

Campylobacter bei Geflügel: Überblick über angewandte Nachweismethoden und die derzeitige Datenlage

Kurzprotokoll des 2. Sachverständigengesprächs im BfR am 12. Dezember 2006

Campylobacter-Bakterien sind in Deutschland neben Salmonellen die häufigste Ursache für bakterielle infektiöse Magen-Darm-Erkrankungen beim Menschen. Der Erreger wird hauptsächlich durch tierische Lebensmittel, insbesondere Geflügelprodukte, übertragen. Aufgabe des Bundesinstituts für Risikobewertung (BfR) ist es, zum Schutz der Verbraucher geeignete Strategien zur Bekämpfung von *Campylobacter* spp. sowie Forschungsbedarf aufzuzeigen. Dazu hatte das Institut bereits im Juli 2006 ein erstes Sachverständigengespräch „*Campylobacter* spp. in Geflügel“ mit Vertretern aus der Wirtschaft, der Wissenschaft und der Lebensmittelüberwachung organisiert. Als Ergebnis der Veranstaltung wurden verschiedene Maßnahmen zur Reduktion der Bakterien in Geflügelfleisch [1] sowie ein zweites Sachverständigengespräch zur Erarbeitung von Rahmenbedingungen für eine verbesserte Diagnostik vorgeschlagen.

Im Dezember 2006 veranstaltete das BfR das zweite Sachverständigengespräch zur Entwicklung von Handlungsoptionen zur Reduzierung von *Campylobacter* spp. mit dem Ziel, die bei Untersuchungen auf unterschiedlichen Ebenen gesammelten Daten besser zu vernetzen. In sieben Vorträgen wurden verschiedene Nachweismethoden von *Campylobacter* und die Schwierigkeiten mit der derzeitigen Datenlage dargestellt. Im Folgenden gibt das BfR einen Überblick über die Ergebnisse.

1 Einleitung

Im Rahmen des im Juli 2006 vom BfR organisierten ersten Sachverständigengesprächs „*Campylobacter* spp. in Geflügel“ wurden Bedeutung und Vorkommen von *Campylobacter* spp. sowie Strategien zur Minderung des Vorkommens von *Campylobacter* spp. in Geflügelbeständen in Deutschland als Grundlage zur Entwicklung von Handlungsoptionen zur Reduzierung von *Campylobacter* spp. im Geflügelbereich mit Teilnehmern aus Wirtschaft, Wissenschaft und Lebensmittelüberwachung diskutiert. Im Ergebnis dieses ersten Sachverständigengesprächs wurden die folgenden Maßnahmen als geeignet zur Reduzierung von *Campylobacter* spp. im Geflügelbereich und in der Lebensmittelkette angesehen:

- Biosecurity
- Verbesserung der Schlachthygiene
- logistisches Schlachten
- Dekontaminationsmaßnahmen
- stärkere Kommunikation von lebensmittelhygienischen Maßnahmen im Rahmen der Lebensmittelkette
- Installation von Monitoring- und Surveillance-Programmen einschließlich der Prüfung von Handlungsoptionen im Rahmen der Risikobewertung auf Effektivität in Form eines europäischen Ansatzes
- Entwicklung von Food Safety Objectives (FSO) und Performance Objectives (PO)
- Entwicklung von zukünftigen *Campylobacter*-Bekämpfungsstrategien im Rahmen der Urproduktion von Geflügelfleisch
- stärkere Einbindung des Konsumenten

Eine Schlussfolgerung des ersten Sachverständigengesprächs war zudem, dass die Diagnostik von *Campylobacter* spp. zusätzlicher und detaillierter Erörterungen und Abstimmungen bedarf.

Dies erfolgte im Rahmen des zweiten Sachverständigengesprächs mit dem Ziel einer Vernetzung der bei Untersuchungen auf unterschiedlichen Ebenen gesammelten Daten. Der Überblick über die angewandten Nachweismethoden und die derzeitige Datenlage wurde als Ausgangspunkt zur gemeinsamen Beschreibung des Bedarfs an weiteren Datenerhebungen, des Forschungsbedarfs zur Risikobewertung und der Entwicklung von Handlungsoptionen von *Campylobacter* spp. in Geflügel dargestellt.

