Aus dem Institut der Lebensmittelhygiene des Fachbereichs Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin

"Isolierungsraten, Resistenzverhalten und genetische Diversität von *Campylobacter* aus Tierbeständen und Umwelthabitaten"

Inaugural-Dissertation

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

vorgelegt von

Anna Elisabeth Löwenstein

Tierärztin aus Frankfurt am Main

Berlin 2015

Journal Nr. 3845

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. Roswitha Merle

Dritter Gutachter: Prof. Dr. Ewald Usleber

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

fowls; quails; pigs; pigeons; dogs; cats; livestock; soil; water; *Campylobacter jejuni*; *Campylobacter coli*; *Campylobacter upsaliensis*; *Campylobacter lari*; *Campylobacter fetus*; prevalence; veterinary public health; genotypes; genetic analysis; nalidixic acid; ciprofloxacin; tetracycline; drug resistance, microbial (MeSH)

Tag der Promotion: 19.04.2016

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek

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

ISBN: 978-3-86387-720-0

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

Dissertation, Freie Universität Berlin

D 188

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 iedermann 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 2016 Choriner Str. 85 - 10119 Berlin

Meinen Eltern und Moni

Inhaltsverzeichnis

Inhal	ltsverzeichnis	5
Abbil	ldungsverzeichnis	8
Tabe	ellenverzeichnis	9
Abkü	bkürzungsverzeichnis	
1	Einleitung	13
2	Literatur	15
2.1	Historie	15
2.2	Taxonomie	15
2.3	Erregereigenschaften	16
2.3.1	Morphologie	
2.3.1	Physiologie	16
2.3.2	Tenazität	16
2.3.4	Virulenzeigenschaften	17
2.4	Natürliche Reservoire	18
2.5	Resistenzlage	23
2.6	Campylobacteriose des Menschen	25
2.6.1	Allgemeines	25
2.6.2	Erreger	25
2.6.3	Symptome und Therapie	26
2.6.4	Komplikationen	27
2.6.5	Epidemiologische Aspekte	28
2.7	Isolierungsverfahren	30
2.8	Identifizierung von Campylobacter spp	31
2.8.2	Phänotypisierung	31
2.8.3	Genotypisierung	33
3	Eigene Untersuchungen	37
3.1	Material	37
3.1.1	Referenzstämme	37
3.1.2	Probenmaterial	37
3.1.3	Nährmedien	37

3.1.4	Reagenzien	41
3.1.5	Geräte	41
3.1.6	Verbrauchsmaterialien	42
3.1.7	Primer	42
3.1.8	Software	45
3.2	Methodik	45
3.2.1	Probenahme	45
3.2.2	Probenaufbereitung	46
3.2.3	Isolierung von Campylobacter spp.	46
3.2.4	Bestätigungsverfahren	47
3.2.5	Statistische Auswertung	52
3.2.6	Genotypisierung mittels MLST	52
3.2.7	Antibiotikaresistenztestung mittels Bouillon-Mikrodilution	53
4	Ergebnisse	57
4.1	Campylobacter-Nachweis in unterschiedlichen Matrizen	
4.1.1	Prävalenz von <i>Campylobacter</i> spp. bei Katzen in Abhängigkeit von Alter, Durchfall und Freigang	
4.1.2	Prävalenz von <i>Campylobacter</i> spp. bei Hunden in Abhängigkeit von Alter, Durchfall, Rohfleischfütterung und Zwingerhaltung	59
4.2	Nachweis der Campylobacter-Spezies in unterschiedlichen Matrizen	60
4.3	Vergleich der <i>Campylobacter</i> -Isolierungsraten in Abhängigkeit von der kulturellen Isolierungsmethode	62
4.3.1	Nachweis der verschiedenen <i>Campylobacter</i> -Spezies in Abhängigkeit von der kulturellen Isolierungsmethode	63
4.3.2	Isolierungsmethodenvergleich zum Nachweis von <i>Campylobacter</i> nach Matrizen	64
4.4	Antibiotika-Resistenzbestimmung	65
4.4.1	Resistenzverhalten der <i>Campylobacter</i> -Isolate gegenüber den untersuchten antimikrobiellen Wirkstoffen	66
4.4.2	Resistenzverhalten von C. jejuni und C. coli	67
4.4.3	Resistenzverhalten in Abhängigkeit von den untersuchten Matrizen	71
4.4.4	Mehrfachresistenzen	71
4.4.5	Resistenzkombinationen	72
4.4.6	Vergleich des Resistenzverhaltens der mittels beider Isolierungsverfahren detektierten Spezies einer Probe	73
4.5	Charakterisierung ausgewählter Campylobacter-Isolate mittels MLST	73
4.5.1	Zusammenhang zwischen den Resultaten der MLST und den untersuchten Matrizen	
5	Diskussion	79
5.1	Fragestellung	79

5.2	Isolierungsraten von Campylobacter in unterschiedlichen Matrizen	80
5.3	Speziesverteilung in unterschiedlichen Matrizen	89
5.4	Vergleich der <i>Campylobacter</i> -Isolierungsraten in Abhängigkeit von der kulturellen Isolierungsmethode	92
5.4.1	Isolierungsraten der <i>Campylobacter</i> -Spezies in Abhängigkeit von der kulturellen Isolierungsmethode	93
5.4.2	Isolierungsmethodenvergleich zum Nachweis von <i>Campylobacter</i> in Abhängigkeit von untersuchter Matrix und <i>Campylobacter</i> -Spezies	94
5.5	Antibiotika-Resistenzbestimmung	95
5.5.1	Resistenzverhalten der <i>Campylobacter</i> -Isolate gegenüber den untersuchten antimikrobiellen Wirkstoffen	96
5.5.2	Resistenzverhalten von C. jejuni und C. coli	99
5.5.3	Resistenzverhalten in Abhängigkeit von den untersuchten Matrizen	
5.5.4	Mehrfachresistenzen	100
5.5.5	Resistenzkombinationen	101
5.5.6	Vergleich des Resistenzverhaltens der mittels beider Isolierungsverfahren detektierten Spezies einer Probe	101
5.6	Charakterisierung ausgewählter Campylobacter-Isolate mittels MLST	102
5.6.1	Zusammenhang zwischen den Resultaten der MLST und den untersuchten Matrizen	103
Zusai	mmenfassung	107
Sumn	nary	109
Litera	aturverzeichnis	111
Anha	ng	137

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:	Fließschema zum Nachweis von Campylobacter spp.
Abb. 2:	Campylobacter-Nachweis nach Matrizen
Abb. 3:	Campylobacter-Isolierungsraten in unterschiedlichen Matrizen
Abb. 4:	Nachweis von Campylobacter-Spezies in unterschiedlichen Matrizen
Abb. 5:	Anteil der detektierten Isolate nach kulturellem Isolierungsverfahren
Abb. 6:	Isolierungsraten der einzelnen Campylobacter-Spezies in Abhängigkeit von der
	kulturellen Isolierungsmethode
Abb. 7:	Methodenvergleich zum Nachweis von Campylobacter spp. in unterschiedlichen
	Matrizen
Abb. 8:	Resistenzverhalten der untersuchten Campylobacter-Isolaten gegenüber den ein-
	zelnen antimikrobiellen Wirkstoffen
Abb. 9:	Resistenzverhalten von C. jejuni
Abb. 10:	Resistenzverhalten von C. coli
Abb. 11:	Verteilung der MHK-Werte der C. jejuni- bzw. C. coli-Isolate
Abb. 12:	Verteilung der ermittelten Mehrfachresistenzen der Campylobacter-Isolate
Abb. 13:	Mittels MLST charakterisierte C. jejuni- und C. coli-Isolate nach Matrizen
Abb. 14:	MLST von C. jejuni- und C. coli-Isolaten, dargestellt als Minimum Spanning Tree
Abb. 15:	Verteilung der ST-CC unter den C. jejuni-Isolaten der unterschiedlichen Quellen
Abb. 16:	Verteilung der ST-CC unter den C. coli-Isolaten der unterschiedlichen Quellen
Abb. A1:	Zur Erhebung der Patientendaten verwendeter Fragebogen
Abb. A2:	Aufbau und Zusammensetzung der verwendeten Mikrotiterplatten

Tabellenverzeichnis

Tab. 1:

Tab. 2: Biochemische Kriterien zur Differenzierung von Campylobacter spp. Tab. 3: Kriterien der Genotypisierungsverfahren für Campylobacter spp. Tab. 4: Campylobacter-Referenzstämme Tab. 5: Primer der mPCR modifiziert nach Wang et al. (2002) und Chaban et al. (2009) Tab. 6: Primer der MLST-Amplifikation für C. jejuni Tab. 7: Primer der MLST-Sequenzierung für C. jejuni Tab. 8: Primer der MLST-Amplifikation und Sequenzierung C. coli Tab. 9: Mastermix der mPCR Tab. 10: Primermix der mPCR Tab. 11: Temperaturprofil der mPCR Tab. 12: Primer der MLST Tab. 13: Protokoll der MLST Tab. 14: Der Antibiotikaresistenztestung unterzogene Campylobacter spp.-Isolate Tab. 15: Qualitätskontrollwerte für *C. jejuni* DSM 4688 Tab. 16: Getestete Konzentrationsbereiche und MHK-Grenzwerte der antimikrobiellen Wirkstoffe Tab. 17: Univariate Analyse von Risikofaktoren einer Campylobacter-Infektion bei Katzen Tab. 18: Sequenztypen mit Isolaten aus verschiedenen Quellen

Meldepflichtige Darmkrankheiten in der BRD 2014 laut RKI

Abkürzungsverzeichnis

Abb. Abbildung

AFLP Amplified Fragment Length Polymorphism

Aqua dest. Aqua destillata

Aqua bidest. Aqua bidestillata

Art.-Nr. Artikelnummer

CDT Cytolethal Distending Toxin

CT-Verfahren Cape Town-Verfahren

DANN Desoxyribonukleinsäure

dNTP Desoxyribonukleosidtriphosphat

DSMZ Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und

Zellkulturen GmbH

DTCS Dye-Terminator-Cycle-Sequencing

GBS Guillain-Barré-Syndrom

HIV Humanes Immundefizienz-Virus

IBD Inflammatory Bowel Disease

ISO Internationale Organisation für Normung

KBE Koloniebildende Einheit

mCCDA Modifizierter Charcoal-Cefoperazon-Desoxycholat-

Agar

MgCl₂ Magnesiumchlorid

MHA Müller-Hinton-Agar

MHK Minimale Hemmkonzentration

MID minimale infektiöse Dosis

MLST Multi Locus Sequence Typisierung

mPCR multiplex Polymerase-Kettenreaktion

MST Minimum Spanning Tree

PBS phosphatgepufferte Salzlösung

PCR Polymerase-Kettenreaktion

PFGE Pulsfeldgelelektrophorese

RAPD Random Amplified Polymorphic DNA

rDNA ribosomale Desoxyribonukleinsäure

RFLP Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus

RKI Robert-Koch-Institut

rRNA ribosomale Ribonukleinsäure

spp. Spezies (Plural)

ssp. Subspezies

ST Sequenztyp

ST-CC Klonaler Komplex

Tab. Tabelle

Taq-Polymerase Polymerase aus Thermophilus aquaticus

TBA Tryptose-Blut-Agar

TBE Tris-Borat-Ethylendiamintetraessigsäure

TE-Puffer Tris-Ethylendiamintetraessigsäure-Puffer

UV-Licht ultraviolettes Licht

VBNC viable but non-culturable (lebend, aber nicht kulti-

vierbar)

WHO Weltgesundheitsorganisation

1 Einleitung

Die Campylobacteriose ist weltweit die häufigste bakteriell bedingte Darmerkrankung (World Health Organization 2013). Sie ist zudem die häufigste Zoonose in der europäischen Union (EU) gefolgt von Salmonellose und Yersiniose (Eurosurveillance editorial team 2015). Zumeist führt eine Infektion mit *Campylobacter* zu einer sporadischen Form einer akuten Enteritis (Park 2002). Neben einer systemischen Infektion sind schwerwiegende immunmediierte Komplikationen wie das Guillain-Barré-Syndrom (GBS) beschrieben (World Health Organization 2013). Zu den natürlichen Reservoiren von *Campylobacter* spp. zählen zahlreiche Nutz-, Wild- und Haustiere (Jones 2001).

Die Infektionskette der Campylobacteriose ist aufgrund der zahlreichen Quellen und Übertragungswege sowie aufgrund noch unbekannter Erreger-Wirts-Beziehungen komplex (Acke et al. 2010). Meist handelt es sich bei der Campylobacteriose des Menschen um eine Lebensmittelassoziierte Infektion durch fäkal kontaminiertes Fleisch, Milch oder Wasser (Moore et al. 2005; Skelly und Weinstein 2003). Geflügelfleisch scheint hierbei die Hauptquelle zu sein (Eurosurveillance editorial team 2015).

Die Rolle anderer Quellen neben den Lebensmitteln ist zudem noch nicht endgültig geklärt (Alter et al. 2011a).

Die weltweite Zunahme antimikrobieller Resistenzen bei *Campylobacter* spp. kann zu einem Therapieversagen oder dem verzögerten Beginn einer Therapie durch notwendige Resistenztests führen. Dies betrifft überwiegend Fluorchinolone und in geringerem Maße Makrolide (Alfredson und Korolik 2007; Luangtongkum et al. 2009). Darüber hinaus können Infektionen mit resistenten *Campylobacter* spp. klinisch schwerwiegender und langwieriger sein (Helms et al. 2005; Travers und Barza 2002).

Die Genotypisierung von *Campylobacter*-Isolaten stellt eine wesentliche Methode dar, um die Verwandtschaft der Isolate sowie potentielle Infektionsketten zu untersuchen und in der Folge Maßnahmen zur Unterbrechung der Infektkette zu etablieren.

Das Ziel dieser Arbeit war es, mögliche Infektionsquellen von *Campylobacter* spp. und deren Isolierungsraten in verschiedenen Matrizen zu ermitteln. Zu den untersuchten Matrizen zählten Heim-, Nutz- und Wildtiere sowie Umweltproben. Bei Hunden und Katzen wurden mögliche Risikofaktoren einer *Campylobacter*-Infektion wie deren Alter, das Vorhandensein von Durchfall, die Fütterung von Rohfleisch und die Haltungsform untersucht.

Es erfolgte ein Vergleich verschiedener kultureller Isolierungsmethoden (ISO- und Cape Town-Verfahren) zum Nachweis von *Campylobacter* spp. durch parallelen Einsatz bei den zu untersuchenden Proben.

Einleitung

Des Weiteren wurde eine Antibiotikaresistenztestung der *Campylobacter* (*C.*) *jejuni-* und *C. coli-*Isolate mittels Mikrodilution durchgeführt, um die aktuelle Resistenzsituation der verschiedenen Matrizen zu analysieren. Eine Genotypisierung ausgewählter *C. jejuni-* und *C. coli-*Stämme erfolgte mittels MLST, um phylogenetische Zusammenhänge aufzuzeigen.

2 Literatur

2.1 Historie

Im Jahre 1886 beschrieb Theodor Escherich spiralförmige Bakterien im Kolon eines an Durchfall erkrankten Säuglings. Er wies die Bakterien lediglich mikroskopisch im Stuhl nach, da diese nicht anzüchtbar waren. Im gleichen Jahr wies er gleichartige Bakterien auch im Kot von durchfallkranken Katzenwelpen nach, woraufhin er diese als *Vibrio fetus* bezeichnete (Escherich 1886).

Mit dem Einsatz molekularbiologischer Methoden grenzten Sébald und Véron 1963 einige Vibrionen aufgrund des niedrigeren Cytosin- und Guanin-Gehaltes der DNA von dieser Gattung ab und bezeichneten diese als *Campylobacter* (griech. campylos = gebogen, bacterion = Stab) (Sebald und Veron 1963).

Durch die Entwicklung selektiver Nährböden in den 1970er Jahren gelang die erste Isolierung von *Campylobacter* spp. aus Stuhlproben, wobei Cephalothin eingesetzt wurde, um die fäkale Begleitflora zu unterdrücken (Cooper und Slee 1971).

Im folgenden Jahr erfolgte die Isolierung aus Stuhlproben auch mittels selektiver Filter, wobei Dekeyser et al. (1972) sich Motilität und geringe Größe von *Campylobacter* gegenüber der kompetitiven Flora zunutze machten.

Im Jahre 1977 führte Skirrow eine groß angelegte Untersuchung von Durchfallpatienten mittels Stuhlproben durch und konnte ein vermehrtes Vorkommen von *C. jejuni* und *C. coli* gegenüber der Kontrollgruppe zeigen (Skirrow 1977).

Durch die Entwicklung geeigneter Isolierungsmethoden in den Folgejahren wurde die weite Verbreitung und große Bedeutsamkeit thermophiler *Campylobacter* erkannt.

2.2 Taxonomie

Campylobacter gehören der Klasse der Epsilonproteobacteria an. Der Ordnung Campylobacterales gehören die beiden Familien Helicobacteraceae und Campylobacteraceae an. Zu letzteren zählen die Gattungen Campylobacter, Arcobacter und Sulfurospirillum. Die Gattung Campylobacter umfasst derzeit 32 Spezies mit 13 Subspezies (Euzéby 2014). Zu den thermophilen Vertretern zählen C. coli, C. jejuni (mit den beiden Subspezies C. jejuni ssp. doylei und C. jejuni ssp. jejuni), C. lari (C. lari ssp. concheus und C. lari ssp. lari) und C. upsaliensis.

2.3 Erregereigenschaften

2.3.1 Morphologie

Bakterien der Gattung *Campylobacter* sind gramnegative, sporenlose, gebogene bis spiralförmige, schlanke Stäbchen mit einer Länge von 0,5 bis 5,0 µm (Skirrow 1977; Smibert 1978). Bei ungünstigen Umweltbedingungen können sie auch eine kokkoide Form annehmen. Die meisten *Campylobacter* spp. sind uni- oder bipolar monotrich begeißelt und zeigen eine typische korkenzieherartige Beweglichkeit (Ng et al. 1985; Paisley et al. 1982).

Campylobacter-Kolonien sind klein mit einem Durchmesser von 1-2 mm, rund, glatt, glänzend, geruchlos und gräulich. Bei hohem Feuchtigkeitsgehalt können sie auch schwärmen (Skirrow und Benjamin 1980; Buck und Kelly 1981).

2.3.1 Physiologie

Campylobacter spp. sind anspruchsvoll bezüglich der Wachstumsbedingungen (Park 2002).

Die Spezies *C. jejuni*, *C. coli*, *C. upsaliensis* und *C. lari* werden unter dem Begriff "thermophile *Campylobacter* spp." zusammengefasst, da ihr Temperaturoptimum bei 37° C bis 42 ° C liegt (Park 2002; Penner 1988). Thermophil meint weniger das Vermögen, bei sehr hohen Temperaturen zu wachsen, als vielmehr das Unvermögen sich unter 30° C zu vermehren (Stanley et al. 1998). Das Temperaturoptimum der übrigen Spezies liegt bei 37° C (Skirrow und Benjamin 1980).

Campylobacter spp. sind weder in der Lage, Kohlenhydrate zu fermentieren, noch zu oxidieren (Vandamme et al. 1991). Ihre Energiequellen sind Aminosäuren wie Glutamat und Aspartat sowie intermediäre Metabolite aus dem Citratsäure-Zyklus wie Succinat, Fumarat, Lactat und Malat (Stahl et al. 2012; Tenover et al. 1985).

Desweiteren sind sie mikroaerophil und kapnophil, d.h. optimale Wachstumsbedingungen herrschen bei etwa 5 % Sauerstoff, 10 % Kohlendioxid und 85 % Stickstoff (Bolton und Coates 1983). Dies in Kombination mit den Temperaturansprüchen bedingt, dass sich *Campylobacter* außerhalb eines Wirtsorganismus in der Umwelt nicht vermehren können (Park 2002). Der Zusatz von 5 - 10 % Wasserstoff stimuliert das Wachstum einiger *Campylobacter* spp., wie *C. concisus*, *C. showae*, *C. curvus*, *C. rectus*, *C. gracilis*, *C. sputorum* und *C. hominis* (On 2001).

2.3.2 Tenazität

Campylobacter spp. weisen für einen Lebensmittel-assoziierten Zoonoseerreger eine geringe Tenazität auf (Park 2002). So zeigen sie eine geringe Sauerstofftoleranz und reagieren empfindlich gegenüber ungünstigen Umwelteinflüssen bezüglich Temperatur und pH-Wert. Gegenüber Austrocknung sind sie ebenfalls empfindlich (Tomancová et al. 1991).

Auch wenn *Campylobacter* spp. bei Temperaturen unterhalb von 30°C nicht mehr vermehrungsfähig sind, können sie bei 4°C über mehrere Monate z.B. in Flusswasser überleben (Rollins und Colwell 1986). Die Überlebensfähigkeit ist bei Kühltemperaturen von etwa 4°C besser als bei Raumtemperatur (Blaser et al. 1980). Sie überleben, wenn auch in geringer Zahl, monatelang bei Gefriertemperaturen (Beuchat 1987). Hingegen sind sie gegenüber hohen Temperaturen empfindlich. Obwohl einige Spezies als thermophil bezeichnet werden, kommt es bei Temperaturen ab 56°C zum Absterben (Nguyen et al. 2006).

Das pH-Optimum für Campylobacter liegt zwischen pH 6,5 und pH 7,5 (Silva et al. 2011).

Auch gegenüber ultravioletten Strahlen besitzen Vertreter der Gattung *Campylobacter* eine hohe Empfindlichkeit. So stellten Boyle et al. (2008) im Rahmen ihrer Untersuchungen fest, dass bereits eine 20-minütige Bestrahlung mit direktem Sonnenlicht eine *Campylobacter*-Population in Wasser inaktiviert. Des Weiteren sind *Campylobacter* empfindlich gegenüber Nährstoffmangel (Mihaljevic et al. 2007).

Bei widrigen Umweltbedingungen sind *Campylobacter* spp. in der Lage, in ein metabolisch inertes Stadium überzugehen, in welchem sie lebensfähig, aber nicht kultivierbar sind (VBNC) (Rollins und Colwell 1986). Allerdings besitzen nicht alle *Campylobacter*-Stämme diese Eigenschaft (Medema et al. 1992). Jones et al. (1991) konnten zeigen, dass VBNC-Formen von gewissen *Campylobacter*-Stämmen Mäuse infizieren können. Jedoch erlangen nicht alle VBNC-Stadien nach intestinaler Passage ihre Kultivierbarkeit und Enteropathogenität zurück (Beumer et al. 1992). Die Pathogenität während des VBNC-Stadiums wird kontrovers beurteilt (Oliver 2010). Außerdem können kulturbasierte Nachweisverfahren zu falsch negativen oder zu niedrigen Nachweisraten führen (Saha et al. 1991).

Bei suboptimalen Bedingungen, insbesondere bei einem zu hohem Sauerstoffgehalt, sind sie zudem in der Lage, Biofilme auszubilden, welche ihnen Schutz vor anderen Stressoren bieten (Reuter et al. 2010; Joshua et al. 2006). *Campylobacter* spp. können darüber hinaus in Protozoen überleben, was ihre Persistenz in Gewässern verbessern kann (Snelling et al. 2005). Die geringe Tenazität und die speziellen Wachstumsansprüche sind als Anpassung als Kommensale im Magendarmtrakt warmblütiger Tiere anzusehen (Park 2002).

2.3.4 Virulenzeigenschaften

Die Kombination aus spiraliger Form und chemotaktischer Beweglichkeit zu Muzin ermöglichen das Durchdringen des Mukus im Darm (Hugdahl et al. 1988).

Zu weiteren Virulenzeigenschaften von *C. jejuni* zählen die Fähigkeit zu Adhäsion und Invasion, die Toxinproduktion und die Variabilität von Oberflächenantigenen (van Vliet und Ketley 2001).

Die Rolle von Toxinen in der Pathogenese scheint unklar. Das Cytolethal Distending Toxin ist das am besten erforschte Toxin von *Campylobacter* spp. und führt durch Blockade des Zellzyklus in der G2-Phase zum Zelltod. Eine ausführliche Übersicht über *Campylobacter*-Zytotoxine und -Enterotoxine ist bei Wassenaar (1997) zu finden.

2.4 Natürliche Reservoire

Campylobacter spp. sind weit in der Natur verbreitet (Jones 2001). Es handelt sich um enterale Kommensalen zahlreicher Wild- und Haustiere, v.a. von Vögeln. Dies zeigt Tabelle A1 des Anhangs (On 2013; Man 2011). Die Campylobacteriose durch thermophile Campylobacter spp. ist bei Rindern, Schafen, Ziegen, Hunden, Katzen, Puten, Gänsen, Enten, Hühnern, Tauben und anderen Tierarten gemäß der Verordnung über meldepflichtige Tierkrankheiten meldepflichtig. Ausgenommen sind Einhufer, Schweine, Hasen, Kaninchen, Karpfen, Forellen und forellenartige Fische.

Katzen können Träger von *Campylobacter* spp. sein. Die bei ihnen beschriebenen Prävalenzen reichen von 0 % bis 75% (Acke et al. 2006; Lee et al. 2004). Die am häufigsten nachgewiesenen Spezies sind *C. upsaliensis* und *C. jejuni*. *C. coli* wird deutlich seltener isoliert.

Tabelle A2 des Anhangs zeigt eine Übersicht über die festgestellten Prävalenzen, den Stichprobenumfang und die am häufigsten nachgewiesene Spezies.

Katzen sind meist symptomlose Ausscheider von *Campylobacter* spp., manche entwickeln jedoch Symptome wie der Mensch (Skirrow 1981). In einer Studie konnte gezeigt werden, dass 33% der Katzen, die mit an *C. jejuni*-erkrankten Patienten in einem Haushalt lebten, ebenfalls *C. jejuni*-positiv waren (Damborg et al. 2004).

In der Mehrheit der Studien konnte weder ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Ausscheidung von *Campylobacter* mit dem Alter noch mit Durchfallerkrankungen der Katzen festgestellt werden (Rossi et al. 2008; Workman et al. 2005; Bender et al. 2005; Sandberg et al. 2002).

Andere Studien über die Altersverteilung *Campylobacter*-positiver Katzen zeigten unterschiedliche Ergebnisse. Wieland et al. (2005) stellten bei unter drei Jahre alten Katzen signifikant häufiger *C. upsaliensis* bzw. *helveticus* fest, wohingegen *C. jejuni* altersunabhängig nachgewiesen wurde. Bender et al. (2005) und Acke et al. (2009b) berichten von signifikant höheren Prävalenzen bei Katzen unter einem Jahr, wohingegen Gargiulo et al. (2008) das Gegenteil für feline *C. jejuni* Isolate zeigte.

Auch die Aussagen über eine Saisonalität sind kontrovers. Bender et al. (2005) berichten von einem gehäuften Auftreten im Sommer, wohingegen Wieland et al. (2005) und López et al. (2002) dies im Winter und Herbst feststellten. Andere Autoren konnten keinen Zusammenhang mit der Jahreszeit erkennen (Baker et al. 1999).

Ein Risikofaktor bei Katzen scheint Gruppenhaltung zu sein (Baker et al. 1999). Des Weiteren weisen Freigänger ein größeres Risiko auf, *Campylobacter*-Träger zu sein (Wieland et al. 2005). Thermophile *Campylobacter* spp. kommen häufig im Darmtrakt von Hunden vor. Längsschnittstudien zeigten, dass jeder oder ein großer Anteil der untersuchten Hunde mindestens zu einem Zeitpunkt des Untersuchungszeitraumes *Campylobacter* spp. ausschied (Hald et al. 2004a; Bell et al. 2008).

Die berichteten Prävalenzen und auch die Speziesverteilung caniner *Campylobacter*-Isolate variieren jedoch stark. Die beschriebenen Prävalenzen reichen von 0 % bis 77 %. Die beiden häufigsten Spezies des Hundes sind *C. upsaliensis* und *C. jejuni*. *C. coli* und *C. lari* weisen hingegen geringere Prävalenzen auf (Tabelle A3 des Anhangs).

Die Übertragung von *Campylobacter* spp. von Hunden auf Menschen wurde bereits beschrieben und auch im Zusammenhang mit einer neonatalen Sepsis durch Genotypisierung der Isolate bewiesen (Blaser et al. 1978; Goossens et al. 1991; Damborg et al. 2004; Wolfs et al. 2001). Die Rolle des Hundes als Infektionsquelle für den Menschen konnte auch bei einem Vergleich humaner mit caniner Isolate mittels MLST gezeigt werden (Karenlampi et al. 2006).

Auch zeigte sich in Studien, dass der Kontakt zu Hunden ein signifikant erhöhtes Risiko für eine humane Campylobacteriose bedeutet (Kapperud et al. 1992b). Dies trifft insbesondere auf Hundewelpen bei Kontakt mit Kindern zu (Mughini Gras et al. 2012; Stafford et al. 2008; Friedman et al. 2004; Tenkate und Stafford 2001). Einige Studien identifizierten nur durchfallkranke nicht jedoch gesunde Hunde als Risikofaktor (Saeed et al. 1993; Adak et al. 1995).

Die Rolle von Campylobacter spp. als Auslöser von Darmerkrankungen bei Hunden ist umstritten. Die Mehrheit der Studien konnte keinen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Ausscheiden von Campylobacter spp. und dem Auftreten von Durchfall feststellen (Acke et al. 2006; Rossi et al. 2008; Parsons et al. 2011; Stavisky et al. 2011). In einer Studie hatte Durchfall sogar einen protektiven Effekt (Wieland et al. 2005). Bei Hunden verursacht C. jejuni im Gegensatz zu C. upsaliensis häufiger Durchfall und transiente Infektionen (Hald et al. 2004a; Parsons et al. 2011). In einer Studie zeigten weder experimentell infizierte Katzen-, noch Hundewelpen klinische Symptome, allerdings erkrankte ein Mitarbeiter, der sich versehentlich infizierte (Prescott und Karmali 1978). Dies kann bedeuten, dass nicht alle Stämme für Hunde pathogen sind oder dass es sich um sekundäre Pathogene handelt (Acke et al. 2006; Macartney et al. 1988; Olson und Sandstedt 1987).

Auch gesunde Hunde können ein breites Spektrum an *Campylobacter* spp. ausscheiden, weshalb manche Autoren thermophile *Campylobacter* beim Hund als Kommensalen betrachten (Chaban et al. 2010; Parsons et al. 2010; Engvall et al. 2003). Der überwiegende Teil der Studien konnte zeigen, dass junge Hunde ein höheres Risiko als ältere aufweisen, Ausscheider zu sein (Amar et al. 2014; Procter et al. 2013; Parsons et al. 2009; Acke et al. 2006; Wieland et al.

2005). Dies wurde allerdings auch bei alten Hunden beschrieben (Badlík et al. 2014; Procter et al. 2013; Parsons et al. 2011). Andere Studien wiederum konnten keine altersabhängige Häufung oder dies nicht für *C. jejuni* zeigen (Steinhauserova et al. 2000; Tsai et al. 2007; Salihu et al. 2010; Wieland et al. 2005). Wenn Hunde Symptome einer *Campylobacter*-Infektion zeigen, so sind i.d.R. junge Hunde und deren Magen-Darm-Trakt betroffen (Burnens et al. 1992). An Durchfall erkrankte Hunde zeigen eine größere *Campylobacter*-Spezies-Vielfalt und scheiden eine höhere Zahl an *Campylobacter* spp. aus, wobei aber die Menge der gesamten bakteriellen Flora im Kot konstant bleibt. Dies spricht für eine Verschiebung der mikrobiellen Flora im Darm zugunsten von *Campylobacter* spp. (Chaban et al. 2010). Auch bei Jagdhunden zeigte sich eine größere Spezies-Vielfalt (Procter et al. 2013).

Streunende Hunde scheiden *Campylobacter* spp. ebenfalls signifikant häufiger aus (Tsai et al. 2007; Fernández und Martin 1991). Mehrere Studien konnten auch der Zwingerhaltung ein signifikant höheres Risiko zuschreiben (Parsons et al. 2010; Westgarth et al. 2009; Tsai et al. 2007; Workman et al. 2005). Untersuchungen zum Einfluss der Haltung mehrerer Hunde im selben Haushalt führten zu eher widersprüchlichen Ergebnissen. Teilweise wurde ein signifikant höheres Risiko, *C. upsaliensis* auszuscheiden beschrieben, andere Autoren konnten jedoch keinen Zusammenhang zwischen dem Trägerstatus und dem Zusammenleben mit anderen Tieren feststellen (Parsons et al. 2010; Westgarth et al. 2009; López et al. 2002; Hald et al. 2004a).

Hinsichtlich einer vorausgehenden Antibiosegabe zeigte sich entweder ein geringeres Risiko oder kein Einfluss auf das Auftreten von *C. upsaliensis* (Leonard et al. 2011; Parsons et al. 2010; Moser et al. 2001). Die Fütterung von rohem Fleisch stellt einen Risikofaktor dar, in kommerziellem Trocken-, Nass- und Rohfutter für Hunde konnte wiederum keine *Campylobacter* spp. isoliert werden (Leonard et al. 2011; Parsons et al. 2010; Wieland et al. 2005; Strohmeyer et al. 2006).

Einige Autoren berichten von einer wie beim Menschen ähnlichen Saisonalität mit vermehrtem Auftreten in den warmen Jahreszeiten, andere konnten allerdings keine Saisonalität feststellen (Amar et al. 2014; Carbonero et al. 2012; Hald et al. 2004a; López et al. 2002; Moser et al. 2001; Baker et al. 1999).

Hunde und auch Katzen sind die einzig relevanten Quellen von *C. upsaliensis* und meist wird *C. upsaliensis* als die dominierende Spezies von Hunden beschrieben (Fernández und Oval 2012; Bourke et al. 1998). Der Anteil dieser Spezies an humanen Enteritiden variiert, je nach Isolierung, Bestätigungsmethode und Land, stark (Nichols et al. 2012; Labarca et al. 2002; Engberg et al. 2000; Goossens et al. 1990).

Die optimale Wachstumstemperatur thermophiler *Campylobacter* entspricht der Körperinnentemperatur von Vögeln (Stanley und Jones 2003). Ausscheider sind eine Vielzahl von Wildvogelarten, wie auch Hühner, Puten, Enten, Gänse, Wachteln und Strauße (Griekspoor et al. 2013;

Hughes et al. 2009; Waldenstrom et al. 2002; Kovačić et al. 2013; Wieliczko 1994; Ngulukun et al. 2010; Oyarzabal et al. 1995). Geflügel gilt als primäres natürliches Reservoir von *C. jejuni* und als Hauptquelle der humanen Campylobacteriose (Wilson et al. 2008; Park 2002).

Geflügelfleisch ist aufgrund des hohen Verzehrs von großer Bedeutung (Humphrey et al. 2007). Sie sind mit bis zu 10⁹ KBE/g Kot starke Ausscheider von *Campylobacter* spp. (Cawthraw et al. 1996). Die dominierende Spezies ist *C. jejuni*, aber auch *C. coli* kann isoliert werden (Sulonen et al. 2007). Eine vertikale Übertragung scheint nur eine untergeordnete Rolle zu spielen, da Küken erst mit der dritten Lebenswoche kolonisiert werden, was vermutlich durch den Verlust des Schutzes durch maternale Antikörper bedingt ist (Bull et al. 2006; Sahin et al. 2001). Tritt eine Infektion zu einem späteren Zeitpunkt auf, kann eine Übertragung über Koprophagie innerhalb von 72 h und auf bis zu 100% der Tiere einer Herde erfolgen (Shreeve et al. 2000). Je nach Land sind 17 % bis 100 % der Broiler *Campylobacter*-positiv (Eurosurveillance editorial team 2012).

Eine Saisonalität mit einem gehäuften Vorkommen in Sommer und Herbst wurde berichtet (Jacobs-Reitsma et al. 1994).

Auch in Taubenkot gesunder Tiere sind Bakterien der Gattung *Campylobacter* weit verbreitet (Vázquez et al. 2010). Beschriebene Prävalenzen reichen von 0 % bis zu 70,2 % (Aquino et al. 2002; Lillehaug et al. 2005; Jeffrey et al. 2001; Vázquez et al. 2010). Isoliert wurden überwiegend *C. jejuni* und auch *C. coli* (Vázquez et al. 2010). Eine Untersuchung von Wachtelkot auf *C. jejuni* und *C. coli* ergab eine Isolierungsrate von 31,3 % (Ngulukun et al. 2010).

Schweine zählen ebenfalls zu den natürlichen Reservoiren von *Campylobacter*. *C. coli* ist Teil der physiologischen Darmflora von Schweinen und ist beinahe als ausschließliche Spezies zu finden (Varela et al. 2007a; Oporto et al. 2007; Kasimir 2005). Allerdings konnten auch *C. jejuni* und *C. lari* isoliert werden (Kosinc 2011; Young et al. 2000).

Die Infektion der Ferkel erfolgt v.a. durch die Muttersau (Weijtens et al. 1999). Auf diese Weise können Ferkel bereits innerhalb von 24 h kolonisiert werden (Harvey et al. 2000). Die *Campylobacter-*Zellzahl nimmt mit zunehmendem Alter ab und Schweine zeigen sowohl kontinuierliches als auch intermittierendes Ausscheiden (Weijtens et al. 1999; Kasimir 2005).

Auch die Größe des Betriebes wirkt sich aus. Je größer der Betrieb ist, desto häufiger konnte *C. coli* nachgewiesen werden (Kosinc 2011). Bei Schweinen wurde keine Saisonalität bei der Ausscheidung von *Campylobacter* spp. beobachtet (Milnes et al. 2008).

Schweine weisen eine hohe Erregerprävalenz von bis zu 100 % auf (Kasimir 2005; Workman et al. 2005; Madden et al. 2000). Allerdings wurde auch von erregerfreien Betrieben und geringeren Prävalenzen (9%) berichtet (Marinou et al. 2012; Aquino et al. 2002).

Thermophile *Campylobacter* spp. wurden sowohl von gesunden Rindern als auch von an Durchfall erkrankten Kälbern isoliert (Klein et al. 2013). Kälber sind häufiger Träger als adulte Tiere

(Johnsen et al. 2006; Stanley und Jones 2003). Beschriebene Prävalenzen reichen von 0,5 % bis 87 % (Hoar et al. 1999; Sanad et al. 2011; Oporto et al. 2007; Hannon et al. 2009). Die häufigste bei Rindern vorkommende Spezies ist *C. jejuni*, daneben kommen auch *C. coli* und andere *Campylobacter* spp. wie *C. fetus*, *C. hyointestinalis* und *C. lanienae* vor (Sproston et al. 2011; Milnes et al. 2008; Hakkinen et al. 2007).

C. fetus ssp. veneralis verursacht die venerische Campylobacteriose der Rinder, die durch Infertilität der weiblichen Tiere und seltener Aborte gekennzeichnet ist (Bawa et al. 1991; Iraola et al. 2012). C. fetus ssp. fetus hingegen verursacht sporadische Aborte (Brooks et al. 2004).

In Gegensatz zu Geflügel scheinen Rinder-assoziierte humane Isolate eher durch direkten Kontakt oder indirekt über die Umwelt als über Lebensmittel übertragen zu werden (Strachan et al. 2009).

Die bei Pferden beschriebenen Prävalenzen liegen bei nur etwa 3 % (Moriarty et al. 2015). *C. fetus* ssp. *fetus* wurde als Erreger von chronischem Durchfall bei einem Pferd beschrieben (Hurcombe et al. 2009). Auch andere *Campylobacter* spp. kommen im Darmtrakt von Pferden vor (Zweifel et al. 2008; Baserisalehi et al. 2007; Netherwood et al. 1996).

Schafe und Ziegen zählen ebenfalls zu den Säugetieren, die *Campylobacter* spp. ausscheiden (Hald et al. 2004a; Raghunath und Banker 1993). Abgesehen von wenigen Berichten über höhere Prävalenzen von *Campylobacter* spp. bei Schafen von 17,5 % bis zu 43,8 %, liegen die meisten Angaben bei etwa 10 % (Zweifel 2004; Milnes et al. 2008; Oporto et al. 2007; Schilling et al. 2012; Sproston et al. 2011). Bei Schlachtlämmern liegen meist höhere Prävalenzen vor (Lazou et al. 2014; Bailey et al. 2003). Die dominierende Spezies ist wie auch bei Ziegen, Geflügel und Rindern *C. jejuni*, aber auch *C. coli* kommt vor (Schilling et al. 2012; Oporto et al. 2007). Obwohl auch gesunde Schafe mit *Campylobacter* infiziert sein können, verursachen *C. fetus* ssp. *fetus* und seltener auch *C. jejuni* Aborte bei Schafen (van den Brom et al. 2012; Sahin et al. 2012; Mannering et al. 2003). Die Prävalenzen von *Campylobacter* spp. bei Ziegen sind ebenfalls gering (Lee et al. 2004). Sie weisen Prävalenzen bis 15,4 % auf (Lazou et al. 2014; Schilling et al. 2012).

2009 wurde eine neue *Campylobacter*-Spezies, *C. cuniculorum*, aus dem Zäkum von Kaninchen isoliert (Zanoni et al. 2009). Bis zu 100 % der Kaninchen sind Träger von *C. cunicolorum*, wohingegen andere Spezies selten bis gar nicht nachgewiesen werden konnten (Revez et al. 2013; Kohler et al. 2008; Roug et al. 2013; Effenberger 2008). Kaninchenfleisch scheint generell jedoch keine bedeutende Quelle für Campylobacteriose darzustellen (Little et al. 2008). Auch andere kleine Heimtiere, wie Ratten, Hamster, Mäuse und Meerschweinchen können *Campylobacter* spp. ausscheiden (Meanger und Marshall 1989; Meerburg et al. 2006; Gebhart et al. 1989; Effenberger 2008; Fernie und Park 1977). Überdies wurden auch bei Reptilien wie

Schildkröten, Echsen und Schlangen *Campylobacter* spp. nachgewiesen (Gilbert et al. 2014) (Wang et al. 2013; Dingle et al. 2010).

Bei der Verbreitung von *Campylobacter* spp. wurde auch die Beteiligung von Arthropoden diskutiert (Nichols 2005). Arthropoden können als mechanischer Vektor fungieren (Ekdahl et al. 2005). Je nach Fliegenspezies und Untersuchungsort variiert die Prävalenz von 1 bis 50,7 % (Hald et al. 2008; Sproston et al. 2011; Hald et al. 2004b; Rosef und Kapperud 1983). Auch Nacktschnecken und Käfer können Träger von *Campylobacter* sein (Sproston et al. 2010; Hazeleger et al. 2008; Jacobs-Reitsma et al. 1995).

Thermophile *Campylobacter* spp. sind als Folge einer fäkalen Kontamination durch Wildtiere, Weidetiere, Abwasser und Abschwemmung begüllter Landflächen bei Niederschlag in der Umwelt weit verbreitet (Jones 2001; Rechenburg 2008; Stanley und Jones 2003).

Auch hier konnte eine Saisonalität gezeigt werden. Im Unterschied zur humanen Campylobacteriose und vielen Tierbeständen sind die Isolationsraten in den kalten Jahreszeiten höher als in den warmen (Jones 2001; Obiri-Danso und Jones 1999). Dies scheint mit entsprechend niedrigeren Temperaturen und geringerer UV-Strahlung zusammen zu hängen (Jones 2001).

Oberflächenwasser sind häufig mit *C. jejuni*, *C. coli* und *C. lari* kontaminiert (Moore et al. 2001; Brown et al. 2004). Dazu zählen Flüsse, Seen, Trinkwasser, Pools, Teiche und auch Pfützen (Devane et al. 2005; Hörman et al. 2004; Moore et al. 2001; Jones 2001; Devane et al. 2005, 2005; Bull et al. 2006). Neben Süßwasser konnten *Campylobacter* spp. auch in Meerwasser nachgewiesen werden (Hernández et al. 1996).

Weitere mögliche Quellen von *Campylobacter* spp. aus der Umwelt sind beispielsweise Bodenmaterial von Badestränden, Spielplätzen und ländlichen Gegenden (Bolton et al. 1999; Yamahara et al. 2012; French et al. 2009; Brown et al. 2004).

2.5 Resistenzlage

In den späten 1990er Jahren traten bereits Fluorchinolon-resistente *C. jejuni*-Stämme in Europa auf (Alfredson und Korolik 2007; Sáenz et al. 2000). Seitdem nehmen antimikrobielle Resistenzen in *Campylobacter* spp. weltweit zu (World Health Organization 2013; Luangtongkum et al. 2009; Moore et al. 2006). Dies betrifft v.a. Fluorchinolone und in geringerem Maße auch Makrolide (Luangtongkum et al. 2009; Alfredson und Korolik 2007).

Eine Studie zeigte einen beinahe fünffachen Anstieg humaner Fluorochinolon-resistenter *Campylobacter*-Isolate in einem Zeitraum von fünf Jahren (Nachamkin 2000). Humane *Campylobacter*-Isolate aus der EU zeigten v.a. Resistenzen gegenüber Nalidixinsäure, Ciprofloxacin, Ampicillin und Tetracyclin. Jedes vierte wies eine Multiresistenz auf (Eurosurveillance editorial team 2015).

Diese Resistenzentwicklung ist gesundheitlich von großer Bedeutung (Silva et al. 2011). Dies schlägt sich nicht nur in Therapieversagen und dem verzögerten Beginn einer Therapie durch notwendige Resistenztests nieder. Ein weiterer Aspekt ist, dass Infektionen mit resistenten *Campylobacter* spp. klinisch schwerwiegender und langwieriger sein können (Helms et al. 2005; Travers und Barza 2002).

Dem Einsatz antimikrobieller Substanzen in der Tierproduktion wird eine wichtige Rolle bei der Resistenzentwicklung zugesprochen (Wieczorek und Osek 2013). Die Übertragung resistenter Bakterien von Nutztieren auf den Menschen erfolgt vermutlich überwiegend über Lebensmittel (Pezzotti et al. 2003; Engberg et al. 2001).

Der Einsatz von Antibiotika in der Humanmedizin trägt ebenfalls zum Resistenzerwerb von *Campylobacter* spp. bei (Engberg et al. 2001). Die Induktion einer Resistenz gegen Fluorchinolone kann bereits während einer Behandlung innerhalb von 24 Stunden auftreten (Molina et al. 1995).

Zur Untersuchung von Resistenzen bei *Campylobacter* finden Diffusions- (Plattendiffusions-, Epsilometer-Test) und Dilutionsverfahren (Agardilution, Bouillon-Makro- und Mikrodilution) Verwendung.

Für Campylobacter relevante Resistenzmechanismen sind die Verminderung der Antibiotikakozentration durch Effluxpumpen, die Inaktivierung des Antibiotikums durch Enzyme und die Modifikation der Zielmoleküle (Iovine 2013). Dies erfolgt durch spontane Mutation oder horizontalen DNA-Transfer (Transformation, Konjugation, Transduktion) (Wieczorek und Osek 2013; Luangtongkum et al. 2009). Aminoglykosid-Antibiotika können durch Enzyme inaktiviert werden, Campylobacter spp. sind meist aber empfindlich. Mit Ausnahme von Carbapenemen sind fast alle C. jejuni und C. coli resistent gegen Beta-Lactam-Antibiotika durch eine geringe Bindung oder Beta-Lactamasen. Resistenzen gegen Chloramphenicol wie beispielsweise durch inaktivierende Enzyme oder eine fehlende Bindung an die Ribosomen sind unter Campylobacter spp. hingegen nicht sehr verbreitet. Fluorchinolon-Resistenzen sind meist durch Punktmutationen des Gens gyrA, welches eine Untereinheit der DNA-Gyrase kodiert, und Efflux-Pumpen wie beispielsweise der CmeABC Multidrug Efflux-Pumpe bedingt und häufig (Wieczorek und Osek 2013; Payot et al. 2006). Resistenzen gegenüber Makroliden entstehen durch Zielmodifikation der 23S rRNA durch Mutation, Efflux-Pumpen und veränderte Membranpermeabilität (Iovine 2013; Corcoran et al. 2005). Auch Resistenzen gegenüber Tetracyclinen durch ribosomale Schutzproteine wie TetO und Efflux-Pumpen treten auf (Iovine 2013). Bemerkenswert ist auch, dass C. coli häufiger Resistenzen aufweist als C. jejuni (Gallay et al. 2007; Guévremont et al. 2006; Pezzotti et al. 2003).

2.6 Campylobacteriose des Menschen

2.6.1 Allgemeines

Weltweit sind *Campylobacter* die häufigsten bakteriellen Erreger von gastrointestinalen Erkrankungen (World Health Organization 2013). Sie verursachen weltweit pro Jahr etwa 500 Millionen Durchfallerkrankungen und Schätzungen zufolge allein in den USA jährlich Kosten von 1,7 Milliarden US \$ (Hoffmann et al. 2012; Ruiz-Palacios 2007). Bei der Campylobacteriose handelt es sich darüber hinaus um die häufigste Zoonose in der Europäischen Union (EU) gefolgt von Salmonellose und Yersiniose (Eurosurveillance editorial team 2015). Gemäß § 7 des Infektionsschutzgesetzes ist der Nachweis darmpathogener *Campylobacter*-Spezies bei Menschen meldepflichtig und die Campylobacteriose rangierte 2014 auf Platz zwei der häufigsten meldepflichtigen Darmkrankheiten in Deutschland (Tabelle 1).

