

Vorkommen von
Salmonella spp. und *Campylobacter spp.*
in Schweinemastbeständen in Baden-Württemberg

ANDREA KOSINC



INAUGURAL-DISSERTATION zur Erlangung des Grades eines **Dr. med. vet.**
beim Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung des Autors oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2011

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Author or the Publishers.

1st Edition 2011

© 2011 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen
Printed in Germany



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

STAUFENBERGRING 15, D-35396 GIESSEN
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890
email: redaktion@doktorverlag.de

www.doktorverlag.de

Aus dem Staatlichen Tierärztlichen Untersuchungsamt Aulendorf

und dem Institut für Hygiene und Infektionskrankheiten der Tiere
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Betreuer: Prof. Dr. Rolf Bauerfeind

**Vorkommen von *Salmonella* spp. und *Campylobacter* spp.
in Schweinemastbeständen in Baden-Württemberg**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines Dr. med. vet.

beim Fachbereich Veterinärmedizin

der Justus-Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von

Andrea Kosinc

Tierärztin aus Darmstadt

Gießen, 2010

Mit Genehmigung des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Dekan: Prof. Dr. Martin Kramer

Gutachter: Prof. Dr. Rolf Bauerfeind
PD Herrmann Willems

Tag der Disputation: 08. Dezember 2010

Meiner Mutter und meinem Mann

Teile dieser Arbeit wurden bereits veröffentlicht:

A. Kosinc, A. Kley, K. Schneider, H. Stöppler. 2004.

Ernährung und Lebensmittelsicherheit.

Untersuchungen zur Verminderung des Eintrags von bestimmten Zoonoseerregern über Schweinefleisch in die Nahrungskette unter besonderer Berücksichtigung von *Salmonella* und *Campylobacter*-Spezies. Staatliches Tierärztliches Untersuchungsamt Aulendorf, Diagnostikzentrum.

A. Kosinc, K. Schneider, R. Bauerfeind, H. Stöppler. 2005.

Verbreitung von Salmonellen und *Campylobacter* in baden-württembergischen Schweinebeständen. (Vortrag).

BbT-Kongress „Tierseuchenbekämpfung – Tierschutz – Fleischhygiene – Lebensmittelüberwachung“, Bad Staffelstein, 25. - 27.4.2005. Kongressbericht: 117-113.

A. Kosinc, K. Schneider, R. Bauerfeind, H. Stöppler. 2005.

Bedeutung von Salmonellen und *Campylobacter* in baden-württembergischen Schweinebeständen für die Lebensmittelkette.

Amtstierärztlicher Dienst und Lebensmittelkontrolle. 12/4: 240-243.

A. Kosinc, K. Schneider, H. Stöppler, R. Bauerfeind. 2005.

Vorkommen von *Salmonella* spp. und *Campylobacter* spp. in Schweinemastbeständen in Baden-Württemberg (Poster).

57. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM). Göttingen, 26. – 29.9.2005.

A. Kosinc, K. Schneider, H. Stöppler, R. Bauerfeind. 2006.

Vorkommen von *Salmonella* spp. und *Campylobacter* spp. in Schweinemastbeständen in Baden-Württemberg (Poster).

Tagung der Fachgruppe „Bakteriologie und Mykologie“ der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft (DVG). Wetzlar, 15. – 17.7.2006.

INHALTSVERZEICHNIS

	Inhaltsverzeichnis	I
	Verzeichnis der Abkürzungen	V
1	EINLEITUNG	1
2	SCHRIFTTUM	4
2.1	Salmonellen	4
2.1.1	Taxonomie und Erregereigenschaften	4
2.1.2	Klinik und humorale Immunantwort bei Salmonelleninfektionen von Schweinen	7
2.1.3	Häufigkeit von Salmonellen bei Menschen in Deutschland	12
2.1.4	Häufigkeit von Salmonellen bei Schweinen in Deutschland	13
2.1.5	Indirekte Nachweismethoden für Salmonelleninfektionen beim Schwein	19
2.2	<i>Campylobacter</i> spp.	27
2.2.1	Taxonomie und Erregereigenschaften	27
2.2.2	Vorkommen von <i>Campylobacter</i> -Infektionen beim Menschen in Deutschland	32
2.2.3	Vorkommen von <i>Campylobacter</i> spp. bei Schweinen und in Schweinefleisch	35
2.3	Tierseuchenrechtliche Bestimmungen zu <i>Salmonella</i> und <i>Campylobacter</i> spp. in Deutschland	41
3	EIGENE UNTERSUCHUNGEN	47
3.1	Material und Methoden	47

3.1.1	Tiere und Bestände	47
3.1.2	Kot- und Fleischsaftproben	49
3.1.3	Bakterienstämme	50
3.1.4	Kulturell-bakteriologische Nachweismethoden	51
3.1.4.1	Nährmedien zur Anzucht von Bakterien	51
3.1.4.2	Nachweis von <i>Salmonella</i> spp. in Schweinekotproben	54
3.1.4.3	Nachweis von <i>Campylobacter coli</i> und <i>jejuni</i> in Schweinekotproben ..	55
3.1.5	ELISA-Methoden zum Nachweis von <i>Salmonella</i> -LPS-Antikörpern beim Schwein	56
3.1.5.1	Grundprinzip der verwendeten ELISA-Systeme	56
3.1.5.2	Vorgehensweise bei der Testdurchführung	62
3.1.5.2.1	SALMOTYPE®-ELISA (Labor Diagnostik GmbH Leipzig)	62
3.1.5.2.2	HerdChek-ELISA (IDEXX LABORATORIES)	64
3.1.5.2.3	Enterisol®-ELISA (Boehringer Ingelheim)	66
3.1.5.3	Ermittlung des Salmonellen-Antikörperstatus der Betriebe	67
3.1.6	Statistische Auswertung	68
3.2	Ergebnisse	70
3.2.1	Kulturell-bakteriologischer Nachweis von Salmonellen und <i>Campylobacter</i> spp. bei Mastschweinen in Baden-Württemberg	70
3.2.2	Nachweis von Antikörpern gegen Salmonellen mit dem SALMOTYPE®- ELISA bei Schlachtschweinen in Baden-Württemberg	72
3.2.3	Gegenüberstellung der kulturell-bakteriologischen und der serologischen Ergebnisse in baden-württembergischen Schweinemastbetrieben	82

3.2.4	Zusammenhang zwischen Betriebsparametern und der Häufigkeit von Salmonellen und <i>Campylobacter</i> spp. bzw. Antikörpern gegen Salmonellen in Schweinemastbetrieben in Baden-Württemberg	84
3.2.5	Präzision der Testergebnisse bei wiederholter Messung auf einer ELISA-Mikrotiterplatte (Intra-Plattenpräzision)	89
3.2.6	Präzision der Testergebnisse bei wiederholter Messung auf verschiedenen ELISA-Mikrotiterplatten eines Testsystems (Inter-Plattenpräzision)	92
3.2.7	Vergleichende Untersuchungen von SALMOTYPE®-ELISA, HerdChek-ELISA und Enterisol®-ELISA zum Nachweis von Antikörpern gegen Salmonellen bei Schlachtschweinen	95
4	BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE	105
4.1	Kulturell-bakteriologischer Salmonellennachweis in schweinehaltenden Betrieben in Baden-Württemberg	105
4.2	Gegenüberstellung der Ergebnisse aus der serologischen und der kulturell-bakteriologischen Untersuchung auf Salmonellen	107
4.3	Einfluss von Betriebseigenschaften auf die Salmonellenbelastung in Schweinebeständen	109
4.4	Häufigkeit von <i>Campylobacter</i> -Infektionen bei Schlachtschweinen in Baden-Württemberg	112
4.5	Häufigkeit von Antikörpern gegen Salmonellen bei Schlachtschweinen und Kategorisierung der Betriebe in Baden-Württemberg	114
4.6	Erfüllung des gesetzlich geforderten Stichprobenumfangs für die serologische Untersuchung	116
4.7	Vergleichbarkeit der mit unterschiedlichen ELISA-Systemen erzielten Ergebnisse	119
5	ZUSAMMENFASSUNG	122
	SUMMARY	125

6	LITERATURVERZEICHNIS	126
	DANKSAGUNG	152

VERZEICHNIS DER ABKÜRZUNGEN

Abs.	Absatz
AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism
ATCC	American Type Culture Collection
BFAV	Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der Tiere
BfR	Bundesinstitut für Risikobewertung
BgVV	Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin
BML	Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten
BMELV	Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz
BMVEL	Bundesministerium für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft
<i>C.</i>	<i>Campylobacter</i>
CadF	<i>Campylobacter</i> adhesion to Fn
cAMP	Cyclisches Adenosinmonophosphat
CCDA	Cefoperazon-Charcoal-Deoxycholat-Agar
CCUG	Culture Collection University of Göteborg
CDT	Cytolethal distending toxin
Cfu	Colony forming units; Kolonie-bildende Einheiten
COL-A	Columbia-A-Agar
COL-B	Columbia-B-Agar
CRT	Cytolethal rounding toxin
DNA	Desoxyribonucleic Acid
DSMZ	Deutsche Sammlung für Mikroorganismen und Zellkulturen
Einw.	Einwohner
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
Erkr.	Erkrankte
Fn	Fibronectin
HRP	Horseradish Peroxidase
Ig	Immunglobulin
IgA	Immunglobulin A
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
JlpA	Jejuni lipoprotein A
Kat	Kategorie
LKV	Landeskontrollverband

LMBG	Lebensmittel- und Bedarfsgegenständegesetz
Lpf	long polar fimbriae
LPS	Lipopolysaccharid
LT	Lebenstag
M	molar
Max.	Maximum
Med.	Median
Min.	Minimum
MP	Mastplätze
NCTC	National Collection of Type Cultures
NRL-SALM	Nationales Referenzlabor für Salmonellen
n.s.	nicht signifikant
OD	optische Dichte
OMP	Outer Membrane Protein
<i>p. infect.</i>	<i>post infectionem</i>
PBS	Phosphate buffered saline (Phosphat-gepufferte Salzlösung)
PCR	Polymerase Chain Reaction (Polymerase-Kettenreaktion)
Pef	plasmid-encoded fimbriae
PFGE	Pulsfeld-Gelelektrophorese
PHLS	Central Public Health Laboratory
PIA	Porcine intestinale Adenomatose
PS	Polysaccharid-Antigen
PS-AQ-Konjugat	Polysaccharid-Anthraquinone-Konjugat
R	Reinigung
RAPD	Random Amplified Polymorphic DNA
RD	Reinigung und Desinfektion
RFLP	Restriktionsfragment-Längenpolymorphismus
RKI	Robert-Koch-Institut
RV	Rappaport-Vassiliadis-Anreicherungsbouillon
S.	<i>Salmonella</i>
SCV	<i>Salmonella</i> -containing vacuole
SF	Streifaktor
Sip	<i>Salmonella</i> -Invasionsprotein
Sop	<i>Salmonella</i> -Outer-Membrane-Protein; <i>Salmonella</i> -Außenmembranprotein
<i>sp.</i>	Spezies (Singular)
SPF	spezifisch pathogenfrei

SPI	<i>Salmonella</i> -Pathogenitätsinseln
<i>spp.</i>	Spezies (Plural)
SpvB	<i>Salmonella</i> plasmid virulence-Protein B
STABW	Standardabweichung
STUAAU	Staatliches Tierärztliches Untersuchungsamt Aulendorf
TiHo	Tierärztliche Hochschule
TMB	Tetramethylbenzidin
TTSS	Type Three Secretion System, Typ-III-Sekretionssystem
UDP	Uridin-Di-Phosphat
USDA	United States Department of Agriculture
WHO	World Health Organization
X _g	geometrischer Mittelwert

1 Einleitung

Bakteriell bedingte Darminfektionen gehören weltweit zu den häufigsten Krankheitsursachen des Menschen. In den meisten Ländern der nördlichen Hemisphäre sind Bakterien der Gattungen *Salmonella* und *Campylobacter* die häufigsten Ursachen von entzündlichen Magendarmerkrankungen des Menschen (**16, 182, 219**). Im Jahr 2005 wurden Salmonellen in Deutschland zwar erstmals durch die thermophilen *Campylobacter*-Arten von ihrem Spitzenplatz als Gastroenteritiserreger des Menschen verdrängt, die Anzahl von 52.245 offiziell registrierten Salmonellose-Fällen (63,3 Meldungen / 100.000 Einwohner) ist dennoch sehr hoch und lässt die Salmonellen in ihrer Häufigkeit weit vor den Yersinien oder enterohämorrhagischen *Escherichia coli*-Bakterien (EHEC) rangieren (**225**). Experten vermuten außerdem eine beträchtliche Dunkelziffer und schätzen die wahre Inzidenz der Salmonellosen um den Faktor 4 bis 10 (evtl. 20) größer. Von den jährlich über 50.000 gemeldeten Salmonellose-Erkrankungen des Menschen werden etwa 85 % von den beiden Serovaren Typhimurium (ca. 25 %) und Enteritidis (ca. 60 %) von *Salmonella enterica* Subspezies *enterica* verursacht (**123, 223**).

In den wirtschaftlich höher entwickelten Ländern infizieren sich Menschen mit Salmonellen bevorzugt durch die Aufnahme kontaminierter Lebensmittel. Die Hauptinfektionsquellen sind vor allem Lebensmittel tierischen Ursprungs (Eier, Fleisch, Milch und entsprechende Produkte), die entweder bereits schon vor der Gewinnung mit den Erregern belastet sind, oder die erst im Zuge ihrer Gewinnung und Verarbeitung mit Salmonellen kontaminiert werden. Die weite Verbreitung und die hohe Prävalenz dieser Erreger in den Nutztierbeständen sowie der bei diesen Tieren meist klinisch inapparente Infektionsverlauf sind die grundlegenden Ursachen des derzeit länderübergreifend vorhandenen Salmonellen- und *Campylobacter*-Problems (**245, 254, 259**). Nach dem Geflügel rückt in den EU-Ländern seit einigen Jahren auch das Schwein als Salmonellenreservoir und Ansteckungsquelle in den Mittelpunkt des Interesses. Steinbach und Hartung (1999) schätzten, dass in Deutschland etwa 20 % aller menschlichen *Salmonella*-Infektionen auf das Schwein zurückzuführen sind (**257**). Antikörper gegen Salmonellen sind in etwa 72 % der hiesigen Schweinemastbetriebe nachweisbar (**278**). *Campylobacter* spp. kommen beim Schwein ebenfalls häufig vor, besonders *C. coli* (**7, 95, 286**). Untersuchungen im Jahr 2005 ergaben eine sehr hohe *Campylobacter*-Prävalenz von ca. 64 % bei Schlachtschweinen, wobei ausschließlich *C. coli* nachgewiesen wurde (**7**).

In Dänemark etablierte man bereits Mitte der 1990er Jahre Kontrollprogramme, um den Salmonellen-Eintrag durch Schlachtschweine in die Lebensmittelkette deutlich zu senken. Mit Blick auf den Verbraucherschutz und die Marktpolitik werden seit einigen Jahren auch in Deutschland verstärkt Anstrengungen in dieser Richtung unternommen. Das damalige Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten hatte dazu am 5.2.1998 „Leitlinien für ein Programm zur Reduzierung des Eintrags von Salmonellen durch Schlachtschweine in die Fleischgewinnung“ verabschiedet, die sich im Prinzip an das dänische Programm anlehnten **(49)**. Das deutsche Programm basierte zum einen auf regelmäßigen serologischen Untersuchungen in den Betrieben, um deren Salmonellenbelastung zu überwachen, und zum anderen auf der Durchführung von Bekämpfungsmaßnahmen, die in ihrer Art und Intensität positiv mit der im jeweiligen Betrieb festgestellten Seroprävalenz korrelieren **(32, 33)**. Dabei wich die in den deutschen Richtlinien vorgesehene serologische Überwachung in einigen wichtigen Details von der dänischen Vorgehensweise ab. Während in Dänemark alle Untersuchungen auf Salmonellen-Antikörper von einem einzigen Labor mit einem einzigen ELISA und unter Nutzung standardisierter Materialien (Testantigen, Kontroll- und Standardseren) durchgeführt werden, sollten diese Aufgabe in Deutschland verschiedene Laboratorien unter Verwendung verschiedener ELISAs wahrnehmen. Es ist bislang nicht hinreichend geklärt, wie dieses Verfahren standardisiert werden soll und inwieweit die Ergebnisse, die hierbei ermittelt werden, überhaupt vergleichbar sein können. Erste Ergebnisse aus Ringversuchen deuteten jedenfalls auf systematisch und methodisch bedingte Unterschiede hin **(256)**.

In Umsetzung von tierseuchenrechtlichen Vorgaben durch die EU bereitete das Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz seit dem Jahr 2002 eine Bundesverordnung („Schweine-Salmonellen-Verordnung“) vor, die mittlerweile mit Ausfertigungsdatum 13.3.2007 verabschiedet worden ist und mit ihrer Verkündung am 24.3.2007 in Kraft trat. Da absehbar war, dass diese Verordnung den deutschen Schweinemastbetrieben die Teilnahme an einem Salmonellen- und -Bekämpfungsprogramm verbindlich vorschreiben wird, hatten Schweinemäster, Tierärzte und Veterinärbehörden großes Interesse daran, bereits vor der Einführung dieses Programms etwas über die Belastung der Betriebe zu erfahren, um gegebenenfalls schon frühzeitig Sanierungsmaßnahmen zu ergreifen. In Kooperation mit dem Landeskontrollverband Baden-Württemberg wurde daher ein Untersuchungsprogramm aufgelegt, dessen Durchführung zum Gegenstand der hier vorgelegten Doktorarbeit wurde. Ziel der Arbeit war es, das Vorkommen von Salmonellen und thermophilen *Campylobacter* spp. in Baden-Württembergischen Schweinemastbetrieben unter

Verwendung kultureller Nachweisverfahren zu bestimmen und die Salmonellen-Seroprävalenz unter der Anwendung von in Deutschland zugelassenen serologischen Tests zu ermitteln. Zusätzlich sollten drei auf dem Markt befindliche ELISAs zur Bestimmung von Salmonellen-Antikörpern beim Schwein miteinander verglichen werden, wobei die Übereinstimmung der Testergebnisse auf Einzeltierebene sowie auf Betriebsebene besondere Beachtung finden sollte.

2 Schrifttum

2.1 Salmonellen

2.1.1 Taxonomie und Erreger Eigenschaften

Salmonellen gehören zu den Eubakterien und zählen zur Gamma-Untergruppe der Proteobakterien. Dort rangieren sie in der Familie der *Enterobacteriaceae* als eine eigene Gattung (Genus: *Salmonella*). Salmonellen sind gramnegative, fakultativ anaerobe, gerade Stäbchenbakterien mit einer Größe von 0,7 - 1,5 µm x 2,0 - 5,0 µm. Bis auf wenige Ausnahmen ist die Gattung *Salmonella* peritrich begeißelt und somit beweglich (**68, 78, 132, 248**). Salmonellen wachsen fakultativ anaerob in einem Temperaturbereich von 5 °C bis 47 °C. Das Temperaturoptimum liegt bei 37 °C, das pH-Optimum zwischen 6,5 und 7,5. Im Bereich von pH 4 bis 9 werden sowohl saure als auch alkalische Milieubedingungen akzeptiert (**23**).

Bereits 1880 wurde der Typhuserreger (*Salmonella typhi*) durch Eberth mikroskopisch nachgewiesen. Die Genusbezeichnung *Salmonella* wurde 1900 von Lignieres für den 1885 in den U.S.A. von Daniel Salmon, Chief of USDA (United States Department of Agriculture) Bureau of Animal Industry, beschriebenen Hogcholera-Bacillus (*S. Choleraesuis*) vorgeschlagen. Le Minor und Popoff schlugen 1987 die Umbenennung von *Salmonella choleraesuis* in *Salmonella enterica* vor. Um Verwechslungen mit der gleichlautenden Serovarenbezeichnung "Choleraesuis" vorzubeugen (**160, 233**). Das Genus *Salmonella* umfasst demnach zwei Spezies, *Salmonella enterica* und *Salmonella bongori*. Vertreter der Spezies *Salmonella enterica* lassen sich weiter in Subspezies unterteilen (**194, 208, 216**). Nach neuen Erkenntnissen kann in der Subspezies IV (*S. houtenae*) eine Gruppe von Stämmen taxonomisch als eine weitere Subspezies (VII) in der Spezies *S. enterica* abgegrenzt werden (**42**) (**Tabelle 1**).

Die weitere serologische Differenzierung der Serovare wird nach dem 1943 von Kauffmann und White veröffentlichten und nach ihnen benannten „Kauffmann-White-Schema“ vorgenommen (**92**). Die spezifische Einordnung in das Kauffmann-White-Schema erfolgt durch Bestimmung der somatischen O-Antigene (Epitope in den Kohlenhydratseitenketten der Lipopolysaccharidmoleküle), der thermolabilen H-Antigene (Epitope des Flagellins) und dem Vi-Antigen (Kapselpolysaccharid bei Stämmen der Serovare *S. Dublin*, *S. Typhi* und *S. Paratyphi C*) (**92, 214, 233, 247**).

Auch heute noch bildet das Kauffmann-White-Schema, das vom WHO (World Health Organization) Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella* am Pariser Pasteur-Institut regelmäßig aktualisiert wird, die international verbindliche Grundlage für die Identifizierung und Benennung der *Salmonella*-Serovare (**43, 233**). Derzeit sind durch die verschiedenen Antigenkombinationen 2.541 verschiedene *Salmonella*-Serovare definiert (**208**). Die größte Serovarvielfalt ist in der Subspezies *S. enterica* vorhanden. Der Übersichtlichkeit halber wird in der vorliegenden Arbeit der Gattungsname *Salmonella*, gefolgt von der Serovarenbezeichnung, mit einem Großbuchstaben beginnend verwendet, z.B. *S. Typhimurium* anstelle der eigentlich korrekten Bezeichnung *S. enterica* subsp. *enterica* ser. *Typhimurium* (**233**).

Tabelle 1
Taxonomie und Nomenklatur der Gattung *Salmonella* (nach Popoff *et al.* 2004)

Spezies	<i>S. enterica</i>						<i>S. bongori</i>
	ssp.	ssp.	ssp.	ssp.	ssp.	ssp.	
Subspezies	<i>enterica</i>	<i>salamae</i>	<i>arizonae</i>	<i>diarizonae</i>	<i>houtenae</i>	<i>indica</i>	
Frühere Bezeichnung	ssp. I	ssp. II	ssp. IIIa	ssp. IIIb	ssp. IV	ssp. VI	ssp. bongori ssp. V
Serovare	1504	502	95	333	72	13	22

S. enterica und *S. bongori* sind beide pathogen für Mensch und Tier (**194, 233**). Sie sind unter natürlichen Bedingungen sowohl vom Menschen auf das Tier als auch umgekehrt übertragbar, sodass sie als Zoonoseerreger gelten. Zeitweilig galt die Spezies *S. bongori* als apathogen. Nach neueren Erkenntnissen aus Sizilien ist die Spezies heute aber zweifelsfrei als humanpathogener Erreger einzustufen. Salmonellen der Subspezies I (*Salmonella enterica* Subspezies *enterica*) umfassen diejenigen Serovare, die überwiegend bei warmblütigen Wirbeltieren vorkommen, während Vertreter der anderen Subspezies von *S. enterica* und Stämme von *S. bongori* bevorzugt bei wechselwarmen Tieren auftreten (**43, 294**).

Salmonellen sind Bewohner des Darmes von Wirbeltieren, die außerhalb des tierischen und menschlichen Organismus nicht nur lange überlebensfähig, sondern in nährstoffreichem Milieu bei permissiven Temperaturen auch vermehrungsfähig sind

(233). Salmonellen besitzen, insbesondere wenn sie von organischem Material eingehüllt sind, eine hohe Widerstandsfähigkeit gegenüber physikalischen und chemischen Schädigungen aus der Umwelt. Auch in Abwasser können sie bis zu 200 Tage überleben und sogar in küstennahem Meerwasser sind sie, aufgrund ihrer Toleranz gegenüber Kochsalzkonzentrationen, nachweisbar. In Lebensmitteln können die Erreger mehrere Tage und Wochen bis hin zu mehreren Jahren überleben und sich unter für sie geeigneten Bedingungen auch vermehren **(37, 92)**.

Salmonellen haben im Laufe der Evolution sehr komplexe Eigenschaften entwickelt, um den Organismus eines Wirbeltiers als ihren Lebensraum nutzen zu können. So ist auch die Pathogenese der Salmonellose ein multifaktorielles Phänomen, das in den beiden letzten Jahrzehnten vor allem an Stämmen der Serovare *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis* und *S. Dublin* studiert worden ist. Infektionen mit Vertretern dieser Serovare beginnen meist mit der oralen Aufnahme der Salmonellen und ihrer Passage über den Magen in den Dün- und Dickdarm **(114, 187)**. Dort kommt es mit Hilfe verschiedener Fimbrien (type 1 fimbriae, long polar fimbriae, plasmid-encoded fimbriae und thin aggregative fimbriae) zur Anheftung (Adhäsion) an das Darmepithel **(8, 26, 68, 161)**. Zielzellen der Erreger sind Enterozyten und spezialisierte Epithelzellen, die sogenannten Mikrofold-Zellen (M-Zellen). Die M-Zellen sind mit dem darunter liegenden lymphatischen Gewebe assoziiert und gehäuft innerhalb der Peyerschen Plaques lokalisiert **(8, 161, 283, 292)**. Die lpf-Fimbrien (long polar fimbriae) vermitteln speziell die Adhäsion von *S. Typhimurium* an die Peyerschen Plaques des Ileums, während die pef-Fimbrien (plasmid-encoded fimbriae) die Adhäsion an die Enterozyten bewirken **(25)**. Bei *S. enterica* kommen mindestens neun unterschiedliche Fimbrientypen vor, wobei noch nicht alle hinreichend charakterisiert sind **(8)**.