2 Überblicksvorträge über angewandte Nachweismethoden und die derzeitige Datenlage

2.1 Anforderungen an Verfahren zum Nachweis und zur Genotypisierung von *Campylobacter* spp.

Bei der Campylobakteriose handelt es sich um eine überwiegend lebensmittelbedingte Zoonose, circa 40 % der humanen Erkrankungsfälle können dabei auf den Konsum von bzw. den Umgang mit Geflügelfleisch zurückgeführt werden. Es wurde aufgezeigt, dass mittels molekularbiologischer Typisierungsmethoden generell Unterschiede und Übereinstimmungen innerhalb einer bestimmten Spezies erkannt werden könnten, um eine Gruppierung von Isolaten (z.B. bei *Campylobacter* Unterscheidung von hoch virulenten, nicht virulenten bzw. nur in Hühnern vorkommenden Isolaten) zu ermöglichen. Grundlage hierfür ist jedoch, dass die Eigenschaften der Spezies zumindest weitgehend bekannt sind.

Für die Typisierung sind einerseits Methoden geeignet, die auf phänotypischen, d.h. von der Genexpression abhängigen Charakteristika der Spezies beruhen (Sero-, Phagen- und Biotyping). Andererseits werden vermehrt Methoden wie PCR, PCR-RFLP, Ribotyping, MLST, PFGE, AFLP angewandt, die auf den genotypisch stabilen und damit jederzeit reproduzierbaren Eigenschaften der Spezies beruhen. Welche Methoden sich letztlich als am besten geeignet erweisen, hänge dabei entscheidend von der eigentlichen Fragestellung ab. Im Falle von *Campylobacter (C.) jejuni* wird die Genotypisierung jedoch entscheidend durch die große Diversität und insbesondere die mangelnde Klonalität der Spezies erschwert. Während die Gruppierung bei einer klonalen Spezies im Allgemeinen ähnlich ist, stimmen die Typisierungsschemen bei nicht-klonalen Spezies nicht überein – *C. jejuni* ist keiner beider Gruppierungen direkt zuordenbar. So können bei *C. jejuni* zwar innerhalb einer klonalen Gruppe Genotypen korrelieren, auch ist eine (schwache) Korrelation zwischen Serotyp O:19 und dem Guillain-Barré Syndrom vorhanden, dennoch ist die Einteilung nach Serotypen nicht sinnvoll (im Gegensatz zu den Salmonellen), da sie keine Korrelation zu einer der gewünschten Eigenschaften (z. B. korrelierend zu Tierart oder Virulenz) zeigen.

Generell sind auch die für die Erkrankung verantwortlichen Virulenzfaktoren bei der Spezies *Campylobacter* (noch) nicht bekannt. Obwohl es Unterschiede in der Virulenz zwischen verschiedenen *Campylobacter* spp.-Stämmen gibt, ist deren Einordnung nach wie vor fraglich. Vor dem Hintergrund, dass die Spezies zwar einerseits viele Tierarten ohne das Hervorrufen einer klinischen Symptomatik kolonisiert, beim Menschen aber andererseits eine Erkrankung hervorrufen kann, wäre es denkbar, dass die Virulenzfaktoren möglicherweise nur im humanen Wirt wirken können, oder aber der Mensch anders auf *Campylobacter* spp. reagiert. Welche Rolle das Immunsystem des Wirts in diesem Zusammenhang spielt, ist nicht bekannt. Die Rolle des Immunsystems bei der Entstehung der Campylobakteriose des Menschen könnte jedoch komplexer sein als bislang angenommen. Demnach würde die Entstehung einer klinischen Symptomatik möglicherweise entscheidend durch wirtsabhängige Faktoren beeinflusst werden.

2.2 Stand der Validierung von PCR/Real-Time (RT)-PCR-Methoden für § 64 LFGB

Im Rahmen einer § 64 LFGB-Arbeitsgruppe wurden insgesamt sieben verschiedene, überwiegend bereits publizierte und auf unterschiedlichen *Campylobacter*-Zielgenen beruhenden PCR/RT-PCR-Verfahren zum Nachweis von thermophilen *Campylobacter* spp. miteinander verglichen, da der Wunsch nach zeitsparenden, validierten Nachweismethoden in der Routinediagnostik stetig zunimmt, zumal so auch die gleichzeitige Detektion und Unterscheidung mehrerer Spezies möglich ist. Alle getesteten Verfahren wurden in Kombination mit einer 24-48stündigen Voranreicherung durchgeführt, um die Diskussion über den möglicherweise erfolgten Nachweis von toten Zellen bzw. VBNC- (viable but non-culturable) Zuständen zu umgehen.