Tab. 1: Meldepflichtige Darmkrankheiten in der BRD 2014 (nach Robert-Koch-Institut: Surv*S*-tat@RKI 2.0, https://survstat.rki.de, Abfragedatum: <11.08.2015)

Erkrankung	Fälle		
Norovirus-Enteritis	84.077		
Campylobacteriose	77.229		
Rotavirus-Enteritis	36.487		
Salmonellose	18.070		

2.6.2 Erreger

Die thermophilen *Campylobacter*-Spezies sind in der Humanmedizin am bedeutsamsten. Unter ihnen macht *C. jejuni* den überwiegenden Teil der Infektionen beim Menschen aus. Etwa 90 % der Fälle sind auf *C. jejuni* und 10 % auf *C. coli* zurückzuführen. *C. lari* und *C. upsaliensis* machen gemeinsam weniger als 1 % aus (Sopwith et al. 2009; Gürtler et al. 2005; Friedman et al. 2004).

Dabei ist zu berücksichtigen, dass Spezies wie *C. lari*, *C. upsaliensis*, *C. concisus* und *C. ureolyticus* (sogenannte "emerging pathogens") aufgrund ihrer noch anspruchsvolleren Kultivierung vermutlich unterdiagnostiziert sind. Dies umfasst eine Inkubationsdauer von bis zu sieben Tagen, ein besseres Wachstum in wasserstoffangereicherter Atmosphäre und eine Sensitivität gegenüber in selektiven Nährmedien angewandten Antibiotika. *C. hominis* und *C. ureolyticus* weisen außerdem eine von den anderen Spezies abweichende unbegeisselte und stäbchenförmige Morphologie auf (Man 2011). Des Weiteren zeigen sie besseres Wachstum bei 37° C, eine

Bebrütungstemperatur, die nicht in allen Laboren Standard zum Nachweis von *Campylobacter* spp. ist. Auch eine Speziesidentifizierung erfolgt nicht in allen Laboren.

So bleibt die Bedeutung dieser bisher selten detektierten Spezies fraglich (Platts-Mills und Kosek 2014).

2.6.3 Symptome und Therapie

Die Infektion mit *Campylobacter* spp. kann zu einem Spektrum von Symptomen führen, abhängig von der Empfänglichkeit des Wirtes und der Virulenz des Stammes.

Tabelle A1 des Anhangs gibt eine Übersicht über die verschiedenen *Campylobacter*-Spezies und -Subspezies mit ihren Wirtspezies und verursachten Erkrankungen bei Mensch und Tier.

Die häufigste Folge einer *Campylobacter*-Infektion des Menschen ist eine akute Enteritis, deren Inkubationszeit durchschnittlich vier Tage beträgt (Horn und Lake 2013). Die klinische Manifestation ist nicht zu unterscheiden von anderen bakteriellen Enteritiden und umfasst wässrigen bis blutigen Durchfall, Fieber und abdominale Krämpfe, seltener auch Erbrechen (Tribble et al. 2009; Gillespie et al. 2002).

Die Symptome sind i.d.R. selbstlimitierend und halten etwa sieben Tage an (Friedman et al. 2004). Patienten sind noch einige Wochen nach der Infektion Ausscheider, durchschnittlich 31 Tage (Kapperud et al. 1992a). Auch periodontale Erkrankungen und Gingivitis zeigten sich im Zusammenhang mit einer *Campylobacter*-Infektion (Macuch und Tanner 2000). *Campylobacter* spp. konnten aus Blut, Zerebrospinalflüssigkeit, Abszessmaterial, Genitalien, abortierten Feten, und Urin isoliert werden (Man 2011). Eine Bakteriämie tritt bei ca. 1% der Patienten mit *Campylobacter*-Enteritis auf, wobei überwiegend junge, alte und immungeschwächte Menschen betroffen sind (Friedman et al. 2004). *C. fetus* allerdings verursacht selten Enteritiden, häufig hingegen systemische Infektionen (Nichols et al. 2012).

Schätzungsweise führen 10% der Campylobacteriose-Fälle zu einer Hospitalisierung (Helms et al. 2006; Friedman et al. 2004). Die Mortalität liegt bei ca. 1 von 10.000 Fällen (Nichols et al. 2012).

Auch asymptomatische Verläufe wurden beschrieben (Ang et al. 2011). Dies trifft insbesondere auf Personen zu, die beruflich gegenüber dem Bakterium exponiert sind, wie Schlachthausmitarbeiter (Cawthraw et al. 2000).

Dies und der i.d.R. selbstlimitierende Charakter der Campylobacteriose führen dazu, dass nicht alle Erkrankten bei einem Arzt vorstellig werden. Darüber hinaus werden nicht alle Patienten auf *Campylobacter* spp. untersucht. Aus diesen Gründen wird die wahre Inzidenz acht-fach bis 38-fach höher eingeschätzt (Wheeler et al. 1999; Mead et al. 1999).

Aufgrund des selbstlimitierenden Charakters der Erkrankung erfolgt zunächst meist eine symptomatische Behandlung mittels Flüssigkeits- und Elektrolytsubstitution. Eine Antibiotikagabe ist

bei hohem Fieber, blutigem Stuhl, Symptomen, die länger als eine Woche andauern, Schwangerschaft, einer HIV-Infektion sowie anderen immunschwächenden Zuständen indiziert. Makrolide, wie Erythromycin, sind das Antibiotikum der ersten Wahl bei therapiewürdigen Campylobacteriose-Fällen (Wieczorek und Osek 2013). Auch Fluorchinolone werden häufig eingesetzt (Iovine 2013). Bei systemischen Infektionen mit *Campylobacter* spp. empfiehlt sich die Behandlung mit Gentamicin (Nielsen et al. 2010).

2.6.4 Komplikationen

Bei dem Guillain-Barré-Syndrom (GBS) handelt es sich um eine der bedeutsamsten postinfektiösen Folgeerkrankungen einer *C. jejuni*-Infektion. Obwohl *C. jejuni* ein häufiger Trigger der Erkrankung ist, ist das Risiko zu erkranken insgesamt gering. So geht zwar etwa jedem dritten Fall von GBS eine *C. jejuni*-Infektion voraus, aber nur bei 0,07 % der Campylobacter-Infizierten tritt ein GBS auf (Keithlin et al. 2014; World Health Organization 2013).

Die Pathogenese des GBS im Zusammenhang mit einer *Campylobacter*-Infektion beruht vermutlich auf einer molekularen Mimikry zwischen Gangliosiden der Membran peripherer Nerven und Strukturen der Lipopolysaccharide bestimmter *Campylobacter*-Stämme (Yuki et al. 1993). Dies führt zu einer akuten Demylinisierung oder Degeneration von axonalen Komponenten peripherer Nerven, was sich in einer aufsteigenden schlaffen Lähmung zeigt (Willison 2005). Eine andere Form des GBS ist das Miller-Fisher-Syndrom, welches durch das Auftreten einer Ophthalmoplegie, Ataxie und Areflexie gekennzeichnet ist (Takahashi et al. 2005).

Manche Patienten mit GBS erholen sich vollständig, wobei die Genesung durchschnittlich ein halbes Jahr dauert. Andere Patienten zeigen bleibende neurologische Symptome oder erleiden Rezidive. Die Mortalität des GBS liegt etwa bei 3% (van den Berg et al. 2013).

Eine andere immunmediierte Komplikation einer *Campylobacter*-Infektion ist die reaktive Arthritis. Diese tritt in neun von 1.000 Enteritisfällen auf (Ajene et al. 2013). Eine weitere mögliche Komplikation ist das sogenannte Reiter-Syndrom, welches die Symptom-Trias Arthritis, Konjunktivitis und Urethritis umfasst (Townes 2010).

Campylobacter spp. wurden auch bei bis zu 40% der Patienten mit IBD (chronischentzündlichen Darmerkrankungen) isoliert (Zautner et al. 2014). Auch im Zusammenhang mit einer immunoproliferativen Dünndarmerkrankung, einer Form des Lymphoms, wurde von vorausgehenden C. jejuni-Infektionen berichtet (Lecuit et al. 2004).

Die angeführten Komplikationen sind, wenn auch selten, schwerwiegend und machen zusammen mit der geringen minimalen infektiösen Dosis (MID) und der hohen Inzidenz die große Bedeutsamkeit von *Campylobacter* spp. als Krankheitserreger aus (Moore et al. 2005).

2.6.5 Epidemiologische Aspekte

Die Epidemiologie der Campylobacteriose ist aufgrund der zahlreichen Quellen und Übertragungswege sowie noch unbekannter Faktoren der Erreger-Wirts-Beziehung komplex (Acke et al. 2010).

Die minimale infektiöse Dosis (MID) ist mit etwa 500-800 koloniebildenden Einheiten (KBE) vergleichsweise gering (Black et al. 1988; Robinson 1981). Die MID von Salmonellen liegt mit etwa 10⁶ KBE beispielsweise deutlich höher (McCullough 1951). Allerdings ist die zu einer klinischen Erkrankung führende Infektionsdosis von verschiedenen Faktoren abhängig wie der Abwehrlage des Infizierten, der Serovarietät und der Art und Zusammensetzung des kontaminierten Lebensmittels (Müller 2002).

Die Infektion erfolgt überwiegend oral, wobei mehrere Übertragungswege in Frage kommen.

Eine direkte Exposition durch Tierkot von Heim-, Nutz- oder Wildtieren ist möglich. Der Stuhl infizierter Personen ist selten Infektionsquelle, zumal der Mensch nur vorübergehend Wirt von *Campylobacter* spp. ist (Jones und Harrop 1981).

Die direkte Exposition erscheint nicht den Hauptübertragungsweg für eine Infektion darzustellen, da sie selten vorkommt und persönliche Hygienemaßnahmen, wie das Händewaschen, sehr effektiv sind. Häufiger erfolgt die Infektion indirekt über von ausscheidenden Tieren kontaminiertes Fleisch, Milch und Wasser (Skelly und Weinstein 2003). Auch eine Verbreitung über die Luft wurde beschrieben (Bull et al. 2006).

Die Lebensmittel-assoziierten Infektionen haben ihren Ursprung v.a. in der fäkalen Kontamination von Fleisch während des Schlachtprozesses und treten beim Verzehr, der Zubereitung und Herstellung von Lebensmitteln auf (Moore 2005).

Die Mehrheit der Campylobacteriose-Fälle ist im Gegensatz zu Salmonellen und anderen enteropathogenen Keimen sporadischer Natur (Silva et al. 2011; Moore et al. 2005).

Als Infektionsquelle von Campylobacteriose-Ausbrüchen sind überwiegend rohe Milch, kontaminiertes Wasser und Geflügelfleisch beschrieben (Heuvelink et al. 2009; Richardson et al. 2007; Moore 2005).

Geflügelfleisch und -produkte scheinen die Hauptquelle der Campylobacteriose zu sein, wobei Kreuzkontaminationen bei der Speisenzubereitung und seltener auch unzureichend durcherhitztes Geflügelfleisch von Bedeutung sind (World Health Organization 2013).

20-30 % der humanen Campylobacteriose-Fälle sind auf Geflügelfleisch zurückzuführen, 50 – 80 % auf das gesamte Reservoir von Hühnern. In frischem Hühnchenfleisch wurden thermophile *Campylobacter* spp. am häufigsten nachgewiesen. So waren in der EU 2007 26 % des frischen Geflügelfleisches betroffen (Westrell et al. 2009).

Eier hingegen spielen bei der Epidemiologie der Campylobacteriose keine bedeutende Rolle (Sulonen et al. 2007; Sahin et al. 2003).

Zu kontaminierten Lebensmitteln zählen auch Rind-, Schweinefleisch und andere Fleischprodukte, sowie Muscheln, Salat und Gemüse (Moore 2005; Hussain et al. 2007; Endtz et al. 1997). Obwohl z.T. hohe Prävalenzen im Kot von Rindern und Schweinen nachgewiesen werden konnten, ist die Häufigkeit von *Campylobacter* spp. in deren Fleisch gering (Noormohamed und Fakhr 2013). Dies ist auf die Kühlung des Tierkörpers und die Austrocknung der Haut nach der Schlachtung zurückzuführen (Kasimir 2005). Sowohl das Fleisch von Schafen als auch von Ziegen kann mit *Campylobacter* spp. kontaminiert sein (Rahimi et al. 2010). Auch Milch kann beim Melken fäkal kontaminiert werden, eine *Campylobacter*-bedingte Mastitis ist hingegen selten (Orr et al. 1995). Nach dem Verzehr von Rohmilch, nicht erfolgreich pasteurisierter oder nach der Pasteurisierungpasteurisierter kontaminierter Milch kann es zu einer *Campylobacter*-Infektion kommen (Humphrey et al. 2007). Bei Untersuchungen schwanken die Isolationsraten zumeist zwischen 0 % und 5% (Ruusunen et al. 2013; Hill et al. 2012; Wysok et al. 2011).

Bei einer Untersuchung von Tankmilchproben konnte der Erreger aus bis zu 12 % der Proben isoliert werden (Bianchini et al. 2014).

Die Campylobacteriose zeigt in Ländern mit gemäßigter Klimazone eine deutliche Saisonalität. Die meisten Fälle werden dort in den Sommer- oder späten Frühlingsmonaten festgestellt (Nylen et al. 2002). Einige Autoren konnten hierbei einen Zusammenhang mit der Temperatur nachweisen (Nichols et al. 2012; Tam et al. 2006; Louis et al. 2005). Neben saisonalen Unterschieden bestehen auch regionale Unterschiede in der Häufigkeit des Auftretens der Campylobacteriose (Louis et al. 2005).

Die Alters- und Geschlechtsverteilung der Campylobacteriose ist einzigartig unter den bakteriellen Darmpathogenen des Menschen (Allos 2001). In den Industrieländern zeigt sich eine bimodale Altersverteilung. Besonders häufig sind Kleinkinder bis zum fünften Lebensjahr betroffen. Die zweite häufiger betroffene Altersgruppe zeigt sich zwischen dem etwa 15. bis 34. Lebensjahr (Louis et al. 2005; Michaud et al. 2004).

Auffallend bei der Geschlechtsverteilung ist, dass das männliche Geschlecht unabhängig vom Alter häufiger betroffen ist (Louis et al. 2005; Michaud et al. 2004; Friedman et al. 2004). Nichols et al. (2012) konnten eine 30% höhere Prävalenz beim männlichen Geschlecht feststellen. Verhaltensbedingte, wie z.B. eine schlechtere Küchenhygiene, wie auch physiologische Ursachen wurden diskutiert (Strachan et al. 2008).

Eine weitere Risikogruppe stellen immungeschwächte und alte Menschen dar. So zeigen HIV-Infizierte ein fast 40-fach höheres Risiko an *Campylobacter*-Enteritis zu erkranken (Sorvillo et al. 1991). Fallkontrollstudien konnten weitere Risikofaktoren für eine Campylobacteriose identifizieren, wobei die Einnahme von Protonen-Pumpen-Hemmern, Kontakt zu Tieren, chronische Magen-Darm-Erkrankungen, Grillen und das Wohnen in ländlichen Gegenden mit geringer

Einwohnerdichte sowie Auslandsreisen dazu zählen (Mughini Gras et al. 2012; Doorduyn et al. 2010; Neimann et al. 2003; Friedman et al. 2004; Louis et al. 2005; Ethelberg et al. 2005).

Häufig bleibt die Ursache trotz der zahlreichen bekannten Risikofaktoren unerkannt. So schätzen Bessel et al. (2012), dass die Hälfte der Campylobacteriose-Fälle bezüglich der Infektionsquelle ungeklärt bleibt. Zudem ist die Rolle anderer Quellen als Lebensmitteln noch nicht endgültig geklärt (Alter et al. 2011a).

Die Epidemiologie in den Entwicklungsländern unterscheidet sich von der der Industrieländer. In den Entwicklungsländern sind überwiegend Kinder von der Campylobacteriose durch kontaminiertes Wasser und Lebensmittel betroffen. Es handelt sich um die häufigste Ursache bakterieller Enteritiden bei Kindern unter zwei Jahren (Coker et al. 2002). Die häufige Exposition gegenüber dem Bakterium während der Kindheit führt zu einem erhöhten Antikörperspiegel, welcher häufig zu asymptomatischen Verläufen bei Erwachsenen führt (Martin et al. 1989; Blaser et al. 1985). Zudem weist die Campylobacteriose in Entwicklungsländern keine deutliche Saisonalität auf.

2.7 Isolierungsverfahren

Für die Isolierung von *Campylobacter* spp. aus Fäzes, Wasser und Lebensmitteln wurden eine Vielzahl von Methoden und selektiven Nährmedien entwickelt (Corry et al. 1995).

Werden Tupfer bei der Beprobung verwendet, so empfiehlt sich die Verwendung eines Transportmediums zum Schutz vor Austrocknung und toxischen Sauerstoffradikalen, wie beispielsweise Cary Blair Medium, modifiziertes Cary Blair Medium, modifiziertes Stuart Medium oder Campylobacter Thioglykolat Medium. Bei der Untersuchung von Tierkot empfiehlt sich eine Kultivierung innerhalb von 24 h bis 48 h. Der Transport sollte lichtgeschützt bei 4°C erfolgen (World Organisation for Animal Health 2012).

Es ist eine Inkubationszeit von mindestens 48 h erforderlich, eine verlängerte Inkubation von 72 h führt zu einer Zunahme der Isolationsrate unabhängig vom Medium (Endtz et al. 1991).

Nährmedien enthalten Zusätze wie Blut, Kohle, Natriumpyruvat, Eisensulfat und Enzyme (z.B. Katalase), um genotoxische Einflüsse von Sauerstoffradikalen abzuschwächen (Corry et al. 1995). Bespiele für bluthaltige Nährmedien sind Skirrow-, Butzler-, Preston- und Campy BAP-Agar (Skirrow 1977; Goossens et al. 1983; Bolton und Robertson 1982). Blutfrei und kohlehaltig sind beispielsweise Karmali-, CAT-Agar oder mCCDA-Agar (Karmali et al. 1986; Aspinall et al. 1993; Hutchinson und Bolton 1984).

Zur Selektion enthalten Nährmedien z.T. antibiotische Zusätze, wie Cephalothin, Cephalexin, Cefoperazon, Trimethoprim, Polymyxin B und Colistin, zur Hemmung der Begleitflora. Amphothericin B und Nystatin werden in vielen Medien zur Unterdrückung von Hefen und Schimmelpilzen eingesetzt (Corry et al. 1995). Bei der Isolierung von *Campylobacter* ist zu

berücksichtigen, dass einige *C. upsaliensis-, C. jejuni* ssp. *doylei-* und auch manche *C. coli-, C. lari-* und *C. hyointestinalis-*Stämme empfindlich auf solche Supplemente reagieren (Corry et al. 1995; Goossens et al. 1990; Lawson et al. 1997; Lawson et al. 1999).

Steele und McDermott entwickelten 1984 eine passive Membranfiltration, welche sich besonders geeignet zur Isolation antimikrobiell sensitiver *Campylobacter*-Spezies erwies (Steele und McDermott 1984). Diese Methode wurde im Cape-Town-Protokoll durch die Kombination von Membranfiltration auf Antibiotika-freiem Blutagar und einer Wassertsoff-angereicherten mikroaeroben Atmosphäre optimiert (Lastovica und Le Roux 2003).

Ferner erschwert eine Inkubationstemperatur von 42 °C die Detektion einiger *Campylobacter* spp., wie beispielsweise *C. hominis* und *C. upsaliensis*, weshalb sich für deren Nachweis eine Bebrütungstemperatur von 37 °C empfiehlt (Corry et al. 1995). Die Begleitflora wird hingegen bei 42°C besser unterdrückt (On 2013). Die Mehrheit der *Campylobacter*-Spezies wachsen allerdings sowohl bei 42°C als auch bei 37°C (Corry et al. 1995).

Bei Untersuchungsmaterial, in dem mit einer geringen Konzentration von *Campylobacter* spp. oder durch suboptimale Umweltbedingungen vorgeschädigte *Campylobacter* spp. sowie einer hohen Begleitflora gerechnet werden muss, ist eine Voranreicherung empfehlenswert. Dazu werden häufig die selektiven Medien Preston-, Park und Sanders- und Exeter-Bouillon verwendet (Corry et al. 1995).

Eine Standard-Methode zum horizontalen Nachweis von *Campylobacter* spp. in Lebens- und Futtermitteln wurde von der Internationalen Organisation für Normung (ISO) zuletzt als EN ISO 10272-1:2006 veröffentlicht. Diese empfiehlt eine Anreicherung mit anschließendem Kulturausstrich auf mCCDA und einem weiteren Medium nach Wahl. Beim Vorliegen von wenigen *Campylobacter* und viel Begleitflora empfiehlt sich eine Voranreicherung in Preston-Bouillon mit einer anschließenden Subkultivierung auf mCCDA (Nachamkin et al. 2008).

Eine Optimierung der Isolierungsverfahren zur Detektion auch geringer Mengen an *Campylobacter* spp. ist aufgrund der geringen minimalen infektiösen Dosis bedeutsam (Moore et al. 2001). Außerdem ist die Kombination mehrerer Kultivierungsmethoden empfehlenswert (Acke et al. 2009a; Bolton et al. 1988).

2.8 Identifizierung von Campylobacter spp.

2.8.2 Phänotypisierung

Zu einer ersten Bestätigung von *Campylobacter* spp. eignet sich die charakteristische mikroskopische Morphologie sowie die Koloniemorphologie. Auf bluthaltigen Nährmedien sind die Kolonien von *Campylobacter* gräulich, rund, konvex, glänzend und scharf begrenzt. Auf kohlehal-

tigen Nährmedien hingegen stellen sie sich gräulich mit metallischem Glanz dar. Außerdem können sie Schwarmverhalten zeigen (World Organisation for Animal Health 2012).

Probleme bei der Typisierung von *Campylobacter* spp. bereitet deren biochemisch relativ inaktives Verhalten (On 1996). Die meisten Spezies sind Cytochrom-Oxidase-positiv, reduzieren Nitrat und bilden Katalase (On 1996; Hébert et al. 1982). Zur biochemischen Unterscheidung, auch Biotypisierung genannt, eignen sich außerdem Hippurat-Hydrolyse, Schwefelwasserstoff-Hydrolyse, Urease-Bildung und Indoxyl-Acetat-Hydrolyse. Eine Übersicht zeigt Tabelle 2 (Vandamme 2000). Einige Stämme zeigen jedoch ein abweichendes Verhalten, weshalb es zu einer falschen Spezieszuordnung kommen kann (Steinhauserova et al. 2000; Nakari et al. 2008).

Tab. 2: Biochemische Kriterien zur Differenzierung von Campylobacter spp. (Vandamme 2000)

Spezies	Katalse	Hippurat- Hydrolyse	Indoxyl-Acetat- Hydrolyse	Urease
C. coli	+	-	+	-
C. fetus ssp. fetus	+	-	-	-
C. fetus ssp. veneralis	v	-	-	-
C. jejuni ssp. doylei	v	+	+	-
C. jejuni ssp. jejuni	+	+	+	-
C. lari	+	-	-	V
C. upsaliensis	-	-	-	-

^{+ :} Reaktion in 90 % der untersuchten Stämme positiv

Eine weitere Möglichkeit *Campylobacter* spp. zu differenzieren ist die Überprüfung der Resistenz gegenüber den Antibiotika Cephalotin und Nalidixinsäure. Da zunehmend aber auch Nalixidin-resistente *C. jejuni* und *C. coli*-Stämme auftreten, sollte dieses Unterscheidungsmerkmal ebenfalls mit Vorsicht beurteilt werden (Kayman et al. 2013; Varela et al. 2007b).

Eine weitere Form der phänotypischen Charakterisierung ist die Serotypisierung. Die beiden bekanntesten Verfahren sind das Penner-Schema und das Verfahren nach Lior (Penner und Hennessy 1980; Lior et al. 1982). Nachteile der Serotypisierung treten bei nicht typisierbaren Stämmen oder solchen, deren Typisierung durch Antigenvariationen instabil ist in Erscheinung (McKay et al. 2001; Harris et al. 1987). Zudem wurde über das Auftreten von Kreuzreaktionen zwischen Serotypen berichtet (McKay et al. 2001). *Campylobacter*-Isolate können außerdem über spezifische Lysisprofile mithilfe standardisierter Bakteriophagen charakterisiert werden, was als Phagentypisierung bezeichnet wird (Grajewski et al. 1985).

^{-:} Reaktion in weniger als 11 % der untersuchten Stämme positiv

v : stammabhängige Reaktion

2.8.3 Genotypisierung

Aufgrund der komplexen Taxonomie, des langsamen und anspruchsvollen Wachstums und der geringen biochemischen Aktivität ist die Identifizierung von *Campylobacter* spp. mittels phänotypischer Methoden oft schwierig und zeitaufwändig. Aus den angeführten Gründen sollten biochemische durch molekulare Verfahren wie beispielsweise die PCR ergänzt, wenn nicht ersetzt werden (World Organisation for Animal Health 2012).

Die genotypischen sind den serotypischen Methoden in ihrer Aussagekraft bezüglich der Stammdifferenzierung überlegen (Nielsen et al. 2000; Wassenaar und Newell 2000).

Eine Genotypisierung von *Campylobacter* kann sowohl zur Speziesdifferenzierung als auch für Stammvergleiche genutzt werden. Einen Überblick über die verschiedenen Genotypisierungsmethoden geben Wassenaar et al. (2000) sowie Johnsen et al. (2006). Für *Campylobacter* existiert zurzeit kein einheitliches Genotypisierungsverfahren. Tabelle 3 gibt eine Übersicht über Vor- und Nachteile verschiedener Genotypisierungsverfahren. Die Kombination mehrerer Genotypisierungsverfahren erhöht die Diskriminierungsfähigkeit (Johnsen et al. 2006).

Tab. 3: Kriterien der Genotypisierungsverfahren für Campylobacter spp.

Methode	Diskriminie- rungspotenzial	Typisier- barkeit	Reproduzier- barkeit	Dauer	Kosten	Quelle
Fla-Typisierung	Mäßig	100%	gut	< 1 d	niedrig	*
PFGE	Gut	100%	gut	3-4 d	durch- schnittlich	*
Ribotypisierung	Schwach	100%	gut	3-4 d	durch- schnittlich	*
RAPD	durchschnittlich	80%	niedrig	< 1 d	niedrig	*
AFLP	Gut	100%	gut	2-3 d	durch- schnittlich	*
RFLP	sehr gut	100%	gut	3-4 d	durch- schnittlich	*
MLST	gut bis sehr gut	100%	sehr gut	3-4 d	hoch	**

^{*} Wassenaar und Newell (2000)

^{**} Maiden et al. (1998)

2.8.3.1 Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) ist ein Verfahren, das es ermöglicht, gezielt DNA-Abschnitte in-vitro durch den Einsatz von Enzymen zu vervielfältigen. Es kann für den gattungsspezifischen Nachweis von *Campylobacter*, die Speziesdifferenzierung und Stammvergleiche eingesetzt werden (Birkenhead et al. 1993).

Für den Nachweis von *Campylobacter* wurde eine große Anzahl an PCR-Modellen publiziert. Häufig wird die 16S- oder 23S-rDNA als Zielregion für diese genutzt (Neubauer und Hess 2006; Giesendorf und Quint 1995; Eyers et al. 1993). Auch Gene, die für Virulenzfaktoren oder Stoffwechselleistungen kodieren, sind dazu geeignet. Beispiele dafür sind: *hipO* kodiert für die Hippurikase, *glyA* kodiert für die Serin-Hydroxymethyltransferase und *sapB*, welches für ein Oberflächenprotein kodiert (Neubauer und Hess 2006; Linton et al. 1997; Al Rashid et al. 2000; Casadémont et al. 1998).

2.8.3.2 PCR-RFLP

Die Methode der PCR-RFLP (PCR- Restriktionsfragmentlängenpolimorphismus) kann zur Speziesdifferenzierung von *Campylobacter*-Isolaten anhand der 16S-rRNA-Genombereiche oder zur Identifizierung thermophiler *Campylobacter* spp. mittels 23S-rRNA-Regionen genutzt werden (Wang et al. 2002; Fermér und Engvall 1999). Dazu werden die mittels spezifischer Primer generierten PCR-Produkte mit einer Restriktionsendonuklease geschnitten und die entstandenen Fragmente elektrophoretisch aufgetrennt. Durch den Einsatz unterschiedlicher Primer und Restriktionsendonukleasen wird allerdings die Vergleichbarkeit zwischen den Laboren erschwert (Wassenaar und Newell 2000).

2.8.3.3 Ribotypisierung

Bei der Ribotypisierung wird DNA untersucht, die für ribosomale RNA (5S-, 16S- und 23S-rRNA) kodiert. Die isolierte DNA wird mit einem Restriktionsenzym geschnitten und nach Elektrophorese im Southern-Blot-Verfahren mit spezifischen rRNA-Sonden hybridisiert.

Nachteile dieser Methode sind der große Arbeitsaufwand und die schlechte Standardisierungsmöglichkeit. Darüber hinaus ist das Diskriminierungspotenzial bei der Typisierung von *Campylobacter* spp. durch die geringe Anzahl von rRNA-Gen-Kopien im *Campylobacter*-Genom begrenzt (Wassenaar und Newell 2000).

2.8.3.4 Flagellin-Typisierung (fla-Typing)

Die Flagellin-Gene, *flaA* und *flaB*, deren Transkriptionsprodukte dem Geißelaufbau dienen, sind hoch konserviert, weisen jedoch auch variable Bereiche auf, wodurch sie sich für eine Analyse mittels RFLP eignen (Meinersmann et al. 1997; Nuijten et al. 1990). Desweiteren kann die

Sequenzierung eines Fragmentes (short variable region) des Gens flaA für Stammvergleiche herangezogen werden (Meinersmann et al. 1997).

Aufgrund einer möglichen Rekombination von Flagellin-Genen zwischen den Spezies ist die Flagellin-Typisierung für die Speziesdifferenzierung allerdings ungeeignet (Boer et al. 2000). Auch durch inter- und intragenomische Rekombination kommmt es zu genetischen Instabilitäten, was den Nutzen der *fla*-Typisierung bei langfristigen epidemiologischen Studien stark einschränkt (Harrington et al. 1997).

2.8.3.5 Pulsfeldgelelektrophorese (PFGE)

Die Auftrennung der mittels Restriktionsenzymen verdauten gesamtgenomischen DNA anhand der Gelelektrophorese in einem multidirektionalen Spannungsfeld wird als PFGE bezeichnet. Die PFGE-Methode ist aufwendig und zeitintensiv. Auch die geringe Diskriminierungsfähigkeit bei PFGE-Mustern mit geringer Fragmentanzahl ist zu beachten (Boer et al. 2000).

2.8.3.6 Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)

Bei dieser Methode werden kurze, zufällig generierte Primer genutzt, um PCR-Produkte von variabler Länge zu erzeugen. Die zu amplifizierenden DNA-Sequenzen sind entsprechend nicht bekannt (Matsheka et al. 2006).

Die schlechte Reproduzierbarkeit und Vergleichbarkeit sowie die subjektive Interpretation der Bandenmuster nach der gelelektrophoretischen Auftrennung erweisen sich als nachteilig (Wassenaar und Newell 2000).

2.8.3.7 Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP)

Bei der AFLP-Methode wird die gesamte DNA mittels zweier Restriktionsenzyme, ein häufig und ein selten schneidendes, in viele kleine Fragmente zerlegt. Da im Anschluss nur eine Teilmenge der Fragmente amplifiziert werden soll, werden die Fragmentenden mittels Adapter modifiziert. Dann erfolgt eine Amplifikation durch eine präselektive und selektive PCR. Hierbei werden Primer angewendet, die zufällig um wenige Nukleotide verlängert wurden. So lagern sie sich nur noch an Enden solcher Fragmente an, die dazu komplementär sind. Bei der selektiven PCR wird das Produkt der ersten PCR als Template verwendet.

Durch diesen Ablauf wird die Anzahl der Fragmente auf ein auswertbares Maß reduziert. Anschließend werden die PCR-Produkte elektrophoretisch aufgetrennt.

2.8.3.8 Multi Locus Sequence Typisierung (MLST)

Die MLST ist eine Genotypisierungsmethode bei der eine Amplifikation und Sequenzierung von ca. 600 Basenpaaren umfassenden Abschnitten mehrerer Gene aus bakterieller DNA erfolgt.

Die für die MLST ausgewählten Gene sind hoch konserviert, weisen aber trotzdem ausreichend Allel-Variationen zur Differenzierung auf (Thakur et al. 2006). Zudem sind sie relativ gleichmäßig über das gesamte Genom verteilt, was die Anfälligkeit des Verfahrens für Rekombinationsvorgänge minimiert.

Da die Translationsprodukte der Zielgene für grundlegende Stoffwechselvorgänge verantwortlich sind, werden sie als "Haushaltsgene" bezeichnet. Sowohl die Anzahl als auch die entsprechenden Gene selbst können je nach MLST-Schema variieren. Neben *C. jejuni* und *C. coli* können auch *C. lari*, *C. helveticus*, *C. fetus* und *C. upsaliensis* mit der MLST-Analyse differenziert werden (van Bergen et al. 2005; Miller et al. 2005).

Die Amplifikation der Haushaltsgenfragmente erfolgt mittels PCR. Die PCR-Produkte werden anschließend sequenziert. Jedem einzelnen Genlocus eines Isolats wird dann anhand der Nukleotidsequenz eine bestimmte Allelnummer zugeordnet. Der Sequenztyp des Isolates ergibt sich aus der Kombination der Allelnummern.

Das beschriebene Verfahren bietet ein Höchstmaß an Reproduzierbarkeit und Vergleichbarkeit (Colles und Maiden 2012). Die MLST wird derzeit als Goldstandard für die Typisierung der meisten *Campylobacter*-Spezies betrachtet und häufig epidemiologisch eingesetzt (On 2013; Wagenaar et al. 2013; Colles und Maiden 2012; Lévesque et al. 2008).

3 Eigene Untersuchungen

3.1 Material

3.1.1 Referenzstämme

Tabelle 4 zeigt alle bei den Untersuchungen verwendeten Referenzstämme aus der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ). Diese wurden in sterilen Cryoröhrchen des MAST DIAGNOSTICA CryobankTM-Systems bei -80°C gelagert und mikroaerob für 48 h auf MHA-Platten kultiviert.

Tab. 4: Campylobacter-Referenzstämme

Campylobacter spp.	DSM-Nr.
C. jejuni	4688
C. coli	4689
C. upsaliensis	5365
C. fetus ssp. fetus	5361
C. lari ssp. lari	11375

3.1.2 Probenmaterial

Das Probenkontingent umfasst 964 Proben verschiedener Herkunft, die im Zeitraum von November 2011 bis Juni 2013 im Raum Brandenburg und Berlin gewonnen wurden.

Hierzu zählen Rektaltupfer- und Kotproben von Patienten zweier Tierarztpraxen, eines Tierheims und eines Wildtierparks sowieVolumenproben von Oberflächengewässern, Masseproben von Böden und Insekten und Tupferproben aus Schnecken.

3.1.3 Nährmedien

Nachfolgend sind alle Nährmedien aufgeführt, die im Rahmen dieser Arbeit Anwendung fanden.

Eigene Untersuchungen

Flüssige Nährmedien

Brucella Bouillon

Produkt	Menge [g/l]	Hersteller, ArtNr.
Tiergewebe	10,0	
Säurehydrolysat von Casein	10,0	
Natriumchlorid	5,0	Becton, Dickinson and
Hefeextrakt	2,0	Company, 296185
Dextrose	1,0	
Natriumbisulfit	0,1	
pH-Wert: 7,0 ± 0,2 bei 25 °C		

Müller Hinton II Broth, kationen-korrigiert

Produkt	Menge [g/l]	Hersteller, ArtNr.
Rindfleischextrakt	300,0	
Säurehydrolysat von Casein	17,5	Oxoid, CM0405
Stärke	1,5	
pH-Wert: 7.3 ± 0.1 bei 25 °C		

Zubereitung

Zur abgekühlten Bouillon wurden aseptisch 25 ml lysiertes Pferdeblut (Oxoid, Art.-Nr. SR0048C) gegeben.

Preston-Selektiv-Anreicherungsbouillon

Nährbouillon Nr. 2

Produkt	Menge [g/l]	Hersteller, ArtNr.
Fleischextrakt "Lab-Lemco"	10,0	
Pepton	10,0	Oxoid, CM0067
Natriumchlorid	5,0	
pH-Wert: 7.5 ± 0.2		

Campylobacter-Selektiv-Supplement

Produkt	Zusammensetzung/l	Hersteller, ArtNr.
Cycloheximid	100,0 mg	
Polymyxin B	5000 IE	O :1 CD0117
Rifampicin	10,0 mg	Oxoid, SR0117
Trimethoprim	10,0 mg	

Campylobacter-Anreicherungs-Supplement

Produkt	Zusammensetzung/l	Hersteller, ArtNr.
Natriumpyruvat	125,0 mg	
Natriumdisulfit	125,0 mg	Oxoid, SR0084
Eisen(II)-sulfat	125,0 mg	

Zubereitung

12,5 g Nährbouillon Nr. 2wurden in 475 ml Aqua dest. gelöst und autoklaviert. Zur abgekühlten Bouillon wurden aseptisch 25 ml lysiertes Pferdeblut (Oxoid, Art.-Nr. SR0048C) sowie der in 2 ml 1:1 Aqua des./ Aceton gelöste Inhalt eines *Campylobacter*-Selektiv-Supplementröhrchens und ein *Campylobacter*-Anreicherungs-Supplementröhrchen gegeben und durchmischt.

Eigene Untersuchungen

Feste Nährmedien

$Modifizierter\ Charcoal-Cefoperazon-Desoxycholat-Agar$

Produkt	Menge [g/l]	Hersteller, ArtNr.
Nährbouillon Nr. 2	25,0	
Agar	12,0	
Aktivkohle, bakteriologisch	4,0	
Caseinhydrolysat	3,0	Oxoid, CM 0739
Natriumdesoxycholat	1,0	
Eisen-III-Sulfat	0,25	
Natriumpyruvat	0,25	
pH-Wert: 7,4 ± 0,2 bei 25 °C		

Tryptose-Blut-Agar

Produkt	Menge [g/l]	Hersteller, ArtNr.
Agar	12,0	
Tryptose	10,0	Ovoid CM0222
Natriumchlorid	5,0	Oxoid, CM0233
Fleischextrakt-'Lab-Lemco'	3,0	
pH-Wert: 7.2 ± 0.2 bei 25 °C		

Müller-Hinton-Agar

Produkt	Menge [g/l]	Hersteller, ArtNr.
Rindfleischextrakt	300,0	
Caseinhydrolysat	17,5	O: 1 CM0227
Agar	17,0	Oxoid, CM0337
Stärke	1,5	
pH-Wert: 7,3± 0,1 bei 25°C		

3.1.4 Reagenzien

Bezeichnung	Hersteller
Agarose peqGold Universal	peQ Lab, Erlangen, D
Chelex 100 Resin-Lösung 5 %	BioRad, München, D
CoralLoad 10 x Puffer	Qiagen, Hilden, D
dNTP Set 100 mM Lösung	Thermo Fisher, St. Leon Rot, D
Ethidiumbromid	Roth, Karlsruhe, D
GeneRuler TM Low Range DNA Ladder	Thermo Fisher, St. Leon Rot, D
GRGreen	Labgene, Chatel St. Denis, Schweiz
HyperLadderIV	Bioline, Luckenwalde, D
MgCl ₂ [25 mM]	Qiagen, Hilden, D
PCR-Puffer 10x	Qiagen, Hilden, D
Taq-Polymerase [5 U/μl]	Qiagen, Hilden, D
Tris-Borat-EDTA-Puffer	Roth, Karlsruhe, D

3.1.5 Geräte

Bezeichnung	Hersteller
Anoxomat TM Mark II AN2CTS	MART® Microbiology, Drachten, NL
MultiImage TM Light Cabinet AlphaImager®	Alpha Innotech, San Leandro, USA
Gelelektrophorese-System Biometra Analytik Jena	Biometra, Jena, D
Mart Anaerobiertopf AJ9023	MART® Microbiology, Drachten, NL
Thermo-Cycler C1000TM	BioRad, München, D
Thermomixer Kompakt Eppendorf; Serie 5350YO	Eppendorf, Hamburg, D

3.1.6 Verbrauchsmaterialien

Bezeichnung	Hersteller
Anaerobic gas generating kit BR0038	Oxoid Limited, Hampshire, GB
BBLCultureSwab TM Cary Blair Medium	Becton, Dickinson and Company, USA
$Cryobank^{TM}$	MAST Diagnostica, Reinfeld, D
GasPak TM EZ Campy Container System Sachets	Becton, Dickinson and Company, USA
Sensititre Campylobacter Plate EUCAMP	Trek Diagnostic Systems, Cleveland, USA
Whatman TM Membrane Filters black 0.6 μm	GE Healthcare Life Sciences, Freiburg, D

3.1.7 Primer

Im Folgenden sind alle Primer angeführt, die für Speziesdetektion und Genotypisierung verwendet wurden (Tab. 5-8).

Tab. 5: Primer der mPCR modifiziert nach Wang et al. (2002) und Chaban et al. (2009)

Primer	Zielgene	Sequenz	Referenz
CJF	1: 0	ACTTCTTTATTGCTTGCTGC	*
CJR	hipO	GCCACAACAAGTAAAGAAGC	*
CCF	1.4	GTAAAACCAAAGCTTATCGTG	*
CCR	glyA	TCCAGCAATGTGTGCAATG	*
ClSybF	. 1 A	TCT GCA AAT TCA GAT GAG AAA A	**
ClSybR	glyA	TTT TTC AGT ATT TGT AAT GAA ATA TGG	**
CUF	. 1A	AATTGAAACTCTTGCTATCC	*
CUR	glyA	TCATACATTTTACCCGAGCT	*
CFF	D	GCAAATATAAATGTAAGCGGAGAG	*
CFR	sapB	TGCAGCGGCCCCACCTAT	*

Die Tabelle wird auf nachfolgender Seite fortgesetzt.

Primer	Zielgene	Sequenz	Referenz
23SF		TATACCGGTAAGGAGTGCTGGAG	*
	23S		
	rRNA		
23SR		ATCAATTAACCTTCGAGCACCG	*
* Wang et			
** Chaban	et al. (2009)		

Tab. 6: Primer der MLST-Amplifikation für C. jejuni

Bezeichnung	Sequenz			
aspA-A9	AGTACTAATGATGCTTATCC			
aspA-A10	ATTTCATCAATTTGTTCTTTGC			
glnA-A1	TAGGAACTTGGCATCATATTACC			
glnA-A2	TTGGACGAGCTTCTACTGGC			
gltA-A1	GGGCTTGACTTCTACAGCTACTTG			
gltA-A2	CCAAATAAAGTTGTCTTGGACGG			
glyA-A1	GAGTTAGAGCGTCAATGTGAAGG			
glyA-A2	AAACCTCTGGCAGTAAGGGC			
tkt-A3	GCAAACTCAGGACACCCAGG			
tkt-A6	AAAGCATTGTTAATGGCTGC			
pgm-A7	TACTAATAATATCTTAGTAGG			
pgm-A8	CACAACATTTTCATTTCTTTTC			
uncA-A7	ATGGACTTAAGAATATTATGGC			
uncA-A8	ATAAATTCCATCTTCAAATTCC			

Tab. 7: Primer der MLST-Sequenzierung für C. jejuni

Bezeichnung	Sequenz			
aspA-S3	CCAACTGCAAGATGCTGTACC			
aspA-S6	TTCATTTGCGGTAATACCATC			
glnA-S3	CATGCAATCAATGAAGAAAC			
glnA-S6	TTCCATAAGCTCATATGAAC			
gltA-S3	CTTATATTGATGGAGAAAATGG			
gltA-S6	CCAAAGCGCACCAATACCTG			
glyA-S3	AGCTAATCAAGGTGTTTATGCGG			
glyA-S4	AGGTGATTATCCGTTCCATCGC			
pgm-S5	GGTTTTAGATGTGGCTCATG			
pgm-S2	TCCAGAATAGCGAAATAAGG			
tkt-S5	GCTTAGCAGATATTTTAAGTG			
tkt-S6	AAGCCTGCTTGTTCTTTGGC			
uncA-S3	AAAGTACAGTGGCACAAGTGG			
uncA-S4	TGCCTCATCTAAATCACTAGC			

Tab. 8: Primer der MLST-Amplifikation und Sequenzierung C. coli

Bezeichnung	Sequenz			
Aspcoli S1	CAACTTCAAGATGCAGTACC			
Aspcoli S2	ATCTGCTAAAGTATGCATTGC			
Glncoli S1	TTCATGGATGGCAACCTATTG			
Glncoli S2	GCTTTGGCATAAAAGTTGCAG			
Gltcoli S1	GATGTAGTGCATCTTTTACTC			
Gltcoli S2	AAGCGCTCCAATACCTGCTG			

Die Tabelle wird auf nachfolgender Seite fortgesetzt.

Bezeichnung	Sequenz
Glycoli S1	TCAAGGCGTTTATGCTGCAC
Glycoli S2	CCATCACTTACAAGCTTATAC
Pgmcoli S1	TTATAAGGTAGCTCCGACTG
Pgmcoli S2	GTTCCGAATAGCGAAATAACAC
Tktcoli S1	AGGCTTGTGTTTTCAGGCGG
Tktcoli S2	TGACTTCCTTCAAGCTCTCC
Unccoli S1	AAGCACAGTGGCTCAAGTTG
Unccoli S2	CTACTTGCCTCATCCAATCAC

3.1.8 Software

Nachstehend sind alle Software-Programme aufgelistet, die in dieser Arbeit Anwendung fanden.

Citavi 3 (Swiss Academic Software GmbH, Wädenswil, CH)

GraphPad Prism Version 5.04 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA)

BioNumerics Version 6.1 (Applied Maths, Sint-Martens-Latem, Belgien)

http://omics.pnl.gov/software/VennDiagramPlotter.php

http://lucidchart.com

3.2 Methodik

3.2.1 Probenahme

Je nach Probenart und Gegebenheiten wurden unterschiedliche Probenahmeverfahren angewandt. Zum einen wurden mit physiologischer Kochsalzlösung angefeuchtete sterile Tupfer verwendet und zur Lagerung in Cary Blair Medium verbracht. Andernfalls wurde das Probenmaterial direkt in sterile Kotröhrchen gegeben.

Die Patientendaten wurden vom Tierarzt mithilfe eines Fragebogens beim Tierhalter erfragt. Der Fragebogen beinhaltete Angaben zu Probenahmedatum, Probenart, Ort, Tierhalter, Name des Patienten, Tierart, Rasse, Geburtsdatum, Geschlecht, Antibiotikagabe, Durchfall und Rohfleischfütterung in den letzten 14 Tagen vor Probenahme, anderen Erkrankungen sowie Hal-

tungsform. Bei Hunden wurde zwischen der Haltung im Haus oder in Zwingern unterschieden (Abb. A1 des Anhangs).

Nach Verfügbarkeit, Besitzereinverständnis und anatomischen Eigenschaften des Tieres wurden vorrangig Proben aus dem Rektum mittels Tupfer genommen. Andernfalls wurde schnellstmöglich nach der Defäkation eine Kotprobe (bis zu ca. 25 g) mit Hilfe von Kotröhrchen ohne Berührung des Untergrundes genommen. Eine Zuordnung der Kotproben zu einem Tierindividuum war bei den beprobten Schweinen, Rindern und Tieren aus dem Wildtierpark nicht möglich.

Zur Untersuchung von Parkanlagen, Spielplätzen, Rastplätzen und dem Ufergelände von Seen wurde Bodenmaterial gewonnen. Die Entnahme erfolgte an zwei bis zehn willkürlich gewählten Stellen pro Standort mit ca. 25 g von der Erdoberfläche mittels sterilen Kotröhrchen.

Wasserproben wurden aus Seen, Teichen und Flüssen entnommen. Hierzu wurden an mindestens zwei zufällig gewählten Orten pro Wasserstelle sterile Behälter zu je 100 ml durch Eintauchen unter die Wasseroberfläche befüllt.

Die zugängliche Körperoberfläche von Schnecken wurde mittels mit physiologischer Kochsalzlösung angefeuchteten Tupfern beprobt.

Wanzen wurden in sterile Kotröhrchen verbracht. Zecken wurden mittels Pinzette von untersuchten Patienten entfernt und ebenfalls in sterile Kotröhrchen gegeben.

3.2.2 Probenaufbereitung

Sämtliche Proben wurden mit einer fortlaufenden Nummer versehen und unter Kühlung bei ca. 4° C innerhalb von 48 h ins Labor verbracht. Die Bearbeitung erfolgte unmittelbar nach Probeneingang.