Ein wichtiger Schritt in der Pathogenese der Salmonellose ist die Überwindung der epithelialen Barriere durch die Salmonellen **(62, 174, 238, 239, 296)**. *S. Typhimurium* und andere Serovare provozieren hierzu ihre endozytische Aufnahme durch Enterozyten. Ausgelöst wird der Prozess durch bestimmte Effektorproteine, die die Salmonellen mit Hilfe eines Typ-III-Sekretionssystems (TTSS) direkt in das Zytoplasma der kontaktierten Zielzelle translozieren, z.B. *Salmonella* invasion proteins und *Salmonella* outer proteins (SipA, SopA, SopB, SopD, SopE, SopE2). Die Gene für Strukturproteine, Regulatoren und Effektorproteine liegen bei Salmonellen zusammen in einer chromosomalen Region, die als die *Salmonella*-Pathogenitätsinsel 1 (SPI1) bezeichnet wird **(62, 238, 239, 296)**. Die translozierten Effektorproteine lösen in der befallenen Zielzelle Umbauvorgänge (Rearrangements) des Aktin-Zytoskeletts aus. Die

SPI1-Effektorproteine SopE und SopB interagieren dabei direkt mit Aktin und verändern das Zytoskelett durch Aktivierung der Regulator-Proteine Cdc42 und Rac (91). Durch diese Einflüsse stülpt die Zielzelle Teile ihrer apikalen Membran in Form von sog. „ruffles“ aus, die die anhaftenden Salmonellen umfassen und sie einverleiben, sodass diese schließlich in Vesikeln (SCV; *Salmonella*-containing vacuole) im Inneren der Enterozyten zu liegen kommen. Der Vorgang wird auch als Makropinozytose bezeichnet (62, 93, 114, 120, 130, 283). Gewisse SPI1-Effektoren induzieren bei den befallenen Darmepithelzellen und Makrophagen außerdem die Sekretion von proinflammatorischen Zytokinen. Daraufhin wandern polymorphkernige Leukozyten vermehrt in die Lamina propria sowie auch in das Epithel und das Darmlumen ein (164). So aktiviert speziell der SPI1-Effektor SipB die Caspase-1 in Makrophagen (131), die auf diese Stimulation mit der Ausschüttung der proinflammatorischen Zytokine Interleukin-1beta (IL-1beta) und Interleukin-18 antworten. Diese induzieren Apoptose und Nekrose (113, 183). Einige *Salmonella*-Stämme können zusätzlich das plasmidcodierte Protein SpvB bilden, bei dem es sich um eine ADP-Ribosyl-Transferase handelt. Diese ADP-Ribosyl-Transferase führt zu einem späteren Zeitpunkt der intrazellulären Infektion zur Depolymerisation des Aktins im Zytoskelett der befallenen Zielzelle. Der Effekt ist cytotoxisch und führt schließlich zur Apoptose der befallenen Wirtszelle (114).

2.1.2 Klinik und humorale Immunantwort bei Salmonelleninfektionen von Schweinen

Erkrankungen des Schweins werden vor allem durch die an das Schwein angepassten Salmonellen-Serovaren *S. Choleraesuis* und *S. Typhisuis* ausgelöst, während Infektionen mit anderen, weniger strikt an Schweine adaptierten Serovaren häufig klinisch inapparent verlaufen (233, 245). In den U.S.A., in Kanada und in der ehemaligen DDR gehörte die Infektion mit *S. Choleraesuis* bis zur Einführung entsprechender Impfmaßnahmen, zu den bedeutendsten bakteriellen Darmerkrankungen des Schweins (23, 232, 246, 260). In den U.S.A. ereignen sich auch heute noch immer wieder Ausbrüche, die durch *S. Choleraesuis* verursacht werden (66).

Bei Infektionen mit *S. Choleraesuis* werden die ersten klinischen Symptome gewöhnlich 36 – 48 Stunden nach der Erregeraufnahme beobachtet (105). Die Erkrankung präsentiert sich entweder als Enterocolitis mit Durchfall oder als septikämische Allgemeinerkrankung mit Zyanose, Meningitis, Encephalitis und

Pneumonie (**23, 232, 247**). Klinisch inapparente Verläufe sind aber ebenfalls häufig. Die Morbidität liegt zwischen 50 % und 80 % und die Mortalität bei 5 % bis 10 %, manchmal aber auch bei 70 % (**260**).

Die Erreger dringen nach oraler Aufnahme und Passage durch Magen und Dünndarm in die Epithelzellen der Darmwand ein. Nach Überwindung der epithelialen Barriere können die Salmonellen auf lympho-hämatogenem Wege auch in verschiedene extraintestinale Organe gelangen und sich dort ansiedeln (**60**). An Salmonellose erkranken vor allem Schweine vom Absetzen bis zum Alter von vier Monaten. Die Krankheit tritt oft regellos und vereinzelt auf. Erste Anzeichen sind Fieber, Mattigkeit und Fressunlust. Plötzliche Todesfälle sind bezeichnend für die septikämische Verlaufsform. Die Mortalität der Septikämie ist in der Regel hoch. Klinisch fallen dabei oft bläuliche Hautverfärbungen auf, die an den Ohrmuscheln beginnen und sich über die Rüsselscheibe, den Unterbauch bis zu den Gliedmaßen ausbreiten (**207**).

Infektionen mit *S. Typhisuis* sind seltener, kommen vor allem bei Absatzferkeln vor und verursachen meist eine schleichende, chronische Erkrankung mit intermittierenden Durchfällen, Abmagerung und teilweise chronischen Pneumonien. Bei der Sektion werden nekrotisierende Kolitis, verkäsende Lymphadenitis der Mediastinal- und Pharyngeallymphknoten und herdförmige Pneumonien festgestellt (**207, 233**).

Das derzeitige Salmonellengeschehen beim Schwein wird in Deutschland sowie in vielen anderen Ländern nicht durch *S. Choleraesuis* oder *S. Typhisuis*, sondern von den sogenannten nicht wirtsadaptierten Serovaren bestimmt, die jeweils ein sehr breites Wirtsspektrum aufweisen und unter denen *S. Typhimurium* zahlenmäßig die größte Bedeutung zukommt (**23, 129, 259, 265, 271**). In der Schleimhaut von Ileum, Caecum und Colon können virulente Stämme dieses Serovars zwar eine mit Gefäßschäden einhergehende ulzerierende bis nekrotisierende Enteritis hervorrufen (**207**), meist bleibt die Infektion mit *S. Typhimurium* beim Schwein jedoch klinisch inapparent (**8, 109, 136, 151**). Bei einer Infektion mit *Salmonella Typhimurium* werden die Tiere aber häufig zu Keimträgern und Dauerausscheidern (**78, 245, 273**).

Die Übertragung der Salmonellen erfolgt unter Schweinen vor allem horizontal auf direktem oder indirektem Wege. Da Ferkel nach der Geburt noch einige Wochen in engem Kontakt zu ihrer Mutter verbleiben, ist die vertikale Übertragung möglicherweise ebenfalls von Bedeutung (**31**). Dahl *et al.* (1997a) und Davies *et al.* (1997) stellten hingegen fest, dass die Salmonellenübertragung von Sauen auf ihre Nachkommen in

denjenigen Betrieben, in denen klinisch inapparente Fälle dominierten, eine untergeordnete Rolle spielt (65, 70). Dagegen geht aus einer von Leyk *et al.* (2004) veröffentlichten Studie hervor, dass bereits bei über 50 % aller frisch eingestellten Ferkel Salmonellen nachzuweisen waren. Der Anteil der Ausscheider lag pro Lieferung bei bis zu 35 % (167). Auch nach Kranker *et al.* stellen infizierte Absatzferkel einen großen Risikofaktor für hohe Seroprävalenzen der Endmastschweine dar (152). Vermutlich stellt die mit dem Absetzen der Mutter verbundene Belastung (Futterumstellung, Rankkämpfe, Transportstress) einen Auslöser dar, der dazu führt, dass einige wenige, bereits durch Salmonellen infizierte Ferkel die Erreger vermehrt ausscheiden und diese sehr rasch unter den Gruppenmitgliedern verbreiten (14, 28, 173).

Infektionen mit Salmonellen führen bei infizierten Säugern und Vögeln zu einer facettenreichen immunologischen Reaktion, die in ihrem Ausmaß, ihrer Lokalisation, ihren Mechanismen und in ihrer Schutzwirkung von vielen Faktoren beeinflusst wird. Das durchgängige Prinzip scheint es zu sein, dass Salmonellen das adaptive Immunsystem des infizierten Wirtes sowohl zu zellulären als auch zu humoralen Antworten provozieren. Dabei ist die Aktivität zellvermittelter Mechanismen für die erfolgreiche Abwehr bzw. Überwindung und Elimination der eingedrungenen Erreger entscheidend. Dennoch produziert der infizierte Wirtsorganismus auch erregerspezifische Antikörper, die nicht nur im Blut zirkulieren, sondern je nach Tierart auch in die Milch, in das Eiweiß, den Eidotter und in den Kot abgegeben werden (53, 294). Die Beobachtung, dass bei Salmonelleninfektionen Antikörper im Blut zirkulieren, gilt zumindest für diejenigen Salmonellenserovare, die dazu neigen, in das Gewebe der Darmwand einzudringen und auch extraintestinales Gewebe zu besiedeln (invasive Salmonellen).

Mit der Ausdehnung der Verbraucherschutzmaßnahmen bis in die Nutztierbestände hinein („from farm to fork“, „from stable to table“) sind Methoden erforderlich geworden, mit denen man den Salmonellenstatus von lebensmittelliefernden Tieren möglichst zuverlässig überwachen kann. Die humorale Immunantwort ist aufgrund ihrer Tauglichkeit für Massenuntersuchungen bisher immer noch einer der beliebtesten Parameter, da sie sich auch in automatisierten Hochdurchsatzverfahren überprüfen lässt. Bei Schweinen beschäftigt man sich allerdings erst seit wenigen Jahren intensiver mit den diagnostischen Möglichkeiten der Antikörperbildung bei Salmonelleninfektionen. Die Dynamik, mit der sich *Salmonella*-spezifische Antikörpertiter nach der oralen Aufnahme von invasiven Salmonellen entwickeln, scheint aber auch

beim Schwein einem Grundschema zu folgen, wie es für viele mikrobielle Infektionserreger gültig ist. Hierzu wurden verschiedene Studien durchgeführt.

Tierexperimentelle Untersuchungen von Nielsen *et al.* (1995) belegen, dass gegen *Salmonella*-LPS gerichtete Antikörper frühestens ab dem siebten Tag *p. infect.* nachweisbar sind, wenn Schweine zuvor einmal oral mit 10^8 cfu von *S. Typhimurium* (3389-1/92, Phagentyp 12) inokuliert wurden **(189)**. Auch Riber *et al.* (1997) beobachteten eine Serokonversion bei den von ihnen infizierten Schweinen (*S. Typhimurium* PT 12, 4×10^9 cfu) ab dem siebten bis zehnten Tag *p. infect.* **(217)**. Steinbach *et al.* (2003), die bei ihren Infektionsversuchen *S. Typhimurium* vom Phagentyp DT 104 einsetzten, registrierten mit dem ELISA sogar schon innerhalb einer Woche einen deutlichen Titeranstieg gegen Salmonellen-LPS **(261)**. Bei einer Studie von Baum *et al.* führte die Inhalation von Salmonellen der Serovare *S. Typhimurium*, *S. Choleraesuis* und *S. Infantis* (10^8 cfu / Dosis) zu einer raschen Bildung von spezifischen Antikörpern. Dabei induzierte *S. Typhimurium* innerhalb von zehn Tagen *p. infect.* die höchsten und *S. Infantis* die niedrigsten Titer **(24)**. Wann bei einem infizierten Schwein zum ersten Mal nach der Infektion erhöhte Antikörpertiter nachweisbar sind und mit welcher Dynamik der Titer im Laufe der Zeit ansteigt und dann wieder sinkt, ist von Tier zu Tier jedoch sehr verschieden. So reagierten in den Versuchen von Nielsen *et al.* (1995) bis zum 22. Tag *p. infect.* bereits 86 % der Probanden serologisch positiv. Aber erst am 30. und 37. Tag *p. infect.* erreichte der Anteil der Reagenten mit 92 % den höchsten Wert. Danach fiel er langsam wieder ab und betrug am 108. Tag nur noch 67 % **(189)**. Bei Riber *et al.* (1997) wurden die höchsten Antikörpertiter gegen *Salmonella*-LPS zwei bis drei Wochen *p. infect.* gemessen. Bei einigen Schweinen wurde das Titermaximum dann über fünf Wochen gehalten, während der Salmonellen-Antikörpertiter bei einigen Schweinen nur sehr langsam und bei anderen Schweinen sehr rasch absank **(217)**. Bei den Versuchen von Steinbach *et al.* (1998) waren eine bzw. zwei Wochen *p. infect.* 22,5 % bzw. 52,9 % der infizierten Tiere serologisch als positiv zu beurteilen (Titer ≥ 40 OD %) **(261)**. Während die Titer für *Salmonella*-LPS spezifisches Gesamt-IgG und die der Klassen bzw. Subklassen IgG1, IgG2 und IgA in der zweiten und dritten Woche *p. infect.* gleich blieben oder sogar noch anstiegen, war bei den IgM-Antikörpern in diesem Zeitraum häufig bereits schon ein Titerabfall zu verzeichnen **(261)**.

Mit Blick auf die *Salmonella*-Überwachung ist interessant, dass einige Schweine auf die *Salmonella*-Infektion nur schwach oder gar nicht mit einer Antikörper-Bildung reagieren (sogenannte „low responder“) und damit falsch negative Befunde in den

serologischen Tests verursachen (189, 234, 262). Aus den tierexperimentellen Ergebnissen ist außerdem abzuleiten, dass alle Schweine in der Frühphase der Infektion zwar serologisch unauffällig sind, ein großer Prozentsatz von ihnen (bis zu 80 %) dabei aber schon Salmonellen in großer Zahl mit dem Kot ausscheidet (189). Umgekehrt muss einige Wochen später damit gerechnet werden, dass *Salmonella*-spezifische IgG-Antikörper vorhanden sind, Salmonellen im Kot aber nicht mehr nachzuweisen sind und die Infektion eventuell sogar vollständig überwunden wurde. So war die Erregerausscheidung nach experimenteller Infektion mit *S. Typhimurium* PT 12 während der ersten Woche *p. infect.* am stärksten und ging dann sehr schnell zurück, um schlussendlich am 62. Tag so gut wie vollständig zu sistieren. Zu diesem Zeitpunkt reagierten mehr als 80 % der Schweine serologisch positiv (189).

Die Diskrepanz zwischen kulturell-bakteriologischen und serologischen Testergebnissen beim einzelnen getesteten Schwein trat regelmäßig auch bei anderen Studien zu Tage, in denen man die Häufigkeit von Salmonellen bei Hausschweinen parallel mit direkten und indirekten Nachweisverfahren abzuschätzen versuchte (278). Stellvertretend sei hier eine von mehreren deutschen Institutionen durchgeführte Studie zitiert, in der 748 kulturell-bakteriologisch positive mit 2.782 negativen Schlachtschweinen verglichen wurden. In Abhängigkeit davon, ob der Cut off-Wert für die Bewertung der serologischen Messwerte bei 30 OD % oder bei 40 OD % gesetzt wurde, reagierten zum einen einige kulturell-bakteriologisch negative Schweine serologisch positiv und sogar mehr als die Hälfte der nachweislich infizierten Schweine serologisch negativ (64 % bzw. 70 %). Die **Tabelle 2** fasst die wesentlichen Ergebnisse der Studie zusammen (255).

Tabelle 2
Korrelation von kulturell-bakteriologischen und serologischen Testergebnissen bei der Untersuchung von Schlachtschweinen auf Salmonellen bzw. Salmonellen-spezifischen Antikörpern (255)

Bakteriologischer Status	Anzahl (%) der Tiere, deren Titer unter bzw. über dem betreffenden Grenzwert lag				
	≤ 10	≤ 30	≤ 40	> 30	> 40
Grenzwert (OD %)					
<i>Salmonella</i> -negativ (n=2.782)	2.248 (81 %)	2.694 (97 %)	2.722 (98 %)	88 (3 %)	60 (2 %)
<i>Salmonella</i> -positiv ¹ (n=748)	346 (46 %)	481 (64 %)	520 (70 %)	267 (36 %)	228 (30 %)

Erläuterungen: (1: Nachweis in Kot oder Lymphknoten mittels Anzuchtverfahren)

Eine der Ursachen für falsch positive serologische Befunde sind vermutlich Kreuzreaktionen mit anderen Mikroorganismen bzw. Antigenen (255, 258, 262). Steinbach *et al.* (1995) untersuchten gezielt die Rolle von *E. coli*-Antigenen als Ursache von unspezifischen Reaktionen bzw. serologischen Kreuzreaktionen bei Rindern. Mit Absorptionsversuchen entdeckten sie, dass kreuzreagierende Antikörper bei Kälbern aus „*Salmonella*-freien“ Beständen vorhanden waren, nicht aber bei Kälbern, die sich zuvor nachweislich mit *Salmonella*-Antigen auseinandergesetzt hatten. Da *Salmonella*-freie Rinder bei serologischen Tests meist negative Ergebnisse erzielen, kann man folgern, dass kreuzreagierende Antikörper in Blutserumproben meist nur in so geringer Menge vorhanden sind, dass sie für eine deutlich positive serologische Testreaktion nicht ausreichen. Zumindest beim Rind scheinen derartige, nicht auf Salmonellen zurückzuführende Antikörper nur bei wenigen Tieren eine Konzentration erreichen zu können, die dann zu einem falsch positiven Testergebnis führen (258). Für die individuelle Salmonellendiagnostik bei Schweinen sind serologische Tests aufgrund ihrer begrenzten Sensitivität derzeit jedenfalls nicht geeignet.

2.1.3 Häufigkeit von Salmonellen bei Menschen in Deutschland

Salmonella-bedingte Erkrankungen kommen in Deutschland endemisch vor und sind aufgrund ihrer Häufigkeit eine große Herausforderung für die Human- und Veterinärmedizin. Salmonellen spielen dabei aber nicht nur in Mitteleuropa, sondern in vielen Ländern der Erde eine bedeutende Rolle. EU-weit werden jährlich etwa 160.000 Salmonellen-bedingte Erkrankungen beim Menschen gemeldet, wovon etwa 200 tödlich enden (zitiert nach 33). In Deutschland wurden im Jahr 2006 auf Grundlage des Infektionsschutzgesetzes über 52.575 Erkrankungen durch das RKI registriert (229), von denen 6.150 (Inzidenz 57,3 / 100.000 Einwohner) auf Baden-Württemberg fielen (227). Da Experten davon ausgehen, dass nur etwa 10 – 20 % aller *Salmonella*-Erkrankungen zur Meldung kommen, ergibt sich eine tatsächliche Erkrankungszahl für Deutschland von ca. 500.000 - 1.000.000 pro Jahr (260). Nachdem die jährliche Inzidenz an gemeldeten Fällen von Salmonellen-bedingter Enteritis infectiosa in Deutschland in den 1980er Jahren kontinuierlich angestiegen war, wurde 1992 mit 242 Fällen je 100.000 Einwohner der bisherige Höhepunkt erreicht (9, 122, 123, 222, 226). Seither sind die Zahlen rückläufig, wobei sie in 2006 erstmals seit 14 Jahren wieder geringfügig anstieg (2006: 63,8; 2005: 63,4) (224, 227, 229). Ca. 16 % der Fälle standen dabei in epidemiologischem Zusammenhang zu anderen Salmonellose-Fällen

(„Häufungen“). In 2006 kam es zu 1.854 Häufungen, davon waren bei 354 Häufungen mindestens fünf Salmonellose-Fälle zu verzeichnen **(229)**. Im Jahr 2007 wurden 55.400 Salmonellose-Fälle durch das RKI registriert, was erstmals seit 10 Jahren wieder einen leichten Anstieg gegenüber dem Vorjahr bedeutete **(230)**.

Die Salmonellose-Inzidenz ist keine zeitlich und räumlich stabile Größe, sondern wird von mehreren Faktoren beeinflusst. So ist die Salmonellose-Inzidenz beispielsweise in den neuen Bundesländern höher als in den alten. Ferner tritt die Salmonellen-Enteritis in den wärmeren Monaten häufiger auf als in den kälteren. Auch das Alter der Patienten hat einen Einfluß. Die höchste Inzidenz findet sich bei Säuglingen, Kleinkindern und Kindern im Alter unter zehn Jahren **(4)**. Dies gilt vor allem für die Serovare *S. Typhimurium* und *S. Enteritis*, bei denen beispielsweise 45,2 % bzw. 31,3 % aller im Jahr 2005 gemeldeten Fälle auf Kinder unter zehn Jahren entfielen. Von *S. Infantis*, *S. Virchow* und *S. Derby* waren dagegen eher ältere Personen betroffen (nur durchschnittlich 19,1 % aller Fälle waren jünger als zehn Jahre). Unterschiede nach dem Geschlecht der Betroffenen bestanden allerdings nicht, beide Geschlechter waren nahezu gleichermaßen betroffen. Im gleichen Jahr wurden im Zusammenhang mit Salmonelleninfektionen auch 46 Todesfälle bestätigt (2004: 51; 2006: 47) **(221, 228, 229)**.

2.1.4 Häufigkeit von Salmonellen bei Schweinen in Deutschland

Zur Salmonellen-Situation bei Schweinen liegen seit den 1960er Jahren zahlreiche Studien vor, die sich bakteriologisch mit dem Erfassen der Salmonellen-Prävalenz und serologisch mit dem Erfassen der Antikörper gegen *Salmonella*-LPS in Fleischsaftproben oder Blutproben beschäftigen.

Im Herbst 1963 wurden am Schlachthof Oldenburg / Niedersachsen 700 gesunde Schlachtschweine aus einer Gesamtzahl von 5.410 gesunden Schweinen aus 384 Beständen auf Salmonellen untersucht. Von jedem Tier wurden Kot, Mesenteriallymphknoten, Gallenflüssigkeit und Muskulatur bakteriologisch untersucht. Insgesamt konnten aus 15 (2,14 %) Proben *Salmonella* spp. isoliert werden. Es handelte sich dabei fünfmal um *S. Typhimurium* und je einmal um *S. Infantis*, *S. Blockey*, *S. Newport* und *S. Dublin* **(116)**.

Edel und Kampelmacher (1970) fanden bereits 1960 unter 2.100 Schlachtschweinen und 1969 unter 700 Schlachtschweinen, bei 25,3 % bzw. bei 30,1 % der Tiere Salmonellen in mindestens einer der untersuchten Proben (Portallymphknoten, Kot, Darmlymphknoten). Es wurden 30 verschiedene Serotypen isoliert, an der Spitze lagen *S. Typhimurium*, *S. Give*, *S. Infantis*, *S. Stanley*, *S. Derby* **(76)**.

Bei Erhebungen von Both *et al.* (1982) wurden in Rheinland-Pfalz Kotproben aus 127 klinisch unverdächtigen Beständen untersucht. Einbezogen waren 105 Zuchtherden (Herdbuchbestände und Ferkelerzeuger) und 22 Schweinemastbestände. In den Zuchtherden wurden jeweils 20 bis 100 Tiere aus der Altersgruppe von sechs Monate bis drei Jahre gehalten, in den Mastbeständen befanden sich jeweils 100 bis 1.000 über drei Monate alte Tiere. Die Untersuchungen gliederten sich in zwei Teile (Februar bis April 1980 und Juli bis August 1980) um jahreszeitliche Schwankungen zu berücksichtigen. Im ersten Beprobungsintervall wurden bei 1,1 % der 1.023 untersuchten Kotproben von Zuchttieren Salmonellen nachgewiesen, das betraf 9,5 % der Zuchtherden. Im zweiten Beprobungsintervall wurden 40 der zuvor untersuchten Bestände nochmals auf Salmonellen untersucht. Hierbei waren 0,8 % der Kotproben und 5 % der Bestände *Salmonella*-positiv. Bei den Schweinemastbeständen waren die Zahlen deutlich höher. Im ersten Beprobungsintervall waren 9 % der 216 Kotproben und 27 % der Bestände und im zweiten Intervall 6 % der Kotproben und 37 % der Bestände *Salmonella*-positiv. Die serologische Differenzierung der Isolate ergab das Vorliegen von *S. Derby*, *S. Duisburg*, *S. Panama*, *S. Bornum*, *S. Saint-Paul*, *S. Worthington*, *S. Havana*, *S. Infantis* und *S. Mbandaka*. Bemerkenswert erschien, dass in keinem Fall *S. Typhimurium* gefunden wurde **(39)**.

Fehlhaber *et al.* (1996) berichteten über die in sechs Studien ermittelten Ergebnisse zum Vorkommen von Salmonellen. Die Untersuchungen wurden an drei verschiedenen Schlachthöfen in verschiedenen deutschen Bundesländern im Zeitraum von 1992 bis 1996 durchgeführt. Dabei wurden Kot-, Muskulatur-, Leber-, Mesenteriallymphknoten- und Tupferproben aus der Bauchhöhle von insgesamt 4.242 tauglich beurteilten Schlachtschweinen untersucht. 1,7 % der untersuchten Tiere waren *Salmonella*-positiv. Es wurde eine Vielzahl verschiedener Serovare isoliert, wobei an der Spitze *S. Typhimurium* stand. Die Hochrechnung auf die etwa 38 Millionen jährlich in Deutschland geschlachteten Schweine ergab die Anzahl von 646.000 Salmonellenkontaminierter Schweineschlachtkörper **(83)**.

Im Rahmen einer Pilotstudie (1996) des Bundesinstitutes für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin, des Institutes für epidemiologische Diagnostik der Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der Tiere und der Außenstelle für Epidemiologie, Bakum, der Tierärztlichen Hochschule Hannover, wurden Kotproben und Darmlymphknoten von 11.942 Schlachtschweinen aus sieben deutschen Schlachtbetrieben auf das Vorkommen von Salmonellen untersucht (**100, 140**). Salmonellen waren kulturell-bakteriologisch bei 3,7 % (Kot) bzw. 3,3 % (Lymphknoten) der Schweine nachweisbar. Bei 6,3 % der Tiere kamen Salmonellen in mindestens einer der beiden Proben vor. Unter den 647 untersuchten Lieferposten befanden sich 196 (30,3 %), bei denen mindestens ein Tier im Kot und in den Lymphknoten Salmonellen aufwies (**140, 260**). Von den untersuchten Fleischsaftproben der Schlachtschweine waren 7,7 % serologisch *Salmonella*-positiv (**63, 211**).

Im Rahmen des Projektes Salinpork (April 1996 – April 1999) wurden 2.947 Blutproben in 60 Schweinemastbetrieben in Schleswig-Holstein entnommen und im Statens Veterinaere Serumlaboratorium in Kopenhagen mit Hilfe des Mix-ELISA serologisch auf *Salmonella*-Antikörper untersucht. Insgesamt wiesen 213 Schweine (7,3 %) einen OD %-Wert von über 40 auf. In 43 Mastbetrieben (71,7 %) erwies sich maximal ein Tier (2 %) als serologisch *Salmonella*-positiv. Von den 60 serologisch untersuchten Schweinemastbetrieben wurden 20 Betriebe auch bakteriologisch auf Salmonellen untersucht. Insgesamt wurden dazu 303 Kotproben entnommen. In fünf (1,7 %) der Kotproben wurde *S. Derby* nachgewiesen. Die Proben stammten alle aus einem serologisch hochgradig positiven Bestand (**278**).

Ludewig *et al.* (2001) stellten 1997 - 1998 im Freistaat Sachsen eine Salmonellenbelastung der Schlachtschweine zwischen 2 % und 8 % fest. Dabei dominierte *S. Typhimurium* mit 58,2 % vor *S. Agona*, *S. Potsdam*, *S. Enteritidis*, *S. Heidelberg*, *S. Tennessee*, *S. Anatum* und *S. Montevideo* (**169**). Von den 89 Betrieben, die während dieses Forschungsprojektes in drei aufeinanderfolgenden Quartalen wiederholt auf Salmonellen untersucht wurden, waren nur fünf Betriebe negativ (**82, 169**). In der Studie wurden zudem Salmonellen-spezifische Antikörpertiter im Fleischsaft von 11.711 tauglich beurteilten Schlachtschweinen bestimmt. Bei Verwendung des SALMOTYPE[®]-ELISA und des Cut off-Wertes von 40 OD % waren 8,9 % der untersuchten Tiere serologisch *Salmonella*-positiv (**170**).