Anhand der vergleichenden Untersuchung von mehr als 60 verschiedenen Stämmen wurde festgestellt, dass die sieben Verfahren sowohl unterschiedliche Spezifitäten bezüglich der drei hauptsächlich an humanen Erkrankungen beteiligten *Campylobacter* spp., *C. coli*, *C. jejuni* und *C. lari*, als auch mit unterschiedlicher Häufigkeit falsch-positive Ergebnisse bei insgesamt neun weiteren *Campylobacter* spp. aufwiesen. Insbesondere die Spezies *C. hyoi-lei* und *C. upsaliensis* führten hier zu falsch-positiven Ergebnissen.

Am besten geeignet für das Screening von *Campylobacter* spp. erwies sich das von Perelle et al. [2] beschriebene Lightcycler-RT-PCR-Verfahren (Zielgen 16S rRNA), während die Verfahren von Best et al. [3] mit interner Amplifikationskontrolle (Zielgene map A und ceu E) bzw. von Anderson et al. (unveröffentlicht, Zielgen fla A) zur Speziesidentifizierung von *C. coli* und *C. jejuni* (eingeschränkt auch für *C. lari*) von der Arbeitsgruppe als mögliche § 64 LFGB-Methoden vorgeschlagen wurden. In Zweifelsfällen empfiehlt die Arbeitsgruppe die Kombination eines Screening-Verfahrens mit einem Verfahren zur Spezies-Identifizierung. Abschließend wurde noch auf einen sich noch in der Planungsphase befindenden Ringversuch zu PCR/RT-PCR-Verfahren zum Nachweis von thermophilen *Campylobacter* spp. hingewiesen, der möglicherweise Ende des Jahres 2007 in Zusammenarbeit mit den Landesuntersuchungsämtern durchgeführt werden soll.

2.3 Erfahrungen mit einer multiplex PCR zum Nachweis von *C. coli* / *C. jejuni*

Es wurde von der Etablierung des multiplex PCR-Verfahrens nach Denis et al. [4] mit den Zielgenen 16S rRNA (gattungsspezifisch), *map* A-Gen (spezifisch für *C. jejuni*) und *ceu* E-Gen (spezifisch für *C. coli*) zum gleichzeitigen Nachweis von *C. jejuni* und *C. coli* aus verschiedenen Matrices (von Legehennen und Puten stammend) berichtet. Dieses Verfahren birgt den Vorteil, dass die Amplifikationsprodukte aufgrund des deutlichen Größenunterschieds einfach auf einem Agarosegel differenziert werden können: während das gattungsspezifische Amplifikat eine Größe von 875 bp aufweist, sind die speziesspezifischen Amplifikate von *C. jejuni* bzw. *C. coli* nämlich 589 bp bzw. 462 bp groß.

Im Anschluss an die Etablierung der Methode wurde anhand von Kloakentupfer- bzw. Kotproben, die bei zehn Hühnern intra vitam entnommen wurden, untersucht, welchen Einfluss die Probenvorbereitung auf die Nachweissensitivität der beiden *Campylobacter* spp. hat. Hierfür wurden die Proben vergleichend einerseits im Direktnachweis mit vorheriger DNA-Präparation mittels kommerzieller Testkits und andererseits mit vorheriger 24stündiger Anreicherung bei 42°C im Preston Medium mit Supplement untersucht. Das beste Nachweisergebnis erbrachte hier die Untersuchung von Kotproben mit vorheriger 24stündiger Anreicherung im Flüssigmedium, während der Direktnachweis aus Kloakentupfer am schlechtesten abschnitt. Insgesamt war die Nachweisrate jedoch sehr gering, da in Abhängigkeit von dem

Verfahren maximal bei vier Hühnern und außerdem auch nur die Spezies *C. jejuni* detektiert wurde.

