

---

## 6 Diskussion der Ergebnisse

---

### 6.1 Bedeutung von *Campylobacter jejuni* und *Campylobacter coli* als Krankheitserreger

Die Campylobacteriose des Menschen stellt eine weltweit verbreitete und häufig vorkommende Erkrankung dar. Als gesichert kann eine orale Aufnahme von *Campylobacter jejuni* und *Campylobacter coli* angenommen werden (BUTZLER et al., 1973; HOLLÄNDER, 1981a; siehe auch Abschnitt 2.3), sowohl über kontaminierte Lebensmittel als auch durch Kontakt mit infizierten oder kranken Menschen oder Tieren (TEUFEL, 1983; WEBER 1982; siehe auch Abschnitt 2.3).

Mit der Gewinnung und Behandlung von tierischen Produkten müssen strenge hygienische Standards verknüpft sein. Bisweilen wird bereits die Haltung campylobacterfreier Elterntiere und die ausschließliche Aufzucht campylobacterfreier Tiere für die Gewinnung tierischer Lebensmittel in Erwägung gezogen (FRANCO, 1988).

Die steigende Zahl von „Enteritis-infectiosa-Fällen“ ist zum großen Teil auf *Campylobacter-jejuni*-Isolierungen zurückzuführen (SINELL, 1992), nicht zuletzt als Folge der in den letzten Jahren verstärkten Untersuchungstätigkeit mit verbesserten Nachweisverfahren mit höherer Nachweisrate. Auf diesem Hintergrund sind qualitative und quantitative Angaben zu *Campylobacter*-Isolierungen in älteren Literaturquellen kritisch zu bewerten.

In der vorliegenden Arbeit sollte für den Raum Nordbayern die Belastung der Rohmilch mit *Campylobacter* und Art und Ausmaß der Kontamination untersucht werden. In weitergehenden Untersuchungen wurde ferner das Verhalten des Erregers in verschiedenen Milchen unter unterschiedlichen Bedingungen anhand der Reisolierungsraten betrachtet.

---

### 6.2 Qualitative Untersuchungen zum Vorkommen von *Campylobacter jejuni* in Rohmilch

In einer ersten Untersuchungsreihe wurde das Vorkommen von *Campylobacter jejuni* bzw. *Campylobacter coli* in der Rohmilch und in Mastitisproben von Erzeugerbetrieben in Nordbayern überprüft. Die Proben wurden einerseits direkt auf Selektivnährboden ausgestrichen, andererseits wurde über eine 24stündige Voranreicherung in einer Nährbouillon mit anschließendem Ausstrich auf Selektivnährboden eine Keimvermehrung angestrebt. Die Voranreicherungen wurden bei 37°C, die Selektivplatten bei 42°C mikroaerophil im Anaerobentopf mit Katalysator und Gas Generating Kit für *Campylobacter jejuni* bebrütet.

Aus keiner der 508 im Sommer und Herbst des Jahres 1993 untersuchten Proben konnte *Campylobacter* isoliert werden. Trotz sorgfältiger Untersuchung konnte der Erreger weder in den Rohmilchplan- und den Mastitisproben noch in der einen Verdachtsprobe nachgewiesen werden. Auch von den im Frühjahr 1995 untersuchten 129 Rohmilchplanproben, die für weitergehende Untersuchungen verwendet wurden, war keine *Campylobacter*-positiv. Dieses Ergebnis deckt sich weitgehend mit den Untersuchungsergebnissen der meisten anderen Autoren (siehe Tabelle 17, S. 45).

Die Isolierungsraten bei den Untersuchungen von DOYLE und ROMAN, 1982b, LOVETT et al., 1983, De BOER et al., 1984, und McMANUS und LANIER, 1987, liegen zwischen 0,16% und 1,5%. Aus der Milch von Kühen mit *Campylobacter jejuni*-positiven Fäzes gelang HUMPHREY und BECKETT, 1987, mit 8% die bis dahin höchste Isolierungsrate. Die hohen Raten von 4,5% (BEUMER et al., 1988) und 12,3% (ROHRBACH et al., 1992) lassen sich dadurch erklären, daß die Milch sofort nach dem Melken ohne Verzögerung durch den Transport untersucht wurde.

Daß die Isolierungsraten von *Campylobacter jejuni* aus Rohmilch sehr gering sind (durchschnittlich 2% laut Literatur), hat verschiedene Gründe:

- (1) Die Kontamination der Milch mit *Campylobacter jejuni* ist bereits zum Zeitpunkt des Melkens sehr gering.

Die nachgewiesene *Campylobacter*-Mastitis ist bisher nur experimentell erzeugt worden (LANDER und GILL, 1980). In der Literatur gibt es bisher nur eine Beschreibung einer *Campylobacter*-Ausscheidung direkt in die Milch. Dabei handelte es sich allerdings um eine klinisch gesunde Kuh (ORR et al., 1995). Für eine Kontamination der Milch mit *Campylobacter jejuni* kommt vor allem die fäkale Verschmutzung in Frage.

- (2) Während der bakteriostatischen Phase der Milch wirken verschiedene Enzyme, vor allem das Lactoperoxidase-System (siehe Abschnitt 2.4, S. 52), auf in der Milch befindliche Keime (BEUMER et al., 1988).