Pröhl und Kögler (1998) isolierten Salmonellen bei der Untersuchung von vier Mastbetrieben in Sachsen 2 %, 4,3 %, 7,8 %, bzw. 8 % der Tiere aus mindestens einer

der aus Kot, Darmlymphknoten und Zwerchfellspfeiler entnommenen Proben Salmonellen. Es konnten neun verschiedene Serovare isoliert werden, wobei *S. Typhimurium* am häufigsten vorkam (**210, 260**). In einer zweiten Studie fand Pröhl (1999) Salmonellen-spezifische Antikörper mit Hilfe des Danish Mix-ELISA bei 7,7 % der 6.753 von ihm untersuchten Fleischsaftproben von Schlachtschweinen. Blutproben von Schweinen reagierten in 8 % bis 23 % der Fälle (Sauen und Jungsauen) und 10,6 % der Fälle (Absatzferkel und Mastschweine) positiv (**209**).

Schöning (1999) untersuchte 2.682 Kotproben aus Schweinezucht- und Vermehrerbetrieben des Münsterlandes, Ostwestfalen-Lippe und dem südlichen Niedersachsen auf latente Salmonelleninfektionen. In 19 von den 36 untersuchten Betrieben (52,8 %) konnten *Salmonella* spp. isoliert werden. Die Serotypisierung ergab zehn verschiedene Serovare unter denen *S. Typhimurium* dominierte (**241**).

Die Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der Tiere in Wusterhausen hat im Rahmen eines bundesweiten Monitoring-Programms mit ca 120.000 geplanten Proben eine Zwischenauswertung für Betriebe, bei denen bis November 1999 mindestens 80 % der Planproben untersucht worden waren durchgeführt. Die Ergebnisse unterstreichen ebenfalls die niedrige serologische *Salmonella*-Prävalenz in deutschen Betrieben. Von 520 Betrieben wurden Stichprobenprävalenzen ermittelt. 193 Betriebe (37,1 %) waren negativ, in 202 Betrieben wurden (38,8 %) bis 10 %, in 55 (10,6 %) bis 20 %, in 52 (10 %) bis 40 % und in 18 Betrieben (3,5 %) über 40 % *Salmonella*-positiver Schweine ermittelt (zitiert nach **198**).

In Niedersachsen untersuchte Quante (2000) Schweine in insgesamt 88 Zucht- und Mischbetrieben auf *Salmonella*-spezifische Antikörper. Blutproben von 153 der 2.288 beprobten Sauen (6,7 %) reagierten im "Fleischsaft-ELISA nach der Anleitung zur Durchführung vom Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin" bei einem Cut off-Wert von 40 OD % positiv. Basierend auf den ELISA-Ergebnissen wurden sieben Betriebe in Kategorie II (20 – 40 % positive Reagenten) und zwei Betriebe in Kategorie III (mehr als 40 % positive Reagenten) eingestuft. Die Einstufung erfolgte anhand der „Bekanntmachung der Leitlinien für ein Programm zur Reduzierung des Eintrags von Salmonellen durch Schlachtschweine in die Fleischgewinnung“ (Bundesanzeiger vom 05. März 1998, Nr. 44, 2905-2906). Die 79 Betriebe der Kategorie I (weniger als 20 % positive Reagenten) konnten nochmals unterteilt werden in Betriebe, in denen alle Tiere unter dem Cut off-Wert blieben (n =

45) und in diejenigen, in denen wenigstens ein Schwein, aber weniger als 20 % der Schweine einen Titer von ≥ 40 OD % erreichten **(213)**.

In einer bayrischen Studie von Czerny *et al.* (2001) wurden nach der Schlachtung Zwerchfellpfeilerproben von 3.048 Schlachtschweinen aus 52 Mastbeständen entnommen. Der daraus gewonnene Fleischsaft wurde in einem indirekten ELISA auf das Vorkommen von Salmonellen-Antikörpern untersucht. Die Autoren fanden spezifische Antikörper bei 48 (1,6 %) Schlachtkörpern aus zwölf Betrieben (23,1 %). Allerdings stammten 33 (68,8 %) dieser Schlachtschweine aus einem Betrieb, der in Kategorie III (Quote seropositiver Schlachtkörper > 40 %) eingestuft wurde. Die verbleibenden 51 Betriebe fielen in Kategorie I (Quote < 20 %) **(63)**.

In Untersuchungen von Pirron (2001) wurden Fleischsaftproben von Schlachtschweinen aus 173 Nordrhein-Westfälischen Betrieben auf Salmonellen-Antikörper untersucht und in die entsprechenden Kategorien eingestuft. 168 (97,1 %) der untersuchten Betriebe fielen in Kategorie I, fünf (2,9 %) in Kategorie II. Kein Betrieb war der Kategorie III zuzuordnen **(206)**.

Greil (2001) untersuchte 408 Kotproben von 102 Mastschweinen aus sieben verschiedenen Herkunftsbetrieben, sowie 31 Sammelkotproben aus den Warteställen eines Schlachthofs. Aus nur einer Probe (0,2 %) ließ sich *S. Enteritidis* isolieren. Zudem wurden 176 Serum- und 54 Fleischsaftproben serologisch auf Antikörper gegen Salmonellen mit dem SALMOTYPE[®]-ELISA und mit dem am Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin (BgVV) entwickelten Fleischsaft / Serum-ELISA untersucht. Nur mit dem SALMOTYPE[®]-ELISA konnten vier serologisch *Salmonella*-positive Proben ermittelt werden **(106, 107)**.

Bei den epidemiologischen Untersuchungen zum Vorkommen von Salmonellen bei Mastschweinen in Sachsen stellte Ahrens (2002) bei 12.047 Schlachtschweinen mittels Fleischsaft-ELISA-Technik 8,9 % serologisch-positive Tiere fest und bei 1.496 kulturell-bakteriologisch untersuchten Mastschweinen eine Quote von 1,5 %. Bei den Proben für die kulturelle Untersuchung handelte es sich ebenfalls um Muskelgewebe aus dem Zwerchfellpfeiler. Bakteriologisch ließen sich 23 *Salmonella* Stämme aus acht Serovaren isolieren. Hierbei dominierte *S. Typhimurium* (Lysotypen DT 049 und DT 120), gefolgt von *S. Enteritidis* (Lysotypen 30/17 und 4/6) und *S. Agona* **(1)**.

Chaunhom (2003) untersuchte Zwerchfellpfeilerproben von 383 Schlachtschweinen an einem Schlachthof mit EU-Standard. Er fand *Salmonella*-spezifische Antikörper bei 27 Schlachtschweinen (7 %) **(59)**.

Kühnel (2004) untersuchte in einem Niedersächsischen Schlachthof Hautstanzproben und Tonsillen von Schweinen kulturell-bakteriologisch auf Salmonellen. Die Tiere stammten aus Mastbetrieben, die aufgrund serologischer Voruntersuchungen in die Kategorie I (Quote seropositiver Schlachtkörper < 20 %) oder Kategorie III (Quote > 40 %) eingestuft worden waren. In den Hautstanzproben waren keine Salmonellen nachweisbar. Von den 60 Tonsillenproben waren vier *Salmonella*-positiv, drei davon stammten von Schweinen aus Kategorie-I-Betrieben **(154)**.

Penner (2004) untersuchte mit Hilfe des Enterisol[®]-ELISA Zwerchfellpfeilerproben von 1.920 Schlachtschweinen, die am Schlachthof Karlsruhe geschlachtet worden waren. Bei 125 Fleischsaftproben (6,5 %) konnte ein positiver Salmonellen-Antikörpertiter ermittelt werden **(203)**.

Meyer (2004) untersuchte im Rahmen einer Dissertation Blutproben von 2.642 Mastschweinen mit Hilfe des SALMOTYPE[®]-ELISA. Die Tiere stammten aus insgesamt 108 Betrieben in Schleswig-Holstein und Niedersachsen. Bei der serologischen Untersuchung von Mastschweinen aus 55 Betrieben mit konventioneller und ökologischer Haltung reagierten 301 (11,4 %) der 2.642 Proben positiv. Ferner wiesen 294 (13 %) Tiere aus konventionellen Betrieben und sieben (1,9 %) Tiere aus ökologisch produzierenden Betrieben Titer über 40 OD % auf **(178, 179)**.

Vonnahme (2005) untersuchte 13.511 Schweine aus 76 deutschen Betrieben auf *Salmonella*-spezifische Immunglobuline. Mehr als 10.000 Tiere hatten einen Titer von unter 20 OD % und nur ca. 700 Proben wiesen einen Titer von mehr als 100 OD % auf. Bei einem Cut off-Wert von 20 OD % wurden 23,8 % aller untersuchten Tiere als positiv bewertet, bei einem Cut off-Wert von 40 OD % nur 9,5 % **(282)**.

Das Nationale Referenzlabor (NRL) für Epidemiologie der Zoonosen und das Nationale Referenzlabor (NRL) für Salmonellen am BfR organisierten die „Grundlagenstudie zur Erhebung der Prävalenz von Salmonellen in Mastschweinen“, bei der man einheitliche und repräsentative Beprobungsschlüssel und Untersuchungsmethodik anwendete, um zu validen Daten zu gelangen. Diese sollten Grundlage dafür sein, nationale Bekämpfungsprogramme zu erstellen und durchzuführen **(85)**. Die Grundlagenstudie

zur Erhebung der Prävalenz von Salmonellen bei Mastschweinen gemäß der Entscheidung 2006/668/EG wurde fristgerecht zum 30. September 2007 abgeschlossen. Es wurden in insgesamt 80 Schlachthöfen in zwölf Bundesländern 2.651 Mastschweine mit einem Schlachtgewicht zwischen 30 kg und 143 kg beprobt. Von jedem Tier wurden mindestens fünf Lymphknoten und ein Stück Zwerchfellpfeiler oder Nackenmuskulatur entnommen. Von diesen Tieren standen 2.482 Fleischsaftproben zur Verfügung. 2.569 Tiere wurden bakteriologisch auf Salmonellen untersucht. 326 (12,7 %) Mastschweine waren bakteriologisch positiv für *Salmonella* spp.. Anhand der serologischen Untersuchung wurden 32,3 % der untersuchten Fleischsaftproben bei einem Cut off-Wert von > 20 OD % als positiv bewertet (48).

2.1.5 Indirekte Nachweismethoden für Salmonelleninfektionen beim Schwein

Die Standardmethode zum Nachweis von Salmonelleninfektionen beim Schwein ist die kulturell-bakteriologische Untersuchung von klinischem Probenmaterial, wobei man bei lebenden Tieren Fäzes als Probenmaterial bevorzugt. Die Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 des Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuches (Nr. L 00.00-20) und die Norm DIN EN ISO 6579:2002 der Internationalen Organisation für Standardisierung beschreiben die Standardmethodik für den Nachweis von Salmonellen in unterschiedlichen Probenmatrizes, um die Qualität des labordiagnostischen Nachweisverfahrens zu sichern. Bei den Konzepten zur Überwachung von schweinehaltenden Betrieben hinsichtlich ihrer Salmonellenlast rückten in den letzten Jahren aber immer mehr serologische Methoden in den Vordergrund (121, 277). Ein Grund hierfür ist, dass besonders klinisch inapparent infizierte Tiere Salmonellen nicht kontinuierlich, sondern intermittierend ausscheiden, und somit bei der kulturell-bakteriologischen Untersuchung falsch negativ befundet werden können. In Analogie zu einem kurz vorher in Dänemark etablierten Kontrollprogramm, sahen die vom damaligen Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten am 5.2.1998 verabschiedeten „Leitlinien für ein Programm zur Reduzierung des Eintrags von Salmonellen durch Schlachtschweine in die Fleischgewinnung“ ebenfalls regelmäßige serologische Untersuchungen von Schlachtschweinen vor, um schweinehaltende Betriebe nach dem Anteil ihrer positiven Reagenten in entsprechende Kategorien einzuteilen (49). Dabei können sowohl Serum- als auch Fleischsaftproben auf Salmonellen-Antikörper untersucht werden. In einer explorierenden Studie von Leyk *et al.* (2003) lieferten Serum- und Fleischsaftproben desselben Tieres annähernd

identische Messwerte. Allerdings ist die korrekte Entnahme der Fleischsaftproben ein wesentlicher Faktor für die Übereinstimmung der Ergebnisse, da Beimengungen von Blut zum Fleischsaft die optische Dichte der Testansätze verfälschen (**165, 166**). In Deutschland wird ausschließlich die ELISA-Technologie zum Nachweis von Antikörpern gegen Salmonellen beim Schwein genutzt. Das gilt auch für andere europäische Staaten (**177**). **Tabelle 3** zeigt den ersten kommerziell erhältlichen ELISA (SALMOTYPE® Fleischsaft ELISA) (**242**), der in Deutschland mittlerweile nicht mehr verfügbar ist, sowie die vier derzeit in Deutschland zugelassenen ELISAs zum indirekten Nachweis von Salmonelleninfektionen beim Schwein (Stand November 2009) (**75, 242**).

Tabelle 3

Liste der nach §17c TierSG zugelassenen Mittel zum indirekten Salmonellen Nachweis beim Schwein (75, 242)

Bezeichnung des Mittels / Zul.-Nr.	Firma	Datum der Zulassung	Antigen und enthaltene O-Antigen-determinanten	Nachgewiesene Antikörperklassen	Diagnostische Sensitivität (Cut off-Wert 40 OD %)	Diagnostische Spezifität (Cut off-Wert 40 OD %)
Enterisol® Salmonellen-Diagnostikum ELISA / BGVV-B341	Boehringer Ingelheim	13.8.2001	Salmonellen-PS (O-Antigene 1, 4, 5, 6, 7, 12) (35)	IgG (75, 191)	99,6 % (139)	98,8 % (139)
Testkit zum Nachweis von Antikörpern gegen Salmonellen beim Schwein. Kurzform: HerdCheck® Swine <i>Salmonella</i> / BGVV-B305	IDEXX LABORATORIES	5.9.2002	Salmonellen-LPS (O-Antigene der Serogruppen B, C1, D) (134)	IgG (75)	Hoch (215)	99,4 % (20, 135)
SALMOTYPE® Pig STM-WCE ELISA Testkit zum Nachweis von IgM-, IgG- und IgA-Antikörpern gegen Salmonellen in Serum-, Plasma- und Fleischsaftproben in Schweinen Kurzform: SALMOTYPE® Pig STM-WCE (WCE = whole cell extract) / BFAV-B379	Labor Diagnostik GmbH Leipzig	15.2.2005	Ganzzeilysat-antigen aus <i>S. Typhimurium</i> (77)	IgM, IgA, IgG (75, 77)	IgM: 100%, IgG: 97%, IgA: 94% (204)	IgM, IgG, IgA: 100 % (204)
SALMOTYPE® Fleischsaft ELISA Kurzform: SALMOTYPE®-ELISA / BGVV-B275	Labor Diagnostik GmbH Leipzig	9.10.1998	Salmonellen-LPS (O-Antigene 1, 4, 5, 6, 7, 12) (155)	IgG (148)	Hoch (150)	Hoch (150)
SALMOTYPE® Pig Screen ELISA-Testkit zum Nachweis von Antikörpern gegen Salmonellen beim Schwein Kurzform: SALMOTYPE® Pig Screen / BFAV-B380	Labor Diagnostik GmbH Leipzig	24.4.2004	Salmonellen-LPS (O-Antigene 1, 4, 5, 6, 7, 12) (156)	IgG (75, 77)	78 % (242, 121)	99 % (121, 242)

Auch im dänischen Salmonellenkontrollprogramm, das auf Grund eines durch *S. Infantis* im Mai 1993 hervorgerufenen humanen Salmonellose-Ausbruchs porcinen Ursprungs mit mehr als 500 Erkrankungsfällen vom Ministerium für Landwirtschaft und Fischerei in Zusammenarbeit mit dem Danish Bacon and Meat Council zur Überwachung und Kontrolle von *Salmonella enterica* bei Schweinen ins Leben gerufen wurde (**18, 19, 186, 190, 253**), bildet weniger der kulturell-bakteriologische Salmonellennachweis, als vielmehr das serologische Monitoring mittels ELISA die zentrale methodische Grundlage. Die Überwachung der Schweinemastbestände auf Salmonelleninfektionen erfolgt hierbei durch die Untersuchung von Fleischsaftproben auf spezifische Antikörper in einem indirekten ELISA (**18, 63, 79, 80, 190**). Das Programm zur serologischen Kontrolle der Mastschweinebestände wurde in Dänemark, der europaweit führenden schweineexportierenden Nation, im Jahr 1995 gestartet (**71, 188, 251**). Ziel war es, Schweinebestände mit einer hohen Seroprävalenz schnell zu identifizieren und zu maßregeln (**3**). Zusätzlich werden in Dänemark sowohl die Futtermittelhersteller, als auch die Zucht- und Vermehrungsbetriebe und letztendlich auch die Schlachtung überwacht. Programme, mit denen die Lebensmittelproduktion lückenlos auf jeder Stufe überwacht wird, sind laut WHO die wichtigsten Konzepte zur erfolgreichen Bekämpfung der sogenannten „Foodborne Diseases“ (**88**).

Vom Dänischen Laboratorium für Veterinärdiagnostik und Veterinärforschung in Kopenhagen wurde ein ELISA zur Anwendung bei Fleischsaft- und Blutproben entwickelt und bei der Reduzierung des Salmonellenvorkommens erfolgreich eingesetzt. Bei der Etablierung dieses Danish Mix-ELISA wurden in wiederholten ELISA-Ansätzen, unter Verwendung eines Mischantigens, aus den Keimen von *S. Infantis* und *S. Typhimurium*, die Serum-Titer von drei Schweinen mit einer überstandenen *S. Typhimurium*-Infektion und von drei Schweinen mit einer überstandenen *S. Infantis*-Infektion (Vergleichsseren) gemessen und die mittlere optische Dichte für jedes der drei Vergleichsseren berechnet. Der Mittelwert des am stärksten reagierenden Serums wurde als 100 % angesetzt. Dann wurden die optischen Dichten aller anderen Serumproben auf dieser Basis in Prozentwerte umgerechnet. Jedem Serum wurde damit ein bestimmter Antikörperprozentsatz zugeordnet. Da der Antikörperprozentsatz durch die relative optische Dichte definiert ist, ergibt sich zwischen Antikörperprozentsatz und mittlerer optischer Dichte der Vergleichsseren eine lineare Regression, die durch den Nullpunkt geht und einen Korrelationskoeffizienten von eins hat (d. h. alle Punkte liegen auf einer Geraden). Die betreffenden Vergleichsseren werden auf jeder zur Untersuchung von

Fleischsaftproben eingesetzten Mikrotiterplatte mitgeführt und aus den für sie ermittelten optischen Dichten und den vorgegebenen Antikörpertiterwerten wird eine für die betreffende Platte gültige lineare Regression berechnet. Anhand dieser Regression erfolgt dann die Umrechnung der für die Proben gemessenen optischen Dichten in Antikörperprozentwerte. Da es sich bei den vorgegebenen Antikörperprozentwerten der Vergleichsseren nicht um von der Methode unabhängige prozentuale Antikörperkonzentrationen, sondern um prozentuale Extinktionen handelt, besteht auch keine lineare Beziehung zwischen dem im Fleischsaft-ELISA ermittelten Antikörperprozentsatz und der wirklichen Antikörperkonzentration in der Probe. Ein Wert von 40 OD % bedeutet nicht, dass die Antikörperkonzentration viermal so hoch ist wie bei einem Wert von 10 OD % **(256)**. Die im Danish Mix-ELISA gemessene optische Dichte einer Probe wird also in Prozent der Extinktion eines auf jeder Mikrotiterplatte mitlaufenden Standards umgerechnet und in dieser Form als Maßzahl der Antikörperkonzentration herangezogen. Der ermittelte Wert gibt somit nur die optische Dichte einer Probe und nicht die prozentuale Antikörper-Konzentration an. Da sich optische Dichte und Antikörper-Konzentration nicht linear zueinander verhalten, ergeben sich Unterschiede zwischen den Antikörper-Prozentwerten und der tatsächlichen Antikörperkonzentration. Das bedeutet beispielsweise, dass eine Fleischsaftprobe mit einem Antikörper-Prozentwert von 40 % nicht doppelt so viele Salmonellen-Antikörper enthält wie eine Fleischsaftprobe mit dem Antikörper-Prozentwert von 20 % **(255)**.

Die Validierung und Standardisierung von Testsystemen sowie die Vergleichbarkeit der mit ihnen erzielten Messergebnisse sind Grundvoraussetzungen, um Tests zur Grundlage eines landesweiten Monitoring- und Bekämpfungsprogrammes zu machen. Die Chance, dass aufgrund der methodischen Unterschiede systematisch unterschiedliche Messwerte erzielt werden, ist in Deutschland derzeit ungleich größer als in Dänemark **(256)**. Denn innerhalb Dänemarks sind sogar die ermittelten Salmonellen-Antikörpertiter unmittelbar miteinander vergleichbar, was dadurch erleichtert wird, dass alle Analysen im gleichen Labor unter Nutzung der gleichen Materialien und der gleichen Kontroll- bzw. Standardseren durchgeführt werden. Dagegen werden die Blut- und Fleischsaftuntersuchungen in Deutschland zur Zeit von mehreren Untersuchungseinrichtungen unter Nutzung verschiedener Testsysteme bzw. Testkits bewältigt. Erste Ringversuche und Leistungsvergleiche der verschiedenen ELISA-Systeme zeigten, dass die erzielten Ergebnisse sowohl zwischen den einzelnen Untersuchungsstellen als auch zwischen den verwendeten Testsystemen erheblich differieren. Zweifel, die hinsichtlich der Vergleichbarkeit der Befunde und auch der Einheitlichkeit bei der Kategorisierung der Betriebe geäußert wurden, scheinen daher berechtigt.

Im ersten internationalen Ringversuch im Jahre 2001 wurden die fünf Kalibrierungsseren des Danish Mix-ELISAs von zwölf verschiedenen Einrichtungen untersucht. Diese benutzten dazu unterschiedliche ELISA-Testsysteme. Im Ergebnis wurde nur das stark positive und das deutlich negative Serum von allen Laboratorien korrekt identifiziert. Von den zwölf Untersuchungseinrichtungen testeten nur fünf Teilnehmer alle fünf Serumproben korrekt **(271)**.

In Versuchen von Camitz *et al.* (2001) wurden 163 Fleischsaftproben aus den Vereinigten Staaten und 30 Fleischsaftproben aus Deutschland mit dem HerdChek-ELISA (IDEXX LABORATORIES) gemessen und die Ergebnisse mit denen in einem anderen kommerziell erhältlichen ELISA verglichen. Der andere ELISA wurde in der betreffenden Publikation nicht namentlich erwähnt. Der Cut off-Wert für die Positiv / Negativ-Bewertung wurde im HerdChek-ELISA auf 10 % und beim kommerziell erhältlichen Vergleichstest auf 40 % festgelegt. Bei den amerikanischen Fleischsaftproben ergab sich eine Übereinstimmung von 87 %, bei den deutschen Fleischsaftproben lag die Übereinstimmung bei 83 % **(57)**.

Eine ähnliche Studie befasste sich mit dem Leistungsvergleich des HerdChek-ELISA mit einem zweiten, kommerziell erhältlichen ELISA, der nicht näher spezifiziert wurde. Die Serumproben stammten zum einen von Schweinen aus Dänemark, die mit *S. Panama*, *S. Typhimurium*, *S. Livingstone* oder *S. Brandenburg* infiziert worden waren, zum anderen wurden Serumproben von Schweinen aus den U.S.A. verwendet, die mit *S. Choleraesuis*, *S. Infantis* oder *S. Typhimurium* infiziert waren. Mit dem HerdChek-ELISA konnten *Salmonella*-Antikörper bereits ab dem 7. Tag *p. infect.* nachgewiesen werden, zumindest bei den mit *S. Typhimurium* und *S. Livingstone* infizierten Tieren. Ab dem 14. Tag *p. infect.* reagierten auch die anderen Serumproben positiv. Dagegen reagierten in dem anderen ELISA überhaupt nur die mit *S. Brandenburg* und *S. Typhimurium* infizierten Tiere serologisch positiv. Bei den Versuchen mit den Serumproben aus den U.S.A. waren mit dem HerdChek-ELISA bereits ab dem 3. Tag *p. infect.* Antikörper gegen Salmonellen nachweisbar (*S. Typhimurium* infizierte Schweine) und ab dem 10. Tag *p. infect.* bei mit *S. Choleraesuis* und *S. Infantis* infizierten Schweinen. Die *S. Typhimurium* infizierten Schweine reagierten auch in dem anderen ELISA ab dem 3. Tag *p. infect.* seropositiv, die mit *S. Choleraesuis* oder *S. Infantis* infizierten Tiere reagierten jedoch stets negativ **(57)**.

Eine Modifikation des dänischen Mix-ELISA stellt der SALMOTYPE®-ELISA der Labordiagnostik Leipzig GmbH dar, der in Deutschland für die Untersuchung von Fleischsaftproben und Serumproben genutzt wird (264). Beim Leistungsvergleich des SALMOTYPE®-ELISA mit dem Fleischsaft-ELISA des Bundesinstitutes für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin (BgVV) wurden die Ergebnisse von sieben Testseren miteinander verglichen. Alle sieben Testseren ergaben im SALMOTYPE®-ELISA höhere Extinktionen als im BgVV-ELISA. Dennoch beurteilten beide Testsysteme übereinstimmend die beiden gleichen Seren positiv und die fünf gleichen negativ (118).

Ein weiterer in Deutschland zugelassener Test zum Nachweis von Salmonellen-Antikörpern im Fleischsaft oder Serum von Schweinen ist der Enterisol®-ELISA (Boehringer Ingelheim). Mit diesem ELISA wurden in einem Ringversuch, an dem deutschlandweit zehn Laboratorien teilnahmen, je fünf Fleischsaftproben und fünf Serumproben, die den Bereich von negativ über fraglich bis positiv abdeckten, mindestens im Doppelansatz untersucht. Bei eindeutig positiven und eindeutig negativen Proben konnte eine 100 %ige Übereinstimmung zwischen den Laboratorien erzielt werden. Bei den beiden Proben, deren Titer im Bereich des Cut off-Wertes lagen, wurden unterschiedliche Resultate erzielt. Die Fleischsaftprobe wurde von vier Laboratorien negativ und von sechs Laboratorien positiv bewertet. Die Serumprobe bewerteten nur zwei Laboratorien positiv die restlichen negativ (157, 158). Des Weiteren wurden ein laboreigener ELISA und zwei weitere kommerzielle ELISAs (in der Publikation nicht namentlich erwähnt) sowie der Enterisol®-ELISA miteinander verglichen. Mit dem Enterisol®-ELISA und dem laboreigenen ELISA wurden drei der zehn Proben unterschiedlich bewertet. Der Vergleich des Enterisol®-ELISA mit dem kommerziellen ELISA 2 ergab eine vollständige Übereinstimmung. Dagegen stimmte der Enterisol®-ELISA mit dem kommerziellen ELISA 3 nur bei einer von fünf untersuchten Fleischsaftproben überein (157).