Wie aufgezeigt wurde, sollen zur Erhöhung der Sensitivität der Methode weiterführende Untersuchungen (z.B. Untersuchung von post mortem entnommenen Zäkumproben und Vergleich der Ergebnisse mit den bei intra vitam entnommenen Proben), auch mit einer höheren und somit statistisch besser verwertbaren Tierzahl, durchgeführt werden. Schließlich könnten auch einzelne Parameter des Verfahrens verändert (z.B. durch die Verwendung anderen Kultivierungsmethoden, Verbesserung der DNA-Extraktion, Verlängerung der Voranreicherung) und die Untersuchungen durch die Durchführung von quantitativen PCR-Methoden ergänzt werden.

Bei der anschließenden Diskussion unter den Teilnehmern des Sachverständigengesprächs wurde ergänzend angemerkt, dass einerseits die vorgestellte Probenvorbereitung auch für Lebensmittelproben geeignet sein müsse. Andererseits müsse die Studie insbesondere bei Masthähnchen durchgeführt werden, um Anhaltspunkte darüber zu erhalten, zu welchem Zeitpunkt *Campylobacter* in die Geflügelpopulation gelangt. Kritisch angemerkt wurde zudem, dass der rein qualitative *Campylobacter*-Nachweis bei einem Einzeltier wenig aussagekräftig für die gesamte Herde sei. Schließlich wurde angeregt, Blinddarmkot aufgrund der darin enthaltenen höheren *Campylobacter*-Konzentration zu untersuchen.

2.4 *Campylobacter*-Diagnostik in Lebensmitteln und erste Resultate von quantitativen Untersuchungen

Es wurde berichtet, dass aus lebensmittelrechtlichen Gründen der Nachweis von *Campylobacter* spp. in Lebensmitteln in der amtlichen Lebensmittelüberwachung qualitativ und kulturell erfolgt, während ELISA und/oder PCR-Verfahren nur zum Screening eingesetzt werden. Am bayerischen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL) erfolgt der qualitative Nachweis von thermophilen *Campylobacter* spp. mittels einer hausinternen Methode, die auf der ISO-Norm 10272:1995 beruht. Im Unterschied zur ISO-Methode ist bei der hausinternen Methode des LGL nach der Anreicherung in modifizierter Preston-Bouillon ein ELFA-Screening-Verfahren zwischengeschaltet. Nur die ELFA-positiven Ergebnisse werden anschließend kulturell bestätigt. Für den kulturellen Nachweis wird bei der Hausmethode zudem ein Membranfiltrationsschritt mit sterilen Membranfiltern (Porengröße 0,65 µm) und einem Ausstrich auf Blutagarplatten mit anschließender biochemischer Bestätigung der *Campylobacter*-verdächtigen Kolonien mittels API-System durchgeführt. Dabei würde die Diagnostik insbesondere durch die Membranfiltration erheblich erleichtert. Seit April 2006 ist eine neue ISO-Norm (ISO 10272/1) gültig, die zunächst eine Voranreicherung des Probenmaterials in Bolton-Bouillon mit einer Bebrütung bei 37°C (für 4 h) bzw. 41,5°C (für 42-44 h) vorsieht. Der Ausstrich erfolgt anschließend auf einem mCCD-Selektivagar.

Anhand der Untersuchungsergebnisse des LGL konnte aufgezeigt werden, dass es sich bei der Hausmethode um ein äußerst selektives Verfahren zum Nachweis von *Campylobacter* spp. handelt, da z.B. bei rohem Hähnchenfleisch eine Nachweisrate von 72 % erzielt wurde. Interessant sind die Ergebnisse von Miesmuscheln und Austern, bei denen in Schwerpunktuntersuchungen seit 1998 eine 26 bzw. 8prozentige Nachweisrate erzielt wurde.

Abschließend wurde von Erfahrungen mit der ebenfalls seit April 2006 gültigen ISO-Methode 10272/2 zum quantitativen Nachweis von thermophilen *Campylobacter* spp. berichtet. Hierbei wird von dem Probenmaterial zunächst eine dezimale Verdünnungsreihe erstellt und mittels Spiralplattenverfahren auf unterschiedliche Selektivnährböden gegeben: unterschiedliche Keimzahlergebnisse wurden dabei zwischen Skirrow-, Karmali- und mCCD-Agar nicht

festgestellt. Problematisch ist jedoch das starke Wachstum der Begleitflora, weshalb das LGL zukünftig auch beim quantitativen *Campylobacter*-Nachweis die Membranfiltrationsmethode einsetzen will. Die größte Unsicherheit bei dieser Methode bestehe jedoch darin, dass unterschiedliche Keimzahlergebnisse in Abhängigkeit von der Probenvorbereitung (Muskulatur mit/ohne Haut versus destruktives Verfahren versus Abschwemmen der Oberfläche) erzielt wurden. Hierin wird der größte Klärungsbedarf gesehen, da ein Vergleich von Daten nur möglich ist, wenn das Nachweisverfahren einschließlich der probenvorbereitenden Schritte standardisiert ist. Das Auditorium stimmte dieser Aussage zu.

