
| 27 | <i>Serratia</i> | <i>Serratia</i> |
| 36 | <i>Rhanella</i> | <i>Serratia</i> |
| 82 | <i>Serratia</i> | <i>Serratia</i> |
| 85 | <i>Serratia</i> | <i>Serratia</i> |
| 88 | <i>Serratia</i> | <i>Serratia</i> |
| 89 | <i>Serratia</i> | <i>Serratia</i> |
| 108 | <i>Serratia</i> | <i>Serratia</i> |
| 109 | <i>Serratia</i> | <i>Serratia</i> |
| 111 | <i>Serratia</i> | <i>Morganella</i> |
| 114 | <i>Serratia</i> | <i>Serratia</i> |
| 118 | <i>Serratia</i> | <i>Serratia</i> |
| 130 | <i>Serratia</i> | <i>Serratia</i> |
| 155 | <i>Serratia</i> | <i>Serratia</i> |
| 162 | <i>Serratia</i> | <i>Serratia</i> |
| 222 | <i>Serratia</i> | <i>Serratia</i> |
| 250 | <i>Serratia</i> | <i>Serratia</i> |
| 260 | <i>Serratia</i> | <i>Serratia</i> |
| 262 | <i>Serratia</i> | <i>Serratia</i> |
| 268 | <i>Serratia</i> | <i>Serratia</i> |
| 328 | <i>Serratia</i> | <i>Serratia</i> |
| 419 | <i>Serratia</i> | <i>Morganella</i> |
| 535 | <i>Serratia</i> | <i>Serratia</i> |
| 553 | <i>Serratia</i> | <i>Serratia</i> |
| 562 | <i>Pseudomonas</i> | <i>Pseudomonas</i> |
| 635 | <i>Serratia</i> | <i>Serratia</i> |
| 698 | <i>Serratia</i> | <i>Serratia</i> |
| 743 | <i>Y. enterocolitica</i> | <i>Pseudomonas</i> |
| 766 | <i>Serratia</i> | <i>Serratia</i> |
| 781 | <i>Serratia</i> | <i>Serratia</i> |
| 782 | <i>Serratia</i> | <i>Serratia</i> |

Die 95 jeweils durch MALDI bestätigten Proben bilden die Grundlage der folgenden Prävalenzberechnungen.

4.2 Prävalenz von *Y. enterocolitica* im Wild

Abbildung 11 zeigt die Verteilung der Probengesamtheit und der positiven Proben auf die Landkreise. Für den Landkreis SPN wurde eine *Yersinia*-Prävalenz von 13,6% (45/332), für den Landkreis LOS von 11,9% (36/302) und für den Landkreis Dahme-Spreewald von 9,5% (14/148) ermittelt. Aus welchem Landkreis die Proben stammen, hat keinen signifikanten Einfluss auf die *Y. enterocolitica*-Prävalenz.



Abbildung 11 Verteilung der Probengesamtheit und der *Y. enterocolitica*-Positiven Proben auf die Landkreise

Die *Yersinia*-Prävalenz betrug beim beprobten Schwarzwild 21,94% (68/310), beim Rehwild 6,01% (19/316), beim Rotwild 2,73% (3/110) und bei Füchsen 10,87% (5/46) (Abbildung 12). Anhand der logistischen Regression lässt sich feststellen, dass Rotwild und Rehe eine statistisch signifikante niedrigere Wahrscheinlichkeit haben, *Y. enterocolitica*-positiv zu sein als

Schwarzwild (Rotwild 0,112-fach [95% CI: 0,033-0,378; $p < 0.001$] und Rehe 0,095-fach [95%CI: 0,042-0,2177; $p < 0.001$]). Der Unterschied zwischen den Geschlechtern trotz des Odds-Ratio von 0,564 (0,318 – 1,000, männliche Tiere hatten eine niedrigere Wahrscheinlichkeit als weibliche) mit $p = 0,06$ konnte knapp als nicht signifikant belegt werden. Wird das Geschlecht abhängig von der Wildart analysiert, so zeigt sich auch hier formal kein signifikanter Unterschied ($p=0,062$), aber zumindest für das Rehwild ergab sich ein deutlicher Hinweis, dass männliche Rehe eine 4,5-mal höhere Wahrscheinlichkeit hatten *Y. enterocolitica*-positiv zu sein, als weibliche (95%CI: 1,49-13,58; $p < 0,05$).

Weitere Einflussfaktoren wie Altersklasse, Jagdbezirk und Lagerungsdauer zeigten in der logistischen Regression keine signifikanten Zusammenhänge mit der *Y. enterocolitica*-Prävalenz ($p=0,099$, $p=0,061$, $p=0,472$). Um einen möglichen Einfluss der physikalischen Grenze durch die Autobahn A12 zu untersuchen, wurden die Ergebnisse der Proben der Jagdbezirke der Stadtforst Fürstenwalde (nördlich der Autobahn A12) mit denen der restlichen Jagdbezirke (südlich der Autobahn A12) mithilfe der logistischen Regression überprüft. Die Prävalenz in den Fürstenwalder Jagdbezirken lag bei 12,0% (31/258) und in den übrigen Jagdbezirken bei 12,2% (64/524). Auch wenn die Prävalenzen in beiden Gebieten mit 12,0 bzw. 12,2% recht ähnlich waren, war in der logistischen Regression der p-Wert mit $p=0,061$ recht niedrig, wenn auch nicht signifikant.

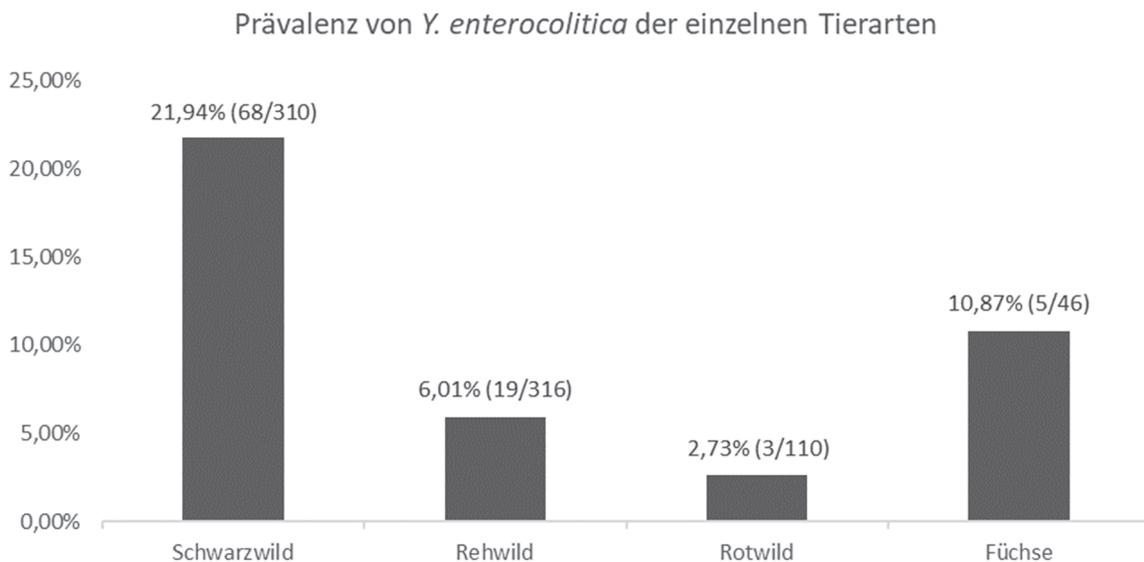


Abbildung 12 Prävalenz von *Y. enterocolitica* der einzelnen Wildarten

4.3 Bio- und Serotypisierung

Zur molekularbiologischen Biotypisierung wurde das Protokoll von Garzetti et al. (2014), wie in Kapitel 3.4.2.2 beschrieben, verwendet. Die Ergebnisse der Amplifikation der Zielgene sind in Tabelle 43 dargestellt. In allen 95 Stämmen erfolgte eine Amplifikation mit den für *Y. enterocolitica* spezifischen 16S rRNA Primern. Bei 12 der 95 *Yersinia*-Isolate konnte das *ail* Gen mittels PCR nachgewiesen werden, welches als Marker für *Y. enterocolitica* vom Biotyp 1B und 2 bis 5 anerkannt ist. *ystB* wurde bei 73 Stämmen nachgewiesen, bei welchen kein *ail* Gen nachgewiesen wurde. Das Gen *ystB* gilt als Marker von *Y. enterocolitica*-Stämmen des Biotyps 1A. Das *inv* Gen wurde in 53 Stämmen nachgewiesen. In 48 davon konnte ebenfalls das *ystB* Gen und in drei Stämmen das *ail* Gen nachgewiesen werden.

Tabelle 43 Ergebnisse der multiplex-PCR nach Garzetti (2014). Die Ergebnisse der multiplex-PCR der 95 Stämme wurden mit positiv (+) und negativ (-) im Hinblick auf die Amplifikation des Zielgens bewertet

| PCR-Ergebnis | | | Anzahl | Biotyp |
|--------------|------------|--------------|--------|------------------|
| <i>ail</i> | <i>inv</i> | <i>yst B</i> | | |
| - | + | + | 48 | 1A |
| - | - | + | 25 | 1A |
| + | - | - | 9 | 1B oder 2 bis 5 |
| - | - | - | 8 | nicht zuzuordnen |
| + | + | - | 3 | 1B oder 2 bis 5 |
| - | + | - | 2 | nicht zuzuordnen |

Die Ergebnisse der biochemischen Untersuchung der 95 Isolate nach Wauters et al. (1987) durch das BfR sind in Tabelle 44 dargestellt. Bei 61 Isolaten wurde die Spezies *Y. enterocolitica* bestätigt. 59 davon wurden dem Biotyp 1A, ein Isolat dem Biotyp 1B und ein Isolat dem Biotyp 2 zugeordnet. 34 Isolate konnten anhand der biochemischen Analyse keinem *Y. enterocolitica* Biotypen zugeordnet werden.

Tabelle 44 Ergebnisse der biochemischen Untersuchungen der im MALDI bestätigten *Y. enterocolitica*-positiven Isolate durch das BfR

| Ergebnis biochemischer Untersuchung | Anzahl |
|--|---------------|
| <i>Y. enterocolitica</i> Biotyp 1A | 59 |
| <i>Y. enterocolitica</i> Biotyp 1B | 1 |
| <i>Y. enterocolitica</i> Biotyp 2 | 1 |
| nicht typisierbar | 34 |

Die molekularbiologische Serotypisierung, wie in Kapitel 3.4.3.2 beschrieben, wurde stichprobenartig mittels Objektträgeragglutination überprüft. In allen neun Proben stimmen die Ergebnisse der Objektträgeragglutination mit denen der molekularbiologischen Serotypisierung überein. Die Ergebnisse sind in Tabelle 45 dargestellt.

Tabelle 45 Stichprobenartige Überprüfung der molekularbiologischen Serotypisierung mittels Objektträgeragglutination mit spezifischen Antiseren

| Probennummer | PCR | Serologie |
|--------------|-----|-----------|
| 317 | O:3 | O:3 |
| 371 | O:5 | O:5 |
| 403 | O:5 | O:5 |
| 638 | O:3 | O:3 |
| 662 | O:5 | O:5 |
| 706 | O:5 | O:5 |
| 729 | O:5 | O:5 |
| 765 | O:8 | O:8 |
| 767 | O:8 | O:8 |

Beim Rehwild war O:8 der am Häufigsten vertretene Serotyp (15/19). Zwei Isolate ließen sich dem Serotyp O:3 und ein Isolat dem Serotyp O:5 zuordnen. Die Isolate gehörten, soweit nachweisbar, nur zum Biotyp 1A.

Von den 68 Isolaten aus Schwarzwildproben ließen sich 55 dem Serotyp O:8, neun Isolate dem Serotyp O:5 und zwei Isolate dem Serotyp O:3 zuordnen, wohingegen zwei Isolate keiner der getesteten Serotypen zugeordnet werden konnten. Die Isolate gehörten mehrheitlich zu dem Biotyp 1A, jedoch konnte auch ein Isolat des Serotyp O:8 dem Biotyp 2 sowie ein Isolat dem Biotyp 1B zugeordnet werden.

Beim Rotwild wurden zwei Isolate dem Serotyp O:8 zugeordnet und ein Isolat dem Serotyp O:3. Die drei Isolate gehören alle zum Biotyp 1A.

Von den 5 Isolaten aus Fuchstonsillen wurde ein Isolat dem Serotyp O:5 zugeordnet und vier dem Serotyp O:8.

Eine Übersicht über die Ergebnisse der Prävalenzen, Sero- und Biotypen der einzelnen Wildarten bietet Tabelle 46.

Tabelle 46 Prävalenzen, Verteilung der Serotypen und biochemisch identifizierte Biotypen der einzelnen Wildarten

| Wildart | Prävalenz | Serotypen | | | | biochemisch identifizierte Biotypen |
|-------------|---------------|-----------|-----|-----|------------------|-------------------------------------|
| | | O:3 | O:5 | O:8 | nicht zuzuordnen | |
| Rehwild | 19/316; 6,0% | 2 | 1 | 15 | 1 | 1A |
| Schwarzwild | 68/319; 21,9% | 2 | 9 | 55 | 2 | 1A, 1B, 2 |
| Rotwild | 3/110; 2,7% | 1 | / | 2 | / | 1A |
| Füchse | 5/48; 10,8% | / | 1 | 4 | / | 1A |

4.4 Ergebnisse der Antibiotikaresistenzbestimmung der Isolate

Die Antibiotikaresistenztestung wurden mittels Agardiffusionstest nach den CLSI-Vorgaben durchgeführt. Dabei wurde die Empfindlichkeit gegenüber den 17 antimikrobiellen Wirkstoffen, welche in Tabelle 34 mit der jeweiligen Konzentration dargestellt sind, getestet. Als Qualitätskontrolle wurden die Stämme *E. coli* ATCC25922 und *S. aureus* ATCC25923 verwendet. Die Empfindlichkeitsbewertung erfolgte anhand der vom CLSI für *Enterobacteriaceae* angegebenen Grenzwerte für die parenterale Einnahme antimikrobieller Wirkstoffe (Tabelle 38), wobei in den folgenden Ausführungen resistent und intermediär zusammengefasst wurden und als resistent bezeichnet werden.

Insgesamt betrachtet waren die meisten *Y. enterocolitica*-Stämme gegen die antimikrobiellen Wirkstoffe empfindlich, mit Ausnahme von Ampicillin, Erythromycin, Amoxicillin-Clavulansäure, Cefalotin und Cefazolin. Alle Stämme waren gegen Kanamycin und Nalidixinsäure empfindlich. Gegen Erythromycin war kein Stamm empfindlich. Eine Übersicht der Ergebnisse zeigt Abbildung 13.

Im Hinblick auf die Antibiotikaklassen zeigt sich eine verminderte Empfindlichkeit bei den Cephalosporinen der ersten Generation mit nur 2 sensiblen Stämmen gegenüber Cefalotin und 5 sensiblen Stämmen gegenüber Cefazolin. Gegen die Cephalosporine der zweiten und dritten Generation waren die untersuchten Isolate überwiegend empfindlich mit nur sechs resistenten Isolaten gegen Cefuroxim und 4 resistenten Isolaten gegen Cefotaxim. Bei den Vertretern der Penicilline zeigt sich eine gemischte Resistenzlage mit 13 sensiblen Isolaten bei Ampicillin und 29 sensiblen Isolaten bei Amoxicillin-Clavulansäure. Gegen die Gruppe der Aminoglykosidantibiotika mit Kanamycin, Gentamicin und Streptomycin waren jeweils nur 0, 1 bzw. 3 Isolate resistent. Gegen die Chinolone Nalidixinsäure und Ciprofloxacin waren 0 und 5 Isolate resistent. Gegenüber den antimikrobiellen Wirkstoffen Tetracyclin, Sulfamethoxazol/Trimethoprim, Trimethoprim und Chloramphenicol waren 92, 94, 91 und 90 Isolate empfindlich.

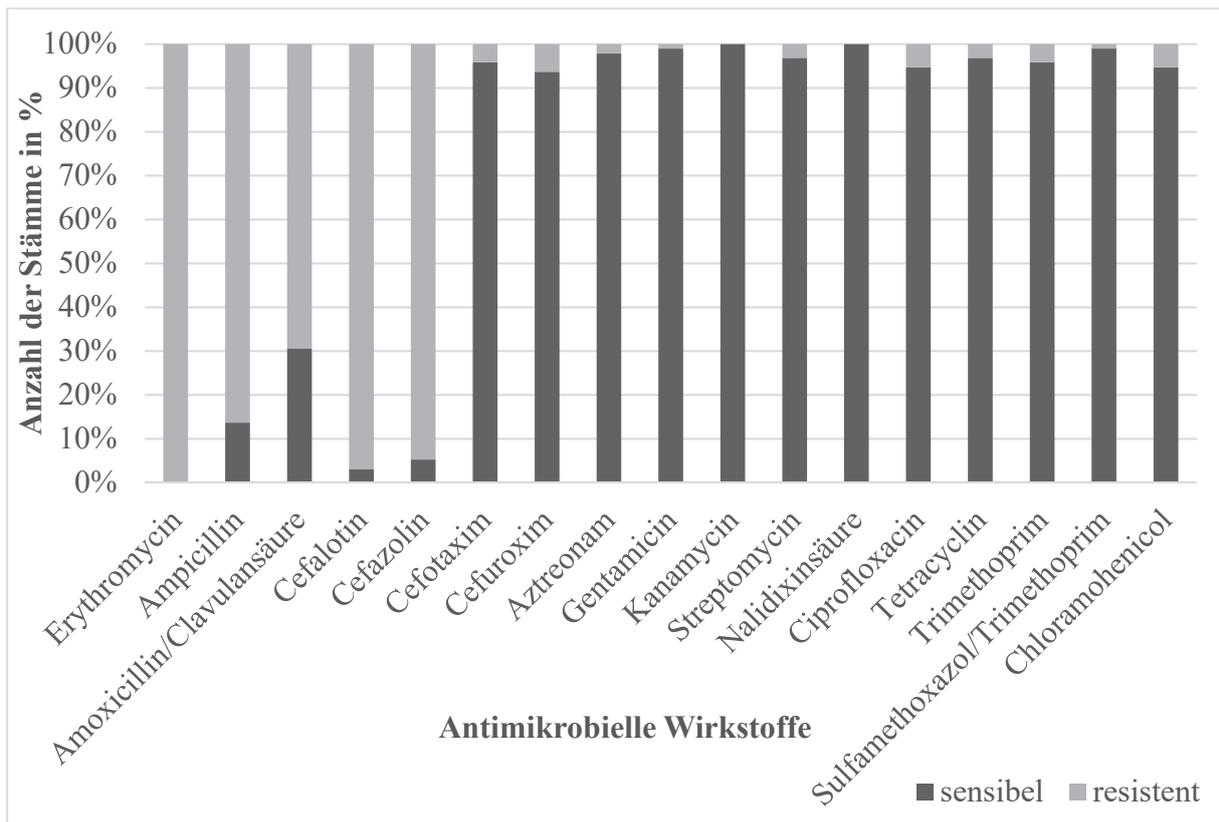


Abbildung 13 Prozentuale Verteilung der Empfindlichkeit der *Y. enterocolitica*-Isolate gegenüber Antimikrobiellen Wirkstoffen. Die Empfindlichkeit gegenüber den antimikrobiellen Wirkstoffen wurde anhand des Agardiffusionstest getestet. Die Einteilung in resistent bzw. sensibel erfolgt anhand der vom CLSI (2014) für *Enterobacteriaceae* angegebenen Grenzwerte für die parenterale Einnahme antimikrobieller Wirkstoffe (Tabelle 38)

91 der 95 (95,8%) Isolate sind gegen drei oder mehr als drei antimikrobielle Wirkstoffe resistent. Die häufigste Kombination von Resistenzen (38/95) besteht gegen Erythromycin, Ampicillin, Amoxicillin/Clavulansäure, Cefazolin und Cefalotin. Gegen diese Gruppe von Antibiotika gelten *Y. enterocolitica* als intrinsisch resistent. Trotz intrinsischer Resistenz sind 29 Isolate sensibel gegen Amoxicillin/Clavulansäure, 13 gegen Ampicillin, vier gegen Cefalotin und fünf gegen Cefazolin. Betrachtet man nur die Resistenzlage der übrigen 12 Antibiotika bestehen bei 66 Isolaten keine, bei 19 Isolaten eine, bei sechs Isolaten zwei, und bei zwei Isolaten je drei Resistenzen. Zwei Isolate sind neben der oben genannten intrinsischen Resistenz sogar gegen vier weitere antimikrobielle Wirkstoffe resistent und stammen beide von Schwarzwild. 15 Isolate sind gegen Ciprofloxacin resistent, sechs gegen Cefuroxim, fünf gegen Chloramphenicol Trimethoprim und Cefotaxim, drei gegen Tetracyclin und Streptomycin, zwei gegen Aztreonam und ein gegen Gentamicin und Sulfamethoxazol/Trimethoprim.

Die Resistenzlage der einzelnen Stämme findet sich im Anhang in Tabelle S 3.

5 Diskussion

Die Abschusszahlen der letzten Jahre vom Schalenwild in Brandenburg, vor allem vom Schwarzwild, lassen auf eine hohe Wilddichte schließen. Brandenburg verzeichnet laut dem Jagdbericht des Landes Brandenburg (2018) in der Jagdsaison 2016/2017 die meisten Abschüsse im bundesweiten Ländervergleich beim Schwarzwild und liegt auch bei den Wildarten Rotwild, Rehwild und Füchsen auf den vorderen Plätzen. Bei steigendem Wildbretverzehr und steigender Zahl von Jagdscheininhabern in Deutschland ist die Bedeutung von Wild als potentieller Überträger von Zoonosen ebenfalls ansteigend und nicht unbedeutend. Zusätzlich sind Verzehrsgewohnheiten, wie der Verzehr von nicht ausreichend erhitztem Fleisch und „dry aged Reifung“ zurzeit im Trend und lebensmittelhygienisch nicht unbedenklich. Auch die Herstellung frischer Rohwürste oder nicht lange gereifter Rohschinken aus Wildbret ist dabei zu beachten. Zu berücksichtigen ist für die Risikobewertung weiterhin, dass der Wildbretverzehr pro Kopf im Vergleich mit anderen Fleischarten zwar gering ist, dies aber ein Durchschnittswert ist, der von Wildbretliebhabern um ein Mehrfaches überschritten wird.