Im Folgenden werden Proben, die per Tupfer genommen wurden, als Tupferproben bezeichnet. Kot-, Boden- und Insektenproben werden als Masseproben und Wasserproben als Volumenproben bezeichnet.

Zur Untersuchung der Masseproben wurden je nach vorhandener Menge ca. 5 g aus der Mitte des Probenmaterials entnommen. Die Wanzen und Zecken wurden mittels steriler Schere längs in zwei etwa gleich große Stücke zerteilt. Zur Untersuchung wurden Sammelproben von jeweils fünf Stück herangezogen.

Volumenproben wurden 5 min bei 4218 x g zentrifugiert und je 5 ml Sediment zur Isolierung von *Campylobacter* spp. verwendet.

3.2.3 Isolierung von *Campylobacter* spp.

Alle Proben wurden qualitativ auf das Vorkommen von *Campylobacter* spp. sowohl mit einer nicht-selektiven Filtermethode als auch mit einer selektiven Anreicherungsmethode untersucht.

Die Nährböden wurden vor ihrer Verwendung 24 h bei Raumtemperatur getrocknet und jegliche Inkubation erfolgte bei 37°C. Soweit nicht anders gekennzeichnet, wurde das mikroaerobe Milieu durch einen Anoxomat (AN2CTS von MART Microbiology) in Anaerobiertöpfen erzeugt (N₂ 79,7 % CO₂ 7,1 % H₂ 7,1 % O₂ 6 %).

Zur Kontrolle aller Nährmedien und Nachweisverfahren wurde parallel zu jedem Versuchsansatz eine Negativkontrolle (ausschließlich das verwendete Medium) mitgeführt.

3.2.3.1 Nicht-selektive Filtermethode

In Anlehnung an das Cape-Town-Protokoll wurden Tupfer bzw. 2,5 ml des Sediments der Volumenproben in sterilen Reagenzgläsern in je 3 ml phosphatgepufferte Salzlösung (PBS) 10 s durchmischt. Bei Masseproben wurden bis zu 1 g respektive die vorstehend angeführte Anzahl Insektenteilstücke verwendet.

Je 400 µl resultierender Flüssigkeit wurden mittels steriler Pipette über einen Membranfilter mit 0,6 µm Porengröße auf eine Tryptose-Blut-Agar (TBA)-Platte gegeben, wobei darauf geachtet wurde, dass kein Material außerhalb des Filters gelangte. Der Membranfilter wurde mit steriler Pinzette entfernt, sobald sich keine freie Flüssigkeit mehr auf diesem befand, spätestens jedoch nach 15 min. Anschließend wurde das verbliebene Filtrat mit sterilen Spateln auf den Nährböden verteilt.

Daraufhin wurden diese für fünf Tage inkubiert. Das mikroaerobe Milieu (CO₂ ca. 7-10 % H₂ ca. 90 %) wurde durch Anaerobier-Gaspacks ohne Katalysator (Gas Generating Kit BR0038, Oxoid) in Anerobiertöpfen hergestellt.

3.2.3.2 Selektive Anreicherungsmethode

Zur Anreicherung von *Campylobacter* spp. wurden die Spitzen der Tupferproben bzw. die verbliebenen 2,5 ml des Sediments der Volumenproben in sterile Reagenzgläser mit je 5 ml steriler Preston-Bouillon überführt. Aus den Masseproben wurden ca. 1 g oder die bereits angeführte Anzahl an Insektenteilstücken hinzugegeben.

Gemäß den Vorgaben der ISO 10272-1:2006 Teil 1 erfolgte eine Inkubation für 24 h. Danach wurden ca. 10 µl der Anreicherung mit steriler Impföse auf modifizierte Charcoal-Cefoperazon-Desoxycholat-Agar (mCCDA)-Platten ausgestrichen und für weitere 48 h bei gleichen Bedingungen bebrütet.

3.2.4 Bestätigungsverfahren

Zur Identifizierung von *Campylobacter* spp. wurden von jeder Platte bis zu drei Kolonien mit für *Campylobacter* typischer Morphologie als Reinkulturen auf Müller-Hinton-Blutagar (MHA) für 48 h subkultiviert. Anschließend wurden die Reinkulturen mikroskopisch untersucht und

verdächtige Kulturen mittels speziesspezifischer mPCR differenziert. Bestätigte Isolate wurden bei -80°C in einer Kryobank gelagert.

3.2.4.1 Koloniemorphologie

Nach der Isolierung wurden die Platten auf das Vorkommen präsumtiver *Campylobacter*-Kolonien untersucht. *Campylobacter*-verdächtige Kolonien zeichneten sich durch ein leicht erhabenes, rundes, glattes, gräulich glänzendes Aussehen mit ca. 2 mm Durchmesser aus. Mit zunehmendem Feuchtigkeitsgehalt des Nährbodens wiesen sie eine Tendenz zum Schwärmen auf. Sie zeigten keine Hämolyse und waren geruchlos.

3.2.4.2 Mikroskopie

Verdächtige Kolonien wurden im Nativpräparat mikroskopiert. Hierzu wurde mit einer Impföse Koloniematerial auf einem Objektträger in einem Tropfen PBS suspendiert. Im Lichtmikroskop erfolgte eine Untersuchung bei 100-facher Vergrößerung auf Morphologie und Motilität. Zeigten sich gebogene bis spiralig gedrehte schlanke oder kokkoide Stäbchen, erfolgten die im Weiteren beschriebenen Untersuchungen.

3.2.4.3 Speziesidentifizierung mittels mPCR

Zur Isolation der DNA präsumtiver *Campylobacter* spp. wurde Koloniematerial mittels Impfnadel in 250 µl 0,1 % Tris-EDTA (TE)-Puffer überführt, 5 min bei 16873 x g zentrifugiert und der Überstand verworfen. Anschließend wurde das Pellet in 250 µl 5 %iger Chelex-Lösung unter kontinuierlichem Rühren resuspendiert. Dann wurde das Gemisch 1 h bei 56°C und 15 min bei 95°C in einem Thermomixer unter Schütteln inkubiert. Zuletzt erfolgte eine 5 minütige Zentrifugation bei 16873 x g und der Überstand wurde bis zur weiteren zeitnahen Verwendung bei 4°C gelagert.

Die mPCR zur Bestätigung des Genus und der Spezies wurde in Anlehnung an Wang et al. (2002) durchgeführt. Bei der Untersuchung wurden die fünf klinisch relevantesten *Campylobacter* spp., *C. coli*, *C. fetus* ssp. *fetus*, *C. jejuni*, *C. lari* und *C. upsaliensis*, berücksichtigt.

Für die mPCR wurden 23 µl Mastermix (Tab. 9) und 2 µl DNA verwendet. Tabelle 10 zeigt den dazugehörigen Primermix. Das Temperaturprofil ist in Tabelle 11 dargestellt.

Tab. 9: Mastermix der mPCR

PCR-Komponenten	Menge [μl]	
Aqua bidest.	9,5	
10x PCR-Puffer	2,5	
MgCl ₂ [50mM]	4,0	
dNTP-Mix [40 mM]	1,5	
Primermix	5,4	
Taq-Polymerase [5 U/ μl]	0,1	
DANN	2,0	
Gesamt	25,0	

Tab. 10: Primermix der mPCR

Primermix bestehend aus Vorwärts [1]- und	Konzentration	Menge [μl]	Gesamt
Rückwärts [2]-Primer	[μΜ]		[μ1]
Cj [1/2]	50	0,25	0,5
Cl [1/2]	50	0,25	0,5
Cc [1/2]	50	0,5	1,0
Cff [1/2]	50	0,5	1,0
Cu [1/2]	50	1,0	2,0
23SrRNA [1/2]	50	0,2	0,4
Gesamt	300	2,7	5,4

Tab. 11: Temperaturprofil der mPCR

Arbeitsschritt	Temperatur	Dauer	Anzahl Zyklen	
Denaturierung	94°C	4 min		
Denaturierung	94°C	45 sec	30 Zyklen	
Hybridisierung	55,5°C	45 sec	30 Zyklen	
Synthese	72°C	45 sec	30 Zyklen	
Synthese	72°C	4 min		
Lagerung	4°C			

Im Anschluss wurden die zu untersuchenden PCR-Produkte über die Agarose-Gelelektrophorese aufgetrennt und fotografisch dokumentiert. Ein 3%iges Agarosegel wurde nach dem Erstarren in eine mit TRIS-Borat-EDTA (TBE)-Puffer befüllte Elektrophorese-Kammer gelegt. 98 µl eines 10fach Coral Ladepuffers wurden mit 2 µl GRGreen vermischt. 2 µl dieses Gemischs wurden zu 8 µl PCR Produkt gegeben und davon jeweils 8 µl in die Taschen des Agarosegels aufgetragen. In die beiden äußersten Taschen wurden 3 µl des GeneRulersTM Low Range mit 4 µl des Ladepuffer-GR Green-Gemischs pipettiert. In der Elektrophorese-Kammer wurde für 45 min ein elektrisches Gleichstromfeld mit 80 Volt Spannung erzeugt. Die aufgetrennten PCR-Produkte wurden mit Hilfe eines Gel-Dokumentationssystems in UV-Licht visualisiert. Das Ergebnis der PCR wurde als positiv eingestuft, wenn ein spezifisches Bandenmuster nachgewiesen wurde und die Negativ-Kontrolle negativ ausfiel. Die Auswertung erfolgte sowohl anhand mitgelaufener Größenmarker als auch anhand mitgeführter Kontrollen. Der gesamte Ablauf der Untersuchung auf *Campylobacter* spp. ist in Abbildung 1 als Fließschema dargestellt.

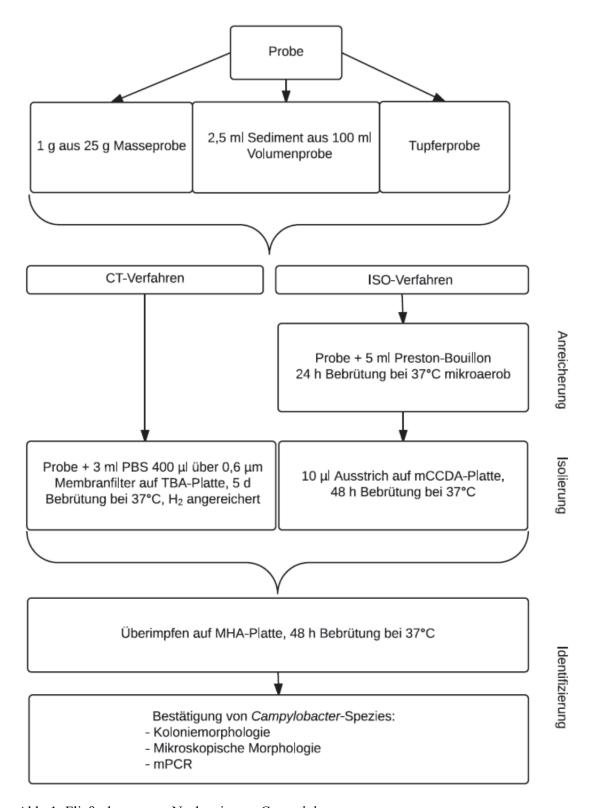


Abb. 1: Fließschema zum Nachweis von Campylobacter spp.

3.2.5 Statistische Auswertung

Zur Untersuchung des Einflusses des Alters, des Vorliegens von Durchfall, der Fütterung von Rohfleisch und der Haltungsform auf das Vorkommen von *Campylobacter*-Infektionen bei Katzen und Hunden sowie des Resistenzverhaltens der *Campylobacter*-Isolate und vergleichend der beiden Spezies *C. jejuni* und *C. coli* gegenüber den untersuchten antimikrobiellen Wirkstoffen wurden diese Daten mittels dem exakten Test nach Fisher auf statistische Signifikanz hin untersucht.

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit Hilfe des Computerprogrammes GraphPad Prism v. 5.04 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA).

Die Signifikanzniveaus wurden folgendermaßen festgelegt: nicht signifikant (n. s.) = p > 0.05, signifikant (*) = $p \le 0.05$.

3.2.6 Genotypisierung mittels MLST

Zur Bestimmung des Sequenztypes der *C. jejuni*- und *C. coli*-Isolate wurden die sieben Haushaltsgene *aspA*, *glnA*, *gltA*, *glyA*, *pgm*, *tkt* und *uncA* mittels der Primer (Tabelle 12) und des Protokolls (Tabelle 13) der PubMLST Datenbank amplifiziert.

Tab. 12: Primer der MLST

PCR-Komponenten	Menge [μl]
Reddy Mix PCR Mastermix [1,1x]	45
Fw Primer [100µM]	0,5
Rev Primer [100μM]	0,5
DANN	4,0
Gesamt	50,0

Tab. 13: Protokoll der MLST

Arbeitsschritt	Temperatur, Dauer	Zyklen
Denaturierung	94°C, 5 min	
Denaturierung	94°C, 120 sec	
Hybridisierung	50°C, 60 sec	35 Zyklen
Synthese	72°C, 60 sec	
Synthese	72°C, 5 min	
Lagerung	4°C	

Die PCR-Produkte wurden anschließend von der Firma GATC Biotech AG (Konstanz) sequenziert. Die erhaltenen Sequenzen wurden mit der Bionumerics Software v6.1 (Applied Maths, Sint-Martens- Latem, Belgien) ausgewertet. Nach dem Abgleich der Allelsequenzen mit der PubMLST-Datenbank wurden für 8 Isolate neue Sequenztypen vergeben.

3.2.7 Antibiotikaresistenztestung mittels Bouillon-Mikrodilution

Die Antibiotikaresistenztestung erfolgte mit dem Mikrodilutionsverfahren unter Anwendung der kommerziellen Mikrotiterplatten EUCAMP (Trek Diagnostics, Cleveland, USA) gemäß den Vorgaben des Herstellers. Wie Abbildung A2 des Anhangs zeigt, diente jede Mikrotiterplatte der Feststellung der minimalen Hemmkonzentration sieben antimikrobieller Wirkstoffe (Gentamicin, Ciprofloxacin, Tetracyclin, Erythromycin, Nalidixinsäure, Chloramphenicol und Streptomycin) von jeweils zwei Isolaten.

Als Qualitätskontrolle dienten bei jedem Durchlauf mitgeführte *C. jejuni*- und *C. coli*-Referenzstämme (s. Tab. 4).

Ausgewählte *C. jejuni*- und *C. coli*-Isolate unterschiedlicher Matrizen wurden der Antibiotikaresistenztestung mittels Bouillon-Mikrodilution unterzogen (Tab. 14).

Tab. 14: Der Antibiotikaresistenztestung unterzogene Campylobacter spp.-Isolate

Isolate	Matrize							
	Boden	Huhn	Hund	Katze	Schwein	Taube	Wachtel	Wasser
C. jejuni- Isolate	2	20	7	8	0	9	23	1
C. coli- Isolate	1	7	2	2	4	0	7	0

Zur Rekultivierung der zu untersuchenden *Campylobacter* spp.-Isolate wurden diese jeweils 48 h vorher aus der Mikrobank entnommen und mittels Ösenausstrich auf MHA-Platten ausgestrichen und bebrütet.

Das Inokulum zur Beimpfung der Mikrotiterplatten wurde durch Beimpfen je eines Reagenzröhrchens mit 4 ml Brucella-Bouillon mittels Öse aus den vorliegenden Kolonien hergestellt. Hierzu wurde Koloniematerial mittels Impfnadel entnommen. Die Vorkultur wurde im Anschluss für 24 h mikroaerob bebrütet.

Zur Beimpfung der Mikrotiterplatten wurden zu 500 ml Müller-Hinton II-Bouillon 25 ml lysiertes Pferdeblut gegeben. Jeweils 6 ml des Gemischs wurden daraufhin mit 100 μl der zuvor geschüttelten Vorkultur inokuliert, um ca. 1 x 10⁶ KBE/ml zu erhalten. Die Mikrotiterplatten wurden sodann mittels Pipette mit 100 μl des Inokulums pro Kavität beimpft, mit der beigefügten Abklebefolie versehen und mikroaerob (GasPakTM EZ Campy Container System Sachets) inkubiert.

Nach 48 h wurden die Mikrotiterplatten abgelesen. Dazu erfolgte visuell eine Betrachtung der Mikrotiterplatten von unten, indem der Boden der Vertiefungen von zwei Personen unabhängig voneinander auf Wachstum unter Zuhilfenahme eines Spiegels und einer Leuchtquelle überprüft wurde. Bakterienwachstum zeichnete sich durch ein Pellet aus und wurde stets mit der integrierten Wachstumskontrolle auf der Mikrotiterplatte verglichen.

Die kleinste Konzentration (μg/ml), bei der kein Wachstum mehr festzustellen war, galt als die Minimale Hemmkonzentration (MHK) für das jeweilige Antibiotikum.

Für die Qualitätskontrolle des *C. jejuni*-Referenzstammes wurde auf Werte des CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) zurückgegriffen (Tab. 15). Tabelle 16 zeigt die getesteten Konzentrationsbereiche und MHK-Grenzwerte der antimikrobiellen Wirkstoffe.

Für den Fall, dass der MHK-Wert unter- bzw. oberhalb der getesteten Konzentrationsbereiche lag, wurde der niedrigste getestete Wert als MHK gewertet bzw. die Angabe größer als die höchste auf der Mikrotiterplatte befindliche Konzentration gewählt.

Die Resistenzbeurteilung erfolgte dann nach den Angaben des EU Referenzlabors für antimikrobielle Resistenzen.

Tab. 15: Qualitätskontrollwerte für C. jejuni DSM-Nr. 4688

	CHL	CIP	ERY	GEN	NAL	TET
Konzentration	1-8	0,06-0,25	0,5-2	0,5-2	4-16	0,25-2
$[\mu g/ml]$						

Tab. 16: Getestete Konzentrationsbereiche und MHK-Grenzwerte der antimikrobiellen Wirkstoffe

Antimikrobieller	Getesteter Konzentrationsbereich	MHK-Grenzwert [μg/ml]		
Wirkstoff	[µg/ml]	C. jejuni	C. coli	
Chloramphenicol	2 – 32	> 16	> 16	
Ciprofloxacin	0,06 – 4	> 0,5	> 0,5	
Erythromycin	0,5 – 32	> 4	> 8	
Gentamicin	0,12 – 8	> 2	> 2	
Nalidixinsäure	2 – 64	> 16	> 16	
Streptomycin	1 – 16	> 4	>4	
Tetracyclin	0,25 – 16	> 1	> 2	

4 Ergebnisse

4.1 Campylobacter-Nachweis in unterschiedlichen Matrizen

Für den Nachweis von *Campylobacter* spp. wurden 964 Proben aus unterschiedlichen Matrizen parallel mit den beiden im Kapitel Material und Methoden beschriebenen Isolierungsverfahren untersucht. Eine Probe wurde als *Campylobacter*-positiv eingestuft, wenn mindestens eine Spezies mittels mPCR in mindestens einem der beiden Isolierungsverfahren nachgewiesen wurde. Abbildung 2 stellt die Anzahl der *Campylobacter*-positiven im Verhältnis zu den untersuchten Proben nach Herkunft des Probematerials dar.

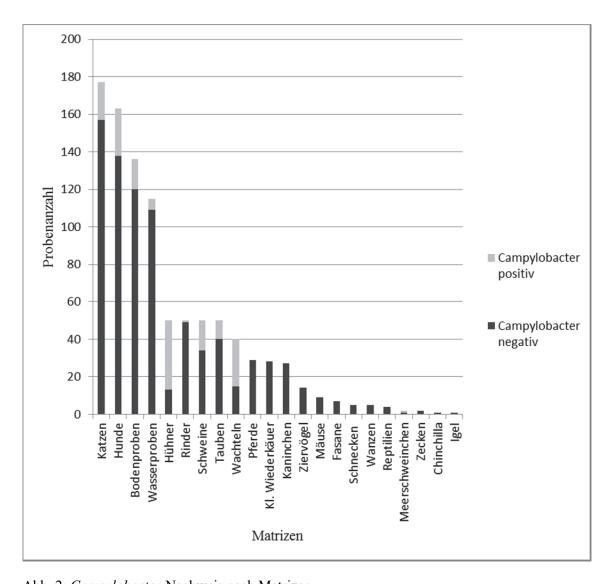


Abb. 2: Campylobacter-Nachweis nach Matrizen

In 157 der 964 untersuchten Proben (16,3 %) wurden *Campylobacter* spp. nachgewiesen. Die Isolierungsrate betrug bei Hühnern 74 % (n = 50), Wachteln 62,5 % (n = 40), Schweinen 32 % (n = 50), Tauben 20 % (n = 50), Hunden 15,3 % (n = 163), Katzen 11,3 % (n = 177), Bodenproben 11,8 % (n = 136) und bei Wasserproben 5,5 % (n = 108) (Abb. 3). Darüber hinaus wurden bei einem von zwei Meerschweinchen und einem von 50 Rindern *Campylobacter* isoliert. Die untersuchten Schweinekotproben stammten aus vier, die Hühnerkotproben aus drei, Tauben- und Wachtelrektaltupferproben aus jeweils zwei und die Rinder-, Schafkotproben aus jeweils einem Bestand. Die Probenahme bei den Wachteln und Hühnern fanden zu jeweils einem Termin je Bestand statt. Bei den Rindern wurde an zwei und bei den Schweinen an drei Terminen Kotproben entnommen.

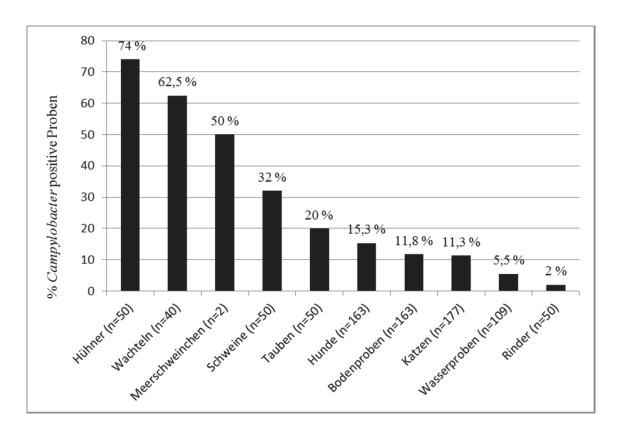


Abb. 3: Campylobacter-Isolierungsraten in unterschiedlichen Matrizen

4.1.1 Prävalenz von *Campylobacter* spp. bei Katzen in Abhängigkeit von Alter, Durchfall und Freigang

Die mit dem Fragebogen ermittelten Tierdaten zu Katzen wurden in Relation zu den Ergebnissen der Laboruntersuchungen gesetzt (Tab. 17).

Zur Untersuchung des Einflusses des Alters auf das Vorkommen von *Campylobacter*-Infektionen bei Katzen erfolgte eine Unterteilung in solche Tiere, die zum Probenahmezeitpunkt maximal ein Jahr alt waren und solche, die älter als ein Jahr waren.

52 der 177 untersuchten Katzen (29,4 %) waren maximal ein Jahr alt. Sieben dieser Katzen (13,5 %) und 13 der 125 adulten Tiere (10,4 %) waren *Campylobacter* spp. positiv. Der Unterschied der Isolierungsraten der beiden Altersgruppen war nicht statistisch signifikant (p = 0,605).

Eine Unterteilung der Katzen anhand des Vorliegens von Durchfall erbrachte folgende Ergebnisse: von zwölf an Durchfall erkrankten Katzen wurde eine positiv auf *Campylobacter* spp. getestet (8,3 %). Demgegenüber wiesen 11,5 % der 165 nicht an Durchfall-erkrankten Katzen eine *Campylobacter*-Infektion auf. Dieser Unterschied erwies sich als nicht statistisch signifikant (p = 1).

118 der 177 untersuchten Katzen hatten Freigang, während 59 reine Hauskatzen waren. 16,1 % der Freigänger und 1,7 % der reinen Hauskatzen schieden *Campylobacter* spp. aus. Dieser Unterschied der beiden Haltungsformen war statistisch signifikant (p = 0,004).

Tab. 17: Univariate Analyse von Risikofaktoren einer Campylobacter-Infektion bei Katzen

Merkmal		Anzahl Katzen	Campylobacter-
		(n = 177)	positive Proben
Alter	≤ 1 Jahr	52	7
	>1 Jahr	125	13
Kotkonsistenz	Durchfall	12	1
	Kein Durchfall	165	19
Haltung	Freigang	118	19*
	Kein Freigang	59	1*
p < 0.05			

4.1.2 Prävalenz von *Campylobacter* spp. bei Hunden in Abhängigkeit von Alter, Durchfall, Rohfleischfütterung und Zwingerhaltung

Die mit dem Fragebogen ermittelten Tierdaten zu Hunden wurden ebenfalls in Relation zu den Ergebnissen der Laboruntersuchungen gesetzt.

Zur Untersuchung der Einflussnahme des Alters der untersuchten Hunde auf die Infektionsraten erfolgte auch hier eine Unterteilung in Hunde, die zum Probenahmezeitpunkt maximal ein Jahr alt waren und solche, die älter als ein Jahr waren. Während fünf der 23 (21,7 %) Hunde, die jünger als ein Jahr waren, mit *Campylobacter* spp. infiziert waren, zeigte sich dies bei 20 der 140 (14,3 %) adulten Hunde.

Von den insgesamt 163 untersuchten Hunden litten elf an Durchfall (6,8%). Die Infektionsrate mit *Campylobacter* spp. lag in dieser Gruppe bei 36,4 %. Demgegenüber wiesen 13,8 % der nicht an Durchfall erkrankten Hunde eine *Campylobacter* spp.-Infektion auf.

Insgesamt wurden 28 der untersuchten Hunde (17,2 %) roh gefüttert. 21,4 % der mit Rohfleisch gefütterten und 14,1 % der nicht mit Rohfleisch gefütterten Hunde waren *Campylobacter* positiv. 31 Hunde (19 %) wurden in Zwingern gehalten. 16,1 % der in Zwingern gehaltenen Hunde und 15,2 % der nicht in Zwingern gehaltenen Hunde schieden *Campylobacter* aus. Keiner dieser Unterschiede erwies sich als statistisch signifikant.

4.2 Nachweis der *Campylobacter*-Spezies in unterschiedlichen Matrizen

Anhand der Resultate der mPCR erfolgte eine Auswertung des Auftretens der fünf *Campy-lobacter*-Spezies in den untersuchten Matrizen.

C. jejuni machte mit 60 % der Isolate die häufigste Spezies aus. 23 % und 14,6 % verfielen auf C. coli und C. upsaliensis. C. lari und C. fetus machten lediglich 1,8 % und 0,6 % aus (Abb. 4).

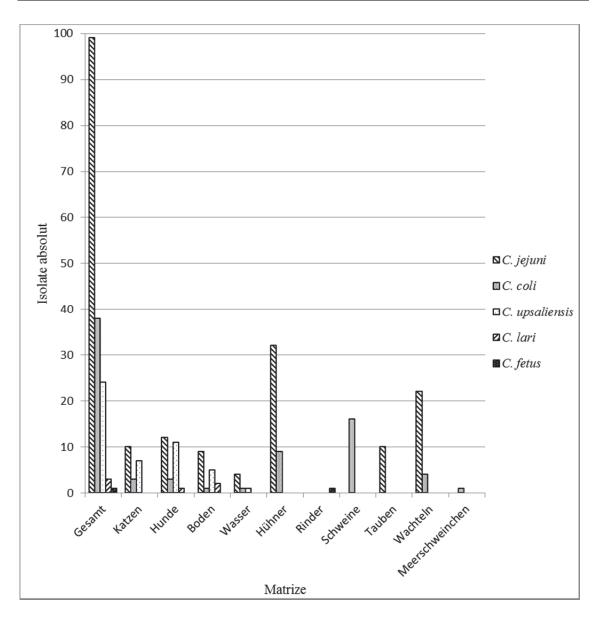


Abb. 4: Nachweis von Campylobacter-Spezies in unterschiedlichen Matrizen

Die Hälfte der 20 Isolate aus 177 Fäkalproben von Katzen wurden als *C. jejuni* identifiziert, womit diese die häufigste nachgewiesene Spezies ausmachte, gefolgt von *C. upsaliensis* mit 35 % (7/20) und *C. coli* mit 15 % (3/20). Keine der Katzen wies eine Mischinfektion auf. *C. jejuni*, *C. upsaliensis* und *C. coli* wurden somit mit Infektionsraten von 5,7 %, 4,0 % und 1,7 % bei den untersuchten Katzen nachgewiesen.

Insgesamt wurden 27 *Campylobacter*-Isolate aus 163 Hundeproben gewonnen. Die am häufigsten isolierte Spezies war *C. jejuni* (12/27). Des Weiteren wurden elf *C. upsaliensis*, drei *C. coli* und ein *C. lari* isoliert. Zwei der 163 Hundeproben (1,2 %) enthielten jeweils zwei *Campylobacter*-Spezies. In einer Probe wurden parallel *C. jejuni* und *C. lari*, in einer anderen *C. jejuni* und *C. upsaliensis* detektiert. Insgesamt konnten 48 % der Isolate der Spezies *C. jejuni*, 44 % der Spezies *C. upsaliensis*, 12 % der Spezies *C. coli* und 4 % der Spezies *C. lari* zugeordnet werden. *C. jejuni* wurde mit einer Infektionsrate von 7,4 % bei den untersuchten Hunden festge-

stellt. Infektionen mit *C. upsaliensis* kamen bei 6,8 % der Hunde vor. *C. coli* zeigte eine Infektionsrate von 1,8 % und *C. lari* von 0,6 %.

C. jejuni war mit neun von 17 Isolaten die häufigste aus Bodenmaterial isolierte Spezies (52,9 %). Die übrigen Isolate setzte nsich aus fünf C. upsaliensis-, zwei C. lari- und einem C. coli-Isolat zusammen. Eine Probe beinhaltete sowohl C. coli als auch C. upsaliensis. C. upsaliensis, C. lari und C. coli machten 29,4 %, 11,8 % und 5,9 % der Isolate aus.

Vier *C. jejuni*-, ein *C. coli* und ein *C. upsaliensis*-Isolat (3,6 % bzw. 0,9 %) wurden aus 109 untersuchten Wasserproben gewonnen. Somit machten sie 66,7 %, 16,7 % und 16,7 % der Isolate aus.

Unter Einschluss von Co-Infektionen mit *C. jejuni* und *C. coli* (4/50) wurde *C. jejuni* aus 32 und *C. coli* aus neun Hühnerproben isoliert. *C. jejuni* und *C. coli* machten somit 78,1 % und 22,0 % der Isolate aus.

Eine der 50 untersuchten Rinderproben (2 %) wurde positiv auf Campylobacter getestet (C. fetus).

C. coli war bei den 16 von 50 positiven Schweineproben (32 %) die einzig nachgewiesene Campylobacter-Spezies.

Bei den untersuchten Tauben hingegen war *C. jejuni* die einzige Spezies, die aus zehn der 50 Proben (20 %) isoliert wurde.

C. jejuni war mit 22 Isolaten die häufigste nachgewiesene Spezies (84,6 %) in Wachteln. Vier der 40 untersuchten Wachteln schieden C. coli aus (15,4 %). Eine Wachtel wies eine Mehrfachinfektion mit C. jejuni und C. coli auf.

Aus einer der beiden untersuchten Meerschweinchenproben konnte C. coli isoliert werden.

4.3 Vergleich der *Campylobacter*-Isolierungsraten in Abhängigkeit von der kulturellen Isolierungsmethode

Unter paralleler Anwendung beider Isolierungsmethoden konnten aus 157 der 964 Proben *Campylobacter* spp. isoliert werden.

100 der 165 *Campylobacter*-Isolate wurden nur mittels modifiziertem ISO-Verfahren und 46 *Campylobacter*-Isolate ausschließlich über das modifizierte CT-Verfahren detektiert. In 19 Proben konnten *Campylobacter* spp. parallel durch beide Methoden nachgewiesen werden (Abb. 5). Die Kongruenz der beiden Isolierungsmethoden lag bei 11,5 % (19/165).

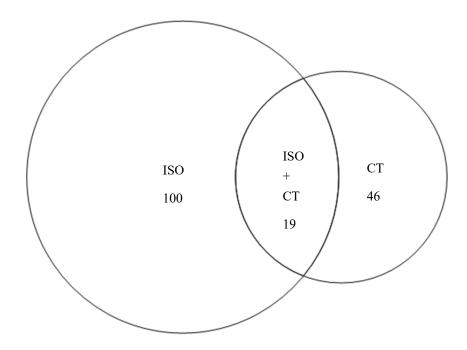


Abb. 5: Anteil der detektierten Isolate nach kulturellem Isolierungsverfahren

4.3.1 Nachweis der verschiedenen *Campylobacter*-Spezies in Abhängigkeit von der kulturellen Isolierungsmethode

Betrachtet man die Isolierungsraten der einzelnen *Campylobacter*-Spezies für jede der beiden angewendeten Isolierungsmethoden, so konnten 67,7 % der *C. jejuni*-Isolate nur durch das modifizierte ISO-Verfahren und 22,2 % nur anhand des modifizierten CT-Verfahrens isoliert werden (Abb. 6).

Von den *C. coli*-Stämmen wurden 55,3 % nur im modifizerten ISO-Verfahren und 21,1 % im modifizierten CT-Verfahren detektiert. 37,5 % bzw. 62,5 % der *C. upsaliensis*-Isolate wurden jeweils mittels modifiziertem ISO- bzw. CT-Verfahren isoliert. Zwei der drei *C. lari*-Isolate wurden nur mittels modifiziertem ISO-Verfahren detektiert, das verbleibende nur mittels modifiziertem CT-Verfahren. Der einzige *C. fetus*-Stamm wurde mit Hilfe des modifizierten ISO-Verfahrens isoliert.

10,1 % und 23,7 % der *C.jejuni*- und *C. coli*-Isolate wurden mittels beider Verfahren detektiert. Bei den anderen *Campylobacter*-Spezies gelang die Isolierung nur mit jeweils einem Verfahren.

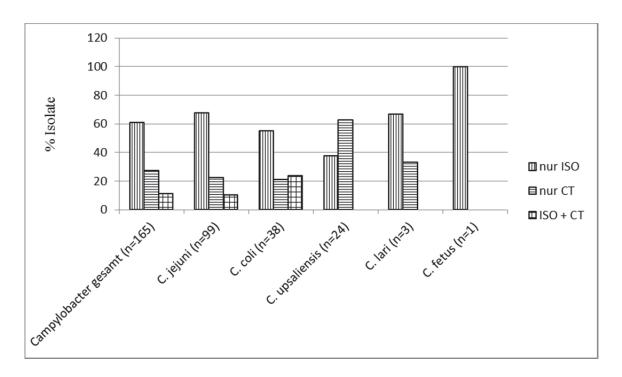


Abb. 6: Isolierungsraten der einzelnen Campylobacter-Spezies in Abhängigkeit von der kulturellen Isolierungsmethode

In fünf der positiven Proben wurden zwei verschiedene Spezies über ein Isolierungsverfahren und in einer Probe wurde mit jeder Methode eine jeweils andere Spezies nachgewiesen.

In zwei Proben wurde dieselbe Spezies mittels beider Verfahren nachgewiesen und eine weitere Spezies über nur eine der beiden Verfahren.

4.3.2 Isolierungsmethodenvergleich zum Nachweis von *Campylobacter* nach Matrizen

Im Folgenden wird der Methodenvergleich zum Nachweis von *Campylobacter* anhand der untersuchten Matrizen erläutert (Abb. 7).

Bei Proben von Hunden, Gewässern, Hühnern, Schweinen und Wachteln konnten mit der ISO-Methode mehr Proben als *Campylobacter*-positiv nachgewiesen werden als mit der CT-Methode. Bei Bodenproben verhielt es sich umgekehrt. Bei den untersuchten Katzen konnten etwa gleich viele *Campylobacter*-positive Proben mittels beider Verfahren nachgewiesen werden.

Die Anzahl an Proben, welche sich durch beide Nachweisverfahren als *Campylobacter*-positiv zeigten, war gering. Eine Ausnahme stellten hierbei Schweine- und Wachtelproben dar.

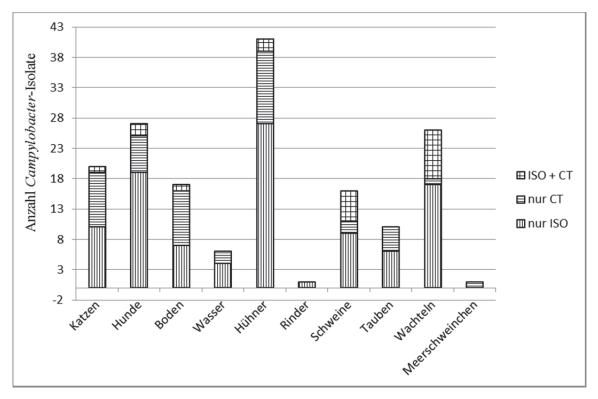


Abb. 7: Methodenvergleich zum Nachweis von Campylobacter spp. in unterschiedlichen Matrizen

4.4 Antibiotika-Resistenzbestimmung

Es wurden 77 *C. jejuni*- und 24 *C. coli*-Isolate phänotypisch mittels Bouillon-Mikrodilution auf ihre Empfindlichkeit gegenüber den sieben Wirkstoffen Chloramphenicol, Ciprofloxacin, Erythromycin, Gentamicin, Nalidixinsäure, Streptomycin und Tetrazyklin hin untersucht. Die übrigen *C. jejuni*- und *C. coli*-Isolate waren nicht in Reinkultur zu überführen oder nach der Kryokonservierung nicht mehr anzüchtbar.

Von den 77 untersuchten *C. jejuni*-Isolaten stammten 26 von Hühnern, 23 von Wachteln, neun von Tauben, acht von Katzen, sieben von Hunden, zwei aus Wasser- und zwei aus Bodenmaterial.

Acht der 24 *C. coli-*Stämme wurden aus Hühnern, sieben aus Wachteln, vier aus Schweinen, zwei aus Katzen, zwei aus Hunden und einer aus einer Bodenprobe isoliert.

Die Auswertung der Empfindlichkeitstestung erfolgte anhand der vom EU Referenzlabor für antimikrobielle Resistenzen veröffentlichten Grenzwerte (EQAS 2012). Anhand dieser wurden die Isolate in die Kategorien "sensibel" oder "resistent" eingeteilt.

4.4.1 Resistenzverhalten der *Campylobacter*-Isolate gegenüber den untersuchten antimikrobiellen Wirkstoffen

Es konnten gegen fünf der sieben untersuchten Wirkstoffe Resistenzen festgestellt werden (Abb.

8). Keine Resistenzen wurden gegenüber Chloramphenicol und Gentamicin detektiert.

Die häufigsten Resistenzen traten gegen das Fluorchinolon Ciprofloxacin (61,4 %) auf. Bis auf neun waren alle Ciprofloxacin-resistenten Isolate ebenfalls gegenüber Nalidixinsäure resistent. Die Ciprofloxacin-Resistenzraten unterschieden sich signifikant (p = 0,014) in Abhängigkeit der Matrix. Die höchsten Resistenzraten gegen Ciprofloxacin zeigten sich bei Wachtel- (76,7 %) und Hühner-Isolaten (70,6 %). Ebenfalls eine hohe Resistenz wiesen Schweine- (50 %), Tauben- (44,4 %), Hunde- (33,3 %) und Katzen-Isolate (30 %) auf. Lediglich ein Umweltisolat zeigte sich resistent (20 %).

Gegenüber dem Chinolon Nalidixinsäure zeigten sich 47,5 % der Isolate resistent. Alle Nalidixinsäure-resistenten Isolate wiesen eine Resistenz gegenüber Ciprofloxacin auf.

Auch gegenüber Nalidixinsäure zeigten sich hohe Resistenzraten bei aviären Isolaten. Dazu zählen 76,7 % der Wachtel-, 55,9 % der Hühner- und 44,4 % der Tauben-Isolate. Die Hälfte aller untersuchten Schweine-Isolate zeigte sich ebenfalls resistent. Die Resistenz von Hunde-, Katzen- und Umwelt-Isolaten bezüglich Nalidixinsäure war mit 22,2 %, 20 % und 20 % vergleichsweise gering. Die Nalidixin-Resistenzraten der Matrizen unterschieden sich statistisch signifikant (p = 0,07).

Ebenfalls hohe Resistenzraten zeigten sich gegenüber Tetrazyklin (42,6 %). Dazu zählen 100 % der Schweine-, 55,9 % der Hühner-, 50 % der Katzen-, 44,4 % der Hunde- und 36,7 % der Wachtel-Isolate. Dies betraf keines der Tauben- und Umwelt-Isolate. Somit unterschieden sich auch die Tetrazyklin-Resistenzen signifikant (p = 0,004) in Abhängigkeit der Matrix.

Gegen Streptomycin, bei dem es sich wie bei Gentamicin um ein Aminoglykosid-Antibiotikum handelt, waren nur wenige *Campylobacter*-Isolate (9,9 %) resistent. Dazu zählen 100 % der Schweineproben, 20 % der Katzenproben, 11,1 % der Hunde- und Taubenproben und 5,9 % der Hühnerproben. Keines der Wachtel- und Umwelt-Isolate wies dieses Merkmal auf. Auch hier unterschied sich die Resistenzrate signifikant in Abhängigkeit der Matrix (p < 0,001).

Gegenüber dem Makrolid-Antibiotikum Erythromycin zeigte sich lediglich das Isolat einer Katze resistent (1,0 %).

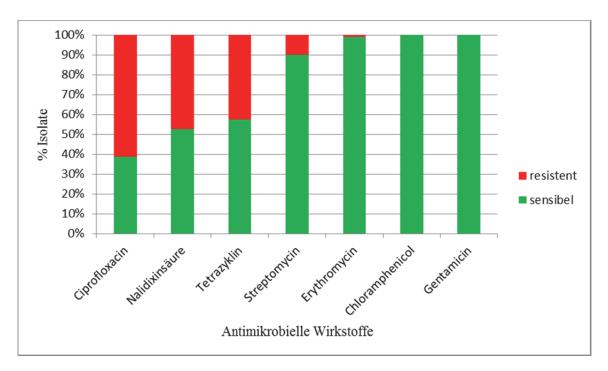


Abb. 8: Resistenzverhalten der untersuchten *Campylobacter*-Isolaten gegenüber den einzelnen antimikrobiellen Wirkstoffen (n = 101)

4.4.2 Resistenzverhalten von C. jejuni und C. coli

Bezüglich der beiden untersuchten *Campylobacter*-Spezies ergab sich ein vergleichbar großer Anteil resistenter Isolate. 71,4 % bzw. 75 % der 77 bzw. 24 untersuchten *C. jejuni*- und *C. coli*-Isolate zeigten sich resistent gegenüber mindestens einem mikrobiellen Wirkstoff (Abb. 9 und 10).

Gegenüber Ciprofloxacin zeigten sich 63,6 % aller untersuchten *C. jejuni*-Isolate und 54,2 % aller *C. coli*-Isolate resistent. Bei dem Wirkstoff Nalidixinsäure konnten bei 54,6 % und 45,8 % der *C. jejuni*- und *C. coli*-Isolate Resistenzen festgestellt werden. Gegen Tetrazyklin waren 33,8 % und 70,8 % der untersuchten *C. jejuni*- und *C. coli*-Isolate unempfindlich. 6,5 % und 20,8 % der *C. jejuni*- und *C. coli*-Isolate wiesen Resistenzen gegenüber Streptomycin auf. Ein *C. jejuni*-Isolat war gegenüber Erythromycin resistent (1,3 %), hingegen keines der *C. coli*-Isolate.

Die Resistenzlage der untersuchten *C. jejuni*- und *C. coli*-Isolate gegenüber den Chinolonen Ciprofloxacin und Naldixinsäure unterschied sich nicht statistisch signifikant (p = 0,474 bzw. p = 0,49).

Die C.coli-Isolate wiesen eine signifikant häufigere Tetrazyklin-Resistenzrate (p = 0,002) im Vergleich zu den C. jejuni-Isolaten auf. Auch gegen Streptomycin wies C. coli eine höhere Resistenzrate auf, wobei sich diese Resistenzrate statistisch nicht signifikant (p = 0,055) von der C. jejuni Resistenzrate unterschied.

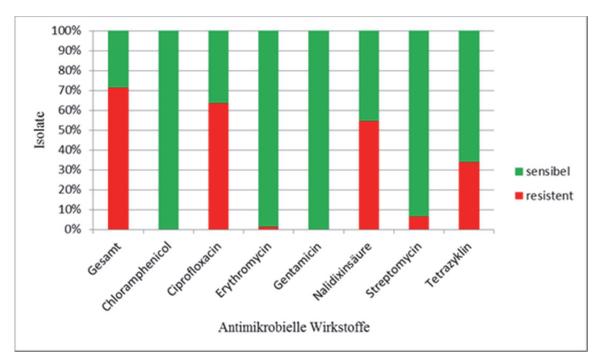


Abb. 9: Resistenzverhalten von *C. jejuni* (n = 77)

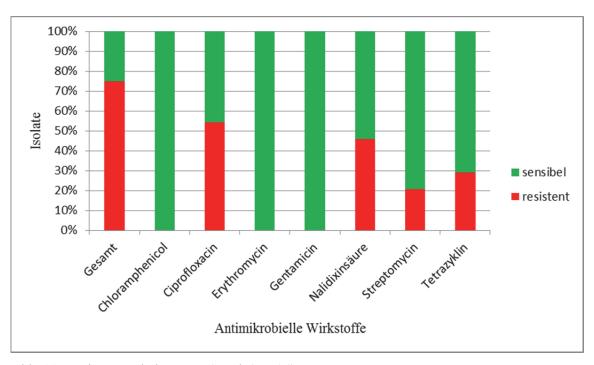
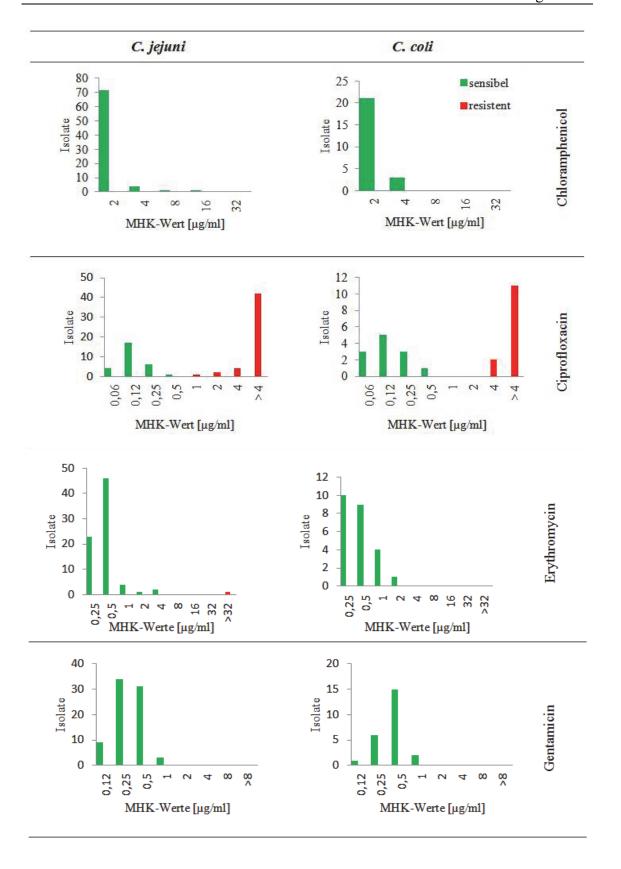


Abb. 10: Resistenzverhalten von C. coli (n = 24)

Abbildung 11 zeigt die Verteilung der MHK-Werte der *C. jejuni*- bzw. *C. coli*-Isolate für die untersuchten Antibiotika mit Grenzwerten anhand der Angaben des EU Referenzlabors für antimikrobielle Resistenzen.



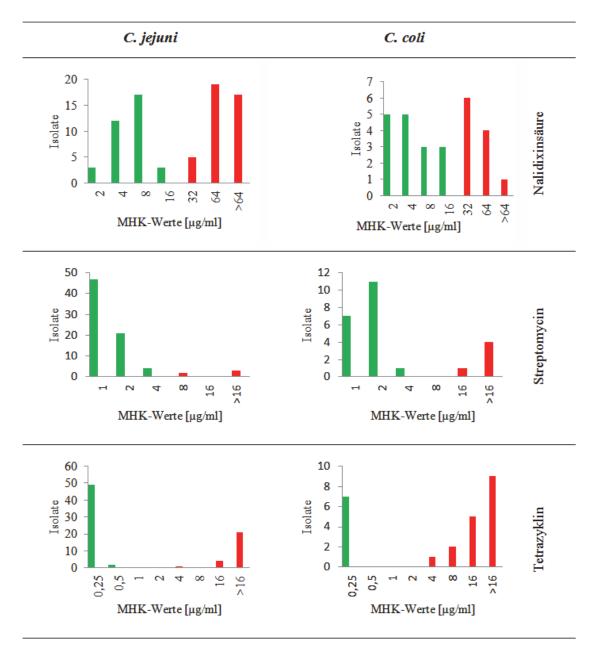


Abb. 11: Verteilung der MHK-Werte der C. jejuni- bzw. C. coli-Isolate

4.4.3 Resistenzverhalten in Abhängigkeit von den untersuchten Matrizen

Die höchsten Resistenzraten zeigten sich mit 100 % bei Schweine-, 86,7 % bei Wachtel- und 79,4 % bei Hühner-Isolaten. Darüber hinaus zeigte sich bei über der Hälfte der Katzen- (60 %) und Hunde-Isolate (55,6 %) mindestens eine antimikrobielle Resistenz. 44,4 % der untersuchten Tauben-Isolate und eine der fünf Umweltproben erwies sich ebenfalls als resistent. Die beiden anderen Bodenproben wie auch beide untersuchte Wasserproben waren vollständig sensibel.