2.5 Vorstellung von Ergebnissen aus dem Projekt POULTRYFLORGUT (Quantification of *Campylobacter* in broiler at slaughterhouse level)

Bei diesem Vortrag wurde ein Überblick über das im 6. EU-Rahmenprogramm angesiedelte Projekt „POULTRYFLORGUT“ gegeben, das einen ganzheitlichen Ansatz „from farm to fork“ verfolgt. Das 3. Arbeitspaket des Projekts, dessen bis dato erzielte Ergebnisse vorgestellt wurden, verfolgt hierbei das Ziel, die Prävalenzen von Lebensmittelinfektionserregern an Geflügelschlachthöfen zu bestimmen und Ansätze zur Reduzierung von Kontaminationen zu erarbeiten. Bezogen auf die Schlachthofebene bedeutet dies, dass zunächst der Herdenstatus bei der Schlachtung festgestellt werden muss, anschließend muss der Einfluss kritischer Prozessschritte bei der Schlachtung und Verarbeitung im Hinblick auf die Prävalenz und Anzahl von *Campylobacter* spp. auf Karkassen und Geflügelfleisch bewertet werden. Schließlich werden die *Campylobacter*-Isolate mittels PFGE nach dem „CAMPYNET“-Standardprotokoll (Enzyme *Smal* und *KpnI*) zur Feststellung von Kreuzkontaminationen während der Prozessschritte typisiert. Im Rahmen des Projekts wurden hierfür Proben von Schlachthöfen an verschiedenen, hygienisch bedeutsamen Stationen (Brühung, Entfederung, Eviszeration, Kühlung) sowie verschiedene Fleischteilstücke (Brust mit Haut und Knochen, Brustfilets) entnommen und auf thermophile *Campylobacter* spp. nach ISO 10272/2002 quantitativ und mittels Anreicherung untersucht. Es wurde aufgezeigt, dass hohe Prävalenzraten von *Campylobacter* spp. von bis zu 97 % im Brühwasser und im geringsten Fall von 65 % im Brustfilet in elf untersuchten Herden (3 *Campylobacter*-negative und 8 *Campylobacter*-positive) bei allen Prozessschritten nachgewiesen wurden, herdenspezifische *Campylobacter* spp. wurden dabei mittels PFGE identifiziert und über die gesamte Schlachtlinie verfolgt. Selbst bei der Untersuchung von *Campylobacter*-negativen Herden wurden hohe Prävalenzraten nach verschiedenen Prozessschritten festgestellt. Bezüglich der Keimzahlen zeigte sich, dass sich von den ursprünglich im Mittel im Blinddarm vorhandenen log 6,8 kbE, immerhin noch log 4,1 kbE im Mittel im Brustfilet quantifizieren ließen, eine Verminderung der *Campylobacter*-Zahlen erfolgt jedoch offensichtlich im Rahmen der einzelnen Verarbeitungsschritte.

2.6 Aktuelle Daten aus dem nationalen Masthähnchenmonitoring

Die bei diesem Vortrag vorgestellten Daten zur Resistenz von *Campylobacter* spp. wurden aus den bei den folgenden drei Studien gewonnenen Isolaten durch das am BfR angesiedelte Nationale Referenzlabor (NRL) für *Campylobacter* generiert:

- *Campylobacter*-Masthähnchenmonitoring (Isolate aus 2004-2005)
- Untersuchung von Schweinemastbeständen (Isolate aus 2003-2004)
- Untersuchung von Geflügelfleischproben (362 Isolate seit Februar 2006)