In einer anderen Studie aus Deutschland wurden vier verschiedene ELISA-Testsysteme mit Hilfe von 30 Schweine-Fleischsaftproben verglichen. Die Proben waren zuvor bereits einmal untersucht worden, sodass „Originalergebnisse“ bekannt waren. Die Fleischsaftproben deckten den kompletten Wertebereich von negativ über fraglich bis positiv ab. Bei allen drei probeweise angelegten Cut off-Werten (10 %, 20 %, 40 %) differierten die Tests in den erzielten Ergebnissen erheblich voneinander (Tabelle 4). Auffällig war unter anderem, dass mit dem HerdChek-ELISA fast immer die wenigsten Proben als seropositiv getestet wurden (20).

Tabelle 4
Zusammenfassung der Ergebnisse in der Fleischsaft-ELISA-Vergleichsstudie von Ballagi (2002) (20)

Cut off-Wert	Quote der seropositiven Reagenten ($n_{\text{gesamt}} = 30$)				
	Original Ergebnisse	HerdChek-ELISA	ELISA A	ELISA B	ELISA C
10 OD %	70 %	53 %	93 %	73 %	82 %
20 OD %	60 %	37 %	53 %	43 %	64 %
40 OD %	47 %	23 %	40 %	20 %	46 %

In einer belgischen Studie wurden von 20 zufällig ausgewählten Schweinebeständen mit geschlossenen Haltungssystemen jeweils 33 oder 34 Blutproben entnommen. Die insgesamt 661 Blutproben wurden mit den drei folgenden indirekten ELISAs auf Salmonellen-Antikörper untersucht: 1. Chekit *Salmonella*-Sero der Firma Dr. Bommeli, Liebefeld-Bern, Schweiz; 2. HerdChek-ELISA, IDEXX LABORATORIES, Österbybruk, Schweden; 3. Covalent Mix ELISA *Salmonella* ab, Firma Svanova Biotech, Uppsala, Schweden. Mit dem HerdChek-ELISA wurden 44 % der Proben, mit dem Covalent Mix ELISA *Salmonella* ab 28,3 % und mit dem Chekit *Salmonella*-Sero 15 % der Proben als serologisch positiv bewertet. Ein Bestand wurde als *Salmonella*-positiv eingestuft, wenn sich auch nur eine einzige Probe im Bestand als serologisch positiv erwies. Demnach waren 45 % (HerdChek-ELISA), 100 % (Covalent Mix ELISA *Salmonella* ab) und 85 % (Chekit *Salmonella*-Sero) der Bestände als positiv zu klassifizieren (272).

Mejia *et al.* (2003) verglichen den SALMOTYPE®-ELISA (Labordiagnostik Leipzig, Deutschland) und den *Salmonella* ab ELISA (Svanova Biotech, Uppsala, Schweden) miteinander. Bei der vergleichenden Untersuchung von 361 Serumproben von Schweinen stimmten die beiden Tests zu 59,6 % miteinander überein (176).

Neueste Studien von Rösler *et al.* belegten ebenfalls die teilweise stark voneinander abweichenden Sensitivitäten der ELISA-Systeme, die insbesondere bei den mit *S. Infantis* und *S. Derby* infizierten Tieren um bis zu 60 % voneinander differierten. Zum Einsatz kamen der HerdChek-ELISA, der SALMOTYPE® Pig STM-WCE ELISA, der SALMOTYPE® Pig Screen ELISA und der Enterisol®-ELISA. Insbesondere bei den *S. Infantis* und *S. Derby* infizierten Tieren offenbarten die Tests deutliche Schwächen, denn bis zum 95. Tag *p. infect.* wurde die Mehrzahl der mit *S. Infantis* und *S. Derby* infizierten Tiere nicht erkannt. Der Ganzzelllysate-basierte SALMOTYPE® Pig STM-WCE ELISA war hingegen in der Lage, schon frühzeitig die meisten dieser Tiere als Salmonellen infiziert zu erkennen (235).

2.2 *Campylobacter* spp.

2.2.1 Taxonomie und Erregerigenschaften

1886 entdeckte und beschrieb Theodor Escherich im Zusammenhang mit Diarrhoe bei Säuglingen erstmals Mikroorganismen, die denen ähneln, die wir heute als Vertreter der Gattung *Campylobacter* kennen (74). 1913 wiesen McFaydean und Stockman auf ähnliche Erreger hin, die sie aus abortierten Foeten isolieren konnten und bezeichneten sie als Vibrionen (281). Seit der ersten Beschreibung einer lebensmittelbedingten Infektion mit *Campylobacter* spp. von Skirrow (1977) erkennt man immer mehr die große medizinische und veterinärmedizinische Bedeutung dieser Erregergruppe (249).

Campylobacter sind gramnegative Stäbchenbakterien mit einer Größe von 0,2 - 0,5 µm x 0,5 - 5,0 µm und schlanker, stäbchenähnlicher, gewundener Gestalt (16, 84, 132, 214, 233). Das Wort *Campylobacter* stammt aus dem Griechischen, (kampylos) und bedeutet gekrümmt (132). In Zellkulturen können *Campylobacter* kokkoide Formen annehmen (30, 132, 138). Durch ihre monotriche Begeißelung an einem oder an beiden Zellpolen können sie sich in schraubigen Bewegungen fortbewegen (132). Die Erreger bilden keine Sporen und vermehren sich gut unter mikroaerophilen bis anaeroben (3 - 15 % O₂, 3 - 5 % CO₂) Bedingungen (132, 233, 295). Aufgrund ihres Wachstumsverhaltens bei unterschiedlichen Bebrütungstemperaturen wird zwischen sogenannten „thermophilen“ *Campylobacter*-Arten (Wachstumsoptimum 37 °C – 42 °C) wie *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* und *C. upsaliensis* und „nicht thermophilen“ Arten (25 °C - 37 °C) wie *C. fetus* und *C. sputorum* unterschieden (27, 202, 233). Die Erreger sind weder in der Lage Kohlenhydrate zu fermentieren, noch diese zu oxidieren (233). Sie sind Oxidase-positiv, reduzieren Nitrat und bilden Katalase (30).

Die Familie der *Campylobacteriaceae* gehört zu den Eubacterien und umfasst vier Genera: *Campylobacter*, *Arcobacter*, *Sulfurspirillum* und *Thiovulum* (180). Die Taxonomie der *Campylobacter*-Spezies war schwierig und wurde in der Vergangenheit mehrfach geändert. Die Spezies-Diskussion ist derzeit immer noch nicht beendet. **Tabelle 5** gibt einen Überblick über die Einteilung der verschiedenen *Campylobacter*-Arten, deren Wirtsspektrum und den durch sie ausgelösten Erkrankungen bei Mensch und Tier nach Wieler *et al.* (2003) (293).

Tabelle 5
Nomenklatur der Gattung *Campylobacter* (Wieler *et al.* 2003) (293)

<i>Campylobacter</i> sp.	Tierisches Wirtsspektrum	Krankheiten beim Menschen	Krankheiten beim Tier
<i>C. jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i>	Rind, Hund, Katze, Wildvögel, Pinguin, Schimpanse, Nerz, Bussard, Sperling, Insekten, Wasser, Fuchs, Hase, Pute, Schwein, Dachs, Nager	Gastroenteritis, Septikämie, Meningitis, Abort, Proktitis, Guillain-Barré-Syndrom, Miller-Fisher-Syndrom	Gastroenteritis (Katze, Hund), Hepatitis (Pute)
<i>C. jejuni</i> subsp. <i>doylei</i>	unbekannt	Enteritis, Septikämie bei Kindern und HIV Patienten	unbekannt
<i>C. coli</i>	Schwein, Wasser, Schaf, Rind, Pute, Vogel	Gastroenteritis, Septikämie	Gastroenteritis
<i>C. hyoilei</i>	Schwein	keine	Proliferative Enteritis
<i>C. upsaliensis</i>	Hund, Katze, Affe, Ente	Enteritis, Abort, Abszess, Septikämie	Gastroenteritis (Hund, Katze)
<i>C. helveticus</i>	Katze, Hund	keine	Gastroenteritis
<i>C. lari</i>	Hund, Katze, Pute, Affe, Muschel, Auster	Enteritis, Septikämie	Gastroenteritis
<i>C. hyointestinalis</i> subsp. <i>hyointestinalis</i>	Schwein, Rind, Hirsch, Rentier, Hamster, Gorilla, Elefant, Makake, Orangutan, Schimpanse	Enteritis, Septikämie bei Kindern und HIV Patienten	Enteritis (Schwein, Rind, Hirsch)
<i>C. hyointestinalis</i> subsp. <i>lawsonii</i>	Schwein, Pute, Wildvogel	keine	unbekannt
<i>C. mucosalis</i>	Schwein	keine	nekrotisierende Enteritis
<i>C. sputorum</i> biovar <i>sputorum</i> , <i>paraureolyticus</i> , <i>faecalis</i>	Rind, Schwein, Schaf	Abszess, Gastroenteritis	unbekannt
<i>C. lanienae</i>	Schwein	keine	unbekannt
<i>C. concisus</i>	unbekannt	Periodontitis, Gastroenteritis	unbekannt

(Fortsetzung nächste Seite)

Tabelle 5 (Fortsetzung)

<i>Campylobacter</i> sp.	Tierisches Wirtsspektrum	Krankheiten beim Menschen	Krankheiten beim Tier
<i>C. rectus</i>	unbekannt	Periodontitis	unbekannt
<i>C. curvus</i>	unbekannt	Periodontitis	unbekannt
<i>C. showae</i>	unbekannt	Periodontitis	unbekannt
<i>C. gracilis</i>	unbekannt	Periodontitis, Empyem, Abszess	unbekannt
<i>C. fetus</i> subsp. <i>fetus</i>	Rind, Schaf	Septikämie, Gastroenteritis, Abort, Meningitis	Spontaner Abort bei Kühen und Schafen
<i>C. fetus</i> subsp. <i>venerealis</i>	Rind	Septikämie	Infektiöse Infertilität bei Kühen

VanDamme *et al.* (2001) und On (2005) führten im Gegensatz zu Wieler *et al.* (2003) *C. hyoilei* nicht als eigene *Campylobacter* Spezies auf, sondern als eine *C. coli*-Variante, die vor allem bei der proliferativen Enteritis des Schweins isoliert werden kann (195, 269). Andererseits erkannte On (2005) *C. hominis* als eigene Spezies an (195). In Untersuchungen von Lawson *et al.* (2001) wurde *C. hominis* bei gesunden Menschen deutlich häufiger im Faeces gefunden, als bei an Diarrhoe erkrankten. Diese Beobachtung legte die Vermutung nahe, dass es sich bei diesem Mikroorganismus um einen Kommensalen des Darmes handelt, der möglicherweise die Besiedelung des Darmes mit pathogenen *Campylobacter*-Spezies (z.B. *C. jejuni*, *C. coli*) verhindern kann (159). Bei Meeressäugern fanden Foster *et al.* (2004) eine weitere neue Spezies, für die sie den Namen *C. insulaenigrae* vorschlugen (86).

Campylobacter sind anspruchsvolle Bakterien und obligat wirtsständig. *C. jejuni* und *C. coli* sind primär als Darmkommensalen anzusehen, die die intestinale Mucosa vieler warmblütiger Wirbeltiere besiedeln können, einschließlich bei den zur Fleischgewinnung gehaltenen Haustieren (44, 120, 185, 196). Zu den wichtigsten Erregerreservoirs gehören dabei vor allem Vögel. Im Gegensatz zu Salmonellen können sie sich außerhalb des Wirtsorganismus in den Ausscheidungen nicht vermehren, sondern nur eine gewisse, von den jeweiligen Umweltbedingungen abhängige Frist überleben und infektiös bleiben (218). Gleichwohl fand man thermophile *Campylobacter*-Arten in über 50 % der Proben aus Flussläufen und Teichen, in denen sie bis zu 14 Tagen überlebensfähig waren. Neben fäkal kontaminierten Lebensmitteln stellen deshalb

auch entsprechend verschmutzte Oberflächengewässer (z.B. Badeseen) mögliche Ansteckungsquellen für den Menschen dar **(67, 74, 102, 267)**. Sonneneinstrahlung, Trockenheit, Wärme und niedriger pH-Wert beeinträchtigen die Überlebensfähigkeit der *C.*-Arten nicht nur in der Umwelt, sondern auch in kontaminierten Lebensmitteln. *C. jejuni* überlebt in der Umwelt etwas länger als *C. coli* **(74)**. Bei Temperaturen von +10 °C bis +30 °C sterben die Erreger langsam ab **(120, 279)**. *Campylobacter* spp. können bei suboptimalen Bedingungen in einen lebensfähigen, jedoch nicht kultivierbaren Zustand übergehen ("viable but non-culturable"). Es ist nicht geklärt, ob die Erreger in diesem Zustand noch virulent sind oder erst durch die Inokulation in einen empfänglichen Wirt wieder in einen virulenten und auch kultivierbaren Zustand überführt werden müssen **(279)**.

Die Adhäsion von *C. coli* und *C. jejuni* an Darmepithelzellen, die Beweglichkeit, die Chemotaxis, das Toxinbildungsvermögen sowie das Invasionsvermögen und das Überleben in Darmepithelzellen sind wichtige Virulenzeigenschaften, die an der Pathogenese von *Campylobacter*-bedingten Erkrankungen beteiligt sind **(38, 117, 119, 244, 284)**. Die Annäherung der Bakterien an die Wirtszelle ermöglichen die Flagellen **(81, 117, 244)**. Das Flagellum von *C. jejuni* besteht wie bei anderen beweglichen Bakterienarten aus den drei Einheiten Basalkörper, Haken und Filament. Das Filament von *C. coli* und *C. jejuni* setzt sich allerdings aus zwei Proteinen zusammen, die als FlaA und FlaB bezeichnet werden. Die Beweglichkeit von *Campylobacter* korreliert positiv vor allem mit der Synthese von FlaA-Protein **(145)**. Ob Strukturkomponenten der Flagellen als regelrechte Adhäsine von *C. jejuni* dienen, ist gegenwärtig noch unklar. Nach der Adhäsion an die epitheliale Wirtszelle ist der Geißelapparat an der Internalisation und Dissemination beteiligt **(117, 244)**. Bei *C. jejuni* konnten mittlerweile auch einige Adhäsionsfaktoren identifiziert werden. De Melo und Pechère (1990) entdeckten vier äußere-Membran-Proteine (outer membrane proteins, OMPs) mit Molekularmassen von 28, 32, 36 und 42 kDa, die eine Rolle bei der Anheftung von *C. jejuni* an die Epithelzellen des Darmes spielen **(73)**. Für die Bindung an die intestinalen Epithelzellen ist auch das von Konkel *et al.* (1997) identifizierte Protein CadF (*Campylobacter* adhesion to fibronectin) mit einer Molekularmasse von 37 kDa erforderlich **(145, 147)**. Es konnte außerdem gezeigt werden, dass die Interaktion dieses äußere-Membran-Proteins mit dem Fibronectin, einem Bestandteil der Zellmembran von Epithelzellen, die Internalisierung des Bakteriums in die Epithelzelle verstärkt **(147)**. CadF konnte bei allen von Konkel *et al.* (1999) untersuchten *C. jejuni*- und *C. coli*-Stämmen nachgewiesen werden **(146)**. Einen weiteren sehr früh erkannten Pathogenitätsfaktor stellt das Lipopolysaccharid (LPS) von *C. jejuni* dar, das dem

Bakterium als Adhäsion dient (175). Jin *et al.* (2001) identifizierte mit JlpA (JlpA = jejunilipoprotein A) eine weitere Oberflächenstruktur als Adhäsion. Bei JlpA handelt es sich um ein Lipoprotein mit einer Molekularmasse von 42,3 kDa, welches die Adhärenz an Darmepithelzellen vermittelt (137). Als Virulenzeigenschaft von *C. jejuni* wird auch die Chemotaxis angesehen, die unter anderem von den Genen *cheY*, *chetA* und *chetB* determiniert wird (6, 101).

Die Fähigkeit, in die Epithelzellen der Darmschleimhaut einzudringen und durch sie hindurch (transzellulär) in die darunter liegenden Gewebeschichten zu gelangen, ist eine weitere wichtige Virulenzeigenschaft von *C. jejuni* und *C. coli* (233). Das wie bei den Salmonellen auch hier als Invasion bezeichnete Phänomen beruht auf dem Zusammenspiel verschiedener bakterieller Faktoren, von denen bisher erst wenige näher charakterisiert werden konnten. Eines der zuerst entdeckten Invasionsgene von *C. jejuni* war *ciaB* (*ciaB* = *Campylobacter* invasion antigen B). Das Gen *ciaB* codiert für ein Protein aus 610 Aminosäuren und einer Molekularmasse von 73,2 kDa (146). Eine weitere Voraussetzung für die Invasivität von *Campylobacter*-Arten ist ein strukturell und funktional intakter Geißel-Syntheseapparat (104). Dies geht auch aus Untersuchungen von Konkel *et al.* (2004) hervor, die zeigten, dass der invasive Phänotyp bei *C. jejuni* von der Sekretion der "Campylobacter Invasion Antigens" (Cia) abhängig ist und diese wiederum einen funktionsfähigen Apparat für den Export- und die Montage der Geißelkomponenten voraussetzt (144). *C. jejuni* benötigt ferner auch das Protein Cjp29 für seine Invasivität. Die Tatsache, dass Cjp29 intrazellulär in der Wirtszelle gefunden wurde läßt vermuten, dass dieses Protein durch ein Typ-IV-Proteinsekretionssystem von *C. jejuni* direkt in die Zielzelle transloziert wird. Außerdem ist für das Erreichen der vollen Invasivität ein Protein erforderlich das in seiner Primärstruktur einer UDP-Glucose-Dehydrogenase ähnelt (29). Nach der Invasion findet man *C. jejuni* in membrangebundenen Vakuolen oder frei im Cytoplasma vor (236). Damit die eingedrungenen Bakterienzellen intrazellulär überleben, scheint unter anderem eine von den Keimen gebildete Superoxid-Dismutase erforderlich zu sein (72, 97). Speziell für das Überleben in Makrophagen setzt *C. jejuni* außerdem auch eine Katalase ein, die den Zerfall von Wasserstoffperoxid in Sauerstoff und Wasser katalysiert und somit der Bildung bakterizider Stoffwechselprodukte durch die Wirtszelle entgegenwirkt (72). Die Invasion in Darmepithelzellen ist ein entscheidender Mechanismus, mit dem *Campylobacter*-Arten die epitheliale Barriere der Darmschleimhaut überwinden können. Neben diesem transzellulären Eintritt konnte bei *C. jejuni* aber auch die parazelluläre Invasion beobachtet werden, bei dem Bakterienzellen zwischen zwei benachbarten Epithelzellen hindurch gelangen (145).

Ebenso wie andere gramnegative Bakterien weisen thermophile *Campylobacter*-Arten Lipopolysaccharide in ihrer Zellwand auf, die als Endotoxine wirken können (250). Darüberhinaus bilden einige *Campylobacter*-Arten wie *C. coli*, *C. jejuni*, *C. upsaliensis*, *C. fetus* und *C. lari* ein hitzestabiles, Trypsin-sensitives Cytotoxin, das als "cytolethal distending toxin" (CDT) bezeichnet wird. Die CDT-Produktion ist von den drei Genen *cdtA*, *cdtB*, *cdtC* abhängig, die für Proteine mit einer molekularen Masse von 30, 29 und 21 kDa codieren (69, 145, 284). Obwohl des CDT bereits genetisch definiert und gut charakterisiert ist, ist seine biologische Bedeutung in der Pathogenese der Campylobacteriose noch ungeklärt (46, 2). Das Gleiche gilt für ein weiteres, bei *C. jejuni* gefundenes Cytotoxin mit Namen "cytolethal rounding toxin" (CRT) (119). Experimentelle Untersuchungen und klinische Beobachtungen weisen außerdem auf die Produktion von hepatotoxischen Faktoren bei *C. jejuni* hin (143, 284). Im Unterschied zu vielen anderen bakteriellen Enteritisserregern sind die genauen Mechanismen, mit der die enteropathogenen *Campylobacter*-Arten Diarrhoe auslösen, noch nicht genauer bekannt (2).

2.2.2 Vorkommen von *Campylobacter*-Infektionen beim Menschen in Deutschland

In den letzten Jahren sind *Campylobacter* spp. als Erreger von Erkrankungen beim Menschen und bei Tieren weltweit vermehrt wahrgenommen worden (17). Nach der Meldestatistik des Robert-Koch-Institutes waren *Campylobacter* spp. im Jahr 2005 sogar erstmals vor den Salmonellen die häufigste Ursache für Fälle von Enteritis infectiosa bei Menschen in Deutschland (228). Diese Situation entspricht weitgehend dem internationalen Trend (16, 95, 128, 168, 197). Auch in Großbritannien, den Niederlanden, Dänemark, Kanada und teilweise auch in den U.S.A. haben *Campylobacter* spp. die Salmonellen von ihrer führenden Position als Erreger von Magen-Darm-Erkrankungen verdrängt (267). Auch in vielen Urlaubsländern kommen enteropathogene *Campylobacter* spp. häufig vor, weshalb sie regelmäßig eine wichtige Ursache der Reisediarrhoe sind (84).

Das frühere Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin in Berlin berichtete bereits 1998, dass die Zahl der nach dem damals gültigen Bundesseuchengesetz meldepflichtigen Fälle von humaner Campylobacteriose in Deutschland in den drei Jahren zuvor fast auf das Doppelte angestiegen sei (45).

Insbesondere bei Gruppenerkrankungen durch *C. jejuni* wurde in zunehmendem Maße der Verzehr kontaminierter Rohmilch als Ursache ermittelt. So erkrankten z.B. im April 2000 in Sachsen-Anhalt 28 Kinder und drei Betreuer bei einem Erlebnisausflug auf einen Bauernhof nach dem Verzehr von Rohmilch an Campylobacteriose **(268)**. 2001 lag die Inzidenz in Deutschland bereits bei durchschnittlich 66,2 Erkrankungen pro 100.000 Einwohner. Außerdem wurden 559 Häufungen von *Campylobacter*-Enteritiden mit insgesamt 1.219 Erkrankungen gemeldet. Diese Zahl schloss 15 Häufungen mit fünf oder mehr Erkrankungsfällen ein **(220)**. Im Jahr 2002 betrug die bundesweite Inzidenz 68,4 Erkr. / 100.000 Einw., in 2003 58 Erkr. / 100.000 Einw. **(221, 222)**. Im Jahr 2005 war die Inzidenz der Campylobacteriosen erneut höher und lag mit 75,3 Erkr. / 100.000 Einw. um 13 % über dem Median der Vorjahre 2001 – 2004 (66,9 Erkr. / 100.000 Einw.) **(225)**. In diesem Jahr wurden außerdem 758 Häufungen von *Campylobacter*-Enteritiden mit 2.010 Erkrankungen übermittelt, wobei 5 % der Häufungen mindestens fünf Patienten umfassten. Dies waren 200 Häufungen mehr als in 2004 **(225, 228)**. Nach dem deutlichen Anstieg in 2005 war die Inzidenz in 2006 mit 52.035 registrierten Erkrankungen dann wieder etwas geringer **(227)**, um in 2007 mit 65.785 Fällen erneut anzusteigen **(231)**.

Beim Vergleich der Bundesländer sind regelmäßig erhebliche Unterschiede festzustellen. So verzeichneten beispielsweise Hamburg (131,9 Erkr. / 100.000 Einw.), Berlin (115,7 Erkr. / 100.000 Einw.), Sachsen (94 Erkr. / 100.000 Einw.), Mecklenburg-Vorpommern (87,9 Erkr. / 100.000 Einw.), Thüringen (85,7 Erkr. / 100.000 Einw.), Brandenburg (82,6 Erkr. / 100.000 Einw.), Schleswig-Holstein (80,6 Erkr. / 100.000 Einw.) und das Saarland (78,9 Erkr. / 100.000 Einw.) im Jahr 2001 Inzidenzen, die deutlich über dem Bundesdurchschnitt lagen **(219)**. Aber auch bei der isolierten Betrachtung der einzelnen Bundesländer ist der allgemein ansteigende Trend nachvollziehbar, so auch in Baden-Württemberg. Im Jahr 2004 wurden dem RKI 54.839 Fälle von *Campylobacter*-Enteritis gemeldet, wobei 5.040 Meldungen aus Baden-Württemberg kamen **(229)**. In 2005 waren es 5.827 gemeldete Fälle (54,3 Fälle / 100.000 Einw.) und in 2006 insgesamt 5.699 Fälle (53,1 Fälle / 100.000 Einw.) **(227)**.

C. jejuni und *C. coli* sind mit weitem Abstand die beiden häufigsten *Campylobacter*-Arten, die bei Menschen in Deutschland Magendarmprobleme verursachen, wobei *C. jejuni* zahlenmäßig deutlich über *C. coli* dominiert **(27, 41, 74, 95, 98, 182, 184, 221, 279, 295)**. *C. jejuni* ist deswegen heute einer der häufigsten Lebensmittelinfektionserreger überhaupt **(233)**. Für die in 2005 in Deutschland registrierten Meldungen lagen bei 50.644 Fällen (81 %) genauere Angaben zur Spezies innerhalb der Gattung

Campylobacter vor. Demnach wurden 74,8 % der Fälle durch *C. jejuni* verursacht, 5,8 % von *C. coli*, 14,6 % durch *C. jejuni / coli* (nicht differenziert) und 0,8 % durch *C. lari*. In weiteren 0,4 % der Fälle wurden Stämme von *C. fetus* subsp. *fetus*, *C. jejuni* subsp. *doylei*, *C. upsaliensis* oder *C. hyointestinalis* subsp. *hyointestinalis*, *C. butzleri* isoliert und identifiziert **(225, 228)**. Eine sehr ähnliche Häufigkeitsverteilung wurde auch für das Jahr 2006 festgestellt **(227)**.

In Deutschland wie auch in anderen Ländern der gemäßigten Klimazonen tritt die Mehrzahl der Campylobacteriose-Fälle während der Sommermonate auf **(279)**. Interessanterweise sind Jungen und Männer in fast allen Altersgruppen häufiger betroffen als Mädchen und Frauen (Deutschland, 2005: 81,2 Erkr. / 100.000 Einw. gegenüber 69,6 Erkr. / 100.000 Einw.) **(225, 228)**. Dieser geschlechtsspezifische Unterschied ist kein deutsches Phänomen. In der Steiermark waren beispielsweise 53,8 % der 4.631 zwischen 1996 und 2001 registrierten Patienten männlich und nur 46,2 % weiblich **(84)**. Noch deutlicher als das Geschlecht ist der Einfluss des Lebensalters auf die Inzidenz der *Campylobacter*-Enteritis. So waren beispielsweise Kinder im 12. - 24. Lebensmonat in Deutschland in 2001 deutlich häufiger von *Campylobacter*-Enteritis betroffen (208 Erkr. / 100.000 Einw.) als der Bevölkerungsdurchschnitt (66,2 Erkr. / 100.000 Einw.) **(220)**. In 2005 wurde die *Campylobacter*-Enteritis bei einjährigen Kindern in Deutschland sogar mit einer Inzidenz von 221,7 Erkr. / 100 000 Einw. registriert. Bemerkenswert war ein zweiter Gipfel bei den 20- bis 29-Jährigen mit einer Inzidenz von etwa 110 Erkr. / 100.000 Einw. **(228)**. Außer Kindern stellen immungeschwächte und ältere Personen weitere Risikogruppen für Campylobacteriose dar **(10, 218)**.