Besonders *Campylobacter* reagiert darauf sehr empfindlich, so daß es zu einer drastischen Keimzahlreduktion von einigen Zehnerpotenzen innerhalb einer Stunde kommt (BORCH et al., 1989).

- (3) *Campylobacter jejuni* reagiert sehr empfindlich auf eine Veränderung des von ihm bevorzugten Milieus und auf konkurrierende Begleitflora.

Die vorgeschriebene Kühlung der frisch ermolkenen Milch bei 4°C stellt eine günstige Voraussetzung für das Überleben einzelner *Campylobacter jejuni*-Zellen dar. Die in der Rohmilch immer vorhandene Begleitflora, die damit verbundene Veränderung des pH-Wertes der Milch sowie das fehlende, für *Campylobacter jejuni* so wichtige mikroaerophile Milieu führen jedoch zum

raschen Absterben vorhandener Erreger. So ist es durchaus möglich, daß Rohmilch, die 24 Stunden nach dem Melken untersucht wird, praktisch campylobacterfrei erscheint.

- (4) Die Infektionsrate ist von Erzeugerbetrieb zu Erzeugerbetrieb unterschiedlich.
- (5) Der Zeitpunkt der Probennahme in Relation zum Melkzeitpunkt, das Aufbewahrungsverfahren während des Transports zum Labor, die Zeitspanne zwischen Probennahme und Untersuchung sowie die angewandten Isolierungsmethoden stellen ebenfalls wesentliche Einflußfaktoren auf die Isolierung von *Campylobacter jejuni* aus Rohmilch dar.

---

### **6.3 Reisolierung von *Campylobacter jejuni* aus verschiedenen Milchen nach experimenteller Inokulation niedriger Keimzahlen**

In einer zweiten Untersuchungsreihe wurden Reisolierungsversuche von *Campylobacter jejuni* nach experimenteller Inokulation unterschiedlicher, zum Teil sehr geringer Keimzahlen in Rohmilch, pasteurisierte Milch und UHT-Milch durchgeführt.

#### **6.3.1 Reisolierung von *Campylobacter jejuni* nach Inokulation in Rohmilch**

Nach experimenteller Inokulation von Rohmilchproben mit verschiedenen Keimzahlen eines humanen *Campylobacter-jejuni*-Referenzstammes und anschließender Inkubation unter mikroaerophilen Bedingungen bei verschiedenen Temperaturen und über unterschiedlich lange Zeiträume zeigte sich eine klare Abhängigkeit der Überlebensfähigkeit von *Campylobacter jejuni* von folgenden Einflußfaktoren:

- Erhaltene antibakterielle Wirkung des LPO-Systems,
- Vorhandensein konkurrierender Begleitflora,
- Inokulierte Keimzahl,
- Inkubationstemperatur,
- Inkubationszeit.

Alle diese Faktoren wirken gleichzeitig und beeinflussen sich zum Teil gegenseitig. Die folgenden Aussagen, die sich aus Tabelle 30 (S. 69) bis Tabelle 38 (S. 73) ableiten lassen, sollen dies belegen (die Numerierung erfolgt willkürlich und stellt keine Wertung der Einflußfaktoren dar):

- (1) Je niedriger die Zahl der Begleitkeime und je größer die inokulierte Keimmenge, desto besser gelang die Reisolierung von *Campylobacter jejuni* aus der inkubierten Rohmilch.
- (2) Die größten Reisolierungschancen für *Campylobacter jejuni* bestanden bei niedriger Inkubationstemperatur und kurzer Inkubationsdauer.

- (3) Eine hohe Dichte der Begleitflora führte zu einem raschen Absterben von *Campylobacter jejuni*.
- (4) Bei Temperaturen ab 20°C aufwärts veränderte sich schon nach wenigen Stunden der Charakter der Milch. Beinhaltete die Rohmilch gleichzeitig eine starke Keimflora, so setzte schnell Verderb ein. *Campylobacter jejuni* war dann nicht mehr reisolierbar.
- (5) Im unteren Temperaturbereich von 4°C bis 10°C überlebte *Campylobacter jejuni* bis zu 24 Stunden in der Milch und war auch wieder reisolierbar.
- (6) Im mittleren Temperaturbereich von 10°C bis 30°C starb der Erreger nach längstens 6 Stunden ab. Die einzige Ausnahme bildete das Überlebensverhalten in mittelstark keimbelasteter Rohmilch bei 10°C (siehe Tabelle 34 auf S. 71, lfd. Nr. 62).
- (7) Erst im Temperaturbereich von 37°C bis 42°C kam es auch zu einer Vermehrung von *Campylobacter jejuni*. Auf den bebrüteten Blutplatten gingen von einzelnen Kolonien Schwärmmrasen aus oder bedeckten nahezu die gesamte Fläche.

### 6.3.2 Reisolierung von *Campylobacter jejuni* nach Inokulation in pasteurisierte und UHT-Milch

Im nächsten Schritt wurde bei den Inokulationsversuchen pasteurisierte und ultrahocherhitzte Milch verwendet. Bei letzterer handelt es sich zum einen um ein praktisch steriles Medium, was die Überlebenschancen von *Campylobacter jejuni* erhöht. Zum anderen kann die antibakterielle Wirkung der in der Rohmilch vorhandenen Lactoperoxidase ausgeschlossen werden.