Wie die Ergebnisse des *Campylobacter*-Masthähnchenmonitorings für die Jahre 2005-2006 aufzeigen, lag die Nachweisrate von *Campylobacter* spp. in Herden im Durchschnitt bei 39 %, mit einem klaren Anstieg der Prävalenz in den Sommermonaten. Insgesamt 433 Isolate der Studie wurden mittels Mikrodilutionsmethode auf ihre Antibiotikaempfindlichkeit getes-

tet. Hierbei wurden hohe Resistenzraten bei *Campylobacter jejuni* bzw. *Campylobacter coli* spp. insbesondere gegenüber Tetrazyklinen (50 bzw. 61 %), Ampicillin (39 bzw. 30 %), Ciprofloxacin (41 bzw. 60 %) und Nalidixinsäure (40 bzw. 61 %) erzielt, während Gentamycin bei beiden Spezies gut wirksam war (Sensibilität 100 %).

Bei den Ergebnissen der Untersuchung von Schweinemastbeständen in den Jahren 2003-2004 wurden insgesamt 157 *C. coli*-Isolate auf ihre Antibiotikaempfindlichkeit untersucht. Die höchste Resistenzrate wurde bei Tetrazyklinen (47 %) ermittelt, gefolgt von Ceftazidim (21,7 %) und Nalidixinsäure (19,8 %), während Gentamycin auch bei dieser Studie zu 100 % wirksam war.

In der dritten Studie zur Untersuchung von Geflügelfleischproben wurden bisher 17, seit Februar 2006 von den Untersuchungsämtern eingeschickte Isolate von *Campylobacter* spp. auf ihre Antibiotikaempfindlichkeit untersucht. Hierbei zeigte sich, dass die aus den Fleischproben isolierten *Campylobacter* spp. eine Resistenzrate von 35 % gegenüber Tetrazyklinen, Ampicillinen, Nalidixin und Ciprofloxacin aufwiesen. Die Resistenzrate gegenüber Ceftazidim bzw. Erythromycin betrug hingegen 29 bzw. 12 %, während Gentamycin abermals zu 100 % wirksam war. Aufgrund der geringen Untersuchungszahl sind die Ergebnisse dieser Untersuchungen jedoch nur unter Vorbehalt zu interpretieren.

Erste Ergebnisse einer in Kooperation zwischen der Universität Leipzig und dem NRL für *Campylobacter* durchgeführten Studie zum Vorkommen und zur Quantifizierung von *Campylobacter* in Putenfleisch ergaben, dass in 80 % der Halshautproben im Durchschnitt log 2,95 KbE/g *Campylobacter* spp. nachgewiesen wurden, während in 72 % der Putenflügel, 68 % des Putenunterkeulenfleischs bzw. 19 % der Brustfilets *Campylobacter* spp. mit log 3,52, log 2,34 bzw. nur nach Anreicherung detektiert wurden. In Hackfleischproben wurden *Campylobacter* spp. hingegen qualitativ und quantitativ nicht nachgewiesen.

Für alle drei Studien wurde ergänzend ausgeführt, dass die oben beschriebenen Ergebnisse zur Prävalenz bzw. Resistenz von *Campylobacter* spp. insgesamt mit den Daten anderer europäischer Länder vergleichbar sind, jedoch zur Betrachtung der nationalen Entwicklung solide Daten fehlen. Hauptaufgabe der nächsten Jahre müsse sein, vergleichbare Daten auf nationaler Ebene zu generieren, indem einheitliche Untersuchungsstandards festgelegt werden. Zur Umsetzung dieses Vorhabens plant das NRL für *Campylobacter* daher, neben der Fortsetzung der Studien zur Antibiotikaresistenz bzw. des *Campylobacter*-Masthähnchenmonitorings, die Kooperation mit den Landesuntersuchungsämtern zu intensivieren.

Bei der anschließenden Diskussion unter den Teilnehmern und dem vom CVUA Freiburg vorgestellten „Erfahrungsbericht über den *Campylobacter*-Nachweis in Lebensmittelproben“ bestätigte sich, dass ein einheitlicher Untersuchungsstandard tatsächlich dringend erforderlich ist. Weiterhin machten die Teilnehmer deutlich, dass bei der quantitativen Untersuchung von Lebensmittelproben auf *Campylobacter* spp. insbesondere auch ein einheitliches rechtliches Beurteilungsschema angewandt werden müsse, das es ebenfalls noch zu etablieren gilt.