Die Yersiniose ist in Europa die dritthäufigste durch Lebensmittel übertragene bakterielle Magen-Darm-Erkrankung des Menschen und wird außer durch *Y. pseudotuberculosis* vor allem durch *Y. enterocolitica* verursacht (Fredriksson-Ahomaa und Wacheck 2011).

Wild birgt zum einen als Reservoir und Vektor die Gefahr der Verbreitung von *Y. enterocolitica* und ist zum anderen als Lebensmittel eine potentielle Infektionsquelle für den Menschen (Fredriksson-Ahomaa et al., 2011, Bancercz-Kisiel et al., 2015). Über die Prävalenz von *Y. enterocolitica* in brandenburgischen Wildpopulationen ist jedoch bisher wenig bekannt. Die Erweiterung des Wissens dazu stellt ein wichtiges Ziel dieser Studie dar. Die gewonnenen Isolate wurden zudem im Hinblick auf ihr potentielles pathogenes Potential charakterisiert. Des Weiteren wurden die isolierten *Y. enterocolitica*-Stämme auf mögliche antimikrobielle Resistenzen untersucht.

In der vorliegenden Studie wurden Tonsillen als Probenmaterial gewählt, weil in Tonsillen *Y. enterocolitica* nach einer Infektion bzw. Kolonisation noch wochen- bis monatelang nachweisbar ist (Kapperud 1991, Nesbakken et al. 2006) und die Tiere in der Regel zu klinisch

gesunden Trägern des Erregers werden (Schiemann 1989), während der Nachweis von *Y. enterocolitica* über den Kot oft nicht mehr möglich ist (Thibodeau et al. 1999). Zusätzlich besteht ein Tropismus von *Y. enterocolitica* zu lymphatischem Gewebe (Najdenski et al. 1998). Daneben ergeben sich entlang des Schlachtprozesses und der Fleischuntersuchung zahlreiche Möglichkeiten der Kontamination von Fleisch und Fleischerzeugnissen durch Schlachtkörperbestandteile mit potentiell hohem Erregerdruck, insbesondere durch lymphatisches Gewebe und Darminhalt. Besonders bei Tätigkeiten wie Anusumschneiden, Rachenringlösen und Lymphknoteninzisionen besteht ein hohes Risiko der Kontamination. Das Risiko, dass durch verunreinigte Messer oder Tropfwasser der Erreger auf weitere Karkassen verschleppt wird, ist hoch (Kapperud, 1991, Fredriksson-Ahomaa et al., 2001a). Inzwischen wird im Rahmen der Fleischuntersuchung allerdings weitestgehend auf Inzisionen verzichtet.

5.1 Prävalenzuntersuchung von *Y. enterocolitica* aus Wild in Brandenburg

Als Hauptverursacher der humanen Yersiniose kommt dem Vorkommen von *Y. enterocolitica* in Lebensmitteln nach wie vor weltweit eine große Bedeutung zu und wurde vielfach untersucht. Aktuelle Studien, die sich mit dem Nachweis von *Y. enterocolitica* in Wild beschäftigen, sind selten, insbesondere mit Probenherkunft von deutschem Territorium (Bucher et al. 2008, Wachek 2008, von Altrock et al. 2015, Loock 2018). Für das Bundesland Brandenburg liegen keine diesbezüglichen Untersuchungen vor.

Es wurde eine Prävalenz-Studie zum Vorkommen von *Y. enterocolitica* in Tonsillen von Wildschweinen, Rehen, Rotwild und Füchsen durchgeführt. Für die vorliegende Studie wurden wildartübergreifend 782 Tonsillenpaare entnommen und auf das Vorhandensein von *Y. enterocolitica* untersucht. Die Proben wurden aus 41 Jagdrevieren der Landkreise LDS, LOS und SPN akquiriert, wobei die Verteilung der untersuchten Tiere über die Landkreise nicht gleichmäßig ist, da der Abschuss der Tiere nicht im Hinblick auf diese Studie erfolgte. Im Vergleich zu den gesamten Abschusszahlen Brandenburgs ist die hier eingeschlossene Probenanzahl klein und bildet nur einen geringen Anteil der Gesamtstrecke ab, übertrifft aber die Anzahl der Proben in den meisten vergleichbaren Studien (Fredriksson-Ahomaa et al. 2009, Joutsen et al. 2013, Bancercz-Kisiel et al. 2015, von Altrock et al. 2015, Arrausi-Subiza et al. 2016, Sannö et al. 2018, Syczyło et al. 2018). Die vorliegende Studie zeigt, dass *Y. enterocolitica* in den untersuchten Populationen in unterschiedlichen Prävalenzen vorhanden

ist. Die Probennahme wurde nur von einer Person durchgeführt, um eventuelle Verfahrensunterschiede bei der Entnahme zu vermeiden. Für jede Probe wurden sterile Einmalprodukte sowohl zur Entnahme (Skalpell, Handschuhe) als auch Lagerung (Plastikbecher) verwendet. In vergleichbaren Studien werden die Proben häufig durch unterschiedliche Personen oder vom Erleger selbst entnommen. Das kann dazu führen, dass, wie bei Sannö et al. (2018) beschrieben, falsches Probenmaterial entnommen wurde oder unsachgemäße Probenbehandlung, falsche Dokumentation und Kreuzkontaminationen nicht ausgeschlossen werden können.

Beim Schwarzwild konnte in den eigenen Untersuchungen bei 21,94% (68/319) der Proben *Y. enterocolitica* nachgewiesen werden. Prävalenzen anderer europäischer Studien liegen zwischen 9,0% bis 33,3% (Fredriksson-Ahomaa et al. 2009, Bancercz-Kisiel et al. 2015, von Altrock et al. 2015, Arrausi-Subiza et al. 2016, Sannö et al. 2018, Syczyło et al. 2018) und damit rangiert die Prävalenz vom Schwarzwild der eigenen Untersuchungen in diesem Bereich.

Die Prävalenz von *Y. enterocolitica* beim Rehwild liegt in den eigenen Untersuchungen mit 6,01% (19/316) deutlich unter der hier ermittelten Prävalenz bei Wildschweinen. In Studien aus Polen und der Schweiz wurden etwas höhere Prävalenzen (9,4% und 12,7%) in Rehwild ermittelt (Joutsen et al. 2013, Syczyło et al. 2018).

Nur 2,73% (3/110) der Proben vom Rotwild waren in den eigenen Untersuchungen positiv für *Y. enterocolitica* und liegen damit unter den Werten von Syczyło et al. (2018) mit 21,6% (63/293) und Joutsen et al. (2013) mit 10,4% (8/77).

10,87% (5/46) der untersuchten Füchse waren *Y. enterocolitica*-positiv. Nowakiewicz et al. (2016) ermittelten eine Prävalenz von 2,09% (6/286) in polnischen Rotfüchsen.

Die Diskrepanz in den Untersuchungsergebnissen kann z.B. an geographischen Unterschieden sowie an einem geringeren Probenumfang und an den unterschiedlichen eingesetzten Untersuchungsverfahren liegen. Zum Nachweis enteropathogener Yersinien existiert zwar die DIN EN ISO 10273:2017, diese ist jedoch sehr zeitaufwändig und materialintensiv, so dass meist eine modifizierte Variante der DIN EN ISO 10273:2017 angewendet wird. Dabei folgen die Autoren verschiedener Studien auch verschiedenen Ansätzen. Arrausi-Subiza et al. (2016) und die vorliegende Studie verzichten auf die Kaliumhydroxid (KOH)-Behandlung (20s ± 5s mit einer 0,25% igen - 0,5% igen Kalilauge) der Proben nach der Anreicherung, welche laut der DIN EN ISO 10273:2017 obligatorisch für den Nachweis enteropathogener

Y. enterocolitica ist, führen aber eine Kälteanreicherung durch, die laut der DIN EN ISO 10273 als fakultatives Verfahren aufgeführt ist. Fredriksson-Ahomaa et al. (2009) und Sannö et al. (2018) verzichteten hingegen sowohl auf die Alkalibehandlung als auch auf eine Kälteanreicherung der Proben und plattieren nach einer kurzen Anreicherung (18-24h) mit Irgasan-Ticarcillin-Kaliumchlorat-Bouillon (ITS), Caseinpepton-Sojamehlpepton-Bouillon (CASO) oder PBS auf CIN-Agarplatten. Syczyło et al. (2018) kombinieren eine lange Kälteanreicherung (21d bei 4°C) mit einer Alkalibehandlung. Laukkanen et al. (2010) haben in ihrer Studie mehrere verschiedene Methoden zum Nachweis pathogener *Y. enterocolitica* aus Darminhalt von Hausschweinen verglichen und stellten Verfahren mit Kälteanreicherung und Verfahren mit Kälteanreicherung und KOH-Behandlung kombiniert als sensitivste Verfahren mit ähnlichen Nachweisraten zur Isolation pathogener *Y. enterocolitica* heraus. Des Weiteren ergab sich bei Laukkanen et al. (2010) ein Trend zum vermehrten Nachweis von nichtpathogenen Yersinien, wenn mild selektive Medien wie PSB verwendet wurden. Fredriksson-Ahomaa und Korkeala (2003) beschreiben die Nachteile der Kälteanreicherung mit vermehrtem Wachstum nichtpathogener Yersinien und anderen psychrotrophen Bakterien während der Inkubationszeit, welches zu einer störenden bis überwuchernden Begleitflora und somit verminderten Nachweisraten pathogener Yersinien führen kann. Die Proben der vorliegenden Studie wurden nach der Entnahme direkt und unbearbeitet für 0 bis 13 Tage bei 4°C gelagert. Die Lagerungsdauer zwischen Probenentnahme und Weiterbearbeitung im Labor zeigt keinen signifikanten Einfluss auf die Wahrscheinlichkeit *Y. enterocolitica*-positiv zu sein ($p=0,472$).

Im Folgenden enthält die Probenbehandlung einen klassischen Kälteanreicherungsschritt mit einer Inkubationszeit von 14 Tagen bei 4°C in PSB. In der vorliegenden Studie wurde ein kulturelles Nachweisverfahren angewendet. Danach erfolgte eine Bestätigung der Spezies durch molekularbiologische und biochemische Verfahren, um möglichst genaue Ergebnisse zu erzielen. Bei einer kulturellen Nachweismethodik ist es nur möglich, Yersinien nachzuweisen, wenn diese auch in der Probe noch vermehrungsfähig sind. Fredriksson-Ahomaa und Korkeala (2003) schlussfolgerten in ihrer Studie, dass die niedrigen Nachweisraten pathogener *Y. enterocolitica* auf ineffektiven Isolierungsmethoden beruhen können. Obwohl die verwendeten Selektiv-Medien das Wachstum anderer Bakterien nicht gänzlich verhindern, unterdrücken sie z. T. das Wachstum einiger pathogener *Y. enterocolitica*-Stämme. Damit kann auch in der vorliegenden Studie eine höhere Prävalenz pathogener *Y. enterocolitica* nicht ausgeschlossen werden. Molekularbiologische Methoden führen zwar zu einer sichereren

Bewertung des Vorhandenseins pathogener *Y. enterocolitica* im Untersuchungsmaterial jedoch kann so keine Aussage getroffen werden, ob die Probe mit lebensfähigen Yersinien kontaminiert war und bedarf einer kulturellen Abklärung.

Das europäische Gremium für biologische Gefahren (BIOHAZ 2007) empfiehlt eine Kombination aus kulturellen und molekularbiologischen Methoden zum Nachweis humanpathogener *Y. enterocolitica* aus Lebensmitteln.

In den eigenen Untersuchungen konnten deutliche Unterschiede in den Prävalenzen der Tierarten Schwarzwild im Vergleich zum Rotwild und Rehwild festgestellt werden. Reh- und Rotwild haben demnach eine signifikant geringere Wahrscheinlichkeit (Rotwild 0,112-fach [95% CI: 0,033-0,378; $p < 0.001$] und Rehe 0,095-fach [95%CI: 0,042-0,2177; $p < 0.001$]), *Y. enterocolitica*-positiv zu sein, als Wildschweine. Die Gründe hierfür liegen wahrscheinlich in der unterschiedlichen Anatomie und/oder der Lebensweise. Wildschweine suhlen sich von den hier untersuchten Tierarten am Häufigsten und wühlen ständig zur Nahrungssuche im Erdreich, was zu höheren Keimzahlen auf der Haut (Scherling 1989, Casoli et al. 2005) führt. Daraus ergibt sich ein höheres Kontaktrisiko des Tieres mit *Y. enterocolitica* und ein höheres Kontaminationsrisiko des Wildkörpers durch den Schuss oder das Ausweiden. Der Trend, dass männliche Rehe zudem eine ca. 4,5-mal höhere Wahrscheinlichkeit haben, *Y. enterocolitica* positiv zu sein als weibliche, konnte nicht erklärt werden und bedarf weiterer Untersuchungen. Die annähernde physikalische Abgrenzung verschiedener Populationen, z.B. durch die Autobahn A12 in den eigenen Untersuchungen, ergab kein eindeutiges Ergebnis. Die Gesamtprävalenzen, unabhängig von den Tierarten der beiden Populationen ähneln sich mit 12% (21/258) in Fürstenwalde und 12,2% (64/524) im restlichen Gebiet sehr, der p-Wert in der logistischen Regression ist jedoch nur knapp nicht signifikant ($p=0,061$). Die Verhältnisse der Wildarten am gesamten Probenpool unterscheiden sich in den beiden Regionen in den Anteilen von Reh- und Schwarzwild und könnten Ursache der fast identischen Gesamtprävalenz sein. Die Probenzahlen sind jedoch zu klein, um sichere Schlussfolgerungen zu ziehen. Die Möglichkeit, dass getrennte Populationen unterschiedliche Prävalenzen aufweisen können, sollte Gegenstand weiterer Untersuchungen sein.

Die im Rahmen dieser Arbeit gewonnenen Ergebnisse deuten darauf hin, dass verschiedene Wildarten ein bemerkenswertes Potential an Reservoiren für *Y. enterocolitica* darstellen. Inwieweit diese Ergebnisse auf andere Regionen oder Tierarten extrapoliert werden können, ist fraglich und sollte in weiteren Studien untersucht werden.

5.2 Charakterisierung der Isolate

Im Anschluss an die Identifizierung der *Y. enterocolitica*-Isolate aus den Tonsillen wurden diese mittels MALDI-TOF-Analyse bestätigt. Im Anschluss wurden die Isolate anhand ihrer Bio- und Serotypen charakterisiert. Das BIOHAZ-Gremium (2007) sieht in der Einteilung in Biotypen die verlässlichste Methode zur Einteilung in pathogen oder apathogen. Der Serotyp ist hierfür nicht aussagekräftig, weil verbreitete Serotypen sowohl pathogene als auch apathogene Stämme unter sich vereinen. Die Biotypisierung erfolgte am Konsiliarlabor für Yersinien (BfR) und die Serotypisierung mittels PCR nach Garzetti et al. (2014).

Die Serotypisierung in den eigenen Untersuchungen (Tabelle 46) führte zu dem Ergebnis, dass beim Schwarzwild 80,9% (55/68) der Isolate dem Serotyp O:8 zugeordnet wurden, 13,2% (9/68) wurden dem Serotyp O:5 und nur 0,3% (2/68) dem Serotyp O:3 zugeordnet. In den Untersuchungen von Bancierz-Kisiel et al. (2015) bei Wildschweinen und von Bonardi et al. (2010) bei Hausschweinen dominiert ebenfalls der Serotyp O:8 (Tabelle 5), wenn auch nicht mit so hohen Prozentzahlen wie in den eigenen Untersuchungen, allerdings auch mit einer geringeren Anzahl an Isolaten und somit größerer statistischer Unsicherheit. Diese Studien verhalten sich ähnlich im Vergleich zur eigenen Studie mit den Serotypen O:5 und O:3. Zusätzlich fällt bei den beiden genannten Studien auf, dass bei über 40% der Isolate keine Angabe über die Serotypen gemacht wurde oder gemacht werden konnte.

Beim Rehwild ist die Verteilung der Serotypen in den eigenen Untersuchungen ähnlich dem Schwarzwild: 78,9% (15/19) wurden dem Serotyp O:8 zugeordnet und nur 0,5% (1/19) dem Serotyp O:5 und 1% (2/19) dem Serotyp O:3. Die Anzahl der isolierten Stämme ist beim Rehwild mit 19 viel geringer als vom Schwarzwild. Bei Bancierz-Kisiel et al. (2015) wurden 85% (17/20) keinem Serotyp zugeteilt, 10% (2/20) dem Serotyp O:8 und nur ein Isolat (5%) dem Serotyp O:27. Damit wurden in den eigenen Untersuchungen prozentual wesentlich mehr Stämme dem Serotyp O:8 zugeordnet als in der polnischen Studie und deutlich weniger Isolate konnten keinem Serotyp zugeordnet werden. Die Datenlage ist gerade bei dieser Wildart sehr gering und bedarf weiteren Untersuchungen.

Die Vergleiche der Serotypisierung beim Rotwild mit Daten aus der Literatur sind ebenso schwierig, wie die der anderen Wildarten, da die Datenmenge zu gering ist, um allgemeine

Trends ablesen zu können oder belastbare Aussagen zu treffen. Sie bedürfen weiterer Forschung in anderen Studien auf diesem Gebiet.

Im Vergleich zu klinischen Proben von an Yersiniose erkrankten Menschen in Deutschland in den Jahren 2008 (Rosner et al.) und 2016 (BfR) ist der Serotyp O:3, im Gegensatz zum Wild, der mit Abstand häufigste nachgewiesene Serotyp und O:8 mit 0,5% sowie 1,0% eher selten.

Die Ergebnisse der Biotypisierung durch das BfR zeigen 7 *ail* positive Isolate die dem Biotyp 1A zugeordnet werden konnten. Der Biotyp 1A gilt als apathogen für den Menschen. Es existieren jedoch Berichte über *Y. enterocolitica*-Stämme vom Biotyp 1A, welche Träger des *ail* Genes sind (Sihvonen et al. 2011).

Ein Isolat wurde dem Biotyp 1B und dem Serotyp O:8 zugeordnet und gilt damit als humanpathogen (Fredriksson-Ahomaa 2017). Früher wurde dieser Stamm vor allem in Amerika isoliert, wird aber seit einiger Zeit auch sporadisch in humanen klinischen Proben in Europa nachgewiesen (Martini et al. 1989, Schubert et al. 2003, Szych et al. 2004) Ein weiteres Isolat wurde dem Biotyp 2, damit ebenfalls humanpathogen und Serotyp O:8 zugeordnet. Beide Isolate stammen von Schwarzwildproben.

34 der 95 *Y. enterocolitica* positiven Proben konnten, trotz einer Bestätigung durch PCR und MALDI-TOF, keinem *Y. enterocolitica*- Biotyp zugeordnet werden. Anhand der biochemischen Typisierung wurden für 23 Isolate eine Zugehörigkeit zur Spezies *Y. frederiksenii*, für 3 Isolate eine Zugehörigkeit zur Spezies *Y. kristensenii* und für 3 Isolate eine Zugehörigkeit zur Spezies *Y. intermedia* nachgewiesen, welche zu den *Y. enterocolitica*-like Spezies gehören und biochemisch sehr ähnliche Reaktionen wie *Y. enterocolitica* aufweisen. Eine finnische Studie zeigte, dass 50% von *Y. enterocolitica*-like Spezies anhand der biochemischen Untersuchungen in der Routinediagnostik fälschlicherweise als *Y. enterocolitica* identifiziert wurden (Sihvonen et al. 2009). Da die biochemischen Bestätigungsreaktionen eine gewisse Unsicherheit bergen und die 34 Isolate durch zwei andere Methoden, PCR und MALDI-TOF, als *Y. enterocolitica* bestätigt wurden, wurden sie dennoch als *Y. enterocolitica*-Isolate in die Analysen eingeschlossen. Diese Isolate sollten weiter untersucht werden, da nicht komplett ausgeschlossen ist, dass es sich doch um *Y. enterocolitica*-like Spezies handelt. Ebenso kann, trotz sorgfältiger Arbeit nach den allgemeinen Laborstandards, das Vorhandensein von Mischkulturen zu solchen Ergebnissen führen.

Mit der Studie konnte gezeigt werden, dass eine nicht unerhebliche Anzahl der beprobten Wildtiere im südöstlichen Brandenburg Träger von *Y. enterocolitica* sind und ein Risiko für den Menschen darstellen können. Im Hinblick darauf, dass die in dieser Studie angewendete Methode wahrscheinlich zu einem vermehrten Nachweis von nichtpathogenen Yersinien führt, ist eine höhere Prävalenz der pathogenen *Y. enterocolitica* in den untersuchten Proben nicht auszuschließen (Fredriksson-Ahomaa und Korkeala 2003, Laukkanen et al. 2010). Zusätzlich wird die Pathogenität von Stämmen des Biotyp 1A diskutiert. Mehrere Untersuchungen humaner, klinischer Proben weisen den Biotyp 1A als Krankheitsursache aus (Batzilla et al. 2011, Stephan et al. 2013). Des Weiteren zeigen mehrere Studien, dass auch der Biotyp 1A das *ail* Gen tragen kann, dies unterstützt die Ergebnisse der eigenen Untersuchungen (Falcao et al. 2006, Cheyne et al. 2010, Sihvonen et al. 2011). Somit scheint die auf dem *ail* Gen basierende Pathogenitätseinschätzung nicht ausreichend zuverlässig zu sein und bedarf eines vertrauenswürdigeren Markers.