Die Bakterien der Gattung *Campylobacter* gelangen in der Regel auf dem oralen Wege in den menschlichen Körper und verursachen vorzugsweise Darmerkrankungen. Im Vergleich zu den Salmonellen reicht bei *C. jejuni* eine wesentlich geringere Infektionsdosis von nur ca. 500 Keimen aus, um eine Erkrankung beim Menschen auszulösen **(84, 218, 233, 248)**. Die Inkubationszeit beträgt zwei bis sieben Tage, bevor typischerweise Bauchschmerzen und Durchfall auftreten **(218, 221)**. Es lassen sich zwei Manifestationsformen unterscheiden. Im einen Fall handelt es sich eher um eine entzündliche Enteritis mit Fieber und schleimigem, blutigem, leukozytenhaltigem Durchfall, im anderen Fall überwiegt das Bild einer nichtentzündlichen, wässrigen Diarrhoe ohne Blut und Leukozyten-Beimengungen **(284)**. Die Campylobacteriose des Menschen verläuft meist selbstlimitierend und dauert ein bis sieben Tage **(11, 55, 110, 142, 218)**. Allerdings besteht die Infektion während der Rekonvaleszenz meist fort und

es kommt in dieser Phase auch zur Erregerausscheidung. Rezidive sind ebenfalls häufig. Chronische und protrahierte Verläufe betreffen meist immundefiziente und in ihrer Resistenz geschwächte Personen. Als Spätfolgen der *Campylobacter*-Infektionen können reaktive Arthritiden oder das Guillain-Barré-Syndrom auftreten (5, 55, 133, 205, 218, 237).

2.2.3 Vorkommen von *Campylobacter* spp. bei Schweinen und in Schweinefleisch

Die *Campylobacter*iose des Menschen ist meist eine nahrungsmittelbedingte Infektionskrankheit, wobei das nach gegenwärtigem Kenntnisstand größte Ansteckungsrisiko von kontaminierten Lebensmitteln tierischen Ursprungs ausgeht (15, 45, 163, 199, 200). So haben im Rahmen einer EU-finanzierten Studie zwölf von 18 europäischen Ländern über insgesamt 158 *Campylobacter*-Ausbrüche im Zeitraum von 1995 bis 1998 berichtet. Bei 91 Ausbrüchen (57,6 %) wurden kontaminierte Lebensmittel als Ursache ermittelt (219). Geflügelfleisch gilt diesbezüglich als besonders risikobehaftet. Aktuelle Befunde aus Deutschland stützen diese Einschätzung. So teilten die deutschen Untersuchungsstellen gegenüber dem Bundesinstitut für Risikobewertung mit, dass sie *Campylobacter* spp. im Untersuchungsjahr 2005 aus rund 34 % der untersuchten Geflügelfleisch-Planproben isolieren konnten. Dabei war Masthähnchen-Fleisch besonders häufig belastet (42,1 % der Planproben) (125).

Die zoonotischen, thermophilen *Campylobacter* spp. kann man weltweit auch bei Hausschweinen vorfinden. Daher sind auch Schweine und die von ihnen gewonnenen Lebensmittel als wichtige potentielle *Campylobacter*-Infektionsquellen für den Menschen anzusehen (290). Einige epidemiologische Untersuchungen deuten dabei auf ein im Vergleich zu Wirtschaftsgeflügel erheblich geringeres Risiko hin. So betrug die *Campylobacter*-Kontaminationsrate von Schweinefleisch in Deutschland im Jahr 2003 nur 2,7 % (124). In 2005 waren laut Zoonose-Trendbericht des Bundesinstituts für Risikobewertung (BfR) sogar nur 0,5 % der Schweinefleisch-Planproben *Campylobacter*-positiv (125). Auf ein geringeres Risiko weist auch die Beobachtung hin, dass bei Schweinen im Gegensatz zu Mensch und Wirtschaftsgeflügel vor allem die Spezies *C. coli* vorkommt. Beispielsweise waren von den in 2005 ausdifferenzierten porcinen *Campylobacter*-Isolaten nur 4,8 % der Spezies *C. jejuni* zuzuordnen, aber 86,2 % der Spezies *C. coli* (125). Auch viele andere Untersucher berichteten von der relativ großen Belastung der Schweine mit *C. coli* (16, 67, 74, 79, 87, 95, 112, 127, 181, 182,

201, 270, 289, 291, 295). Diese Daten sollten aber nicht dazu verleiten, Schweine in ihrer Bedeutung für die Epidemiologie von humanen *Campylobacter*-Infektionen zu unterschätzen. Tatsächlich fanden manche Untersucher in bestimmten Schweinebeständen auch *C. jejuni* sehr häufig vor, manchmal sogar in führender Rolle (**7, 295**). In einigen Fällen waren Schweine auch gleichzeitig mit *C. coli* und *C. jejuni* infiziert (**36, 95, 171**). Beim Vergleich von porcinen *Campylobacter*-Isolaten mit der ERIC-PCR (Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus-PCR) und der RFLP konnte zudem gezeigt werden, dass es in den Herden eine sehr große Mannigfaltigkeit an genetisch unterschiedlichen *Campylobacter*-Stämmen gibt. Ein Schwein konnte bis zu fünf verschiedene Stämme gleichzeitig beherbergen, im Verlaufe seiner Mast konnten sogar bis zu acht Stämme isoliert werden. Trotz der großen Anzahl verschiedener Genotypen gibt es in jedem Betrieb ein vorherrschendes Cluster verwandter Isolate (**94, 141, 288, 289, 290, 291**).

Man sollte überhaupt einigen artspezifischen Prävalenzschätzungen für *Campylobacter* spp. mit einer gewissen Skepsis begegnen, da die Differenzierung der beiden Arten *C. coli* und *C. jejuni* unsicher sein kann. Denn oftmals wird die Zuordnung zu einer der beiden Arten nur biochemisch und allein anhand der Hydrolyse von Hippurat vorgenommen. Das kann in der Routinediagnostik zu Fehleinschätzungen führen, obwohl der Test eigentlich eine Standardmethode zur Differenzierung von *C. coli* und *C. jejuni* ist (**21, 295**). Möglicherweise variieren die Verbreitung und die Häufigkeit, mit denen *C. jejuni* bei Schweinen vorkommt, von Betrieb zu Betrieb oder je nach betrachteter geographischer Region. Dabei kann auch ein Zusammenhang mit Größe und Art der Schadnagerpopulation in den Betrieben bestehen (**295**). Abgesehen davon, dass also nicht nur *C. coli*, sondern auch *C. jejuni* bei Schweinen recht weit verbreitet ist, entdeckten verschiedene Untersucher in den vergangenen 20 Jahren auch, dass *Campylobacter*-Belastungen bei Schweinen und Schweinefleisch mit großer Häufigkeit nachweisbar sind. Die Ergebnisse einiger Untersuchungen sind in den **Tabellen 6** und **7** zusammengefasst.

Tabelle 6
Isolierungsraten von *Campylobacter* spp. bei Schweinen (inkl. Kot von frisch geschlachteten Tieren)

Land	Art der untersuchten Schweine	Anzahl untersuchter Proben / Schweine	Quote der <i>Campylobacter</i> -infizierten	Anmerkung	Literaturquelle
BRD	klinisch gesunde Schweine	736	54,3 %	61,7 % <i>C. coli</i> ; 38,3 % <i>C. jejuni</i>	(153)
BRD	Ferkel	30	0 % (Tag der Geburt)	0 %	(95, 96)
			90 % (nach 3 Wo.)	100 % <i>C. coli</i>	
	Mastschweine	60	70 % - 93 %	100 % <i>C. coli</i>	
BRD	Mastschweine	1150	90 %	100 % <i>C. coli</i>	(115)
BRD	Schlachtschweine	360 (30 Sammelkotproben)	100 %	<i>C. spp.</i>	(201)
	Schlachtschweine	60	80 %		
BRD	Schlachtschweine	383	64 %	100 % <i>C. coli</i>	(7)
BRD	Schlachtschweine	392	64,3 %	100 % <i>C. coli</i>	(141)
BRD	Sauen	68	33,8 %	30,9 % <i>C. coli</i> ; 4,4 % <i>C. jejuni</i>	(287)
	Ferkel	256	80,9 %	71,1 % <i>C. coli</i> ; 12,1 % <i>C. jejuni</i>	
	Mastschweine	354	64,7 %	71,3 % <i>C. coli</i> ; 25,7 % <i>C. jejuni</i>	
	Absetzer	362	89,2 %	28 % <i>C. coli</i> ; 42,1 % <i>C. jejuni</i>	
Österreich	tauglich beurteilte Schlachtschweine	300	71,1 %	70,8 % <i>C. coli</i> ; 0,3 % <i>C. jejuni</i>	(240)
Dänemark	Schweine	316	46 %	94,5 % <i>C. coli</i> ; 4,1 % <i>C. jejuni</i>	(182)
Niederlande	Sauen	10	100 %	<i>C. spp.</i>	(290)
	Ferkel der zehnten Sauen	60	50 % (in der ersten Lebenswo.) 85 % (nach 4 Wo.)		
Belgien	Schweine versch. Alters	150	34 %	100 % <i>C. coli</i>	(40)

(Fortsetzung nächste Seite)

Tabelle 6 (Fortsetzung)

Land	Art der untersuchten Schweine	Anzahl untersuchter Proben / Schweine	Quote der <i>Campylobacter</i> -infizierten	Anmerkung	Literaturquelle
Tschechische Republik	Schlachtschweine (Caecumproben)	595	49 %	92,8 % <i>C. coli</i> 7,2 % <i>C. spp.</i>	(263)
Kanada	Mastschweine	850	78 %	91 % <i>C. coli</i>	(111)
U.S.A.	erwachsene Schweine;	50	76 %	76,3 % <i>C. jejuni</i> ; 21 % <i>C. coli</i> 2,6 % <i>C. lari</i>	(295)
	trächtige Sauen;	9	100 %	89 % <i>C. jejuni</i> ; 11 % <i>C. coli</i>	
	Ferkel am Tag der Geburt	73	57,8 %	68,3 % <i>C. coli</i> 31,7 % <i>C. jejuni</i>	
	entwöhnte Ferkel	20	85 %	82 % <i>C. jejuni</i> 18 % <i>C. coli</i>	
U.S.A.	Mastschweine (konv.) ⁽⁵⁾	60	71 %	<i>C. spp.</i>	(98)
	(ABF) ⁽⁴⁾ Mastschweine	80	81 %	<i>C. spp.</i>	
U.S.A.	Mastschweine	292	55,8 %	100 % <i>C. coli</i>	(99)

Erläuterungen: (1: Tierkörper-Oberfläche. (2: vor Kühlung. (3: nach 24- stündiger Kühlung auf 4°C. (4: Antimikrobiell frei. (5: Konventionell (nicht antimikrobiell frei)

Tabelle 7
Isolierungsraten von *Campylobacter* spp. bei Schweinefleisch (inkl. Schlachttierkörper, Tierkörperoberfläche etc.)

Land	Art der untersuchten Schweine	Anzahl der untersuchten Schweine / Proben	Quote der <i>Campylobacter</i> -infizierten Schweine / Proben	Anmerkung	Literaturquelle
BRD	Tk-Oberfläche	110	17,3 %	100 % <i>C. coli</i>	(94)
	Schweineleber	70	27,1 %	89,5 % <i>C. coli</i> 10,5 % <i>C. jejuni</i>	
BRD	Tk-Oberfläche ⁽¹⁾ v. K. ⁽²⁾	1.150	20 %	100 % <i>C. coli</i>	(115)
	Tk-Oberfläche ⁽¹⁾ n. K. ⁽³⁾	1.150	0 %		
BRD	Schweinefleisch	352	0,9 %	100 % <i>C. coli</i>	(118)
BRD	Schweinefleisch- und Schweine- hackfleisch- produkte	227	0 %		(7)
	Tk-Oberfläche ⁽¹⁾ v. K. ⁽²⁾	383	21,1 %	93,8 % <i>C. coli</i> 6,2 % <i>C. jejuni</i>	
	Tk-Oberfläche ⁽¹⁾ n. K. ⁽³⁾	383	0,8 %	100 % <i>C. jejuni</i>	
	Tonsillen	239	25,1 %	100 % <i>C. coli</i>	
	Lymphknoten	313	2,6 %	100 % <i>C. coli</i>	
	Lebern	70	27,1 %	89 % <i>C. coli</i> 10,5 % <i>C. jejuni</i>	
BRD	Tk-Oberfläche ⁽¹⁾ v. K. ⁽²⁾	443	20,1 %	<i>C. spp.</i>	(141)
	Tk-Oberfläche ⁽¹⁾ n. K. ⁽³⁾	434	0,7 %	100 % <i>C. coli</i>	
	Darmbein-Lk	356	3,1 %	100 % <i>C. coli</i>	
	Tonsillen	248	23,8 %	100 % <i>C. coli</i>	
	Teilstücke zerlegter Schweine	24	0 %		
Öster- reich	Tonsillen, Gallenflüssigkeit	300 Schweine	71,1 %	27,9 % <i>C. coli</i> 3,1 % <i>C. coli</i>	(240)
Schweiz	Schweinefleisch	865	0,2 %	<i>C. spp.</i>	(162)

(Fortsetzung nächste Seite)

Tabelle 7 (Fortsetzung)

Land	Art der untersuchten Schweine	Anzahl der untersuchten Schweine / Proben	Quote der <i>Campylobacter</i> -infizierten Schweine / Proben	Anmerkung	Literaturquelle
Niederlande	Schweinefleisch	524	0 %	0 %	(276)
U.S.A.	(ABF) ⁽⁴⁾ Tk-Oberfläche ⁽¹⁾ v. K. ⁽²⁾	60	60 %	C. spp.	(98)
	(ABF) ⁽⁴⁾ Tk-Oberfläche ⁽¹⁾ n. K. ⁽³⁾	60	29 %	C. spp.	
	(konv.) ⁽⁵⁾ Tk-Oberfläche ⁽¹⁾ v. K. ⁽²⁾	80	30 %	C. spp.	
	(konv.) ⁽⁵⁾ Tk-Oberfläche ⁽¹⁾ n. K. ⁽³⁾	80	7 %	C. spp.	

Erläuterungen: (1: Tierkörper-Oberfläche. (2: vor Kühlung. (3: nach 24- stündiger Kühlung auf 4 °C. (4: Antimikrobiell frei (5: Konventionell (nicht antimikrobiell frei)

Die mit *C. coli* oder *C. jejuni* infizierten Schweine scheiden die Erreger mit dem Kot kontinuierlich oder intermittierend aus (95). Ferkel infizieren sich mit *Campylobacter*-Bakterien bereits sehr früh in ihrem Leben. Nach Untersuchungen von Weijtens *et al.* (1997) sind in betroffenen Beständen bereits ca. 50 % der Ferkel am Ende der ersten Lebenswoche infiziert, am Ende der vierten Woche mindestens 80 % (289, 290). Die Muttersau ist dabei offenbar eine wichtige Ansteckungsquelle, denn Ferkel, welche binnen der ersten 24 Stunden von der Muttersau getrennt wurden, waren nach 20 Tagen deutlich seltener *Campylobacter*-positiv, als Ferkel, die bei der Sau verblieben waren, obwohl zum Zeitpunkt der Geburt keine Häufigkeitsunterschiede vorlagen (126). Die größten Unterschiede bestanden dabei an den Lebenstagen 12 und 20, an denen *Campylobacter* bei keinem der mutterlos aufgezogenen Ferkel, aber bei fast allen anderen Ferkeln zu isolieren waren (126). In dieser Studie wurde ferner deutlich, dass sich einzelne Ferkel sogar binnen der ersten 24 Lebensstunden infizieren können. Während derart frühzeitig infizierte Ferkel den Erreger weiterhin in sich trugen und ausschieden, wenn sie bei der Muttersau verblieben, verringerte sich die Anzahl der *Campylobacter*-Ausscheider bei den mutterlos aufgezogenen Ferkeln innerhalb der nächsten 20 Lebenstage deutlich (126). Mit zunehmendem Alter der Schweine sinkt auch die Zahl der über den Kot ausgeschiedenen *Campylobacter*-Keime (181).

In Untersuchungen von Weijtens *et al.* (1999) zeigte die durchschnittliche *Campylobacter*-Belastung bei Mastschweinen einen signifikant abnehmenden Trend von 10^4 cfu / g Kot im Alter von 13 Wochen auf 10^2 cfu / g Kot am Ende der Mastperiode mit 25 Wochen **(291)**. Bei elf Wochen alten Schweinen lag die Erregerzahl bei 10^4 cfu / g Kot, bei 22 Wochen alten Tieren bei 10^3 cfu / g Kot und am Schlachthof bei $6,3 \times 10^2$ cfu / g **(288)**. In ähnlicher Weise fanden Young *et al.* (2000) bei 14 Tage alten Ferkeln wesentlich höhere Keimzahlen ($1,7 \times 10^7$ cfu / g Kot), als bei Jungsauen ($1,2 \times 10^5$ cfu / g Kot), tragenden Sauen (2×10^5 cfu / g Kot) und neugeborenen Ferkeln ($6,9 \times 10^4$ cfu / g Kot) **(295)**. Auch äußerlich gesund erscheinende Schweine können zu einem hohen Prozentsatz mit thermophilen *Campylobacter* spp. infiziert sein und diese in beträchtlichen Mengen ausscheiden **(15)**. So wurden keine signifikanten Unterschiede bezüglich der *Campylobacter*-Keimzahlen in quantitativen bakteriologischen Kotuntersuchungen zwischen gesunden und an Diarrhoe erkrankten Schweinen festgestellt **(103, 153, 285, 286)**. In der Studie von Modolo *et al.* (1999) wurden *Campylobacter* spp. in Fäzesproben von 43 % der an Diarrhoe erkrankten Schweine, aber auch in den Proben von 34 % der klinisch gesunden Schweine nachgewiesen **(181)**. Auch Weber *et al.* (1985) fanden *Campylobacter* spp. in Fäzesproben von 54,3 % klinisch gesunder Schlachtschweine **(153)**.

2.3 Tierseuchenrechtliche Bestimmungen zu *Salmonella* und *Campylobacter* spp. in Deutschland

Der ausgedehnte internationale Lebensmittelhandel einerseits und die weite Verbreitung bestimmter lebensmittelrelevanter Zoonoseerreger andererseits, erfordern neue Ansätze der Überwachung und Bekämpfung. Seit einigen Jahren verstärkt die Europäische Union ihre Bemühungen, derartige Erreger bereits in den Nutztierbeständen zu bekämpfen und die entsprechenden Maßnahmen der EU-Mitgliedsstaaten zu harmonisieren. Hierzu verabschiedete sie mehrere neue Rechtsvorschriften, die sich erheblich auf die staatliche Tierseuchenbekämpfung in Deutschland auswirken und auch Konsequenzen für den Umgang mit Salmonellen- und *Campylobacter*-Infektionen in Schweinebeständen mit sich bringen. Im Mittelpunkt stehen vor allem zwei EU-Rechtsakte, die seit 12. Dezember 2003 in Kraft getreten sind. Die Richtlinie (2003/99/EG) fordert von den EU-Mitgliedsländern nationale Regelungen einzuführen, um in ihren Hoheitsgebieten das Vorkommen von Zoonosen und Zoonoseerregern zuverlässig zu überwachen. Der zweite Rechtsakt, die EU-Verordnung 2160/2003 des europäischen Parlaments und des Rates vom 17. November 2003 formuliert Ziele, die

von den EU-Mitgliedsstaaten im Zuge der Bekämpfung von Salmonellen und bestimmten anderen durch Lebensmittel übertragbaren Zoonoseerregern innerhalb bestimmter Fristen erreicht werden müssen. Um die Zielvorgaben in nationale Vorschriften umzusetzen, hat das BMELV im Einvernehmen mit dem Bundesrat zunächst die deutsche Verordnung über meldepflichtige Tierkrankheiten neu gefasst. Danach sind Salmonellose und der direkte Nachweis von Salmonellen bei Haustieren ab 12.11.2004 grundsätzlich meldepflichtig (BMELV, 2004). Dies betrifft auch Salmonelleninfektionen bei Schweinen. Eine Ausnahme besteht zum einen für die Rindersalmonellose, die weiterhin als anzeigepflichtige Tierseuche behandelt wird. Eine weitere Ausnahme sind Salmonellennachweise in Hühner-Zuchtbetrieben (≥ 250 Tiere) und in Hühner-Brütereien (≥ 1.000 Bruteier), die mitteilungs-pflichtig sind. Mit der Neufassung der Verordnung über meldepflichtige Tierkrankheiten wurden auch Infektionen mit thermophilen *Campylobacter*-Arten meldepflichtig, wenn diese direkt nachgewiesen werden und / oder sie Erkrankungen verursachen (51).

Als Reaktion auf das in den neunziger Jahren des vergangenen Jahrhunderts in Dänemark eingeführte Überwachungs- und Bekämpfungsprogramm, verabschiedete das damalige Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten bereits am 05. Februar 1998 „Leitlinien für ein Programm zur Reduzierung des Eintrags von Salmonellen durch Schlachtschweine in die Fleischgewinnung“ (50, 280). Das darin entworfene System lehnte sich in der Idee und Konzeption stark an die dänische Vorlage an. Im Prinzip sah das deutsche Programm vor, dass Schlachtschweine nach einem bestimmten, bundesweit einheitlichen Stichprobenplan beprobt und auf IgG-Antikörper gegen Salmonellen untersucht werden sollten. Als Ziele wurden die Erhebung des Salmonellenstatus in den Betrieben, die Einstufung beteiligter Betriebe als „salmonellenüberwacht“, die zahlenmäßige Verringerung von salmonelleninfizierten Schlachtschweinen und damit die Reduktion des Salmonelleneintrags in Be- und Verarbeitungsbetriebe sowie die fleischhygienische Verbesserung des frisch geschlachteten Fleisches anvisiert. Besitzer von Schweinemast- und Schlachtbetrieben erklärten schriftlich ihre verbindliche Teilnahme an dem Programm und verpflichteten sich damit, die Teilnahmebedingungen in der jeweils geltenden Fassung einzuhalten. Aufgabe der teilnehmenden Schlachtbetriebe war es, die Schlachtschweine der Teilnehmer dem Stichprobenplan entsprechend zu beproben, die Proben unverwechselbar zu kennzeichnen und an eine geeignete Untersuchungseinrichtung weiterzuleiten. Ferner waren sie für die Übermittlung der erzielten Untersuchungsergebnisse an die geprüften Schweinemastbetriebe verantwortlich. Die Anzahl der pro Bestand zu untersuchenden Schlachtschweine richtete sich nach der Zahl der

innerhalb von zwölf Monaten voraussichtlich zur Schlachtung gelieferten Schweine (< 45 Schweine, alle Schweine werden beprobt; 46 bis 100 Schweine, 45 Proben; 101 bis 200 Schweine, 50 Proben; > 200 Schweine, 60 Proben). Als Untersuchungsmethode schlug die Richtlinie vor, Fleischsaftproben mit Hilfe von ELISA-Technologie auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen Salmonellen zu testen. Die Schweinemastbetriebe sollten dann anhand der ermittelten Quote seropositiver Stichproben einer von drei Kategorien zugeordnet werden, und zwar Kategorie I bei weniger als 20 %, Kategorie II bei 20 bis 40 % und Kategorie III bei über 40 % als seropositiv getesteten Schlachtschweinen **(49)**. Betriebe der Kategorie II sollten sich der Beratung durch einen praktischen Tierarzt oder den Schweingesundheitsdienst unterziehen, während für Kategorie-III-Betriebe die Durchführung von Maßnahmen zur Erkennung und Beseitigung von Salmonellen-Eintragsquellen verbindlich vorgeschrieben war **(49)**.

Die oben genannten Richtlinien wurden nach ihrem In-Kraft-Treten vor allem von einem Verbund norddeutscher Wirtschaftsunternehmen („QS - Qualität und Sicherheit GmbH“) aufgegriffen und als Qualitätssicherungssystem in ein eigenes Markenfleischprogramm integriert **(12)**. Im Jahr 2004 nahmen bereits über 20.000 Schweinemäster an diesem Programm teil **(153)**. Die Fleischsaft- und Serumproben von Schlachtschweinen werden dabei in zertifizierten Laboratorien mit den von der QS-GmbH anerkannten Testsystemen (Salmotype PigScreen, Labor Diagnostik Leipzig; Enterisol[®]-ELISA, Boehringer Ingelheim; HerdChek-ELISA, IDEXX LABORATORIES) untersucht. Die Ergebnisse werden in einer zentralen Salmonellendatenbank gesammelt, verwaltet und hinsichtlich der Kategorisierung der Betriebe ausgewertet **(212)**.

Um die Vorgaben, die durch die gesetzgebenden Organe der EU formuliert wurden, national adäquat umzusetzen, bereitete das BMELV in den vergangenen Jahren eine Bundesverordnung vor, deren Entwürfe unter der Bezeichnung „Verordnung zur Verminderung des Salmonelleneintrags durch Schlachtschweine bei der Fleischgewinnung“ („Schweine-Salmonellen-Verordnung“) in Fachkreisen zirkulierten und dabei in ihren Details mitunter recht kontrovers diskutiert wurden. Die Verordnung sollte auf dem bereits in den Leitlinien skizzierten Programm aufbauen. Ein wesentlicher Unterschied dazu, sollte sie den deutschen Schweinemastbetrieben die Teilnahme an dem Salmonellenüberwachungs- und -bekämpfungsprogramm aber verbindlich vorschreiben. Strittig waren lange Zeit unter anderem der Stichprobenumfang sowie die Anzahl und Grenzen der Kategorien (siehe **Tabellen 8** und **9**). So sah einer der ersten Verordnungsentwürfe aus dem Jahr 2002 im Gegensatz zu den „Leitlinien“ aus dem Jahre 1998 und zu der nunmehr in Kraft getretenen Fassung keine

dreiteilige Kategorisierung der Betriebe mehr vor, sondern nur noch das sofortige Ergreifen von gezielten Sanierungsmaßnahmen in einem Mastbetrieb, sobald die Quote seropositiver Schlachtschweine in der jährlichen Stichprobe die Grenze von 40 % erreichte oder überschritt **(49)**. In den späteren Entwürfen waren wieder Kategorien definiert, wobei der Entwurf vom 20.4.2005 zusätzlich zur ursprünglichen Einteilung eine vierte, sogenannte „Vorzugskategorie“ (Kategorie 0) einführte, die komplett seronegativen Betrieben vorbehalten war **(52)**. Im nachfolgenden Entwurf der Schweine-Salmonellen-Verordnung (28.6.2005) waren sowohl der Stichprobenschlüssel als auch die Definitionen der Kategorien erneut geändert worden. So wurde die Anzahl der in jedem Jahr zu untersuchenden Schlachtschweine in kleineren Betrieben reduziert (siehe **Tabelle 8**). Außerdem sah der Entwurf die Vorzugskategorie nicht mehr vor und senkte die Grenze zwischen den Kategorien I und II von 20 % auf 10 % **(53)**. Die nunmehr in Kraft getretene Fassung der Schweine-Salmonellen-Verordnung hat gegenüber dem Entwurf vom 28.06.2005 bezüglich des Stichprobenschlüssels keine Änderungen vorgenommen (**Tabelle 8**) **(54)**. Die Verordnung definiert als Obergrenze für die Zugehörigkeit zur Kategorie I aber wieder eine Quote von 20 % seropositiven Schlachtschweinen in der Stichprobe (**Tabelle 9**) **(54)**.