2.7 Geplante Monitoringprogramme von *Campylobacter* spp. in Masthähnchen und Masthähnchenfleisch

Bei diesem Vortrag wurden die auf der Grundlage eines EU-Kommissionsentwurfs [5] und eines EFSA-Dokuments [6] geplanten Monitoringprogramme der EU von *Campylobacter* in

Masthähnchen und in Masthähnchenschlachtkörpern vorgestellt. Zielsetzung sei die Umsetzung der Zoonosenrichtlinie.

Folgende Details zum EFSA-Dokument wurden dargelegt:

Nachgewiesen werden Salmonellen und *Campylobacter* auf Masthähnchenkarkassen am Schlachthof und im Handel. Die Untersuchung auf *Campylobacter* erfolgt sowohl qualitativ als auch quantitativ, die Untersuchung auf Salmonellen nur qualitativ. Probennahme, Probenaufarbeitung und Nachweismethoden werden durch das Dokument konkret vorgegeben. Für Deutschland müssen 384 Proben von Karkassen und 384 Proben Geflügelfleisch aus dem Handel untersucht werden.

In der Diskussion wurde die Aufgabenverteilung zwischen Landesuntersuchungslaboratorien und den beteiligten Nationalen Referenzlaboratorien (NRL für Salmonellen und NRL für *Campylobacter*) dargestellt. Probenaufbereitung und Isolierung der Bakterien erfolgt dezentral in den Landesuntersuchungslaboratorien; die Typisierung erfolgt am BfR. Die Notwendigkeit der Aufbewahrung der Isolate wurde nochmals hervorgehoben, um die Möglichkeit der Durchführung weiterführender Untersuchungen zu gewährleisten (u.a. Resistenztestung, weiterführende Typisierungen).

3 Schlussfolgerungen, Abschlussdiskussion und Ausblick

In Bezug auf die geplanten Untersuchungen wurde auf die Schwierigkeiten des quantitativen Nachweises von *Campylobacter* hingewiesen und empfohlen, in Kooperation zwischen den Landesuntersuchungslaboratorien und dem NRL für *Campylobacter* im BfR, vorbereitende Schulungsmaßnahmen anzubieten bzw. durchzuführen. Weiterhin sollen die Ergebnisse des ersten und zweiten Sachverständigengesprächs unter Beteiligung der Teilnehmer zusammengefasst werden, um Strategien zur Minimierung des Eintrags von *Campylobacter* in die Lebensmittelkette zu konkretisieren und umzusetzen. Hierbei sollten sowohl Maßnahmen in der Primärproduktion als auch Minimierungsstrategien während und nach der Schlachtung einbezogen werden. Dazu sei eine Zusammenarbeit mit der Industrie sinnvoll und notwendig.

Folgende Schwerpunkte für ein in 2007 durchzuführendes drittes Sachverständigengespräch wurden genannt: Zusammenfassung der im zweiten Sachverständigengespräch vorgestellten Daten für eine erweiterte Risikobewertung, Diskussion zu risikoorientierter Beurteilung von *Campylobacter*. Im geplanten dritten Sachverständigengespräch sollen konkrete Projekte erarbeitet werden und deren Finanzierungsmöglichkeiten identifiziert werden.

In der abschließenden Diskussion unter den Teilnehmern wurde deutlich gemacht, dass verstärkt das FIS-VL-System als Kommunikationsplattform genutzt werden soll.

Die Notwendigkeit der Einbeziehung der Humanmedizin wurde von den Teilnehmern bestätigt. Nur durch intensive und enge Kooperationen mit Vertretern der Humanmedizin sowohl auf Landesebene als auch auf Bundesebene können Maßnahmen zur Senkung der *Campylobacter*-Prävalenz erarbeitet werden. Hier herrscht – nach Einschätzung der Teilnehmer – noch Nachholbedarf.

Die logistische Schlachtung wird kontrovers diskutiert, da aufgrund der derzeit hohen *Campylobacter*-Prävalenz in Geflügelbeständen momentan keine praxisnahe Implementierung möglich scheint.

Ein großer Bedarf besteht an schnellen Identifizierungsmöglichkeiten (Schnelltests) von *Campylobacter* aus verschiedenen Matrizen, die auch von Laboren ohne Spezialapparaturen durchführbar wären.