4.4.4 Mehrfachresistenzen

13,9 % aller getesteten Isolate wiesen eine Resistenz gegen einen einzigen antimikrobiellen Wirkstoff auf. Diese beinhalteten 23,5 % aller Hühner-Isolate, 22,2 % der Hunde-Isolate und je 10 % der Wachtel- und Katzen-Isolate. Alle Tauben-, Umwelt- und Schweine-Isolate waren gegenüber mehreren antimikrobiellen Wirkstoffen resistent.

Betrachtet man die Ergebnisse der antimikrobiellen Empfindlichkeitsbestimmung in Bezug auf Mehrfachresistenzen, so waren 26,7 % der Isolate resistent gegenüber zwei, 27,7 % gegenüber drei, 3,0 % gegenüber vier und 1,0 % der Isolate gegenüber fünf antimikrobiellen Wirkstoffen resistent (Abb. 12).

Als resistent gegenüber zwei Wirkstoffen konnten die Hälfte aller Schweine-Isolate und auch Wachtel- (46,7 %), Katzen- (40 %), Tauben- (33,3 %), Umwelt- (20 %) und Hundeproben (11,1 %) eingestuft werden. Untersuchte Hühnerproben wiesen die geringste Anzahl an Isolaten mit Resistenzen gegenüber zwei Antibiotika auf (5,9 %).

Fast die Hälfte der Hühner-Isolate war gleichzeitig gegenüber drei antimikrobiellen Wirkstoffen resistent (47,1 %) sowie 30 % der Wachtel-Isolate, 22,2 % der Hunde-Isolate und 11,1 % der Tauben-Isolate. Weder Katzen-, Umwelt- noch Schweine-Isolate wiesen dieses Merkmal auf.

Ein Hühner-Isolat (2,9 %) und zwei Schweine-Isolate (50 %) zeigten sich gegenüber Ciprofloxacin, Nalidixinsäure, Streptomycin und Tetrazyklin resistent. Ein Katzen-Isolat (10 %) erwies sich gegenüber Ciprofloxacin, Nalidixinsäure, Streptomycin, Tetrazyklin und Erythromycin resistent.

Es erwiesen sich 31,7 % der Isolate als resistent gegenüber mindestens drei antimikrobieller Wirkstoffe und sind somit als multiresistent zu bezeichnen. Dies trifft auf 55,6 % der *C. coli*-und 40 % der *C. jejuni*-Isolate zu. Bezugnehmend auf die unterschiedlichen Matrizen zeigten sich 50 % der Hühner- und Schweine-, 30 % der Wachtel-, 22,2 % der Hunde-, 11,1 % der Tauben- und 10 % der Katzen-Isolate multiresistent. Lediglich die Umwelt-Isolate wiesen keine Multiresistenz auf.

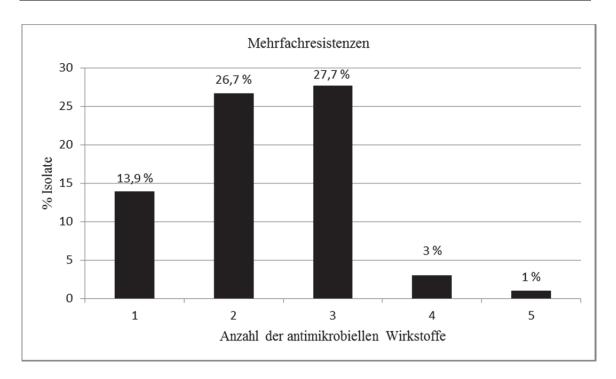


Abb. 12: Verteilung der ermittelten Mehrfachresistenzen der Campylobacter-Isolate

4.4.5 Resistenzkombinationen

Am häufigsten war die Dreifachresistenz gegenüber Ciprofloxacin, Nalidixinsäure und Tetrazyklin mit 34,3 % der resistenten Isolate (25/73) vertreten, gefolgt von der Kreuzresistenz gegenüber Ciprofloxacin und Nalidixinsäure mit 28,8 % (21/73). Erwähnenswert sind auch die Zweifachresistenzen gegenüber Ciprofloxacin und Tetrazyklin, Tetrazyklin und Streptomycin, die Dreifachresistenz gegen Ciprofloxacin, Nalidixinsäure und Streptomycin sowie die Vierfachresistenz gegen Ciprofloxacin, Nalidixinsäure, Tetrazyklin und Streptomycin mit jeweils 4,1 % (3/73). Ein Isolat zeigte sich unempfindlich gegenüber Ciprofloxacin, Nalidixinsäure, Tetrazyklin, Streptomycin und Erythromycin (1,4 %).

Bezugnehmend auf die beiden untersuchten Spezies *C. jejuni* und *C. coli* zeigte sich die Zweifachresistenz gegenüber Tetrazyklin und Streptomycin bei 16,7 % der resistenten *C. jejuni*-Isolate, aber bei keinem der resistenten *C. coli*-Isolate. Ein deutlich höherer Anteil der resistenten *C. coli*-Isolate erwies sich als resistent gegenüber Ciprofloxacin und Tetrazyklin (11,1 %) im Vergleich zu den *C. jejuni*-Isolaten (1,8 %). Gegenteilig verhielt es sich bei der Zweifachresistenz gegenüber Ciprofloxacin und Nalidixinsäure. Dies traf auf 36,4 % der *C. jejuni*-Isolate und 5,6 % der *C. coli*-Isolate zu.

Die Dreifachresistenz gegenüber Ciprofloxacin, Nalidixinsäure und Tetrazyklin war sowohl für *C. jejuni* und *C. coli* (30,9 % und 44,4 %) häufig.

Eine Dreifachresistenz gegenüber Ciprofloxacin, Nalidixinsäure und Streptomycin wurde nur bei *C. jejuni*-Isolaten (5,5 %), nicht jedoch bei *C.coli*-Ioslaten nachgewiesen.

Vier- und Fünffachresistenzen zeigten sich selten. Bei einem der drei vierfach resistenten Isolate handelte es sich um *C. jejuni*, bei den anderen beiden um *C. coli*. Diese machten 1,8 % und 11,1 % der resistenten *C. jejuni*- und *C. coli*-Isolate aus.

Lediglich eines der 77 C. jejuni-Isolate erwies sich gegenüber fünf antimikrobiellen Wirkstoffen als resistent.

4.4.6 Vergleich des Resistenzverhaltens der mittels beider Isolierungsverfahren detektierten Spezies einer Probe

Lagen Isolate derselben Spezies aus beiden Isolierungsverfahren einer Probe vor, so wurden beide im Resistenztest untersucht. Dies traf auf zehn Proben zu.

In allen bis auf eine Probe zeigten jeweils beide Isolate unterschiedliche MHK-Werte je nach Isolierungsverfahren.

Bei der Hälfte der Proben unterschieden sich die jeweils zwei Isolate nicht im Resistenzverhalten. Dazu zählen *C. jejuni*-Isolate von zwei Wachteln, einem Huhn und einem Hund sowie zwei *C. coli*-Isolate von einer Wachtel.

Die übrigen Isolate aus dem modifizierten ISO- und CT-Verfahren von vier Wachteln und einem Huhn wiesen Unterschiede hinsichtlich ihres Resistenzprofils auf.

4.5 Charakterisierung ausgewählter *Campylobacter*-Isolate mittels MLST

Die klonale Verwandtschaft ausgewählter *Campylobacter*-Stämme wurde basierend auf der Sequenzierung von Fragmenten der sieben Haushaltsgene *aspA*, *glnA*, *gltA*, *glyA*, *pgm*, *tkt* und *uncA* und dem Vergleich der daraus resultierenden Allelmuster analysiert.

Die in Abbildung 13 aufgeführten 86 Tier-Isolate wurden nach den Angaben der *Campylobacter-MLST-Website* (http://pubmlst.org/campylobacter/) untersucht. Die 58 *C. jejuni-*Isolate stammten aus Wachteln (n = 22), Hunden (n = 12), Hühnern (n = 10), Tauben (n = 9), Katzen (n = 10), Wachteln (n = 10), Wachteln (n = 10), Hühnern (n = 10), Hunden (n = 10), Hunden (n = 10), Hunden (n = 10), Wachteln (n = 10), Hühnern (n = 10), Hunden (

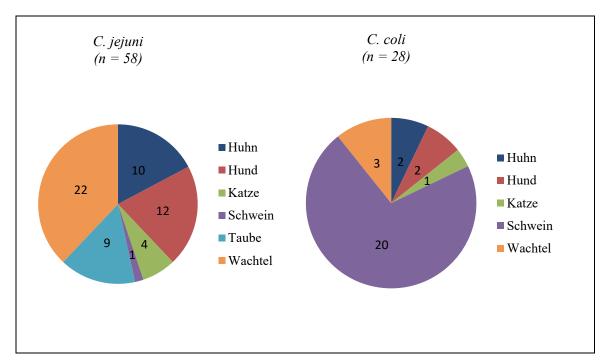


Abb. 13: Mittels MLST charakterisierte C. jejuni- und C. coli-Isolate nach Matrizen

Ihrem Allelprofil entsprechend wurden die *Campylobacter*-Stämme einem Sequenztyp (ST) und klonalem Komplex (ST-CC) zugeordnet. Diese Zuordnungen und die zugehörigen Allelpolymorphismen sind Tabelle A4 des Anhangs zu entnehmen.

Abbildung 14 zeigt ein Populationsmodell basierend auf den zusammengefügten Sequenzen (concatenated sequences) aller MLST-Gene der in dieser Arbeit untersuchten *Campylobacter*-Stämme in Form eines MST (Minimum Spanning Tree) (Bionumerics Version 6.1).

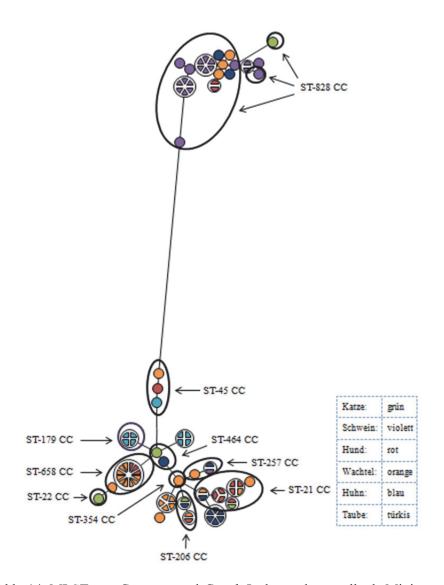


Abb. 14: MLST von C. jejuni- und C. coli-Isolaten, dargestellt als Minimum Spanning Tree

Jeder Kreis stellt einen Sequenztyp dar. Der Durchmesser der Kreise repräsentiert die Anzahl der zugehörigen Isolate. Die Farbe des Kreises gibt die Quelle an (gelb – Katze, rosa – Schwein, blau – Hund, pink – Wachtel, lila – Huhn, braun – Taube). Die Länge der Verbindungslinien zwischen den Kreisen gibt die Unterschiede der concatenated sequences der Sequenztypen an. Die Ellipsen um die Kreise zeigten die Zugehörigkeit zu einem ST-CC an. Die Bezeichnung des ST-CC ist jeweils seitlich vermerkt.

Es ist eine deutliche Aufteilung der Sequenztypen in zwei große phylogenetische Gruppen erkennbar. Die obere Gruppe beinhaltete *C. coli*-Isolate, während sich in der unteren Gruppe die ST der *C. jejuni*-Isolate wiederfanden. Bei den mittels MLST untersuchten 86 *Campylobacter*-Isolaten wurden 39 verschiedene Sequenztypen identifiziert. Bis auf 13 sind alle festgestellten Sequenztypen auch für humane *Campylobacter*-Isolate bekannt (Tab. A4 des Anhangs).

Außerdem befanden sich unter den identifizierten Sequenztypen acht ST, die erstmals im Rahmen dieser Studie beschrieben wurden. Den neu beschriebenen Allelkombinationen wurde anhand der Onlinedatenbank pubMLST (www.pubmlst.org) ein Sequenztyp zugewiesen.

Insgesamt konnten die meisten der ermittelten Sequenztypen der Isolate zehn klonalen Kommplexen zugeordnet werden. In der Gruppe der *C. jejuni*-Isolate wurden neun verschiedene klonale Komplexe ermittelt. Diesen wurden jeweils zwischen einem und fünf unterschiedliche Sequenztypen zugeordnet (Tab. A4 des Anhangs). Fünf Sequenztypen konnten keinem klonalen Komplex zugewiesen werden und stellen Singletons dar.

In der phylogenetischen Gruppe der *C. coli*-Stämme ist ein großer klonaler Komplex (ST-828 CC) zu erkennen, dem 13 der 16 Sequenztypen dieser Gruppe bzw. 24 der 28 *C. coli*-Isolate (85,7%) angehörten. Die übrigen drei Sequenztypen (ST-1430, ST-7003, ST-7004) sind Singletons und konnten keinem klonalen Komplex zugeordnet werden.

Die typisierten *Campylobacter*-Isolate wiesen eine hohe genetische Diversität auf Ebene der Sequenztypen auf. Unter den *C. jejuni*-Stämmen wurden 23 unterschiedliche Sequenztypen identifiziert.

Die beiden vorherrschenden Sequenztypen unter den untersuchten *C. jejuni*-Isolaten waren ST-658 und ST-2274, denen jeweils zwölf und sechs der Isolate zugeordnet werden konnten. Jeweils vier der *C. jejuni*-Isolate weisen den ST-50, ST-220, ST-1962 und ST-7000 und drei den ST-19 auf.

Jeweils zwei Isolate konnten folgenden ST zugeordnet werden: ST-53, ST-122, ST-257, ST-572 und ST-1519. Die anderen sind jeweils nur durch ein Isolat repräsentiert.

Die untersuchten *C. coli*-Isolate gehörten 16 verschiedenen Sequenztypen an. Es dominierten die Sequenztypen ST-854 und ST-7005 (jeweils sechs Isolate). Den Sequenztypen ST-2302, ST-7003 wurden jeweils zwei und allen weiteren Sequenztypen nur ein Isolat zugeordnet.

4.5.1 Zusammenhang zwischen den Resultaten der MLST und den untersuchten Matrizen

In allen Matrizen zeigte sich eine hohe Diversität der Sequenztypen. Auch auf Ebene der klonalen Komplexe war meist kein Zusammenhang zwischen Sequenztyp und Herkunft der Isolate zu erkennen (Abbildungen 15 und 16).

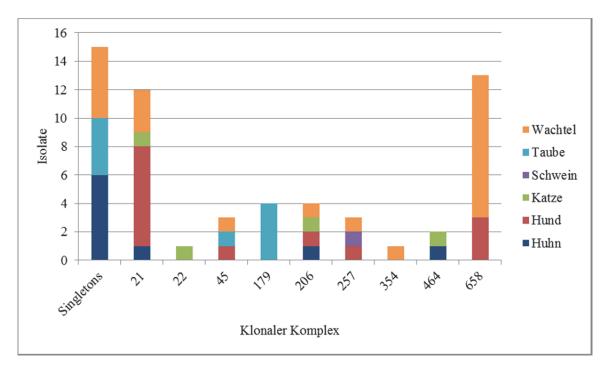


Abb. 15: Verteilung der ST-CC unter den C. jejuni-Isolaten der unterschiedlichen Quellen

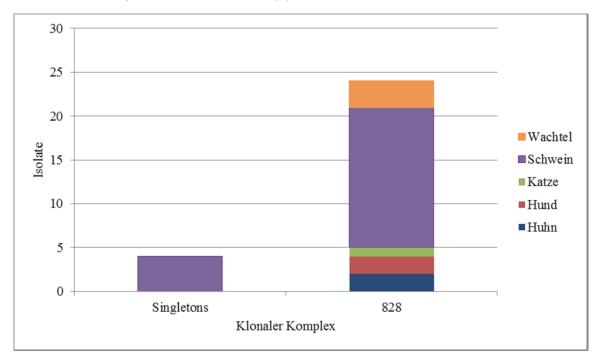


Abb. 16: Verteilung der ST-CC unter den C. coli-Isolaten der unterschiedlichen Quellen

C. jejuni

Sieben der zehn klonalen Komplexe enthielten Isolate aus verschiedenen Quellen. ST-206 CC und ST-21 CC enthielten Isolate aus vier, ST-45 CC aus drei verschiedenen Quellen. ST-658 CC und ST-464 CC beinhalteten Stämme zwei verschiedener Quellen. ST-22 CC, ST-179 CC und ST-354 CC wurden jeweils nur Katzen-, Tauben- und Wachtel-Isolaten zugewiesen.

Ergebnisse

Auch konnten Isolate mit demselben Sequenztypen aus verschiedenen Quellen nachgewiesen werden (Tab. 18).

Tab. 18: Sequenztypen mit Isolaten aus verschiedenen Quellen

ST-CC	ST	Quellen der Isolate
21	50	Huhn, Wachtel
21	53	Hund, Katze
21	1519	Huhn, Wachtel
206	122	Huhn, Katze
206	572	Hund, Wachtel
257	257	Huhn, Schwein
658	658	Hunde, Wachtel

C. coli

Der ST-828 CC beinhaltete Isolate von 16 Schweinen, drei Wachteln, zwei Hühnern, zwei Hunden und einer Katze. Alle ST der untersuchten *C. coli*-Isolate beinhalteten jeweils Isolate derselben Quelle.

5 Diskussion

5.1 Fragestellung

Weltweit stellen *Campylobacter* die häufigste bakterielle Ursache von Durchfallerkrankungen dar (World Health Organization 2013). In der BRD übersteigen die Campylobacteriose-Fälle seit 2005 die der Salmonellose und 2014 rangierte die Campylobacteriose vor der Norovirus-Infektion auf Platz eins der meldepflichtigen Darmkrankheiten (Tabelle 1).

Zahlreiche Quellen von *Campylobacter* wie Heim-, Nutz- und Wildtiere und eine Vielzahl indirekter Übertragungswege wie kontaminiertes Fleisch, Milch, Wasser und auch Luft, Muscheln, Salat und Gemüse wurden beschrieben (On 2013; Man 2011; Skelly und Weinstein 2003; Bull et al. 2006; Morgan et al. 1994; Kuusi et al. 2005). Dessen ungeachtet bleibt die Ursache in bis zur Hälfte der Campylobacteriose-Fälle unbekannt (Bessell et al. 2012). Zudem ist die Rolle von anderen Infektionsquellen als Lebensmitteln noch nicht endgültig geklärt (Alter et al. 2011a).

Beachtenswert ist auch, dass antimikrobielle Resistenzen in *Campylobacter* spp. weltweit zunehmen (Polák et al. 2014; Luangtongkum et al. 2009). Diese Resistenzentwicklung ist insofern bedeutsam, als ein Therapieversagen eintreten kann und notwendige Resistenztests zeit- und kostenintensiv sind. Ein weiterer Aspekt ist, dass Infektionen mit resistenten *Campylobacter* spp. klinisch schwerwiegender und langwieriger sein können (Helms et al. 2005; Travers und Barza 2002).

Im Rahmen von Ausbruchsuntersuchungen und der Suche und Wichtung von Eintragsquellen stellt die Genotypisierung von Isolaten eine wesentliche Methode dar, um die Verwandtschaft von Isolaten darzustellen, Infektionsketten nachzuweisen und in der Folge entsprechende Maßnahmen zur Unterbrechung der Infektkette zu etablieren.

Um das Infektionsrisiko des Menschen zu senken ist es somit von großer Wichtigkeit, Infektionsquellen von *Campylobacter* spp. zu identifizieren, isolierte *Campylobacter* spp. bezüglich ihrer antimikrobiellen Eigenschaften zu untersuchen und die Isolate zu genotypisieren, um sie phylogenetisch vergleichen zu können.

Zu diesem Zweck wurden im Rahmen dieser Arbeit 964 Proben von Patienten zweier Tierarztpraxen, aus einem Tierheim, einem Wildtierpark, Oberflächengewässern und Böden sowie aus Schnecken und Insekten über einen Zeitraum von November 2011 bis Juni 2013 im Raum Brandenburg und Berlin untersucht.

Dementsprechend sollte zunächst erfasst werden, in welchem Ausmaß die verschiedenen Matrizen qualitativ mit *Campylobacter* spp. belastet sind. Da bezüglich der Probenanzahl der

Schwerpunkt auf Katzen und Hunden lag, wurde bei diesen Spezies zusätzlich ermittelt, ob Risikofaktoren bezüglich Alter, Durchfall und Haltung für eine Infektion mit *Campylobacter* bestehen. Zudem sollte untersucht werden, ob sich mit dem modifizierten ISO- und dem CT-Verfahren, auch unter Berücksichtigung der untersuchten Matrix und *Campylobacter*-Spezies, unterschiedliche Isolierungsraten ergeben.

Des Weiteren sollte die Resistenzlage der aus den unterschiedlichen Matrizen isolierten *C. jejuni* und *C. coli* erfasst werden. Schließlich wurden ausgewählte *Campylobacter*-Isolate mittels MLST charakterisiert und der Zusammenhang zwischen den Resultaten der MLST und der Ouelle der Isolate untersucht.

5.2 Isolierungsraten von Campylobacter in unterschiedlichen Matrizen

Der Nachweis von Campylobacter wird von einer Vielzahl von Parametern beeinflusst.

Geographische sowie jahreszeitliche Einflüsse konnten bei vielen Quellen gezeigt werden (Sanad et al. 2011; Sandberg et al. 2006; Bender et al. 2005). Umfang, Art, Menge und Herkunft des Probematerials nehmen ebenfalls Einfluss (Allos 2001). Auch Eigenschaften der untersuchten Tiere, wie Alter, Haltungsform und die körpereigene Abwehr können zu unterschiedlichen Nachweisraten führen (Parsons et al. 2010; Sandberg et al. 2006; Wieland et al. 2005).

Bei Querschnittstudien kann auch die intermittierende Ausscheidung von *Campylobacter* eine Rolle spielen (Hald et al. 2004).

Auch auf der Erreger-Seite gibt es einflussnehmende Eigenschaften. So unterscheidet sich das Kolonisations- und Adaptationspotenzial verschiedener *Campylobacter*-Stämme gegenüber verschiedenen Wirten und Umweltbedingungen (Pielsticker et al. 2012; Alter et al. 2011b).

Desweiteren ergeben sich Unterschiede durch die Art der Probenahme und die Zeitspanne zwischen Probenahme und Verarbeitung der Probe (Koene et al. 2009).

Unterschiede der Isolierungsraten lassen sich auch auf die Wahl des Nachweisverfahrens zurückführen. Vorteil des direkten PCR-Nachweises ist ein Ergebnis noch am selben Tag und eine gleichzeitige Speziesdifferenzierung (Kulkarni et al. 2002). Außerdem können mittels dieses Verfahrens auch VBNC-Formen nachgewiesen werden. Mateo et al. (2005) weisen darauf hin, dass bei einer direkten PCR durch tote, metabolisch reduzierte Bakterien und exogene DNA falsch positive Ergebnisse möglich sind. Inhibitorische Substanzen aus dem Probematerial können andererseits zu falsch negativen Resultaten führen. Darüber hinaus liefert das direkte PCR-Verfahren kein mikrobiologisches Material zur Anzucht und für weiterführende Untersuchungen (Kulkarni et al. 2002).

Die kulturelle Isolierung von *Campylobacter* gestaltet sich oft schwierig, da der Erreger hohe Wachstumsansprüche hat und oft nur einen geringen Anteil der Gesamtflora ausmacht. Zudem weist *Campylobacter* eine geringe Tenazität auf und kann aufgrund ungünstiger äußerer Ein-

flüsse bezüglich Sauerstoff, Temperatur, pH-Wert, Austrocknung und UV-Strahlung subletal geschädigt sein (Park 2002).

Bei kulturellen Verfahren kann eine Voranreicherung erfolgen, es können ein selektives Nährmedium, eine Filtertechnik oder eine Kombination mehrerer Verfahren angewandt werden. Auch lassen sich Inkubationsdauer und –temperatur sowie die Bebrütungsatmosphäre variieren. Diese Gründe gebieten Vorsicht beim Vergleich der Literatur mit dieser Arbeit.

Die in dieser Arbeit untersuchten Hunde wiesen eine *Campylobacter*-Prävalenz von 15,3 % auf. In der Literatur fanden sich bei Hunden vergleichbare Prävalenzen wie in dieser Arbeit beschrieben (Amar et al. 2014; Lee et al. 2004; López et al. 2002). Die Isolierungsmethoden ähnelten sich hinsichtlich einer Voranreicherung mit anschließender Subkultivierung auf einem selektiven Nährmedium oder durch die parallele Anwendung eines selektiven Nährmediums und einer Filtermethode (Amar et al. 2014; Lee et al. 2004; López et al. 2002).

Studien mit deutlich niedrigeren Prävalenzen hatten älteres Kotmaterial zum Gegenstand, untersuchten nur auf *C. jejuni* oder erfolgten ausschließlich in den kalten Jahreszeiten (Cinquepalmi et al. 2013; Hackett und Lappin 2003; Andrzejewska et al. 2013; Sandberg et al. 2002).

Studien mit höheren Prävalenzen könnten auf die Untersuchung von Sammelkotproben von zwei aufeinanderfolgenden Tagen, die Verwendung von zwei Tupferproben je Tier, fehlende vorausgehende Antibiosegabe, die ausschließliche Untersuchung von streunenden Hunden, Probenahme in der warmen Jahreszeit und einer Kombination von bis zu fünf verschiedenen Nachweismethoden zurückzuführen sein (Leonard et al. 2011; Engvall et al. 2003; Fernández und Oval 2012; Wieland et al. 2005; Acke et al. 2009b; Procter et al. 2013).

Die höchsten beschriebenen Prävalenzen bei Hunden mit bis zu 97 % wurden beschrieben, wenn eine direkte PCR als Nachweismethode und die Kombination einer Filtermethode mit drei verschiedenen selektiven Nährmedien eingesetzt wurden (Chaban et al. 2010; Koene et al. 2004).

11,3 % der untersuchten Katzenproben waren in der vorliegenden Studie *Campylobacter*-positiv. In der Literatur finden sich vergleichbare Daten (Andrzejewska et al. 2013; Gargiulo et al. 2008; Salihu et al. 2010). Abweichende Prävalenzen bei Katzen in der Literatur könnten durch Einflüsse der Jahreszeit der Untersuchung bedingt sein (Bender et al. 2005; Wieland et al. 2005; López et al. 2002). Das Halten von Katzen in Gruppen führt zu höheren *Campylobacter*-Nachweisraten (Bender et al. 2005). Diese wurden in der vorliegenden Arbeit nicht beprobt. Niedrigere Prävalenzen sind vermutlich darauf zurückzuführen, dass lediglich auf *C. jejuni* untersucht wurde oder eine geringe Probenzahl bestand (Lee et al. 2004; Hill et al. 2000). Außerdem kann sich eine kurze Inkubationszeit von 48 Stunden nachteilig auf den Nachweis gewisser *Campylobacter*-Spezies auswirken (Lee et al. 2004).

In einer anderen Studie erfolgte im Vorherein eine Selektion von zu untersuchenden Katzen, welche keine Antibiose erhielten und nicht an Durchfall litten, was ebenfalls Einfluss haben kann (Wieland et al. 2005). Eigene Untersuchungen erstreckten sich über alle Altersgruppen und Haltungsformen von Katzen sowie unabhängig von dem Vorliegen von Durchfall oder Antibiosegabe, was die niedrigere Prävalenz erklären könnte.

Prävalenzen von 58% und sogar 75 % wurden bei Katzen aus Gruppenhaltung festgestellt (Acke et al. 2006). In Gruppen gehaltene Tiere könnten durch eine gegenseitige Übertragung zu höheren Prävalenzen neigen. Keine der in Rahmen dieser Arbeit untersuchten Katzen stammte aus einer Gruppenhaltung.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass aufgrund der im Rahmen dieser Arbeit erhobenen Prävalenzen von *Campylobacter* bei Hunden und Katzen von 15,3 % und 11,3 % diese eine potentielle Infektionsquelle für den Menschen darstellen.

Schätzungen zufolge wurden 2013 11,5 Mio. Katzen in 19 % der Haushalte und 6,9 Mio. Hunde in 14 % der Haushalte in Deutschland gehalten (Skopos 2014).

Dies in Kombination mit der geringen infektiösen Dosis von *Campylobacter* für den Menschen, dem mit bis zu 10⁸ KBE/g hohen Erregergehalt von Hundekot und dem engen sozialen Kontakt zu Menschen deutet auf ein hohes Übertragungsrisiko hin (Chaban et al. 2010).

Die Übertragung von *Campylobacter* spp. von Hunden auf Menschen wurde bereits mehrfach beschrieben und im Zusammenhang mit einer neonatalen Sepsis genotypisch nachgewiesen (Damborg et al. 2004; Wolfs et al. 2001).

Auch zeigte sich in Studien, dass der Kontakt zu Hunden ein signifikant erhöhtes Risiko für eine Campylobacteriose bedeutet. Dies trifft insbesondere auf Hundewelpen in Bezug auf Kinder zu (Mughini Gras et al. 2012; Stafford et al. 2008). Die Einhaltung hygienischer Maßnahmen ist in diesem Zusammenhang von großer Bedeutung.

Ein möglicher Zusammenhang zwischen dem Alter, dem Vorhandensein von Durchfall, der Fütterung von Rohfleisch und der Haltungsform und ihrer Untersuchungsergebnisse auf *Campylobacter* spp. wurde darüber hinaus bei Hunden und Katzen untersucht.

Die in dieser Arbeit erhobenen Daten zu möglichen Risikofaktoren einer *Campylobacter*-Infektion bei Hunden stellten sich folgendermaßen dar.

Junge und mit Rohfleisch gefütterte Hunde waren jeweils zu etwa 21 % *Campylobacter*-positiv. Hunde, die älter als ein Jahr waren bzw. nicht mit Rohfleisch gefütterte wurden, schieden zu etwa 14 % thermophile *Campylobacter* aus. Obwohl diese Unterschiede nicht statistisch signifikant waren, so lässt sich doch eine Tendenz erkennen. Der überwiegende Teil der Studien in der Literatur konnte zeigen, dass junge und mit rohem Fleisch gefütterte Hunde ein höheres Risiko aufweisen, Ausscheider von *Campylobacter* zu sein (Amar et al. 2014; Procter et al. 2013; Leonard et al. 2011).

Ein möglicher Grund für den nicht signifikanten Unterschied in dieser Arbeit war, dass der Anteil der jungen bzw. mit rohem Fleisch gefütterten Hunde mit 14,1 % und 17,2 % gering war.

An Durchfall leidende Hunde waren zu 36,4 %, nicht an Durchfall erkrankte Hunde zu 13,8 % *Campylobacter*-positiv. Auch wenn dieser Unterschied nicht statistisch signifikant war, so waren Durchfall-kranke doch mehr als 2,5mal so häufig *Campylobacter*-positiv. Dies ist vermutlich darauf zurückzuführen, dass wie auch bei den untersuchten Katzen Durchfallerkrankte nur etwa 6 % der untersuchten Tiere ausmachten. Allerdings ist dieses Ergebnis übereinstimmend mit der Mehrheit der Studien in der Literatur, die keinen signifikanter Zusammenhang zwischen dem Ausscheiden von *Campylobacter* spp. und dem Auftreten von Durchfall bei Hunden feststellen konnten (Stavisky et al. 2011; Parsons et al. 2011; Rossi et al. 2008).

Andere mögliche Gründe sind, dass zum einen der Anteil von *C. jejuni* gegenüber den anderen Spezies in dieser Arbeit relativ hoch ist und diese Spezies häufiger Durchfall bei Hunden zu verursachen scheint als andere Spezies (Hald et al. 2004a; Parsons et al. 2011). Zum anderen war aber der Anteil junger Hunde in dieser Untersuchung relativ gering und diese Gruppe ist häufiger von einer *Campylobacter*-Infektion betroffen (Burnens et al. 1992).

Mehrere Studien konnten auch der Zwingerhaltung ein signifikant höheres Risiko zuschreiben (Procter et al. 2013; Parsons et al. 2010; Westgarth et al. 2009). In dieser Arbeit waren mit 16,1 % die in Zwingern gehaltenen Hunde gleichermaßen *Campylobacter*-Ausscheider wie die im Haus gehaltenen Hunde mit 15,2 %. Allerdings handelt es sich auch bei der Zwingerhaltung um einen Risikofaktor, der bei den untersuchten Hunden unterrepräsentiert war (19 %).

Grundsätzlich muss angemerkt werden, dass die Patientendaten der Katzen und Hunde vom Tierarzt mithilfe eines Fragebogens beim Tierhalter erfragt wurden. Dies kann zu Interviewer-Bias führen (Johannes et al. 1997). Des Weiteren stammten die untersuchten Katzen- und Hundeproben aus dem Patientengut zweier Tierarztpraxen und einem Tierheim. Dies ist nicht repräsentativ für die entsprechende Tierpopulation im Beprobungsbereich Berlin und Brandenburg.

Bei den hier vorgestellten Untersuchungen zu möglichen Risikofaktoren einer *Campylobacter*-Infektion von Katzen ergab sich folgendes Bild:

In der Gruppe der maximal ein Jahr alten Katzen waren 13,5 % *Campylobacter*-positiv, bei den adulten Tieren waren es 10,4 %. 8,3 % der an Durchfall leidenden Katzen waren *Campylobacter*-positiv. Hingegen schieden 11,5 % der nicht an Durchfall erkrankten Katzen *Campylobacter* spp. aus. Diese Unterschiede waren nach dem exakten Test nach Fisher nicht statistisch signifikant.

Wie in dieser Arbeit beschrieben, konnte auch die Mehrheit der Studien weder einen signifikanten Zusammenhang zwischen der Ausscheidung von *Campylobacter* mit dem Alter noch mit Durchfallerkrankungen bei Katzen feststellen (Rossi et al. 2008; Workman et al. 2005; Bender et al. 2005). Anzumerken ist allerdings, dass der Anteil der an Durchfall leidenden Katzen an

der Gesamtzahl untersuchter Katzen gering war (6,8 %). Die Beurteilbarkeit des Zusammenhangs zwischen Durchfall und *Campylobacter*-Infektionen auf die gesamte Katzenpopulation ist somit mit Vorsicht zu interpretieren.

Der Anteil an Ausscheidern bei Freigängern (16,1 %) war etwa zehnmal so hoch wie der der reinen Hauskatzen (1,7 %). Dieser Unterschied war statistisch signifikant und konnte auch in einer anderen Erhebung gezeigt werden (Wieland et al. 2005). Mögliche Gründe dafür sind, dass Katzen mit Freigang einer sehr viel größeren Anzahl an Kontaminationsquellen, wie infizierte Beutetiere, verdorbenes Fleisch, kontaminiertes Wasser oder Wildtiere, ausgesetzt sind. Katzen mit der Möglichkeit zu Freigang stellen demnach eine bedeutsamere Infektionsquelle für den Menschen dar als Katzen ohne Freigang.

Zur Untersuchung des Einflusses der Rohfleischfütterung auf die *Campylobacter*-Ausscheidung bei Katzen war die Probenanzahl (n = 1) zu gering. Auffallend ist aber, dass die einzig positiv getestete Katze ohne Freigang mit rohem Fleisch gefüttert wurde.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit ergaben sich hinsichtlich der untersuchten Probegruppen die höchsten *Campylobacter*-Prävalenzen bei Hühnern (74 %) und Wachteln (62,5 %), wohingegen die Prävalenz in Tauben mit 20 % deutlich geringer war.

Die bei Hühnern festgestellten Isolierungsraten entsprechen anderen in der Literatur beschriebenen Prävalenzdaten (EFSA 2012).

Es existieren nur wenige veröffentlichte Studien zu *Campylobacter*-Infektionen bei Wachteln. Eine Erhebung stellte eine Prävalenz von 31,1 % fest (Ngulukun et al. 2010).

Die in dieser Arbeit erhobenen *Campylobacter*-Isolierungsraten bei Tauben korrelieren ebenfalls mit in der Literatur beschriebenen Daten. Diese reichen von 0 % bis 30 % (Aquino et al. 2002; Lillehaug et al. 2005; Jeffrey et al. 2001). Hohe Prävalenzen von bis zu 70,2 % wurden bei Stadttauben festgestellt (Vázquez et al. 2010). Dies ist möglicherweise auf deren häufigere Exposition gegenüber Kontaminationsquellen zurückzuführen. Auch beträgt die Taubendichte in Städten bis zu über 2.000 Tiere/km², was eine gegenseitige Ansteckung wahrscheinlicher macht (Sacchi et al. 2002). Bei den in dieser Arbeit untersuchten Tauben handelte es sich um Zuchttauben mit Freiflugmöglichkeit, was sowohl die Zahl möglicher Ansteckungsquellen erhöht als auch die Übertragung von *Campylobacter* spp. auf Menschen ermöglicht.

Die in dieser Arbeit untersuchten Schweinekotproben waren zu 32 % *Campylobacter* positiv. Die vorgelegten Untersuchungsergebnisse der Schweinekotproben auf *Campylobacter* stimmen weitgehend mit anderen publizierten Daten von 34,8 % aus Europa überein (EFSA 2012). Teilweise wurden höhere Prävalenzen von 55,8 % bis 100 % beschrieben (Gebreyes 2005; Madden et al. 2000). Allerdings wurde auch von erregerfreien Betrieben und deutlich geringeren Prävalenzen als in dieser Arbeit beschrieben berichtet (Marinou et al. 2012; Aquino et al. 2002).

Unterschiede der beschriebenen Prävalenzen bei Schweinen können auf das Alter der Schweine und die Größe des Betriebes zurückzuführen sein. So nimmt die Zellzahl von *Campylobacter* mit zunehmendem Alter der Schweine ab und je größer der Betrieb ist, desto häufiger kann *C. coli* nachgewiesen werden (Kosinc 2011; Weijtens et al. 1999). Der im Rahmen dieser Arbeit beprobte Schweinemastbetrieb war verhältnismäßig klein und die Mastschweine befanden sich am Ende ihrer Mastdauer. Darüber hinaus können Schweine intermittierende Ausscheider von *Campylobacter* sein (Kasimir 2005).

Aus den 50 untersuchten Rinderkotproben gelang nur bei einer Probe der Nachweis von Campylobacter. Die Rinder wurden in einem Laufstall ohne Weidegang gehalten. Die Proben wurden im Juli 2013 genommen und waren keinem Individuum zuzuordnen, da die Entnahme von Rektaltupferproben aus sicherheitstechnischen Gründen nicht möglich war. Es wurden makroskopisch möglichst frische Kotproben untersucht. Die bei Rindern beschriebenen Nachweisraten von Campylobacter variieren stark. Die Mehrheit der Studien gibt niedrige Prävalenzen von etwa 3 % an (EFSA 2012). In anderen Studien gelang kein Nachweis von Campylobacter spp. bei Rindern (Workman et al. 2005; Lee et al. 2004; Aquino et al. 2002). Höhere Werte können beispielsweise durch mehrfache Beprobung bedingt sein, da Rinder zu einer intermittierenden oder sehr geringen Ausscheidung von nur 10⁴ KBE/g Kot neigen (Sproston et al. 2011; Gilpin et al. 2009; Sinton et al. 2007). Dies veranlasst manche Autoren dazu, ein direktes PCR-Verfahren anzuraten (Inglis et al. 2004). Auch wurde eine Saisonalität bei der Campylobacter-Ausscheidung bei Rindern beschrieben (Sproston et al. 2011; Moriarty et al. 2008). Die Prävalenz scheint darüber hinaus mit der Mastdauer zuzunehmen bzw. ist von dem Alter der Tiere abhängig (Hannon et al. 2009; Besser et al. 2005). Haltungsfaktoren wie Weidegang und der Zugang zu natürlichem Oberflächengewässern spielen ebenfalls eine Rolle (Duncan et al. 2014; Besser et al. 2005). Hoar et al. (1999) konnten zeigen, dass sich statistisch signifikant (zehnmal) mehr Campylobacter-Isolate mittels Untersuchung von Rektaltupfern im Vergleich zu der Untersuchung von Kotproben ergaben. Im Kot von Rindern sterben Campylobacter bedingt durch hohe Temperaturen und Sauerstoff rasch ab, was bei zunehmendem Alter des Kotes zu schlechteren Isolierungsraten führt (Sinton et al. 2007). Diese Gründe könnten die in dieser Arbeit nur geringe Isolierungsrate von Campylobacter bei Rindern bedingen.

Bei den hier untersuchten Schafen wurden keine *Campylobacter* spp. nachgewiesen. Dies zeigte sich auch in anderen Studien, bei denen kein Nachweis oder nur eine geringe Nachweisrate bei Schafen gelang (Bolton et al. 2012; Bull et al. 2006; Bailey et al. 2003). Bei den in der Literatur beschriebenen höheren Prävalenzen bei Schafen handelte es sich meist um große Herden zur Mast gehaltener Fleischschafrassen. Des Weiteren sind Lämmer häufiger Ausscheider und Schafe scheiden signifikant häufiger im Winter und nach der Lammung *Campylobacter* aus

(Milnes et al. 2008; Bailey et al. 2003; Jones et al. 1999). In dieser Erhebung lag nur eine geringe Stichprobenzahl einer kleinen Schafherde mit adulten Tieren (n=13) vor. Außerdem handelte es sich um eine andere Rasse (Kamerunschafe).

Bei keiner der untersuchten Ziegen wurde *Campylobacter* festgestellt. Auch in anderen Veröffentlichungen erwiesen sich Ziegen mit 0 % bis 5 % als keine oder nur zu einem geringen Prozentsatz als Träger von *Campylobacter* (Cortés et al. 2006; Lee et al. 2004).

Keines der untersuchten Pferde schied zum Untersuchungszeitpunkt *Campylobacter* aus. Auch in anderen Studien konnten keine *Campylobacter* spp. aus Pferdekot isoliert werden (Bolton et al. 2012; Bull et al. 2006). Darüber hinaus war die Stichprobenzahl gering (n = 29). In der Literatur beschriebene Nachweise von *Campylobacter* bei Pferden stammen meist von Pferden, die mit anderen Tierarten zusammen gehalten wurden (Zweifel et al. 2008; Baserisalehi et al. 2007). Dabei ist eine mögliche Übertragung von Tierarten, bei denen *Campylobacter* als Kommensale betrachtet wird, auf die untersuchten Pferde in Erwägung zu ziehen. Ein Nachweis von *Campylobacter* bei einem Pferd wurde in Zusammenhang mit einem chronischen Durchfall beschrieben (Hurcombe et al. 2009). Keines der im Rahmen der vorliegenden Arbeit untersuchten Pferde wies Durchfall auf oder wurde mit einer anderen Tierart zusammen gehalten.

Die Veröffentlichungen zu *Campylobacter*-Prävalenzen bei Kaninchen fallen gering aus. Sie liegen bei 0 % bis 1 % (Devane et al. 2005; Roug et al. 2013). Aus keiner in der vorliegenden Arbeit der untersuchten Kaninchenproben konnte *Campylobacter* isoliert werden, allerdings war die Stichprobenzahl gering (n = 27).

Bei den untersuchten Zecken, Wanzen und Schnecken wurden keine *Campylobacter* spp. nachgewiesen. Dies kann mehrere Gründe haben.

Zum einen fungieren Insekten nur kurzfristig als mechanische Vektoren von *Campylobacter* und eine Kontaminationsquelle wie Tierkot muss in ihrer Nähe vorhanden sein (Hazeleger et al. 2008). So konnten Hald et al. (2008) zeigen, dass künstlich inokulierte Fliegen für maximal 24 Stunden Träger des Erregers waren. Zum anderen sind beschriebene Isolierungsraten von etwa 1 % gering und zeigen des Weiteren saisonale Schwankungen (Hald et al. 2008).

In der Literatur beschriebene Nachweise von *Campylobacter* bei Schnecken von bis zu 13,3 % gelangen durch Untersuchung von Teilstücken der Schnecken (Sproston et al. 2010). In der vorliegenden Erhebung wurde lediglich die zugängliche Oberfläche der untersuchten Schnecken betupft, und somit nicht der Verdauungstrakt der Schnecken untersucht.

In der Literatur sind nur wenige Untersuchungen zu der Prävalenz von lebensmittelrelevanten Bakterien bei kleinen Heimtieren, Reptilien und Igeln zu finden.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden neun Mäuse, zwei Meerschweinchen und ein Chinchilla auf *Campylobacter* untersucht. Aus keiner der Kotproben der Mäuse und des Chinchillas konnte *Campylobacter* isoliert werden. Dies gelang auch in anderen Studien der Literatur nicht (Effenberger 2008; Fernie und Park 1977). Der Nachweis von *Campylobacter* bei Mäusen gelang nur bei wildlebenden Tieren (Meerburg et al. 2006).

Auch Untersuchungen von Meerschweinchen zeigen meist keinen Nachweis von *Campylobacter* (Effenberger 2008; Lee et al. 2004). Tenkate et al. (2001) konnten die Haltung eines Meerschweinchens darüber hinaus nicht als Risikofaktor einer Campylobacteriose für Kinder identifizieren. Eine Studie zeigt jedoch eine Nachweisrate von 7,7 % bei Meerschweinchen (Meanger und Marshall 1989). Bei dieser Erhebung wurden Rektaltupfer und Material von Nekropsien inklusive Gallenblase von Meerschweinchen mit natürlicher Kolonisation untersucht. Allerdings handelte es sich dabei um Labortiere.

Auch wenn im Rahmen der vorliegenden Arbeit lediglich zwei Meerschweinchen beprobt wurden, so konnte doch bei einem der beiden Tier *Campylobacter* festgestellt werden. Dies macht deutlich, dass es sich auch bei einem gesunden als Haustier gehaltenen Meerschweinchen ohne Auslauf um eine mögliche Infektionsquelle einer Campylobacteriose für den Menschen handeln kann. Eine Anthropozoonose wäre in diesem Fall ebenso denkbar.

Zahlreiche Studien beschreiben den Nachweis von *Campylobacter* bei Reptilien (Wang et al. 2013; Dingle et al. 2010; Tu et al. 2004). Die Prävalenz bei als Haustier gehaltenen Reptilien beträgt zumeist unter 10 % (Wang et al. 2013). Bei keinem der untersuchten beiden Landschildkröten, der Bartagame und dem Chamäleon konnte *Campylobacter* nachgewiesen werden.

Untersuchungen zu *Campylobacter* bei Igeln fallen noch spärlicher aus (Petersen et al. 2001). Aus dem im Rahmen der vorliegenden Arbeit untersuchten Igelkot konnte *Campylobacter* nicht isoliert werden.

Das Vorkommen kultivierungsfähiger *Campylobacter* spp. in der Umwelt ist i.d.R. durch eine frische fäkale Kontamination bedingt, da der Erreger außerhalb eines Wirtes nicht in der Lage ist, sich zu vermehren und empfindlich gegenüber Austrocknung, UV-Licht und hohen Temperaturen ist (Park 2002; Jones 2001). Die Tenazität ist ausgeprägter, wenn die Umgebung dunkel, feucht und kalt ist (Hazeleger et al. 1998; Lee et al. 1998).

Der Eintrag von *Campylobacter* in die Umwelt erfolgt meist durch Wildvögel, andere Wildtiere, Hunde und Katzen sowie landwirtschaftliche Betriebe (Lévesque et al. 2011).

Die Relevanz von in der Umwelt vorkommenden *Campylobacter* spp. bei der Campylobacteriose ist umstritten. Mullner et al. (2009) sind der Auffassung, dass ihre Resultate der Genotypisierung von Umwelt-Isolaten und die gegenläufige Saisonalität der Campylobacteriose des Menschen und dem Vorkommen von *Campylobacter* in der Umwelt gegen eine bedeutsame Rolle sprechen. Andere Autoren hingegen betrachten die Umwelt als Vehikel in der Infektionskette der Campylobacteriose (Mughini Gras et al. 2012). So war Bodenmaterial verschiedener Lokali-

täten wie Badestrände, Parkanlagen und Spielplätze mit *Campylobacter* spp. belastet (French et al. 2009; Sheppard et al. 2009; Bolton et al. 1999). Auch in dieser Arbeit wurde *Campylobacter* in Bodenproben aus Parkanlagen, Spielplätzen, einem Feldweg und dem Ufergelände eines Sees nachgewiesen.