Es zeigte sich erwartungsgemäß, daß mit höherer Ausgangskeimdichte ein zeitlich längerer Keimnachweis möglich ist.

In Abwesenheit jeglicher Begleitflora, wie in der UHT-Milch, läßt sich *Campylobacter jejuni* bei 4°C noch Tage bis Wochen nachweisen (DOYLE und ROMAN, 1982b; HUMPHREY, 1986).

Bei Bebrütung im unteren Temperaturbereich von 4°C bis 10°C überlebte *Campylobacter jejuni* ausgesprochen gut und war in UHT-Milch bis zu 5 Tage lang nachweisbar. Die Ergebnisse zu Bebrütungsauern, die über 24 Stunden hinausgingen, wurden nicht in die Tabellen in Abschnitt 4.3.2 aufgenommen, da dort in erster Linie die Unterschiede zum Verhalten von *Campylobacter jejuni* in Rohmilch aufgezeigt werden sollen.

Die Abhängigkeit von den zusammenwirkenden Faktoren Keimzahl, Temperatur und Inkubationsdauer zeigte sich bei diesen begleitenden Untersuchungen besonders deutlich, da der starke Einfluß der konkurrierenden Begleitflora vermindert (pasteurisierte Milch) oder praktisch ausgeschaltet ist (UHT-Milch).

Bei der pasteurisierten Milch zeigte sich erneut der Einfluß der konkurrierenden Begleitflora. Obwohl der Fremdkeimgehalt in der Regel unter  $10^4$  KBE/ml lag, kam es im Vergleich zur UHT- Milch zu einem schnelleren Absterben von *Campylobacter jejuni*.

Obwohl *Campylobacter jejuni* als sauerstoffempfindlich gilt und nur in mikroaero-philer Atmosphäre wächst (HOLLÄNDER, 1981b), schien in den Inokulationsver-suchen die aerobe Lagerung der Milchproben wenig Einfluß auf das Überleben oder die Vermehrung in der Milch zu haben.

Bei den in den Versuchen verwendeten Inokula handelt es sich um einen vielfach pas-sagierten humanen Laborstamm von *Campylobacter jejuni*, der wahrscheinlich we-niger sauerstoffempfindlich ist (HOLLÄNDER, 1984).

Rein rechnerisch hätten bei  $4^\circ\text{C}$  und einem Inokulum von 100 KBE/ml maximal zehn *Campylobacter-jejuni*-Kolonien auf den Nährböden wachsen dürfen, da bei  $4^\circ\text{C}$  keine Vermehrung stattfindet. Die Zählergebnisse bspw. der lfd. Nrn. 88, 102, 242 und 243 deuten auf einen Fehler bei der Keimzahleinstellung des Inokulums hin. Auf die Problematik der Keimzahleinstellung, insbesondere der Einstellung sehr niedri-ger Keimzahlen, wird in Abschnitt 6.3.3.1 gesondert eingegangen.

### **6.3.3 Vergleichende Betrachtung zur Überlebensfähigkeit von *Campylobacter jejuni* in verschiedenen Milchen**

#### **6.3.3.1 Vorbemerkungen:**

##### **Zum Wachstum von *Campylobacter jejuni* auf Nährböden**

Das Wachstum von *Campylobacter jejuni* auf Nährböden ist sehr vielgestaltig, was die Auswertung bewachsener Platten und damit auch die Einstellung von Keimzahlen in Verdünnungen erheblich erschwert.

Das Wachstum von *Campylobacter jejuni* auf Nährböden zeigte sich in folgenden Ausprägungen:

- Kleine runde, im Durchmesser ca. 1-2 mm große, metallisch glänzende, glatte und erhabene Kolonien.
- Schwärmsrasen, innerhalb dessen eine oder mehrere kleine Erhebungen mit der Lupe zu erkennen sind. Diese Erhebungen sind die Kolonien, von denen der Schwärmsrasen ausgeht.
- Schwärmsrasen, der eine homogene, glänzende Fläche bildet, ohne daß mit der Lupe Erhebungen zu erkennen wären.
- Trüb glänzende Kolonien oder Schwärmsrasen. Die Trübung kommt vom aufge-tragenen Untersuchungsmaterial, bspw. der Milch.
- Winzige, stecknadelspitzgroße Kolonien auf älterem oder sehr trockenem Agar.

Zwischen der Art des Wachstums von *Campylobacter jejuni* auf Nährböden und der Beschaffenheit der Nährböden zeigten sich folgende Zusammenhänge:

- Je frischer und feuchter der Nährboden, desto größer die Neigung des Keimes zur Schwärmrasenbildung.

Einzelne Kolonien sind entweder nur schwer oder überhaupt nicht auszumachen. Meist finden sich auf einer Platte sowohl klar voneinander abgrenzbare Einzelkolonien als auch Schwärmrasen verschiedener Größen mit und ohne erkennbaren Ausgangskolonien.

- Je trockener der Nährboden, desto eher wächst der Keim in Gestalt einzelner, klar voneinander abgrenzbarer Kolonien.