Insgesamt betrachtet, ist die Prävalenz von *Y. enterocolitica* vor allem beim Schwarzwild nicht zu unterschätzen. Wenn man die Zahlen auf die Jahresstrecke der Saison 2016/2017 Brandenburgs hochrechnet, kann man von einer errechneten Anzahl von 16.756 *Y. enterocolitica*-belasteten Wildkörpern ausgehen. Auch wenn nur ein kleiner Teil der Isolate pathogen ist bzw. nicht zu dem bei humanen Infektionen häufigsten Serotyp O: 3 gehört, veranschaulicht diese Hochrechnung das zoonotische Potential von Wildtieren. Ob sich ein Verbraucher oder eine Person, die Kontakt zum Wildbret hat, z.B. Jäger oder Fleischer, tatsächlich mit *Y. enterocolitica* infiziert, hängt von zahlreichen Faktoren ab, wie z.B. geeigneten Hygienemaßnahmen während des Aufbrechens oder Zerteilens von Wildkörpern oder der gewählten Art der Zubereitung. Eine Zugehörigkeit zu einer der Risikogruppen (YOPIS) erhöht sicherlich das Risiko einer Yersiniose.

Die eigenen Untersuchungen verdeutlichen das Risiko, gerade bei häufigem Umgang mit Wild (Jäger, Fleischer) in Kontakt mit humanpathogenen *Y. enterocolitica* zu kommen und dass Schutzmaßnahmen im Umgang mit Wild durchaus wichtig sind. Zwar sind bisher noch keine Berichte über Yersiniosen durch Verzehr von kontaminiertem Wildbret bekannt, aber durch steigendes Verbraucherinteresse nach Alternativen zur konventionellen Fleischwirtschaft und steigenden Streckenzahlen, vor allem von Schwarzwild, kann Wildbret eine zunehmende Rolle in der Verbreitung von *Y. enterocolitica* spielen. Ein weiteres Risiko stellt die heute übliche Zubereitung von Fleisch dar. Immer öfter wird Fleisch, zur Steigerung des

Geschmackserlebnisses, „rosa“ oder „blutig“ zubereitet und damit, im Hinblick auf die Keimzahlminimierung, nur ungenügend erhitzt. Im Vergleich zu den Verzehrgeohnheiten von Hausschwein und Wildbret erscheint diese Rolle sehr klein, aber in Jägerhaushalten wird um ein Vielfaches mehr Wildbret (13,2kg) verzehrt als im Schnitt der Gesamtbevölkerung (1,4kg) (Hoffmann 2013). Demnach könnten Jäger besonders gefährdet sein, durch den vermehrten Umgang und Verzehr von Wildbret durch dieses an Yersiniose zu erkranken. Dazu liegen bisher keine Daten vor, sollten aber im Rahmen einer zukünftigen Studie untersucht werden. Hackfleisch vom Hauschwein gilt als größte Risikoquelle für die humane Yersiniose. Lebensmittelhygienische Daten für Hackfleisch aus Wildbret liegen keine vor, jedoch ist mit z.B. Wildburgern ein Trend zu vermehrtem Wildhackkonsum vorhanden und sollte im Hinblick auf mögliche Zoonoseerreger untersucht werden. Für eine Risikobewertung liegen insgesamt nicht genügend Daten zum Vorkommen von *Y. enterocolitica* in Wildbret vor. Unklar ist außerdem immer noch, wie hoch die minimale Infektionsdosis für Menschen ist. Generell werden in den Studien meist qualitative Aussagen über Nachweise von Yersinien gemacht, quantitative Aussagen zur Keimzahl fehlen häufig. Oft wurden die Erreger im Fleisch, wenn überhaupt, nur nach Anreicherung nachgewiesen, was für eine geringe Keimzahl spricht. Andererseits könnte kühl gelagertes Fleisch eine Art Anreicherung erfahren da Yersinien sich auch bei Kühltemperaturen vermehren können.

Während der Probenakquise auf den Jagden konnte vielfach beobachtet werden, dass einfachste Hygienemaßnahmen zum Selbstschutz nur unzureichend umgesetzt wurden. Handschuhe wurden während des Versorgens des Wildes meistens nur bei großangelegten Forstamtsjagden getragen und das Vorhandensein von Wasser in guter Qualität zum Händewaschen war auch nicht immer gegeben. Wie wichtig Hygienemaßnahmen, nicht zuletzt auch bei der Gewinnung von einwandfreien Lebensmitteln sind, sollte vermehrt propagiert und gelehrt werden, um diesbezüglich Wissen bei den betroffenen Personengruppen zu fördern.

5.3 Antimikrobielle Resistenzen

Die Ermittlung der antimikrobiellen Resistenzen erfolgte im Rahmen dieser Studie für alle 95 *Y. enterocolitica*-Isolate und unterscheidet nicht zwischen humanpathogenen oder apathogenen Stämmen.

Die Ergebnisse der antimikrobiellen Resistenzuntersuchung (Abbildung 13) bestätigen im Wesentlichen die Ergebnisse anderer Autoren. Fredriksson-Ahomaa et al. (2009) beschreiben eine generelle Resistenz von *Y. enterocolitica* gegen β -Lactamase-sensitive Penicilline wie Ampicillin und gegen Cephalosporine der ersten Generation, wie Cefalotin und Cefazolin und gegen Erythromycin und bestätigen damit die Resultate der eigenen Untersuchungen. Andere Autoren kamen auch zu dem Ergebnis einer weit verbreiteten Resistenz gegen Erythromycin, Ampicillin (Terentjeva und Bērziņš 2010, Novoslavskij et al. 2013) und Cefalotin als Cephalosporin der ersten Generation (Terentjeva und Bērziņš 2010, Bonardi et al. 2014). Fredriksson-Ahomaa et al. (2011) beschreiben eine unterschiedliche Resistenzlage von *Y. enterocolitica* gegen Amoxicillin/Clavulansäure, isoliert aus Wildschweinen im Vergleich zu Isolaten aus Hausschweinproben. Während die Isolate aus Wildschweinproben resistent waren, erwiesen sich die Isolate aus Hausschweinen als sensibel gegen Amoxicillin/Clavulansäure. In den eigenen Untersuchungen zeigten sich wildartübergreifend 29 der 95 Isolate sensibel gegen Amoxicillin/Clavulansäure. Davon stammen 21 Isolate von Wildschweinen. Mit 47 resistenten Isolaten aus Wildschweinen kann die Beobachtung von Fredriksson-Ahomaa et al. (2011) unterstützt werden, dass *Y. enterocolitica*-Isolate aus Wildschweinen gegen Amoxicillin/Clavulansäure eine hohe Resistenzrate aufweisen. Eine Ursache könnte in einem unterschiedlichen Aufbau der Zellmembranen von *Y. enterocolitica*-Stämmen aus Haus- und Wildschweinen liegen. Die β -Lactamase A aus Wildschwein-Stämmen wird eventuell nicht von der Clavulansäure gehemmt, im Gegensatz zu der β -Lactamase A der Hausschweine-Stämme (Sharma et al. 2004). Eine andere Ursache könnte sein, dass sich die verschiedenen Allel-Varianten der β -Lactamase A in ihrer Empfindlichkeit gegenüber der Clavulansäure unterscheiden (Singhal et al. 2015). Die gute Wirksamkeit der Aminoglykosidantibiotika (Kanamycin, Gentamicin, Streptomycin), Chinolone (Nalidixinsäure und Ciprofloxacin), Tetracyclin, Sulfamethoxazol/Trimethoprim, Trimethoprim und Chloramphenicol wird von mehreren Autoren bestätigt und spiegelt auch die bei humaner Yersiniose häufig eingesetzten antimikrobiellen Wirkstoffe wider (Terentjeva und Bērziņš 2010, Novoslavskij et al. 2013, Jamali et al. 2015, Özdemir und Arslan 2015).

6 Schlussfolgerungen

Mit dieser Studie konnte das Vorkommen von *Y. enterocolitica* in brandenburgischen Wildbeständen von Schwarzwild, Rehwild, Rotwild und Füchsen nachgewiesen werden. Alle untersuchten Wildarten bergen das Potential, Reservoir für *Y. enterocolitica* zu sein und können eine Yersiniose auf Menschen übertragen, wobei, durch die hohe Prävalenz, dem Schwarzwild eine besondere Bedeutung zuteilwird. Derartige Untersuchungen sind im Bundesland Brandenburg erstmals vorgenommen worden. Damit leistet die vorliegende Arbeit zugleich einen Beitrag zur Bewertung des von Wild ausgehenden potenziellen Risikos in Bezug auf eine mögliche *Y. enterocolitica*-Lebensmittelinfektion durch kontaminiertes Wildbret.

Obwohl keine Berichte zu Yersiniosen durch kontaminiertes Wildbret vorliegen, kann von einem Risiko ausgegangen werden, welches durch steigenden Wildbretkonsum, steigende Schwarzwildstrecken und veränderte Verzehrsgewohnheiten vergrößert wird. Das Studium der Literatur bestätigt das Erfordernis, diese Thematik zu bearbeiten. Die Datenlage zur Prävalenz in Deutschen Wildbeständen ist eher klein und bedarf weiterer Untersuchungen auch in anderen Bundesländern.

Die Einteilung der Isolate hinsichtlich ihres Bio-/Serotyps gelang zu einem großen Teil, mit dem Ergebnis, dass in dieser Arbeit mehrere *Y. enterocolitica*-Stämme isoliert wurden, die potentiell humanpathogen sind, u.a. ein Stamm des Bio-/Serotyps 1B/O:8 und ein Stamm 2/O:8.

Für weiterführende Untersuchungen wäre eine Vereinheitlichung und Optimierung der Untersuchungsmethoden wünschenswert, da die vorhandenen Prävalenzdaten vorausgegangener Studien zeigen, dass diese durch unterschiedliche Methoden differieren und es eines besseren Markers für pathogene *Y. enterocolitica* bedarf.

Die Ermittlung der Resistenzlage der isolierten Stämme bestätigte im Allgemeinen die bestehenden Daten aus der Literatur und zeigt, dass die in der Humanmedizin verwendeten antimikrobiellen Wirkstoffe zur Behandlung der Yersiniose weiterhin wirksam sind. Wenige Stämme waren gegen eine Vielzahl der ausgewählten antimikrobiellen Wirkstoffe resistent.

Dennoch bleiben Fragen bezüglich der Epidemiologie ungeklärt und sollten Thema weiterer Untersuchungen sein. Weiterhin muss der Jäger und auch der Verbraucher bezüglich der

Gefahren im Umgang mit rohem Wildbret stärker sensibilisiert werden. Die hohe Rate an erkrankten Kleinkindern scheint hier eine Nachlässigkeit der Personen- und Küchenhygiene aufzuzeigen, weil diese wohl eher kein rohes Fleisch verzehren, sondern wahrscheinlich Kreuzkontaminationen von Kindernahrung durch unzureichende Sorgsamkeit verursacht werden.

Für Jäger sollte insbesondere gelten, dass das Versorgen von Wild ein hohes Maß an Hygiene verlangt, da die Verantwortung bei der Gewinnung von Nahrungsmitteln, sich selbst und dem Verbraucher gegenüber, sehr groß ist.

7 Zusammenfassung

Felix Franz Henning

Untersuchung zur Prävalenz, Charakterisierung und antimikrobieller Resistenz von *Y. enterocolitica* in Wildbeständen von Schwarzwild, Rehwild, Rotwild und Füchsen im südöstlichen Brandenburg

Die Yersiniose, welche neben *Y. pseudotuberculosis* hauptsächlich durch *Y. enterocolitica* ausgelöst wird, tritt nach Infektionen mit *Campylobacter* und *Salmonella* als dritthäufigste bakterielle Magen-Darm-Erkrankung beim Menschen in Deutschland auf. Seit 2001 ist die Yersiniose, nach Infektionsschutzgesetz, eine meldepflichtige Erkrankung, welche vornehmlich alimentär durch den Verzehr von kontaminiertem, rohen oder unzureichend erhitztem Schweinefleisch auf den Menschen übertragen wird. Während umfangreiche Daten zu Prävalenzen in Nutztieren vorliegen, wurde das Vorkommen von *Y. enterocolitica* bei Wildtieren in Deutschland bisher nur wenig untersucht.

Ziel dieser Studie war, die Prävalenz von *Y. enterocolitica* bei unterschiedlichen Wildtierarten im südöstlichen Brandenburg zu bestimmen, die Isolate hinsichtlich ihres Bio-/Serotyps zu charakterisieren und ihre antimikrobielle Resistenz zu ermitteln.

Zu diesem Zweck wurden im Zeitraum von 2015 bis 2017 insgesamt 782 Tonsillenpaare von erlegtem Rehwild (316), Schwarzwild (310), Rotwild (110) und Füchsen (46) aus den Landkreisen Oder-Spree, Dahme-Spreewald und Spree-Neiße entnommen und im Labor untersucht. Die Proben wurden nach einer 14tägigen Kälteanreicherung in PSB auf CIN-Agar kultiviert und verdächtige Kolonien isoliert. Die Spezieszugehörigkeit wurde mittels PCR identifiziert und durch MALDI-TOF bestätigt. Weiterhin wurden die Serotypen der Stämme mittels PCR nach Garzetti et al. (2014) bestimmt und die Stämme im BfR biochemisch charakterisiert. Die antimikrobielle Resistenztestung erfolgte mittels Agardiffusionstest.

Insgesamt wurden 95 *Y. enterocolitica* Stämme isoliert. Die ermittelten Prävalenzen liegen beim Schwarzwild bei 21,94% (68/310), beim Rehwild bei 6,01% (19/316), beim Rotwild bei

2,73% (3/110) und bei Füchsen bei 10,87% (5/46). 12 der 95 *Yersinia*-Isolate trugen das *ail* Gen, 73 Stämme das *ystB* und 53 Stämme das *inv* Gen. Biochemisch wurden 59 Stämme dem Biotyp 1A, ein Stamm dem Biotyp 1B und ein Stamm dem Biotyp 2 zugeordnet. 34 Stämme konnten keinem *Y. enterocolitica* Biotypen zugeordnet werden. Am häufigsten vertreten war der Serotyp O:8 (76/95), gefolgt von O:5 (11/95) und O:3 (5/95). Drei Stämme konnten keinem Serotyp zugeordnet werden. Zwei von Wildschweinen stammende Isolate konnten den humanpathogenen Bio-/Serotypen 1B/O:8 und 2/O:8 zugeordnet werden.

Die Testung auf antimikrobielle Resistenzen ergab, dass alle Stämme gegen Kanamycin und Nalidixinsäure empfindlich sowie resistent gegen Erythromycin waren. Insgesamt betrachtet waren die meisten *Y. enterocolitica*-Stämme gegen die untersuchten antimikrobiellen Wirkstoffe empfindlich, aber resistent gegen Ampicillin, Erythromycin, Amoxicillin-Clavulansäure, Cefalotin und Cefazolin. Im Hinblick auf die Antibiotikaklassen zeigt sich eine verminderte Empfindlichkeit bei den Cephalosporinen der ersten Generation mit nur 2 sensiblen Stämmen gegenüber Cefalotin und 5 sensiblen Stämmen gegenüber Cefazolin. Gegen die Cephalosporine der zweiten und dritten Generation waren die untersuchten Isolate überwiegend empfindlich mit nur sechs resistenten Isolaten gegen Cefuroxim und 4 resistenten Isolaten gegen Cefotaxim. Bei den Vertretern der Penicilline zeigt sich eine gemischte Resistenzlage mit 13 sensiblen Isolaten bei Ampicillin und 29 sensiblen Isolaten bei Amoxicillin-Clavulansäure. Gegen die Gruppe der Aminoglykosidantibiotika mit Kanamycin, Gentamicin und Streptomycin waren jeweils kein, nur ein bzw. drei Isolate resistent. Gegen die Chinolone Nalidixinsäure und Ciprofloxacin waren keine bzw. fünf Isolate resistent. Gegenüber den antimikrobiellen Wirkstoffen Tetracyclin, Sulfamethoxazol/Trimethoprim, Trimethoprim und Chloramphenicol waren 92, 94, 91 und 90 Isolate empfindlich. 91 der 95 (95,8%) Isolate sind gegen drei oder mehr als drei antimikrobielle Wirkstoffe resistent.

Die vorliegende Studie deutet darauf hin, dass beim Umgang mit Wild ein Risiko besteht mit *Y. enterocolitica* in Kontakt zu geraten und somit eine Infektion mit *Yersinia* über diesen Weg möglich ist. Dies unterstreicht die Bedeutung der Einhaltung von Personal- und Wildbrethygiene im Umgang mit potentiellen Lebensmitteln zum Verbraucherschutz aber auch zum Eigenschutz. Die Personengruppen, Jäger und Fleischer, welche in der Regel den ersten und direkten Kontakt zum Tier haben, legen den Grundstein für ein hygienisches und qualitativ hochwertiges Lebensmittel.

8 Summary

Felix Franz Henning

Examination of the prevalence, characterization and antimicrobial resistance of *Y. enterocolitica* in game populations of wild boars, roe deer, red deer, and foxes in south-eastern Brandenburg

Yersiniosis, which is, besides *Y. pseudotuberculosis*, mainly caused by *Y. enterocolitica*, is the third leading bacterial gastrointestinal disease subsequent to infections with *Campylobacter* and *Salmonella* in Germany. Since 2001, yersiniosis is a notifiable disease according to the German Protection against Infection Act and is mainly transmitted to humans via the consumption of contaminated raw or insufficiently heated pork. While there are comprehensive data on prevalences in livestock, the presence of *Y. enterocolitica* in German game has not been examined in detail so far.

The objective of the present study was to determine the prevalence of *Y. enterocolitica* in different game species in south-eastern Brandenburg, the characterization of the isolates with regard to their bio-/serotypes, and the determination of their antimicrobial resistance patterns.

For this purpose, a total of 782 tonsil pairs of killed roe deer (316), wild boars (310), red deer (110), and foxes (46) from the districts Oder-Spree, Dahme-Spreewald, and Spree-Neiße were collected and analyzed in a laboratory. After 14 days of cold enrichment in PSB, the samples were streaked on CIN-Agar and suspect colonies were isolated. The species of these isolates were identified via PCR and confirmed by MALDI-TOF. Serotypes of the *Y. enterocolitica* isolates were determined by PCR according to Garzetti et al. (2014) and the isolates were biochemically characterized in the BfR. The antimicrobial resistance patterns were analyzed by the agar diffusion method.

In total, *Y. enterocolitica* were isolated of 95 samples. The determined prevalences are 21.94% (68/310) in the wild boars, 6.01% (19/316) in roe deer, 2.73% (3/110) in red deer, and 10.87% (5/46) in foxes. In 12 out of the 95 *Yersinia* strains the *ail* gene, in 73 strains the *ystB* and in 53 strains the *inv* gene were detected by PCR. Biochemically, 59 strains were categorized as biotype 1A, one strain as biotype 1B, and one strain as biotype 2. For 34 strains no

Y. enterocolitica biotype could be determined. Serotype O:8 was the most frequent one (76/95), followed by serotype O:5 (11/95) and O:3 (5/95). Three of the strains could not be allocated to one of the investigated serotypes. Two *Y. enterocolitica* strains, both isolated from wild boars, belong to the human-pathogenic bio-/serotypes 1B/O:8 and 2/O:8.

The antimicrobial resistance testing revealed that most *Y. enterocolitica* strains were susceptible to the antimicrobial active substances examined, but resistant to ampicillin, erythromycin, amoxicillin clavulanic acid, cefalotin, and cefazolin. All strains were susceptible to kanamycin and nalidixic acid and resistant to erythromycin. With regard to the antibiotics classes, there is a reduced susceptibility to the cephalosporins of the first generation with only two strains being susceptible to cefalotin and five strains to cefazolin. Regarding the cephalosporins of the second and third generations, most isolates were susceptible with only six isolates being resistant to cefuroxim and four isolates to cefotaxim. With the penicillins, a mixed resistance distribution could be observed: 13 isolates were susceptible to ampicillin and 29 isolates were susceptible to amoxicillin clavulanic acid. With the group of aminoglycoside antibiotics, only none, one, and three isolates were resistant to kanamycin, gentamicin, and streptomycin, respectively. Susceptible to the quinolones nalidixic acid and ciprofloxacin were none and five isolates, respectively. 92, 94, 91, and 90 isolates were susceptible to the antimicrobial active substances tetracycline, sulfamethoxazole/trimethoprim, trimethoprim, and chloramphenicol, respectively. In total, 91 out of the 95 (95.8%) isolates were resistant to three or more antimicrobial active substances.

The present study suggests that when handling game there is a risk of getting in contact with *Y. enterocolitica* and thus an infection with *Yersinia* is possible. This underlines the importance of complying with personal and game hygiene when handling potential food in order to ensure consumer protection but also self-protection. The groups of persons who usually have the initial and direct contact with the animal, i.e. hunters and butchers, lay the foundation for a hygienic and high-quality product.

9 Literaturverzeichnis

Al-Hendy, A., P. Toivanen und M. Skurnik (1992). Lipopolysaccharide O side chain of *Yersinia enterocolitica* O: 3 is an essential virulence factor in an orally infected murine model. *Infect Immun.* 1992 Mar;60(3):870-5. doi: 10.1128/IAI.60.3.870-875.1992.

Aldova, E., J. Sobotková, A. Brezinova, J. Cerna, M. Janeckova, J. Pegrimkova und V. Pokorná (1981). *Yersinia enterocolitica* in water and foods. *Zentralbl Bakteriolog Mikrobiol Hyg B.* 1981 Sep;173(6):464-70

Aleksic, S. und J. Bockemühl (1990). Microbiology and epidemiology of *Yersinia* infections. *Immun Infekt.* 1990 Dec;18(6):178-85.

Aleksic, S. und J. Bockemühl (1996). Untersuchungen von *Yersinia*-Stämmen aus Deutschland, 1993-1994. *Bundesgesundheitsblatt* 39:94–97.

Aleksić, S. und J. Bockemühl (1988). Serological and biochemical characteristics of 416 *Yersinia* strains from well water and drinking water plants in the Federal Republic of Germany: lack of evidence that these strains are of public health importance. *Zbl Bakt, 1. Abt Orig B* 185:527–533.

Apelt, J. M. (2007). Hygienestatus von frisch erlegten Wildtieren aus verschiedenen Jagdrevieren Deutschlands." Dissertation Tierärztliche Hochschule Hannover.