Die vermutlich geringe Bedeutung der vertikalen Übertragung von *Campylobacter* wird nochmals hervorgehoben. Jedoch weisen einige Teilnehmer auf Nachweisen auf Eiern hin.

Abschließen wurden die Teilnehmer nochmals gebeten, konkret zu offenen Fragen Stellung zu nehmen. Dabei wurden folgende Aspekte angesprochen:

- Die Notwendigkeit zur Hilfestellung bei der Beurteilung von *Campylobacter*-Nachweisen in Lebensmitteln wurde betont.
- Offene Fragen zur Methodik der quantitativen Nachweismethode bzw. zu standardisierten diagnostischen Methoden müssen geklärt werden.
- Die Schwierigkeit, aufgrund der noch immer schwachen Datenlage, Mängel in der Diagnostik und der geringen Kenntnis über Virulenzfaktoren, praxisnahe Bekämpfungsprogramme zum jetzigen Zeitpunkt zu entwickeln. Hier seien noch umfangreiche Vorarbeiten nötig.
- Eine rechtzeitige Information der Veterinärämter als wichtige Beteiligte bei der Durchführung des geplanten Monitoringprogrammes wurde gefordert.
- Intensivere Forschungsansätze zum Nachweis der Virulenzfaktoren werden benötigt. Das Friedrich-Loeffler-Institut (FLI, Standort Jena) bittet um Übersendung von Isolaten, die in einem epidemiologischen Zusammenhang stehen, um solche Grundlagenforschung an aktuellen Stämmen durchführen zu können. Dabei könnte das NRL für *Campylobacter* Mittler zwischen Landeslabors und dem FLI (Standort Jena) sein.
- Die Notwendigkeit der intensiven Vorbereitung auf das zu erwartende Monitoringprogramm wurde nochmals betont.
- Der Schwerpunkt der Gewinnung von Daten und der Planung von Forschungsansätzen soll auf Geflügel und Geflügelfleisch gelegt werden. Eier und Schweinefleisch stellen nach dem derzeitigen wissenschaftlichen Erkenntnisstand nicht die Hauptinfektionsquelle für den Menschen dar. Quantitative Daten werden dringend benötigt, um quantitative Risikobewertungen im Hinblick auf *Campylobacter* in Geflügelfleisch durchführen zu können. Nochmals wird betont, dass zum jetzigen Zeitpunkt keine totale Eliminierung von *Campylobacter* in Geflügel möglich erscheint. Derzeitiges Ziel aller Bekämpfungsmaßnahmen sei daher eine Minimierung der Belastung von Geflügelfleisch mit *Campylobacter*.

4 Referenzen

- [1] Entwicklung von Handlungsoptionen zur Reduzierung von *Campylobacter* spp. im Geflügelbereich, Kurzprotokoll eines Sachverständigengesprächs im BfR am 3. Juli 2006, http://www.bfr.bund.de/cm/208/entwicklung_von_handlungsoptionen_zur_reduzierung_von_campylobacter_spp_im_geflugelbereich.pdf
- [2] Perelle S, Josefsen M, Hoofar J, Dilasser F, Grout J, Fach P. A lightcycler real-time PCR hybridization probe assay for detecting food-borne thermophilic *Campylobacter*. Mol Cell Probes. 2004; 18 (5): 321-7.
- [3] Best EL, Powell EJ, Swift C, Grant KA, Frost JA. Applicability of a rapid duplex real-time PCR assay for speciation of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* directly from culture plates. FEMS Microbiol Lett. 2003; 229 (2): 237-41.

- [4] Denis M, Soumet C, Rivoal K, Ermel G, Blivet D, Salvat G, Colin P. Development of a m-PCR assay for simultaneous identification of *Campylobacter jejuni* and *C. coli*. *Lett Appl Microbiol.* 1999; 29 (6): 406-10.
- [5] Draft commission Decision: Baseline survey on the prevalence of *Campylobacter* in broilers and in broiler carcasses (Entwurf für Sitzung am 24.10.2006)
- [6] Report of Task Force on Zoonoses Data Collection on proposed technical specifications for a co-ordinated monitoring programme for *Salmonella* and *Campylobacter* in broiler meat in the EU (Question No EFSA-Q-2006-045), *The EFSA Journal* (2006), 92, 1-33