In derjenigen Phase, in der die Untersuchungen, die dieser Dissertationsschrift zugrunde liegen, konzipiert, durchgeführt und ausgewertet wurden, lag der Verordnungsentwurf vom 20.4.2005 vor. Die Beprobung der Schweine folgte daher dem Stichprobenschlüssel dieses Entwurfes. Nachdem sich in den Diskussionen abzeichnete, dass die Grenzen der Kategorien eher bei 20 % und 40 % seropositiven Schlachtschweinen in der Jahrestichprobe liegen würden, als bei 10 % und 40 % (Entwurf vom 28.6.05), wurden die ermittelten Befunde auch nach dem Bewertungsschlüssel des Verordnungsentwurfes vom 20.4.2005 analysiert.

Tabelle 8

Stichprobenumfang zur serologischen Untersuchung von Schlachtschweinen aus einem Schweinemastbetrieb auf Salmonellen-LPS-Antikörper gemäß verschiedener Entwürfe und der in Kraft getretenen Fassung der „Verordnung zur Verminderung der Salmonellenverbreitung durch Schlachtschweine“ (Schweine-Salmonellen-Verordnung)

voraussichtliche Anzahl der zur Schlachtung abgegebenen Schweine pro Jahr	Anzahl der zu untersuchenden Schweine			
	Entwurf 19.12.02	Entwurf 20.4.05	Entwurf 28.6.05	Verordnung 13.3.07
< 26	alle	alle	alle	alle
< 45	alle	alle	26	26
45 bis 100	45	45	38	38
101 bis 200	50	50	47	47
> 200	60	60	60	60

Tabelle 9

Bewertung von Schweinemastbetrieben am Anteil seropositiver Schlachtschweine gemäß verschiedener Entwürfe und der in Kraft getretenen Fassung der „Verordnung zur Verminderung der Salmonellenverbreitung durch Schlachtschweine“ (Schweine-Salmonellen-Verordnung)

Salmonellen-antikörperstatus des Betriebs oder der Betriebsabteilung	Kategorie	Quote an seropositiven Schweinen in der Stichprobe [%]		
		Entwurf 20.4.05	Entwurf 28.6.05	Verordnung 13.3.07
Vorzugsstatus	0	0	-	-
Niedriger Status	I	> 0 bis 20	0 bis 10	0 bis 20
Mittlerer Status	II	> 20 bis 40	> 10 bis 40	> 20 bis 40
Hoher Status	III	> 40	> 40	> 40

Bezüglich *Campylobacter* werden von behördlicher Seite in Deutschland gegenwärtig Versuche unternommen, die Belastung der Betriebe durch groß angelegte Untersuchungen systematischer und genauer als bisher zu beziffern. Eine erste Studie, die in Zusammenarbeit zwischen dem Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) und den Behörden der Bundesländer bei Masthähnchen durchgeführt wurde (*Campylobacter*-Monitoring-Projekt), ist mittlerweile abgeschlossen. Dabei konnte gezeigt werden, dass von insgesamt 1.352 im Zeitraum von Mai 2004 bis April 2005 untersuchten Masthähnchen-Herden 39,3 % mit *Campylobacter*-Bakterien belastet waren (47). Auf Basis dieser Daten finden gegenwärtig Beratungen zwischen BfR-Wissenschaftlern und

Vertretern aus Wirtschaft, Wissenschaft und Lebensmittelüberwachung über künftige Strategien zur Bekämpfung von *Campylobacter* spp. bei lebensmittelliefernden Tieren sowie über den Forschungsbedarf statt. Verordnungsentwürfe, in denen Ziele und Maßnahmen zur Reduktion dieser Erreger in Schweinemastbetrieben bereits konkreter formuliert wären, zeichnen sich aber noch nicht ab (47).

3 Eigene Untersuchungen

3.1 Material und Methoden

3.1.1 Tiere und Bestände

An den von Oktober 2001 bis Juli 2004 im Staatlichen Tierärztlichen Untersuchungsamt Aulendorf (STUAAU) durchgeführten Untersuchungen, nahmen 293 schweinehaltende Betriebe aus Baden-Württemberg teil. Die Betriebe waren alle dem Landeskontrollverband Baden-Württemberg (LKV) angeschlossen. Von 30.090 Schlachtschweinen aus 291 Betrieben wurden Fleischsaftproben auf Antikörper gegen *Salmonella*-LPS-Antigen untersucht. Aus 124 Betrieben wurden Kotproben von Endmastschweinen auf *Salmonella* und *Campylobacter* untersucht. Ca. 80 % der Proben stammten von Baden-Württembergischen-Hybrid-Mastprodukten (Mutter: Yorkshire [Large White] x Deutsche Landrasse; Vater: Piétrain), ca. 15 % der Schweine waren Deutsche Landrasse x Piétrain und bei 5 % der Schweine handelte es sich um andere Kreuzungsprodukte. Die Schweine stammten entweder aus kombinierten Betrieben oder reinen Mastbetrieben und waren zwischen 21 und 30 Wochen alt.

Der größte Anteil der Betriebe wurde von den Mastbetrieben eingenommen. Die Betriebsgröße schwankte von unter 250 Mastplätzen (MP) bis über 1.500 MP, wobei den größten Anteil die Betriebe mit einer Betriebsgröße über 250 MP bis 500 MP stellten. Eine detaillierte Auflistung der ermittelten betrieblichen Parameter der 291 auf Salmonellen-LPS-Antikörper untersuchten Betriebe gibt **Tabelle 10** wieder.

Tabelle 10
Betriebliche Daten der 291 auf *Salmonella*-LPS-Antikörper untersuchten Betriebe

Parameter	Variable	Anzahl der Betriebe
Produktionstyp	reine Mast	179
	Kombi (Erzeuger und Mäster)	112
Betriebsgröße	< 250 MP	49
	250 – 500 MP	127
	501 – 750 MP	63
	751 -1.000 MP	30
	1.001 – 1.500 MP	17
	> 1.500 MP	5
Ferkelherkunft	eigener Betrieb	110
	ein anderer Betrieb	128
	mehrere andere Betriebe	53
Belegung	rein - raus	40
	kontinuierlich	251
Reinigung und Desinfektion (RD)	RD regelmäßig	73
	RD unregelmäßig	90
	nur R	93
	keine RD	35
Boden	Teilspalten	63
	Vollspalten	172
	Stroheinstreu	37
	gemischt	18
Heizung	mit	95
	ohne	186
Lüftung	mit	234
	ohne	57
Futterherkunft	eigener Betrieb	258
	Handel	33
Fütterungstechnik	trocken	54
	flüssig	219
	gemischt	18
Futterzuteilung	rationiert	120
	ad libitum	154
	gemischt	17

Erläuterungen: **MP:** Mastplätze

3.1.2 Kot- und Fleischsaftproben

Kotproben

Die Kotproben wurden mit Einmalkunststoffhandschuhen rektal entnommen oder als frisch abgesetzter Kot eingesammelt. Die Beprobung erfolgte entweder in den Herkunftsbetrieben im Rahmen der von mir selbst durchgeführten Betriebsbesichtigungen oder aber durch den Tierhalter oder den Ringberater bei der Verladung der Schweine zum Schlachthof bzw. unmittelbar davor. Pro Betrieb wurden zehn Proben einzeln in Probenröhrchen verbracht. Bei warmen Umgebungstemperaturen (> 20 °C) wurden die Proben zusätzlich in mit Kühllakus versehenen Styroporbehältern verpackt und innerhalb von höchstens 36 Stunden an das Staatliche Tierärztliche Untersuchungsamt Aulendorf (STUAAU) übersandt bzw. verbracht. Dort wurden die Proben anschließend sofort weiterbearbeitet. Bei den Betriebsbesichtigungen wurde Kot von je 20 Endmastschweinen aus den Buchten eingesammelt oder rektal entnommen. Insgesamt wurden Kotproben aus 124 Betrieben untersucht. 122 dieser 124 Betriebe schickten zusätzlich Fleischsaftproben zur Untersuchung gegen *Salmonella*-LPS-Antikörper.

Fleischsaftproben

Die Fleischsaftproben wurden von 30.090 Schlachtschweinen aus 291 Betrieben gezogen. Hierzu wurde vom Schlachthofpersonal gemäß des Entwurfes der Schweine-Salmonellen-Verordnung ein Stück der Nacken- oder Zwerchfellpfeilmuskulatur (ca. 10 - 20 g) entnommen und in einen codierten Fleischsafttrichter der Firma Sarstedt überführt. Die Trichter wurden anschließend sofort bei -18 °C tiefgefroren und an das STUAAU geschickt. Nach dem Auftauen bei Raumtemperatur und der Antikörper-Bestimmung mit dem SALMOTYPE[®]-ELISA, wurden die Probenreste in 1,2 ml- oder 2,2 ml-Storage-Platten der Firma Abigene[®] HOUSE überführt. Die Platten wurden dann mit Abdeckmatten verschlossen und bis zur weiteren Verwendung bei -18 °C tiefgefroren.

Die Anzahl der von jedem Betrieb zu beprobenden Schlachtschweine richtete sich nach dessen Aufkommen an Schlachtschweinen pro Jahr. Hierzu wurde der Stichprobenschlüssel zugrunde gelegt, der in den Entwürfen der „Verordnung zur Verminderung des Salmonelleneintrags durch Schlachtschweine bei der Fleischgewinnung“ („Schweine-Salmonellen-Verordnung“. Entwürfe vom 19.12.2002 und 20.04.2005) enthalten ist (**Tabelle 11**).

Tabelle 11

Geforderter Stichprobenumfang zur serologischen Untersuchung auf *Salmonella*-LPS-Antikörper gemäß der Entwürfe der „Verordnung zur Verminderung des Salmonelleneintrags durch Schlachtschweine bei der Fleischgewinnung (Schweine-Salmonellen-Verordnung)“ vom 19.12.2002 und 20.04.2005

Vorraussichtliche Anzahl der zur Schlachtung abgegebenen Schweine pro Jahr oder pro Mastdurchgang	Anzahl der zu untersuchenden Schweine ⁽¹⁾
< 45	alle
45 bis 100	45
101 bis 200	50
> 200	60

Erläuterungen: (1: In Endmastbetrieben mit getrennten Betriebsabteilungen kann der Betriebsinhaber die Untersuchungen für jede Betriebsabteilung gesondert durchführen.

3.1.3 Bakterienstämme

Die bei den Untersuchungen verwendeten Bakterienreferenzstämme sind nachfolgend näher beschrieben. Alle Stämme wurden in einer Cryobank TM (MAST DIAGNOSTICA) bei -18 °C gelagert. *Streptococcus pyogenes* DSM 20565 und *Streptococcus agalactiae* DSM 2134 wurden zudem auf Blutplatten bei +6 °C für die weiteren Untersuchungen aufbewahrt. *Campylobacter coli* DSM 4689 und *Campylobacter jejuni* DSM 4688 wurden im Dunkeln bei Raumtemperatur in Thioglykolatmedium gelagert. Die Referenzstämme stammten alle aus der DSMZ (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig). Der Stamm DSM 20565 *Streptococcus pyogenes* (DSM 20565 = NCTC 8198 = ATCC 12344 [American Type Culture Collection]) stammte ursprünglich von der NCTC (National Collection of Type Culture) und wurde 1950 vom PHLS (Central Public Health Laboratory) hinterlegt. Der Stamm wurde erstmalig aus einem Scharlach-Patienten isoliert. DSM 2134, *Streptococcus agalactiae* (DSM 2134 = NCTC 8181 = ATCC 13813) wurde 1934 hinterlegt und stammte ursprünglich ebenfalls von der NCTC. Der Erreger wurde aus einer Milchprobe isoliert. *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* DSM 4688 (DSM 4688 = ATCC 33560 = NCTC 11351 = CCUG 11284 [Culture Collection University of Göteborg]) wurde 1970 in Belgien aus Rinderfäces isoliert. *Campylobacter coli* DSM 4689 (DSM 4689 = ATCC 33559 = NCTC 11366 = CCUG 11283) wurde 1950 in Belgien aus Schweinekot isoliert.

3.1.4 Kulturell-bakteriologische Nachweismethoden

3.1.4.1 Nährmedien zur Anzucht von Bakterien

Brilliant-Phenolrot-Lactose-Agar (MERCK, Nr. 1.07236.0500/5000) pH 6,5 ± 0,2

	g/l
Fleischextrakt	5,0 (MERCK, Nr. 103979)
Hefeextrakt	3,0 (MERCK, Nr. 103753)
Natriumchlorid	3,0 (MERCK, Nr. 106400)
Sekundäres Natriumphosphat	2,0 (MERCK, Nr. 6580)
Bacto-Agar	17,1 (WBCO 7644)
Pepton aus Casein tryptisch abgebaut	10,0 (MERCK, Nr. 107213)
Lactose	15,0 (MERCK, Nr. 107657)
	ml/l
Phenolrotlösung 0,2 -%ig	40,0 (MERCK 107241)
Brilliantgrün 0,5 -%ig	1,0 (MERCK 1310)

Bunte Reihe

Peptonwasser für Bunte Reihe pH 7,4 ± 0,2

	g/l
Caseinpepton	10,0 (MERCK, Nr. 107213)
Natriumchlorid	5,0 (MERCK, Nr. 106400)
Bromthymolblaulösung	5,0 (MERCK, NR. 3026)

Caseinpeptonwasser zum Nachweis von Indolbildung pH 7,5 ± 0,2

	g/l
Caseinpepton	10,0 (MERCK, Nr. 107213)
Natriumchlorid	5,0 (MERCK, Nr. 106400)

Harnstoff-Schrägagar pH 6,8 ± 0,2

	ml/l
Harnstoffagar nach Christensen (Basis)	900,0 (MERCK, Nr. 8492)
20 %-ige Harnstofflösung	100,0 (MERCK, Nr. 8487)

3 Eigene Untersuchungen - 3.1 Material und Methoden

Glucose-Nährmedium pH 7,4 ± 0,2

	g/l
Glucose	10,0 (MERCK, Nr. 108342)
Bromthymolblaulösung	5,0 (MERCK, Nr. 3026)

Kligler-Schrägagar pH 7,4 ± 0,2

	g/l
Bacto Kligler Iron Agar	55,0 (DIFCO Nr. 0086-17-8)

Lactose-Nährmedium pH 7,4 ± 0,2

	g/l
Lactose	10,0 (MERCK, Nr. 107657)
Bromthymolblaulösung	5,0 (MERCK, Nr. 3026)

Saccharose-Nährmedium pH 7,4 ± 0,2

	g/l
Saccharose	10,0 (MERCK, Nr. 7651)
Bromthymolblaulösung	5,0 (MERCK, Nr. 3026)

Campylobacter-Anreicherungsbouillon (Bolton) pH 7,5 ± 0,2

	g/l
Bolton-Anreicherungsbouillon-Basis	27,6 (OXOID, Nr. CM 983)
	ml/l
Bolton-Selektiv-Supplement	10,0 (OXOID, Nr. SR 183)
lysiertes Pferdeblut	50,0 (OXOID, Nr. SR 48)

Columbia-A-Agar (COL-A) pH 7,3 ± 0,2

	g/l
Columbia-Agar-Basis	42,0 (MERCK, Nr. 1.10455)
	ml/l
(OXOID, Nr. SR 069)	4,0
Steriles defibriniertes Schafsblut	50,0 (HAEMOVET-MESE)

3 Eigene Untersuchungen - 3.1 Material und Methoden

Columbia-B-Agar (COL-B) pH 7,3 ± 0,2

	g/l
Columbia-Agar-Basis	42,0 (MERCK, Nr. 1.10455)
	ml/l
1 %-ige Brilliantgrünlösung	0,9 (MERCK, Nr.1310)
Steriles defibriniertes Schafsblut	50,0 (HAEMOVET-MESE)

Karmali-Selektivnährboden, blutfrei pH 7,4 ± 0,2

	g/l
<i>Campylobacter</i> -Agar-Basis nach Karmali, blutfrei	43,0 (OXOID, Nr. CM 0935B)
	ml/l
<i>Campylobacter</i> -Selektiv-Supplement (Karmali)	4,0 (OXOID, Nr. SR 0167E)

Thioglykolat-Nährlösung pH 7,1 ± 0,2

	g/l
Fluid Thioglycolate Medium	29,8 (DIFCO, NR. 0256-17-2)

Rappaport-Vassiliadis-Anreicherungsbouillon (RV) pH 5,2 ± 0,2

	g/l
Rappaport-Vassiliadis (RV)-Anreicherungsbouillon	38,0 (MERCK, Nr. 1.07700)

Rambach®-Agar pH 7,3 ± 0,2

	g/l
Rambach®-Agar	30,5 (MERCK, Nr. 1.07500.0001)
	ml/l
Rambach®-Agar-Supplement	10,0 (MERCK, Nr. 1.07500.0003/2)

Salmonellen-Voranreicherungsbouillon (MERCK, Nr. 1.07228) pH 7,2 ± 0,2

	g/l
Natriumchlorid	5,0 (MERCK, Nr. 106400)
Pepton aus Casein	10,0 (MERCK, Nr. 107213)
Kaliumdihydrogenphosphat	1,5 (MERCK, Nr. 104871)
Di-Natriumhydrogenphosphat x 12 H ₂ O	9,0 (MERCK, Nr. 65799050)

3.1.4.2 Nachweis von *Salmonella* spp. in Schweinekotproben

Die Isolierung und Identifizierung der Salmonellen erfolgte in Anlehnung an standardisierte Verfahren der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuch (LFGB), vormals § 35 Lebensmittel- und Bedarfsgegenständegesetz (LMBG) Nr.: L 00.00-20 und nach ISO 6579 : 1993 (E) der Internationalen Organisation für Standardisation. Derzeit gilt für die Untersuchung von Kotproben die ISO 6579 : 2002, Anhang D.

Zum Salmonellen-Nachweis wurden die zur selben Zeit in einem Bestand (zehn Einzelkotproben pro Bestand) oder die bei den Betriebsbesichtigungen (20 Einzelkotproben pro Bestand) entnommenen Kotproben im STUAAU zu einer Sammelkotprobe (ca. 10 g) zusammengefasst. Zur Herstellung der Sammelkotprobe wurde je ca. 1 g einer Einzelkotprobe verwendet. Die 20 Kotproben aus den Betriebsbesichtigungen ergaben somit zwei Sammelkotproben.

Die Sammelkotproben wurden in die Salmonellen-Voranreicherungsbouillon (1:10, Masse:Volumen) eingewogen und bei 37 °C für 18 – 24 h bebrütet. 0,1 ml dieser Salmonellen-Voranreicherungsbouillon wurden dann in 9,9 ml Rappaport-Vassiliadis-Anreicherungsbouillon pipettiert und aerob bei 41 °C für 18 – 24 h bebrütet. Danach wurde Kulturmaterial fraktioniert auf Phenol- und Rambachagar ausgestrichen. Die Platten wurden aerob bei 37 °C für 18 bis 24 Stunden bebrütet. Die Rappaport-Vassiliadis-Anreicherungsbouillon wurde nach dem ersten Ausstrich für weitere 18 bis 24 Stunden bebrütet und danach ein zweites Mal auf Phenol- und Rambachagar ausgestrichen. Auf dem Phenolrot-Agar wachsen Salmonellen als rosarote Kolonien umgeben von einem roten Hof. Auf Rambach-Agar sind es rot wachsende Kolonien (außer *S. Typhi* und *S. Paratyphi*). Salmonellen-verdächtige Kolonien wurden dann auf frischen Phenolrot- und Rambach-Agar in Reinkultur subkultiviert und mit dem API-20E-Test (bioMérieux) oder mit einer kurzen bunten Reihe, bestehend aus Kligler-, Harnstoff-, Glucose-, Lactose-, Saccharose-Agar und Caseinpeptonwasser zum Nachweis von Indolbildung, auf ihre Gattungszugehörigkeit untersucht.

Die serologische Differenzierung wurde mit spezifischen Testseren (DADE BEHRING, Marburg GmbH) im Objektträger-Schnellagglutinationsverfahren vorgenommen. *Salmonella*-Isolate, die sich auf diese Weise nicht eindeutig als *S. Typhimurium* oder *S. Enteritidis* identifizieren ließen, wurden zur Serotypisierung an das Nationale veterinärmedizinische Referenzlabor für Salmonellen (NRL-SALM) im Bundesinstitut

für Risikobewertung in Berlin geschickt. Alle isolierten Salmonellen-Stämme wurden in einer Cryobank™ (MAST DIAGNOSTICA) bei -18 °C archiviert.

3.1.4.3 Nachweis von *Campylobacter coli* und *jejuni* in Schweinekotproben

Wie beim Salmonellen-Nachweis wurden jeweils zehn Einzelkotproben aus einem Betrieb zu einer Sammelkotprobe zusammengeführt (ca. 1 g je Einzelkotprobe). Die Sammelkotproben wurden dann in die *Campylobacter*-Anreicherungsbouillon (1:10, Masse:Volumen) eingewogen und bei 41 °C für 24 Stunden unter mikroaerophilen Bedingungen (Gasgemisch: CO₂ 15 Vol.%, O₂ 4,5 Vol.%, N₂ 80,5 Vol.%) bebrütet. Danach wurde Material der Kultur mit einer sterilen Öse auf je einer Columbia-A-, einer Columbia-B- und einer Karmali-Agarplatte ausgestrichen. Als Kontrolle wurde je ein Referenzstamm von *C. jejuni* und *C. coli* auf den Agarplatten mitgeführt. Die Columbia-A- und die Columbia-B-Agarplatten wurden für 96 Stunden mikroaerophil in derselben N₂/CO₂-Atmosphäre bei 37 °C und die Karmali-Agarplatten in N₂/CO₂-Atmosphäre bei 41 °C für 48 Stunden bebrütet. *C. coli* und *C. jejuni* wachsen auf Karmali-Selektiv-Agar als graue, feucht-glänzende, flache Kolonien. Auf Columbia-A- und Columbia-B-Agar wachsen *C. jejuni* und *C. coli* als ca. 1 mm große, glänzende, leicht getrübbte runde Kolonien. Verdächtige Kolonien wurden im Nativpräparat bei 400-facher Vergrößerung im Phasenkontrastmikroskop untersucht. Eine der verdächtigen Kolonien wurde nochmals auf Columbia-A-, Columbia-B-Agar und Karmali-Agarplatten zur Reinzucht subkultiviert.

Zur Unterscheidung von *C. jejuni* zu anderen *Campylobacter*-Spezies diente die Hippursäurespaltung, die mit Hilfe von Natriumhippurat-enthaltenden Tabletten (Fa. A/S Rosco Nr. 9173121) geprüft wurde. In Anwesenheit des Enzyms Hippurase wird Hippursäure in Benzoesäure und Glycin gespalten. Der Nachweis des freigesetzten Glycins erfolgte mit 3,5 %-iger Ninhydrinlösung. Zur Differenzierung wurde die Katalase-Reaktion, die sowohl bei *C. jejuni* als auch bei *C. coli* positiv ist, hinzugezogen. Katalase-positive Mikroorganismen werden in Gegenwart von Wasserstoffsuperoxyd durch aufsteigendes O₂ nachgewiesen, dies wurde mit ID-Color-Katalase (ID-ASE) (Fa. BioMérieux Nr. 55561) getestet. Die Gattungszugehörigkeit wurde außerdem anhand der Nalidixinsäure- (OXOID Nr. CT0031B) und Cefalothin-Sensibilität (OXOID Nr. CT0010B) bestimmt, die mit entsprechenden Testplättchen im Agardiffusionstest geprüft wurde. Bei Cefalothin-Plättchen wird ein Hemmhofdurchmesser von ≥ 18 mm als Zeichen der Sensibilität und von ≤ 14 mm als Zeichen der

Resistenz gewertet. Bei Nalidixinsäure gilt jedes *Campylobacter*-Isolat mit einem Hemmhofdurchmesser von ≥ 7 mm als sensibel. Sowohl *C. jejuni* als auch *C. coli* sind Nalidixinsäure sensibel und Cefalothin resistent. In zweifelhaften Fällen wurde die kommerzielle bunte Reihe Api-Campi 20800 (BioMérieux Nr. 20800) hinzugezogen. Alle differenzierten *C.*-Stämme wurden in einer Cryobank TM (MAST DIAGNOSTICA) bei -18 °C archiviert.

3.1.5 ELISA-Methoden zum Nachweis von *Salmonella*-LPS-Antikörpern beim Schwein

Die von den Schlachtschweinen des Landeskontrollverbandes Baden-Württemberg (LKV) entnommenen 30.090 Fleischsaftproben wurden mit dem SALMOTYPE[®]-ELISA auf Antikörper gegen Salmonellen untersucht. Die vergleichenden Untersuchungen sowie die Untersuchungen zur Inter- und Intra-Plattenpräzision wurden mit den drei folgenden kommerziellen ELISA-Testsystemen durchgeführt:

1. **SALMOTYPE[®] Fleischsaft ELISA** (Labor Diagnostik GmbH Leipzig) (Englisch: **SALMOTYPE[®] Pig LPS ELISA**) Zulassungs-Nr.: BGVV-B 275. Verwendete Chargen: 500S18, 500S19, 500S20, 500S21, 500S22, 500S23, 500S25, 500S29, 500S30, 500S31, 500S33, 500S34. In der vorliegenden Arbeit als **SALMOTYPE[®]-ELISA** bezeichnet.
2. **Enterisol[®] SALMONELLEN-DIAGNOSTIKUM ELISA zum Nachweis von Antikörpern gegen Salmonellen beim Schwein** (Boehringer Ingelheim) Zulassungs-Nr.: BgVV-B 341. Verwendete Charge: 2553HPD. In der vorliegenden Arbeit als **Enterisol[®]-ELISA** bezeichnet.
3. **Testkit zum Nachweis von Antikörpern gegen Salmonellen beim Schwein von HerdChek*** (IDEXX LABORATORIES) Zulassungs-Nr.: BGVV-B 305. Verwendete Charge: 44100-3090. In der vorliegenden Arbeit als **HerdChek-ELISA** bezeichnet.