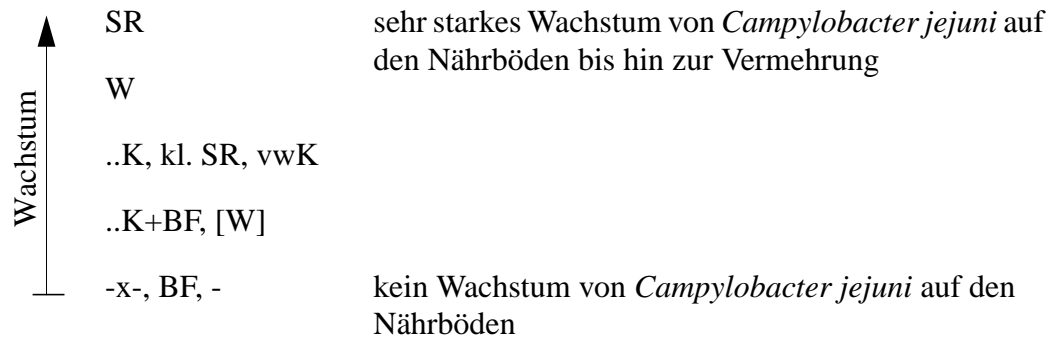
Ein Trocknen der Nährböden birgt jedoch das Risiko der Fremdkeimbesiedlung, v. a. durch Laktobazillen, und der Verschimmelung der Nährböden.

Anhand der in Kapitel 4 beschriebenen Untersuchungen läßt sich die Reisolierung von *Campylobacter jejuni* nach experimenteller Inokulation in Rohmilch und UHT-Milch daher nur der Größenordnung nach vergleichen.

Eine Auswertung der Untersuchungsergebnisse für Rohmilch (Tabelle 30, S. 69, bis Tabelle 38, S. 73) und UHT-Milch (Tabelle 39, S. 74, bis Tabelle 47, S. 78) führt zu den in Abb. 17 bis Abb. 20 gezeigten Diagrammen.

Zu diesen Diagrammen vorab einige grundsätzliche Bemerkungen:

- (a) Die mit „... (I)“ unertitelten Diagramme zeigen das Wiederauffinden von *Campylobacter jejuni* in Abhängigkeit von der Bebrütungsdauer mit der Bebrütungstemperatur als Parameter.
- (b) Die mit „... (II)“ unertitelten Diagramme zeigen die Reisolierung von *Campylobacter jejuni* in Abhängigkeit von der Bebrütungstemperatur mit der Bebrütungsdauer als Parameter.
- (c) Ungeachtet der Fremdkeimbelastung oder des Fettgehalts werden für Rohmilch und UHT-Milch jeweils alle Untersuchungsergebnisse berücksichtigt.
- (d) Um eine bessere Übersichtlichkeit zu gewährleisten, bleiben die Untersuchungsergebnisse für pasteurisierte Milch unberücksichtigt.
- (e) Mit dem Begriff „Wachstum“ ist hier die Anzüchtung des Erregers auf den Nährböden gemeint, nicht die „Vermehrung“ des Erregers. Der Bewuchs der Nährböden ist abhängig vom Überleben des Erregers in der Milch.
- (f) Die Reisolierung von *Campylobacter jejuni* wurde folgendermaßen klassifiziert:



**Abb. 16** Klassifizierung des Wachstums von *Campylobacter jejuni* auf Nährböden (bzgl. der verwendeten Abkürzungen siehe Tabelle 29, S. 68)

- (g) Wegen des Fehlens konkreter Zahlenangaben in den Ergebnissen in Kapitel 4, und wegen der unterschiedlichen Ausprägungen des Wachstums von *Campylobacter jejuni* lassen sich bei einem Vergleich nur Tendenzen aufzeigen. Sie sollen bei allem Vorbehalt wenigstens der Größenordnung nach eine Bewertung der Ergebnisse ermöglichen.

Ist ein Balken in einem Diagramm also bspw. viermal so hoch wie ein anderer, so bedeutet dies nicht, daß das Wachstum von *Campylobacter jejuni* auf dem Nährboden in diesem Fall „viermal so stark“ war, sondern nur, daß es „viel stärker/dichter“ war. Gleich hohe Balken bedeuten, daß das Wachstum tendenziell gleich stark war.

### 6.3.3.2 Interpretation

Aus den Diagrammen in Abb. 17 bis Abb. 20 läßt sich folgendes ableiten:

- (1) Was sofort auffällt, ist der große Unterschied zwischen Rohmilch und steriler UHT-Milch bezüglich der Reisolierung von *Campylobacter jejuni*, der besonders bei einem Inokulum von 100 KBE/ml zu beobachten ist. Dieser Unterschied ist wohl am ehesten auf die in Rohmilch vorhandene Begleitflora zurückzuführen, die in UHT-Milch fehlt.
- (2) Im Temperaturbereich von 20°C bis 25°C läßt sich *Campylobacter jejuni* nach mehr als 4 Stunden nicht mehr aus der Rohmilch reisolieren. Zu längeren Bebrütungsdauern hin gelingt die Reisolierung aus Rohmilch (fast) nur noch bei niedrigen Temperaturen (4°C und 10°C). Bei höheren Temperaturen und langer Bebrütungsdauer setzt sich vermehrt die konkurrierende Begleitflora durch. Dafür spricht auch die Tatsache, daß in UHT-Milch die Reisolierungsrate von *Campylobacter jejuni* unter den gleichen Bedingungen wieder steigt.