Arnold, T., H. Neubauer, K. Nikolaou, U. Roesler und A. Hensel (2004). Identification of *Yersinia enterocolitica* in minced meat: a comparative analysis of API 20E, *Yersinia* identification kit and a 16S rRNA-based PCR method. J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health. 2004 Feb;51(1):23-7 doi: 10.1046/j.1439-0450.2003.00718.x.

Arrausi-Subiza, M., X. Gerrikagoitia, V. Alvarez, J. C. Ibabe und M. Barral (2016). Prevalence of *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis* in wild boars in the Basque Country, northern Spain. Acta Vet Scand. 2016 Jan 20;58:4. doi: 10.1186/s13028-016-0184-9.

Aulisio, C., I. Mehlman und A. Sanders (1980). Alkali method for rapid recovery of *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis* from foods. Appl Environ Microbiol. 1980 Jan;39(1):135-40. doi: 10.1128/AEM.39.1.135-140.1980.

Avagnina, A., D. Nucera, M. Grassi, E. Ferroglio, A. Dalmaso und T. Civera (2012). The microbiological conditions of carcasses from large game animals in Italy. Meat Sci. 2012 Jul;91(3):266-71. doi: 10.1016/j.meatsci.2012.01.025. Epub 2012 Feb 7.

Ayyadurai, S., C. Flaudrops, D. Raoult und M. Drancourt (2010). Rapid identification and typing of *Yersinia pestis* and other *Yersinia* species by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight (MALDI-TOF) mass spectrometry. BMC Microbiol. 2010 Nov 12;10:285. doi: 10.1186/1471-2180-10-285.

Bancerz-Kisiel, A., P. Socha und W. Szweda (2015). Detection and characterisation of *Yersinia enterocolitica* strains in cold-stored carcasses of large game animals in Poland. Vet J. 2016 Feb;208:102-3. doi: 10.1016/j.tvjl.2015.08.010. Epub 2015 Aug 12.

Batzilla, J., J. Heesemann und A. Rakin (2011). The pathogenic potential of *Yersinia enterocolitica* 1A. Int J Med Microbiol. 2011 Nov;301(7):556-61. doi: 10.1016/j.ijmm.2011.05.002. Epub 2011 Jul 28.

Bercovier, H. und H. Mollaret (1984). *Yersinia*. Bergey's manual of systematic bacteriology. Vol. 1, 1st ed. Krieg, N.R. and Holt, J.G., Ed.: 498–506. The Williams & Wilkins Co. Baltimore.

Bergann, T., J. Kleemann und D. Sohr (1995). Modelluntersuchungen zur Psychrotrophie von *Yersinia enterocolitica*. Zentralbl Veterinarmed B. 1995 Nov;42(9):523-31.

BfR, Bundesinstitut für Risikobewertung (2015). Erreger von Zoonosen in Deutschland im Jahr 2013.

BfR, Bundesinstitut für Risikobewertung (2016). Erreger von Zoonosen in Deutschland im Jahr 2014.

BfR, Bundesinstitut für Risikobewertung (2017). Erreger von Zoonosen in Deutschland im Jahr 2015.

BfR, Bundesinstitut für Risikobewertung (2018). Erreger von Zoonosen in Deutschland im Jahr 2016.

Bhaduri, S. und B. Cottrell (1998). A simplified sample preparation method from various foods for PCR detection of pathogenic *Yersinia enterocolitica*: a possible model for other food pathogens. Mol Cell Probes. 1998 Apr;12(2):79-83. doi: 10.1006/mcpr.1998.0155.

Bhagat, N. und J. S. Viridi (2007). Distribution of virulence-associated genes in *Yersinia enterocolitica* biovar 1A correlates with clonal groups and not the source of isolation. FEMS Microbiol Lett. 2007 Jan;266(2):177-83. doi: 10.1111/j.1574-6968.2006.00524.x.

Bibel, D. J. und T. H. Chen (1976). Diagnosis of plaque: an analysis of the Yersin-Kitasato controversy. Bacteriol Rev. 1976 Sep;40(3):633-51.

BIOHAZ (2007). Monitoring and identification of human enteropathogenic *Yersinia* spp. Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards (Question No EFSA-Q-2007-037) Adopted by the BIOHAZ Panel on 6 December 2007.

Bockemühl, J. und P. Roggentin (2004). Enterale Yersiniosen. Bundesgesundheitsbl Gesundheitsforsch Gesundheitsschutz. 2004 47:685 - 691. doi: 10.1007/s00103-004-0865-9.

Bonardi, S., I. Alpigiani, S. Pongolini, M. Morganti, S. Tagliabue, C. Bacci und F. Brindani (2014). Detection, enumeration and characterization of *Yersinia enterocolitica* 4/O: 3 in pig tonsils at slaughter in Northern Italy. Int J Food Microbiol. 2014 May2;177:9-15. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2014.02.005. Epub 2014 Feb 19.

Bonardi, S., A. Le Guern, C. Savin, G. Pupillo, L. Bolzoni, M. Cavalca und S. Pongolini (2018). Detection, virulence and antimicrobial resistance of *Yersinia enterocolitica* in bulk tank milk in Italy. Int Dairy J. 2018; 84: 46-53 doi: 10.1016/j.idairyj.2018.04.003.

Bonardi, S., A. Paris, L. Bassi, F. Salmi, C. Bacci, E. Riboldi, E. Boni, M. D'ineau, S. Tagliabue und F. Brindani (2010). Detection, semiquantitative enumeration, and antimicrobial susceptibility of *Yersinia enterocolitica* in pork and chicken meats in Italy. J Food Prot. 73(10):1785–92. doi: 10.4315/0362-028X-73.10.1785.

Bonke, R., S. Wacheck, E. Stüber, C. Meyer, E. Märtlbauer und M. Fredriksson-Ahomaa (2011). Antimicrobial susceptibility and distribution of β -lactamase A (*blaA*) and β -lactamase B (*blaB*) genes in enteropathogenic *Yersinia* species. Microb Drug Resist. 2011 Dec;17(4):575-81. doi: 10.1089/mdr.2011.0098. Epub 2011 Oct 4.

Bottone, E. J. (1997). *Yersinia enterocolitica*: the charisma continues. Clin Microbiol Rev. 1997 Apr;10(2):257-76. doi: 10.1128/CMR.10.2.257-276.1997.

Bottone, E. J. (1999). *Yersinia enterocolitica*: overview and epidemiologic correlates. Microbes Infect. 1999 Apr;1(4):323-33. doi: 10.1016/s1286-4579(99)80028-8.

Boyapalle, S., I. V. Wesley, H. S. Hurd und P. G. Reddy (2001). Comparison of culture, multiplex, and 5' nuclease polymerase chain reaction assays for the rapid detection of *Yersinia enterocolitica* in swine and pork products. J Food Prot. (2001) 64 (9): 1352–1361. doi: 10.4315/0362-028X-64.9.1352.

Boyce, J., E. Evans, D. Evans und H. Dupont (1979). Production of heat-stable, methanol-soluble enterotoxin by *Yersinia enterocolitica*. Infect Immun. 1979 Aug;25(2):532-7. doi: 10.1128/IAI.25.2.532-537.1979

Bucher, M., M. Fredriksson-Ahomaa und A. Stolle (2002). Occurrence of *Yersinia* spp. in calves and bulls. *Fleischwirtschaft*. **82**: 125-127.

Bucher, M., C. Meyer, B. Grotzbach, S. Wacheck, A. Stolle und M. Fredriksson-Ahomaa (2008). Epidemiological data on pathogenic *Yersinia enterocolitica* in Southern Germany during 2000-2006. *Foodborne Pathog Dis*. 2008 Jun;5(3):273-80. doi: 10.1089/fpd.2007.0076.

Burnens, A. P., A. Frey und J. Nicolet (1996). Association between clinical presentation, biogroups and virulence attributes of *Yersinia enterocolitica* strains in human diarrhoeal disease. *Epidemiol Infect*. V 116: 27-34. doi: /10.1017/S0950268800058921.

Bvdf (2018). Bundesverband der Deutschen Fleischwarenindustrie e. V. 2018. https://www.bvdf.de/in_zahlen/tab_05/ [Online] 2018. [Zitat vom: 11. April 2018.].

Carniel, E. (1995). Chromosomal virulence factors of *Yersinia*: an update. *Contrib Microbiol Immunol*. 1995;13:218-24 PMID: 8833839.

Carniel, E. (2001). The *Yersinia* high-pathogenicity island: an iron-uptake island. *Microbes Infect*. 2001 Jun;3(7):561-9. doi: 10.1016/s1286-4579(01)01412-5.

Casoli, C., E. Duranti, F. Cambiotti und P. Avellini (2005). Wild ungulate slaughtering and meat inspection. *Vet Research Commun*. 2005 Aug;29 Suppl 2:89-95. doi: 10.1007/s11259-005-0028-y.

Cheyne, B. M., M. I. Van Dyke, W. B. Anderson und P. M. Huck (2010). The detection of *Yersinia enterocolitica* in surface water by quantitative PCR amplification of the *ail* and *yadA* genes. J Water Health. 2010 Sep;8(3):487-99. doi: 10.2166/wh.2009.215. Epub 2009 Dec 4.

CLSI Clinical Laboratory Standards Institute (2014). Document M100-S24. 192, 193.

Cornelis, G., Y. Laroche, G. Balligand, M.-P. Sory und G. Wauters (1987). *Yersinia enterocolitica*, a primary model for bacterial invasiveness. Rev Infect Dis. Jan-Feb 1987;9(1):64-87. doi: 10.1093/clinids/9.1.64.

Cornelis, G. R., A. Boland, A. P. Boyd, C. Geuijen, M. Iriarte, C. Neyt, M.-P. Sory und I. Stainier (1998). The virulence plasmid of *Yersinia*, an antihost genome. Microbiol Mol Biol Rev. 1998 Dec;62(4):1315-52. PMID: 9841674.

de Boer, E. (1992). Isolation of *Yersinia enterocolitica* from foods. Int J Food Microbiol. 1992 Oct;17(2):75-84. doi: 10.1016/0168-1605(92)90107-e.

de Boer, E. (1995). Isolation of *Yersinia enterocolitica* from foods. Contrib Microbiol Immunol. 1995;13:71-3. PMID: 8833800.

de Boer, E. und W. Seldam (1987). Comparison of methods for the isolation of *Yersinia enterocolitica* from porcine tonsils and pork. Int J Food Microbiol. 5, 95–101. doi: 10.1016/0168-1605(87)90026-2

de Koning-Ward, T. F. und R. M. Robins-Browne (1997). A novel mechanism of urease regulation in *Yersinia enterocolitica*. FEMS Microbiol Lett. 1997 Feb 15;147(2):221-6. doi: 10.1111/j.1574-6968.1997.tb10245.x.

Dedié, K., J. Bockmühl, H. Kühn, K.-J. Volkmer und T. Weinke (1993). Tuberkulosen und Mykobakterien als Zoonosen. Bakterielle Zoonosen bei Tier und Mensch, Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, S: 335-362.

Deutscher-Jagdverband (2019). Handbuch 2019.

Doyle, M. P. und M. B. Hugdahl (1983). Improved procedure for recovery of *Yersinia enterocolitica* from meats. Appl Environ Microbiol. 1983 Jan;45(1):127-35. doi: 10.1128/AEM.45.1.127-135.1983.

EFSA/ECDC European Food Safety Authority (2018). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017.

Euzéby, J. P. (1997). List of Bacterial Names with Standing in Nomenclature: a Folder Available on the Internet. Int J Syst Bacteriol. 1997 Apr;47(2):590-2. doi: 10.1099/00207713-47-2-590.

Ewing, W. H., A. J. Ross, D. J. Brenner und G. R. Fanning (1978). *Yersinia ruckeri* sp. nov., the Redmouth (RM) Bacterium. Int J Syst Evol Microbiol. January 1978,28: 37-44. doi: /10.1099/00207713-28-1-37

- Fàbrega, A. und J. Vila (2012). *Yersinia enterocolitica*: pathogenesis, virulence and antimicrobial resistance. *Enferm Infect Microbiol Clin*. 2012 Jan;30(1):24-32. doi: 10.1016/j.eimc.2011.07.017. Epub 2011 Oct 22.
- Falcao, J., M. Brocchi, J. Proença-Módena, G. Acrani, E. Correa und D. Falcao (2004). Virulence characteristics and epidemiology of *Yersinia enterocolitica* and *Yersiniae* other than *Y. pseudotuberculosis* and *Y. pestis* isolated from water and sewage. *J Appl Microbiol*. 2004;96(6):1230-6. doi: 10.1111/j.1365-2672.2004.02268.x.
- Falcao, J. P., D. P. Falcao, A. Pitondo-Silva, A. C. Malaspina und M. Brocchi (2006). Molecular typing and virulence markers of *Yersinia enterocolitica* strains from human, animal and food origins isolated between 1968 and 2000 in Brazil. *J Med Microbiol*. 2006 Nov;55(Pt 11):1539-1548. doi: 10.1099/jmm.0.46733-0.
- Fehlhaber, K. (1992). Mikroorganismen. Fehlhaber, K. u. Janetschke, P.(Hrsg.): Veterinärmedizinische Lebensmittelhygiene. Gustav Fischer Verlag, Jena, Stuttgart: 24-83.
- Frati, P., F. P. Busardò, M. A. Di Stefano, M. Neri, F. Sessa und V. Fineschi (2015). A fatal case of post-transfusion sepsis caused by *Yersinia enterocolitica* after delivery. *Blood Transfus*. 2015 Jul;13(3):528-31. doi: 10.2450/2015.0209-14. Epub 2015 Jan 26.
- Frederiksen, W. (1964). A study of some *Yersinia pseudotuberculosis*-like bacteria ("*Bacterium enterocoliticum*" and "*Pasteurella X*"). *Scand. Congr. Pathol. Microbiol* **14**: 103-104.

Fredriksson-Ahomaa, M. (2017). *Yersinia enterocolitica*. Kapitel 9 in Foodborne Diseases, Elsevier: 223-233. doi: 10.1016/B978-0-12-385007-2.00009-7

Fredriksson-Ahomaa, M., M. Bucher, C. Hank, A. Stolle und H. Korkeala (2001). High prevalence of *Yersinia enterocolitica* 4: 03 on pig offal in Southern Germany: A slaughtering techniques problem. Syst Appl Microbiol. 2001 Nov;24(3):457-63. doi: 10.1078/0723-2020-00055.

Fredriksson-Ahomaa, M., B. Hartmann, P. Scheu und A. Stolle (2007). Detection of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in meat using real-time PCR. J Verbr Lebensmit. 2007; 2: 202-208. doi: 10.1007/s00003-007-0168-9.

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. J Food Prot. 1999 Feb;62(2):123-7. doi: 10.4315/0362-028x-62.2.123.

Fredriksson-Ahomaa, M. und H. Korkeala (2003). Low Occurrence of Pathogenic *Yersinia enterocolitica* in Clinical, Food, and Environmental Samples: a Methodological Problem. Clin Microbiol Rev. 2003 Apr;16(2):220-9. doi: 10.1128/cmr.16.2.220-229.2003.

Fredriksson-Ahomaa, M., T. Korte und H. Korkeala (2000). Contamination of carcasses, offals, and the environment with *yadA*-positive *Yersinia enterocolitica* in a pig slaughterhouse. J Food Prot. 2000 Jan;63(1):31-5. doi: 10.4315/0362-028x-63.1.31.

Fredriksson-Ahomaa, M., U. Lyhs, T. Korte und H. Korkeala (2001). Prevalence of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in food samples at retail level in Finland. Arch Lebensmittelhyg. 2001 52: 66-68. ISSN: 0003-925X.

Fredriksson-Ahomaa, M., A. Stolle und H. Korkeala (2006). Molecular epidemiology of *Yersinia enterocolitica* infections. FEMS Immunol Med Microbiol. 2006 Aug;47(3):315-29. doi: 10.1111/j.1574-695X.2006.00095.x.

Fredriksson-Ahomaa, M., A. Stolle, A. Siitonen und H. Korkeala (2006). Sporadic human *Yersinia enterocolitica* infections caused by bioserotype 4/O: 3 originate mainly from pigs. J Med Microbiol. 2006 Jun;55(Pt 6):747-749. doi: 10.1099/jmm.0.46523-0.

Fredriksson-Ahomaa, M. und S. Wacheck (2011). Enteropathogene Yersinien: Pathogenität, Erkrankung, Diagnostik und Präventionsmaßnahmen, Behr's Verlag GmbH u Co. KG. 2001: 1. ISBN: 978-3-89947-829-7.

Fredriksson-Ahomaa, M., S. Wacheck, R. Bonke und R. Stephan (2011). Different enteropathogenic *Yersinia* strains found in wild boars and domestic pigs. Foodborne Pathog Dis. 2011 Jun;8(6):733-7. doi: 10.1089/fpd.2010.0711. Epub 2011 Feb 2.

Fredriksson-Ahomaa, M., S. Wacheck, M. Koenig, A. Stolle und R. Stephan (2009). Prevalence of pathogenic *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis* in wild boars in Switzerland. Int J Food Microbiol. 2009 Nov 15;135(3):199-202. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2009.08.019. Epub 2009 Aug 22.

Fredriksson-Ahomaa, M., T. Korte und H. Korkeala (2001). Transmission of *Yersinia enterocolitica* 4/O: 3 to pets via contaminated pork. Lett Appl Microbiol. 2001 Jun;32(6):375-8. doi: 10.1046/j.1472-765x.2001.00922.x.

Fredriksson-Ahomaa, M., M. Lindström und H. Korkeala (2009). *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis*. Pathogens and toxins in foods: challenges and interventions: CHapt.11: 2009; 164-180. doi.:10.1128/9781555815936.ch11

Fukushima, H., R. Nakamura, Y. Ito, K. Saito, M. Tsubokura und K. Otsuki (1984). Ecological studies of *Yersinia enterocolitica*. II. Experimental infection with *Y. enterocolitica* in pigs. Vet Microbiol. 1984 Aug;9(4):375-81. doi: 10.1016/0378-1135(84)90006-3.

Galindo, C. L., J. A. Rosenzweig, M. L. Kirtley und A. K. Chopra (2011). Pathogenesis of *Y. enterocolitica* and *Y. pseudotuberculosis* in human yersiniosis. J Pathog. 2011;2011:182051. doi: 10.4061/2011/182051. Epub 2011 Sep 12.

Garzetti, D., R. Susen, A. Fruth, E. Tietze, J. Heesemann und A. Rakin (2014). A molecular scheme for *Yersinia enterocolitica* patho-serotyping derived from genome-wide analysis. Int J Med Microbiol. 2014 May;304(3-4):275-83. doi: 10.1016/j.ijmm.2013.10.007. Epub 2013 Oct 24.

Gripenberg-Lerche, C., L. Zhang, P. Ahtonen, P. Toivanen und M. Skurnik (2000). Construction of urease-negative mutants of *Yersinia enterocolitica* serotypes O: 3 and O: 8: role of urease in virulence and arthritogenicity. Infect Immun. 2000 Feb;68(2):942-7. doi: 10.1128/iai.68.2.942-947.2000.

Grötzbach, B. (2007). Nachweis von pathogener *Yersinia enterocolitica* in Rohfleisch- und Rohfleischerzeugnissen von Rind, Schwein und Geflügel mit modernen molekularbiologischen Methoden. Dissertation Tierärztliche Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

Gupta, V., P. Gulati, N. Bhagat, M. S. Dhar und J. S. Viridi (2015). Detection of *Yersinia enterocolitica* in food: an overview. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2015 Apr;34(4):641-50. doi: 10.1007/s10096-014-2276-7. Epub 2014 Nov 20.

Hallanvuo, S. (2009). Foodborne *Yersinia*: Identification and molecular epidemiology of isolates from human infections. PhD Thesis. National Institute for Health and Welfare, Finland, Research 11/2009:132 pp.

Hanna, M., J. Stewart, Z. Carpenter und C. Vanderzant (1977). Effect of heating, freezing, and pH on *Yersinia enterocolitica*-like organisms from meat. J Food Prot. 1977 Oct;40(10):689-692. doi: 10.4315/0362-028X-40.10.689.

Heesemann, J. (1990). Enteropathogenic *Yersinia*: pathogenicity factors and new diagnostic methods. Immun Infect. 1990 Dec;18(6):186-91.

Heesemann, J., K. Hantke, T. Vocke, E. Saken, A. Rakin, I. Stojiljkovic und R. Berner (1993). Virulence of *Yersinia enterocolitica* is closely associated with siderophore production, expression of an iron-repressible outer membrane polypeptide of 65 000 Da and pesticin sensitivity. Mol microbiol. Apr 1993, 8(2):397-408. doi. 10.1111/j.1365-2958.1993.tb01583.x.

Hoffmann, D. (2013). Wie viel Wild wird in Jägerfamilien verzehrt?

Auswertung einer Fragebogenerhebung des DJV, „Alle(s) Wild“-Symposium des Bundesinstitutes für Risikobewertung, Berlin. März 2013

Holt, J., N. Krieg, P. Sneath, J. Staley und S. Williams (1994). Bergey's manual of determinative microbiology. Williams and Wilkins, Baltimore. S. 498-506

Hoogkamp-Korstanje, J. (1990). Clinical aspects, diagnosis and therapy of *Yersinia enterocolitica* infections. Immun Infect. 1990 Dec;18(6):192-7.

Huovinen, E., L. M. Sihvonen, M. J. Virtanen, K. Haukka, A. Siitonen und M. Kuusi (2010). Symptoms and sources of *Yersinia enterocolitica*-infection: a case-control study. BMC Infect Dis. 2010 May 20;10:122. doi: 10.1186/1471-2334-10-122.

Jamali, H., M. Paydar, B. Radmehr und S. Ismail (2015). Prevalence, characterization, and antimicrobial resistance of *Yersinia* species and *Yersinia enterocolitica* isolated from raw milk in farm bulk tanks. J Dairy Sci. 2015 Feb;98(2):798-803. doi: 10.3168/jds.2014-8853. Epub 2014 Dec 12.