Weiterhin ist Wasser als Quelle für Campylobacteriose-Ausbrüche bekannt (Richardson et al. 2007; Smith et al. 2006). So wurde das Schwimmen in Gewässern in einer Fall-Kontroll-Studie als Risikofaktor zur Campylobacteriose identifiziert (Schönberg-Norio et al. 2004).

Nicht unerwartet wurde in der hier vorliegenden Erhebung bei Wasserproben eine geringe Nachweisrate (5,5 %) festgestellt. Ähnlich niedrige Werte von Oberflächengewässern wurden mit 4,3 % in der Literatur beschrieben (Moore et al. 2001). Die Detektion von *Campylobacter* spp. in Wasserproben gestaltet sich aufgrund der geringen Anzahl der Erreger schwierig (Abulreesh et al. 2005). Des Weiteren wurden tages- und jahreszeitliche Unterschiede beschrieben. So sind die Nachweisraten am Morgen bzw. im Sommer, bedingt durch die Dauer der UV-Strahlung und höhere Temperaturen, geringer als nachmittags bzw. im Winter (Jones 2001; Obiri-Danso et al. 2001). Ebenfalls wurde der Einfluss des Sauerstoffgehaltes der untersuchten Wasserproben diskutiert (Whiley et al. 2013).

Höhere Nachweisraten in der Literatur könnten durch Einträge aus Kläranlagen, landwirtschaftlichen Betrieben und Wildvögeln oder ein größeres Probenvolumen bedingt sein (Lévesque et al. 2011; Kemp et al. 2005; Hänninen et al. 2003).

Auch wenn die Nachweisrate in dieser Arbeit gering ausfiel, besteht ein Infektionsrisiko für die Bevölkerung, wenn *Campylobacter* in Gewässern vorkommt (Savill et al. 2001). Dieses ist abhängig von der Art der Nutzung und vom *Campylobacter*-Gehalt. Der Nachweis gelang bei einem Teich, zwei Flußwasserproben und drei Seen, die auch als Badegewässer genutzt werden. Die Gefahr einer Infektion wird deutlich, wenn man berücksichtigt, dass Schwimmer innerhalb einer Stunde bis zu 37 ml Wasser verschlucken (Dufour et al. 2006).

Somit stellen auch Bodenmaterial und Gewässer eine potentielle Infektionsquelle des Menschen für *Campylobacter* dar. Dies könnte aufgrund des frequenten Hand-Mund-Kontakts und einer schlechteren Hygiene in erster Linie für Kinder von Bedeutung sein. Eine Studie konnte zeigen, dass Kinder, die an Orten mit Vogelkot spielten, ein 2,8mal höheres Risiko aufwiesen an Campylobacteriose zu erkranken als solche, die das nicht taten (Kapperud et al. 2003).

Die in dieser Arbeit erhobenen Nachweisraten unterstreichen, dass nicht nur Lebensmittelliefernde Tiere wie Hühner und Schweine bei der Infektionskette der Campylobacteriose bedeutsam sein können. Zu berücksichtigen ist allerdings, dass Matrizen mit einer niedrigen Stichprobenzahl keine Aussage zur Bedeutung als Infektionsquelle für den Menschen erlauben. Lediglich die Ergebnisse der Hunde-, Katzen-, Boden- und Wasserproben können allgemeingültig aufgefasst werden.

5.3 Speziesverteilung in unterschiedlichen Matrizen

Bei der Interpretation des Vorkommens der verschiedenenen *Campylobacter*-Spezies ist zu berücksichtigen, dass die Art der Voranreicherung und die Auswahl der Isolationsbedingungen Einfluss auf die nachgewiesene Spezies nehmen können (Williams et al. 2012; Bae et al. 2005). Nach den Ergebnissen der Speziesdifferenzierung dominiert in der vorliegenden Erhebung *C. jejuni* mit 60 % gegenüber *C. coli* mit 23 % und *C. upsaliensis* mit 14,6 %. *C. lari* und *C. fetus* machten nur 1,8 % bzw. 0,6 % der Isolate aus.

Etwa 90 % der humanen Campylobacteriose-Fälle sind auf *C. jejuni* und 10 % auf *C. coli* zurückzuführen. *C. lari* und *C. upsaliensis* machen gemeinsam weniger als 1 % aus (Sopwith et al. 2009; Gürtler et al. 2005; Friedman et al. 2004). Allerdings bleibt aufgrund der anspruchsvolleren Wachstumsbedingungen die Bedeutung der anderen bisher selten detektierten Spezies fraglich (Moore et al. 2005; Lastovica und Le Roux 2000; Bourke et al. 1998). So machte *C. fetus* in einer Studie 5 % der humanen *Campylobacter*-Isolate aus (Gallay et al. 2007).

Die Hälfte der Katzen-Isolate machte *C. jejuni* aus. Die restlichen Isolate verteilten sich mit 35 % auf *C. upsaliensis* und 15 % auf *C. coli*. Auch anderen Autoren berichten von *C. jejuni* als häufigste oder einzige Spezies bei Katzen (Andrzejewska et al. 2013; Gargiulo et al. 2008; Spain et al. 2001). In all diesen Studien wurde ein selektives Nährmedium mit oder ohne Voranreicherung zur Isolation genutzt. In anderen Erhebungen hingegen macht *C. upsaliensis* die häufigste Spezies aus (Acke et al. 2009b; Bender et al. 2005; Wieland et al. 2005). In diesen Studien wurde eine Kombination aus einem selektiven Nährmedium mit oder ohne Voranreicherung und einer parallelen Filtermethode angewandt. Dies ist vermutlich darauf zurückzuführen, dass einige *C. upsaliensis*-Stämme empfindlich auf in selektiven Nährmedien enthaltene Antibiotika reagieren (Lawson et al. 1999; Lawson et al. 1997; Corry et al. 1995; Goossens et al. 1990).

Gurgan und Diker (1994) berichten von einer Infektion mit *C. upsaliensis* bei einer Katze, welche vermutlich zu einem Abort bei der Tierhalterin führte. Auch *C. helveticus* und *C. lari* konnten in anderen Erhebungen bei Katzen isoliert werden (Acke et al. 2009b; Workman et al. 2005; Shen et al. 2001).

C. jejuni, C. upsaliensis und C. coli wurden in dieser Arbeit mit Infektionsraten von 5,7 %, 4,0 % und 1,7 % bei den untersuchten Katzen nachgewiesen. Bedenkt man, dass in Deutschland ca. 11,5 Mio. Katzen gehalten werden, könnten Katzen eine Rolle bei Infektionen von Menschen v.a. mit C. jejuni und C. upsaliensis spielen.

In dieser Arbeit waren *C. jejuni* und *C.upsaliensis* mit 44,4 % und 40,7 % die am häufigsten isolierten Spezies bei Hunden, wobei sie einen fast gleich großen Anteil ausmachten. Darüber machten *C. coli* und *C. lari* 11,1 % und 3,7 % aus. Die berichtete Speziesverteilung caniner *Campylobacter*-Isolate in der Literatur variiert stark (Fernández und Oval 2012). Allerdings entsprechen die Resultate dieser Arbeit dem Trend in der Literatur (Tab. 3 des Anhangs).

Zwei der untersuchten Hunde wiesen eine Koinfektion auf. Auch andere Studien beschrieben Koinfektionen von *Campylobacter* bei Hunden (Chaban et al. 2010; Koene et al. 2004).

Die Probe mit parallelem Nachweis von *C. jejuni* und *C. lari* stammte von einem Hund, der 15 Jahre alt war und an Durchfall litt. Zu diesem Fall ist anzumerken, dass bereits in einer anderen Studie gezeigt werden konnte, dass an Durchfall erkrankte Hunde eine größere Speziesvielfalt an *Campylobacter* spp. im Kot aufweisen (Chaban et al. 2010). Zusätzlich handelte es sich um einen sehr alten Hund, der möglicherweise ein geschwächtes Immunsystem aufwies und deshalb empfänglicher gegenüber einer Koinfektion war. Es konnte bereits gezeigt werden, dass alte Hunde häufiger eine *Campylobacter*-Infektion aufweisen (Procter et al. 2013).

Der Hund mit der Mehrfachinfektion mit *C. jejuni* und *C. upsaliensis* erhielt innerhalb 14 Tagen vor Probenahme Antibiose aufgrund einer Ovariohysterektomie (Amoxicillin).

Bei diesem Fall ist zu vermuten, dass es aufgrund der Antibiosegabe zu einer Verschiebung der Darmflora zugunsten von *Campylobacter* kam, da beinahe alle *Campylobacter* spp. resistent gegen Beta-Lactam-Antibiotika sind (Wieczorek und Osek 2013; Payot et al. 2006).

Koene et al. (2004) beschrieben, dass Koinfektionen bei Hunden nur detektiert wurden, wenn die Probenbearbeitung innerhalb von vier Stunden erfolgte. Dies trifft nicht auf die beiden detektierten Koinfektionen bei Hunden dieser Arbeit zu.

Andere bei Hunden beschriebene Spezies wie *C. concisus*, *C. gracilis* und *C. mucosalis* wurden in anderen Studien ausschließlich bei an Durchfall leidenden Hunden nachgewiesen (Chaban et al. 2010). In dieser Arbeit konnten diese Spezies nicht isoliert werden. Ein möglicher Grund ist, dass nur ein geringer Anteil der in dieser Arbeit untersuchten Hunde an Durchfall litt. Ein anderer Grund könnte sein, dass in anderen Erhebungen eine direkte PCR zum Einsatz kam, womit der Nachweis dieser Spezies wahrscheinlicher wird.

C. jejuni wurde mit einer Infektionsrate von 7,4 % bei den untersuchten Hunden festgestellt. Berücksichtigt man, dass in Deutschland schätzungsweise 6,9 Mio. Hunde gehalten werden und den üblicherweise engen körperlichen Kontakt zu den Besitzern, so unterstreicht dies die mögliche Bedeutung von Hunden in der Epidemiologie der Campylobacteriose. C. upsaliensis wurde bei 6,8 % der Hunde nachgewiesen. Die Rolle dieses Erregers bei der Campylobacteriose in Deutschland wird möglicherweise aufgrund diagnostischer Methoden unterschätzt (Moore et al. 2005; Lastovica und Le Roux 2000; Bourke et al. 1998). C. coli und C. lari scheinen bei

Campylobacter-Infektionen von Hunden mit Infektionsraten von 1,8 % und 0,6 % eine untergeordnete Rolle zu spielen.

Die Untersuchung von Bodenproben auf *Campylobacter* spp. ergab eine große Speziesvielfalt, die der bei Hunden ähnelte. *C. jejuni* machte mehr als die Hälfte der Isolate (52,9 %), *C. upsaliensis* 29,4 %, *C. lari* 11,8 % und *C. coli* 5,9 % aus. Eine Probe enthielt sowohl *C. coli* als auch *C. upsaliensis*. In anderen Erhebungen wurde meist *C. jejuni* aus Bodenmaterial isoliert, wobei auch *C. coli* und *C. lari* beschrieben wurden (Stuart et al. 2010; French et al. 2009; Brown et al. 2004). Das Vorkommen von *Campylobacter* spp. in Bodenmaterial ist aufgrund der nur geringen Tenazität des Erregers auf einen frischen fäkalen Eintrag zurückzuführen (Jones 2001).

Angesichts der in dieser Arbeit nachgewiesenen verhältnismäßig großen Speziesvielfalt kommt dafür eine Vielzahl an Quellen in Frage. Grundsätzlich muss von einem potentiellen Infektionsrisiko für den Menschen mit diesen *Campylobacter*-Spezies ausgegangen werden.

66,7 % der Wasser-Isolate dieser Arbeit waren *C. jejuni*. Die restlichen setzten sich zu gleichen Teilen aus *C. coli* und *C. upsaliensis* zusammen.

Untersuchungen verschiedener Oberflächengewässer in der Literatur konnten meist *C. jejuni*, *C. coli* und *C. lari* nachweisen (Lévesque et al. 2011; Devane et al. 2005; Kemp et al. 2005; Hörman et al. 2004).

Ob *Campylobacter* spp. in Oberflächengewässern vorkommt und welche Spezies, ist abhängig von der Eintragsquelle. Darüber hinaus ist das Überleben von *Campylobacter* spp. im Wasser auch speziesabhängig (Obiri-Danso et al. 2001).

Bei den untersuchten Hühnern wurden *C. jejuni* und *C. coli* nachgewiesen. *C. jejuni* dominierte (78,1 % der Isolate) gegenüber *C. coli* (22 % der Isolate). Dies entspricht anderen Erhebungen der Literatur (Sulonen et al. 2007; Langen 2008). Bei Rindern wurde zumeist *C. jejuni* als dominierende Spezies beschrieben (Hannon et al. 2009; Bae et al. 2005; Besser et al. 2005). Bei dem in dieser Studie detektierten *Campylobacter*-Isolat handelt es sich um *C. fetus*. Allerdings wurden die Isolierungsbedingungen in den zuvor benannten Studien überwiegend zugunsten von *C. jejuni* gewählt oder es erfolgte keine weitere Speziesdifferenzierung (Hannon et al. 2009; Hakkinen et al. 2007; Bae et al. 2005; Besser et al. 2005).

Auch die Spezies *C. fetus*, *C. lari*, *C. hyointestinalis* und *C. lanienae* wurden bei Rindern beschrieben (Duncan et al. 2014; Inglis et al. 2006). In einer Studie wurde *C. fetus* als häufigste Spezies bei Rindern beschrieben (Inglis et al. 2006). Unterschiede bezüglich der Prävalenz von *C. fetus* bei Rindern könnten durch geographische Unterschiede bedingt sein (Duncan et al. 2014). Des Weiteren wurde beschrieben, dass die Ausscheidung von *C. jejuni* und *C. coli* mit der Mastdauer zunehmen, *C. fetus* hingegen konstant ausgeschieden wird (Inglis et al. 2006).

Auch wenn *C. jejuni* in seiner Bedeutsamkeit in der Humanmedizin überwiegt, machte *C. fetus* bei humanen Untersuchungen bis zu 5% der *Campylobacter*-Isolate aus und verursacht häufiger

systemische Infektionen als Enteritiden im Vergleich zu *C. jejuni* (Nichols et al. 2012; Gallay et al. 2007). Dies unterstreicht die Wichtigkeit, auch diese Spezies in potentiellen Quellen nachweisen zu können.

Aus den untersuchten Schweinekotproben konnte ausschließlich *C. coli* isoliert werden. Auch andere Autoren beschreiben *C. coli* als dominierende Spezies und als Teil der physiologischen Darmflora bei Schweinen (Oporto et al. 2007; Varela et al. 2007a; Kasimir 2005). In anderen Veröffentlichungen konnten auch *C. jejuni* mit bis zu 76,3 % der Isolate und *C. lari* mit 2,6 % der Isolate isoliert werden (Kosinc 2011; Young et al. 2000). Diese Spezies wurden in der vorliegenden Arbeit nicht festgestellt, was möglicherweise durch die verhältnismäßig geringe Stichprobenzahl der Schweine (n = 50) und der Tatsache, dass nur ein Betrieb untersucht wurde, bedingt ist.

Die einzige in dieser Arbeit nachgewiesene Spezies bei Tauben war *C. jejuni*. Dies ist bei der Mehrheit der veröffentlichten Studien der Fall (Lillehaug et al. 2005; Jeffrey et al. 2001; Mégraud 1987). In einer Studie der Literatur ist allerdings die Isolierung von *C. coli* bei Tauben beschrieben (Vázquez et al. 2010). Bei den untersuchten Tauben handelte es sich um Stadttauben, die vermutlich einer größeren Anzahl an möglichen Infektionsquellen ausgesetzt sind, als die in dieser Arbeit untersuchten Zuchttauben. Zum anderen lag die beschriebene Prävalenz von *C. coli* bei Tauben bei nur etwa 1%, was eine Detektion bei einer Stichprobenzahl von 50 unwahrscheinlich macht.

Die im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Wachteln schieden *C. jejuni* und *C. coli* aus, wobei *C. jejuni* den überwiegenden Teil der Isolate ausmachte (84,6 %). Vergleichbare Resultate mit 81 % *C. jejuni* und 19 % *C. coli* zeigten auch andere Studien (Ngulukun et al. 2010; Rahimi und Tajbakhsh 2008). Eine Wachtel wies eine Koinfektion mit *C. jejuni* und *C. coli* auf, wozu sich bislang keine Angaben in der Literatur finden lassen.

5.4 Vergleich der *Campylobacter*-Isolierungsraten in Abhängigkeit von der kulturellen Isolierungsmethode

In der vorliegenden Studie sollte überprüft werden, ob mit dem modifizierten CT-Verfahren unterschiedliche Isolierungsraten für *Campylobacter* spp. in natürlich kontaminierten Matrizen gegenüber dem modifizierten ISO-Verfahren erzielt werden.

Im Rahmen dieser Arbeit konnten bei paralleler Anwendung des modifizierten ISO- und CT-Verfahrens 165 *Campylobacter* spp. in 157 von 964 Proben isoliert werden. 94 *Campylobacter*-positive Proben konnten ausschließlich unter Verwendung des modifizierten ISO-Verfahrens detektiert werden. Ausschließlich mit dem modifizierten CT-Verfahren konnten 43 *Campylobacter*-positive Proben ermittelt werden. Die Kongruenz beider Verfahren betrug lediglich 19

positive Proben (11,5 %). Durch die Kombination des modifizierten ISO-Verfahrens mit dem modifizierten CT-Verfahren erhöhte sich die Isolierungsrate um 37,7 %.

Die Filtermethode erwies sich als weniger sensitiv. Dies zeigten auch andere Veröffentlichungen (Acke et al. 2009a; Kulkarni et al. 2002; Engberg et al. 2000).

Ein möglicher Grund dafür ist eine Kontamination des nicht-selektiven Nährbodens mit kompetitiver Flora (Acke et al. 2009a; Kulkarni et al. 2002). Des Weiteren gelingt mittels Filtermethode kein Nachweis von *Campylobacter* bei weniger als 10⁵ KBE/g Kot (Lawson et al. 1997). Die Nachweisgrenze von *Campylobacter* spp. liegt bei der Verwendung von mCCDA hingegen etwa bei 10-100 KBE/g Kot (Lawson et al. 1998). Zusätzlich erfolgte in der vorliegenden Arbeit beim mod. ISO-Verfahren eine Voranreicherung zur Erhöhung des Erregergehaltes.

Auch weniger motile oder unbewegliche Stämme können anhand einer Filtermethode nicht nachgewiesen werden (Lastovica und Le Roux 2000).

Die 46 *Campylobacter*-Isolate, welche nicht mittels modifizierten ISO-Verfahrens isoliert werden konnten, waren möglicherweise gegenüber den in mCCDA enthaltenen Antibiotika sensibel.

Diese Ergebnisse lassen die Kombination mehrerer kultureller Nachweisverfahren als ratsam erscheinen. Für zukünftige Studien wäre darüber hinaus eine international standardisierte Vorgehensweise wünschenswert, um eine Vergleichbarkeit von Ergebnissen verschiedener Studien zu gewährleisten.

5.4.1 Isolierungsraten der *Campylobacter*-Spezies in Abhängigkeit von der kulturellen Isolierungsmethode

Das modifizierte ISO-Verfahren erwies sich erwartungsgemäß als besser geeignet für den Nachweis von *C. jejuni* und *C. coli*. Allerdings konnten über 20 % der *C. jejuni*- und *C. coli*-Isolate ausschließlich mittels modifiziertem CT-Verfahren nachgewiesen werden.

Der Anteil der mittels beider Methoden festgestellten *Campylobacter* spp. war gering. Dies betraf nur *C. jejuni* und *C. coli*, wobei die Kongruenz beider Verfahren bei *C. coli*-Isolaten deutlich höher war (10,1 % vs. 23,7 %).

Über 60 % der *C. upsaliensis*-Isolate wurden mittels modifiziertem CT-Verfahren gewonnen. Für die Isolierung von *C. upsaliensis* war somit das modifizierte CT-Verfahren wie zu erwarten besser geeignet als das modifizierte ISO-Verfahren. Allerdings wurden 37,5 % der *C. upsaliensis*-Isolate ausschließlich mittels modifiziertem ISO-Verfahren festgestellt. Auch in anderen Studien erwies sich mCCDA für den Nachweis mancher *C. upsaliensis*-Stämme gegenüber einer Filtermethode als überlegen (Koene et al. 2004). Dies könnte auf Proben mit geringerem Erregergehalt und solche *C. upsaliensis*-Stämme zutreffen, die keine Resistenzen gegenüber den verwendeten Antibiotika aufweisen (Hald und Madsen 1997; Aspinall et al. 1996).

Bezüglich der beiden Spezies *C. lari* und *C. fetus* können nur eingeschränkt Aussagen getroffen werden, da die Anzahl der Isolate sehr gering ausfiel. Zwei der drei *C. lari*-Isolate wurden nur mittels modifiziertem ISO-Verfahren detektiert, das verbleibende nur mittels modifiziertem CT-Verfahren.

Überraschenderweise wurde das einzige *C. fetus*-Isolat mit Hilfe des modifizierten ISO-Verfahrens festgestellt. Somit ermöglichte das modifizierte ISO-Verfahren den Nachweis der meisten *Campylobacter*-Spezies.

Diese Ergebnisse sind insofern erstaunlich, als das ISO-Verfahren zugunsten der beiden beim Menschen häufigsten Spezies *C. jejuni* und *C. coli* ausgerichtet ist. Das Cape-Town-Protokoll hingegen wurde zur Isolation antimikrobiell sensitiver *Campylobacter*-Spezies wie *C. upsaliensis* entwickelt (Steele und McDermott 1984). Eine Empfindlichkeit gegenüber der im ISO-Verfahren angewandten antimikrobiellen Wirkstoffe konnte allerdings auch für *C. jejuni* ssp. *doylei*- und manche *C. coli*- und *C. lari*-Stämme gezeigt werden (Lawson et al. 1999; Lawson et al. 1997; Corry et al. 1995).

In fünf der positiven Proben wurden zwei verschiedene Spezies über ein Isolierungsverfahren und in zwei Proben wurde mit jeder Methode eine andere Spezies nachgewiesen.

In zwei Proben wurde dieselbe Spezies mittels beider Verfahren nachgewiesen und eine weitere Spezies über nur eine der beiden Verfahren.

Die Ergebnisse legen nahe, dass die Kombination dieser selektiven Methode mit einer Filtermethode unabhängig von der untersuchten Spezies zu deutlich höheren Isolierungsraten führen bzw. der Einsatz einer einzigen Methode zu einer Unterschätzung der Speziesvielfalt und auch von Mehrfachinfektionen führt. Dies bezieht sich nicht ausschließlich wie in anderen Studien hervorgehoben auf seltenere Spezies wie *C. upsaliensis*, *C. lari* und *C. fetus*, sondern auch auf *C. jejuni* und *C. coli*.

5.4.2 Isolierungsmethodenvergleich zum Nachweis von *Campylobacter* in Abhängigkeit von untersuchter Matrix und *Campylobacter*-Spezies

Das bei einem Rind gewonnene *C. fetus*-Isolat wurde nur mittels modifizierten ISO-Verfahren nachgewiesen. Durch die Anwendung des mod. ISO-Verfahrens konnte ein Großteil der *Campylobacter*-positiven Kotproben von Schweinen (81,2 %), Hunden (87 %), Hühnern (70,3 %) und Wachteln (96 %) festgestellt werden. Zur Untersuchung von Schweine-, Hühner-, Hunde- und Wachtel-Proben erscheint das modifizierte ISO-Verfahren ausreichend.

Bei den untersuchten Katzen, Bodenproben und Meerschweinchen wurde mit 45 %, 50 % und 100 % ein nicht unerheblicher Anteil der Isolate ausschließlich mittels modifizierten CT-Verfahrens festgestellt.

Die Ergebnisse bei Tauben- und Wasserproben ergaben keine Kongruenz der beiden Nachweisverfahren. Dies lässt die Kombination beider Verfahren bei diesen Matrizen als wichtig erscheinen.

Diese Ergebnisse zeigen, dass das angewendete Isolierungsverfahren bei der Interpretation der isolierten *Campylobacter*-Spezies der jeweils untersuchten Matrix berücksichtigt werden sollte. Da das Probematerial im modifizierten CT-Verfahren zunächst suspendiert werden muss, der Membranfilter bis zu 15 Minuten belassen werden muss und die Inkubationsdauer 5 Tage beträgt, ist dieses Verfahren mit höherem Material-, Zeit- und Arbeitsaufwand verbunden. Allerdings liessen sich die Nährbodenplatten schneller auswerten, da sich abgesehen von seltenen Kontaminationen entweder *Campylobacter* spp. oder gar kein Wachstum zeigte. Dies wurde auch in anderen Studien beschrieben (Steele und McDermott 1984).

Der Aufwand eines zweiten Verfahrens wie dem modifizierten CT-Verfahren lässt es ratsam erscheinen, abhängig von der zu untersuchenden Probenmatrix zu prüfen, ob dieser Mehraufwand gerechtfertigt ist.

5.5 Antibiotika-Resistenzbestimmung

Weltweit nehmen antimikrobielle Resistenzen in *Campylobacter*-Isolaten zu (Polák et al. 2014; Luangtongkum et al. 2009). Die Erfassung der Resistenzsituation in Tierbeständen und anderen möglichen Infektionsquellen ist wegen der möglichen Übertragbarkeit resistenter Stämme auf den Menschen von großer Bedeutung (Aarestrup et al. 2008). Mutationen spielen die Hauptrolle in der Entwicklung von antimikrobiellen Resistenzen bei *Campylobacter* spp. (Wieczorek und Osek 2013). Eine andere Möglichkeit ist eine Übertragung der Resistenz mittels horizontalem Gentransfer auf sensible Stämme (Marshall und Levy 2011; Griggs et al. 2005; Avrain et al. 2004). Die Gefahr für den Menschen besteht in einem Therapieversagen bzw. in einem verzögerten Therapiebeginn durch notwendige Resistenztests. Zudem können Infektionen mit resistenten *Campylobacter* spp. klinisch schwerwiegender und langwieriger sein (Helms et al. 2005; Travers und Barza 2002).

Eine Vergleichbarkeit der verschiedenen Erhebungen zur Resistenzlage von *Campylobacter* ist durch verschiedene Verfahren und unterschiedliche Grenzwerte nur bedingt möglich.

Nicht alle *C. jejuni*- und *C. coli*-Isolate standen für eine Antibiotika-Resistenzbestimmung zur Verfügung, da sie entweder nicht mehr anzüchtbar oder nicht in Reinkultur zu überführen waren. Dies sind häufig beschriebene Probleme beim Umgang mit diesem empfindlichen Erreger (Haan et al. 2013; Carbonero et al. 2012; Lévesque et al. 2011).

Schließlich wurden 77 *C. jejuni*- und 24 *C. coli*-Isolate phänotypisch mittels Bouillon-Mikrodilution auf ihre Empfindlichkeit gegenüber Chloramphenicol, Ciprofloxacin, Erythromycin, Gentamicin, Nalidixinsäure, Streptomycin und Tetrazyklin hin untersucht.

Die Ergebnisse der Empfindlichkeitstestung sind aufgrund der begrenzten Isolatanzahl nur als exemplarisch zu betrachten. Sie erlauben dennoch einen Einblick in die Resistenzlage von *Campylobacter* spp. in den verschiedenen Matrizen.

Mit 72,3 % war ein großer Anteil der untersuchten Isolate gegenüber mindestens einem antimikrobiellen Wirkstoff resistent.

5.5.1 Resistenzverhalten der *Campylobacter*-Isolate gegenüber den untersuchten antimikrobiellen Wirkstoffen

Trotz der weitgefassten Anzahl an untersuchten Matrizen zeigten sich bei den hier untersuchten Isolaten keine Resistenzen gegenüber Chloramphenicol und Gentamicin. Dies zeigte sich auch in anderen Erhebungen in der Literatur (Jong et al. 2009; Gallay et al. 2007; Guévremont et al. 2006).

Die häufigsten Resistenzen traten gegen die Chinolone Ciprofloxacin (61,4 %) und Nalidixinsäure (47,5 %) auf. Auffallend war bei acht Isolaten das Vorhandensein einer Ciprofloxacinresistenz ohne kombinierte Nalidixinsäureresistenz, was eher selten vorkommt (Oporto et al. 2009). Nur drei dieser Isolate waren verwandt, wobei es sich um Hühner aus einem Bestand handelte. Die Kreuzresistenz gegenüber Nalidixinsäure und Ciprofloxacin ist darauf zurückzuführen, dass der Hauptresistenzmechanismus gegen beide Wirkstoffe bei *Campylobacter* spp. eine Punktmutation an Position Thr-86-Ile des Gens *gyrA* darstellt (Iovine 2013). Allerdings sind auch andere Mutationen der *gyr A*-Region wie an den Positionen Asp-90-Asn und Ala-70-Thr beschrieben (Ge et al. 2005; Wang et al. 1993). So wurde das unabhängige Auftreten auch schon anderweitig in der Literatur beschrieben (Varela et al. 2007b; Beckmann et al. 2004; Sáenz et al. 2000).

Ciprofloxacin ist das Mittel der zweiten Wahl zur Behandlung der Campylobacteriose (Žemličková et al. 2014). Darüber hinaus werden Fluorchinolone häufig empirisch bei bakteriellen Gastroenteritiden eingesetzt, da es gegen die meisten dieser Erreger wirksam ist (Iovine 2013). Seit der Zulassung der Wirkstoffgruppe in der Veterinärmedizin wird jedoch weltweit von zunehmenden Resistenzen gegenüber Fluorchinolonen bei *Campylobacter* spp. berichtet (Wieczorek und Osek 2013; Luangtongkum et al. 2009).

Gründe für die Zunahme dieser Resistenz könnten sein, dass die Induktion einer Resistenz gegen Fluorchinolone bereits während der Behandlung innerhalb von 24 Stunden auftreten kann (Farnell et al. 2005; McDermott et al. 2002; Adler-Mosca et al. 1991). Des Weiteren sind Fluorchinolonresistenzen auch bei Abwesenheit des antibiotischen Selektionsdruckes stabil (Price et al. 2007; Luo et al. 2005). So können Fluorchinolon-Resistenzen noch über Jahre nach Einsatz des Antibiotikums bestehen (Price et al. 2007; Griggs et al. 2005).

Hohe Resistenzen zeigten sich in dieser Arbeit bei Wachteln (76,7 %) und Hühnern (70,6 %). Zur Resistenzsituation von *Campylobacter* aus Wachteln finden sich keine Angaben in der Literatur. Bei Hühnern hingegen wurden Resistenzen gegenüber Ciprofloxacin häufig beschrieben (Oporto et al. 2009; Gallay et al. 2007; Pezzotti et al. 2003). Bei den untersuchten Schweinen und Tauben betrug die Resistenz gegenüber Ciprofloxacin 50 % und 44,4 %. Bei Schweinen wurde eine solche Resistenz vielfach in der Literatur angegeben (EFSA 2013; Gallay et al. 2007). Etwa ein Drittel der Hunde- und Katzen-Isolate erwies sich ebenfalls als resistent gegenüber Ciprofloxacin. Dies entspricht auch einer anderen Erhebung (Acke et al. 2009c). Lediglich ein Umweltisolat zeigte sich resistent gegenüber Ciprofloxacin (20 %).

Zu Wachtel-, Tauben- und Umwelt-Isolaten finden sich kaum Erhebungen zur Resistenzlage in der Literatur. Vor allem Wachteln und auch Tauben sollten als mögliche Übertragungsquelle Ciprofloxacin-resistenter *Campylobacter* spp. berücksichtigt werden.

Gegenüber dem Chinolon Nalidixinsäure zeigte sich fast die Hälfte aller Isolate (47,5 %) resistent. Alle Nalidixinsäure-resistenten Isolate wiesen auch eine Resistenz gegenüber Ciprofloxacin auf.

Bei humanen *Campylobacter*-Isolaten zeigt sich ein zunehmender Trend bezüglich der Nalidixinsäure-Resistenz, was eine Untersuchung möglicher Ursachen erforderlich macht (Gallay et al. 2007). Die Resultate dieser Arbeit legen nahe, dass eine Vielzahl an Quellen neben lebensmittelliefernden Tieren dafür in Frage kommt.

Resistenzen gegenüber Tetrazyklin sind meist durch ribosomale Schutzproteine wie TetO oder Effluxpumpen vermittelt und nicht durch Punktmutationen (Iovine 2013). Gegenüber Tetrazyklin erwies sich beinahe die Hälfte der Isolate als resistent (42,6 %). Dies ist von Bedeutung, da Tetrazyklin als alternatives Antibiotikum zur Behandlung der Campylobacteriose neben Erythromycin und Ciprofloxacin empfohlen wird und eine Zunahme von Resistenzen bei Menschen zu beobachten ist (Wieczorek und Osek 2013; Gallay et al. 2007; Gibreel 2006). Hohe Resistenzen gegenüber Tetrazyklin bei Schweinen wurden bereits in der Literatur beschrieben (Quintana-Hayashi und Thakur 2012; Guévremont et al. 2006). Aber auch bei Hühnern, Katzen, Hunden und Wachteln zeigten sich häufig Tetrazyklin-resistente Isolate. Lediglich Tauben- und Umwelt-Isolate erwiesen sich als sensibel.

Die in dieser Arbeit untersuchten *C. jejuni*- und *C. coli*-Isolate zeigten am häufigsten Resistenzen gegenüber den drei Wirkstoffen Nalidixinsäure, Ciprofloxacin und Tetrazyklin. Dies entspricht dem Resistenzprofil humaner *Campylobacter*-Isolate aus der EU (EFSA 2013).

Dies könnte auf eine hohe Mutationsfrequenz oder einen Selektionsdruck durch Anwendung des jeweiligen Antibiotikums zurückzuführen sein. Auch ein Gentransfer von Gram-positiven und anderen Gram-negativen Bakterien ist in Betracht zu ziehen (Aarestrup und Engberg 2001).

Gegenüber Streptomycin erwiesen sich nur wenige der *Campylobacter*-Isolate (9,9 %) als resistent. Dies entspricht den Beschreibungen bezüglich einer günstigen Resistenzlage von *Campylobacter* gegenüber Aminoglykosiden in der Literatur, da sie meist sensibel gegenüber dieser Wirkstoffklasse sind (Wieczorek und Osek 2013).

Dies traf nicht auf die untersuchten Schweine-Isolate zu, welche zu 100 % resistent gegenüber Streptomycin waren. Auch in der Literatur wurden Streptomycin-Resistenzen von *C. coli*-Isolaten aus Schweinen von 70,7 % beschrieben (Varela et al. 2007b). Zu berücksichtigen ist allerdings, dass in der vorliegenden Arbeit lediglich vier Isolate aus nur einem Bestand untersucht wurden.

Gegenüber Erythromycin zeigte sich lediglich das Isolat einer Katze resistent (0,1 %).

Für das deutlich seltenere Vorkommen von Makrolidresistenzen bei *Campylobacter* spp. im Vergleich zu Fluorchinolonresistenzen gibt es mehrere Gründe. Die Mutationsfrequenz für Makrolide bei *Campylobacter* spp. ist 10.000mal geringer als für Fluorchinolone und Makrolidresistenzen entstehen deutlich langsamer (Logue et al. 2010; Lin et al. 2007; Yan et al. 2006). Ein weiterer Gegensatz zwischen den beiden Antibiotikagruppen bei *Campylobacter* spp. zeigt sich darin, dass Makrolidresistenz einen Nachteil, wohingegen Fluorchinolonresistenz einen Vorteil auch in Abwesenheit des Antibiotikums bedeutet (Almofti et al. 2011; Han et al. 2009; Luo et al. 2005). So wird die Resistenz gegenüber Erythromycin meist durch eine Mutation des 23S rRNA-Gens vermittelt, was die Überlebenschancen des Stammes beeinträchtigt (Almofti et al. 2011; Han et al. 2009; Lin et al. 2007).

Schließlich sind Makrolid-Resistenzen nicht stabil, Fluorchinolonresistenzen hingegen sind auch bei Abwesenheit des antibiotischen Selektionsdruckes stabil (Caldwell et al. 2008; Price et al. 2007; Luo et al. 2005). Allerdings ist die Stabilität der Makrolid-Resistenz auch vom Ausmaß der Resistenz abhängig. So bestehen hochresistente Ausprägungen länger (Caldwell et al. 2008). In diesem Fall handelte es sich um ein hochresistentes Isolat. Die Katze erhielt keine Antiobiotika innerhalb 14 Tagen vor Probenahme. Auch andere Autoren berichten von Erythromycin–Resistenzen bei *Campylobacter*-Isolaten aus Katzen (Andrzejewska et al. 2013; Acke et al. 2009c). Bedeutsam ist diese Resistenzform, da Erythromycin das Mittel der Wahl bei Campylobacteriose des Menschen ist, wenn es sich um eine langwierige oder systemische Infektion handelt oder der Patient immunsupprimiert ist (EFSA 2013; Engberg et al. 2001). Des Weiteren können *Campylobacter* mit Resistenzen gegenüber Makroliden klinisch schwerwiegendere Infektionen bei Menschen verursachen, was auch unabhängig vom Auftreten eines Therapieversagens von Bedeutung ist (Helms et al. 2005).

Vor allem bei Schweinen wurde teilweise von hohen Resistenzraten mit 61 % bis 81,4 % gegenüber Makroliden berichtet (Guévremont et al. 2006; Varela et al. 2007b). Dies war in dieser Arbeit nicht der Fall. Dies könnte daran liegen, dass die untersuchten Schweine zuvor nicht mit

Tylosin oder einem anderen Wirkstoff der Stoffklasse behandelt wurden, wie es bei vielen anderen Studien der Fall war (Aarestrup und Engberg 2001).

Die Resistenzraten gegenüber den einzelnen antimikrobiellen Wirkstoffen unterschieden sich jeweils signifikant in Abhängigkeit der Matrix. Dies ist vermutlich darauf zurückzuführen, dass sich der Einsatz dieser antimikrobiellen Substanzen in den jeweiligen Quellen unterschied und innerhalb der Quellen kein Austausch dieser resistenten Stämme erfolgte.

Die Ergebnisse dieser Arbeit legen außerdem nahe, dass die Resistenzlage von *Campylobacter* spp. gegenüber Erythromycin günstig ist und dass Erythromycin zu Recht Mittel der Wahl bei der Therapie der Campylobacteriose ist, da es sich bei einer Vielzahl möglicher Infektionsquellen als wirksam erwies (Modolo et al. 2003).

5.5.2 Resistenzverhalten von C. jejuni und C. coli

Bezüglich der beiden untersuchten *Campylobacter*-Spezies ergab sich ein vergleichbar großer Anteil resistenter Isolate. 71,4 % bzw. 75 % der 77 bzw. 24 untersuchten *C. jejuni-* und *C. coli-* Isolate zeigten sich resistent gegenüber mindestens einem Antibiotikum.

Auch bezüglich der einzelnen antimikrobiellen Wirkstoffe zeigte sich bei den beiden Spezies nur bezüglich Tetrazyklin ein signifikanter Unterschied. Die *C. coli*-Isolate waren signifikant resistenter gegenüber Tetrazyklin im Vergleich zu den *C. jejuni*-Isolaten. *C. coli* war zwar häufiger gegenüber Streptomycin resistent als *C. jejuni*, dieser Unterschied war aber nicht statistisch signifikant. Es lagen allerdings nur wenige Streptomycin-resistente Isolate vor. Bei einer Erhöhung der Isolatanzahl könnte der Unterschied signifikant werden.

In der Literatur wird beschrieben, dass *C. coli* häufiger Resistenzen aufweist als *C. jejuni* (Gallay et al. 2007; Guévremont et al. 2006; Pezzotti et al. 2003). Mögliche Gründe dafür sind, dass in der Literatur überwiegend *C. jejuni* und *C. coli*-Isolate von Menschen, Hühnern und Schweinen verglichen wurden (Gallay et al. 2007; Guévremont et al. 2006; Pezzotti et al. 2003). Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden hingegen *Campylobacter*-Isolate beider Spezies von einer Vielzahl an Quellen untersucht. Es ist möglich, dass sich der Einsatz von antimikrobiellen Substanzen bei den verschiedenen untersuchten Quellen – wie beispielweise Nutz- und Heimtieren - unterscheidet, wodurch sich eine abweichende Isolation resistenter Stämme ergibt.

5.5.3 Resistenzverhalten in Abhängigkeit von den untersuchten Matrizen

Die Resistenzraten bei Schweine- (100 %), Wachtel- (86,7 %) und Hühner-Isolaten (79,4 %) befanden sich auf einem hohen Niveau. Darüber hinaus zeigte sich bei über der Hälfte der Katzen- (60 %) und Hunde-Isolate (55,6 %) mindestens eine antimikrobielle Resistenz. Dies trifft auch auch 44,4 % der untersuchten Tauben-Isolate zu. Von den fünf untersuchten Umwelt-

Isolaten waren alle bis auf die Ausnahme einer Bodenprobe eines Feldweges vollständig sensibel.

Vergleichbar hohe Resistenzraten bei Schweinen und Hühnern finden sich auch in anderen Veröffentlichungen (EFSA 2013; Varela et al. 2007b; Guévremont et al. 2006; Thakur und Gebreyes 2005). Auch die in dieser Arbeit ermittelte Resistenzhäufigkeit bei Katzen- und Hunde-Isolaten ähnelt derer in anderen Veröffentlichungen (Andrzejewska et al. 2013; Carbonero et al. 2012; Acke et al. 2009c; Rossi et al. 2008).

Zur Resistenzsituation von *Campylobacter* spp. bei Wachteln, Tauben und Umwelt-Isolaten finden sich kaum Angaben in der Literatur.

Die Resultate der vorliegenden Arbeit demonstrieren, dass eine Infektion mit resistenten *Campylobacter* auch über die Umwelt möglich ist. Somit sollten all diese Matrizen, und nicht nur lebensmittelliefernde Tiere, als potenzielle Quelle resistenter *Campylobacter* spp. betrachtet werden.

Die unterschiedlichen Resistenzraten der untersuchten Quellen könnten zum einen den Einsatz der entsprechenden antimikrobiellen Wirkstoffe bei der jeweiligen Tierart widerspiegeln, da die Anwendung von Antibiotika mit den Resistenzen korreliert (Stone et al. 2013). Andererseits könnten sie von einer exogenen Quelle stammen, entweder durch die Übertragung resistenter Stämme oder aber durch horizontalen Gentransfer. Zu berücksichtigen ist, dass nicht nur der Darmtrakt von Tieren, sondern auch die Umwelt als Ort für Genaustausch und Vehikel bei der Übertragung resistenter Stämme dienen kann (Marshall und Levy 2011).

5.5.4 Mehrfachresistenzen

Ein großer Anteil der untersuchten Isolate (72,3 %) war gegenüber mindestens einem antimikrobiellen Wirkstoff resistent. 13,9 % der Isolate wiesen eine Resistenz gegen einen einzigen antimikrobiellen Wirkstoff auf. Alle Tauben-, Umwelt- und Schweine-Isolate waren gegenüber mehreren antimikrobiellen Wirkstoffen resistent. 26,7 % der Isolate waren gegenüber zwei, 27,7 % gegenüber drei, 3,0 % gegenüber vier und 1,0 % der Isolate gegenüber fünf antimikrobiellen Wirkstoffen resistent.

Diese Resultate zeigen, dass unabhängig von der Quelle – mit Ausnahme der Umwelt-Isolate – Mehrfachresistenzen weit verbreitet sind. Resistenzen gegenüber vier und mehr Wirkstoffen waren selten.

31,7 % der Isolate erwiesen sich als resistent gegenüber mindestens drei Antibiotika und sind als multiresistent zu bezeichnen.

Das Vorliegen einer Multiresistenz unterscheidet sich bei den beiden Spezies *C. jejuni* und *C. coli* mit 40 % und 55,6 % nicht maßgeblich, was ebenfalls durch die geringe Anzahl an unter-

suchten C. coli-Isolaten und den großen Anteil von Hühner- und Wachtel-Isolaten bedingt sein könnte.

Besonders häufig zeigte sich eine Multiresistenz bei Hühnern und Schweinen. In der Literatur wurde dies für *Campylobacter*-Isolate von Hühnern mit bis zu 70,5 % und bei Schweinen mit bis zu 80 % gezeigt (EFSA 2013; Qin et al. 2011). Aber auch bei Wachtel-, Hunde-, Tauben- und Katzen-Proben konnten in der vorliegenden Arbeit multiresistente Isolate nachgewiesen werden.

Die Bedeutsamkeit multiresistenter *Campylobacter* aus den verschiedenen in dieser Arbeit untersuchten Matrizen bemisst sich an einem möglichen Therapieversagen und komplizierteren Krankheitsverläufen sollte es zu einer Übertragung auf den Menschen kommen (Helms et al. 2005; Travers und Barza 2002). Bereits jedes vierte humane *Campylobacter*-Isolat weist eine Multiresistenz auf (EFSA 2013).

5.5.5 Resistenzkombinationen

Am häufigsten zeigte sich die Dreifachresistenz gegenüber Ciprofloxacin, Nalidixinsäure und Tetrazyklin mit 34,2 % der resistenten Isolate, was sich sowohl für *C. jejuni* als auch für *C. coli* zeigte. Dies ist eine bereits in der Literatur beschriebene häufige Co-Resistenz von *Campylobacter* (Jong et al. 2009; Aarestrup und Engberg 2001).

Die Kreuzresistenz gegenüber den beiden Chinolonen Ciprofloxacin und Nalidixinsäure zeigte sich deutlich häufiger bei *C. jejuni*- (36,4 %) als bei *C. coli*-Isolaten (5,6 %).

Resistenzen gegenüber verschiedenen Antibiotikagruppen können das Resultat selbsttransmissibler Plamide oder von Efflux-Mechanismen sein (Padungton und Kaneene 2003; Lin et al. 2002). Diese können synergistisch oder unabhängig von einer Mutation wirken (Gibreel et al. 2007; Lin et al. 2007; Cagliero et al. 2006).

Die Resultate belegen, dass bei schwerwiegenden *Campylobacter*-Infektionen ein Resistenztest ratsam ist.

5.5.6 Vergleich des Resistenzverhaltens der mittels beider Isolierungsverfahren detektierten Spezies einer Probe

Bei zehn der untersuchten Proben lagen Isolate derselben Spezies aus beiden Isolierungsverfahren vor. Die Isolate aus fünf der zehn Proben aus Wachteln und einem Huhn zeigten jedoch unterschiedliche Resistenzmuster.

Diese Ergebnisse sind, wenn auch der Umfang nur begrenzte Aussagen ermöglicht, erstaunlich. Zum einen sind zwar unterschiedliche *Campylobacter*-Stämme innerhalb eines Wirtes möglich, in der Regel dominiert aber ein Klon aufgrund eines besseren Kolonisationspotenzials (Koene et al. 2009). Auch erfolgt meist eine schnelle Übertragung zwischen verschiedenen Stämmen,

wenn Resistenzgene bei *Campylobacter* spp. vorhanden sind (Alfredson und Korolik 2007). Zum anderen konnte beispielsweise für Fluorchinolon-resistente Stämme gezeigt werden, dass diese meist sensible Stämme verdrängten (Luo et al. 2005).

Es ist denkbar, dass das unterschiedliche Resistenzverhalten der Stämme auf Punktmutationen zurück zu führen ist. Der erfolgreiche Nachweis gewisser resistenter Stämme scheint von der Isolierungsmethode abhängig zu sein. Dies sollte im Rahmen einer anderen Studie in größerem Umfang untersucht und bei der Interpretation von Studienergebnissen in Abhängigkeit von dem angewandten Isolierungsverfahren berücksichtigt werden.

5.6 Charakterisierung ausgewählter *Campylobacter*-Isolate mittels MLST

Schätzungen zufolge bleibt bei der Hälfte der Campylobacteriose-Fälle die Infektionsquelle ungeklärt (Nylen et al. 2002). Dies unterstreicht die Wichtigkeit, Infektionsquellen von *Campylobacter* spp. zu identifizieren, um die komplexe Infektionskette für präventive Maßnahmen besser verstehen zu können. Hunde, Katzen und auch andere Heimtiere sind in den Genotypisierungsdatenbanken unterrepräsentiert (On 2013). Zu diesem Zweck wurden in dieser Arbeit *C. jejuni*- und *C. coli*-Isolate aus verschiedenen Quellen mittels MLST genotypisiert.

Die MLST bietet ein Höchstmaß an Reproduzierbarkeit und Vergleichbarkeit und wird als Goldstandard für die Typisierung der meisten *Campylobacter*-Spezies betrachtet (On 2013; Wagenaar et al. 2013; Colles und Maiden 2012).