3.1.5.1 Grundprinzip der verwendeten ELISA-Systeme

Alle drei verwendeten ELISA-Kits, sind indirekte ELISA-Systeme und dienen der quantitativen Bestimmung von Salmonellen-Antikörpern in Fleischsaft- oder Serum-

proben von Schweinen. Die Proben wurden in jedem Testsystem in Einzelbestimmung untersucht. In **Abbildung 1** ist das allgemeine Funktionsprinzip der drei ELISAs schematisch dargestellt. In **Tabelle 12** sind die Unterschiede der drei verschiedenen Testsysteme gegenübergestellt.

Die Grundlage aller drei Testsysteme bildet eine Mikrotiterplatte mit 96 Vertiefungen im Standardformat (acht Zeilen A-H, zwölf Spalten 1-12), die mit einer Mischung aus *Salmonella*-Antigenen beschichtet sind. Im HerdChek-ELISA ist die Platte zudem in zwölf einzelne Riegel mit je acht Vertiefungen unterteilbar.

Im Enterisol[®]-ELISA sind die Mikrotiterplatten mit einer Mischung aus *S. Typhimurium*- und *S. Cholerasis*-Polysaccharid-Antigen beschichtet. Ausgangsmaterial für diese Beschichtung sind Keime entsprechender *Salmonella*-Stämme. Nach der phenolischen Extraktion der LPS-Fraktion wird durch milde Hydrolyse die unspezifische Lipid A-Komponente abgespalten, um das spezifische Polysaccharid-Antigen (PS) zu gewinnen. Darauf erfolgt eine Konjugation von PS an Anthraquinone, und über einen photochemischen Prozess wurde das PS-AQ-Konjugat (Polysaccharid-Anthraquinone-Konjugat) kovalent an die Mikrotiterplatte gebunden. Die Abspaltung der Lipid A Fraktion verringert das Risiko von Kreuzreaktionen und unspezifischen Reaktionen; zudem weist das PS-Antigen eine geringere Toxizität auf als das intakte LPS-Antigen **(157)**. Der Enterisol[®]-ELISA erkennt Antikörper gegen *S. Typhimurium*, *S. Cholerasis*, *S. Infantis* in Serum, Plasma und Fleischsaft. Das Testsystem weist Antikörper gegen Salmonellen-PS-O-Antigene 1, 4, 5, 6, 7 und 12 nach und erkennt somit mehr als 90 % der bei Schweinen vorkommenden Salmonellen-Serovare **(35)**.

Im HerdChek-ELISA sind die Mikrotiterplatten mit LPS-Antigen von Salmonellen der Serogruppen B, C1 und D beschichtet, sodass Antikörper gegen Salmonellen dieser Serogruppen nachgewiesen werden können. Im SALMOTYPE[®]-ELISA sind die Mikrotiterplatten mit den Salmonellen-LPS-O-Antigenen 1, 4, 5, 6, 7 und 12 beschichtet. Somit sollen sich ebenfalls über 90 % der auftretenden Salmonellen-Serovare nachweisen lassen **(155)**. Die Salmonellen-LPS-Fractionen zur Plattenbeschichtung werden aus Stämmen der Serovare *Salmonella Typhimurium* und *Salmonella Cholerasis* phenolisch extrahiert **(149)**.

Im SALMOTYPE[®]-ELISA werden die Fleischsaftproben 1 : 30 mit gebrauchsfertigem Probenverdünnungspuffer verdünnt und 100 µl dieser Verdünnung in je eine Vertiefung der Mikrotiterplatte pipettiert. Im Enterisol[®]-ELISA wird aus den Fleischsaftproben und

3 Eigene Untersuchungen - 3.1 Material und Methoden

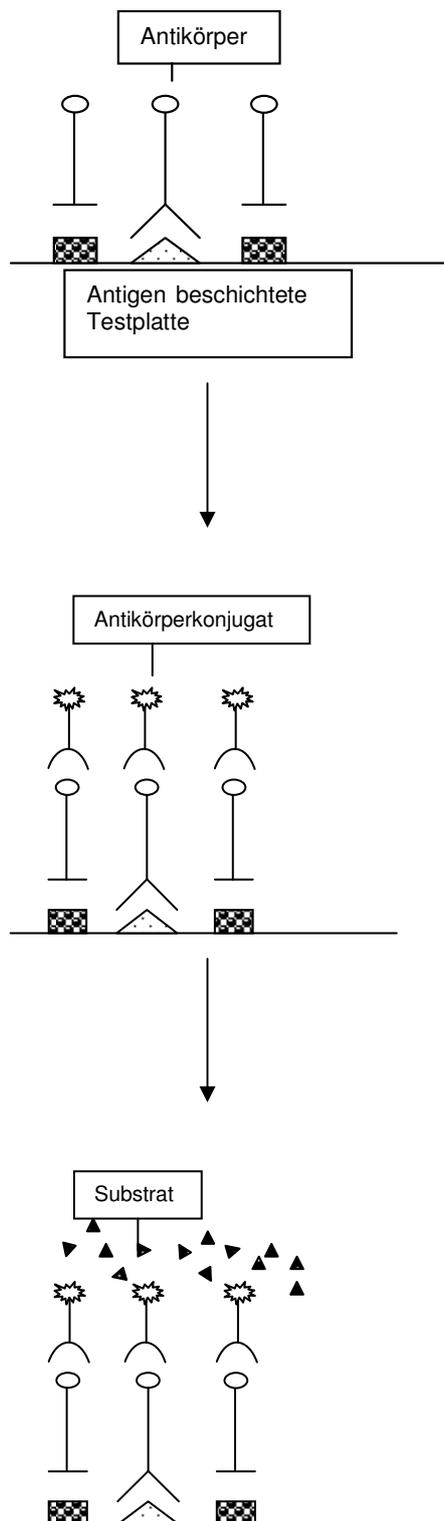
dem Verdünnungspuffer (Verdünnungspuffer nicht gebrauchsfertig; gebrauchsfertiger Verdünnungspuffer: 10 ml 6-fach-konzentriertes Verdünnungspufferkonzentrat mit 50 ml destilliertem Wasser) eine 1 : 4 Vorverdünnung hergestellt. In jede Vertiefung der Mikrotiterplatte wird 90 µl Verdünnungspuffer vorgelegt. 10 µl Vorverdünnung werden dann in den vorgelegten Puffer pipettiert. Somit werden die Proben in einer 1 : 40 Verdünnung eingesetzt. Im HerdChek-ELISA wird mit dem gebrauchsfertigen Probenverdünnungspuffer eine Probenverdünnung von 1 : 2 auf der Mikrotiterplatte zur Untersuchung eingesetzt (100 µl pro Vertiefung).

Die Inkubationszeiten der Proben im SALMOTYPE[®]-ELISA und im Enterisol[®]-ELISA betragen eine Stunde. Beim HerdChek-ELISA wurde nur eine halbe Stunde inkubiert. Alle drei ELISA-Tests werden bei Raumtemperatur (18 - 23 °C) angesetzt und inkubiert. Bei den drei ELISAs werden die Mikrotiterplatten nach der Probeninkubation mit angesetzten Phosphatpuffer-Tween-Waschlösungen mit einer Spritzflasche dreimal gewaschen um ungebundenes Probenmaterial zu entfernen. Bei jedem ELISA werden dann 100 µl Antikörper-Konjugat-Lösung in jede Probenvertiefung pipettiert. Beim HerdChek-ELISA handelt es sich um ein gebrauchsfertiges Ziegen-anti-Schweingesamt-Ig-Myeloperoxidase-Konjugat. Im Enterisol[®]-ELISA wird ein Kaninchen-anti-Schwein-IgG-Myeloperoxidase-Konjugat verwendet, das vor jedem Gebrauch frisch angesetzt werden muß. Das gleiche gilt für den SALMOTYPE[®]-ELISA, wobei in diesem Test ein Kaninchen-anti-Schwein-gesamt-Ig-Myeloperoxidase-Konjugat eingesetzt wird. Die Konjugate werden im SALMOTYPE[®]-ELISA und im Enterisol[®]-ELISA eine Stunde auf den Platten belassen, im HerdChek-ELISA nur eine halbe Stunde. Die Platten werden dann einem Waschvorgang, in derselben Weise wie oben beschrieben, unterzogen. Danach wurden in allen drei Systemen 100 µl einer gebrauchsfertigen TMB-Substrat-Lösung (3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin-Substrat) in jede Vertiefung pipettiert. Beim HerdChek-ELISA folgt eine Inkubationszeit von 15 Minuten, beim Enterisol[®]-ELISA wird zehn Minuten und beim SALMOTYPE[®]-ELISA sieben Minuten inkubiert, bevor die Reaktion mit einer Stopplösung abgebrochen wird. Bei der Stopplösung handelt es sich beim Enterisol[®]-ELISA um eine 2 M Schwefelsäurelösung, beim SALMOTYPE[®]-ELISA um eine 0,5 M Schwefelsäurelösung und beim HerdChek-ELISA um Natriumdodecylsulfatlösung.

Bei den eingesetzten Kontrollseren gibt es ebenfalls Unterschiede zwischen den drei verschiedenen Testsystemen. Der SALMOTYPE[®]-ELISA enthält vier positive und ein negatives Kontrollserum. Die Kontrollseren erzielen im ELISA je nach Chargennummer variierende Messwerte [in OD %], wobei Kontrollserum 1 immer die höchsten und

Kontrollserum 4 die niedrigsten Werte ergibt. Die vier positiven Kontrollseren wurden aus Seren von hyperimmunisierten Schweinen gewonnen. Das Kontrollserum 5 ist die Negativkontrolle und wurde von Schweinen mit niedrigem Antikörpertiter gewonnen. Alle Kontrollseren liegen in lyophilisierter Form vor und müssen vor jedem Test frisch angesetzt und in Doppelbestimmung mitgeführt werden. Beim Enterisol[®]-ELISA gibt es ein positives Kontrollserum und ein negatives Kontrollserum, die bei jeder Testdurchführung in Doppelbestimmung mitgeführt werden. Die Kontrollseren liegen in gebrauchsfertigem Zustand vor. Nach Herstellerinformationen stammt das positive Kontrollserum von einem Schlachtschwein aus Deutschland (TiHo-Bakum), welches einen hohen Salmonellen-Antikörper-Titer hatte. Die Antikörper-Konzentration wurde durch Verdünnung mit einem negativen Serum gegen eine Kontrolle aus Dänemark eingestellt. Das negative Kontrollserum wurde von schwedischen Schlachtschweinen gewonnen, da Schweden fast keine Probleme mit Salmonellen beim Schwein hat. Auch das negative Kontrollserum wurde mit negativen dänischen Kontrollen abgeglichen. Beim HerdChek-ELISA ist ebenfalls bei jeder Testdurchführung ein Negativ-Kontrollserum und ein Positiv-Kontrollserum jeweils in Doppelbestimmung mitzuführen. Sowohl das negative als auch das positive Kontrollserum bestehen aus einem Gemisch mehrerer Seren von Schweinen aus *Salmonella*-negativen bzw. *Salmonella*-positiven Beständen.

Nach Abbrechen der Reaktionen durch Zugabe der Stopplösung, wird die optische Dichte bei allen Test- und Kontrollansätzen im Photometer gemessen. Im Enterisol[®]-ELISA und im SALMOTYPE[®]-ELISA sind die Proben bei einer Testwellenlänge von 450 nm, im HerdChek-ELISA bei einer solchen von 650 nm zu messen.



Probeninkubation in 96-Loch-Mikrotiterplatte (100 µl / Vertiefung)

Vertiefungen entleeren und 3 x mit Waschpuffer waschen (300 µl / Vertiefung).

Inkubation mit Konjugatlösung (100 µl / Vertiefung)

Vertiefungen entleeren und 3 x mit Waschpuffer waschen (300 µl / Vertiefung).

Inkubation mit gebrauchsfertiger TMB-Substratlösung (100 µl / Vertiefung)

Stoppen der Reaktion

Messung im Photometer

Abbildung 1
Allgemeines Prinzip der verwendeten indirekten ELISA-Testssysteme

Tabelle 12
Übersicht über methodische Unterschiede zwischen den drei verwendeten ELISA-Systemen (35, 134, 155)

Parameter	Enterisol®-ELISA	SALMOTYPE®-ELISA	HerdChek-ELISA
Antigen	Salmonellen-PS (O-Antigene 1, 4, 5, 6, 7, 12)	Salmonellen-LPS (O-Antigene 1, 4, 5, 6, 7, 12)	Salmonellen-LPS (O-Antigene der Serogruppen B, C1, D)
Fleischsaft-verdünnung	Vorverdünnung 1:4, Endverdünnung 1:40	1:30	1:2
Proben-Inkubationszeit	1 Stunde	1 Stunde	0,5 Stunden
Temperatur	Raumtemperatur (18 – 23 °C)	Raumtemperatur (18 – 23 °C)	Raumtemperatur (18 – 23 °C)
Antikörper-Konjugat-Lösung	frisch angesetztes Kaninchen-anti-Schwein-IgG-Meerrettich-Peroxidase-Konjugat	frisch angesetztes Kaninchen-anti-Schwein-gesamt-Ig-Meerrettich-Peroxidase-Konjugat	gebrauchsfertiges Ziegen-anti-Schweingesamt-Ig-Meerrettich-Peroxidase-Konjugat
Konjugat-Inkubationszeit	1 Stunde	1 Stunde	0,5 Stunden
Substrat-Inkubationszeit	10 Minuten	10 Minuten	15 Minuten
Stoppen der Reaktion	2 M Schwefelsäurelösung: 50 µl / Vertiefung	0,5 M Schwefelsäurelösung: 100 µl / Vertiefung	Natriumdodecylsulfatlösung: 100 µl / Vertiefung
Testwellenlänge	450 nm	450 nm	650 nm
Kontrollseren	Ein positives und ein negatives Kontrollserum in gebrauchsfertigem Zustand; Doppelbestimmung	vier positive und ein negatives Kontrollserum in lyophilisierter Form; Doppelbestimmung	Ein positives und ein negatives Kontrollserum in gebrauchsfertigem Zustand; Doppelbestimmung

3.1.5.2 Vorgehensweise bei der Testdurchführung

Alle drei kommerziellen ELISA-Testssysteme wurden nach der Gebrauchsinformation des jeweiligen Herstellers durchgeführt. Nachfolgend ist die Durchführung der drei Testsysteme näher beschrieben.

3.1.5.2.1 SALMOTYPE®-ELISA (Labor Diagnostik GmbH Leipzig)

Vorbereitung der Reagenzien

Zur Herstellung des gebrauchsfähigen Waschpuffers wurden 30 ml Waschpufferkonzentrat mit 270 ml destilliertem Wasser verdünnt. Die fünf lyophilisierten Kontrollseren werden in jeweils 300 µl destilliertem Wasser unter vorsichtigem Schwenken vollständig gelöst. 44 µl der konzentrierten Antikörper-Konjugat-Lösung werden in 11 ml Probenverdünnungspuffer verdünnt.

Probenvorbereitung

Die tiefgefrorenen Muskelproben bzw. die in Storage-Platten (Deep-well-Platten) archivierten Fleischsaftproben wurden bei Raumtemperatur aufgetaut und aus dem dabei gewonnenen Fleischsaft eine 1:30 Verdünnung mit Probenverdünnungspuffer hergestellt (10 µl Fleischsaftprobe + 290 µl Probenverdünnungspuffer).

Testdurchführung

Alle Reagenzien wurden vor der Benutzung durch leichtes Schütteln gemischt und auf Raumtemperatur gebracht (18 - 23 °C). Je 100 µl der gelösten Kontrollen (in Doppelbestimmung) sowie der vorverdünnten Proben (in Einzelbestimmung) wurden in die Vertiefungen der Testplatte pipettiert. Die Platte wurde abgedeckt und nach 60-minütiger Inkubationszeit bei Raumtemperatur wieder entleert. Anschließend wurde mit je 300 µl vorbereitetem Waschpuffer jede Kavität dreimal mit einer Spritzflasche gewaschen, um nicht gebundenes Material aus der Mikrotiterplatte zu entfernen. Im Anschluß daran wurden die Platten auf Zellstoff trockengeklopft. Pro Vertiefung wurden daraufhin 100 µl Antikörper-Konjugat-Lösung (Kaninchen-anti-Schwein-gesamt-Ig- Meerrettich-Peroxidase-Konjugat) in jede Vertiefung pipettiert. Danach wurden die Platten nochmals eine Stunde bei Raumtemperatur inkubiert, bevor sie einem zweiten Waschvorgang (siehe oben) unterzogen wurden. Nach dem Waschvorgang wurde in jede Vertiefung 100 µl TMB-Substratlösung pipettiert. Es erfolgte eine weitere sieben-

minütige Inkubationsphase, ebenfalls bei Raumtemperatur. Die Farbreaktion wurde dann durch Zugabe von 100 µl Stopplösung (0,5 M Schwefelsäurelösung) pro Vertiefung unterbrochen. Die optischen Dichten der Proben und der Kontrollseren wurden nach der Kalibrierung des Photometers gegen Luft als Leerwert, bei 450 nm Testwellenlänge und einer Referenzwellenlänge von 620 nm ermittelt.

Auswertung

Zur Analyse der Ergebnisse wurde das Easy fit Version 7.1 Programm und das Easy base Programm 7.17 von SLT Labinstruments Crailsheim herangezogen. Die gemessenen optischen Dichten [OD] der Kontrollseren wurden zu ihren angegebenen Konzentrationen ins Verhältnis gesetzt und daraus eine lineare Regressionsgrade berechnet. Da eine Doppelbestimmung durchgeführt wurde, wurde der Mittelwert beider Messungen gebildet und bei der Berechnung eingesetzt. Aus den Messwerten der Proben wurden mit Hilfe der Regressionsformel, die Antikörpertiter in OD % berechnet. Für eine gültige Messung musste der P/N-Quotient ($P/N = OD$ von Kontrollserum 1 / OD von Kontrollserum 5) einen höheren Wert als 4,0 erreichen. Als positiv wurden Fleischsaftproben gewertet, deren Antikörpertiter in einer gültigen Messung größer oder gleich 40 OD % war. Als negativ waren solche Proben anzusehen, deren Antikörpertiter unter 40 OD % lag.

Die genaue Berechnung ist im Folgenden beschrieben (Methode der kleinsten Fehlerquadrate nach Gauss).

Die Regressionsgerade wurde nach folgender Formel berechnet:

$y = ax + b$ wobei a und b als Regressionskoeffizienten bezeichnet wurden.

a = Anstieg bzw. Steigung der Regressionsgerade

b = Schnittpunkt mit der y -Achse.

Zur Berechnung des Titors in OD % musste die Regressionsformel ($y = ax + b$) nach x umgestellt werden:

$$x = \frac{(y - b)}{a}$$

x = Aktivität in OD %

y = Optische Dichte [OD]

Der P/N-Quotient der Extinktionen wurde nach folgender Formel berechnet:

$$P/N = \frac{OD \text{ Kontrollserum 1}}{OD \text{ Kontrollserum 5}}$$

3.1.5.2.2 HerdChek-ELISA (IDEXX LABORATORIES)

Vorbereitung der Reagenzien

Zur Herstellung des gebrauchsfertigen Waschpuffers wurden 30 ml 10-fach konzentriertes Waschkonzentrat mit 270 ml Aqua dest. verdünnt (Verdünnung 1:10).

Probenvorbereitung

Die tiefgefrorenen Muskelproben bzw. die in Storage-Platten (Deep-well-Platten) archivierten Fleischsaftproben wurden bei Raumtemperatur aufgetaut und aus dem gewonnenen Fleischsaft wurde eine 1:2 Verdünnung mit Probenverdünnungspuffer hergestellt (60 µl Fleischsaftprobe + 60 µl Probenverdünnungspuffer).

Testdurchführung

Alle Reagenzien und die zu untersuchenden Proben wurden vor der Durchführung des Tests auf Raumtemperatur gebracht und durch leichtes Schütteln gemischt. Je 100 µl unverdünnte negative Kontrolle wurden in die Vertiefungen A1 und A2 pipettiert, je 100 µl der unverdünnten positiven Kontrolle wurden auf die Positionen B1 und B2 pipettiert. Die restlichen Vertiefungen wurden mit jeweils 100 µl der vorverdünnten Proben (in Einzelbestimmung) belegt. Die Platten wurden abgedeckt und 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Anschließend wurden die Mikrotiterplatten durch Ausschlagen entleert und jede Kavität dreimal mit jeweils 300 µl vorbereitetem Waschpuffer gewaschen, um nicht gebundenes Probenmaterial zu entfernen. Der Waschvorgang wurde mit Hilfe einer Spritzflasche durchgeführt. Anschließend wurden die Platten auf Zellstoff trockengeklopft. Danach folgte die Zugabe von 100 µl Anti-Schwein-Meerrettich-Peroxidase-Konjugat-Lösung in jede Vertiefung und eine 30-minütige Inkubationszeit bei Raumtemperatur schloß sich an, bevor die Platten einem zweiten Waschvorgang (siehe oben) unterzogen wurden. Nach dem Waschen wurde in jede Vertiefung 100 µl TMB-Substratlösung pipettiert und 15 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Dann wurde die Farbreaktion durch 100 µl Stopplösung unterbrochen und die optischen Dichten der Proben und der Kontrollseren nach Kalibrierung des Photometers gegen Luft als Leerwert bei 650 nm [OD] gemessen.

Auswertung

Nach den Vorgaben des Herstellers mussten für ein valides Testergebnis folgende Kriterien erfüllt werden:

1. Die Differenz zwischen dem Mittelwert der positiven Kontrollen und dem Mittelwert der negativen Kontrollseren musste größer oder gleich 0,15 sein.
2. Der Mittelwert der negativen Kontrollen musste kleiner oder gleich 0,20 sein.

Ermittlung des Mittelwertes der negativen Kontrolle ($NK\bar{x}$)

$$\frac{OD \text{ von Vertiefung A1} + OD \text{ von Vertiefung B1}}{2} = NK\bar{x}$$

Ermittlung des Mittelwertes der positiven Kontrolle ($PK\bar{x}$)

$$\frac{OD \text{ von Vertiefung C1} + OD \text{ von Vertiefung D1}}{2} = PK\bar{x}$$

Die Antikörpertiter der Proben wurden folgendermaßen berechnet:

Das Vorhandensein oder Fehlen von Antikörpern gegen Salmonellen ergab sich aus dem S/P-Verhältnis, d.h. der OD-Wert der Probe (S) wurde mit dem der positiven Kontrolle (P) verglichen (S/P-Verhältnis). Sowohl S als auch P wurden um den Mittelwert der negativen Kontrolle korrigiert. Der S/P-Wert wurde dann durch den Faktor 2,5 geteilt, um das Proben-Ergebnis in OD % anzugeben. Proben mit OD %-Werten größer oder gleich 40 % ($S/P = 1,0$) wurden positiv, Proben mit OD %-Werten unter 40 % wurden negativ bewertet. Zur Analyse der Ergebnisse wurde das Programm Easy base in der Version 7.21 von SLT Labinstruments Crailsheim herangezogen.

Das S/P-Verhältnis wurde nach folgender Formel berechnet:

$$S/P = \frac{OD \text{ der Probe} - NK\bar{x}}{PK\bar{x} - NK\bar{x}}$$

$$\text{Titer [OD \%]} = \frac{S/P}{2,5} \times 100 \%$$

3.1.5.2.3 Enterisol®-ELISA (Boehringer Ingelheim)

Vorbereitung der Reagenzien

Es wurden 25 ml der 20-fach konzentrierten PBS-Tween-Lösung mit 475 ml Aqua dest. versetzt und sorgfältig durchmischt. Zu 10 ml des 6-fach konzentrierten Verdünnungspuffers wurden 50 ml destilliertes Wasser gegeben und ebenfalls sorgfältig durchmischt. 10 µl des Kaninchen-Antischwein-IgG-Meerrettich-Peroxidase-Konjugat-Konzentrates wurden unmittelbar vor Gebrauch in 190 µl des Verdünnungspuffers gelöst (1:20). Von dieser Lösung wurden dann 55 µl in 11 ml des Verdünnungspuffers gelöst (Endverdünnung 1 : 4.000). 10 µl der Kontrollseren wurden in 390 µl Verdünnungspuffer (1:40) vorverdünnt und eine Stunde auf einen Schüttler gestellt.

Probenvorbereitung

Die tiefgefrorenen Muskelproben bzw. die in Storage-Platten (Deep-well-Platten) archivierten Fleischsaftproben wurden bei Raumtemperatur aufgetaut und die Fleischsaftproben wurden mit Probenverdünnungspuffer 1 : 4 verdünnt (30 µl Fleischsaftprobe + 90 µl Probenverdünnungspuffer).

Testdurchführung

Alle Reagenzien wurden vor ihrer Benutzung durchmischt und auf Raumtemperatur gebracht. In jede, der für die Kontrollseren und Proben vorgesehenen Vertiefungen wurden 90 µl Verdünnungspuffer vorgelegt. Danach wurden in die Vertiefungen A1 und A2 je 10 µl der negativen Kontrolle (Kontrolle B), in die Vertiefungen B1 und B2 10 µl des positiven Kontrollserums (Kontrolle A) und in die restlichen Vertiefungen die vorverdünnten Proben (in Einzelbestimmung) pipettiert. Die Platte wurde mit Folie abgedeckt und für 60 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Anschließend wurde die Platte entleert und dreimal mit Waschlösung mit einer Spritzflasche gewaschen (mindestens 300 µl pro Vertiefung). Die Waschlösung wurde gründlich durch Ausklopfen auf Zellstoff entfernt. Pro Vertiefung setzte man anschließend 100 µl Konjugatlösung hinzu, bevor die Mikrotiterplatte einem zweiten Waschvorgang (siehe oben) unterzogen wurde. Nach dem Waschen wurden 100 µl Substratlösung in jede Vertiefung pipettiert, und die Platte nochmals für zehn Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Die eintretende Farbreaktion wurde durch Zugabe von 50 µl Stopplösung unterbrochen. Nach Schütteln der Platte wurden die optischen Dichten der Kontrollseren und der Proben bei einer Wellenlänge von 450 nm mit einem Photometer gemessen.

Auswertung

Zur Analyse der Ergebnisse wurde das Programm Easy base in der Version 7.21 von SLT Labinstrument Crailsheim herangezogen. Die Testdurchführung war korrekt, wenn die Mittelwerte der Optischen Dichten (\bar{x} OD) der Kontrollseren A und B folgende Anforderungen erfüllten:

Positives Kontrollserum A: $-0,80 < \bar{x} \text{ OD} < 2,00$

Negatives Kontrollserum B: $PP < 25 \%$

Die optische Dichte des Kontrollserums B (PP) wurde nach der folgenden Formel berechnet:

$$PP = \frac{\bar{x} \text{OD Kontrolle B (negativ)}}{\bar{x} \text{OD Kontrolle A (positiv)}} \times 100 \%$$

Die Berechnung der Titer von Fleischsaftproben in OD % erfolgte nach folgender Formel:

$$\text{Titer [OD \%]} = \frac{\text{OD der Proben}}{\bar{x} \text{OD Kontrolle A}} \times 100 \%$$

Proben mit Titern größer oder gleich 40 OD % wurden als positiv, Proben mit OD %-Werten unter 40 OD % wurden negativ bewertet.