Johannessen, G. S., G. Kapperud und H. Kruse (2000). Occurrence of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in Norwegian pork products determined by a PCR method and a traditional culturing method. Int J Food Microbiol. 2000 Mar 10;54(1-2):75-80. doi: 10.1016/s0168-1605(99)00173-7.

Joutsen, S., E. Sarno, M. Fredriksson-Ahomaa, N. Cernela und R. Stephan (2013). Pathogenic *Yersinia enterocolitica* O: 3 isolated from a hunted wild alpine ibex. Epidemiol Infect. 2013 Mar;141(3):612-7. doi: 10.1017/S0950268812001239. Epub 2012 Jun 15.

Kapperud, G. (1981). Survey on the reservoirs of *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia enterocolitica*-like bacteria in Scandinavia. Acta Pathol Microbiol Scand B. 1981 Feb;89(1):29-35. doi: 10.1111/j.1699-0463.1981.tb00148_89b.x.

Kapperud, G. (1991). *Yersinia enterocolitica* in food hygiene. Int J Food Microbiol. 1991 Jan;12(1):53-65. doi: 10.1016/0168-1605(91)90047-s.

Kapperud, G., E. Namork, M. Skurnik und T. Nesbakken (1987). Plasmid-mediated surface fibrillae of *Yersinia pseudotuberculosis* and *Yersinia enterocolitica*: relationship to the outer membrane protein YOP1 and possible importance for pathogenesis. Infect Immun.55:2247–2254.

Kerber, J. (1997). Untersuchungen zum Vorkommen von *Yersinia enterocolitica* in den Luftwegen von Schweineschlachtkörpern mit bekanntem sowie unbekanntem serologischen Status und Nachweis von Yersinien im daraus hergestellten Wurstbrät. Dissertation Freie Universität Berlin.

Kleemann, J. und T. Bergann (1996). Model experiments to establish behaviour of *Yersinia enterocolitica* O: 9 strains in various types of fresh dry sausage. J Appl Bacteriol. 1996 Jan;80(1):10-2. doi: 10.1111/j.1365-2672.1996.tb03182.x.

Knapp, W. und E. Thal (1963). Investigations on the Cultural--Biochemical, Serologic, Experimental Animal and Immunologic Properties of a Type of Bacteria called temporarily "*Pasteurella X*". Zentralbl Bakteriolog Orig. 1963 Dez;190:472-84. PMID: 14166426.

Kwaga, J., J. O. Iversen und V. Misra (1992). Detection of pathogenic *Yersinia enterocolitica* by polymerase chain reaction and digoxigenin-labeled polynucleotide probes. J Clin Microbiol. 30 (1992), pp. 2668-2673.

Lafleur, L., C. H. Pai und M. I. Marks (2018). *Yersinia enterocolitica* gastroenteritis in children and their families. J Pediatr. 1980 Jan;96(1):26-31. doi: 10.1016/s0022-3476(80)80318-0.

Lambertz, S. T., K. Granath, M. Fredriksson-Ahomaa, K.-E. Johansson und M.-L. Danielsson-Tham (2007). Evaluation of a combined culture and PCR method (NMKL-163A) for detection of presumptive pathogenic *Yersinia enterocolitica* in pork products. J Food Prot. 2007 Feb;70(2):335-40. doi: 10.4315/0362-028x-70.2.335.

Lambertz, S. T., C. Nilsson, S. Hallanvuo und M. Lindblad (2008). Real-time PCR method for detection of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in food. Appl. Environ. Microbiol. 2008 Oct;74(19):6060-7. doi: 10.1128/AEM.00405-08. Epub 2008 Aug 15.

Landesbetrieb Forst Brandenburg; Landeskompetenzzentrum Forst Eberswalde; Referat 35: Oberste Jagd- Und Fischereibehörde (2018). Jagdbericht des Landes Brandenburg 2016 / 2017.

Langeland, G. (1983). *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia enterocolitica*-like bacteria in drinking water and sewage sludge. Acta Pathol Microbiol Immunol Scand B. 1983 Jun;91(3):179-85. doi: 10.1111/j.1699-0463.1983.tb00030.x.

Laukkanen-Ninios, R., M. Fredriksson-Ahomaa, R. Maijala und H. Korkeala (2014). High prevalence of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in pig cheeks. Food Microbiol. 2014 Oct;43:50-2. doi: 10.1016/j.fm.2014.04.016. Epub 2014 May 4.

Laukkanen, R., M. Hakkinen, J. Lundén, M. Fredriksson-Ahomaa, T. Johansson und H. Korkeala (2010). Evaluation of isolation methods for pathogenic *Yersinia enterocolitica* from pig intestinal content. J Appl Microbiol. 2010 Mar;108(3):956-64. doi: 10.1111/j.1365-2672.2009.04494.x. Epub 2009 Jul 23.

Li, C., G. Gözl, T. Alter, A. Barac, S. Hertwig und C. Riedel (2018). Prevalence and antimicrobial resistance of *Yersinia enterocolitica* in retail seafood. J Food Prot. 2018 Feb 23;497-501. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-17-357.

Lindblad, M., H. Lindmark, S. T. Lambertz und R. Lindqvist (2006). Microbiological baseline study of broiler chickens at Swedish slaughterhouses. J Food Prot. 2006 Dec;69(12):2875-82. doi: 10.4315/0362-028x-69.12.2875.

Loock, M. (2018). Untersuchung zum Vorkommen von Zoonoseerregern bei Reh- und Schwarzwild in ausgewählten Landkreisen Niedersachsens. Dissertation Tierärztliche Hochschule Hannover.

Martini, A., M. Fantasia und A. Raballo (1989). *Yersinia enterocolitica* 08" American strain" isolated in Italy. Microbiologica. 1989 Oct;12(4):345-7.

Massa, S., D. Cesaroni, G. Poda und L. Trovatelli (1988). Isolation of *Yersinia enterocolitica* and related species from river water. Zentralbl Mikrobiol. 1988;143(8):575-81.

Messelhäuser, U., P. Kämpf, J. Colditz, H. Bauer, H. Schreiner, C. Höller und U. Busch (2011). Qualitative and quantitative detection of human pathogenic *Yersinia enterocolitica* in different food matrices at retail level in Bavaria. Foodborne Pathog Dis. 2011 Jan;8(1):39-44. doi: 10.1089/fpd.2010.0589. Epub 2010 Oct 30.

Meyer, C., A. Stolle und M. Fredriksson-Ahomaa (2011). Comparison of broth microdilution and disk diffusion test for antimicrobial resistance testing in *Yersinia enterocolitica* 4/O: 3

strains. *Micro Drug Resist.* 2011 Sep;17(3):479-84. doi: 10.1089/mdr.2011.0012. Epub 2011 May 13.

Mitrovic, R., V. Jankovic, J. Ciric, V. Djordjevic, Z. L. Juric, M. Mitrovic-Stanivuk und B. Baltic (2019). Physical properties (pH and aw value) of fermented sausages inoculated with *Yersinia enterocolitica*. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, IOP Publishing.

Myers, K., J. Gaba und S. Al-Khaldi (2006). Molecular identification of *Yersinia enterocolitica* isolated from pasteurized whole milk using DNA microarray chip hybridization. *Mol Cell Probes.* 2006 Apr;20(2):71-80. doi: 10.1016/j.mcp.2005.09.006. Epub 2005 Dec 5.

Najdenski, H., S. Nikolova, A. Vesselinova und P. Neikov (1998). Studies of *Yersinia enterocolitica* 0: 3 experimental infection in pigs. *Zentralbl Veterinarmed B.* 1998 Feb;45(1):59-64. doi: 10.1111/j.1439-0450.1998.tb00767.x.

Nesbakken, T., T. Iversen, K. Eckner und B. Lium (2006). Testing of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in pig herds based on the natural dynamic of infection. *Int J Food Microbiol.* 2006 Sep 1;111(2):99-104. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2006.04.019. Epub 2006 Aug 7.

Neubauer, H., S. Aleksic, A. Hensel, E. J. Finke und H. Meyer (2000). *Yersinia enterocolitica* 16S rRNA gene types belong to the same genospecies but form three homology groups. *Int J Med Microbiol.* 2000 Mar;290(1):61-4. doi: 10.1016/S1438-4221(00)80107-1.

Neubauer, H., A. Hensel, S. Aleksic und H. Meyer (2000). Identification of *Yersinia enterocolitica* within the genus *Yersinia*. Syst Appl Microbiol. 2000 Apr;23(1):58-62. doi: 10.1016/S0723-2020(00)80046-6.

Neubauer, H., T. Sauer, H. Becker, S. Aleksic und H. Meyer (1998). Comparison of Systems for Identification and Differentiation of Species within the Genus *Yersinia*. J Clin Microbiol. 1998 Nov;36(11):3366-8. doi: 10.1128/JCM.36.11.3366-3368.1998.

Neubauer, H., L. Sprague, H. Scholz und A. Hensel (2001). Die Diagnostik der *Yersinia enterocolitica* Infektionen: Eine Übersicht über klassische Nachweistechiken und neue molekularbiologische Methoden. Berl Munch Tierarztl Wochenschr. Jan-Feb 2001;114(1-2):1-7

Neubauer, H., L. Sprague, H. Scholz und A. Hensel (2001). *Yersinia enterocolitica* infections: 1. Impact on animal health. Berl Munch Tierarztl Wochenschr. Jan-Feb 2001;114(1-2):8-12.

Nielsen, B., C. Heisel und A. Wingstrand (1996). Time course of the serological response to *Yersinia enterocolitica* O: 3 in experimentally infected pigs. Vet Microbiol. 1996 Feb;48(3-4):293-303. doi: 10.1016/0378-1135(95)00147-6.

Nilehn, B. (1969). Studies on *Yersinia enterocolitica* growth on various solid media at 37 °C and 25 °C. Acta Pathol Microbiol Scand. 1969;77(4):685-97.

Novoslavskij, A., E. Kudirkienė, A. Marcinkutė, A. Bajoriūnienė, H. Korkeala und M. Malakauskas (2013). Genetic diversity and antimicrobial resistance of *Yersinia enterocolitica* isolated from pigs and humans in Lithuania. *J Food Agric.* 2013 Jun;93(8):1858-62. doi: 10.1002/jsfa.5980. Epub 2012 Dec 12.

Nowakiewicz, A., P. Zięba, G. Ziółkowska, S. Gnat, M. Muszyńska, K. Tomczuk, B. M. Dziedzic, Ł. Ulbrych und A. Trościańczyk (2016). Free-living species of carnivorous mammals in Poland: Red fox, beech marten, and raccoon as a potential reservoir of *Salmonella*, *Yersinia*, *Listeria* spp. and coagulase-positive *Staphylococcus*. *PloS one.* 2016;11(5):e0155533. doi: 10.1371/journal.pone.0155533

Özdemir, F. und S. Arslan (2015). Genotypic and phenotypic virulence characteristics and antimicrobial resistance of *Yersinia* spp. isolated from meat and milk products. *J Food Sci.* 2015 Jun;80(6):M1306-13. doi: 10.1111/1750-3841.12911. Epub 2015 May 12.

Parte, A. C. (2014). LPSN—list of prokaryotic names with standing in nomenclature. *Nucleic Acids Res.* 2014 Jan;42(Database issue):D613-6. doi: 10.1093/nar/gkt1111. Epub 2013 Nov 15.

Pepe, J. C., J. L. Badger und V. L. Miller (1994). Growth phase and low pH affect the thermal regulation of the *Yersinia enterocolitica inv* gene. *Mol Microbiol.* 1994 Jan;11(1):123-35. doi: 10.1111/j.1365-2958.1994.tb00295.x.

Perry, R. und R. Brubaker (1983). Vwa⁺ phenotype of *Yersinia enterocolitica*. *Infect Immun.* 1983 Apr;40(1):166-71. doi: 10.1128/IAI.40.1.166-171.1983.

Petsios, S., M. Fredriksson-Ahomaa, H. Sakkas und C. Papadopoulou (2016). Conventional and molecular methods used in the detection and subtyping of *Yersinia enterocolitica* in food. Int J Food Microbiol. 2016 Nov 21;237:55-72. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2016.08.015. Epub 2016 Aug 12.

Pham, J. N., S. M. Bell, L. Martin und E. Carniel (2000). The β -lactamases and β -lactam antibiotic susceptibility of *Yersinia enterocolitica*. J Antimicrob Chemother. 2000 Dez;46(6):951-7. doi: 10.1093/jac/46.6.951.

Pierson, D. E. und S. Falkow (1990). Nonpathogenic isolates of *Yersinia enterocolitica* do not contain functional *inv*-homologous sequences. Infect Immun. 1990 Apr;58(4):1059-64. doi: 10.1128/IAI.58.4.1059-1064.1990.

Prohaska, S. N. (2009). Entwicklung eines kombinierten Verfahrens zum Nachweis von pathogenen *Yersinia enterocolitica* in Schweinefleisch mittels Real-Time PCR und Kolonie-DNA-Hybridisierung. Dissertation Tierärztliche Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München.

Råsbäck, T., T. Rosendal, M. Stampe, A. Sannö, A. Aspán, K. Järnevi und E. T. Lahti (2018). Prevalence of human pathogenic *Yersinia enterocolitica* in Swedish pig farms. Acta Vet Scand. 2018 Jun 25;60(1):39. doi: 10.1186/s13028-018-0393-5.

Rastawicki, W., R. Gierczyński, M. Jagielski, S. Kałużewski und J. Jeljaszewicz (2000). Susceptibility of Polish clinical strains of *Yersinia enterocolitica* serotype O3 to antibiotics. Int J Antimicrob Agents. 2000 Feb;13(4):297-300. doi: 10.1016/s0924-8579(99)00126-0.

Revell, P. A. und V. L. Miller (2001). *Yersinia* virulence: more than a plasmid. FEMS Microbiol Lett. 2001 Dec 18;205(2):159-64. doi: 10.1111/j.1574-6968.2001.tb10941.x.

Rizzardi, K., T. Wahab und C. Jernberg (2013). Rapid subtyping of *Yersinia enterocolitica* by matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) for diagnostics and surveillance. J Clin Microbiol. 2013 Dez.;51(12):4200-3. doi: 10.1128/JCM.01416-13.

Robert-Koch-Institut (2019). Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2018.

Rosner, B. M., K. Stark, M. Hohle und D. Werber (2012). Risk factors for sporadic *Yersinia enterocolitica* infections, Germany 2009-2010. Epidemiol Infect. 2012 Oct;140(10):1738-47. doi: 10.1017/S0950268811002664.

Rosner, B. M., K. Stark und D. Werber (2010). Epidemiology of reported *Yersinia enterocolitica* infections in Germany, 2001-2008. BMC Public Health. 2010 Jun 14;10:337. doi: 10.1186/1471-2458-10-337.

Sannö, A., T. Rosendal, A. Aspán, A. Backhans und M. Jacobson (2018). Distribution of enteropathogenic *Yersinia* spp. and *Salmonella* spp. in the Swedish wild boar population, and assessment of risk factors that may affect their prevalence. Acta Vet Scand. 2018 Jul 3;60(1):40. doi: 10.1186/s13028-018-0395-3.

Scherling, L. (1989). Zum Hygienestatus von Schwarzwildbret aus dem Staatsrevier Forstenried. Dissertation tierärztliche Fakultät Ludwig-Maximilians-Universität München.

Schiemann, D. (1979). Synthesis of a selective agar medium for *Yersinia enterocolitica*. Can J Microbiol. 1979 Nov;25(11):1298-1304. doi: 10.1139/m79-205.

Schiemann, D. (1982). Development of a two-step enrichment procedure for recovery of *Yersinia enterocolitica* from food. Appl Environ Microbiol. 1982 Jan;43(1):14-27. doi: 10.1128/AEM.43.1.14-27.1982.

Schiemann, D. (1989). *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis*. M. P. Doyle. Foodborne Bacterial Pathogens. New York, USA : Marcel Dekker, 1989, S. 601-672.

Schiemann, D. und G. Wauters (1992). *Yersinia*. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 3.ed., American Public Health Association, Washington, S. 433-450.

Schleifstein, J. und M. Coleman (1939). An unidentified microorganism Resrmbing *B. lignieri* and *Past. pseudotuberculosis*, and pathogenic for man. N. Y. State J. Med. 39, 1749-1753. ISSN: 0028-7628

Schubert, S., J. Bockemühl, U. Brendler und J. Heesemann (2003). First isolation of virulent *Yersinia enterocolitica* O8, biotype 1B in Germany. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2003 Jan;22(1):66-8. doi: 10.1007/s10096-002-0859-1.

Sharma, S., P. Ramnani und J. S. Viridi (2004). Detection and assay of β -lactamases in clinical and non-clinical strains of *Yersinia enterocolitica* biovar 1A. J Antimicrob Chemother. 2004 Aug;54(2):401-5. doi: 10.1093/jac/dkh365.

Shayegani, M., W. Stone, I. Deforge, T. Root, L. Parsons und P. Maupin (1986). *Yersinia enterocolitica* and related species isolated from wildlife in New York State. Appl Environ Microbiol. 1986 Sep;52(3):420-4. doi: 10.1128/AEM.52.3.420-424.1986.

Sihvonen, L., K. Haukka, M. Kuusi, M. Virtanen und A. Siitonen (2009). *Yersinia enterocolitica* and *Y. enterocolitica*-like species in clinical stool specimens of humans: identification and prevalence of bio/serotypes in Finland. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2009 Jul;28(7):757-65. doi: 10.1007/s10096-008-0696-y.

Sihvonen, L. M., S. Hallanvuo, K. Haukka, M. Skurnik und A. Siitonen (2011). The *ail* gene is present in some *Yersinia enterocolitica* biotype 1A strains. Foodborne Pathog Dis. 2011 Mar;8(3):455-7. doi: 10.1089/fpd.2010.0747.

Singhal, N., A. Srivastava, M. Kumar und J. S. Viridi (2015). Structural variabilities in β -lactamase (*blaA*) of different biovars of *Yersinia enterocolitica*: Implications for β -lactam antibiotic and β -lactamase inhibitor susceptibilities. PloS One. 10: e0123564. doi: 10.1371/journal.pone.0123564

Skjerve, E., B. Lium, B. Nielsen und T. Nesbakken (1998). Control of *Yersinia enterocolitica* in pigs at herd level. Int J Food Microbiol. 1998 Dec 22;45(3):195-203. doi: 10.1016/s0168-1605(98)00162-7.

Skurnik, M. und P. Toivanen (1992). LcrF is the temperature-regulated activator of the *yadA* gene of *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis*. J Bacteriol. 1992 Mar;174(6):2047-51. doi: 10.1128/jb.174.6.2047-2051.1992.

Stenseth, N. C., B. B. Atshabar, M. Begon, S. R. Belmain, E. Bertherat, E. Carniel, K. L. Gage, H. Leirs und L. Rahalison (2008). Plague: Past, Present, and Future. PLoS Med. 2008 Jan 15;5(1):e3. doi: 10.1371/journal.pmed.0050003.

Stephan, R., S. Joutsen, E. Hofer, E. Sade, J. Bjorkroth, D. Ziegler und M. Fredriksson-Ahomaa (2013). Characteristics of *Yersinia enterocolitica* biotype 1A strains isolated from patients and asymptomatic carriers. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2013 Jul;32(7):869-75. doi: 10.1007/s10096-013-1820-1.

Stock, I., P. Heisig und B. Wiedemann (2000). β -Lactamase expression in *Yersinia enterocolitica* biovars 1A, 1B and 3. J Med Microbiol. 2000 May;49(5):403-408. doi: 10.1099/0022-1317-49-5-403.

Strobel, E., J. Heesemann, G. Mayer, J. Peters, S. Müller-Wehrich und P. Emmerling (2000). Bacteriological and serological findings in a further case of transfusion-mediated *Yersinia enterocolitica* sepsis. J Clin Microbiol. 2000 Jul;38(7):2788-90. doi: 10.1128/JCM.38.7.2788-2790.2000.

Swaminathan, B., M. T. Harmon und I. Mehlman (1982). A review: *Yersinia enterocolitica*. J Appl Bacteriol. 1982 Apr;52(2):151-83. doi: 10.1111/j.1365-2672.1982.tb04838.x.

Szczyło, K., A. Platt-Samoraj, A. Bancercz-Kisiel, A. Szczerba-Turek, J. Pajdak-Czaus, S. Łabuć, Z. Procajło, P. Socha, G. Chuzhebayeva und W. Szweda (2018). The prevalence of *Yersinia enterocolitica* in game animals in Poland. PloS One. 2018 Mar 29;13(3):e0195136. doi: 10.1371/journal.pone.0195136. eCollection 2018.

Szych, J., W. Rastawicki, R. Gierczyński, R. Krygier, A. Mądroczyk und A. Cieślik (2004). First isolation of virulent *Yersinia enterocolitica* O8, biotype 1B in Poland. Post Mikrobiol. 43: 159.

Tennant, S. M., T. H. Grant und R. M. Robins-Browne (2003). Pathogenicity of *Yersinia enterocolitica* biotype 1A. FEMS Immunol Med Microbiol. 2003 Sep 22;38(2):127-37. doi: 10.1016/S0928-8244(03)00180-9.

Terech-Majewska, E., J. Pajdak, A. Platt-Samoraj, A. Szczerba-Turek, A. Banczerz-Kisiel und K. Grabowska (2016). Characterization of *Yersinia enterocolitica* strains potentially virulent for humans and animals in river water. J Appl Microbiol. 2016 Aug;121(2):554-60. doi: 10.1111/jam.13182.

Terentjeva, M. und A. Bērziņš (2010). Prevalence and antimicrobial resistance of *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis* in slaughter pigs in Latvia. J Food Prot. 2010 Jul;73(7):1335-8. doi: 10.4315/0362-028x-73.7.1335.

Thibodeau, V., E. Frost, S. Chenier und S. Quessy (1999). Presence of *Yersinia enterocolitica* in tissues of orally-inoculated pigs and the tonsils and feces of pigs at slaughter. Can J Vet Res. 1999 Apr;63(2):96-100.