Ein kleiner „Ausreißer“ (Rohmilch, 6 h, 30°C; siehe Tabelle 33 auf S. 70, lfd. Nrn. 54 und 55) scheint den gerade aufgestellten Behauptungen zu widersprechen. Dieser Wert bezieht sich jedoch auf das Überleben von *Campylobacter jejuni* in schwach keimbelasteter Rohmilch und stützt damit eher die Behauptung.

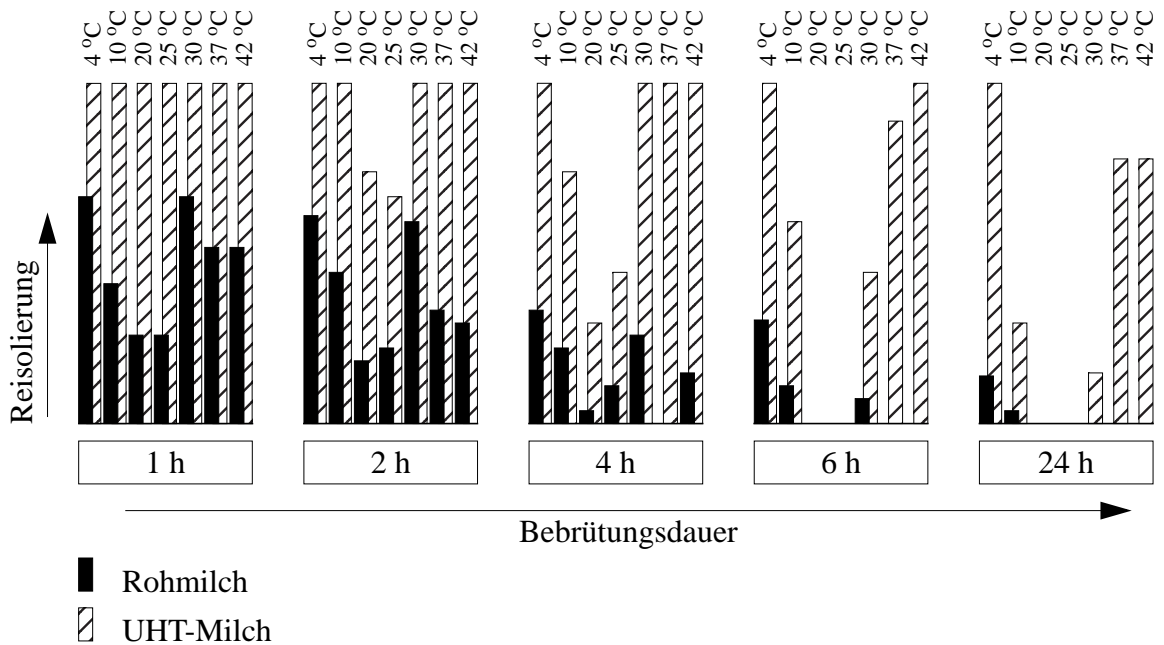


Abb. 17 Vergleich der Reisolierung von *Campylobacter jejuni* aus Rohmilch und UHT-Milch bei einer inokulierten Keimzahl von 500 KBE/ml (I)