Ein Großteil der hier ermittelten Sequenztypen wurde bereits für humane Isolate beschrieben. 13 der 39 identifizierten Sequenztypen sind bislang nicht für humane Isolate bekannt. Dies könnte bedeuten, dass die entsprechenden Sequenztypen der humanen Isolate in den Genotypisierungsdatenbanken noch nicht vorliegen, nicht alle Tierisolate pathogen für Menschen sind oder aber eine fehlende Exposition des Menschen gegenüber den Isolaten besteht.

Unter den identifizierten Sequenztypen befanden sich acht Sequenztypen, die erstmals im Rahmen dieser Studie beschrieben wurden. Diese wurden in die Onlinedatenbank pubMLST (www.pubmlst.org) aufgenommen und könnten für zukünftige phylogenetische Betrachtungen von Interesse sein.

Im MST zeigte sich deutlich der phylogenetische Unterschied zwischen den *C. jejuni*- und *C. coli*-Isolaten. Auf Ebene der Sequenztypen zeigte sich sowohl für *C. jejuni* als auch für *C. coli* eine hohe genetische Diversität. Dies wurde bereits in der Literatur beschrieben (Roux et al. 2013; Koene et al. 2009).

Für *C. jejuni* erwiesen sich die beiden klonalen Komplexe ST-21 CC und ST-45 CC als die häufigsten. Beide wurden häufig bei humanen Isolaten beschrieben und besitzen ein weites Wirtsspektrum (Sopwith et al. 2008; Gripp et al. 2011; Colles et al. 2003).

Insbesondere ST-45 CC hat ein weites Wirtsspektrum, welches u.a. Rinder, Schafe, Hühner, Puten, Kaninchen, Hunde, Dachse, Wildvögel und auch Rohmilch, Wasser und Bodenmaterial beinhaltet (Haan et al. 2013; Ragimbeau et al. 2008; French et al. 2005; Colles et al. 2003).

Humane Isolate, welche dem ST-45 CC zugeordnet wurden, waren signifikant mit Kontakt zu Katzen und Hunden assoziiert (Karenlampi et al. 2006). Auch andere Autoren vermuten bei humanen Infektionen mit *Campylobacter* des ST-45 CC eine Übertragung durch Haustiere (Parsons et al. 2010; Sopwith et al. 2008). In dieser Arbeit gehörte jeweils ein Tauben-, Hunde- und Wachtel-Isolat dem klonalen Komplex ST-45 CC an. Dem klonalen Komplex ST-21 CC gehörten sowohl Hühner- und Wachtel-, als auch Hunde- und Katzen-Isolate an.

5.6.1 Zusammenhang zwischen den Resultaten der MLST und den untersuchten Matrizen

Bei der Charaktersierung der *C. jejuni*-Isolate mittels MLST enthielten sechs der neun klonalen Komplexe und sieben der 23 Sequenztypen Isolate verschiedener Herkunft.

Die hier untersuchten Wachteln stammten aus zwei Beständen. Zwischen den *C. jejuni*-Isolaten der beiden Bestände zeigte sich keine Überschneidung bezüglich der klonalen Komplexe und Sequenztypen. Innerhalb eines Bestandes dominierte jeweils ein klonaler Komplex.

Drei der untersuchten Hunde stammten aus einem Tierheim, wovon zwei an Durchfall litten. Alle drei aus diesen Hundeproben isolierten Stämme wiesen den gleichen Sequenztyp auf. Auch bei zwei Hunden, die aus einem Haushalt stammten, mit rohem Fleisch gefüttert wurden und an Durchfall litten, wiesen die *Campylobacter*-Isolate denselben Sequenztyp auf.

In einer anderen Studie konnte eine genetische Heterogenität bei Isolaten aus dem gleichem Tier, aber unterschiedlichen Kultivierungsverfahren festgestellt werden (Acke et al. 2010).

Aus einer in der vorliegenden Arbeit untersuchten Hundeprobe wurden ebenfalls zwei Isolate jeweils mit unterschiedlichen Isolierungsverfahren gewonnen, welche hingegen denselben Sequenztyp aufwiesen. Dies ist vermutlich darauf zurückzuführen, dass zwar unterschiedliche Stämme innerhalb eines Wirtes möglich sind, i.d.R. aber ein Klon aufgrund eines besseren Kolonisationspotentials dominiert. Um die genetische Diversität von *Campylobacter*-Isolaten in einem Wirt einschätzen zu können, müssen mehrere Kolonien in molekularen epidemiologischen Studien untersucht werden. Meist dominiert jedoch ein Genotyp, so dass eine Co-Kolonisation auch bei der Untersuchung mehrerer Kolonien übersehen werden kann (Koene et al. 2009).

Die untersuchten *C.jejuni*-Isolate aus Katzen erwiesen sich als heterogen bezüglich ihres Genotyps mit Ausnahme zweier mittels jeweils einem Isolierungsverfahren gewonnener Isolate aus einer Katze. Auch hier konnte wie bei den Hunde-Isolaten keine genetische Heterogenität der

mittels unterschiedlicher Kultivierungsverfahren gewonnenen Isolate aus demgleichem Tier festgestellt werden

Bei den genotypisierten *C. jejuni*-Isolaten aus Tauben zeigten sich deutliche Unterschiede der beiden Bestände. In einem der beiden Bestände wurde für alle vier Isolate jeweils derselbe Sequenztyp nachgewiesen. In dem anderen Bestand wiesen vier der fünf Isolate denselben Sequenztyp auf.

Bezüglich der untersuchten *C. jejuni*-Isolate zeigte sich unabhängig von der untersuchten Matrix eine hohe genetische Diversität auf Ebene der Sequenztypen. Auch auf Ebene der klonalen Komplexe war meist kein Zusammenhang zwischen Sequenztyp und Herkunft der Isolate zu erkennen. Dies deutet auf eine Vielzahl an möglichen Quellen von *C. jejuni* hin. Allerdings traf dies nicht auf Wachteln, Tauben und Hunde aus demselben Bestand zu. Dies konnte nicht für die untersuchten Katzen fetsgestellt werden, allerdings wurden nicht mehrere Katzen aus Mehrkatzenhaushalten untersucht.

Bis auf vier Isolate, welche Singletons darstellten, wurden alle untersuchten *C. coli*-Isolate dem klonalen Komplex ST-828 CC zugeordnet. Die *C. coli*-Isolate zweier Hunde eines Bestandes wiesen denselben Sequenztyp auf. Dies traf auch auf Schweine verschiedener Bestände zu.

Im Gegensatz zu *C. jejuni* zeigte sich, dass jeweils nur Isolate derselben Matrix denselben Sequenztyp aufwiesen.

Andere Studien konnten bereits zeigen, dass *C. coli* eine geringere genetische Diversität als *C. jejuni* aufweist (Dingle et al. 2005; Miller et al. 2005; Duim et al. 1999). Dies zeigte sich in dieser Arbeit auch auf Ebene der klonalen Komplexe. Von den 5599 *C. coli* Isolaten aus der PubMLST-Datenbank wurden 71 % ST-828 CC, 2,2 % ST-1150 CC und < 1 % anderen klonalen Komplexen zugeordnet. Die Sequenztypen von 26 % der Isolate konnten keinem klonalen Komplex zugeordnet werden. In der hier vorliegenden Arbeit wiesen sechs Schweine-Isolate den ST-854 auf, der auch in der PubMLST-Datenbank 99 % der Isolate aus dem klonalen Komplex ST-828 CC ausmacht und in einer Vielzahl von Matrizen detektiert wurde. Der Sequenztyp ST-7005, den ebenfalls sechs Schweineisolate aufwiesen, ist in dieser Arbeit erstmals beschrieben. Die Schweine, aus denen Stämme dieses Sequenztyps isoliert wurden, stammen alle aus dem gleichen Betrieb. Auch zwei Isolate, die aus Hunden aus demselben Haushalt isoliert wurden, wiesen denselben Sequenztyp (ST-2302) auf, der in der PubMLST-Datenbank auch schon für humane *C. coli* Isolate beschrieben wurde.

Grundsätzlich ist zu unterscheiden, ob die Isolate eines klonalen Komplexes auch demselben Sequenztyp angehörten. Der Nachweis unterschiedlicher Sequenztypen lässt eine Übertragung innerhalb der verschiedenen Tierspezies unwahrscheinlich bzw. selten erscheinen und ergibt keinen Hinweis auf gemeinsame Quellen von *Campylobacter*. Oder aber eine Übertragung hat

stattgefunden und die Isolate veränderten sich im Wirt. So kann die Passage von einem Wirt zu einem anderen bereits den Genotyp eines Isolates verändern. Dies erschwert die Verfolgung eines Klones entlang der Infektionskette.

Sequenztypen hingegen, die nur bei einer Tierspezies isoliert wurden, besitzen entweder nicht die Fähigkeit andere Tierspezies zu kolonisieren oder aber besitzen eine geringe Tenazität, welche ein Überleben in der Umwelt nicht ermöglicht und sie somit andere Tierspezies nicht erreichen.

Im anderen Fall stellt sich die Frage, ob ein gemeinsamer Sequenztyp durch eine Übertragung zwischen den verschiedenen Tierspezies oder eine gemeinsame Quelle bedingt ist.

Dies lässt sich auch auf Tiere derselben Spezies und innerhalb eines Tierbestandes beziehen.

Ein innerhalb eines Bestandes dominierender Sequenztyp wurde bereits in vielen Studien für verschiedene Tierarten gezeigt. Dieses Phänomen konnte auch in der hier vorliegenden Studie beobachet werden. Innerhalb der *C. jejuni*-Gruppe zeigte sich, dass Hunde aus einem Tierheim bzw. aus einem gemeinsamen Haushalt sowie Tauben und Wachteln innerhalb eines Bestands jeweils denselben Sequenztyp aufwiesen. Auch innerhalb der *C. coli*-Gruppe zeigten jeweils mehrere Schweine-Isolate aus demselben Bestand sowie zwei Hunde aus demselben Haushalt jeweils denselben Sequenztyp. Die Übertragung oder das Vorliegen einer gemeinsamen Quelle scheint bei Tieren eines Bestandes häufig zu sein.

Andererseits wiesen auch jeweils zwei Hunde- und Katzenisolate aus unterschiedlichen Haushalten und mehrere Schweine- und Hühner-Isolate aus verschiedenen Beständen jeweils denselben Sequenztyp auf.

Mit der Ausnahme von Schweinen wiesen beprobte Tiere derselben Spezies aus unterschiedlichen Beständen hingegen nicht denselben Sequenztyp auf. Die genetische Diversität von Campylobacter könnte zur Identifikation von nicht porcinen Wirts-assoziierten Sequenztypen unzureichend sein. Dagegen spricht, dass andere Autoren zeigen konnten, dass die Wirtsspezifität mancher Campylobacter Genotypen geographische Zusammenhänge übersteigt (Colles und Maiden 2012; Sheppard et al. 2010; McCarthy et al. 2007). Andere Gründe könnten sein, dass die Proben nicht repräsentativ für die tatsächliche Diversität waren oder aber andere Loci, die in der MLST nicht untersucht werden, Wirts-assoziierte Allele beinhalteten.

Einschränkungen bei der Interpretation der Daten dieser Arbeit ergeben sich aus der begrenzten Isolatanzahl. Zu berücksichtigen ist auch, dass die genetische Analyse von *Campylobacter*-Isolaten eher zur Identifikation der Infektionsquelle als des Übertragungsweges dient.

Genotypen mit einem weiten Wirtsspektrum wie ST-21 CC und ST-45 CC bedürfen unter Umständen einer Differenzierung mit mehr als sieben MLST-Loci zur Untersuchung epidemiologischer Zusammenhänge.

Der Vergleich von MLST-Daten von *C. jejuni*- und *C. coli*-Isolaten von Hühnern, Hunden, Katzen, Schweinen, Tauben und Wachteln mit der Onlinedatenbank pubMLST zeigt, dass all diese Quellen potentiell humanpathogen sind.

Zusammenfassung

Das Ziel dieser Arbeit war es, mögliche Infektionsquellen von *Campylobacter* spp. und deren Isolierungsraten im Großraum Berlin im Zeitraum von November 2011 bis Juni 2013 in Heim-, Nutz- und Wildtieren sowie in Umweltproben zu ermitteln. Hierfür wurden zwei kulturelle Isolierungsmethoden – ISO- und Cape Town-Verfahren – verglichen. Weiterhin erfolgte eine Antibiotikaresistenztestung und eine Genotypisierung ausgewählter *C.jejuni*- und *C. coli*-Stämme mittels MLST.

Die Kongruenz der ISO- und CT-Isolierungsverfahren betrug lediglich 11,5 % und durch die Kombination beider Verfahren stieg die Isolierungsrate um 37,7 %.

Die höchsten *Campylobacter*-Isolierungsraten zeigten sich bei Hühnern und Wachteln (74 % und 62,5 %) gefolgt von Schweinen, Tauben, Hunden, Boden- und Katzenproben (32 %, 20 %, 15,3 %, 11,8 % und 11,3 %). Katzen mit Freigang schieden signifikant häufiger *Campylobacter* aus als solche ohne Freigang, was vermutlich auf das größere Spektrum von Kontaminationsquellen zurückzuführen ist. Hygienische Maßnahmen zur Bekämpfung der Campylobacteriose sollten somit auch auf den Umgang mit Heimtieren und auf den Aufenthalt im Freien ausgeweitet werden.

Die Speziesverteilung von Campylobacter variierte stark in Abhängigkeit von der untersuchten Matrize.

Untersuchte Tauben (n = 50) schieden ausschließlich *C. jejuni*, untersuchte Schweine (n = 50) ausschließlich *C. coli* aus. Bei Hühnern (n = 50) und Wachteln (n = 40) wurden beide Spezies nachgewiesen, wobei *C. jejuni* dominierte. Die untersuchten Hunde- (n = 163), Katzen- (n = 177) und Wasserproben (n = 114) wiesen mit dem Nachweis von *C. jejuni*, *C. coli*, *C. upsaliensis* und *C. lari* die größte Speziesvielfalt auf.

Die Ergebnisse legen nahe, dass die Kombination beider Isolierungsverfahren unabhängig von der untersuchten Spezies zu deutlich höheren Isolierungsraten führt. Darüber hinaus kann der Einsatz einer einzigen Methode zu einer Unterschätzung der Speziesvielfalt und von Mehrfachinfektionen führen. Dies bezieht sich nicht ausschließlich - wie in anderen Studien hervorgehoben -auf seltenere Spezies wie *C. upsaliensis*, *C. lari* und *C. fetus*, sondern auch auf *C. jejuni* und *C. coli*.

In 72,3 % der untersuchten Isolate (n = 101) konnten Resistenzen gegenüber antimikrobiellen Wirkstoffen nachgewiesen werden. Alle untersuchten Stämme waren sensibel gegenüber Chloramphenicol und Gentamicin. Auch gegenüber Erythromycin erwiesen sich die untersuchten Isolate mit einer Ausnahme als sensibel. Gegenüber Streptomycin waren lediglich 9,9 % der untersuchten Isolate resistent.

Die höchsten Resistenzraten zeigten sich bei Ciprofloxacin (61,4 %), Nalidixinsäure (47,5 %) und Tetrazyklin (42,6 %). Des Weiteren waren unabhängig von der Quelle Mehrfachresistenzen weit verbreitet (86,1 %).

Bezüglich der beiden untersuchten *Campylobacter*-Spezies *C. jejuni* und *C. coli* ergab sich ein vergleichbar großer Anteil (71,4 % und 75,0 %) resistenter Isolate.

Die höchsten Resistenzraten wurden bei Schweine-, Wachtel- und Hühner-Isolaten (100,0 %, 86,7 % und 79,4 %) bestimmt. Darüber hinaus zeigte sich bei ca. 50 % der Katzen-, Hunde- und Tauben-Isolate mindestens eine antimikrobielle Resistenz, wohingegen die Umweltproben meist vollständig sensibel waren.

Die Resultate belegen, dass bei schwerwiegenden *Campylobacter*-Infektionen ein Resistenztest durchgeführt werden sollte.

Die Genotypisierung ausgewählter *C. jejuni*- und *C. coli*-Isolate mittels MLST ergab für beide Spezies eine hohe genetische Diversität, und nur 13 der 39 identifizierten Sequenztypen sind bislang nicht für humane Isolate bekannt.

Ein Zusammenhang zwischen MLST-Sequenztyp und Herkunft der Isolate war nicht ersichtlich. Dies deutet auf eine Vielzahl möglicher Infektionsquellen von *Campylobacter* hin.

Summary

Isolation rate, resistance pattern and genetic diversity of *Campylobacter* in livestock and environmental habitats

The aim of the study was to identify potential sources of *Campylobacter* spp. and their prevalences in Greater Berlin area from November 2011 to June 2013. Samples collected from pet animals, farm animals, wild animals and the environment were investigated by two isolation methods – ISO (according to ISO 10272-1:2006) and the Cape Town protocol.

Also the presence of antimicrobial resistance in selected *C. jejuni* and *C. coli* isolates was determined by Broth Microdilution assays and isolates were genotyped by MLST.

The congruence of both isolation procedures was 11.5 % and the detection rate of *Campylobacter* was increased by 37.7 % by using a combination of both procedures.

The highest prevalence was detected in chicken (74 %) and quails (62.5 %), followed by pigs (32 %), pigeons (20 %), dogs (15.3 %), soil (11.8 %) and cats (11.3 %).

Cats having outdoor access had significantly higher chances of being carriers of *Campylobacter* than cats living exclusively indoors. This could indicate a higher risk for *Campylobacter* infection in cats due to exposure to a wider range of sources of infection. These results show that pets and their environment should be taken into account to reduce the risk of human *Campylobacter* infection.

The *Campylobacter* species varied widely depending on the source examined. In pigeons only *C. jejuni* and in pigs only *C. coli* was detected in this study. In chicken and quails, both species were detected, whereby *C. jejuni* was more prevalent than *C. coli*. Dogs, cats and water samples showed a greater diversity of species, with detection of *C. jejuni*, *C. coli*, *C. upsaliensis* and *C. lari*.

Using a combination of both selective isolation methods in parallel resulted in significantly higher *Campylobacter* isolation rate regardless of the species examined.

Using a single isolation procedure may result in underestimation of the diversity of *Campylo-bacter* spp. and multiple infections. This doesn't refer exclusively to species like *C. upsaliensis*, *C. lari* and *C. fetus* but also to *C. jejuni* and *C. coli*.

Antimicrobial resistance was observed in 72.3% or the isolates. All strains were sensitive to chloramphenical and gentamicin. This also applied to erythromycin except in one isolate. Resistances to nalidixic acid (74.5 % of isolates), ciprofloxacin (61.4 %) and tetracycline (42.6 %) were common. Resistance to three antimicrobials or more was present in 86.1 % of isolates.

The percentage of antimicrobial resistant isolates was comparable high in both *C. jejuni* (71.4 %) and *C. coli* (75 %). These results demonstrate that serious *Campylobacter* infections require an antimicrobial resistance testing.

High resistance rates were observed in pigs (100 %), quails (86.7 %) and chicken (79.4 %). Nearly half of the cat, dog and pigeon isolates were resistant, whereas environmental isolates were mostly sensitive.

Multilocus sequence typing of selected *C. jejuni* and *C. coli* isolates showed a high genetic diversity and 26 of the 39 determined sequence types have already been reported for human isolates.

However, there was no correlation between MLST sequence type and source of the *Campylobacter* isolates. The above finding suggests that there are various sources of human infection with *Campylobacter*.

Literaturverzeichnis

- Aarestrup, F. M.; Engberg, J. (2001): Antimicrobial resistance of thermophilic *Campylobacter*. In: *Vet. Res.* 32 (3-4), S. 311–321.
- Aarestrup, F. M.; Oliver Duran, C.; Burch, D. G. S. (2008): Antimicrobial resistance in swine production. In: *Anim. Health Res. Rev.* 9 (2), S. 135–148.
- Abulreesh, H. H.; Paget, T. A.; Goulder, R. (2005): Recovery of thermophilic campylobacters from pond water and sediment and the problem of interference by background bacteria in enrichment culture. In: *Water Res.* 39 (13), S. 2877–2882.
- Acke, E.; Whyte, P.; Jones, B. R.; McGill, K.; Collins, J. D.; Fanning, S. (2006): Prevalence of thermophilic *Campylobacter* species in cats and dogs in two animal shelters in Ireland. In: *Vet. Rec.* 158 (2), S. 51–54.
- Acke, E.; McGill, K.; Golden, O.; Jones, B. R.; Fanning, S.; Whyte, P. (2009a): A comparison of different culture methods for the recovery of *Campylobacter* species from pets. In: *Zoonoses Public Health* 56 (9-10), S. 490–495.
- Acke, E.; McGill, K.; Golden, O.; Jones, B. R.; Fanning, S.; Whyte, P. (2009b): Prevalence of thermophilic *Campylobacter* species in household cats and dogs in Ireland. In: *Vet. Rec.* 164 (2), S. 44–47.
- Acke, E.; McGill, K.; Quinn, T.; Jones, B. R.; Fanning, S.; Whyte, P. (2009c): Antimicrobial resistance profiles and mechanisms of resistance in *Campylobacter jejuni* isolates from pets. In: *Foodborne Pathog. Dis.* 6 (6), S. 705–710.
- Acke, E.; McGill, K.; Lawlor, A.; Jones, B. R.; Fanning, S.; Whyte, P. (2010): Genetic diversity among *Campylobacter jejuni* isolates from pets in Ireland. In: *Vet. Rec.* 166 (4), S. 102–106.
- Adak, G. K.; Cowden, J. M.; Nicholas, S.; Evans, H. S. (1995): The Public Health Laboratory Service national case-control study of primary indigenous sporadic cases of *Campylobacter* infection. In: *Epidemiol. Infect.* 115 (1), S. 15–22.
- Adler-Mosca, H.; Lüthy-Hottenstein, J.; Martinetti Lucchini, G.; Burnens, A.; Altwegg, M. (1991): Development of resistance to quinolones in five patients with campylobacteriosis treated with norfloxacin or ciprofloxacin. In: *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 10 (11), S. 953–957.
- Ajene, A. N.; Fischer Walker, C. L.; Black, R. E. (2013): Enteric pathogens and reactive arthritis: a systematic review of *Campylobacter*, Salmonella and Shigella-associated reactive arthritis. In: *J. Health Popu.l Nutr.* 31 (3), S. 299–307.
- Al Rashid, S. T.; Dakuna, I.; Louie, H.; Ng, D.; Vandamme, P.; Johnson, W.; Chan, V. L. (2000): Identification of *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis*, Arcobacter butzleri, and A. butzleri-like species based on the glyA gene. In: *J. Clin. Microbiol.* 38 (4), S. 1488–1494.
- Alfredson, D. A.; Korolik, V. (2007): Antibiotic resistance and resistance mechanisms in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. In: *FEMS Microbiol. Lett.* 277 (2), S. 123–132.
- Allos, B. M. (1997): Association between *Campylobacter* infection and Guillain-Barré syndrome. In: *J. Infect. Dis.* 176 Suppl 2, S. S125-8.
- Allos, B. M. (2001): *Campylobacter jejuni* Infections: update on emerging issues and trends. In: *Clin. Infect. Dis.* 32 (8), S. 1201–1206.

- Almofti, Y. A.; Dai, M.; Sun, Y.; Haihong, H.; Yuan, Z. (2011): Impact of erythromycin resistance on the virulence properties and fitness of *Campylobacter jejuni*. In: *Microb. Pathog.* 50 (6), S. 336–342.
- Alter, T.; Bereswill, S.; Glünder, G.; Haag, L.-M.; Hänel, I.; Heimesaat, M. M. et al. (2011a): Die Campylobacteriose des Menschen. Nutztiere als Reservoir für *Campylobacter*-Arten. In: *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz* 54 (6), S. 728–734.
- Alter, T.; Weber, R. M.; Hamedy, A.; Glünder, G. (2011b): Carry-over of thermophilic *Campylobacter* spp. between sequential and adjacent poultry flocks. In: *Vet. Microbiol.* 147 (1-2), S. 90–95.
- Amar, C.; Kittl, S.; Spreng, D.; Thomann, A.; Korczak, B. M.; Burnens, A. P.; Kuhnert, P. (2014): Genotypes and antibiotic resistance of canine *Campylobacter jejuni* isolates. In: *Vet. Microbiol.* 168 (1), S. 124–130.
- Andrzejewska, M.; Szczepańska, B.; Klawe, J.; Śpica, D.; Chudzińska, M. (2013): Prevalence of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* species in cats and dogs from Bydgoszcz (Poland) region. In: *Pol. J. Vet. SCI* 16 (1).
- Ang, C. W.; Teunis, P. F. M.; Herbrink, P.; Keijser, J.; van Duynhoven, Y. H. T. P.; Visser, C. E.; van Pelt, W. (2011): Seroepidemiological studies indicate frequent and repeated exposure to *Campylobacter* spp. during childhood. In: *Epidemiol. Infect.* 139 (9), S. 1361–1368.
- Aquino, M. H. C.; Pacheco, A. P. G.; Ferreira, M. C. S.; Tibana, A. (2002): Frequency of isolation and identification of thermophilic campylobacters from animals in Brazil. In: *Vet. J.* 164 (2), S. 159–161.
- Aspinall, S. T.; Wareing, D. R.; Hayward, P. G.; Hutchinson, D. N. (1993): Selective medium for thermophilic campylobacters including *Campylobacter upsaliensis*. In: *J. Clin. Pathol.* 46 (9), S. 829–831.
- Aspinall, S. T.; Wareing, D. R.; Hayward, P. G.; Hutchinson, D. N. (1996): A comparison of a new campylobacter selective medium (CAT) with membrane filtration for the isolation of thermophilic campylobacters including *Campylobacter upsaliensis*. In: *J. Appl. Bacteriol.* 80 (6), S. 645–650.
- Avrain, L.; Vernozy-Rozand, C.; Kempf, I. (2004): Evidence for natural horizontal transfer of tetO gene between *Campylobacter jejuni* strains in chickens. In: *J. Appl. Microbiol.* 97 (1), S. 134–140.
- Badlík, M.; Holoda, E.; Pistl, J.; Koscová, J.; Sihelská, Z. (2014): Prevalence of zoonotic *Campylobacter* spp. in rectal swabs from dogs in Slovakia: special reference to *C. jejuni* and *C. coli*. In: *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* 127 (3-4), S. 144–148.
- Bae, W.; Kaya, K. N.; Hancock, D. D.; Call, D. R.; Park, Y. H.; Besser, T. E. (2005): Prevalence and Antimicrobial Resistance of Thermophilic *Campylobacter* spp. from Cattle Farms in Washington State. In: *Appl. Environ. Microbiol.* 71 (1), S. 169–174.
- Bailey, G. D.; Vanselow, B. A.; Hornitzky, M. A.; Hum, S. I.; Eamens, G. J.; Gill, P. A. et al. (2003): A study of the foodborne pathogens: *Campylobacter*, *Listeria* and *Yersinia*, in faeces from slaughter-age cattle and sheep in Australia. In: *Commun. Dis. Intell. Q. Rep.* 27 (2), S. 249–257.
- Baker, J.; Barton, M. D.; Lanser, J. (1999): *Campylobacter* species in cats and dogs in South Australia. In: *Aust. Vet. J.* 77 (10), S. 662–666.
- Baserisalehi, M.; Bahador, N.; Kapadnis, B. P. (2007): Isolation and characterization of *Campylobacter* spp. from domestic animals and poultry in south of Iran. In: *Pak. J. Biol. Sci.* 10 (9), S. 1519–1524.

- Bawa, E. K.; Adekeye, J. O.; Oyedipe, E. O.; Omoh, J. U. (1991): Prevalence of bovine campylobacteriosis in indigenous cattle of three states in Nigeria. In: *Trop. Anim. Health Prod.* 23 (3), S. 157–160.
- Beckmann, L.; Müller, M.; Luber, P.; Schrader, C.; Bartelt, E.; Klein, G. (2004): Analysis of gyrA mutations in quinolone-resistant and -susceptible *Campylobacter jejuni* isolates from retail poultry and human clinical isolates by non-radioactive single-strand conformation polymorphism analysis and DNA sequencing. In: *J. Appl. Microbiol.* 96 (5), S. 1040–1047.
- Bell, J. A.; Kopper, J. J.; Turnbull, J. A.; Barbu, N. I.; Murphy, A. J.; Mansfield, L. S. (2008): Ecological Characterization of the Colonic Microbiota of Normal and Diarrheic Dogs. In: *Interdiscip. Perspect. Infect. Dis.* 2008 (10), S. 1–17.
- Bender, J. B.; Shulman, S. A.; Averbeck, G. A.; Pantlin, G. C.; Stromberg, B. E. (2005): Epidemiologic features of *Campylobacter* infection among cats in the upper midwestern United States. In: *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 226 (4), S. 544–547.
- Bessell, P. R.; Rotariu, O.; Innocent, G. T.; Smith-Palmer, A.; Strachan, N. J. C.; Forbes, K. J. et al. (2012): Using sequence data to identify alternative routes and risk of infection: a case-study of *Campylobacter* in Scotland. In: *BMC Infect. Dis.* 12 (1), S. 80.
- Besser, T. E.; LeJeune, J. T.; Rice, D. H.; Berg, J.; Stilborn, R. P.; Kaya, K. et al. (2005): Increasing Prevalence of *Campylobacter jejuni* in Feedlot Cattle through the Feeding Period. In: *Appl. Environ. Microbiol.* 71 (10), S. 5752–5758.
- Beuchat, L. R. (1987): Efficacy of some methods and media for detecting and enumerating *Campylobacter jejuni* in frozen chicken meat. In: *J. Appl. Bacteriol.* 62 (3), S. 217–221.
- Beumer, R.; Vries, J. de; Rombouts, F. (1992): *Campylobacter jejuni* non-culturable coccoid cells. In: *Int. J. Food Microbiol*.15 (1-2), S. 153–163.
- Bianchini, V.; Borella, L.; Benedetti, V.; Parisi, A.; Miccolupo, A.; Santoro, E. et al. (2014): Prevalence in bulk tank milk and epidemiology of *Campylobacter jejuni* in dairy herds in Northern Italy. In: *Appl. Environ. Microbiol*.
- Birkenhead, D.; Hawkey, P. M.; Heritage, J.; Gascoyne-Binzi, D. M.; Kite, P. (1993): PCR for the detection and typing of campylobacters. In: *Lett. Appl. Microbiol.* 17 (5), S. 235–237.
- Black, R. E.; Levine, M. M.; Clements, M. L.; Hughes, T. P.; Blaser, M. J. (1988): Experimental *Campylobacter jejuni* infection in humans. In: *J. Infect. Dis.* 157 (3), S. 472–479.
- Blaser, M.; Cravens, J.; Powers, B. W.; Wang, W. L. (1978): *Campylobacter* enteritis associated with canine infection. In: *Lancet* 2 (8097), S. 979–981.
- Blaser, M. J.; Hardesty, H. L.; Powers, B.; Wang, W. L. (1980): Survival of *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni* in biological milieus. In: *J. Clin. Microbiol.* 11 (4), S. 309–313.
- Blaser, M. J.; Black, R. E.; Duncan, D. J.; Amer, J. (1985): *Campylobacter jejuni*-specific serum antibodies are elevated in healthy Bangladeshi children. In: *J. Clin. Microbiol.* 21 (2), S. 164–167.
- Boer, P. de; Duim, B.; Rigter, A.; van der Plas, J.; Jacobs-Reitsma, W. F.; Wagenaar, J. A. (2000): Computer-assisted analysis and epidemiological value of genotyping methods for *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. In: *J. Clin. Microbiol.* 38 (5), S. 1940–1946.
- Bolton, F. J.; Robertson, L. (1982): A selective medium for isolating *Campylobacter jejuni/coli*. In: *J. Clin. Pathol.* 35 (4), S. 462–467.
- Bolton, F. J.; Coates, D. (1983): A study of the oxygen and carbon dioxide requirements of thermophilic campylobacters. In: *J. Clin. Pathol.* 36 (7), S. 829–834.

- Bolton, F. J.; Hutchinson, D. N.; Parker, G. (1988): Reassessment of selective agars and filtration techniques for isolation of *Campylobacter* species from faeces. In: *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 7 (2), S. 155–160.
- Bolton, F. J.; Surman, S. B.; Martin, K.; Wareing, D. R.; Humphrey, T. J. (1999): Presence of *Campylobacter* and *Salmonella* in sand from bathing beaches. In: *Epidemiol. Infect.* 122 (1), S. 7–13.
- Bolton, D. J.; O'Neill, C. J.; Fanning, S. (2012): A preliminary study of *Salmonella*, verocytotoxigenic *Escherichia coli/Escherichia coli* O157 and *Campylobacter* on four mixed farms. In: *Zoonoses Public Health* 59 (3), S. 217–228.
- Bourke, B.; Chan, V. L.; Sherman, P. (1998): *Campylobacter upsaliensis*: waiting in the wings. In: *Clin. Microbiol. Rev.* 11 (3), S. 440–449.
- Boyle, M.; Sichel, C.; Fernandez-Ibanez, P.; Arias-Quiroz, G. B.; Iriarte-Puna, M.; Mercado, A. et al. (2008): Bactericidal Effect of Solar Water Disinfection under Real Sunlight Conditions. In: *Appl. Environ. Microbiol.* 74 (10), S. 2997–3001.
- Brooks, B. W.; Devenish, J.; Lutze-Wallace, C. L.; Milnes, D.; Robertson, R. H.; Berlie-Surujballi, G. (2004): Evaluation of a monoclonal antibody-based enzyme-linked immunosorbent assay for detection of *Campylobacter fetus* in bovine preputial washing and vaginal mucus samples. In: *Vet. Microbiol.* 103 (1-2), S. 77–84.
- Brown, P. E.; Christensen, O. F.; Clough, H. E.; Diggle, P. J.; Hart, C. A.; Hazel, S. et al. (2004): Frequency and spatial distribution of environmental *Campylobacter* spp. In: *Appl. Environ. Microbiol.* 70 (11), S. 6501–6511.
- Buck, G. E.; Kelly, M. T. (1981): Effect of moisture content of the medium on colony morphology of *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni*. In: *J. Clin. Microbiol*. 14 (5), S. 585–586.
- Bull, S. A.; Allen, V. M.; Domingue, G.; Jørgensen, F.; Frost, J. A.; Ure, R. et al. (2006): Sources of *Campylobacter* spp. colonizing housed broiler flocks during rearing. In: *Appl. Environ. Microbiol.* 72 (1), S. 645–652.
- Burnens, A. P.; Angéloz-Wick, B.; Nicolet, J. (1992): Comparison of *Campylobacter* carriage rates in diarrheic and healthy pet animals. In: Zentralbl. Veterinarmed. B. 39 (3), S. 175–180.
- Cagliero, C.; Mouline, C.; Cloeckaert, A.; Payot, S. (2006): Synergy between efflux pump CmeABC and modifications in ribosomal proteins L4 and L22 in conferring macrolide resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. In: *Antimicrob. Agents Chemother*. 50 (11), S. 3893–3896.
- Caldwell, D. B.; Wang, Y.; Lin, J. (2008): Development, stability, and molecular mechanisms of macrolide resistance in *Campylobacter jejuni*. In: *Antimicrob. Agents Chemother*. 52 (11), S. 3947–3954.
- Carbonero, A.; Torralbo, A.; Borge, C.; García-Bocanegra, I.; Arenas, A.; Perea, A. (2012): *Campylobacter* spp., *C. jejuni* and *C. upsaliensis* infection-associated factors in healthy and ill dogs from clinics in Cordoba, Spain. Screening tests for antimicrobial susceptibility. In: *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 35 (6), S. 505–512.
- Cardinale, E.; Rose, V.; Perrier Gros-Claude, J. D.; Tall, F.; Rivoal, K.; Mead, G.; Salvat, G. (2006): Genetic characterization and antibiotic resistance of *Campylobacter* spp. isolated from poultry and humans in Senegal. In: *J. Appl. Microbiol.* 100 (1), S. 209–217.
- Casadémont, I.; Chevrier, D.; Guesdon, J. L. (1998): Cloning of a sapB homologue (sapB2) encoding a putative 112-kDa *Campylobacter fetus* S-layer protein and its use for identification and molecular genotyping. In: *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 21 (4), S. 269–281.

- Cawthraw, S. A.; Lind, L.; Kaijser, B.; Newell, D. G. (2000): Antibodies, directed towards *Campylobacter jejuni* antigens, in sera from poultry abattoir workers. In: *Clin. Exp. Immunol.* 122 (1), S. 55–60.
- Cawthraw, S. A.; Wassenaar, T. M.; Ayling, R.; Newell, D. G. (1996): Increased colonization potential of *Campylobacter jejuni* strain 81116 after passage through chickens and its implication on the rate of transmission within flocks. In: *Epidemiol. Infect.* 117 (1), S. 213–215.
- Chaban, B.; Ngeleka, M.; Hill, J. E. (2010): Detection and quantification of 14 *Campylobacter* species in pet dogs reveals an increase in species richness in feces of diarrheic animals. In: *BMC Microbiol.* 10, S. 73.
- Cinquepalmi, V.; Monno, R.; Fumarola, L.; Ventrella, G.; Calia, C.; Greco, M. et al. (2013): Environmental Contamination by Dog's Faeces: A Public Health Problem? In: *Int. J. Environ. Res. Publ. Health.* 10 (1), S. 72–84.
- Cogan, T. A.; Bloomfield, S. F.; Humphrey, T. J. (1999): The effectiveness of hygiene procedures for prevention of cross-contamination from chicken carcases in the domestic kitchen. In: *Lett. Appl. Microbiol.* 29 (5), S. 354–358.
- Coker, A. O.; Isokpehi, R. D.; Thomas, B. N.; Amisu, K. O.; Obi, C. L. (2002): Human campylobacteriosis in developing countries. In: *Emerging Infect. Dis.* 8 (3), S. 237–244.
- Colles, F. M.; Jones, K.; Harding, R. M.; Maiden, M. C. J. (2003): Genetic diversity of *Campyl-obacter jejuni* isolates from farm animals and the farm environment. In: *Appl. Environ. Microbiol.* 69 (12), S. 7409–7413.
- Colles, F. M.; Maiden, M. C. J. (2012): *Campylobacter* sequence typing databases: applications and future prospects. In: *Microbiology* 158 (Pt_11), S. 2695–2709.
- Cooper, I. A.; Slee, K. J. (1971): Human infection by *Vibrio fetus*. In: *Med. J. Aust.* 1 (24), S. 1263–1267.
- Corcoran, D.; Quinn, T.; Cotter, L.; Fanning, S. (2005): Relative contribution of target gene mutation and efflux to varying quinolone resistance in Irish Campylobacter isolates. In: *FEMS Microbiol. Lett.* 253 (1), S. 39–46.
- Corry, J. E.; Post, D. E.; Colin, P.; Laisney, M. J. (1995): Culture media for the isolation of campylobacters. In: *Int. J. Food Microbiol.* 26 (1), S. 43–76.
- Cortés, C.; La Fuente, R. d.; Contreras, A.; Sánchez, A.; Corrales, J. C.; Martínez, S.; Orden, J. A. (2006): A survey of *Salmonella* spp and *Campylobacter* spp. in dairy goat faeces and bulk tank milk in the Murcia region of Spain. In: *Ir. Vet. J.* 59 (7), S. 391–393.
- Damborg, P.; Olsen, K. E. P.; Moller Nielsen, E.; Guardabassi, L. (2004): Occurrence of *Campylobacter jejuni* in Pets Living with Human Patients Infected with *C. jejuni*. In: *J. Clin. microbiol.* 42 (3), S. 1363–1364.
- Dekeyser, P.; Gossuin-Detrain, M.; Butzler, J. P.; Sternon, J. (1972): Acute enteritis due to related vibrio: first positive stool cultures. In: *J. Infect. Dis.* 125 (4), S. 390–392.
- Devane, M.; Nicol, C.; Ball, A.; Klena, J.; Scholes, P.; Hudson, J. et al. (2005): The occurrence of *Campylobacter* subtypes in environmental reservoirs and potential transmission routes. In: *J. Appl. Microbiol.* 98 (4), S. 980–990.
- Dingle, K. E.; Colles, F. M.; Falush, D.; Maiden, M. C. J. (2005): Sequence Typing and Comparison of Population Biology of *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni*. In: *J. Clin. Microbiol.* 43 (1), S. 340–347.
- Dingle, K. E.; Blaser, M. J.; Tu, Z.; Pruckler, J.; Fitzgerald, C.; van Bergen, M. A. P. et al. (2010): Genetic relationships among reptilian and mammalian *Campylobacter fetus* strains determined by multilocus sequence typing. In: *J. Clin. Microbiol.* 48 (3), S. 977–980.

- Doorduyn, Y.; van Den Brandhof, W. E.; van Duynhoven, Y. T. H. P.; Breukink, B. J.; Wagenaar, J. A.; van Pelt, W. (2010): Risk factors for indigenous Campylobacter jejuni and *Campylobacter coli* infections in The Netherlands: a case-control study. In: *Epidemiol. Infect.* 138 (10), S. 1391–1404.
- Dufour, A. P.; Evans, O.; Behymer, T. D.; Cantú, R. (2006): Water ingestion during swimming activities in a pool: a pilot study. In: *J. Water Health* 4 (4), S. 425–430.
- Duim, B.; Wassenaar, T. M.; Rigter, A.; WAGENAAR, J. (1999): High-resolution genotyping of *Campylobacter* strains isolated from poultry and humans with amplified fragment length polymorphism fingerprinting. In: *Appl. Environ. Microbiol.* 65 (6), S. 2369–2375.
- Duncan, J. S.; Leatherbarrow, A. J. H.; French, N. P.; Grove-White, D. H. (2014): Temporal and farm-management-associated variation in faecal-pat prevalence of *Campylobacter fetus* in sheep and cattle. In: *Epidemiol. Infect.* 142 (6), S. 1196–1204.
- Effenberger, T. (2008): Durchfallerkrankungen von Haustieren mit lebensmittelrelevanten pathogenen Bakterien. 1. Aufl. (Edition scientifique).
- EFSA (2012): The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2010. In: *EFSA Journal* 10 (3).
- EFSA (2013): The European Union Summary Report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2011. In: *EFSA Journal* 11 (5).
- Ekdahl, K.; Normann, B.; Andersson, Y. (2005): Could flies explain the elusive epidemiology of campylobacteriosis? In: *BMC Infect. Dis.* 5 (1), S. 11.
- Endtz, H. P.; Ruijs, G. J.; Zwinderman, A. H.; van der Reijden, T.; Biever, M.; Mouton, R. P. (1991): Comparison of six media, including a semisolid agar, for the isolation of various *Campylobacter* species from stool specimens. In: *J. Clin. Microbiol.* 29 (5), S. 1007–1010.
- Endtz, H. P.; Vliegenthart, J. S.; Vandamme, P.; Weverink, H. W.; van den Braak, N. P.; Verbrugh, H. A.; van Belkum, A. (1997): Genotypic diversity of *Campylobacter lari* isolated from mussels and oysters in The Netherlands. In: *Int. J. Food Microbiol.* 34 (1), S. 79–88.
- Engberg, J.; On, S. L.; Harrington, C. S.; Gerner-Smidt, P. (2000): Prevalence of *Campylobacter*, *Arcobacter*, *Helicobacter*, and *Sutterella* spp. in human fecal samples as estimated by a reevaluation of isolation methods for campylobacters. In: *J. Clin. Microbiol.* 38 (1), S. 286–291.
- Engberg, J.; Aarestrup, F. M.; Taylor, D. E.; Gerner-Smidt, P.; Nachamkin, I. (2001): Quinolone and macrolide resistance in *Campylobacter jejuni* and *C. coli*: resistance mechanisms and trends in human isolates. In: *Emerging Infect. Dis.* 7 (1), S. 24–34.
- Engvall, E. O.; Brändstrom, B.; Andersson, L.; Båverud, V.; Trowald-Wigh, G.; Englund, L. (2003): Isolation and identification of thermophilic *Campylobacter* species in faecal samples from Swedish dogs. In: *Scand. J. Infect. Dis.* 35 (10), S. 713–718.
- Escherich, T. (1886): Beiträge zur Kenntnis der Darmbakterien. II. Vibrio felinus. In: Münch. Med. Wschr. 1886;33: (33), S. 759–763.
- Ethelberg, S.; Simonsen, J.; Gerner-Smidt, P.; Olsen, K. E. P.; Mølbak, K. (2005): Spatial distribution and registry-based case-control analysis of *Campylobacter* infections in Denmark, 1991-2001. In: *Am. J. Epidemiol.* 162 (10), S. 1008–1015.
- Eurosurveillance editorial team (2012): The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2010. In: *Euro Surveill*. 17 (10).
- Eurosurveillance editorial team (2015): The 2013 joint ECDC/EFSA report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks published. In: *Euro Surveill*. 20 (4).

- Euzéby, J. P. (2014): LPSN-List of prokaryotic names with standing in nomenclature. Online verfügbar unter http://www.bacterio.cict.fr/c/campylobacter.html, zuletzt geprüft am 22.02.2014.
- Eyers, M.; Chapelle, S.; van Camp, G.; Goossens, H.; Wachter, R. de (1993): Discrimination among thermophilic *Campylobacter* species by polymerase chain reaction amplification of 23S rRNA gene fragments. In: *J. Clin. Microbiol.* 31 (12), S. 3340–3343.
- Farnell, M. B.; Donoghue, A. M.; Cole, K.; Reyes-Herrera, I.; Blore, P. J.; Donoghue, D. J. (2005): *Campylobacter* susceptibility to ciprofloxacin and corresponding fluoroquinolone concentrations within the gastrointestinal tracts of chickens. In: *J. Appl. Microbiol.* 99 (5), S. 1043–1050.
- Fermér, C.; Engvall, E. O. (1999): Specific PCR identification and differentiation of the thermophilic campylobacters, *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, and *C. upsaliensis*. In: *J. Clin. Microbiol*. 37 (10), S. 3370–3373.
- Fernández, H.; Martin, R. (1991): *Campylobacter* intestinal carriage among stray and pet dogs. In: *Rev. Saude Publica* 25 (6), S. 473–475.
- Fernández, H.; Oval, A. (2012): Occurrence of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* Biotypes and Antimicrobial Susceptibility in Healthy Dogs in Southern Chile. In: *Acta Scientiae Veterinariae* 41 (1), S. 1-5.
- Fernie, D. S.; Park, R. W. (1977): The isolation and nature of campylobacters (microaerophilic vibrios) from laboratory and wild rodents. In: *J. Med. Microbiol.* 10 (3), S. 325–329.
- Fox, J. G.; Maxwell, K. O.; Taylor, N. S.; Runsick, C. D.; Edmonds, P.; Brenner, D. J. (1989): "*Campylobacter upsaliensis*" isolated from cats as identified by DNA relatedness and biochemical features. In: *J. Clin. Microbiol.* 27 (10), S. 2376–2378.
- French, N.; Barrigas, M.; Brown, P.; Ribiero, P.; Williams, N.; Leatherbarrow, H. et al. (2005): Spatial epidemiology and natural population structure of *Campylobacter jejuni* colonizing a farmland ecosystem. In: *Environ. Microbiol.* 7 (8), S. 1116–1126.
- French, N. P.; Midwinter, A.; Holland, B.; Collins-Emerson, J.; Pattison, R.; Colles, F.; Carter, P. (2009): Molecular epidemiology of *Campylobacter jejuni* isolates from wild-bird fecal material in children's playgrounds. In: *Appl. Environ. Microbiol.* 75 (3), S. 779–783.
- Friedman, C. R.; Hoekstra, R. M.; Samuel, M.; Marcus, R.; Bender, J.; Shiferaw, B. et al. (2004): Risk factors for sporadic *Campylobacter* infection in the United States: A case-control study in FoodNet sites. In: *Clin. Infect. Dis.* 38 Suppl 3, S. 285-96.
- Gallay, A.; Prouzet-Mauléon, V.; Kempf, I.; Lehours, P.; Labadi, L.; Camou, C. et al. (2007): *Campylobacter* antimicrobial drug resistance among humans, broiler chickens, and pigs, France. In: *Emerging Infect. Dis.* 13 (2), S. 259–266.
- Gargiulo, A.; Rinaldi, L.; D'Angelo, L.; Dipineto, L.; Borrelli, L.; Fioretti, A.; Menna, L. (2008): Survey of *Campylobacter jejuni* in stray cats in southern Italy. In: *Lett. Appl. Microbiol.* 46 (2), S. 267–270.
- Ge, B.; McDermott, P. F.; White, D. G.; Meng, J. (2005): Role of efflux pumps and topoisomerase mutations in fluoroquinolone resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. In: *Antimicrob*. *Agents Chemother*. 49 (8), S. 3347–3354.
- Gebhart, C. J.; Fennell, C. L.; Murtaugh, M. P.; Stamm, W. E. (1989): *Campylobacter cinaedi* is normal intestinal flora in hamsters. In: *J. Clin. Microbiol.* 27 (7), S. 1692–1694.
- Gebreyes, W. A. (2005): *Campylobacter coli*: prevalence and antimicrobial resistance in antimicrobial-free (ABF) swine production systems. In: *J. Antimcrob. Chemother.* 56 (4), S. 765–768.
- Gibreel, A. (2006): Macrolide resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. In: *J. Antimicrob. Chemother.* 58 (2), S. 243–255.