Thoerner, P., C. B. Kingombe, K. Bögli-Stuber, B. Bissig-Choisat, T. Wassenaar, J. Frey und T. Jemmi (2003). PCR detection of virulence genes in *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis* and investigation of virulence gene distribution. Appl. Environ. Microbiol. 2003 Mar;69(3):1810-6. doi: 10.1128/aem.69.3.1810-1816.2003.

van Loghem, J. J. (1944). The classification of the plague-bacillus. *Antonie van Leeuwenhoek*. 1944-1945;10(1-2):15. doi: 10.1007/BF02272779.

Vishnubhatla, A., R. Oberst, D. Fung, W. Wonglumsom, M. Hays und T. Nagaraja (2001). Evaluation of a 5'-nuclease (TaqMan) assay for the detection of virulent strains of *Yersinia enterocolitica* in raw meat and tofu samples. *J Food Prot*. 2001 Mar;64(3):355-60. doi: 10.4315/0362-028x-64.3.355.

von Altrock, A., D. Seinige und C. Kehrenberg (2015). *Yersinia enterocolitica* Isolates from Wild Boars Hunted in Lower Saxony, Germany. *Appl Environ Microbiol*. 2015 Jul;81(14):4835-40. doi: 10.1128/AEM.00550-15.

Wachek, S. (2008). Mikrobiologische und sensorische Untersuchung tiefgefrorenen Wildbrets im Hinblick auf die Festlegung mikrobiologischer Richtwerte. Dissertation Tierärztliche Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

Wauters, G. (1970). Contribution à l'étude de *Yersinia enterocolitica*. Thesis 'd'agregé', Université Catholique de Louvain, Vander, Louvain, Belgium (1970)

Wauters, G. (1973). Improved methods for the isolation and the recognition of *Yersinia enterocolitica*. *Contrib. Microbiol. Immunol*. 2: 68-70.

Wauters, G., V. Goossens, M. Janssens und J. Vandepitte (1988). New enrichment method for isolation of pathogenic *Yersinia enterocolitica* serogroup O: 3 from pork. *Appl Environ Microbiol*. 1988 Apr;54(4):851-4. doi: 10.1128/AEM.54.4.851-854.1988.

Wauters, G., K. Kandolo und M. Janssens (1987). Revised biogrouping scheme of *Yersinia enterocolitica*. Contrib Microbiol Immunol. 1987;9:14-21.

Woo, P., S. Lau, J. Teng, H. Tse und K.-Y. Yuen (2008). Then and now: use of 16S rDNA gene sequencing for bacterial identification and discovery of novel bacteria in clinical microbiology laboratories. Clin Microbiol Infect. 2008 Oct;14(10):908-34. doi: 10.1111/j.1469-0691.2008.02070.x.

World-Health-Organisation (2017). Fact sheet plague. Oktober 2017.

10 Anhang

Anhang

Tabelle S 1 Probenmerkmale

| Probe | Wildart | Geschlecht ^a | Altersklasse ^b | Landkreis ^c | Lagerungsdauer ^d | Jagdbezirk ^e | PCR ^f | MALDI ^f |
|-------|-------------|-------------------------|---------------------------|------------------------|-----------------------------|-------------------------|------------------|--------------------|
| 1 | Reh | m | 1 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 2 | Rotwild | w | 1 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 3 | Reh | m | 1 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 4 | Reh | w | 2 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 5 | Wildschwein | m | 2 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 6 | Reh | w | 0 | LOS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 7 | Reh | w | 1 | LOS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 8 | Reh | w | 2 | LOS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 9 | Reh | m | 1 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 10 | Wildschwein | w | 2 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 11 | Wildschwein | m | 2 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 12 | Reh | m | 2 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 13 | Reh | w | 2 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 14 | Reh | w | 1 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 15 | Reh | w | 1 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 16 | Reh | m | 0 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 17 | Reh | m | 2 | LOS | 7-13 | SfFü | YE | YE |
| 18 | Wildschwein | m | 1 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 19 | Fuchs | m | 2 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 20 | Fuchs | w | 0 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 21 | Reh | m | 1 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 22 | Reh | w | 2 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 23 | Reh | m | 1 | LOS | 7-13 | SfFü | YE | <i>Serratia</i> |
| 24 | Reh | w | 1 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 25 | Reh | w | 1 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 26 | Reh | w | 0 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 27 | Reh | w | 2 | LOS | 7-13 | SfFü | YE | <i>Serratia</i> |
| 28 | Reh | w | 2 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 29 | Reh | w | 0 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 30 | Reh | w | 2 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 31 | Wildschwein | w | 0 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 32 | Rotwild | m | 1 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 33 | Rotwild | w | 1 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 34 | Rotwild | w | 0 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 35 | Wildschwein | w | 2 | LOS | 7-13 | SfFü | YE | YE |
| 36 | Reh | m | 0 | LOS | 7-13 | SfFü | YE | <i>Serratia</i> |
| 37 | Reh | w | 2 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 38 | Reh | w | 1 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 39 | Reh | w | 0 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 40 | Reh | w | 1 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 41 | Reh | w | 0 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 42 | Reh | w | 2 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 43 | Reh | m | 2 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 44 | Reh | w | 1 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 45 | Reh | m | 0 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 46 | Reh | m | 1 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 47 | Reh | w | 2 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 48 | Rotwild | m | 1 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 49 | Reh | m | 2 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 50 | Rotwild | m | 1 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |

Anhang

Fortsetzung der Tabelle S 1

| Probe | Wildart | Geschlecht ^a | Altersklasse ^b | Landkreis ^c | Lagerungsdauer ^d | Jagdbezirk ^e | PCR ^f | MALDI ^f |
|-------|-------------|-------------------------|---------------------------|------------------------|-----------------------------|-------------------------|------------------|--------------------|
| 51 | Reh | w | 2 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 52 | Reh | w | 0 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 53 | Reh | m | 1 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 54 | Reh | w | 1 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 55 | Reh | m | 0 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 56 | Reh | w | 2 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 57 | Reh | w | 2 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 58 | Reh | m | 1 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 59 | Fuchs | w | 1 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 60 | Fuchs | m | 2 | LOS | 7-13 | SfFü | YE | YE |
| 61 | Fuchs | m | 1 | LOS | 7-13 | SfFü | YE | YE |
| 62 | Reh | w | 2 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 63 | Reh | w | 2 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 64 | Reh | w | 0 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 65 | Reh | w | 2 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 66 | Rotwild | w | 1 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 67 | Wildschwein | m | 1 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 68 | Wildschwein | m | 1 | SPN | 7-13 | andere | YE | YE |
| 69 | Wildschwein | w | 1 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 70 | Rotwild | w | 1 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 71 | Wildschwein | w | 0 | LOS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 72 | Wildschwein | w | 2 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 73 | Reh | w | 2 | LOS | 7-13 | andere | YE | YE |
| 74 | Fuchs | m | 2 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 75 | Reh | w | 0 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 76 | Wildschwein | m | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 77 | Wildschwein | m | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 78 | Reh | m | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 79 | Reh | m | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 80 | Reh | w | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 81 | Reh | w | 2 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 82 | Reh | w | 2 | LDS | 0-6 | andere | YE | <i>Serratia</i> |
| 83 | Fuchs | w | 2 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 84 | Rotwild | w | 2 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 85 | Wildschwein | w | 0 | SPN | 7-13 | andere | YE | <i>Serratia</i> |
| 86 | Reh | w | 1 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 87 | Rotwild | w | 2 | SPN | 7-13 | andere | YE | YE |
| 88 | Reh | m | 1 | SPN | 7-13 | andere | YE | <i>Serratia</i> |
| 89 | Wildschwein | m | 1 | SPN | 7-13 | andere | YE | <i>Serratia</i> |
| 90 | Rotwild | m | 0 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 91 | Reh | w | 2 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 92 | Rotwild | w | 1 | LOS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 93 | Fuchs | m | 2 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 94 | Rotwild | w | 2 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 95 | Rotwild | w | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 96 | Wildschwein | w | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 97 | Wildschwein | w | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 98 | Wildschwein | w | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 99 | Wildschwein | w | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 100 | Wildschwein | w | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |

Anhang

Fortsetzung der Tabelle S 1

| Probe | Wildart | Geschlecht ^a | Altersklasse ^b | Landkreis ^c | Lagerungsdauer ^d | Jagdbezirk ^e | PCR ^f | MALDI ^f |
|-------|-------------|-------------------------|---------------------------|------------------------|-----------------------------|-------------------------|------------------|--------------------|
| 101 | Wildschwein | w | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 102 | Wildschwein | m | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 103 | Wildschwein | w | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 104 | Wildschwein | w | 1 | SPN | 0-6 | andere | YE | YE |
| 105 | Wildschwein | w | 2 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 106 | Wildschwein | w | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 107 | Wildschwein | m | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 108 | Wildschwein | m | 1 | SPN | 0-6 | andere | YE | <i>Serratia</i> |
| 109 | Wildschwein | w | 2 | SPN | 0-6 | andere | YE | <i>Serratia</i> |
| 110 | Wildschwein | w | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 111 | Wildschwein | m | 2 | SPN | 0-6 | andere | YE | <i>Morganella</i> |
| 112 | Wildschwein | m | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 113 | Wildschwein | m | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 114 | Wildschwein | w | 1 | SPN | 0-6 | andere | YE | <i>Serratia</i> |
| 115 | Wildschwein | m | 1 | SPN | 0-6 | andere | YE | YE |
| 116 | Wildschwein | m | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 117 | Wildschwein | w | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 118 | Wildschwein | m | 0 | SPN | 0-6 | andere | YE | <i>Serratia</i> |
| 119 | Wildschwein | w | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 120 | Wildschwein | m | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 121 | Wildschwein | w | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 122 | Wildschwein | w | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 123 | Wildschwein | w | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 124 | Reh | w | 2 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 125 | Reh | w | 2 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 126 | Rotwild | w | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 127 | Wildschwein | m | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 128 | Wildschwein | m | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 129 | Reh | w | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 130 | Reh | w | 2 | SPN | 0-6 | andere | YE | <i>Serratia</i> |
| 131 | Wildschwein | m | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 132 | Reh | m | 2 | LOS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 133 | Reh | m | 2 | LOS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 134 | Reh | w | 1 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 135 | Reh | m | 0 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 136 | Reh | w | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 137 | Reh | w | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 138 | Reh | w | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 139 | Reh | m | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 140 | Wildschwein | m | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 141 | Reh | w | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 142 | Reh | w | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 143 | Reh | m | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 144 | Wildschwein | m | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 145 | Wildschwein | w | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 146 | Wildschwein | w | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | YE | YE |
| 147 | Wildschwein | w | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | YE | YE |
| 148 | Wildschwein | m | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 149 | Wildschwein | m | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 150 | Wildschwein | m | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | YE | YE |

Anhang

Fortsetzung der Tabelle S 1

| Probe | Wildart | Geschlecht ^a | Altersklasse ^b | Landkreis ^c | Lagerungsdauer ^d | Jagdbezirk ^e | PCR ^f | MALDI ^f |
|-------|-------------|-------------------------|---------------------------|------------------------|-----------------------------|-------------------------|------------------|--------------------|
| 151 | Wildschwein | w | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 152 | Wildschwein | w | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 153 | Reh | w | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 154 | Reh | w | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 155 | Reh | w | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | YE | <i>Serratia</i> |
| 156 | Wildschwein | w | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | YE | YE |
| 157 | Wildschwein | w | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | YE | YE |
| 158 | Reh | w | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 159 | Reh | w | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 160 | Reh | w | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 161 | Reh | m | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 162 | Reh | w | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | YE | <i>Serratia</i> |
| 163 | Reh | w | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 164 | Wildschwein | w | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | YE | YE |
| 165 | Reh | w | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 166 | Reh | m | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 167 | Reh | m | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 168 | Reh | m | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 169 | Reh | w | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 170 | Wildschwein | w | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 171 | Reh | m | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 172 | Reh | w | 2 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 173 | Reh | w | 2 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 174 | Reh | w | 2 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 175 | Reh | w | 0 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 176 | Rotwild | m | 2 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 177 | Wildschwein | w | 0 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 178 | Reh | w | 1 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 179 | Wildschwein | m | 0 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 180 | Rotwild | m | 2 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 181 | Wildschwein | w | 1 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 182 | Reh | w | 0 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 183 | Wildschwein | w | 1 | LOS | 7-13 | SfFü | YE | YE |
| 184 | Wildschwein | w | 2 | LOS | 7-13 | SfFü | YE | YE |
| 185 | Rotwild | m | 2 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 186 | Rotwild | w | 1 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 187 | Wildschwein | m | 1 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 188 | Reh | m | 2 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 189 | Reh | w | 0 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 190 | Reh | m | 2 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 191 | Wildschwein | m | 1 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 192 | Wildschwein | w | 2 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 193 | Wildschwein | m | 0 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 194 | Wildschwein | w | 0 | SPN | 0-6 | andere | YE | YE |
| 195 | Wildschwein | m | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 196 | Wildschwein | w | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 197 | Wildschwein | m | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 198 | Wildschwein | w | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 199 | Wildschwein | w | 2 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 200 | Reh | w | 2 | LOS | 0-6 | andere | n | n.t. |

Anhang

Fortsetzung der Tabelle S 1

| Probe | Wildart | Geschlecht ^a | Altersklasse ^b | Landkreis ^c | Lagerungsdauer ^d | Jagdbezirk ^e | PCR ^f | MALDI ^f |
|-------|-------------|-------------------------|---------------------------|------------------------|-----------------------------|-------------------------|------------------|--------------------|
| 201 | Wildschwein | w | 2 | LOS | 0-6 | andere | YE | YE |
| 202 | Fuchs | m | 0 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 203 | Wildschwein | w | 2 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 204 | Wildschwein | w | 1 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 205 | Wildschwein | w | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 206 | Reh | m | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 207 | Reh | w | 2 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 208 | Reh | m | 1 | SPN | 0-6 | andere | YE | YE |
| 209 | Reh | m | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 210 | Wildschwein | m | 0 | SPN | 0-6 | andere | YE | YE |
| 211 | Wildschwein | w | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 212 | Wildschwein | w | 0 | LDS | 0-6 | andere | YE | YE |
| 213 | Reh | w | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 214 | Reh | m | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 215 | Reh | w | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 216 | Reh | w | 2 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 217 | Reh | w | 2 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 218 | Reh | w | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 219 | Reh | w | 2 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 220 | Reh | w | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 221 | Wildschwein | w | 0 | SPN | 0-6 | andere | YE | YE |
| 222 | Wildschwein | m | 0 | SPN | 0-6 | andere | YE | <i>Serratia</i> |
| 223 | Reh | m | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 224 | Reh | m | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 225 | Wildschwein | m | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 226 | Wildschwein | w | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 227 | Wildschwein | m | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 228 | Wildschwein | w | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 229 | Wildschwein | m | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 230 | Wildschwein | m | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 231 | Wildschwein | m | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 232 | Wildschwein | w | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 233 | Wildschwein | m | 0 | LDS | 0-6 | andere | YE | YE |
| 234 | Reh | w | 2 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 235 | Rotwild | w | 0 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 236 | Rotwild | m | 2 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 237 | Rotwild | w | 2 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 238 | Rotwild | w | 0 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 239 | Rotwild | m | 0 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 240 | Reh | m | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 241 | Reh | w | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 242 | Reh | w | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 243 | Reh | m | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | YE | YE |
| 244 | Reh | w | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 245 | Wildschwein | w | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 246 | Reh | w | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 247 | Wildschwein | w | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 248 | Reh | m | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 249 | Reh | w | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 250 | Reh | w | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | YE | <i>Serratia</i> |

Anhang

Fortsetzung der Tabelle S 1

| Probe | Wildart | Geschlecht ^a | Altersklasse ^b | Landkreis ^c | Lagerungsdauer ^d | Jagdbezirk ^e | PCR ^f | MALDI ^f |
|-------|-------------|-------------------------|---------------------------|------------------------|-----------------------------|-------------------------|------------------|--------------------|
| 251 | Reh | w | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | YE | YE |
| 252 | Wildschwein | w | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 253 | Reh | w | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 254 | Reh | w | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 255 | Reh | w | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 256 | Reh | m | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 257 | Reh | m | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 258 | Reh | w | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 259 | Wildschwein | w | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | YE | YE |
| 260 | Fuchs | w | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | YE | <i>Serratia</i> |
| 261 | Rotwild | w | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 262 | Rotwild | w | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | YE | <i>Serratia</i> |
| 263 | Rotwild | w | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 264 | Rotwild | m | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 265 | Rotwild | w | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 266 | Rotwild | w | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 267 | Rotwild | w | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 268 | Rotwild | m | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | YE | <i>Serratia</i> |
| 269 | Rotwild | w | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 270 | Rotwild | w | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 271 | Rotwild | w | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 272 | Rotwild | w | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 273 | Rotwild | w | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 274 | Rotwild | w | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 275 | Rotwild | w | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 276 | Fuchs | m | 2 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 277 | Fuchs | w | 2 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 278 | Fuchs | w | 2 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 279 | Reh | w | 2 | LOS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 280 | Reh | w | 0 | LOS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 281 | Reh | w | 2 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 282 | Reh | m | 0 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 283 | Wildschwein | m | 1 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 284 | Wildschwein | w | 1 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 285 | Wildschwein | w | 1 | LOS | 7-13 | andere | YE | YE |
| 286 | Wildschwein | m | 0 | LOS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 287 | Wildschwein | w | 1 | LOS | 7-13 | andere | YE | YE |
| 288 | Wildschwein | m | 1 | LOS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 289 | Wildschwein | m | 2 | LOS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 290 | Wildschwein | m | 0 | LOS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 291 | Wildschwein | w | 2 | LOS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 292 | Reh | w | 2 | LOS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 293 | Reh | w | 2 | LOS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 294 | Wildschwein | m | 1 | LOS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 295 | Wildschwein | w | 1 | LOS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 296 | Wildschwein | w | 0 | LOS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 297 | Wildschwein | w | 2 | LOS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 298 | Wildschwein | w | 1 | LOS | 7-13 | andere | YE | YE |
| 299 | Wildschwein | w | 1 | LOS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 300 | Wildschwein | w | 2 | LOS | 7-13 | andere | n | n.t. |

Anhang

Fortsetzung der Tabelle S 1

| Probe | Wildart | Geschlecht ^a | Altersklasse ^b | Landkreis ^c | Lagerungsdauer ^d | Jagdbezirk ^e | PCR ^f | MALDI ^f |
|-------|-------------|-------------------------|---------------------------|------------------------|-----------------------------|-------------------------|------------------|--------------------|
| 301 | Reh | w | 1 | LOS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 302 | Reh | w | 2 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 303 | Wildschwein | m | 0 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 304 | Reh | w | 0 | LOS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 305 | Wildschwein | m | 0 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 306 | Fuchs | m | 2 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 307 | Wildschwein | m | 0 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 308 | Rotwild | m | 1 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 309 | Reh | m | 2 | LDS | 7-13 | andere | YE | YE |
| 310 | Rotwild | w | 2 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 311 | Reh | w | 0 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 312 | Reh | w | 0 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 313 | Rotwild | w | 2 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 314 | Rotwild | w | 2 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 315 | Rotwild | w | 2 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 316 | Rotwild | w | 2 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 317 | Rotwild | w | 2 | SPN | 0-6 | andere | YE | YE |
| 318 | Rotwild | w | 2 | SPN | 0-6 | andere | YE | YE |
| 319 | Reh | m | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 320 | Reh | m | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 321 | Reh | m | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 322 | Reh | w | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 323 | Reh | w | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 324 | Reh | m | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 325 | Reh | m | 2 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 326 | Wildschwein | w | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 327 | Wildschwein | m | 0 | SPN | 0-6 | andere | YE | YE |
| 328 | Wildschwein | w | 0 | LDS | 0-6 | andere | YE | <i>Serratia</i> |
| 329 | Wildschwein | m | 1 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 330 | Wildschwein | m | 2 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 331 | Reh | w | 2 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 332 | Reh | m | 0 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 333 | Reh | w | 2 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 334 | Reh | w | 1 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 335 | Reh | w | 1 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 336 | Reh | w | 1 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 337 | Reh | w | 0 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 338 | Reh | m | 0 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 339 | Reh | w | 0 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 340 | Reh | w | 2 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 341 | Reh | w | 2 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 342 | Reh | w | 1 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 343 | Reh | m | 0 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 344 | Reh | w | 1 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 345 | Reh | w | 1 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 346 | Reh | w | 0 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 347 | Rotwild | m | 2 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 348 | Reh | w | 1 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 349 | Reh | m | 0 | LOS | 7-13 | SfFü | YE | YE |
| 350 | Reh | w | 0 | LOS | 7-13 | SfFü | YE | YE |

Anhang

Fortsetzung der Tabelle S 1

| Probe | Wildart | Geschlecht ^a | Altersklasse ^b | Landkreis ^c | Lagerungsdauer ^d | Jagdbezirk ^e | PCR ^f | MALDI ^f |
|-------|-------------|-------------------------|---------------------------|------------------------|-----------------------------|-------------------------|------------------|--------------------|
| 351 | Rotwild | w | 0 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 352 | Reh | w | 0 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 353 | Reh | m | 0 | LOS | 7-13 | SfFü | YE | YE |
| 354 | Reh | m | 0 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 355 | Reh | m | 0 | LOS | 7-13 | SfFü | n | n.t. |
| 356 | Rotwild | w | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 357 | Reh | w | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 358 | Fuchs | m | 2 | LOS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 359 | Fuchs | m | 1 | LOS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 360 | Fuchs | w | 1 | LOS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 361 | Rotwild | w | 1 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 362 | Wildschwein | w | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 363 | Wildschwein | w | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 364 | Wildschwein | m | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 365 | Wildschwein | m | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 366 | Reh | m | 2 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 367 | Reh | w | 0 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 368 | Reh | m | 1 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 369 | Reh | m | 1 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 370 | Reh | m | 2 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 371 | Reh | m | 2 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 372 | Wildschwein | m | 1 | SPN | 7-13 | andere | YE | YE |
| 373 | Reh | w | 1 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 374 | Reh | m | 1 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 375 | Reh | m | 1 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 376 | Reh | m | 1 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 377 | Reh | m | 1 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 378 | Fuchs | w | 1 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 379 | Reh | w | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 380 | Wildschwein | m | 1 | SPN | 0-6 | andere | YE | YE |
| 381 | Wildschwein | w | 1 | SPN | 0-6 | andere | YE | YE |
| 382 | Reh | m | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 383 | Wildschwein | m | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 384 | Wildschwein | w | 1 | LDS | 0-6 | andere | YE | YE |
| 385 | Reh | m | 1 | LOS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 386 | Reh | m | 2 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 387 | Reh | m | 1 | LOS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 388 | Reh | w | 1 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 389 | Reh | m | 2 | LOS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 390 | Rotwild | w | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 391 | Reh | w | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 392 | Wildschwein | m | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 393 | Wildschwein | m | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 394 | Wildschwein | m | 1 | SPN | 0-6 | andere | YE | YE |
| 395 | Wildschwein | m | 1 | SPN | 0-6 | andere | YE | YE |
| 396 | Wildschwein | w | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 397 | Reh | m | 1 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 398 | Rotwild | w | 1 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 399 | Reh | m | 1 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 400 | Fuchs | w | 2 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |