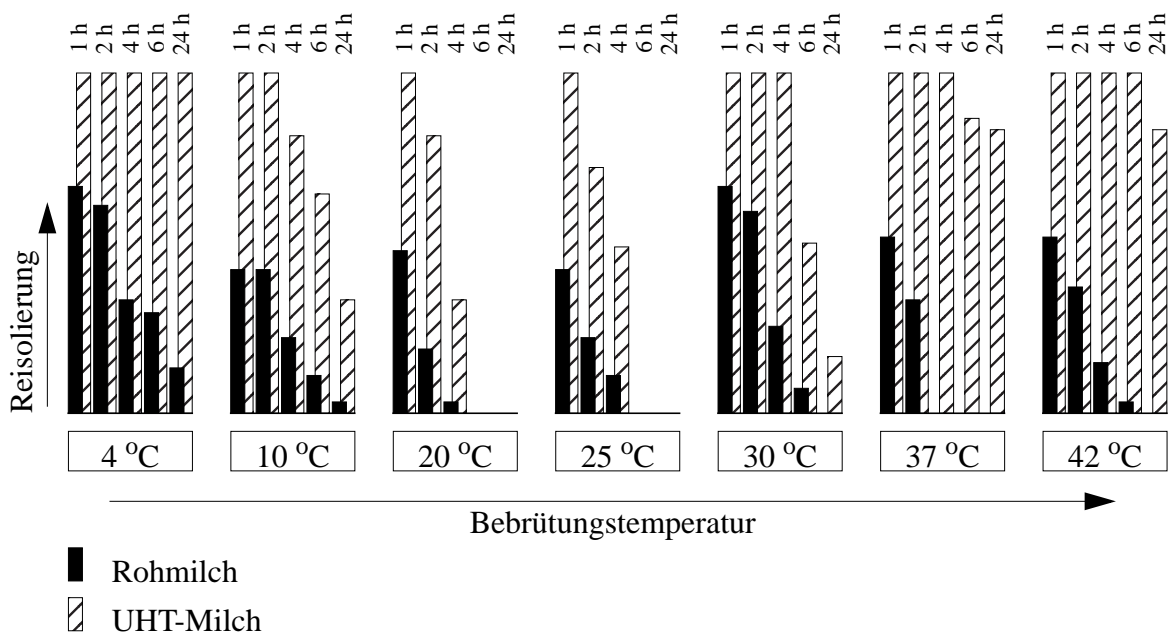
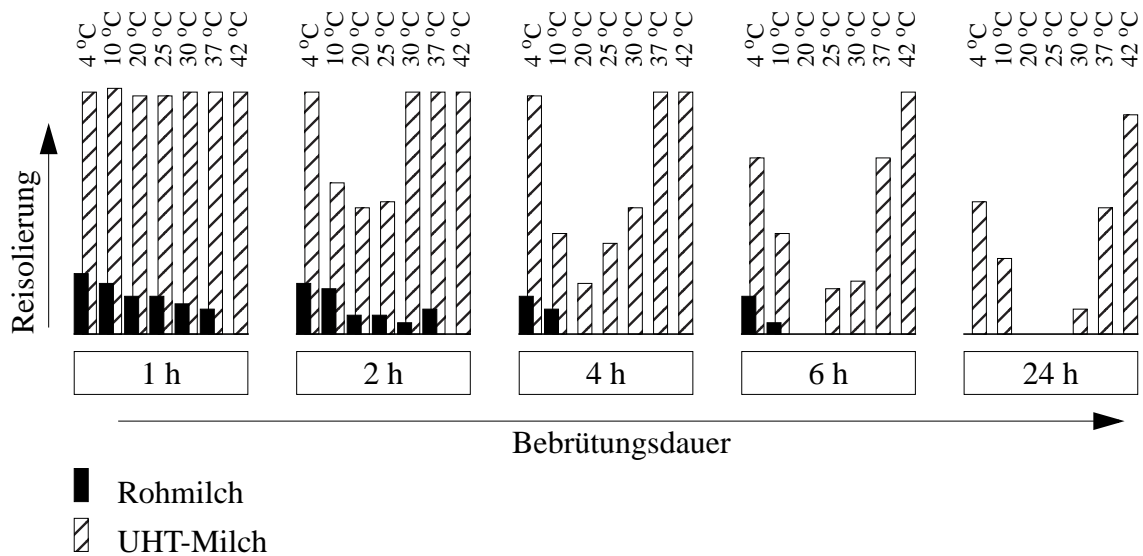


Abb. 18 Vergleich der Reisolierung von *Campylobacter jejuni* aus Rohmilch und UHT-Milch bei einer inokulierten Keimzahl von 500 KBE/ml (II)

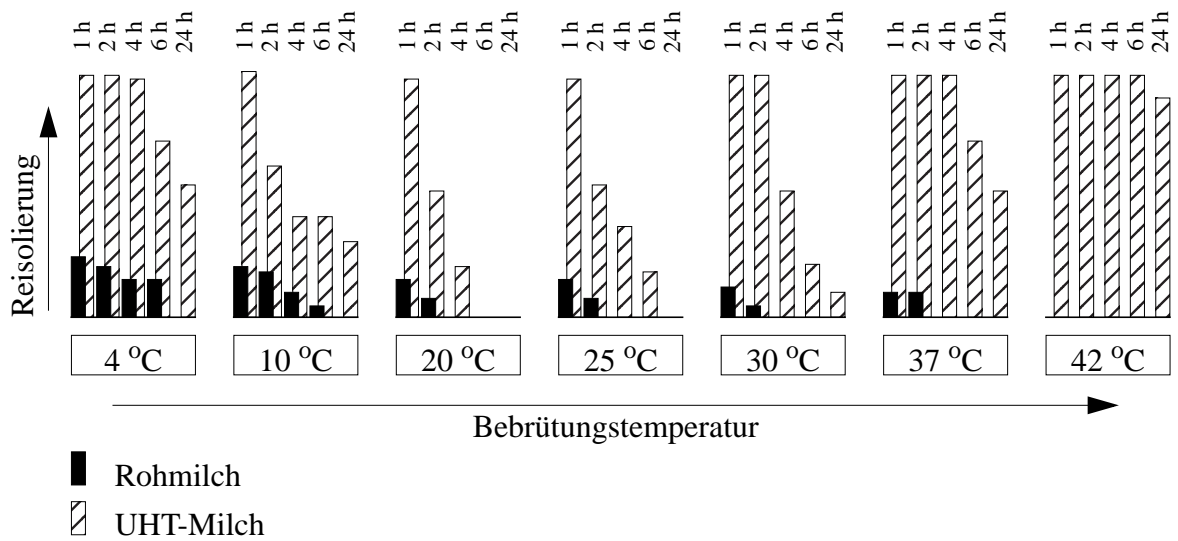


- (3) In den Diagrammen in Abb. 18 und Abb. 20 zeigt sich für Rohmilch und bei allen betrachteten Temperaturen ein deutlicher Abfall der Reisolierungsrate von *Campylobacter jejuni* in Abhängigkeit von der Bebrütungsdauer. Eine Abhängigkeit, die sich auch für UHT-Milch zumindest andeutet.