- Gibreel, A.; Wetsch, N. M.; Taylor, D. E. (2007): Contribution of the CmeABC efflux pump to macrolide and tetracycline resistance in *Campylobacter jejuni*. In: *Antimicrob*. *Agents Chemother*. 51 (9), S. 3212–3216.
- Giesendorf, B. A.; Quint, W. G. (1995): Detection and identification of *Campylobacter* spp. using the polymerase chain reaction. In: *Cell. Mol. Biol. (Noisy-le-grand)* 41 (5), S. 625–638.
- Gilbert, M. J.; Kik, M.; Timmerman, A. J.; Severs, T. T.; Kusters, J. G.; Duim, B.; Wagenaar, J. A. (2014): Occurrence, diversity, and host association of intestinal *Campylobacter*, Arcobacter, and Helicobacter in reptiles. In: *PLoS ONE* 9 (7), S. e101599.
- Gillespie, I.; O'Brien, S.; Frost, J.; Adak, G.; Horby, P.; Swan, A. et al. (2002): A case-case comparison of *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* infection: a tool for generating hypotheses. In: *Emerging Infect. Dis.* 8 (9), S. 937–942.
- Gilpin, B.; Robson, B.; Scholes, P.; Nourozi, F.; Sinton, L. (2009): Survival of *Campylobacter* spp. in bovine faeces on pasture. In: *Lett. Appl. Microbiol.* 48 (2), S. 162–166.
- Goossens, H.; Boeck, M. de; Butzler, J. P. (1983): A new selective medium for the isolation of *Campylobacter jejuni* from human faeces. In: *Eur. J. Clin. Microbiol.* 2 (4), S. 389–393.
- Goossens, H.; Pot, B.; Vlaes, L.; van den Borre, C.; van den Abbeele, R.; van Naelten, C. et al. (1990): Characterization and description of "*Campylobacter upsaliensis*" isolated from human feces. In: *J. Clin. Microbiol.* 28 (5), S. 1039–1046.
- Goossens, H.; Vlaes, L.; Butzler, J. P.; Adnet, A.; Hanicq, P.; N'Jufom, S. et al. (1991): *Campylobacter upsaliensis* enteritis associated with canine infections. In: *Lancet* 337 (8755), S. 1486–1487.
- Grajewski, B. A.; Kusek, J. W.; Gelfand, H. M. (1985): Development of a bacteriophage typing system for *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. In: *J. Clin. Microbiol.* 22 (1), S. 13–18.
- Griekspoor, P.; Colles, F. M.; McCarthy, N. D.; Hansbro, P. M.; Ashhurst-Smith, C.; Olsen, B. et al. (2013): Marked host specificity and lack of phylogeographic population structure of *Campylobacter jejuni* in wild birds. In: *Mol. Ecol.* 22 (5), S. 1463–1472.
- Griggs, D. J.; Johnson, M. M.; Frost, J. A.; Humphrey, T.; Jørgensen, F.; Piddock, L. J. V. (2005): Incidence and mechanism of ciprofloxacin resistance in *Campylobacter* spp. isolated from commercial poultry flocks in the United Kingdom before, during, and after fluoroquinolone treatment. In: *Antimicrob. Agents Chemother*. 49 (2), S. 699–707.
- Gripp, E.; Hlahla, D.; Didelot, X.; Kops, F.; Maurischat, S.; Tedin, K. et al. (2011): Closely related *Campylobacter jejuni* strains from different sources reveal a generalist rather than a specialist lifestyle. In: *BMC Genomics* 12 (1), S. 584.
- Guévremont, E.; Nadeau, E.; Sirois, M.; Quessy, S. (2006): Antimicrobial susceptibilities of thermophilic *Campylobacter* from humans, swine, and chicken broilers. In: *Can. J. Vet. Res.* 70 (2), S. 81–86.
- Gürtler, M.; Alter, T.; Kasimir, S.; Fehlhaber, K. (2005): The importance of *Campylobacter coli* in human campylobacteriosis: prevalence and genetic characterization. In: *Epidemiol. Infect.* 133 (6), S. 1081–1087.
- Gurgan, T.; Diker, K. S. (1994): Abortion associated with *Campylobacter upsaliensis*. In: *J. Clin. Microbiol.* 32 (12), S. 3093–3094.

- Haan, C. P. A. de; Lampén, K.; Corander, J.; Hänninen, M.-L. (2013): Multilocus Sequence Types of Environmental *Campylobacter jejuni* Isolates and their Similarities to those of Human, Poultry and Bovine C. jejuni Isolates. In: *Zoonoses Public Health* 60 (2), S. 125–133.
- Hackett, T.; Lappin, M. R. (2003): Prevalence of enteric pathogens in dogs of north-central Colorado. In: *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 39 (1), S. 52–56.
- Hakkinen, M.; Heiska, H.; Hanninen, M.-L. (2007): Prevalence of *Campylobacter* spp. in Cattle in Finland and Antimicrobial Susceptibilities of Bovine *Campylobacter jejuni* Strains. In: *Appl. Environ. Microbiol.* 73 (10), S. 3232–3238.
- Hald, B.; Madsen, M. (1997): Healthy puppies and kittens as carriers of *Campylobacter* spp., with special reference to *Campylobacter upsaliensis*. In: *J. Clin. Microbiol.* 35 (12), S. 3351–3352.
- Hald, B.; Pedersen, K.; Waino, M.; Jorgensen, J. C.; Madsen, M. (2004a): Longitudinal Study of the Excretion Patterns of Thermophilic *Campylobacter* spp. in Young Pet Dogs in Denmark. In: *J. Clin. Microbiol.* 42 (5), S. 2003–2012.
- Hald, B.; Skovgård, H.; Bang, D. D.; Pedersen, K.; Dybdahl, J.; Jespersen, J. B.; Madsen, M. (2004b): Flies and *Campylobacter* infection of broiler flocks. In: *Emerging Infect. Dis.* 10 (8), S. 1490–1492.
- Hald, B.; Skovgard, H.; Pedersen, K.; Bunkenborg, H. (2008): Influxed Insects as Vectors for *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in Danish Broiler Houses. In: *Poultry Science* 87 (7), S. 1428–1434.
- Han, F.; Pu, S.; Wang, F.; Meng, J.; Ge, B. (2009): Fitness cost of macrolide resistance in *Campylobacter jejuni*. In: *Int. J. Antimicrob. Agents* 34 (5), S. 462–466.
- Hänninen, M.-L.; Haajanen, H.; Pummi, T.; Wermundsen, K.; Katila, M.-L.; Sarkkinen, H. et al. (2003): Detection and Typing of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* and Analysis of Indicator Organisms in Three Waterborne Outbreaks in Finland. In: *Appl. Environ. Microbiol.* 69 (3), S. 1391–1396.
- Hannon, S. J.; Allan, B.; Waldner, C.; Russell, M. L.; Potter, A.; Babiuk, L. A.; Townsend, H. G. G. (2009): Prevalence and risk factor investigation of *Campylobacter* species in beef cattle feces from seven large commercial feedlots in Alberta, Canada. In: *Can. J. Vet. Res.* 73 (4), S. 275–282.
- Harrington, C. S.; Thomson-Carter, F. M.; Carter, P. E. (1997): Evidence for recombination in the flagellin locus of *Campylobacter jejuni*: implications for the flagellin gene typing scheme. In: *J. Clin. Microbiol.* 35 (9), S. 2386–2392.
- Harris, L. A.; Logan, S. M.; Guerry, P.; Trust, T. J. (1987): Antigenic variation of *Campylobacter* flagella. In: *J. Bacteriol.* 169 (11), S. 5066–5071.
- Harvey, R. B.; Young, C. R.; Anderson, R. C.; Droleskey, R. E.; Genovese, K. J.; Egan, L. F.; Nisbet, D. J. (2000): Diminution of *Campylobacter* colonization in neonatal pigs reared offsow. In: *J. Food Prot.* 63 (10), S. 1430–1432.
- Hazeleger, W. C.; Wouters, J. A.; Rombouts, F. M.; Abee, T. (1998): Physiological activity of *Campylobacter jejuni* far below the minimal growth temperature. In: *Appl. Environ. Microbiol.* 64 (10), S. 3917–3922.
- Hazeleger, W. C.; Bolder, N. M.; Beumer, R. R.; Jacobs-Reitsma, W. F. (2008): Darkling beetles (Alphitobius diaperinus) and their larvae as potential vectors for the transfer of *Campylobacter jejuni* and *Salmonella enterica* serovar paratyphi B variant Java between successive broiler flocks. In: *Appl. Environ. Microbiol.* 74 (22), S. 6887–6891.

- Hébert, G. A.; Hollis, D. G.; Weaver, R. E.; Lambert, M. A.; Blaser, M. J.; Moss, C. W. (1982): 30 years of campylobacters: biochemical characteristics and a biotyping proposal for *Campylobacter jejuni*. In: *J. Clin. Microbiol.* 15 (6), S. 1065–1073.
- Helms, M.; Simonsen, J.; Olsen, K. E. P.; Mølbak, K. (2005): Adverse health events associated with antimicrobial drug resistance in *Campylobacter* species: a registry-based cohort study. In: *J. Infect. Dis.* 191 (7), S. 1050–1055.
- Helms, M.; Simonsen, J.; Mølbak, K. (2006): Foodborne bacterial infection and hospitalization: a registry-based study. In: *Clin. Infect. Dis.* 42 (4), S. 498–506.
- Hepworth, P. J.; Ashelford, K. E.; Hinds, J.; Gould, K. A.; Witney, A. A.; Williams, N. J. et al. (2011): Genomic variations define divergence of water/wildlife-associated *Campylobacter je-juni* niche specialists from common clonal complexes. In: *Appl. Environ. Microbiol.* 13 (6), S. 1549–1560.
- Hernández, J.; Fayos, A.; Alonso, J. L.; Owen, R. J. (1996): Ribotypes and AP-PCR fingerprints of thermophilic campylobacters from marine recreational waters. In: *J. Appl. Bacteriol.* 80 (2), S. 157–164.
- Heuvelink, A. E.; van Heerwaarden, C.; Zwartkruis-Nahuis, A.; Tilburg, J. J. H. C.; Bos, M. H.; Heilmann, F. G. C. et al. (2009): Two outbreaks of campylobacteriosis associated with the consumption of raw cows' milk. In: *Int. J. Food Microbiol.* 134 (1-2), S. 70–74.
- Hill, S. L.; Cheney, J. M.; Taton-Allen, G. F.; Reif, J. S.; Bruns, C.; Lappin, M. R. (2000): Prevalence of enteric zoonotic organisms in cats. In: *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 216 (5), S. 687–692.
- Hill, B.; Smythe, B.; Lindsay, D.; Shepherd, J. (2012): Microbiology of raw milk in New Zealand. In: *Int. J. Food Microbiol.* 157 (2), S. 305–308.
- Hoar, B. R.; Atwill, E. R.; Elmi, C.; Utterback, W. W.; Edmondson, A. J. (1999): Comparison of fecal samples collected per rectum and off the ground for estimation of environmental contamination attributable to beef cattle. In: *Am. J. Vet. Res.* 60 (11), S. 1352–1356.
- Hoffmann, S.; Batz, M. B.; Morris, J. G. (2012): Annual cost of illness and quality-adjusted life year losses in the United States due to 14 foodborne pathogens. In: *J. Food Prot.* 75 (7), S. 1292–1302.
- Hörman, A.; Rimhanen-Finne, R.; Maunula, L.; Bonsdorff, C.-H. von; Torvela, N.; Heikinheimo, A.; Hanninen, M.-L. (2004): Campylobacter spp., Giardia spp., Cryptosporidium spp., Noroviruses, and Indicator Organisms in Surface Water in Southwestern Finland, 2000-2001. In: *Appl. Environ. Microbiol.* 70 (1), S. 87–95.
- Horn, B. J.; Lake, R. J. (2013): Incubation period for campylobacteriosis and its importance in the estimation of incidence related to travel. In: *Euro Surveill*. 18 (40).
- Hugdahl, M. B.; Beery, J. T.; Doyle, M. P. (1988): Chemotactic behavior of *Campylobacter jejuni*. In: *Infect. Immun*. 56 (6), S. 1560–1566.
- Hughes, L. A.; Bennett, M.; Coffey, P.; Elliott, J.; Jones, T. R.; Jones, R. C. et al. (2009): Molecular epidemiology and characterization of *Campylobacter* spp. isolated from wild bird populations in northern England. In: *Appl. Environ. Microbiol.* 75 (10), S. 3007–3015.
- Humphrey, T.; O'Brien, S.; Madsen, M. (2007): Campylobacters as zoonotic pathogens: a food production perspective. In: *Int. J. Food Microbiol.* 117 (3), S. 237–257.
- Hurcombe, S. D. A.; Fox, J. G.; Kohn, C. W. (2009): Isolation of *Campylobacter Fetus* Subspecies *Fetus* in a Two-Year-Old Quarterhorse with Chronic Diarrhea of an Undetermined Etiology. In: *J. Vet. Diagn. Invest.* 21 (2), S. 266–269.

- Hussain, I.; Shahid Mahmood, M.; Akhtar, M.; Khan, A. (2007): Prevalence of *Campylobacter* species in meat, milk and other food commodities in Pakistan. In: *Food Microbiol.* 24 (3), S. 219–222.
- Hutchinson, D. N.; Bolton, F. J. (1984): Improved blood free selective medium for the isolation of *Campylobacter jejuni* from faecal specimens. In: *J. Clin. Pathol.* 37 (8), S. 956–957.
- Inglis, G.; Kalischuk, L.; Busz, H. (2004): Chronic shedding of *Campylobacter* species in beef cattle. In: *J. Appl. Microbiol.* 97 (2), S. 410–420.
- Inglis, G. D.; Morck, D. W.; McAllister, T. A.; Entz, T.; Olson, M. E.; Yanke, L. J.; Read, R. R. (2006): Temporal Prevalence of Antimicrobial Resistance in *Campylobacter* spp. from Beef Cattle in Alberta Feedlots. In: *Appl. Environ. Microbiol.* 72 (6), S. 4088–4095.
- Iovine, N. M. (2013): Resistance mechanisms in *Campylobacter jejuni*. In: *virulence* 4 (3), S. 230–240.
- Iraola, G.; Hernández, M.; Calleros, L.; Paolicchi, F.; Silveyra, S.; Velilla, A. et al. (2012): Application of a multiplex PCR assay for *Campylobacter fetus* detection and subspecies differentiation in uncultured samples of aborted bovine fetuses. In: *J. Vet. Sci.* 13 (4), S. 371–376.
- Jacobs-Reitsma, W. F.; Bolder, N. M.; Mulder, R. W. (1994): Cecal carriage of *Campylobacter* and *Salmonella* in Dutch broiler flocks at slaughter: a one-year study. In: *Poult. Sci.* 73 (8), S. 1260–1266.
- Jacobs-Reitsma, W. F.; van de Giessen, A. W.; Bolder, N. M.; Mulder, R. W. (1995): Epidemiology of *Campylobacter* spp. at two Dutch broiler farms. In: *Epidemiol. Infect.* 114 (3), S. 413–421.
- Jeffrey, J. S.; Atwill, E. R.; Hunter, A. (2001): Prevalence of *Campylobacter* and *Salmonella* at a squab (young pigeon) processing plant. In: *Poult. Sci.* 80 (2), S. 151–155.
- Johannes, C. B.; Crawford, S. L.; McKinlay, J. B. (1997): Interviewer effects in a cohort study. Results from the Massachusetts Women's Health Study. In: *Am. J. Epidemiol.* 146 (5), S. 429–438.
- Johnsen, G.; Zimmerman, K.; Lindstedt, B.-A.; Vardund, T.; Herikstad, H.; Kapperud, G. (2006): Intestinal carriage of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* among cattle from south-western Norway and comparative genotyping of bovine and human isolates by amplified-fragment length polymorphism. In: *Acta Vet. Scand.* 48, S. 4.
- Jones, A.; Harrop, C. (1981): A study of *Campylobacter* enteritis. In: *J. Int. Med. Res.* 9 (1), S. 40–43.
- Jones, D. M.; Sutcliffe, E. M.; Curry, A. (1991): Recovery of viable but non-culturable *Campylobacter jejuni*. In: *J. Gen. Microbiol*. 137 (10), S. 2477–2482.
- Jones, K.; Howard, S.; Wallace, J. S. (1999): Intermittent shedding of thermophilic campylobacters by sheep at pasture. In: *J. Appl. Microbiol.* 86 (3), S. 531–536.
- Jones, K. (2001): Campylobacters in water, sewage and the environment. In: *Symp. Ser. Soc. Appl. Microbiol.* (30), S. 68S-79S.
- Jong, A. de; Bywater, R.; Butty, P.; Deroover, E.; Godinho, K.; Klein, U. et al. (2009): A pan-European survey of antimicrobial susceptibility towards human-use antimicrobial drugs among zoonotic and commensal enteric bacteria isolated from healthy food-producing animals. In: *J. Antimicrob. Chemother.* 63 (4), S. 733–744.
- Joshua, G. W. P.; Guthrie-Irons, C.; Karlyshev, A. V.; Wren, B. W. (2006): Biofilm formation in Campylobacter jejuni. In: *Microbiology* 152 (2), S. 387–396.
- Kapperud, G.; Lassen, J.; Ostroff, S. M.; Aasen, S. (1992a): Clinical features of sporadic *Campylobacter* infections in Norway. In: *Scand. J. Infect. Dis.* 24 (6), S. 741–749.

- Kapperud, G.; Skjerve, E.; Bean, N. H.; Ostroff, S. M.; Lassen, J. (1992b): Risk factors for sporadic *Campylobacter* infections: results of a case-control study in southeastern Norway. In: *J. Clin. Microbiol.* 30 (12), S. 3117–3121.
- Kapperud, G.; Espeland, G.; Wahl, E.; Walde, A.; Herikstad, H.; Gustavsen, S. et al. (2003): Factors associated with increased and decreased risk of *Campylobacter* infection: a prospective case-control study in Norway. In: *Am. J. Epidemiol.* 158 (3), S. 234–242.
- Karenlampi, R.; Rautelin, H.; Schonberg-Norio, D.; Paulin, L.; Hanninen, M.-L. (2006): Longitudinal Study of Finnish *Campylobacter jejuni* and *C. coli* Isolates from Humans, Using Multilocus Sequence Typing, Including Comparison with Epidemiological Data and Isolates from Poultry and Cattle. In: *Appl. Environ. Microbiol.* 73 (1), S. 148–155.
- Karmali, M. A.; Simor, A. E.; Roscoe, M.; Fleming, P. C.; Smith, S. S.; Lane, J. (1986): Evaluation of a blood-free, charcoal-based, selective medium for the isolation of *Campylobacter* organisms from feces. In: *J. Clin. Microbiol.* 23 (3), S. 456–459.
- Kasimir, S. (2005): Verlaufsuntersuchungen zum Vorkommen potentiell humanpathogener Yersinia enterocoliti und *Campylobacter* spp. in Schweinebeständen von der Geburt bis zur Schlachtung sowie Genotypisierung ausgewählter Isolate. 1. Aufl. (Edition scientifique)
- Kayman T, A. S. H. H. (2013): Identification of *Campylobacter* spp. isolates with phenotypic methods and multiplex polymerase chain reaction and their antibiotic susceptibilities. In: *Mikrobiyol. Bul.* 47(2):230-9.
- Keithlin, J.; Sargeant, J.; Thomas, M. K.; Fazil, A. (2014): Systematic review and meta-analysis of the proportion of *Campylobacter* cases that develop chronic sequelae. In: *BMC Public Health* 14 (1), S. 1203.
- Kemp, R.; Leatherbarrow, A. J. H.; Williams, N. J.; Hart, C. A.; Clough, H. E.; Turner, J. et al. (2005): Prevalence and genetic diversity of *Campylobacter* spp. in environmental water samples from a 100-square-kilometer predominantly dairy farming area. In: *Appl. Environ. Microbiol.* 71 (4), S. 1876–1882.
- Klein, D.; Alispahic, M.; Sofka, D.; Iwersen, M.; Drillich, M.; Hilbert, F. (2013): Prevalence and risk factors for shedding of thermophilic *Campylobacter* in calves with and without diarrhea in Austrian dairy herds. In: *J. Dairy Sci.* 96 (2), S. 1203–1210.
- Koene, M. G. J.; Houwers, D. J.; Dijkstra, J. R.; Duim, B.; Wagenaar, J. A. (2004): Simultaneous Presence of Multiple *Campylobacter* Species in Dogs. In: *J. Clin. Microbiol.* 42 (2), S. 819–821
- Koene, M. G. J.; Houwers, D. J.; Dijkstra, J. R.; Duim, B.; Wagenaar, J. A. (2009): Strain variation within *Campylobacter* species in fecal samples from dogs and cats. In: *Vet. Microbiol.* 133 (1-2), S. 199–205.
- Kohler, R.; Krause, G.; Beutin, L.; Stephan, R.; Zweifel, C. (2008): Shedding of food-borne pathogens and microbiological carcass contamination in rabbits at slaughter. In: *V. Microbiol.* 132 (1-2), S. 149–157.
- Kosinc, A. (2011): Vorkommen von *Salmonella* spp. und *Campylobacter* spp.in Schweinemastbeständen in Baden-Württemberg. 1. Aufl. Giessen (Edition scientifique).
- Kovačić, A.; Listeš, I.; Vučica, C.; Kozačinski, L.; Tripković, I.; Siško-Kraljević, K. (2013): Distribution and genotypic characterization of *Campylobacter jejuni* isolated from poultry in Split and Dalmatia County, Croatia. In: *Zoonoses Public Health* 60 (4), S. 269–276.
- Kulkarni, S. P.; Lever, S.; Logan, J. M. J.; Lawson, A. J.; Stanley, J.; Shafi, M. S. (2002): Detection of *Campylobacter* species: a comparison of culture and polymerase chain reaction based methods. In: *J. Clin. Pathol.* 55 (10), S. 749–753.

- Kuusi, M.; Nuorti, J. P.; Hänninen, M. L.; Koskela, M.; Jussila, V.; Kela, E. et al. (2005): A large outbreak of campylobacteriosis associated with a municipal water supply in Finland. In: *Epidemiol. Infect.* 133 (4), S. 593–601.
- Labarca, J. A.; Sturgeon, J.; Borenstein, L.; Salem, N.; Harvey, S. M.; Lehnkering, E. et al. (2002): *Campylobacter upsaliensis*: Another pathogen for consideration in the United States. In: *Clin. Infect. Dis.* 34 (11), S. E59-60.
- Langen, M. (2008): Phylogenetische Charakterisierung von *Campylobacter*-Isolaten aus der Geflügelschlachtung. 1. Aufl. Hannover (Edition scientifique).
- Lastovica, A. J.; Le Roux, E. (2000): Efficient isolation of campylobacteria from stools. In: *J. Clin. Microbiol.* 38 (7), S. 2798–2799.
- Lastovica, A. J.; Le Roux, E. (2003): Optimal detection of *Campylobacter* spp in stools. In: *J. Clin. Pathol.* 56 (6), S. 480.
- Lawson, A. J.; Linton, D.; Stanley, J.; Owen, R. J. (1997): Polymerase chain reaction detection and speciation of *Campylobacter upsaliensis* and *C. helveticus* in human faeces and comparison with culture techniques. In: *J. Appl. Microbiol.* 83 (3), S. 375–380.
- Lawson, A. J.; Shafi, M. S.; Pathak, K.; Stanley, J. (1998): Detection of *Campylobacter* in gastroenteritis: comparison of direct PCR assay of faecal samples with selective culture. In: *Epidemiol. Infect.* 121 (3), S. 547–553.
- Lawson, A. J.; Logan, J. M.; O'neill, G. L.; Desai, M.; Stanley, J. (1999): Large-scale survey of *Campylobacter* species in human gastroenteritis by PCR and PCR-enzyme-linked immunosorbent assay. In: *J. Clin. Microbiol.* 37 (12), S. 3860–3864.
- Lazou, T.; Houf, K.; Soultos, N.; Dovas, C.; Iossifidou, E. (2014): *Campylobacter* in small ruminants at slaughter: Prevalence, pulsotypes and antibiotic resistance. In: *Int. J. Food Microbiol.* 173, S. 54–61.
- Lecuit, M.; Abachin, E.; Martin, A.; Poyart, C.; Pochart, P.; Suarez, F. et al. (2004): Immunoproliferative small intestinal disease associated with *Campylobacter jejuni*. In: *N. Engl. J. Med.* 350 (3), S. 239–248.
- Lee, A.; Smith, S. C.; Coloe, P. J. (1998): Survival and growth of *Campylobacter jejuni* after artificial inoculation onto chicken skin as a function of temperature and packaging conditions. In: *J. Food Prot.* 61 (12), S. 1609–1614.
- Lee, M. K.; Billington, S. J.; Joens, L. A. (2004): Potential virulence and antimicrobial susceptibility of *Campylobacter jejuni* isolates from food and companion animals. In: *Foodborne Pathog. Dis.* 1 (4), S. 223–230.
- Lefebvre, S. L.; Waltner-Toews, D.; Peregrine, A. S.; Reid-Smith, R.; Hodge, L.; Arroyo, L. G.; Weese, J. S. (2006): Prevalence of zoonotic agents in dogs visiting hospitalized people in Ontario: implications for infection control. In: *J. Hosp. Infect.* 62 (4), S. 458–466.
- Leonard, E. K.; Pearl, D. L.; Janecko, N.; Weese, J. S.; Reid-Smith, R. J.; Peregrine, A. S.; Finley, R. L. (2011): Factors related to *Campylobacter* spp. carriage in client-owned dogs visiting veterinary clinics in a region of Ontario, Canada. In: *Epidemiol. Infect.* 139 (10), S. 1531–1541.
- Lévesque, S.; Frost, E.; Arbeit, R. D.; Michaud, S. (2008): Multilocus Sequence Typing of *Campylobacter jejuni* Isolates from Humans, Chickens, Raw Milk, and Environmental Water in Quebec, Canada. In: *J. Clin. Microbiol.* 46 (10), S. 3404–3411.
- Lévesque, S.; St-Pierre, K.; Frost, E.; Arbeit, R. D.; Michaud, S. (2011): Determination of the optimal culture conditions for detecting thermophilic campylobacters in environmental water. In: *J. Microbiol. Meth.* 86 (1), S. 82–88.

- Lillehaug, A.; Monceyron Jonassen, C.; Bergsjø, B.; Hofshagen, M.; Tharaldsen, J.; Nesse, L. L.; Handeland, K. (2005): Screening of feral pigeon (Colomba livia), mallard (Anas platyrhynchos) and graylag goose (Anser anser) populations for *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp., avian influenza virus and avian paramyxovirus. In: *Acta Vet. Scand.* 46 (4), S. 193–202.
- Lin, J.; Michel, L. O.; Zhang, Q. (2002): CmeABC functions as a multidrug efflux system in *Campylobacter jejuni*. In: *Antimicrob. Agents Chemother*. 46 (7), S. 2124–2131.
- Lin, J.; Yan, M.; Sahin, O.; Pereira, S.; Chang, Y.; Zhang, Q. (2007): Effect of macrolide usage on emergence of erythromycin-resistant *Campylobacter* isolates in chickens. In: *Antimicrob. Agents Chemother.* 51 (5), S. 1678–1686.
- Linton, D.; Lawson, A. J.; Owen, R. J.; Stanley, J. (1997): PCR detection, identification to species level, and fingerprinting of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* direct from diarrheic samples. In: *J. Clin. Microbiol.* 35 (10), S. 2568–2572.
- Lior, H.; Woodward, D.; Edgar, J.; Laroche, L.; Gill, P. (1982): Serotyping of *Campylobacter jejuni* by slide agglutination based on heat-labile antigenic factors. In: *J. Clin. Microbiol.* 15, 761-768.
- Little, C. L.; Richardson, J. F.; Owen, R. J.; Pinna, E. de; Threlfall, E. J. (2008): *Campylobacter* and *Salmonella* in raw red meats in the United Kingdom: prevalence, characterization and antimicrobial resistance pattern, 2003-2005. In: *Food Microbiol.* 25 (3), S. 538–543.
- Logue, C. M.; Danzeisen, G. T.; Sherwood, J. S.; Thorsness, J. L.; Mercier, B. M.; Axtman, J. E. (2010): Repeated therapeutic dosing selects macrolide-resistant *Campylobacter* spp. in a turkey facility. In: *J. Appl. Microbiol.* 109 (4), S. 1379–1388.
- López, C. M.; Giacoboni, G.; Agostini, A.; Cornero, F. J.; Tellechea, D. M.; Trinidad, J. J. (2002): Thermotolerant campylobacters in domestic animals in a defined population in Buenos Aires, Argentina. In: *Prev. Vet. Med.* 55 (3), S. 193–200.
- Louis, V. R.; Gillespie, I. A.; O'Brien, S. J.; Russek-Cohen, E.; Pearson, A. D.; Colwell, R. R. (2005): Temperature-Driven *Campylobacter* Seasonality in England and Wales. In: *Appl. Environ. Microbiol.* 71 (1), S. 85–92.
- Luangtongkum, T.; Jeon, B.; Han, J.; Plummer, P.; Logue, C. M.; Zhang, Q. (2009): Antibiotic resistance in *Campylobacter*. Emergence, transmission and persistence. In: *Future Microbiol.* 4 (2), S. 189–200.
- Luo, N.; Pereira, S.; Sahin, O.; Lin, J.; Huang, S.; Michel, L.; Zhang, Q. (2005): Enhanced in vivo fitness of fluoroquinolone-resistant *Campylobacter jejuni* in the absence of antibiotic selection pressure. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 102 (3), S. 541–546.
- Macartney, L.; Al-Mashat, R. R.; Taylor, D. J.; McCandlish, I. A. (1988): Experimental infection of dogs with *Campylobacter jejuni*. In: *Vet. Rec.* 122 (11), S. 245–249.
- Macuch, P. J.; Tanner, A. C. (2000): *Campylobacter* species in health, gingivitis, and periodontitis. In: *J. Dent. Res.* 79 (2), S. 785–792.
- Madden, R. H.; Moran, L.; Scates, P. (2000): Optimising recovery of *Campylobacter* spp. from the lower porcine gastrointestinal tract. In: *J. Microbiol. Methods* 42 (2), S. 115–119.
- Maiden, M. C.; Bygraves, J. A.; Feil, E.; Morelli, G.; Russell, J. E.; Urwin, R. et al. (1998): Multilocus sequence typing: a portable approach to the identification of clones within populations of pathogenic microorganisms. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 95 (6), S. 3140–3145.
- Man, S. M. (2011): The clinical importance of emerging *Campylobacter* species. In: *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 8 (12), S. 669–685.

Mannering, S. A.; Marchant, R. M.; Middelberg, A.; Perkins, N. R.; West, D. M.; Fenwick, S. G. (2003): Pulsed-field gel electrophoresis typing of *Campylobacter fetus* subsp. *fetus* from sheep abortions in the Hawke's Bay region of New Zealand. In: *N. Z. Vet. J.* 51 (1), S. 33–37.

Marinou, I.; Bersimis, S.; Ioannidis, A.; Nicolaou, C.; Mitroussia-Ziouva, A.; Legakis, N. J.; Chatzipanagiotou, S. (2012): Identification and antimicrobial resistance of *Campylobacter* species isolated from animal sources. In: *Front. Microbiol.* 3, S. 58.

Marshall, B. M.; Levy, S. B. (2011): Food Animals and Antimicrobials: Impacts on Human Health. In: *Clin. Microbiol. Rev.* 24 (4), S. 718–733.

Martin, P. M.; Mathiot, J.; Ipero, J.; Kirimat, M.; Georges, A. J.; Georges-Courbot, M. C. (1989): Immune response to *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in a cohort of children from birth to 2 years of age. In: *Infect. Immun.* 57 (8), S. 2542–2546.

Mateo, E.; Cárcamo, J.; Urquijo, M.; Perales, I.; Fernández-Astorga, A. (2005): Evaluation of a PCR assay for the detection and identification of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in retail poultry products. In: *Res. Microbiol.* 156 (4), S. 568–574.

Matsheka, M. I.; Lastovica, A. J.; Zappe, H.; Elisha, B. G. (2006): The use of (GTG)5 oligonucleotide as an RAPD primer to type *Campylobacter concisus*. In: *Lett. Appl. Microbiol.* 42 (6), S. 600–605.

McCarthy, N. D.; Colles, F. M.; Dingle, K. E.; Bagnall, M. C.; Manning, G.; Maiden, M. C. J.; Falush, D. (2007): Host-associated genetic import in *Campylobacter jejuni*. In: *Emerging Infect*. *Dis.* 13 (2), S. 267–272.

McCullough, N. B. (1951): Relative pathogenicity of certain *Salmonella* strains for man and mice. In: *Public Health Rep.* 66 (47), S. 1538–1540.

McDermott, P. F.; Bodeis, S. M.; English, L. L.; White, D. G.; Walker, R. D.; Zhao, S. et al. (2002): Ciprofloxacin resistance in *Campylobacter jejuni* evolves rapidly in chickens treated with fluoroquinolones. In: *J. Infect. Dis.* 185 (6), S. 837–840.

McKay, D.; Fletcher, J.; Cooper, P.; Thomson-Carter, F. M. (2001): Comparison of Two Methods for Serotyping *Campylobacter* spp. In: *J. Clin. Microbiol.* 39 (5), S. 1917–1921.

Mead, P. S.; Slutsker, L.; Dietz, V.; McCaig, L. F.; Bresee, J. S.; Shapiro, C. et al. (1999): Food-related illness and death in the United States. In: *Emerging Infect. Dis.* 5 (5), S. 607–625.

Meanger, J. D.; Marshall, R. B. (1989): *Campylobacter jejuni* infection within a laboratory animal production unit. In: *Lab. Anim.* 23 (2), S. 126–132.

Medema, G. J.; Schets, F. M.; van de Giessen, A. W.; Havelaar, A. H. (1992): Lack of colonization of 1 day old chicks by viable, non-culturable *Campylobacter jejuni*. In: *J. Appl. Bacteriol*. 72 (6), S. 512–516.

Meerburg, B. G.; Jacobs-Reitsma, W. F.; Wagenaar, J. A.; Kijlstra, A. (2006): Presence of *Salmonella* and *Campylobacter* spp. in Wild Small Mammals on Organic Farms. In: *Appl. Environ. Microbiol.* 72 (1), S. 960–962.

Mégraud, F. (1987): Isolation of *Campylobacter* spp. from pigeon feces by a combined enrichment-filtration technique. In: *Appl. Environ. Microbiol.* 53 (6), S. 1394–1395.

Meinersmann, R. J.; Helsel, L. O.; Fields, P. I.; Hiett, K. L. (1997): Discrimination of *Campylobacter jejuni* isolates by fla gene sequencing. In: *J. Clin. Microbiol.* 35 (11), S. 2810–2814.

Michaud, S.; Ménard, S.; Arbeit, R. D. (2004): Campylobacteriosis, Eastern Townships, Quebec. In: *Emerging Infect. Dis.* 10 (10), S. 1844–1847.

Mihaljevic, R. R.; Sikic, M.; Klancnik, A.; Brumini, G.; Mozina, S. S.; Abram, M. (2007): Environmental stress factors affecting survival and virulence of *Campylobacter jejuni*. In: *Microb. Pathog.* 43 (2-3), S. 120–125.

- Miller, W. G.; On, S. L. W.; Wang, G.; Fontanoz, S.; Lastovica, A. J.; Mandrell, R. E. (2005): Extended Multilocus Sequence Typing System for *Campylobacter coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis*, and *C. helveticus*. In: *J. Clin. Microbiol*. 43 (5), S. 2315–2329.
- Milnes, A. S.; Stewart, I.; Clifton-Hadley, F. A.; Davies, R. H.; Newell, D. G.; Sayers, A. R. et al. (2008): Intestinal carriage of verocytotoxigenic *Escherichia coli* O157, *Salmonella*, thermophilic *Campylobacter* and *Yersinia enterocolitica*, in cattle, sheep and pigs at slaughter in Great Britain during 2003. In: *Epidemiol. Infect.* 136 (6), S. 739–751.
- Modolo, J. R.; Giuffrida, R.; M. Lopes, C. de (2003): Antimicrobial susceptibility of 51 *Campylobacter* strains isolated from diarrheic and diarrhea-free dogs. In: *Arq. Inst. Biol.* 70 (3), S. 283–286.
- Modolo, J. R.; Giuffrida, R. (2004): *Campylobacter upsaliensis* isolated from young dogs with and without diarrhea. In: *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 37 (1), S. 72–73.
- Molina, J.; Casin, I.; Hausfater, P.; Giretti, E.; Welker, Y.; Decazes, J. et al. (1995): *Campylobacter* infections in HIV-infected patients: clinical and bacteriological features. In: *AIDS* 9 (8), S. 881–885.
- Moore, J.; Caldwell, P.; Millar, B. (2001): Molecular detection of *Campylobacter* spp. in drinking, recreational and environmental water supplies. In: *Int. J. Hyg. Environ. Health* 204 (2-3), S. 185–189.
- Moore, J. E.; Corcoran, D.; Dooley, J. S. G.; Fanning, S.; Lucey, B.; Matsuda, M. et al. (2005): *Campylobacter*. In: *Vet. Res.* 36 (3), S. 351–382.
- Moore, J. E.; Barton, M. D.; Blair, I. S.; Corcoran, D.; Dooley, J. S. G.; Fanning, S. et al. (2006): The epidemiology of antibiotic resistance in *Campylobacter*. In: *Microbes Infect*. 8 (7), S. 1955–1966.
- Morgan, D.; Gunneberg, C.; Gunnell, D.; Healing, T. D.; Lamerton, S.; Soltanpoor, N. et al. (1994): An outbreak of *Campylobacter* infection associated with the consumption of unpasteurised milk at a large festival in England. In: *Eur. J. Epidemiol.* 10 (5), S. 581–585.
- Moriarty, E.M.; Sinton, L.; Mackenzie, M.; Karki, N.; Wood, D. (2008): A survey of enteric bacteria and protozoans in fresh bovine faeces on New Zealand dairy farms. In: *J. Appl. Microbiol.* 105 (6), S. 2015–2025.
- Moriarty, E. M.; Downing, M.; Bellamy, J.; Gilpin, B. J. (2015): Concentrations of faecal coliforms, *Escherichia coli*, enterococci and *Campylobacter* spp. in equine faeces. In: *N. Z. Vet. J.* 63 (2), S. 104–109.
- Moser, I.; Rieksneuwohner, B.; Lentzsch, P.; Schwerk, P.; Wieler, L. H. (2001): Genomic Heterogeneity and O-Antigenic Diversity of Campylobacter upsaliensis and *Campylobacter helveticus* Strains Isolated from Dogs and Cats in Germany. In: *J. Clin. Microbiol.* 39 (7), S. 2548–2557.
- Müller, H. E. (2002): Lebensmittelinfektionen und -vergiftungen. Klinik, Therapie und gesetzliche Grundlagen zur Verhütung. Hamburg: Behr's Verlag.
- Mughini Gras, L.; Smid, J. H.; Wagenaar, J. A.; Boer, A. G. d.; Havelaar, A. H.; Friesema, I. H. M. et al. (2012): Risk factors for campylobacteriosis of chicken, ruminant, and environmental origin: a combined case-control and source attribution analysis. In: *PLoS ONE* 7 (8), S. e42599.
- Mullner, P.; Spencer, S. E.; Wilson, D. J.; Jones, G.; Noble, A. D.; Midwinter, A. C. et al. (2009): Assigning the source of human campylobacteriosis in New Zealand: A comparative genetic and epidemiological approach. In: *Infect. Genet. Evol.* 9 (6), S. 1311–1319.
- Nachamkin, Irving (Hg.) (2000): Campylobacter. 2. Aufl. Washington, DC: ASM Press.

Nachamkin, Irving; Szymanski, Christine M.; Blaser, Martin J. (2008): *Campylobacter*. 3. Aufl. Washington, DC: ASM Press.

Nakari, U.-M.; Puhakka, A.; Siitonen, A. (2008): Correct identification and discrimination between *Campylobacter jejuni* and *C. coli* by a standardized hippurate test and species-specific polymerase chain reaction. In: *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 27 (7), S. 513–518.

Neimann, J.; Engberg, J.; Mølbak, K.; Wegener, H. C. (2003): A case-control study of risk factors for sporadic *Campylobacter* infections in Denmark. In: *Epidemiol. Infect.* 130 (3), S. 353–366.

Netherwood, T.; Wood, J. L.; Townsend, H. G.; Mumford, J. A.; Chanter, N. (1996): Foal diarrhoea between 1991 and 1994 in the United Kingdom associated with *Clostridium perfringens*, rotavirus, *Strongyloides westeri* and *Cryptosporidium* spp. In: *Epidemiol. Infect.* 117 (2), S. 375–383.

Neubauer, C.; Hess, M. (2006): Detection and identification of food-borne pathogens of the genera *Campylobacter*, *Arcobacter* and *Helicobacter* by multiplex PCR in poultry and poultry products. In: *J. Vet. Med. B Infect. Dis. Vet. Public Health* 53 (8), S. 376–381.

Ng, L. K.; Sherburne, R.; Taylor, D. E.; Stiles, M. E. (1985): Morphological forms and viability of *Campylobacter* species studied by electron microscopy. In: *J. Bacteriol.* 164 (1), S. 338–343.

Ngulukun, S. S.; Oboegbulem, S. I.; Fagbamila, I. O.; Emennaa, P. E.; Ankeli, P. I.; Ardzard, S. S. et al. (2010): Isolation of thermophilic *Campylobacter* species from Japanese quails (Coturnix coturnix) in Vom, Nigeria. In: *Vet. Rec.* 166 (5), S. 147–148.

Nguyen, H. T. T.; Corry, J. E. L.; Miles, C. A. (2006): Heat Resistance and Mechanism of Heat Inactivation in Thermophilic campylobacters. In: *Appl. Environ. Microbiol.* 72 (1), S. 908–913.

Nichols, G. L. (2005): Fly transmission of *Campylobacter*. In: *Emerging Infect. Dis.* 11 (3), S. 361–364.

Nichols, G. L.; Richardson, J. F.; Sheppard, S. K.; Lane, C.; Sarran, C. (2012): *Campylobacter* epidemiology: a descriptive study reviewing 1 million cases in England and Wales between 1989 and 2011. In: *BMJ Open* 2 (4).

Nielsen, E. M.; Engberg, J.; Fussing, V.; Petersen, L.; Brogren, C. H.; On, S. L. (2000): Evaluation of phenotypic and genotypic methods for subtyping *Campylobacter jejuni* isolates from humans, poultry, and cattle. In: *J. Clin. Microbiol.* 38 (10), S. 3800–3810.

Nielsen, H.; Hansen, K. K.; Gradel, K. O.; Kristensen, B.; Ejlertsen, T.; Østergaard, C.; Schønheyder, H. C. (2010): Bacteraemia as a result of *Campylobacter* species: a population-based study of epidemiology and clinical risk factors. In: *Clin. Microbiol. Infect.* 16 (1), S. 57–61.

Noormohamed, A.; Fakhr, M. K. (2013): A higher prevalence rate of *Campylobacter* in retail beef livers compared to other beef and pork meat cuts. In: *Int. J. Environ. Res. Public Health* 10 (5), S. 2058–2068.

Nuijten, P. J.; van Asten, F. J.; Gaastra, W.; van der Zeijst, B. A. (1990): Structural and functional analysis of two *Campylobacter jejuni* flagellin genes. In: *J. Biol. Chem.* 265 (29), S. 17798–17804.

Nylen, G.; Dunstan, F.; Palmer, S. R.; Andersson, Y.; Bager, F.; Cowden, J. et al. (2002): The seasonal distribution of *Campylobacter* infection in nine European countries and New Zealand. In: *Epidemiol. Infect.* 128 (3), S. 383–390.

Obiri-Danso, K.; Jones, K. (1999): Distribution and seasonality of microbial indicators and thermophilic campylobacters in two freshwater bathing sites on the River Lune in northwest England. In: *J. Appl. Microbiol.* 87 (6), S. 822–832.

- Obiri-Danso, K.; Paul, N.; Jones, K. (2001): The effects of UVB and temperature on the survival of natural populations and pure cultures of *Campylobacter jejuni*, *Camp. coli*, *Camp. lari* and urease-positive thermophilic campylobacters (UPTC) in surface waters. In: *J. Appl. Microbiol*. 90 (2), S. 256–267.
- Oliver, J. D. (2010): Recent findings on the viable but nonculturable state in pathogenic bacteria. In: *FEMS Microbiol. Rev.* 34 (4), S. 415–425.
- Olson, P.; Sandstedt, K. (1987): *Campylobacter* in the dog: a clinical and experimental study. In: *Vet. Rec.* 121 (5), S. 99–101.
- On, S. L. (1996): Identification methods for campylobacters, helicobacters, and related organisms. In: *Clin. Microbiol. Rev.* 9 (3), S. 405–422.
- On, S. L. (2001): Taxonomy of *Campylobacter*, *Arcobacter*, *Helicobacter* and related bacteria: current status, future prospects and immediate concerns. In: *Symp. Ser. Soc. Appl. Microbiol.* (30), S. 1S-15S.
- On, S. L. (2013): Isolation, identification and subtyping of *Campylobacter*: Where to from here? In: *J. Microbiol. Meth.* 95 (1), S. 3–7.
- Oporto, B.; Esteban, J. I.; Aduriz, G.; Juste, R. A.; Hurtado, A. (2007): Prevalence and strain diversity of thermophilic campylobacters in cattle, sheep and swine farms. In: *J. Appl. Microbiol.* 103 (4), S. 977–984.
- Oporto, B.; Juste, R. A.; Hurtado, A. (2009): Phenotypic and Genotypic Antimicrobial Resistance Profiles of *Campylobacter jejuni* Isolated from Cattle, Sheep, and Free-Range Poultry Faeces. In: *Int. J. Microbiol.* 2009 (1), S. 1–8.
- Orr, K. E.; Lightfoot, N. F.; Sisson, P. R.; Harkis, B. A.; Tweddle, J. L.; Boyd, P. et al. (1995): Direct milk excretion of *Campylobacter jejuni* in a dairy cow causing cases of human enteritis. In: *Epidemiol. Infect.* 114 (1), S. 15–24.
- Oyarzabal, O. A.; Conner, D. E.; Hoerr, F. J. (1995): Incidence of campylobacters in the intestine of avian species in Alabama. In: *Avian Dis.* 39 (1), S. 147–151.
- Padungton, P.; Kaneene, J. B. (2003): *Campylobacter* spp. in human, chickens, pigs and their antimicrobial resistance. In: *J. Vet. Med. Sci.* 65 (2), S. 161–170.
- Paisley, J. W.; Mirrett, S.; Lauer, B. A.; Roe, M.; Reller, L. B. (1982): Dark-field microscopy of human feces for presumptive diagnosis of *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni* enteritis. In: *J. Clin. Microbiol.* 15 (1), S. 61–63.
- Park, S. F. (2002): The physiology of *Campylobacter* species and its relevance to their role as foodborne pathogens. In: *Int. J. Food Microbiol.* 74 (3), S. 177–188.
- Parsons, B. N.; Cody, A. J.; Porter, C. J.; Stavisky, J. H.; Smith, J. L.; Williams, N. J. et al. (2009): Typing of *Campylobacter jejuni* Isolates from Dogs by Use of Multilocus Sequence Typing and Pulsed-Field Gel Electrophoresis. In: *J. Clin. Microbiol.* 47 (11), S. 3466–3471.
- Parsons, B. N.; Porter, C. J.; Ryvar, R.; Stavisky, J.; Williams, N. J.; Pinchbeck, G. L. et al. (2010): Prevalence of *Campylobacter* spp. in a cross-sectional study of dogs attending veterinary practices in the UK and risk indicators associated with shedding. In: *Vet. J.* 184 (1), S. 66–70
- Parsons, B. N.; Williams, N. J.; Pinchbeck, G. L.; Christley, R. M.; Hart, C. A.; Gaskell, R. M.; Dawson, S. (2011): Prevalence and shedding patterns of *Campylobacter* spp. in longitudinal studies of kennelled dogs. In: *Vet. J.* 190 (2), S. 249–254.
- Payot, S.; Bolla, J.; Corcoran, D.; Fanning, S.; Mégraud, F.; Zhang, Q. (2006): Mechanisms of fluoroquinolone and macrolide resistance in *Campylobacter* spp. In: *Microbes Infect*. 8 (7), S. 1967–1971.

Penner, J. L. (1988): The genus *Campylobacter*: a decade of progress. In: *Clin. Microbiol. Rev.* 1 (2), S. 157–172.

Penner, J. L.; Hennessy, J. (1980): Passive hemagglutination technique for serotyping *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni* on the basis of soluble heat-stable antigens. In: *J. Clin. Microbiol.* 12, S. 732–737.