Anhang

Fortsetzung der Tabelle S 1

| Probe | Wildart | Geschlecht ^a | Altersklasse ^b | Landkreis ^c | Lagerungsdauer ^d | Jagdbezirk ^e | PCR ^f | MALDI ^f |
|-------|-------------|-------------------------|---------------------------|------------------------|-----------------------------|-------------------------|------------------|--------------------|
| 401 | Wildschwein | w | 1 | SPN | 7-13 | andere | YE | YE |
| 402 | Reh | w | 1 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 403 | Wildschwein | w | 1 | SPN | 7-13 | andere | YE | YE |
| 404 | Wildschwein | w | 1 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 405 | Wildschwein | m | 1 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 406 | Wildschwein | w | 1 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 407 | Reh | m | 1 | SPN | 7-13 | andere | YE | YE |
| 408 | Reh | m | 1 | SPN | 41456 | andere | n | n.t. |
| 409 | Reh | m | 2 | SPN | 41456 | andere | n | n.t. |
| 410 | Rotwild | m | 1 | LDS | 41456 | andere | n | n.t. |
| 411 | Rotwild | m | 1 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 412 | Rotwild | w | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 413 | Reh | m | 1 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 414 | Rotwild | w | 1 | LOS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 415 | Reh | m | 1 | LOS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 416 | Reh | m | 1 | LOS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 417 | Reh | m | 1 | LOS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 418 | Fuchs | w | 1 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 419 | Fuchs | m | 2 | LDS | 7-13 | andere | YE | <i>Morganella</i> |
| 420 | Wildschwein | m | 1 | LDS | 7-13 | andere | YE | YE |
| 421 | Reh | m | 1 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 422 | Reh | w | 1 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 423 | Wildschwein | m | 1 | SPN | 7-13 | andere | YE | YE |
| 424 | Wildschwein | w | 1 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 425 | Rotwild | m | 1 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 426 | Wildschwein | w | 2 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 427 | Wildschwein | w | 1 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 428 | Wildschwein | m | 1 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 429 | Rotwild | w | 1 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 430 | Wildschwein | m | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 431 | Fuchs | m | 0 | LOS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 432 | Rotwild | m | 0 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 433 | Rotwild | w | 0 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 434 | Wildschwein | m | 0 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 435 | Reh | m | 0 | LDS | 7-13 | andere | YE | YE |
| 436 | Reh | w | 2 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 437 | Reh | w | 0 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 438 | Wildschwein | m | 1 | SPN | 7-13 | andere | YE | YE |
| 439 | Reh | w | 1 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 440 | Reh | w | 2 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 441 | Reh | w | 1 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 442 | Reh | w | 1 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 443 | Wildschwein | w | 0 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 444 | Wildschwein | w | 0 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 445 | Rotwild | w | 2 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 446 | Fuchs | m | 1 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 447 | Fuchs | m | 1 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 448 | Rotwild | w | 2 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 449 | Wildschwein | w | 2 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 450 | Rotwild | w | 2 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |

Anhang

Fortsetzung der Tabelle S 1

| Probe | Wildart | Geschlecht ^a | Altersklasse ^b | Landkreis ^c | Lagerungsdauer ^d | Jagdbezirk ^e | PCR ^f | MALDI ^f |
|-------|-------------|-------------------------|---------------------------|------------------------|-----------------------------|-------------------------|------------------|--------------------|
| 451 | Rotwild | w | 0 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 452 | Wildschwein | w | 0 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 453 | Rotwild | w | 0 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 454 | Rotwild | w | 0 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 455 | Rotwild | m | 2 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 456 | Rotwild | m | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 457 | Rotwild | w | 2 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 458 | Wildschwein | w | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 459 | Reh | m | 2 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 460 | Reh | w | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 461 | Wildschwein | m | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 462 | Reh | w | 1 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 463 | Wildschwein | w | 1 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 464 | Wildschwein | w | 2 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 465 | Reh | m | 2 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 466 | Reh | w | 1 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 467 | Wildschwein | m | 1 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 468 | Reh | w | 1 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 469 | Reh | w | 1 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 470 | Wildschwein | m | 0 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 471 | Wildschwein | m | 0 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 472 | Reh | w | 1 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 473 | Wildschwein | w | 2 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 474 | Reh | w | 1 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 475 | Wildschwein | w | 2 | LOS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 476 | Rotwild | w | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 477 | Rotwild | m | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 478 | Rotwild | w | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 479 | Rotwild | w | 1 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 480 | Rotwild | w | 2 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 481 | Wildschwein | m | 2 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 482 | Reh | w | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 483 | Rotwild | w | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 484 | Wildschwein | m | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 485 | Wildschwein | w | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 486 | Reh | w | 2 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 487 | Reh | w | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 488 | Reh | w | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 489 | Reh | w | 2 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 490 | Wildschwein | w | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 491 | Wildschwein | m | 0 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 492 | Wildschwein | m | 0 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 493 | Wildschwein | w | 1 | LDS | 0-6 | andere | YE | YE |
| 494 | Rotwild | w | 1 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 495 | Rotwild | w | 2 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 496 | Rotwild | m | 2 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 497 | Wildschwein | m | 2 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 498 | Wildschwein | w | 1 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 499 | Wildschwein | w | 1 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 500 | Reh | w | 2 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |

Anhang

Fortsetzung der Tabelle S 1

| Probe | Wildart | Geschlecht ^a | Altersklasse ^b | Landkreis ^c | Lagerungsdauer ^d | Jagdbezirk ^e | PCR ^f | MALDI ^f |
|-------|-------------|-------------------------|---------------------------|------------------------|-----------------------------|-------------------------|------------------|--------------------|
| 501 | Reh | m | 1 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 502 | Reh | w | 0 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 503 | Fuchs | w | 2 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 504 | Reh | w | 1 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 505 | Reh | m | 1 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 506 | Wildschwein | w | 0 | SPN | 0-6 | andere | YE | YE |
| 507 | Wildschwein | m | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 508 | Reh | w | 1 | SPN | 0-6 | andere | YE | YE |
| 509 | Reh | w | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 510 | Reh | m | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 511 | Reh | m | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 512 | Reh | m | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 513 | Reh | m | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 514 | Reh | w | 2 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 515 | Reh | w | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 516 | Wildschwein | m | 0 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 517 | Reh | w | 2 | LOS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 518 | Reh | m | 2 | LOS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 519 | Wildschwein | w | 0 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 520 | Wildschwein | w | 0 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 521 | Fuchs | m | 2 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 522 | Rotwild | m | 2 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 523 | Rotwild | w | 2 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 524 | Rotwild | w | 1 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 525 | Rotwild | w | 0 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 526 | Rotwild | w | 0 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 527 | Wildschwein | m | 1 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 528 | Wildschwein | m | 1 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 529 | Wildschwein | w | 1 | LDS | 7-13 | andere | YE | YE |
| 530 | Wildschwein | w | 0 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 531 | Rotwild | m | 2 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 532 | Rotwild | w | 1 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 533 | Rotwild | w | 2 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 534 | Rotwild | w | 2 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 535 | Reh | m | 1 | LDS | 7-13 | andere | YE | <i>Serratia</i> |
| 536 | Wildschwein | m | 1 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 537 | Wildschwein | m | 1 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 538 | Reh | w | 1 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 539 | Rotwild | w | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 540 | Wildschwein | w | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 541 | Wildschwein | w | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 542 | Rotwild | w | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 543 | Wildschwein | w | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 544 | Reh | m | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 545 | Reh | m | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 546 | Reh | w | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 547 | Reh | w | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 548 | Reh | m | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 549 | Reh | w | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 550 | Reh | w | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |

Anhang

Fortsetzung der Tabelle S 1

| Probe | Wildart | Geschlecht ^a | Altersklasse ^b | Landkreis ^c | Lagerungsdauer ^d | Jagdbezirk ^e | PCR ^f | MALDI ^f |
|-------|-------------|-------------------------|---------------------------|------------------------|-----------------------------|-------------------------|------------------|--------------------|
| 551 | Fuchs | w | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 552 | Fuchs | m | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 553 | Fuchs | w | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | YE | <i>Serratia</i> |
| 554 | Rotwild | w | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 555 | Rotwild | w | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 556 | Reh | w | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 557 | Reh | m | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 558 | Reh | w | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 559 | Reh | m | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | YE | YE |
| 560 | Wildschwein | m | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 561 | Reh | w | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 562 | Rotwild | m | 1 | LDS | 0-6 | andere | YE | <i>Pseudomonas</i> |
| 563 | Rotwild | w | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 564 | Wildschwein | m | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 565 | Wildschwein | w | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | YE | YE |
| 566 | Reh | m | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 567 | Reh | m | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 568 | Reh | w | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 569 | Reh | m | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 570 | Reh | m | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 571 | Reh | w | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 572 | Reh | m | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 573 | Reh | m | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 574 | Reh | w | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 575 | Reh | w | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 576 | Reh | m | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 577 | Reh | m | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 578 | Wildschwein | w | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 579 | Fuchs | m | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 580 | Fuchs | m | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 581 | Fuchs | w | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 582 | Fuchs | m | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 583 | Fuchs | m | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 584 | Wildschwein | m | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 585 | Wildschwein | w | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 586 | Wildschwein | m | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 587 | Wildschwein | m | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 588 | Wildschwein | w | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 589 | Wildschwein | w | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 590 | Rotwild | w | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 591 | Rotwild | m | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 592 | Rotwild | m | 0 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 593 | Rotwild | w | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 594 | Rotwild | m | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 595 | Rotwild | w | 2 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 596 | Rotwild | m | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 597 | Wildschwein | w | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 598 | Wildschwein | m | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 599 | Wildschwein | m | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 600 | Wildschwein | m | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |

Anhang

Fortsetzung der Tabelle S 1

| Probe | Wildart | Geschlecht ^a | Altersklasse ^b | Landkreis ^c | Lagerungsdauer ^d | Jagdbezirk ^e | PCR ^f | MALDI ^f |
|-------|-------------|-------------------------|---------------------------|------------------------|-----------------------------|-------------------------|------------------|--------------------|
| 601 | Wildschwein | w | 0 | SPN | 0-6 | andere | YE | YE |
| 602 | Wildschwein | m | 1 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 603 | Reh | w | 1 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 604 | Rotwild | w | 2 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 605 | Rotwild | w | 0 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 606 | Wildschwein | w | 2 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 607 | Wildschwein | m | 1 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 608 | Wildschwein | m | 1 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 609 | Wildschwein | w | 1 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 610 | Wildschwein | m | 1 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 611 | Wildschwein | m | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 612 | Wildschwein | w | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 613 | Wildschwein | w | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 614 | Wildschwein | w | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 615 | Wildschwein | m | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 616 | Reh | w | 2 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 617 | Rotwild | w | 2 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 618 | Reh | w | 2 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 619 | Reh | w | 2 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 620 | Reh | w | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 621 | Reh | w | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 622 | Rotwild | m | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 623 | Rotwild | m | 2 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 624 | Rotwild | m | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 625 | Wildschwein | m | 1 | LDS | 7-13 | andere | YE | YE |
| 626 | Wildschwein | w | 2 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 627 | Wildschwein | w | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 628 | Wildschwein | w | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 629 | Wildschwein | w | 1 | SPN | 0-6 | andere | YE | YE |
| 630 | Wildschwein | m | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 631 | Rotwild | w | 2 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 632 | Wildschwein | w | 0 | SPN | 7-13 | andere | YE | YE |
| 633 | Wildschwein | w | 0 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 634 | Wildschwein | m | 0 | SPN | 7-13 | andere | YE | YE |
| 635 | Wildschwein | w | 1 | SPN | 7-13 | andere | YE | <i>Serratia</i> |
| 636 | Wildschwein | m | 0 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 637 | Wildschwein | m | 0 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 638 | Wildschwein | w | 1 | SPN | 7-13 | andere | YE | YE |
| 639 | Reh | w | 2 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 640 | Reh | w | 1 | SPN | 7-13 | andere | YE | YE |
| 641 | Wildschwein | m | 0 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 642 | Wildschwein | w | 0 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 643 | Wildschwein | w | 0 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 644 | Wildschwein | w | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | YE | YE |
| 645 | Wildschwein | m | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 646 | Wildschwein | w | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 647 | Wildschwein | m | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 648 | Wildschwein | m | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | YE | YE |
| 649 | Wildschwein | m | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 650 | Wildschwein | m | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | YE | YE |

Anhang

Fortsetzung der Tabelle S 1

| Probe | Wildart | Geschlecht ^a | Altersklasse ^b | Landkreis ^c | Lagerungsdauer ^d | Jagdbezirk ^e | PCR ^f | MALDI ^f |
|-------|-------------|-------------------------|---------------------------|------------------------|-----------------------------|-------------------------|------------------|--------------------|
| 651 | Wildschwein | m | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 652 | Wildschwein | m | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 653 | Wildschwein | m | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 654 | Reh | m | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 655 | Reh | w | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 656 | Wildschwein | w | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | YE | YE |
| 657 | Wildschwein | m | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 658 | Wildschwein | m | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 659 | Wildschwein | w | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 660 | Wildschwein | w | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 661 | Fuchs | w | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 662 | Fuchs | w | 1 | SPN | 0-6 | andere | YE | YE |
| 663 | Fuchs | w | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 664 | Fuchs | m | 2 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 665 | Fuchs | m | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 666 | Wildschwein | m | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 667 | Wildschwein | m | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | YE | YE |
| 668 | Wildschwein | m | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 669 | Wildschwein | m | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | YE | YE |
| 670 | Wildschwein | m | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 671 | Wildschwein | w | 0 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 672 | Wildschwein | w | 0 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 673 | Wildschwein | w | 2 | LDS | 7-13 | andere | YE | YE |
| 674 | Reh | w | 2 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 675 | Reh | w | 1 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 676 | Reh | w | 2 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 677 | Reh | w | 2 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 678 | Fuchs | m | 1 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 679 | Wildschwein | w | 2 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 680 | Wildschwein | m | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 681 | Wildschwein | w | 0 | SPN | 0-6 | andere | YE | YE |
| 682 | Wildschwein | m | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 683 | Wildschwein | m | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 684 | Wildschwein | w | 2 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 685 | Wildschwein | w | 2 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 686 | Wildschwein | w | 2 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 687 | Wildschwein | m | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 688 | Wildschwein | w | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 689 | Wildschwein | w | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 690 | Wildschwein | w | 2 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 691 | Reh | w | 2 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 692 | Reh | w | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 693 | Wildschwein | m | 1 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 694 | Wildschwein | w | 2 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 695 | Reh | m | 0 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 696 | Reh | m | 2 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 697 | Wildschwein | m | 0 | LDS | 7-13 | andere | YE | YE |
| 698 | Wildschwein | w | 0 | SPN | 7-13 | andere | YE | <i>Serratia</i> |
| 699 | Wildschwein | m | 0 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 700 | Wildschwein | m | 0 | SPN | 7-13 | andere | YE | YE |

Anhang

Fortsetzung der Tabelle S 1

| Probe | Wildart | Geschlecht ^a | Altersklasse ^b | Landkreis ^c | Lagerungsdauer ^d | Jagdbezirk ^e | PCR ^f | MALDI ^f |
|-------|-------------|-------------------------|---------------------------|------------------------|-----------------------------|-------------------------|------------------|--------------------|
| 701 | Wildschwein | w | 2 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 702 | Wildschwein | m | 2 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 703 | Wildschwein | m | 1 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 704 | Wildschwein | w | 2 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 705 | Wildschwein | w | 1 | SPN | 7-13 | andere | YE | YE |
| 706 | Wildschwein | m | 0 | SPN | 7-13 | andere | YE | YE |
| 707 | Rotwild | m | 2 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 708 | Wildschwein | w | 2 | LDS | 0-6 | andere | YE | YE |
| 709 | Wildschwein | w | 2 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 710 | Wildschwein | m | 0 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 711 | Reh | w | 2 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 712 | Fuchs | m | 1 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 713 | Fuchs | w | 1 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 714 | Wildschwein | w | 0 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 715 | Reh | w | 2 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 716 | Wildschwein | w | 2 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 717 | Wildschwein | w | 1 | SPN | 0-6 | andere | YE | YE |
| 718 | Wildschwein | w | 2 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 719 | Wildschwein | w | 2 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 720 | Wildschwein | w | 2 | SPN | 0-6 | andere | YE | YE |
| 721 | Wildschwein | m | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 722 | Wildschwein | w | 2 | SPN | 0-6 | andere | YE | YE |
| 723 | Wildschwein | w | 1 | SPN | 0-6 | andere | YE | YE |
| 724 | Wildschwein | m | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 725 | Wildschwein | w | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 726 | Wildschwein | w | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 727 | Wildschwein | m | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 728 | Wildschwein | w | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 729 | Wildschwein | w | 0 | SPN | 0-6 | andere | YE | YE |
| 730 | Wildschwein | m | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 731 | Wildschwein | m | 0 | SPN | 0-6 | andere | YE | YE |
| 732 | Wildschwein | w | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 733 | Reh | w | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 734 | Wildschwein | w | 1 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 735 | Wildschwein | m | 1 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 736 | Wildschwein | w | 1 | SPN | 0-6 | andere | YE | YE |
| 737 | Wildschwein | w | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 738 | Wildschwein | w | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 739 | Wildschwein | w | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 740 | Wildschwein | w | 0 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 741 | Wildschwein | w | 1 | SPN | 0-6 | andere | YE | YE |
| 742 | Wildschwein | m | 1 | SPN | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 743 | Wildschwein | m | 1 | SPN | 0-6 | andere | YE | <i>Pseudomonas</i> |
| 744 | Reh | w | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 745 | Reh | w | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 746 | Reh | w | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 747 | Reh | m | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 748 | Reh | m | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 749 | Reh | m | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 750 | Reh | w | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |

Anhang

Fortsetzung der Tabelle S 1

| Probe | Wildart | Geschlecht ^a | Altersklasse ^b | Landkreis ^c | Lagerungsdauer ^d | Jagdbezirk ^e | PCR ^f | MALDI ^f |
|-------|-------------|-------------------------|---------------------------|------------------------|-----------------------------|-------------------------|------------------|--------------------|
| 751 | Reh | w | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | YE | YE |
| 752 | Reh | m | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 753 | Reh | w | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | YE | YE |
| 754 | Reh | m | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 755 | Wildschwein | w | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | YE | YE |
| 756 | Reh | m | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | YE | YE |
| 757 | Reh | w | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | YE | YE |
| 758 | Reh | w | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 759 | Reh | w | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 760 | Reh | w | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 761 | Reh | w | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 762 | Reh | w | 2 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 763 | Reh | w | 1 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 764 | Reh | w | 0 | LOS | 0-6 | SfFü | n | n.t. |
| 765 | Fuchs | w | 1 | LDS | 0-6 | andere | YE | YE |
| 766 | Fuchs | w | 1 | LDS | 0-6 | andere | YE | <i>Serratia</i> |
| 767 | Fuchs | m | 1 | SPN | 0-6 | andere | YE | YE |
| 768 | Fuchs | m | 2 | LDS | 0-6 | andere | n | n.t. |
| 769 | Reh | w | 2 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 770 | Reh | m | 0 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 771 | Reh | m | 0 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 772 | Reh | w | 0 | LDS | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 773 | Reh | w | 0 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 774 | Wildschwein | m | 0 | SPN | 7-13 | andere | YE | YE |
| 775 | Wildschwein | w | 0 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 776 | Reh | w | 1 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 777 | Reh | m | 0 | SPN | 7-13 | andere | YE | YE |
| 778 | Rotwild | m | 0 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 779 | Wildschwein | w | 1 | LDS | 0-6 | andere | YE | YE |
| 780 | Reh | w | 2 | SPN | 7-13 | andere | n | n.t. |
| 781 | Reh | w | 0 | SPN | 7-13 | andere | YE | <i>Serratia</i> |
| 782 | Reh | w | 0 | SPN | 7-13 | andere | YE | <i>Serratia</i> |

^a m= männlich; w= weiblich;

^b Altersklasse 0= <12 Monate, Altersklasse 1= 12-24 Monate; Altersklasse 3= >24 Monate;

^c LDS= Landkreis Dahme-Spreewald; SPN= Landkreis Spree-Neiße; LOS= Landkreis Oder-Spree;

^d Lagerungsdauer in Tagen

^e SfFü= Stadforst Fürstenwalde;