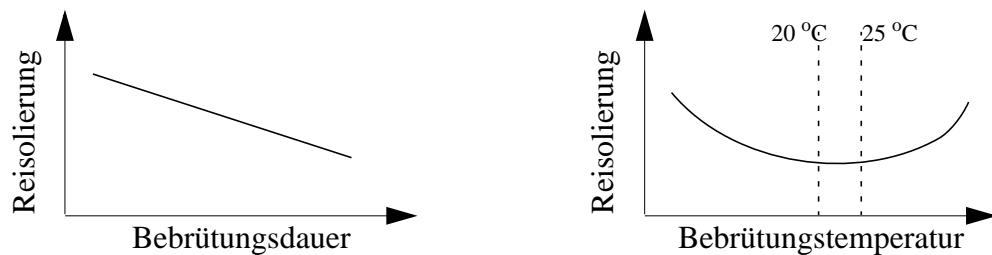
**Abb. 19** Vergleich der Reisolierung von *Campylobacter jejuni* aus Rohmilch und UHT-Milch bei einer inokulierten Keimzahl von 100 KBE/ml (I)

- (4) Im Diagramm in Abb. 19 läßt sich der unter Punkt (2) beschriebene drastische Rückgang der Reisolierungsrate bei 20°C/25°C nur noch für UHT-Milch beobachten. Im Falle der Rohmilch setzt sich die Begleitflora bei dieser sehr niedrigen inokulierten Keimmenge von 100 KBE/ml an *Campylobacter jejuni* schon früher durch als bei einer Keimmenge von 500 KBE/ml, die dem Diagramm in Abb. 17 zugrunde liegt. Dies dürfte im wesentlichen auch der Situation bei den in Kapitel 3 beschriebenen Untersuchungen entsprechen. Danach ist immerhin nicht auszuschließen, daß äußerst schwache Kontaminationen der im Rahmen amtlicher Kontrollen entnommenen Proben durch Begleitflora-Einflüsse unentdeckt geblieben sind.



**Abb. 20** Vergleich der Reisolierung von *Campylobacter jejuni* aus Rohmilch und UHT-Milch bei einer inkubierten Keimzahl von 100 KBE/ml (II)

Zusammenfassend läßt sich festhalten, daß prinzipiell der in Abb. 21 dargestellte Verlauf beobachtbar ist.



**Abb. 21** Prinzipieller Verlauf der Reisolierung von *Campylobacter jejuni* in Abhängigkeit von der Zeit und von der Temperatur

Wo sich dieses prinzipielle Verhalten in den Diagrammen nicht widerspiegelt, kann man die Abweichung dadurch erklären, daß andere, gleichzeitig wirkende Einfluß-faktoren das Verhalten bestimmen. So bieten bspw. Temperaturen um die 40 °C auch für viele konkurrierenden Keime sehr gute Überlebensbedingungen.

Die vorliegenden Ergebnisse stimmen weitgehend mit den in der vorhandenen Literatur beschriebenen überein (SIMMS und McRAE, 1989; BORCH et al., 1989; PICKERT und BOTZENHART, 1985; CHRISTOPHER et al., 1982a).

## 6.4 Überlebensraten von *Campylobacter jejuni* nach experimenteller Inokulation hoher Keimzahlen in UHT-Milch

In einer dritten Untersuchungsreihe wurde die Überlebensrate von *Campylobacter jejuni* nach experimenteller Inokulation relativ hoher Keimzahlen ( $> 10^5$  Keime/ml) in UHT-Milch untersucht.

Dazu wurden UHT-Milchen, die zuvor mit einem humanen *Campylobacter-jejuni*-Referenzstamm beimpft wurden, bei drei verschiedenen Temperaturen, 4°C, 22°C und 37°C aerob gelagert. Die Ausgangskeimzahlen sowie die Keimzahlen nach 2, 4, 8, 12, 24 und 36 Stunden wurden bestimmt.

Bei den verschiedenen Temperaturen war folgendes Überlebensverhalten von *Campylobacter jejuni* zu beobachten:

– 4°C:

Die Zahl der reisolierten Keime nahm langsam, aber stetig ab. Im Schnitt verlangsamte sich die Keimzahlreduktion nach 12 Stunden. Insgesamt erfolgte eine Keimzahlreduktion von weniger als einer Zehnerpotenz über 36 Stunden.

– 22°C:

Es erfolgte eine durchschnittliche Keimzahlreduktion von mehr als einer Zehnerpotenz. In einem Fall konnte nach 36 Stunden kein Keim mehr nachgewiesen werden.

– 37°C:

In zwei Versuchsansätzen stieg die Reisolierungsrate nach anfänglicher Abnahme wiederum an. In einem dieser Fälle fiel sie anschließend wieder ab, während es im anderen Fall sogar zu einer Vermehrung von *Campylobacter jejuni* kam. Dieses Verhalten läßt sich wohl auf den pH-Wert im Bereich um 6,7 in Verbindung mit der für das Überleben von *Campylobacter jejuni* günstigen Temperatur zurückführen. In den verbleibenden Versuchsansätzen nahm die Reisolierungsrate insgesamt um weniger als eine Zehnerpotenz ab.