Petersen, L.; Nielsen, E. M.; Engberg, J.; On, S. L.; Dietz, H. H. (2001): Comparison of genotypes and serotypes of *Campylobacter jejuni* isolated from Danish wild mammals and birds and from broiler flocks and humans. In: *Appl. Environ. Microbiol.* 67 (7), S. 3115–3121.

Pezzotti, G.; Serafin, A.; Luzzi, I.; Mioni, R.; Milan, M.; Perin, R. (2003): Occurrence and resistance to antibiotics of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in animals and meat in northeastern Italy. In: *Int. J. Food Microbiol.* 82 (3), S. 281–287.

Pielsticker, C.; Glünder, G.; Rautenschlein, S. (2012): Colonization properties of *Campylobacter jejuni* in chickens. In: *Eur. J. Microbiol. Immunol. (Bp)* 2 (1), S. 61–65.

Platts-Mills, J. A.; Kosek, M. (2014): Update on the burden of *Campylobacter* in developing countries. In: *Curr. Opin. Infect. Dis.* 27 (5), S. 444–450.

Polák, P.; Juránková, J.; Husa, P. (2014): Kampylobakterioza. In: *Klin. Mikrobiol. Infekc. Lek.* 20 (2), S. 50–54.

Prescott, J. F.; Karmali, M. A. (1978): Attempts to transmit campylobacter enteritis to dogs and cats. In: *Can. Med. Assoc. J.* 119 (9), S. 1001–1002.

Price, L. B.; Lackey, L. G.; Vailes, R.; Silbergeld, E. (2007): The persistence of fluoroquino-lone-resistant *Campylobacter* in poultry production. In: *Environ. Health Perspect.* 115 (7), S. 1035–1039.

Procter, T. D.; Pearl, D. L.; Finley, R. L.; Leonard, E. K.; Janecko, N.; Reid-Smith, R. J. et al. (2013): A Cross-Sectional Study Examining *Campylobacter* and Other Zoonotic Enteric Pathogens in Dogs that Frequent Dog Parks in Three Cities in South-Western Ontario and Risk Factors for Shedding of *Campylobacter* spp. In: *Zoonoses Public Health* 61 (3), S. 208–218.

Qin, S.; Wu, C.; Wu, Y.; Jeon, B.; Shen, Z.; Wang, Y. et al. (2011): Antimicrobial resistance in *Campylobacter coli* isolated from pigs in two provinces of China. In: *Int. J. Food Microbiol.* 146 (1), S. 94–98.

Quintana-Hayashi, M. P.; Thakur, S. (2012): Longitudinal Study of the Persistence of Antimicrobial-Resistant *Campylobacter* Strains in Distinct Swine Production Systems on Farms, at Slaughter, and in the Environment. In: *Appl. Environ. Microbiol.* 78 (8), S. 2698–2705.

Raghunath, V.; Banker, D. D. (1993): Isolation of *Campylobacter* from human and other sources in Bombay. In: *Indian J. Pathol. Microbiol.* 36 (3), S. 211–214.

Ragimbeau, C.; Schneider, F.; Losch, S.; Even, J.; Mossong, J. (2008): Multilocus Sequence Typing, Pulsed-Field Gel Electrophoresis, and fla Short Variable Region Typing of Clonal Complexes of *Campylobacter jejuni* Strains of Human, Bovine, and Poultry Origins in Luxembourg. In: *Appl. Environ. Microbiol.* 74 (24), S. 7715–7722.

Rahimi, E.; Ameri, M.; Kazemeini, H. R. (2010): Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* species isolated from raw camel, beef, lamb, and goat meat in Iran. In: *Foodborne Pathog. Dis.* 7 (4), S. 443–447.

Rahimi, E.; Tajbakhsh, E. (2008): Prevalence of *Campylobacter* species in poultry meat in the Esfahan city, Iran. In: *Bulg. J. Vet. Med.* 11 (4), S. 257–262.

Rechenburg, A. (2008): Vorkommen von *Campylobacter* spp. in Oberflächengewässern – Eintragspfade, Nutzungskonflikte und Gesundheitsgefährdung –. 1. Aufl. Bonn (Edition scientifique).

- Rees, J. H.; Soudain, S. E.; Gregson, N. A.; Hughes, R. A. (1995): *Campylobacter jejuni* infection and Guillain-Barré syndrome. In: *N. Engl. J. Med.* 333 (21), S. 1374–1379.
- Reuter, M.; Mallett, A.; Pearson, B. M.; van Vliet, A. H. M. (2010): Biofilm Formation by *Campylobacter jejuni* is Increased under Aerobic Conditions. In: *Appl. Environ. Microbiol.* 76 (7), S. 2122–2128.
- Revez, J.; Rossi, M.; Piva, S.; Florio, D.; Lucchi, A.; Parisi, A. et al. (2013): Occurrence of ε-proteobacterial species in rabbits (Oryctolagus cuniculus) reared in intensive and rural farms. In: *Vet. Microbiol.* 162 (1), S. 288–292.
- Richardson, G.; Thomas, D. R.; Smith, R. M. M.; Nehaul, L.; Ribeiro, C. D.; Brown, A. G.; Salmon, R. L. (2007): A community outbreak of *Campylobacter jejuni* infection from a chlorinated public water supply. In: *Epidemiol. Infect.* 135 (7), S. 1151–1158.
- Robinson, D. A. (1981): Infective dose of *Campylobacter jejuni* in milk. In: *Br. Med. J.* 282 (6276), S. 1584.
- Rollins, D. M.; Colwell, R. R. (1986): Viable but nonculturable stage of *Campylobacter jejuni* and its role in survival in the natural aquatic environment. In: *Appl. Environ. Microbiol.* 52 (3), S. 531–538.
- Rosef, O.; Kapperud, G. (1983): House flies (Musca domestica) as possible vectors of *Campyl-obacter fetus* subsp. *jejuni*. In: *Appl. Environ. Microbiol.* 45 (2), S. 381–383.
- Rossi, M.; Hänninen, M.; Revez, J.; Hannula, M.; Zanoni, R. (2008): Occurrence and species level diagnostics of *Campylobacter* spp., enteric *Helicobacter* spp. and *Anaerobiospirillum* spp. in healthy and diarrheic dogs and cats. In: *Vet. Microbiol.* 129 (3-4), S. 304–314.
- Roug, A.; Byrne, B. A.; Conrad, P. A.; Miller, W. A. (2013): Zoonotic fecal pathogens and antimicrobial resistance in county fair animals. In: *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 36 (3), S. 303–308.
- Roux, F.; Sproston, E.; Rotariu, O.; MacRae, M.; Sheppard, S. K.; Bessell, P. et al. (2013): Elucidating the aetiology of human *Campylobacter coli* infections. In: *PLoS ONE* 8 (5), S. e64504.
- Ruiz-Palacios, G. M. (2007): The health burden of *Campylobacter* infection and the impact of antimicrobial resistance: playing chicken. In: *Clin. Infect. Dis.* 44 (5), S. 701–703.
- Ruusunen, M.; Salonen, M.; Pulkkinen, H.; Huuskonen, M.; Hellström, S.; Revez, J. et al. (2013): Pathogenic bacteria in Finnish bulk tank milk. In: *Foodborne Pathog. Dis.* 10 (2), S. 99–106.
- Sacchi, R.; Gentilli A.; Razzetti, E.; Barbieri, F. (2002): Effects of building features on density and flock distribution of feral pigeons Columba livia var. domestica in an urban environment. In: *Can. J. Zool.* 80 (1), S. 48–54.
- Saeed, A. M.; Harris, N. V.; DiGiacomo, R. F. (1993): The role of exposure to animals in the etiology of *Campylobacter jejuni/coli* enteritis. In: *Am. J. Epidemiol.* 137 (1), S. 108–114.
- Sáenz, Y.; Zarazaga, M.; Lantero, M.; Gastanares, M. J.; Baquero, F.; Torres, C. (2000): Antibiotic resistance in *Campylobacter* strains isolated from animals, foods, and humans in Spain in 1997-1998. In: *Antimicrob. Agents Chemother.* 44 (2), S. 267–271.
- Saha, S. K.; Saha, S.; Sanyal, S. C. (1991): Recovery of injured *Campylobacter jejuni* cells after animal passage. In: *Appl. Environ. Microbiol.* 57 (11), S. 3388–3389.
- Sahin, O.; Zhang, Q.; Meitzler, J. C.; Harr, B. S.; Morishita, T. Y.; Mohan, R. (2001): Prevalence, Antigenic Specificity, and Bactericidal Activity of Poultry Anti-*Campylobacter* Maternal Antibodies. In: *Appl. Environ. Microbiol.* 67 (9), S. 3951–3957.
- Sahin, O.; Kobalka, P.; Zhang, Q. (2003): Detection and survival of *Campylobacter* in chicken eggs. In: *J. Appl. Microbiol.* 95 (5), S. 1070–1079.

- Sahin, O.; Fitzgerald, C.; Stroika, S.; Zhao, S.; Sippy, R. J.; Kwan, P. et al. (2012): Molecular Evidence for Zoonotic Transmission of an Emergent, Highly Pathogenic *Campylobacter jejuni* Clone in the United States. In: *J. Clin. Microbiol.* 50 (3), S. 680–687.
- Salihu, M. D.; Magaji, A. A.; Abdulkadir, J. U.; Kolawale, A. (2010): Survey of thermophilic *Campylobacter* species in cats and dogs in north-western Nigeria. In: *Vet. Ital.* 46 (4), S. 425–430.
- Sanad, Y. M.; Kassem, I. I.; Abley, M.; Gebreyes, W.; LeJeune, J. T.; Rajashekara, G. (2011): Genotypic and phenotypic properties of cattle-associated *Campylobacter* and their implications to public health in the USA. In: *PLoS ONE* 6 (10), S. e25778.
- Sandberg, M.; Bergsjø, B.; Hofshagen, M.; Skjerve, E.; Kruse, H. (2002): Risk factors for *Campylobacter* infection in Norwegian cats and dogs. In: *Prev. Vet. Med*, 55 (4), S. 241–253.
- Sandberg, M.; Nygård, K.; Meldal, H.; Valle, P. S.; Kruse, H.; Skjerve, E. (2006): Incidence trend and risk factors for *campylobacter* infections in humans in Norway. In: *BMC Public Health* 6, S. 179.
- Savill, M. G.; Hudson, J. A.; Ball, A.; Klena, J. D.; Scholes, P.; Whyte, R. J. et al. (2001): Enumeration of *Campylobacter* in New Zealand recreational and drinking waters. In: *J. Appl. Microbiol.* 91 (1), S. 38–46.
- Schilling, A.-K.; Hotzel, H.; Methner, U.; Sprague, L. D.; Schmoock, G.; El-Adawy, H. et al. (2012): Zoonotic Agents in Small Ruminants Kept on City Farms in Southern Germany. In: *Appl. Environ. Microbiol.* 78 (11), S. 3785–3793.
- Schönberg-Norio, D.; Takkinen, J.; Hänninen, M.; Katila, M.; Kaukoranta, S.; Mattila, L.; Rautelin, H. (2004): Swimming and *Campylobacter* infections. In: *Emerging Infect. Dis.* 10 (8), S. 1474–1477.
- Sebald, M.; Veron, M. (1963): Teneur en bases de l'adn et classification des vibrions. In: *Ann. Inst. Pasteur* 105, S. 897–910.
- Shen, Z.; Feng, Y.; Dewhirst, F. E.; Fox, J. G. (2001): Coinfection of Enteric *Helicobacter* spp. and *Campylobacter* spp. in Cats. In: *J. Clin. Microbiol.* 39 (6), S. 2166–2172.
- Sheppard, S. K.; Dallas, J. F.; MacRae, M.; McCarthy, N. D.; Sproston, E. L.; Gormley, F. J. et al. (2009): *Campylobacter* genotypes from food animals, environmental sources and clinical disease in Scotland 2005/6. In: *Int. J. Food Microbiol.* 134 (1-2), S. 96–103.
- Sheppard, S. K.; Colles, F.; Richardson, J.; Cody, A. J.; Elson, R.; Lawson, A. et al. (2010): Host Association of *Campylobacter* Genotypes Transcends Geographic Variation. In: *Appl. Environ. Microbiol.* 76 (15), S. 5269–5277.
- Shreeve, J. E.; Toszeghy, M.; Pattison, M.; Newell, D. G. (2000): Sequential spread of *Campylobacter* infection in a multipen broiler house. In: *Avian Dis.* 44 (4), S. 983–988.
- Silva, J.; Leite, D.; Fernandes, M.; Mena, C.; Gibbs, P. A.; Teixeira, P. (2011): *Campylobacter* spp. as a Foodborne Pathogen: A Review. In: *Front. Microbiol.* 2, S. 200.
- Sinton, L. W.; Braithwaite, R. R.; Hall, C. H.; Mackenzie, M. L. (2007): Survival of Indicator and Pathogenic Bacteria in Bovine Feces on Pasture. In: *Appl. Environ. Microbiol.* 73 (24), S. 7917–7925.
- Skelly, C.; Weinstein, P. (2003): Pathogen survival trajectories: an eco-environmental approach to the modeling of human campylobacteriosis ecology. In: *Environ. Health Perspect.* 111 (1), S. 19–28.
- Skirrow, M. B. (1977): *Campylobacter* enteritis: a "new" disease. In: *Br. Med. J.* 2 (6078), S. 9–11.

- Skirrow, M. B. (1981): *Campylobacter* enteritis in dogs and cats: a 'new' zoonosis. In: *Vet. Res. Commun.* 5 (1), S. 13–19.
- Skirrow, M. B.; Benjamin, J. (1980): '1001' Campylobacters: cultural characteristics of intestinal campylobacters from man and animals. In: *J. Hyg.* 85 (3), S. 427–442.
- Skopos (2014): Deutscher Heimtiermarkt 2013. Online verfügbar unter http://www.ivhonline.de/de/home/der-verband/daten-fakten.html, zuletzt geprüft am 19.01.2015.
- Smibert, R. M. (1978): The genus Campylobacter. In: Annu. Rev. Microbiol. 32, S. 673–709.
- Smith, A.; Reacher, M.; Smerdon, W.; Adak, G. K.; Nichols, G.; Chalmers, R. M. (2006): Outbreaks of waterborne infectious intestinal disease in England and Wales, 1992-2003. In: *Epidemiol. Infect.* 134 (6), S. 1141–1149.
- Snelling, W. J.; McKenna, J. P.; Lecky, D. M.; Dooley, J. S. G. (2005): Survival of *Campylobacter jejuni* in Waterborne Protozoa. In: *Appl. Environ. Microbiol.* 71 (9), S. 5560–5571.
- Sopwith, W.; Birtles, A.; Matthews, M.; Fox, A.; Gee, S.; Painter, M. et al. (2008): Identification of Potential Environmentally Adapted *Campylobacter jejuni* Strain, United Kingdom. In: *Emerg. Infect. Dis.* 14 (11), S. 1769–1773.
- Sopwith, W.; Birtles, A.; Matthews, M.; Fox, A.; Gee, S.; James, S. et al. (2009): Investigation of Food and Environmental Exposures Relating to the Epidemiology of *Campylobacter coli* in Humans in Northwest England. In: *Appl. Environ. Microbiol.* 76 (1), S. 129–135.
- Sorvillo, F. J.; Lieb, L. E.; Waterman, S. H. (1991): Incidence of campylobacteriosis among patients with AIDS in Los Angeles County. In: *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 4 (6), S. 598–602.
- Spain, C. V.; Scarlett, J. M.; Wade, S. E.; McDonough, P. (2001): Prevalence of enteric zoonotic agents in cats less than 1 year old in central New York State. In: *J. Vet. Intern. Med.* 15 (1), S. 33–38.
- Sproston, E.; Ogden, I.; MacRae, M.; Forbes, K.; Dallas, J.; Sheppard, S. et al. (2010): Multi-locus sequence types of *Campylobacter* carried by flies and slugs acquired from local ruminant faeces. In: *J. Appl. Microbiol.* 109 (3), S. 829–838.
- Sproston, E. L.; Ogden, I. D.; MacRae, M.; Dallas, J. F.; Sheppard, S. K.; Cody, A. J. et al. (2011): Temporal Variation and Host Association in the *Campylobacter* Population in a Longitudinal Ruminant Farm Study. In: *Appl. Environ. Microbiol.* 77 (18), S. 6579–6586.
- Stafford, R. J.; Schluter, P. J.; Wilson, A. J.; Kirk, M. D.; Hall, G.; Unicomb, L. (2008): Population-attributable risk estimates for risk factors associated with *Campylobacter* infection, australia. In: *Emerging Infect. Dis.* 14 (6), S. 895–901.
- Stahl, M.; Butcher, J.; Stintzi, A. (2012): Nutrient acquisition and metabolism by *Campylobacter jejuni*. In: *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2, S. 5.
- Stanley, K. N.; Wallace, J. S.; Currie, J. E.; Diggle, P. J.; Jones, K. (1998): The seasonal variation of thermophilic campylobacters in beef cattle, dairy cattle and calves. In: *J. Appl. Microbiol.* 85 (3), S. 472–480.
- Stanley, K.; Jones, K. (2003): Cattle and sheep farms as reservoirs of *Campylobacter*. In: *J. Appl. Microbiol.* 94, S. 104-113.
- Stavisky, J.; Radford, A. D.; Gaskell, R.; Dawson, S.; German, A.; Parsons, B. et al. (2011): A case–control study of pathogen and lifestyle risk factors for diarrhoea in dogs. In: *Prev. Vet. Med.* 99 (2-4), S. 185–192.
- Steele, T. W.; McDermott, S. N. (1984): The use of membrane filters applied directly to the surface of agar plates for the isolation of *Campylobacter jejuni* from feces. In: *Pathology* 16 (3), S. 263–265.

- Steinhauserova, I.; Fojtikova, K.; Klimes, J. (2000): The incidence and PCR detection of *Campylobacter upsaliensis* in dogs and cats. In: *Lett. Appl. Microbiol.* 31 (3), S. 209–212.
- Stone, D.; Davis, M.; Baker, K.; Besser, T.; Roopnarine, R.; Sharma, R. (2013): MLST Genotypes and Antibiotic Resistance of *Campylobacter* spp. Isolated from Poultry in Grenada. In: *BioMed Res. Int.* (1), S. 1–10.
- Strachan, N.; Watson, R.; Novik, V.; Hofreuter, D.; Ogden, I.; Galan, J. (2008): Sexual dimorphism in campylobacteriosis. In: *Epidemiol. Infect.* 136, S. 1492–1495.
- Strachan, N. J. C.; Gormley, F. J.; Rotariu, O.; Ogden, I. D.; Miller, G.; Dunn, G. M. et al. (2009): Attribution of *Campylobacter* Infections in Northeast Scotland to Specific Sources by Use of Multilocus Sequence Typing. In: *J. Infect. Dis.* 199 (8), S. 1205–1208.
- Strohmeyer, R. A.; Morley, P. S.; Hyatt, D. R.; Dargatz, D. A.; Scorza, A. V.; Lappin, M. R. (2006): Evaluation of bacterial and protozoal contamination of commercially available raw meat diets for dogs. In: *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 228 (4), S. 537–542.
- Stuart, T. L.; Sandhu, J.; Stirling, R.; Corder, J.; Ellis, A.; Misa, P. et al. (2010): Campylobacteriosis outbreak associated with ingestion of mud during a mountain bike race. In: *Epidemiol. Infect.* 138 (12), S. 1695–1703.
- Sulonen, J.; Kärenlampi, R.; Holma, U.; Hänninen, M.-L. (2007): *Campylobacter* in Finnish organic laying hens in autumn 2003 and spring 2004. In: *Poult. Sci.* 86 (6), S. 1223–1228.
- Takahashi, M.; Koga, M.; Yokoyama, K.; Yuki, N. (2005): Epidemiology of *Campylobacter jejuni* Isolated from Patients with Guillain-Barre and Fisher Syndromes in Japan. In: *J. Clin. Microbiol.* 43 (1), S. 335–339.
- Tam, C. C.; Rodrigues, L. C.; O'Brien, S. J.; Hajat, S. (2006): Temperature dependence of reported *Campylobacter* infection in England, 1989–1999. In: *Epidemiol. Infect.* 134 (01), S. 119.
- Tenkate, T. D.; Stafford, R. J. (2001): Risk factors for *Campylobacter* infection in infants and young children: a matched case-control study. In: *Epidemiol. Infect.* 127 (3), S. 399–404.
- Tenover, F. C.; Knapp, J. S.; Patton, C.; Plorde, J. J. (1985): Use of auxotyping for epidemiological studies of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* infections. In: *Infect. Immun.* 48 (2), S. 384–388.
- Thakur, S.; Gebreyes, W. A. (2005): *Campylobacter coli* in Swine Production: Antimicrobial Resistance Mechanisms and Molecular Epidemiology. In: *J. Clin. Microbiol.* 43 (11), S. 5705–5714.
- Thakur, S.; Morrow, W. E. M.; Funk, J. A.; Bahnson, P. B.; Gebreyes, W. A. (2006): Molecular Epidemiologic Investigation of *Campylobacter coli* in Swine Production Systems, Using Multilocus Sequence Typing. In: *Appl. Environ. Microbiol.* 72 (8), S. 5666–5669.
- Tomancová, I.; Steinhauser, L.; Matyás, Z. (1991): Technologické vlivy působící na prezívání *Campylobacter jejuni* v potravinách zivocisného původu. In: *Vet. Med.* 36 (6), S. 373–380.
- Townes, J. M. (2010): Reactive arthritis after enteric infections in the United States: the problem of definition. In: *Clin. Infect. Dis.* 50 (2), S. 247–254.
- Travers, K.; Barza, M. (2002): Morbidity of infections caused by antimicrobial-resistant bacteria. In: *Clin. Infect. Dis.* 34 Suppl 3, S. S131-4.
- Tribble, D. R.; Baqar, S.; Carmolli, M. P.; Porter, C.; Pierce, K. K.; Sadigh, K. et al. (2009): *Campylobacter jejuni* strain CG8421: a refined model for the study of Campylobacteriosis and evaluation of *Campylobacter* vaccines in human subjects. In: *Clin. Infect. Dis.* 49 (10), S. 1512–1519.

- Tsai, H.-J.; Huang, H.-C.; Lin, C.-M.; Lien, Y.-Y.; Chou, C.-H. (2007): Salmonellae and Campylobacters in Household and Stray Dogs in Northern Taiwan. In: *Vet. Res. Commun.* 31 (8), S. 931–939.
- Tu, Z.-C.; Zeitlin, G.; Gagner, J.-P.; Keo, T.; Hanna, B. A.; Blaser, M. J. (2004): *Campylobacter fetus* of Reptile Origin as a Human Pathogen. In: *J. Clin. Microbiol.* 42 (9), S. 4405–4407.
- van Bergen, M. A. P.; Dingle, K. E.; Maiden, M. C. J.; Newell, D. G.; van der Graaf-Van Bloois, L.; van Putten, J. P. M.; Wagenaar, J. A. (2005): Clonal Nature of *Campylobacter fetus* as Defined by Multilocus Sequence Typing. In: *J. Clin. Microbiol.* 43 (12), S. 5888–5898.
- van den Berg, B.; Bunschoten, C.; van Doorn, P. A.; Jacobs, B. C. (2013): Mortality in Guillain-Barre syndrome. In: *Neurology* 80 (18), S. 1650–1654.
- van den Brom, R.; Lievaart-Peterson, K.; Luttikholt, S.; Peperkamp, K.; Wouda, W.; Vellema, P. (2012): Abortion in small ruminants in the Netherlands between 2006 and 2011. In: *Tijdschr. Diergeneeskd* 137 (7), S. 450–457.
- van Vliet, A. H.; Ketley, J. M. (2001): Pathogenesis of enteric *Campylobacter* infection. In: *Symp. Ser. Soc. Appl. Microbiol.* (30), S. 45S-56S.
- Vandamme, P. (2000): Taxonomy of the Family *Campylobacteraceae* In: Nachamkin, I., und M. J. Blaser (eds.) Campylobacter. ASM Press, Washington, DC, 2nd Edition, S. 3–26.
- Vandamme, P.; Falsen, E.; Rossau, R.; Hoste, B.; Segers, P.; Tytgat, R.; Ley, J. de (1991): Revision of *Campylobacter*, *Helicobacter*, and *Wolinella* taxonomy: emendation of generic descriptions and proposal of Arcobacter gen. nov. In: *Int. J. Syst. Bacteriol.* 41 (1), S. 88–103.
- Varela, N. P.; Friendship, R. M.; Dewey, C. E. (2007a): Prevalence of *Campylobacter* spp. isolated from grower-finisher pigs in Ontario. In: *Can. Vet. J.* 48 (5), S. 515–517.
- Varela, N. P.; Friendship, R.; Dewey, C. (2007b): Prevalence of resistance to 11 antimicrobials among *Campylobacter coli* isolated from pigs on 80 grower-finisher farms in Ontario. In: *Can. J. Vet. Res.* 71 (3), S. 189–194.
- Vázquez, B.; Esperón, F.; Neves, E.; López, J.; Ballesteros, C.; Muñoz, M. J. (2010): Screening for several potential pathogens in feral pigeons (Columba livia) in Madrid. In: *Acta Vet. Scand.* 52 (1), S. 45.
- Wagenaar, J. A.; French, N. P.; Havelaar, A. H. (2013): Preventing *Campylobacter* at the source: why is it so difficult? In: *Clin. Infect. Dis.* 57 (11), S. 1600–1606.
- Waldenstrom, J.; Broman, T.; Carlsson, I.; Hasselquist, D.; Achterberg, R. P.; Wagenaar, J. A.; Olsen, B. (2002): Prevalence of *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter lari*, and *Campylobacter coli* in Different Ecological Guilds and Taxa of Migrating Birds. In: *Appl. Environ. Microbiol*. 68 (12), S. 5911–5917.
- Wang, C.; Shia, W.; Jhou, Y.; Shyu, C. (2013): Occurrence and molecular characterization of reptilian *Campylobacter fetus* strains isolated in Taiwan. In: *Vet. Microbiol.* 164 (1-2), S. 67–76.
- Wang, G.; Clark, C. G.; Taylor, T. M.; Pucknell, C.; Barton, C.; Price, L. et al. (2002): Colony Multiplex PCR Assay for Identification and Differentiation of *Campylobacter jejuni*, C. coli, *C. lari*, *C. upsaliensis*, and *C. fetus* subsp. *fetus*. In: *J. Clin. Microbiol.* 40 (12), S. 4744–4747.
- Wang, Y.; Huang, W. M.; Taylor, D. E. (1993): Cloning and nucleotide sequence of the *Campylobacter jejuni* gyrA gene and characterization of quinolone resistance mutations. In: *Antimicrob. Agents Chemother.* 37 (3), S. 457–463.
- Wassenaar, T. M. (1997): Toxin production by *Campylobacter* spp. In: *Clin. Microbiol. Rev.* 10 (3), S. 466–476.
- Wassenaar, T. M.; Newell, D. G. (2000): Genotyping of *Campylobacter* spp. In: *Appl. Environ. Microbiol.* 66 (1), S. 1–9.

Weijtens, M. J.; Reinders, R. D.; Urlings, H. A.; van der Plas, J. (1999): *Campylobacter* infections in fattening pigs; excretion pattern and genetic diversity. In: *J. Appl. Microbiol.* 86 (1), S. 63–70.

Westgarth, C.; Porter, C. J.; Nicolson, L.; Birtles, R. J.; Williams, N. J.; Hart, C. A. et al. (2009): Risk factors for the carriage of *Campylobacter upsaliensis* by dogs in a community in Cheshire. In: *Vet. Rec.* 165 (18), S. 526–530.

Westrell, T.; Ciampa, N.; Boelaert, F.; Helwigh, B.; Korsgaard, H.; Chríel, M. et al. (2009): Zoonotic infections in Europe in 2007: a summary of the EFSA-ECDC annual report. In: *Euro Surveill*. 14 (3).

Wheeler, J. G.; Sethi, D.; Cowden, J. M.; Wall, P. G.; Rodrigues, L. C.; Tompkins, D. S. et al. (1999): Study of infectious intestinal disease in England: rates in the community, presenting to general practice, and reported to national surveillance. The Infectious Intestinal Disease Study Executive. In: *BMJ* 318 (7190), S. 1046–1050.

Whiley, H.; van den Akker, B.; Giglio, S.; Bentham, R. (2013): The role of environmental reservoirs in human campylobacteriosis. In: *Int. J. Environ. Res. Public Health* 10 (11), S. 5886–5907.

Wieczorek, K.; Osek, J. (2013): Antimicrobial resistance mechanisms among *Campylobacter*. In: *Biomed Res. Int.* 2013, S. 340605.

Wieland, B.; Regula, G.; Danuser, J.; Wittwer, M.; Burnens, A. P.; Wassenaar, T. M.; Stärk, K. D. C. (2005): *Campylobacter* spp. in dogs and cats in Switzerland: risk factor analysis and molecular characterization with AFLP. In: *J. Vet. Med. B Infect. Dis. Vet. Public Health* 52 (4), S. 183–189.

Wieliczko, A. (1994): Vorkommen von *Campylobacter* und Salmonellen im Zusammenhang mit Leberveränderungen bei Schlachtgeflügel. In: *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* 107 (4), S. 115–121.

Williams, L. K.; Sait, L. C.; Cogan, T. A.; Jørgensen, F.; Grogono-Thomas, R.; Humphrey, T. J. (2012): Enrichment culture can bias the isolation of *Campylobacter* subtypes. In: *Epidemiol. Infect.* 140 (7), S. 1227–1235.

Willison, H. J. (2005): The immunobiology of Guillain-Barré syndromes. In: *J. Peripher. Nerv. Syst.* 10 (2), S. 94–112.

Wilson, D. J.; Gabriel, E.; Leatherbarrow, A. J. H.; Cheesbrough, J.; Gee, S.; Bolton, E. et al. (2008): Tracing the source of campylobacteriosis. In: *PLoS Genet.* 4 (9), S. e1000203.

Wolfs, T. F.; Duim, B.; Geelen, S. P.; Rigter, A.; Thomson-Carter, F.; Fleer, A.; Wagenaar, J. A. (2001): Neonatal sepsis by *Campylobacter jejuni*: genetically proven transmission from a household puppy. In: *Clin. Infect. Dis.* 32 (5), S. E97-9.

Wong, T. L.; Hollis, L.; Cornelius, A.; Nicol, C.; Cook, R.; Hudson, J. A. (2007): Prevalence, numbers, and subtypes of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in uncooked retail meat samples. In: *J. Food Prot.* 70 (3), S. 566–573.

Workman, S. N.; Mathison, G. E.; Lavoie, M. C. (2005): Pet Dogs and Chicken Meat as Reservoirs of *Campylobacter* spp. in Barbados. In: *J. Clin. Microbiol.* 43 (6), S. 2642–2650.

World Health Organization (2013): The global view of campylobacteriosis. Report of an expert consultation. Hg. v. WHO. Online verfügbar unter www.who.int/iris/bitstream/10665/80751/1/9789241564601_eng.pdf, zuletzt geprüft am 20.04.2015.

World Organisation for Animal Health (2012): Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals (mammals, birds and bees). 7. Aufl. Paris: Office international des épizooties.

- Wright, E. P. (1983): The isolation of *Campylobacter jejuni* from flies. In: *J. Hyg.* 91 (2), S. 223–226.
- Wysok, B.; Wiszniewska-Łaszczych, A.; Uradziński, J.; Szteyn, J. (2011): Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* in raw milk in the selected areas of Poland. In: *Pol. J. Vet. Sci.* 14 (3), S. 473–477.
- Yamahara, K. M.; Sassoubre, L. M.; Goodwin, K. D.; Boehm, A. B. (2012): Occurrence and Persistence of Bacterial Pathogens and Indicator Organisms in Beach Sand along the California Coast. In: *Appl. Environ. Microbiol.* 78 (6), S. 1733–1745.
- Yan, M.; Sahin, O.; Lin, J.; Zhang, Q. (2006): Role of the CmeABC efflux pump in the emergence of fluoroquinolone-resistant *Campylobacter* under selection pressure. In: *J. Antimicrob. Chemother.* 58 (6), S. 1154–1159.
- Young, C. R.; Harvey, R.; Anderson, R.; Nisbet, D.; Stanker, L. H. (2000): Enteric colonisation following natural exposure to *Campylobacter* in pigs. In: *Res. Vet. Sci.* 68 (1), S. 75–78.
- Yuki, N.; Taki, T.; Inagaki, F.; Kasama, T.; Takahashi, M.; Saito, K. et al. (1993): A bacterium lipopolysaccharide that elicits Guillain-Barré syndrome has a GM1 ganglioside-like structure. In: *J. Exp. Med.* 178 (5), S. 1771–1775.
- Zanoni, R. G.; Debruyne, L.; Rossi, M.; Revez, J.; Vandamme, P. (2009): *Campylobacter cuniculorum* sp. nov., from rabbits. In: *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 59 (7), S. 1666–1671.
- Zautner, A. E.; Johann, C.; Strubel, A.; Busse, C.; Tareen, A. M.; Masanta, W. O. et al. (2014): Seroprevalence of campylobacteriosis and relevant post-infectious sequelae. In: *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 33 (6), S. 1019–1027.
- Žemličková, H.; Jakubů, V.; Marejková, M.; Urbášková, P. (2014): Rezistence k erytromycinu, ciprofloxacinu a k tetracyklinu u humánních izolátů *Campylobacter* spp. v České republice, vyšetřená standardní metodou EUCAST. In: *Epidemiol. Mikrobiol. Imunol.* 63 (3), S. 184–190.
- Zweifel, C. (2004): Prevalence and characteristics of Shiga toxin-producing Escherichia coli, Salmonella spp. and *Campylobacter* spp. isolated from slaughtered sheep in Switzerland. In: *Int. J. Food Microbiol.* 92 (1), S. 45–53.
- Zweifel, C.; Scheu, K. D.; Keel, M.; Renggli, F.; Stephan, R. (2008): Occurrence and genotypes of *Campylobacter* in broiler flocks, other farm animals, and the environment during several rearing periods on selected poultry farms. In: *Int. J. Food Microbiol.* 125 (2), S. 182–187.

Anhang

Tab. A1: Menschliche und tierische Erkrankungen durch *Campylobacter spp.* (On 2013; Man 2011)

Wirtspezies	Menschliche Er- krankungen	Tierische Erkrankungen
Geflügel	Keine	Keine
Kranich	Keine	Keine
Schwein, Ge- flügel, Strauß, Rind, Schaf, Ziege, Affe, Möwe	Gastroenteritis	Gastroenteritis, Hepatitis
Mensch, Heim- tiere	Gastroenteritis, Periodontitis	Keine
Hase	Keine	Keine
Mensch	Periodontitis, Gast- roenteritis	Keine
Rind, Schaf, Schildkröte, Pferd, Kangaroo	Gastroenteritis, Septikämie	Abort
Rind, Schaf	Septikämie	Infertilität
Mensch	Periodontitis	Keine
Hund, Katze	Periodontitis	Gastroenteritis
Mensch	Keine	Keine
Rind, Hirsch, Schwein, Hamster	Gastroenteritis	Gastroenteritis
Schwein	Keine	Keine
Robbe, Tümm- ler	Keine	Keine
Mensch	Septikämie, Gastro- enteritis	Keine
Geflügel, Rind, Schwein, Strauß,	Gastroenteritis, GBS	Abort, Aviäre Hepatitis
Wildvogel		
	Geflügel Kranich Schwein, Ge- flügel, Strauß, Rind, Schaf, Ziege, Affe, Möwe Mensch, Heim- tiere Hase Mensch Rind, Schaf, Schildkröte, Pferd, Kangaroo Rind, Schaf Mensch Hund, Katze Mensch Rind, Hirsch, Schwein, Hamster Schwein Robbe, Tümm- ler Mensch Geflügel, Rind, Schwein,	Geflügel Keine Kranich Keine Schwein, Ge- flügel, Strauß, Rind, Schaf, Ziege, Affe, Möwe Mensch, Heimtiere odontitis Hase Keine Mensch Periodontitis, Gastroenteritis Rind, Schaf, Schildkröte, Pferd, Kangaroo Rind, Schaf Septikämie Mensch Periodontitis Hund, Katze Periodontitis Hund, Katze Periodontitis Hund, Katze Periodontitis Keine Rind, Hirsch, Schwein, Hamster Schwein Keine Robbe, Tümmler Mensch Septikämie, Gastroenteritis Geflügel, Rind, Schwein, Gastroenteritis Keine Robsspherich Keine

Campylobacter- Spezies bzw Subspezies	Wirtspezies	Menschliche Er- krankungen	Tierische Erkrankungen
C. lari spp. concheus	Schalentier	Gastroenteritis	Keine
C. lari spp. lari	Wildvogel, Hund, Geflü- gel, Schalentier, Pferd	Gastroenteritis, Septikämie	Aviäre Gastroenteritis
C. mucosalis	Schwein	Keine	Keine
C. peloridis	Schalentier	Gastroenteritis	Keine
C. rectus	Mensch	Periodontitis	Keine
C. showae	Mensch	Periodontitis	Keine
C. sputorum	Mensch, Rind, Schwein, Schaf		Abort
C. subantarcticus	subantarktische Vögel, Pinguin	Keine	Keine
C. upsaliensis	Hund, Katze, Schimpanse	Gastroenteritis	Gastroenteritis
C. ureolyticus	Mensch	Gastroenteritis, Morbus Crohn	Keine
C. volucris	Möve	Keine	Keine

Tab. A2: Übersicht von bei Katzen beschriebenen Campylobacter-Prävalenzen

Prävalenz (%)	n	Häufigste Spezies	Referenz
0	37	-	(Lee et al. 2004)
0,8	263	C. jejuni	(Spain et al. 2001)
1	206	-	(Hill et al. 2000)
5	42	C. upsaliensis	(Hald und Madsen 1997)
9,86	71	C. jejuni	(Andrzejewska et al. 2013)
15	195	C. upsaliensis	(Baker et al. 1999)
16	64	-	(López et al. 2002)
16,8	113	C. jejuni	(Gargiulo et al. 2008)
17	332	C. upsaliensis	(Sandberg et al. 2002)

Prävalenz (%)	n	Häufigste Spezies	Referenz
18,3	104	C. upsaliensis	(Salihu et al. 2010)
20	227	C. helveticus	(Shen et al. 2001)
24	152	C. upsaliensis	(Bender et al. 2005)
29	100	-	(Effenberger 2008)
37,3	51	C. helveticus	(Workman et al. 2005)
41,9	596	C. upsaliensis/helveticus	(Wieland et al. 2005)
42,9	35	C. upsaliensis	(Acke et al. 2009b)
45,7	46	C. helveticus	(Moser et al. 2001)
58	53	C. jejuni	(Fox et al. 1989)
75	58	-	(Acke et al. 2006)

Tab. A3: Übersicht von bei Hunden beschriebenen Campylobacter-Prävalenzen

Prävalenz %	n	häufigste Spezies	Referenz
0	418	-	(Cinquepalmi et al. 2013)
0	102	-	(Lefebvre et al. 2006)
0,8	130	C. jejuni	(Hackett und Lappin 2003)
2,5	200	C. upsaliensis	(Modolo und Giuffrida 2004)
2,7	437	C. jejuni	(Tsai et al. 2007)
4,81	83	C. jejuni + C. coli	(Andrzejewska et al. 2013)
12,9	303	C. jejuni	(Amar et al. 2014)
13,8	80	-	(Lee et al. 2004)
17	293	C. jejuni	(López et al. 2002)
20	299	C. jejuni	(Steinhauserova et al. 2000)
22	240	C. upsaliensis	(Leonard et al. 2011)

Prävalenz %	n	häufigste Spezies	Referenz
23	529	C. upsaliensis	(Sandberg et al. 2002)
27,7	141	C. upsaliensis	(Salihu et al. 2010)
29	72	C. jejuni	(Hald und Madsen 1997)
30,4	135	C. jejuni	(Badlík et al. 2014)
31,2	141	C. jejuni	(Fernández und Oval 2012)
35,2	290	C. upsaliensis	(Carbonero et al. 2012)
38	249	C. upsaliensis	(Parsons et al. 2010)
41,2	643	C. upsaliensis	(Wieland et al. 2005)
41,5	147	C. upsaliensis	(Acke et al. 2009b)
42,5	214	-	(Fernández und Martin 1991)
43	289	C. upsaliensis	(Baker et al. 1999)
43	189	C. upsaliensis	(Procter et al. 2013)
46,9	130	C. jejuni	(Workman et al. 2005)
56	91	C. upsaliensis	(Engvall et al. 2003)
76	135	C. upsaliensis	(Chaban et al. 2010)
77	30	C. upsaliensis	(Koene et al. 2004)

Tab. A4: ST-CC, ST und zugehörige Allelprofile der C. jejuni- und C. coli-Isolate

ST-	ST	Allelprofil								Anzahl der Isolate					
CC		aspA	glnA	gltA	glyA	Pg m	tkt	un- cA	zies	Н	Hd	K	S	Т	W
Sin glet	196 2	55	172	21	49	125	83	51	C. j.					4	

ST-	ST			A	llelprofi	1			Spe-		Ar	ızahl	der Isc	late	
CC		aspA	glnA	gltA	glyA	Pgm	tkt	un- cA	zies	Н	Hd	K	S	Т	W
	700 0*	7	21	2	62	525	48	1	C. j.						4
	700 1*	7	21	2	62	525	48	5	C. j.						1
	699 8	1	165	5	91	261	7	1	C. j.			2			
21	19	2	1	5	3	2	1	5	C. j.		3				
	50	2	1	12	3	2	1	5	C. j.		3				1
	53	2	1	21	3	2	1	5	C. j.		1	1			
	151 9	8	1	5	3	2	1	1	C. j.	1					1
	292 9	2	1	12	3	2	1	1	C. j.						1
22	22	1	3	6	4	3	3	3	C. j.			1			
45	334	4	7	40	4	42	7	1	C. j.					1	
	11	48	7	10	4	1	7	1	C. j.		1				
	533	9	17	2	94	86	3	6	C. j.						1
179	220	1	6	29	2	40	32	3	C. j.					4	
206	572	62	4	5	2	2	1	5	C. j.		1				1
	122	6	4	5	2	2	1	5	<i>C. j.</i>	1		1			
257	257	9	2	4	62	4	5	6	C. j.	1			1		
	824	9	2	2	2	11	5	6	<i>C. j.</i>						1
354	354	8	10	2	2	11	12	6	C. j.						1
464	464	24	2	2	2	10	3	1	<i>C. j.</i>			1			
	700 2	24	2	2	2	624	3	6	C. j.	1					

ST-	ST			A	llelprof	Spe-		Ar	zahl	der Iso	olate				
CC		as- pA	glnA	gltA	glyA	Pg m	tkt	un- cA	zies	Н	Hd	K	S	Т	W
658	658	2	4	2	4	19	3	6	C. j.		3				9
	699 9*	2	4	27	4	19	3	6	C. j.						1
	700 4*	32	153	412	82	104	44	17	C. c.				1		
828	829	33	39	30	82	113	43	17	C. c.						1
	854	33	38	30	82	104	43	17	<i>C. c.</i>				6		
	158 6	33	176	30	82	113	43	17	С. с.						1
	230 2	33	242	30	82	113	43	17	C. c.		2				
	264 2**	33	38	30	79	104	35	17	C. c.				1		
	270 5**	33	153	44	82	104	43	36	C. c.				1		
	281 4	32	38	30	82	104	43	36	C. c.				1		
	301 7	114	39	30	82	188	43	17	C. c.			1			
	517 2**	33	195	30	79	113	43	17	C. c.						1
	543 4**	33	39	30	82	572	47	17	C. c.	1					
	577 7	33	39	65	82	113	43	17	C. c.	1					
	700 5*	33	39	30	161	104	11 7	17	C. c.				6		
	700 6*	33	39	30	161	104	44	17	C. c.				1		

(ST-CC = klonaler Komplex, ST = Sequenztyp, H = Huhn, Hd = Hund, K = Katze, S = Schwein, T = Taube, W = Wachtel)

^{*} ST im Rahmen dieser Studie erstmals beschrieben ** ST nicht für humane Isolate bekannt





Einverständniserklärung

Hiermit erkläre ich, Name, Vorname)
Tiername
mein Einverständnis, dass die Kotprobe meines Tieres im Rahmen einer Doktorarbeit auf <i>Campylobacter</i> untersucht werden kann. Ich bin einverstanden, dass die erhobenen Angaben verschlüsselt verarbeitet und veröffentlicht werden können. Diese Einwilligung kann ich jederzeit ohne Angabe von Gründen widerrufen.
(Ort, Datum) (Unterschrift des Tierbesitzers)
Nr.: Art der Probe: Rektaltupfer Kot sonstige Tierart:
Hund Zwingerhaltung
Katze reine Hauskatze Freigänger
sonstige
Rasse: Alter: Geschlecht: w m wk mk Gesund Durchfall in den letzten 14 Tagen: ja nein nicht bekannt Andere Erkrankungen/ Medikamente welche: Antibiotikagabe in den letzten 14 Tagen: ja nein wenn ja, welche: Rohfleischfütterung: ja nein
Tierhalter: Anschrift: Tel.:

Abb. A1: Zur Erhebung der Patientendaten verwendeter Fragebogen

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	GEN	STR	STR	STR	STR	STR	GEN	STR	STR	STR	STR	STR
	16	1	2	4	8	16	16	1	2	4	8	16
В	GEN	CIP	TET	ERY	NAL	CHL	GEN	CIP	TET	ERY	NAL	CHL
	8	4	16	32	64	32	8	4	16	32	64	32
C	GEN	CIP	TET	ERY	NAL	CHL	GEN	CIP	TET	ERY	NAL	CHL
	4	2	8	16	32	16	4	2	8	16	32	16
D	GEN	CIP	TET	ERY	NAL	CHL	GEN	CIP	TET	ERY	NAL	CHL
	2	1	4	8	16	8	2	1	4	8	16	8
E	GEN	CIP	TET	ERY	NAL	CHL	GEN	CIP	TET	ERY	NAL	CHL
	1	0,5	2	4	8	4	1	0,5	2	4	8	4
F	GEN	CIP	TET	ERY	NAL	CHL	GEN	CIP	TET	ERY	NAL	CHL
	0,5	0,25	1	2	4	2	0,5	0,25	1	2	4	2
G	GEN	CIP	TET	ERY	NAL	POS	GEN	CIP	TET	ERY	NAL	POS
	0,25	0,12	0,5	1	2	CON	0,25	0,12	0,5	1	2	CON
Η	GEN	CIP	TET	ERY	POS	POS	GEN	CIP	TET	ERY	POS	POS
	0,12	0,06	0,25	0,5	CON	CON	0,12	0,06	0,25	0,5	CON	CON

(GEN = Gentamicin, CIP = Ciprofloxacin, TET = Tetracyclin, ERY = Erythromycin, NAL = Nalidixinsäure, CHL = Chloramphenicol, STR = Streptomycin, POS CON = Positivkontrolle)

Abb. A2: Aufbau und Zusammensetzung der verwendeten Mikrotiterplatten

Publikationsverzeichnis

Laura Lehmann, Anna Löwenstein, Frederic Lehnert, Greta Gölz, Thomas Alter Nachweis und Charakterisierung von *Campylobacter* spp. aus unterschiedlichen Matrizen. Amtstierärztlicher Dienst und Lebensmittelkontrolle : Fleischhygiene, Tierschutz, Tiergesundheit, Tierarzneimittel 20:167 (2013)

Danksagung

Ich bedanke mich sehr bei Herrn Prof. Dr. Thomas Alter für die Überlassung des Themas und seine jederzeit gewährte freundliche Unterstützung bei der Anfertigung dieser Arbeit.

Herzlich danke ich Frau Dr. Greta Gölz für die immer gewährte Hilfe und ihre überaus zuverlässige und sehr nette Betreuung meiner Arbeit.

Den im Folgenden genannten technischen Mitarbeitern des Instituts der Lebensmittelhygiene der FU Berlin danke ich für die Hilfe bei der Bearbeitung der Proben: Laura Lehmann, Heiko von Holst und Kathrin Oeleker. Ich bedanke mich bei allen anderen Mitarbeitern für die nette Atmosphäre und die jederzeit gewährte Hilfe.

Ein herzliches Dankeschön auch an Frau Dr. Sandra Lekschas und alle Patientenbesitzer, die mich mit Proben Ihrer Tiere unterstützt haben, ein besonderer Dank geht an das Tierheim Ladeburg und das Tierheim Brandenburg sowie an den Wildpark Schorfheide.

Meinen Eltern danke ich für ihre stetige Motivation und ihre Hilfe bei der Korrektur dieser Arbeit.

Dank auch an Dr. Manfred Mascheck und meinen Bruder Philip, die mich bei der Dokumentformatierung unterstützt haben.

Selbständigkeitserklärung

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

Berlin, den 19.04.2016

Anna Elisabeth Löwenstein