^f n= negativ; YE= *Y. enterocolitica*; n.t.= nicht getestet

Anhang

Tabelle S 2 *Y. enterocolitica* Isolate, Bio/Serotypen und PCR Gennachweise

| Probe | 16s | <i>inv</i> | <i>yjt B</i> | <i>ail</i> | MALDI | Serotyp | Biotyp |
|-------|-----|------------|--------------|------------|-------|---------|-------------------------|
| 17 | + | - | - | + | YE | O:3 | <i>Y. frederiksenii</i> |
| 35 | + | - | + | - | YE | O:8 | <i>Serratia</i> |
| 60 | + | - | + | - | YE | O:8 | <i>Y. frederiksenii</i> |
| 61 | + | - | - | - | YE | O:8 | <i>Y. frederiksenii</i> |
| 68 | + | - | + | - | YE | X | <i>Y. kristensenii</i> |
| 73 | + | - | + | - | YE | X | <i>Y. frederiksenii</i> |
| 87 | + | + | + | - | YE | O:8 | YE 1A |
| 104 | + | + | + | - | YE | O:3 | YE 1A |
| 115 | + | - | + | - | YE | O:8 | <i>Y. frederiksenii</i> |
| 146 | + | + | + | - | YE | O:8 | YE 1A |
| 147 | + | + | + | - | YE | O:8 | YE 1A |
| 150 | + | + | + | - | YE | O:8 | YE 1A |
| 156 | + | - | + | - | YE | O:8 | <i>Y. intermedia</i> |
| 157 | + | - | + | - | YE | O:8 | YE 1A |
| 164 | + | + | + | - | YE | O:8 | <i>Serratia</i> |
| 183 | + | + | + | - | YE | O:8 | YE 1A |
| 184 | + | + | + | - | YE | O:8 | YE 1A |
| 194 | + | - | - | + | YE | O:8 | YE 1B |
| 201 | + | + | + | - | YE | O:5 | nicht <i>Yersinia</i> |
| 208 | + | - | + | - | YE | O:8 | YE 1A |
| 210 | + | - | + | - | YE | O:8 | YE 1A |
| 212 | + | - | + | - | YE | O:8 | nicht <i>Yersinia</i> |
| 221 | + | - | + | - | YE | O:8 | YE 1A |
| 233 | + | - | + | - | YE | O:5 | nicht <i>Yersinia</i> |
| 243 | + | - | + | - | YE | O:8 | YE 1A |
| 251 | + | - | + | - | YE | O:8 | <i>Y. frederiksenii</i> |
| 259 | + | - | + | - | YE | O:8 | <i>Y. frederiksenii</i> |
| 285 | + | + | + | - | YE | O:8 | YE 1A |
| 287 | + | + | + | - | YE | O:8 | YE 1A |
| 298 | + | + | + | - | YE | O:8 | YE 1A |
| 309 | + | - | + | - | YE | O:8 | YE 1A |
| 317 | + | + | + | - | YE | O:3 | YE 1A |
| 318 | + | + | + | - | YE | O:8 | YE 1A |
| 327 | + | - | - | - | YE | O:5 | <i>Y. kristensenii</i> |
| 349 | + | - | + | - | YE | O:8 | YE 1A |
| 350 | + | - | + | - | YE | O:8 | YE 1A |
| 353 | + | - | + | - | YE | O:8 | YE 1A |
| 372 | + | - | + | - | YE | O:5 | YE 1A |
| 380 | + | - | - | + | YE | O:8 | YE 1A |
| 381 | + | - | - | + | YE | O:8 | YE 1A |
| 384 | + | - | - | + | YE | O:8 | YE 1A |
| 394 | + | + | + | - | YE | O:8 | YE 1A |
| 395 | + | + | + | - | YE | O:8 | YE 1A |
| 401 | + | + | + | - | YE | O:8 | YE 1A |
| 403 | + | + | + | - | YE | O:5 | YE 1A |
| 407 | + | + | + | - | YE | O:8 | YE 1A |
| 420 | + | + | + | - | YE | O:8 | YE 1A |
| 423 | + | - | + | - | YE | O:8 | YE 1A |
| 435 | + | - | - | - | YE | O:8 | YE 1A |
| 438 | + | - | - | - | YE | O:8 | YE 1A |

Anhang

Fortsetzung der Tabelle S 2

| Probe | 16s | <i>inv</i> | <i>yjt B</i> | <i>ail</i> | MALDI | Serotyp | Biotyp |
|-------|-----|------------|--------------|------------|-------|---------|-------------------------|
| 493 | + | - | + | - | YE | O:8 | YE 2 |
| 506 | + | - | + | - | YE | O:8 | YE 1A |
| 508 | + | - | + | - | YE | O:8 | YE 1A |
| 529 | + | + | + | - | YE | O:8 | YE 1A |
| 559 | + | + | + | - | YE | O:8 | YE 1A |
| 565 | + | + | + | - | YE | O:8 | YE 1A |
| 601 | + | - | - | + | YE | X | <i>Y. intermedia</i> |
| 625 | + | + | - | + | YE | O:8 | <i>Y. frederiksenii</i> |
| 629 | + | - | - | + | YE | O:8 | YE 1A |
| 632 | + | + | + | - | YE | O:8 | YE 1A |
| 634 | + | + | + | - | YE | O:8 | YE 1A |
| 638 | + | + | + | - | YE | O:3 | <i>Y. frederiksenii</i> |
| 640 | + | - | + | - | YE | O:3 | <i>Y. frederiksenii</i> |
| 644 | + | + | + | - | YE | O:8 | <i>Y. frederiksenii</i> |
| 648 | + | + | + | - | YE | O:8 | <i>Y. frederiksenii</i> |
| 650 | + | + | + | - | YE | O:8 | <i>Y. frederiksenii</i> |
| 656 | + | + | + | - | YE | O:8 | <i>Y. frederiksenii</i> |
| 662 | + | + | - | + | YE | O:5 | <i>Y. frederiksenii</i> |
| 667 | + | + | + | - | YE | O:8 | YE 1A |
| 669 | + | + | + | - | YE | O:8 | <i>Y. frederiksenii</i> |
| 673 | + | + | + | - | YE | O:8 | YE 1A |
| 681 | + | + | + | - | YE | O:8 | YE 1A |
| 697 | + | + | + | - | YE | O:8 | YE 1A |
| 700 | + | + | + | - | YE | O:8 | YE 1A |
| 705 | + | + | + | - | YE | O:5 | YE 1A |
| 706 | + | + | + | - | YE | O:5 | YE 1A |
| 708 | + | + | + | - | YE | O:8 | <i>Y. frederiksenii</i> |
| 717 | + | + | + | - | YE | O:8 | <i>Y. frederiksenii</i> |
| 720 | + | - | - | - | YE | O:8 | <i>Y. frederiksenii</i> |
| 722 | + | - | - | + | YE | O:8 | YE 1A |
| 723 | + | + | - | + | YE | O:8 | YE 1A |
| 729 | + | - | - | - | YE | O:5 | YE 1A |
| 731 | + | + | - | - | YE | O:5 | <i>Y. intermedia</i> |
| 736 | + | - | - | + | YE | O:8 | YE 1A |
| 741 | + | + | - | - | YE | O:8 | YE 1A |
| 751 | + | + | + | - | YE | O:5 | <i>Y. frederiksenii</i> |
| 753 | + | + | + | - | YE | O:8 | YE 1A |
| 755 | + | + | + | - | YE | O:8 | <i>Y. frederiksenii</i> |
| 756 | + | + | + | - | YE | O:8 | YE 1A |
| 757 | + | + | + | - | YE | O:8 | YE 1A |
| 765 | + | + | + | - | YE | O:8 | YE 1A |
| 767 | + | - | - | - | YE | O:8 | <i>Y. kristensenii</i> |
| 774 | + | + | + | - | YE | O:8 | YE 1A |
| 777 | + | - | - | - | YE | O:8 | <i>Y. frederiksenii</i> |
| 779 | + | + | + | - | YE | O:8 | <i>Y. frederiksenii</i> |

+ = PCR-Nachweis positiv; - = PCR-Nachweis negativ; YE = *Y. enterocolitica*; X= nicht zuzuordnen

Anhang

Tabelle S 3 Antimikrobielle Resistenztestung der *Y. enterocolitica*-Stämme

| Probe | E | AP | AUG | CZ | CTX | CXM | KF | T | ATM | GM | K | S | CIP | NA | TS | TM | C | Anzahl der Resistenzen |
|-------|---|----|-----|----|-----|-----|----|---|-----|----|---|---|-----|----|----|----|---|------------------------|
| 17 | r | s | s | s | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | r | s | 4 |
| 35 | r | r | s | r | r | s | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 5 |
| 60 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | r | r | s | s | s | s | 7 |
| 61 | r | r | r | r | r | s | s | r | s | s | s | r | s | s | s | s | r | 8 |
| 68 | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | r | s | s | s | s | 5 |
| 73 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | r | r | s | s | s | r | 8 |
| 87 | r | r | s | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 4 |
| 104 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | r | 6 |
| 115 | r | r | r | r | r | s | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 6 |
| 146 | r | r | s | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 4 |
| 147 | r | r | s | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 4 |
| 150 | r | r | s | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 4 |
| 156 | r | s | s | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 3 |
| 157 | r | s | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 6 |
| 164 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 5 |
| 183 | r | r | s | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 4 |
| 184 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 5 |
| 194 | r | s | s | s | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 2 |
| 201 | r | s | s | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 3 |
| 208 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 5 |
| 210 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 5 |
| 212 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 5 |
| 221 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 5 |
| 233 | r | s | r | r | r | s | r | s | s | s | s | s | s | s | s | r | s | 6 |
| 243 | r | r | s | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 4 |
| 251 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 5 |
| 259 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | r | s | s | s | s | 6 |
| 285 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 5 |
| 287 | r | r | s | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 4 |
| 298 | r | r | s | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 4 |
| 309 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 5 |
| 317 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | r | s | s | s | s | 6 |
| 318 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | r | s | s | s | s | 6 |
| 327 | r | s | s | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 3 |
| 349 | r | r | s | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 4 |
| 350 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | r | s | s | s | r | 7 |
| 353 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 5 |
| 372 | r | r | s | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 4 |
| 380 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 5 |
| 381 | r | r | s | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 4 |
| 384 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 5 |
| 394 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 5 |
| 395 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 5 |
| 401 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 5 |
| 403 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 5 |
| 407 | r | r | s | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 4 |
| 420 | r | r | s | r | r | s | s | s | s | s | s | s | r | s | s | s | s | 5 |
| 423 | r | r | s | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 4 |
| 435 | r | r | s | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 4 |
| 438 | s | s | r | s | r | r | s | r | r | r | r | r | r | r | r | r | r | 4 |

Anhang

Fortsetzung der Tabelle S 3

| Probe | E | AP | AUG | CZ | CTX | CXM | KF | T | ATM | GM | K | S | CIP | NA | TS | TM | C | Anzahl der Resistenzen |
|-------|---|----|-----|----|-----|-----|----|---|-----|----|---|---|-----|----|----|----|---|------------------------|
| 493 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | r | s | s | s | s | s | s | s | 6 |
| 506 | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 4 |
| 508 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 5 |
| 529 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 5 |
| 559 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 5 |
| 565 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 5 |
| 601 | r | s | s | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 3 |
| 625 | r | r | s | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 4 |
| 629 | r | r | s | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 4 |
| 632 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 5 |
| 634 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 5 |
| 638 | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 1 |
| 640 | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 1 |
| 644 | r | r | r | r | r | r | s | r | s | s | s | s | r | s | s | r | s | 9 |
| 648 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | r | s | s | s | s | 6 |
| 650 | r | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 6 |
| 656 | r | r | r | r | r | s | r | s | s | s | s | s | s | s | r | s | s | 7 |
| 662 | r | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 6 |
| 667 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 5 |
| 669 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | r | s | s | s | s | 6 |
| 673 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | r | 6 |
| 681 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 5 |
| 697 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 5 |
| 700 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 5 |
| 705 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 5 |
| 706 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 5 |
| 708 | r | s | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 4 |
| 717 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 5 |
| 720 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 5 |
| 722 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 5 |
| 723 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 5 |
| 729 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 5 |
| 731 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | r | s | s | s | s | 6 |
| 736 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | r | s | s | s | s | 6 |
| 741 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | r | s | s | s | s | 6 |
| 751 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | r | s | s | s | s | 6 |
| 753 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 5 |
| 755 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 5 |
| 756 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 5 |
| 757 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 5 |
| 765 | r | r | r | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 5 |
| 767 | r | s | s | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 2 |
| 774 | r | s | s | r | r | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | s | 3 |
| 777 | r | r | r | r | r | s | s | s | r | s | s | s | s | s | s | r | s | 7 |
| 779 | r | r | r | r | r | s | r | r | r | s | s | s | s | s | s | r | s | 9 |

r= resistant, s= sensibel, E= Erythromycin 15µg, AP= Ampicillin 10µg, AUG= Amoxicillin/Clavulansäure 20/10 µg, KF= Cefalotin 30µg, CZ= Cefazolin 30µg, CTX= Cefotaxim 30µg, CXM= Cefuroxim 30µg, T= Tetracyclin 30µg, ATM= Aztreonam 30µg, GM= Gentamicin 10 µg, K= Kanamycin 30 µg, S= Streptomycin 10 µg, CIP Ciprofloxacin 5 µg, NA= Nalidixinsäure 30 µg, TS= Sulfamethoxazol/Trimethoprim 23,75/1,25 µg, TM= Trimethoprim 5 µg, C= Chloramphenicol 30 µg

Tabellenverzeichnis

| | |
|--|----|
| Tabelle 1: Spezies und Pathogenität von <i>Yersinia</i> | 3 |
| Tabelle 2: Biotypisierungsschema von <i>Y. enterocolitica</i> durch spezifische Stoffwechseleigenschaften..... | 6 |
| Tabelle 3: Zuordnung der Biotypen zu den Serotypen von <i>Y. enterocolitica</i> | 7 |
| Tabelle 4 Virulenzfaktoren von <i>Y. enterocolitica</i> | 8 |
| Tabelle 5 Verteilung einiger Serotypen auf Isolate verschiedener Herkunft | 12 |
| Tabelle 6 Prävalenzen von <i>Y. enterocolitica</i> bei Tieren..... | 19 |
| Tabelle 7 <i>Y. enterocolitica</i> in der Umwelt | 20 |
| Tabelle 8 Auszug aus den Zoonoseberichten des BfR von 2013 bis 2016 | 21 |
| Tabelle 9 <i>Y. enterocolitica</i> in Lebensmitteln | 21 |
| Tabelle 10 <i>Y. enterocolitica</i> in Lebensmitteln vom Schwein..... | 23 |
| Tabelle 11 Vergleichende Darstellung von Nachweismethoden von <i>Y. enterocolitica</i> -Nachweisen in Lebensmitteln..... | 23 |
| Tabelle 12 <i>Y. enterocolitica</i> in Wildbret | 24 |
| Tabelle 13 Verwendete Materialien | 37 |
| Tabelle 14 Verwendete Geräte und Hersteller | 37 |
| Tabelle 15 Zusammensetzung Pepton-Sorbit-Gallensalz-Bouillon | 39 |
| Tabelle 16 Zusammensetzung Brucella-Bouillon | 40 |
| Tabelle 17 Zusammensetzung CIN-Agar | 40 |
| Tabelle 18 Zusammensetzung Urease-Schrägagar-Röhrchen..... | 41 |
| Tabelle 19 Tris-EDTA (TE), pH 8 | 41 |
| Tabelle 20 Chelexlösung..... | 41 |
| Tabelle 21 Bedeutung der Scorewerte im MALDI-TOF | 43 |
| Tabelle 22 Verwendete Primer für die PCR von 16S rRNA..... | 43 |
| Tabelle 23 Temperaturprofil für die PCR von 16S rRNA | 44 |
| Tabelle 24 Mastermix für die PCR von 16S rRNA | 44 |
| Tabelle 25 Verwendete Primer für die Sequenzierung der 16S rRNA | 44 |
| Tabelle 26 Temperaturprofil multiplex-PCR Identifizierung und Serotypisierung | 45 |
| Tabelle 27 Mastermix für die multiplex-PCR zur Identifikation bzw. molekularbiologischen Biotypisierung | 45 |

| | |
|--|----|
| Tabelle 28 Primermix für die multiplex-PCR zur Identifikation bzw. molekularbiologischen Biotypisierung | 46 |
| Tabelle 29 Agarosegel 3% | 46 |
| Tabelle 30 GRGreen-Mix..... | 46 |
| Tabelle 31 Mastermix für die multiplex-PCR zur molekularbiologischen Serotypisierung.... | 48 |
| Tabelle 32 Primermix für die multiplex-PCR zur molekularbiologischen Serotypisierung.... | 48 |
| Tabelle 33 Primermix für die Singleplex PCR zur Differenzierung von O:5 und O:27 | 48 |
| Tabelle 34 Beschickung verwendeter Testblättchen..... | 49 |
| Tabelle 35 Zusammensetzung Plate Count Agar | 50 |
| Tabelle 36 Müller-Hinton-Bouillon | 50 |
| Tabelle 37 Müller-Hinton-Agar | 51 |
| Tabelle 38 Hemmhofbewertungsschlüssel für <i>Enterobacteriaceae</i> bei parenteraler Anwendung | 52 |
| Tabelle 39 Hemmhofbewertungsschlüssel für Qualitätskontrollstämmen..... | 53 |
| Tabelle 40 Probenverteilung nach Altersklassen und Geschlecht von Reh- und Schwarzwild | 54 |
| Tabelle 41 Probenverteilung nach Altersklassen und Geschlecht von Rotwild und Füchsen . | 55 |
| Tabelle 42 Ergebnisse der 16S-Gensequenzierung MALDI-negativer Proben im Vergleich zum MALDI Ergebnis..... | 57 |
| Tabelle 43 Ergebnisse der multiplex-PCR nach Garzetti (2014)..... | 60 |
| Tabelle 44 Ergebnisse der biochemischen Untersuchungen der im MALDI bestätigten <i>Y. enterocolitica</i> -positiven Isolate durch das BfR..... | 61 |
| Tabelle 45 Stichprobenartige Überprüfung der molekularbiologischen Serotypisierung mittels Objektträgeragglutination mit spezifischen Antiseren..... | 61 |
| Tabelle 46 Prävalenzen, Verteilung der Serotypen und biochemisch identifizierte Biotypen der einzelnen Wildarten..... | 62 |

Abbildungsverzeichnis

| | |
|--|----|
| Abbildung 1: Gemeldete Yersiniosen in Deutschland in den Jahren 2001-2018 | 13 |
| Abbildung 2: Übermittelte Yersiniosen pro 100.000 Einwohner nach Alter und Geschlecht in 2018..... | 14 |
| Abbildung 3: Mittlere jährliche Inzidenz gemeldeter <i>Y. enterocolitica</i> -Infektionen in Deutschland von 2001-2008..... | 15 |
| Abbildung 4: Übermittelte Yersiniosen 2018 nach Bundesland im Vergleich zu den Vorjahren | 16 |
| Abbildung 5 Streckenentwicklung Schwarzwild, deutschlandweit | 26 |
| Abbildung 6 Streckenentwicklung Schwarzwild, Brandenburg | 26 |
| Abbildung 7 Schema zur molekularbiologischen Serotypisierung von <i>Y. enterocolitica</i> | 31 |
| Abbildung 8 Geographische Übersicht der Probenherkunft bezogen auf die Landkreise, Karte nach Brandenburgviewer..... | 36 |
| Abbildung 9 Modifiziertes Verfahrensschema zur Isolierung von <i>Y. enterocolitica</i> aus tierischem Probenmaterial in Anlehnung an die DIN EN ISO 10273:2017 | 38 |
| Abbildung 10 Wildartenverteilung der Probengesamtheit..... | 55 |
| Abbildung 11 Verteilung der Probengesamtheit und der <i>Y. enterocolitica</i> -Positiven Proben auf die Landkreise | 58 |
| Abbildung 12 Prävalenz von <i>Y. enterocolitica</i> der einzelnen Wildarten | 59 |
| Abbildung 13 Prozentuale Verteilung der Empfindlichkeit der <i>Y. enterocolitica</i> -Isolate gegenüber Antimikrobiellen Wirkstoffen | 63 |

Publikationsverzeichnis

Teile der vorliegenden Arbeit wurden bereits als Poster in einer Veranstaltung präsentiert:

Carolin Riedel¹, Felix Henning¹, Stefan Hertwig², Andrea Barac², Thomas Alter¹

¹Institut für Lebensmittelsicherheit und -hygiene, Freie Universität Berlin; ² Bundesinstitut für Risikobewertung

Prävalenz und Charakterisierung von *Yersinia enterocolitica* bei Wildtieren im südöstlichen Brandenburg

17. Fachsymposium Lebensmittelmikrobiologie vom 3. bis 5. April 2017 in der Sparkassenakademie Bayern in Landshut

Danksagung

Zunächst danke ich meinem Doktorvater Prof. Dr. Thomas Alter, dass er mir die Gelegenheit gegeben hat, meine Promotion am Institut für Lebensmittelsicherheit und -hygiene der Freien Universität Berlin durchzuführen. Besonderer Dank gilt meinen wissenschaftlichen Betreuerinnen Dr. Carolin Riedel und Dr. Greta Götz für die stets geduldige, freundliche und kompetente Unterstützung und Beantwortung meiner Fragen. Weiterhin danke ich allen Mitarbeitern und Doktoranden des Instituts für die Hilfsbereitschaft im Labor und die Zerstreuung außerhalb.

Des Weiteren danke ich Dr. Stefan Hertwig und Andrea Barac vom Bundesinstitut für Risikobewertung für die beigebrachten Ergebnisse und ihren fachlichen Beistand.

Vielen Dank an alle Revierinhaber und deren Helfer bei der Unterstützung der Probennahme bei jedem Wetter. Insbesondere möchte ich Herrn Thomas Weber, Stadtförstdirektor des Kommunalen Eigenbetrieb Stadtförst Fürstenwalde, und dem ehemaligen Leiter der Landeswaldoberförsterei Peitz, Herrn Arne Barkhausen, für die produktive Zusammenarbeit danken.

Ganz besonders möchte ich meiner Familie danken, die mir geduldig den Rücken freigehalten, immer an mich geglaubt und immens unterstützt hat.

Selbstständigkeitserklärung

Ich erkläre gegenüber der Freien Universität Berlin, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Quellen und Hilfsmittel angefertigt habe. Die vorliegende Arbeit ist frei von Plagiaten. Alle Ausführungen, die wörtlich oder inhaltlich aus anderen Schriften entnommen sind, habe ich als solche kenntlich gemacht. Diese Arbeit wurde in gleicher oder ähnlicher Form noch bei keiner anderen Universität als Prüfungsleistung eingereicht.

Felix Franz Henning

Berlin, den 04.05.2021



9 783967 291124

mbvberlin mensch und buch verlag

49,90 Euro | ISBN: 978-3-96729-112-4