Die Ergebnisse dieses Versuchsabschnittes bestätigen zumindest teilweise die Befunde, wonach *Campylobacter jejuni* in Milch Tage oder sogar Wochen überdauern kann, wenn eine konkurrierende Begleiflora fehlt (DOYLE und ROMAN, 1981, 1982b, OOSTEROM et al., 1982; WYATT und TIMM, 1982). Welcher Absterbekinetik der Erreger bei sehr geringem Inokulum folgt, läßt sich auf Grund der eigenen mit massiver Beimpfung durchgeführten Versuche nicht sagen.

## 6.5 Zusammenfassende Betrachtung und Schlußfolgerungen

Die durchgeführten Versuche belegen, daß *Campylobacter jejuni* ein sehr empfindlicher und anspruchsvoller Keim ist. Dennoch hat er, auch bei nur geringer Keimzahl, in schwach fremdkeimbelasteter Rohmilch, oder in unzureichend erhitzter Milch für Stunden oder sogar Tage eine Überlebenschance. Konsumenten von frischer, unter Umständen gekühlter Rohmilch oder unzureichend wärmebehandelter Milch könnten sich auf diesem Wege infizieren. Die infektiöse Dosis ist mit nur 500 Keimen pro 180 ml sehr gering (ROBINSON, 1981). Derart geringe Kontaminationen könnten auch durch belastetes Reinigungswasser bei der Tank- oder sonstigen Systemreinigung vermittelt werden.

Eine *Campylobacter-jejuni*-Mastitis mit Erregerausscheidung ist bisher nur im Experiment beobachtet worden (GUDMUNDSON und TREJO, 1993; siehe auch Tabelle 19, S. 48). In den vorliegenden Untersuchungen konnte in keiner der untersuchten Rohmilch- und Mastitisproben eine direkte Infektion des bovinen Euters bzw. der Milch mit *Campylobacter jejuni* nachgewiesen werden.

In den experimentell kontaminierten Milchproben überlebte *Campylobacter jejuni* je nach Art der Milch, Inokulumdosis, Temperatur und Inkubationsdauer wenige Stunden bis Tage. Die eigenen Versuche stützen die Annahme, daß die *Campylobacter*-negativen Befunde im ersten Versuchsabschnitt (siehe Kapitel 3) nicht bloß methodischen Mängeln der Untersuchungstechnik zu danken sind, sondern den Tatsachen entsprechen. Ursprünglich vorhandene geringste Kontaminationen können durch die Begleitflora überwuchert oder durch Substrateinflüsse abgestorben sein, so daß sie dem Nachweis entgingen.

Sauber ermolzene Rohmilch ist in der Regel *campylobacter*frei. Wenn überhaupt, gelangt *Campylobacter jejuni* nur als fäkale Verunreinigung in die Rohmilch. Hier wird sein Überleben vom pH-Wert, konkurrierender Begleitflora und anderen Umgebungsbedingungen bestimmt. Im Sinne vorbeugenden Verbraucherschutzes ist gerade bei der Rohmilch-Ab-Hof-Abgabe zur Vermeidung von *Campylobacter-jejuni*-Infektionen peinlichste Sorgfalt bei der Milchgewinnung zu fordern.

## 6.6 Methodische Erkenntnisse

Bei den für die beschriebenen Untersuchungen verwendeten „BBL Gas Pak System<sup>®</sup>“ mit „Gas Generating Kit“ und aktivem Katalysator „bio Mérieux microaer<sup>®</sup>“ und dem von Oxoid entwickelten **CampyGen<sup>®</sup>** handelt es sich um effiziente, leicht handhabbare und zudem kostengünstige Systeme. Sie gehören zur Standardausrüstung eines Milchlabors und haben sich für den Nachweis und die Anzucht von *Campylobacter jejuni* und *Campylobacter coli* auf Skirrow-Selektivagar und Müller-Hinton-Blutagar sehr gut bewährt. Der Zeitaufwand für die Untersuchungen ist allerdings hoch.

Für die Anzucht von *Campylobacter jejuni/coli* aus Nahrungsmitteln kann auf eine Anreicherung im flüssigen Medium verzichtet werden (AQUINO et al., 1996).

Was die verwendeten Nährböden betrifft, so ist die Campylobacter-Ausbeute beim Einsatz anderer Nährböden, bspw. nach Butzler, im Vergleich zu Skirrow-Selektivagar und bezogen auf Rohmilch eher kleiner oder allenfalls gleich (GUN-MUNRO et al., 1987). Ein Anfang Januar 1995 von der Firma OXOID herausgebrachter blutfreier Selektivnährboden nach Karmali (KARMALI, 1986; OXOID, 1997; siehe auch Abschnitt 2.2.1.1, S. 8) stand für die Untersuchungen noch nicht zur Verfügung. Erfahrungen mit diesem Nährboden konnten daher nicht gesammelt werden.

Zur Verbesserung der Diagnostik ist es notwendig, weitere zuverlässige, schnelle und preiswerte Nachweisverfahren zu erarbeiten. Die DNA-Hybridisierungsverfahren (STERN und MOZOLA, 1992; RANSOM et al., 1994) erscheinen gerade für Screening-Zwecke als brauchbare Ergänzung.

Die Reisolierung von *Campylobacter jejuni* aus Rohmilch gelingt bei dem derzeit empfohlenen methodischen Vorgehen (ISO/CD 10272, 1993) nur nach massiver Kontamination und unverzüglicher Untersuchung.