3.1.5.3 Ermittlung des Salmonellen-Antikörperstatus der Betriebe

Die schweinehaltenden Betriebe wurden anhand der in ihnen ermittelten Quoten an seropositiven Fleischsaftproben einer von vier Bewertungskategorien zugeordnet. Diese Kategorisierung des betrieblichen „Salmonellen-Antikörperstatus“ erfolgte allerdings nur dann, wenn die Anzahl der innerhalb von zwölf Monaten von diesem Betrieb gelieferten Stichproben der geforderten Stichprobenzahl entsprach (siehe **Tabelle 11**). Zur Kategorisierung wurden nur die Ergebnisse des ersten erfüllten Stichproben-Solls herangezogen. Der Bewertungsschlüssel zur Ermittlung der jeweiligen Kategorie entsprach dem Entwurf der Schweine-Salmonellen-Verordnung vom 20.04.2005, der in der **Tabelle 13** wiedergegeben ist.

Tabelle 13

Bewertungsschlüssel zur Ermittlung des Salmonellenantikörperstatus von schweinehaltenden Betrieben aus dem Entwurf der Schweine-Salmonellen-Verordnung von 2005 (Stand 20.04.2005)

Positive Befunde in der Stichprobe	Salmonellenantikörperstatus	Kategorie
0	Vorzugsstatus	0
> 0 bis 20 %	Niedrig	I
> 20 bis 40 %	Verdacht auf hohen Status	II
> 40 %	Hoher Status	III

3.1.6 Statistische Auswertung

Die Datenauswertung erfolgte auf den Rechnern im lokalen Rechnernetzwerk (LAN) der Arbeitsgruppe Biomathematik und Datenverarbeitung des Fachbereichs Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen. Die statistischen Auswertungen wurden unter Verwendung des Statistikpakets BMDP / Dynamic, Release 7.0, (DIXON, 1993) durchgeführt.

Zur Beschreibung der Daten wurden arithmetische Mittelwerte, Minima, Mediane, Maxima, Standardabweichungen und Stichprobenumfänge berechnet und tabellarisch dargestellt. Bei rechtsschiefer Verteilung der Daten wurde eine logarithmische Transformation der Daten durchgeführt und die Datenbeschreibung mit Hilfe von geometrischen Mittelwerten und Streufaktoren vorgenommen. Zur statistischen Prüfung von Gruppeneinflüssen auf statistische Signifikanz wurde bei annähernd normalverteilten Merkmalen eine einfaktorielles bzw. mehrfaktorielles Varianzanalyse mit dem Programm BMDP7D bzw. mit dem Programm BMDP2V durchgeführt. Bei nicht normalverteilten Variablen kam der Kruskal-Wallis-Test unter Verwendung des Programms BMDP3S zum Einsatz. Bei abhängigen Stichproben und keiner normalverteilten sondern einer rechtsschiefen Verteilung, wurde der Friedman-Test zur Berechnung zu Hilfe genommen. Daraufhin wurde mit dem Wilcoxon-Wilcox-Test ein paarweiser Vergleich vorgenommen.

Die Untersuchung der Zusammenhänge erfolgte bei den quantitativen Merkmalen mit Hilfe von Korrelations- und Hauptkomponenten- bzw. Korrelationsanalysen unter Angabe des Korrelationskoeffizienten, der Regressionsgeraden und der Haupt-

3 Eigene Untersuchungen - 3.1 Material und Methoden

komponentengleichung (BMDP6D) bzw. mit dem Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman (BMDP3D).

Für die Gegenüberstellung qualitativer Merkmale wurden Häufigkeitstabellen mit dem Programm BMDP4F erzeugt. Mittelwertunterschiede zwischen normalverteilten, quantitativen Werten wurden mit Hilfe des Student-T-Tests auf Signifikanz geprüft.

Im Zusammenhang mit der serologischen Untersuchung auf Antikörper gegen *Salmonella*-LPS wurden die folgenden serologischen Betriebsparameter ermittelt und den statistischen Analysen zugrunde gelegt:

Titer [OD %]:	Antikörpergehalt einer Fleischsaftprobe, wie er mit einem der oben genannten ELISA-Systeme bestimmt wurde (siehe 3.1.5.2.1 bis 3.2.5.2.3)
Innerbetrieblicher Durchschnittstiter [OD %]:	Arithmetischer Mittelwert der ermittelten Titer von n Fleischsaftproben aus einem Betrieb
Anteil serologisch positiver Schweine [%]:	prozentualer Anteil von serologisch getesteten Schlachtschweinen eines Betriebes, deren Fleischsaftproben einen Titer > 40 OD % aufwiesen

Bei der Bewertung der statistischen Signifikanzen wurde das Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$ zugrunde gelegt, d.h. Ergebnisse mit Überschreitungswahrscheinlichkeit von 5,0 % oder weniger wurden als statistisch signifikant angesehen. In **Tabelle 14** sind die in der vorliegenden Arbeit verwendeten Signifikanzschwellen aufgeführt.

Tabelle 14
Verwendete Signifikanzschwellen

p-Wert	Bewertung	Abkürzung
$p \leq 0,001$	hoch signifikant	***
$0,001 < p \leq 0,01$	signifikant	**
$0,01 < p \leq 0,05$	schwach signifikant	*
$p > 0,05$	nicht signifikant	n. s.

3.2 Ergebnisse

3.2.1 Kulturell-bakteriologischer Nachweis von Salmonellen und *Campylobacter* spp. bei Mastschweinen in Baden-Württemberg

Zur Ermittlung der Salmonellen- und *Campylobacter*-Prävalenz in Baden-Württemberg wurden im Zeitraum von Januar 2003 bis Juli 2004 in 124 Betrieben nach dem Zufallsprinzip entnommene Kotproben von Endmastschweinen im STUAAU kulturell-bakteriologisch auf *Salmonella* spp., *C. jejuni* und *C. coli* untersucht. 35 Betriebe schickten einmalig je zehn einzeln verpackte Kotproben, die im Untersuchungsamt zu Sammelkotproben zusammengefasst wurden. Diese Sammelkotproben wurden kulturell-bakteriologisch auf *C. jejuni* und *C. coli* untersucht (zusätzlich zur Untersuchung auf *Salmonella* spp.). Es wurde nur jeweils eine entsprechend verdächtige Kolonie subkultiviert und weiter untersucht. 40 Betriebe schickten zweimal je zehn Kotproben zur Untersuchung. In 49 Betrieben wurden Betriebsbesichtigungen durchgeführt und anlässlich des Besuchs jeweils zwei Sammelkotproben aus je zehn Einzelkotproben von Endmastgruppen zusammengestellt.

Salmonellen waren in 13 (10,5 %) der 124 untersuchten Betriebe zu isolieren, *Campylobacter* spp. sogar in 63 (50,8 %) der Betriebe. Die isolierten Salmonellen gehörten den Serovaren *Salmonella* Typhimurium (n = 11) und *Salmonella* Enteritidis (n = 2) an. 56,9 % (n = 32) der *Campylobacter*-Isolate wurden als *Campylobacter jejuni* und nur 43,2 % (n = 42) als *Campylobacter coli* typisiert. In insgesamt acht Betrieben (22,9 %), die einmalig Kotproben geschickt hatten, wurden *Campylobacter* spp. und in einem weiteren (2,9 %) Betrieb Salmonellen nachgewiesen. In Betrieben, die zweimal Kotproben zur Untersuchung eingesandt hatten, wurden in 21 Fällen (52,5 %) *Campylobacter* spp. und in einem (2,5 %) Fall zusätzlich *Salmonella* spp. gefunden. In Betrieben, die im Rahmen von Betriebsbesichtigungen beprobt wurden, waren *Campylobacter* spp. in insgesamt 34 (69,4 %) Fällen, und Salmonellen in insgesamt elf (22,4 %) Fällen zu isolieren. In neun (18,4 %) Betrieben waren beide Erregergruppen vorhanden, und in nur 13 (26,5 %) Betrieben waren weder *Campylobacter* spp. noch Salmonellen nachweisbar. Die Ergebnisse der kulturell-bakteriologischen Untersuchungen sind in **Tabelle 15** zusammengefasst.

Tabelle 15
Ergebnisse der kulturell-bakteriologischen Untersuchungen von Schweine-
kotproben auf Salmonellen und *Campylobacter* spp.

Nachweis von	Positive Betriebe (Anzahl und Anteil)					
	Probenentnahme durch Landwirt oder Ringberater				Eigene Probenentnahme	
	1 Sammelkotprobe ¹ (35 Betriebe = 100 %)		2 Sammelkotproben ² (40 Betriebe = 100 %)		Eigene Betriebsbesichtigungen ³ (49 Betriebe = 100 %)	
<i>C. jejuni</i>	4	11,4	5	12,5	15	30,6
<i>C. coli</i>	4	11,4	14	35,0	2	4,1
<i>C. jejuni</i> und <i>C. coli</i>	0	0,0	1	2,5	8	16,3
<i>S. Enteritidis</i>	1	2,9	0	0,0	0	0,0
<i>C. jejuni</i> und <i>S. Enteritidis</i>	0	0,0	0	0,0	1	2,0
<i>S. Typhimurium</i>	0	0,0	0	0,0	2	4,1
<i>C. jejuni</i> und <i>S. Typhimurium</i>	0	0,0	0	0,0	6	12,2
<i>C. coli</i> und <i>S. Typhimurium</i>	0	0,0	1	2,5	0	0,0
<i>C. jejuni</i> , <i>C. coli</i> und <i>S. Typhimurium</i>	0	0,0	0	0,0	2	4,1
<i>C. jejuni</i> , <i>C. coli</i> oder / und <i>S. Typhimurium</i> , <i>S. Enteritidis</i>	9	25,7	21	52,5	36	73,4

Erläuterungen: (1: Einmalige Untersuchung. Eine Sammelkotprobe wurde aus 10 Einzelkotproben zusammengestellt. (2: Probenentnahmen zu zwei verschiedenen Zeitpunkten (3: Bei der Besichtigung eines Betriebes wurden mindestens zwei Sammelkotproben, bestehend aus jeweils zehn Einzelkotproben, entnommen.

3.2.2 Nachweis von Antikörpern gegen Salmonellen mit dem SALMOTYPE[®]-ELISA bei Schlachtschweinen in Baden-Württemberg

Gesamtzahl und -anteil seropositiver Schlachtschweine

Zur Ermittlung der Seroprävalenz von Salmonellen-Infektionen bei Schweinen in Baden-Württemberg wurden im Zeitraum von Oktober 2001 bis Juli 2004 insgesamt 30.090 Fleischsaftproben aus 291 Betrieben, die dem Landeskontrollverband (LKV) Baden-Württemberg angeschlossen waren, mit dem SALMOTYPE[®]-ELISA auf *Salmonella*-LPS-Antikörper untersucht. Die Fleischproben wurden auf dem Schlachthof von frisch geschlachteten Schweinen durch das Schlachthofpersonal entnommen. Insgesamt reagierten 1.226 Tiere (4,1 %) serologisch positiv. Quartalsweise lag der Anteil positiver Reagenten zwischen 1,5 % und 5,5 % (Mittelwert 3,8 %). Bei den Untersuchungen konnten keine an die Jahreszeit gebundenen Schwankungen der Ergebnisse festgestellt werden. Der niedrigste gemessene Titer lag bei 0 OD % und der höchste bei 232 OD %. Die **Tabelle 16** zeigt eine quartalsweise Zusammenfassung der Ergebnisse.

Tabelle 16

Nachweis von Antikörpern gegen Salmonella-LPS in Fleischsaftproben von Schlachtschweinen aus Baden-Württemberg im Zeitraum vom 01.10.2001 bis 30.07.2004

Jahr	Quartal	Anzahl der Fleischsaftproben				Titer in OD %			
		getestet	serologisch Salmonella-positiv	Anteil [%]	\bar{x}	Stabw.	Min.	Median	Max.
2001	IV	526	8	1,5	10,4	9,4	1,3	7,3	93,8
2002	I	1.443	72	5,0	12,3	16,7	0,2	7,5	186,7
2002	II	2.730	118	4,3	11,6	14,6	1,0	7,1	138,0
2002	III	3.152	72	2,3	8,9	11,2	0,4	5,8	139,7
2002	IV	3.485	137	3,9	11,8	14,5	0,5	7,6	232,0
2003	I	3.136	172	5,5	15,3	13,7	1,0	11,2	119,3
2003	II	3.200	129	4,0	12,2	13,8	0,0	7,9	135,3
2003	III	3.518	192	5,5	14,2	16,3	0,9	9,4	149,1
2003	IV	3.808	131	3,4	12,7	12,9	0,5	9,1	131,0
2004	I	1.640	34	2,1	11,4	10,7	0,1	8,3	126,8
2004	II	2.667	138	5,2	12,8	14,9	0,0	8,0	118,1
2004	III ⁽¹⁾	785	23	2,9	10,1	11,2	1,1	7,1	106,6
Gesamt		30.090	1.226		10,1	11,2	4,1		

Erläuterungen: (1): Quartal 2004 / III beinhaltet nur den Juli. **Min.:** Minimum. **Max.:** Maximum.

Stabw.: Standardabweichung. \bar{x} : arithmetischer Mittelwert

Innerbetriebliche Durchschnittstiter

Der in jedem Betrieb ermittelte durchschnittliche Titer aller getesteten Tiere (Innerbetrieblicher Durchschnittstiter) schwankte von Betrieb zu Betrieb. **Abbildung 2** gibt eine Häufigkeitsverteilung der 291 Betriebe nach ihrem Innerbetrieblichen Durchschnittstiter wieder, wenn alle in einem Betrieb untersuchten Proben bei der Berechnung berücksichtigt werden. Bei der Auswertung wurde deutlich, dass bei 227 (78 %) Betrieben der Innerbetriebliche Durchschnittstiter unter 15 OD % lag.

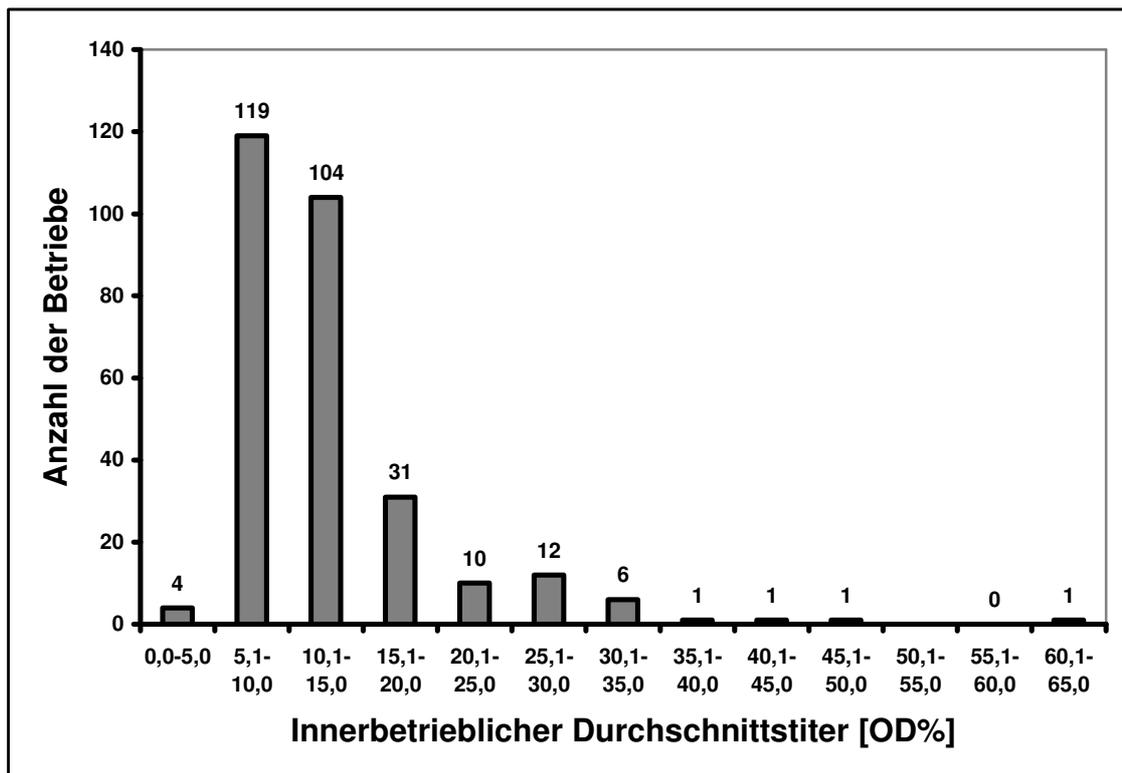


Abbildung 2
Häufigkeitsverteilung schweinehaltender Betriebe in Baden-Württemberg nach ihrem Innerbetrieblichen Durchschnittstiter gegen *Salmonella*-LPS.

Bei der Titerberechnung wurden die im SALMOTYPE®-ELISA ermittelten Ergebnisse von allen untersuchten Fleischsaftproben der 291 Betriebe berücksichtigt.

Kategorisierung der Betriebe anhand der ELISA-Ergebnisse von allen Fleischsaftproben

Die Entwürfe der Schweine-Salmonellen-Verordnung zielen alle darauf ab, den Salmonellen-Status der schweinehaltenden Betriebe anhand des Anteils serologisch positiver Schlachtschweine in jedem Betrieb zu bewerten. Dieser Anteil soll, gemäß dem Entwurf der „Schweine-Salmonellen-Verordnung“, als gleitendes Mittel über zwölf Monate bestimmt werden. Um einen Überblick über die Gesamtsituation im Untersuchungszeitraum, bezüglich des Anteils serologisch positiver Schlachtschweine pro Betrieb zu erhalten, wurden alle im gesamten Untersuchungszeitraum ermittelten Probenergebnisse zur Auswertung herangezogen. Der Schlüssel zur Einstufung der Betriebe in die Kategorien 0, I, II und III entsprach dem Entwurf der Schweine-Salmonellen-Verordnung vom 20.04.2005.

Seropositive Schlachtschweine waren in insgesamt 201 der 291 untersuchten Betriebe (69,1 %) nachzuweisen. Der Anteil serologisch positiver Schlachtschweine lag bei 275 (94,5 %) Betrieben bei maximal 20 %. Davon waren 90 (32,7 %) Betriebe in die Kategorie 0 (keine seropositiven Tiere) einzustufen, und 185 Betriebe in Kategorie I (maximal 20 % seropositive Proben). Der Anteil seropositiver Tiere an ihren jeweiligen Schlachtlieferungen war somit meist geringgradig. Zwölf Betriebe (4,1 %) fielen in Kategorie II. Insgesamt vier Betriebe (1,4 %) wurden mit einer Quote von über 40 % in Kategorie III eingestuft (**Abbildung 3**). Die hier dargelegte Kategorisierung erfolgte allerdings unter dem Vorbehalt, dass im Gegensatz zu den Vorschriften der Schweine-Salmonellen-Verordnung erstens die Daten von sämtlichen im 34-monatigen Beprobungszeitraum gezogenen Fleischsaftproben zugrunde gelegt wurden und zweitens auch Betriebe berücksichtigt wurden, die die jährlich geforderte Anzahl an Stichproben (Stichproben-Soll) nicht erbrachten.

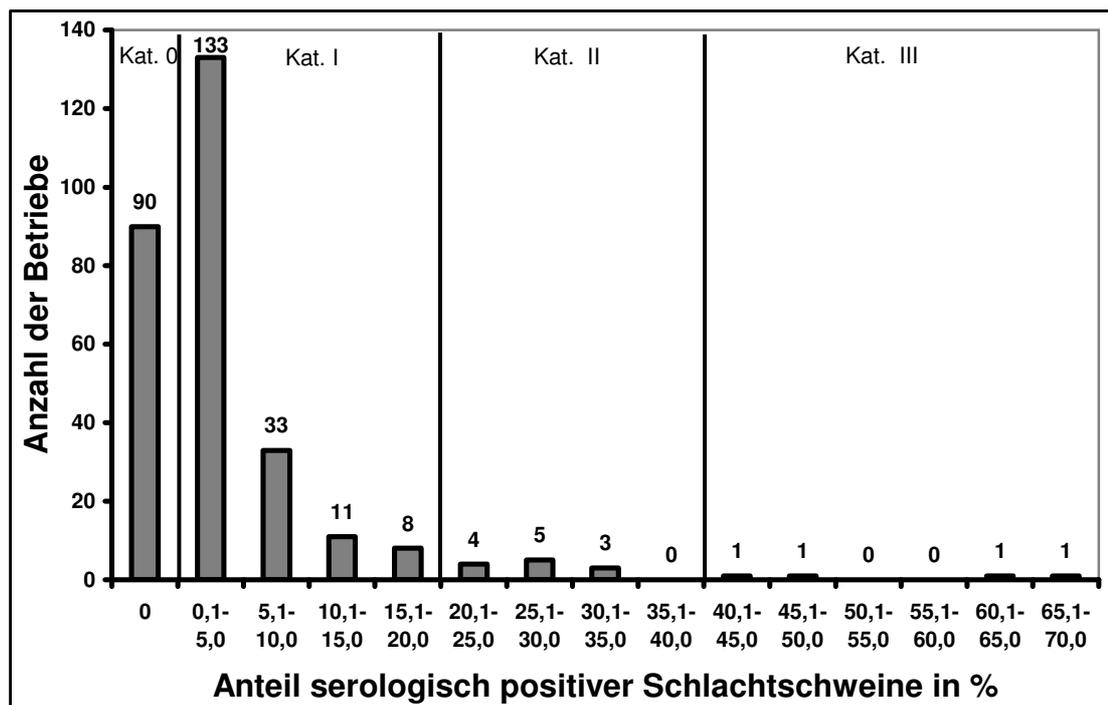


Abbildung 3
Häufigkeitsverteilung von schweinehaltenden Betrieben in Baden-Württemberg nach dem Anteil serologisch positiver Schlachtschweine pro Betrieb.

In die Auswertung wurden alle 291 Betriebe und die Ergebnisse von allen im ganzen Untersuchungszeitraum im SALMOTYPE®-ELISA untersuchten Fleischsaftproben einbezogen (Kategorisierung nach Schweine-Salmonellen-Verordnung im Entwurf vom 20.04.2005).

Kategorisierung der Betriebe anhand der ELISA-Ergebnisse von Fleischsaftproben des ersten erfüllten Stichproben-Solls

Bei strikter Anwendung der Vorschriften der Schweine-Salmonellen-Verordnung auf die Datensätze der vorliegenden Arbeit, verschob sich die Häufigkeitsverteilung zugunsten der Kategorie-0-Betriebe. Von den 291 untersuchten Betrieben lieferten 200 Betriebe im Untersuchungszeitraum wenigstens einmal die von ihnen pro zwölf Monate geforderte Anzahl an Fleischsaftproben (erfülltes Stichproben-Soll). Legt man die ELISA-Ergebnisse derjenigen Proben zugrunde, die jeweils das erste erfüllte Stichproben-Soll dieser 200 Betriebe repräsentieren, dann ergibt sich die in **Abbildung 4** gezeigte Verteilung: 99 Betriebe (49,5 %) fielen in Kategorie 0, 92 Betriebe (46 %) in Kategorie I, acht Betriebe (4 %) in Kategorie II und nur noch ein Betrieb (0,5 %) in Kategorie III.

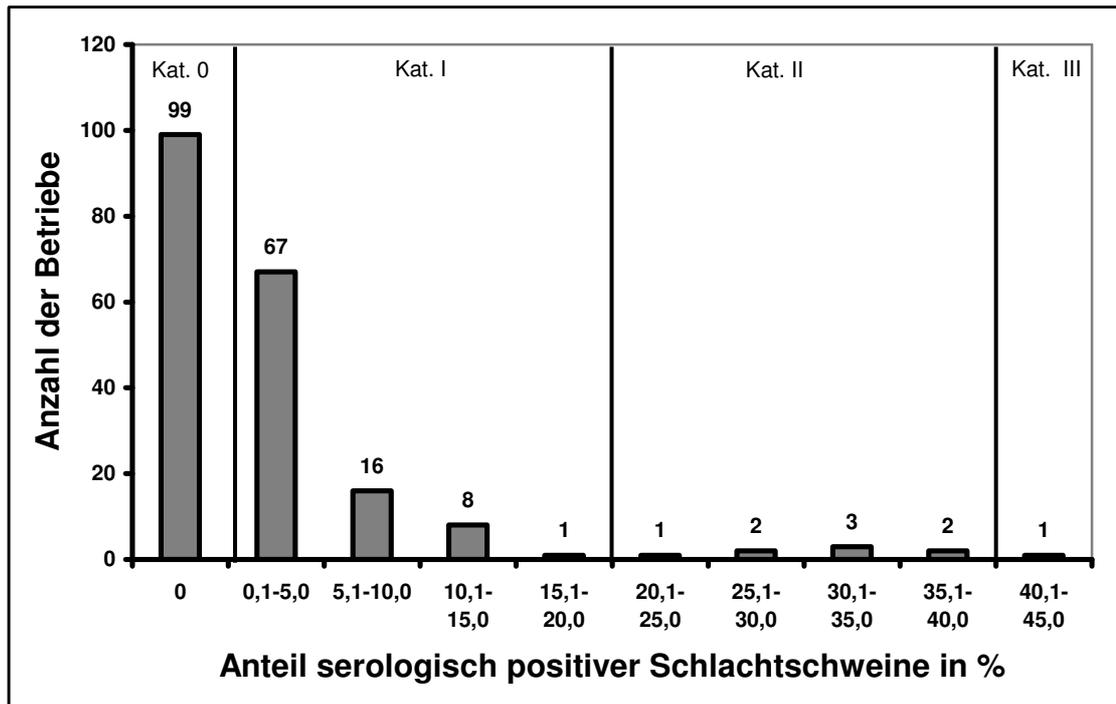


Abbildung 4

Häufigkeitsverteilung von 200 schweinehaltenden Betrieben in Baden-Württemberg nach dem Anteil serologisch positiver Schlachtschweine pro Betrieb.

In die Auswertung wurden nur diejenigen 200 Betriebe einbezogen, die das geforderte Stichproben-Soll erfüllt hatten. Ferner wurden nur die SALMOTYPE®-ELISA-Ergebnisse derjenigen Fleischsaftproben berücksichtigt, die das erste erfüllte Stichproben-Soll repräsentierten (Kategorisierung nach Schweine-Salmonellen-Verordnung im Entwurf vom 20.04.2005).

In **Abbildung 5** ist die Häufigkeitsverteilung für diejenigen 91 Betriebe dargestellt, die das von ihnen geforderte Stichproben-Soll, in Bezug auf die Schweine-Salmonellen-Verordnung, zu keiner Zeit des Untersuchungszeitraumes erfüllt hatten, weshalb die Meßergebnisse von allen bei ihnen gezogenen Fleischsaftproben herangezogen wurden. 43 Betriebe (47,3 %) wären in die Vorzugskategorie 0 und 39 Betriebe in Kategorie I (42,9 %) eingestuft worden. Fünf Betriebe (5,5 %) fielen in Kategorie II und vier weitere Betriebe (4,3 %) in Kategorie III. Diese Kategorisierung gilt unter dem Vorbehalt, dass die hierzu erforderliche Stichprobenzahl eigentlich nicht erbracht worden war.

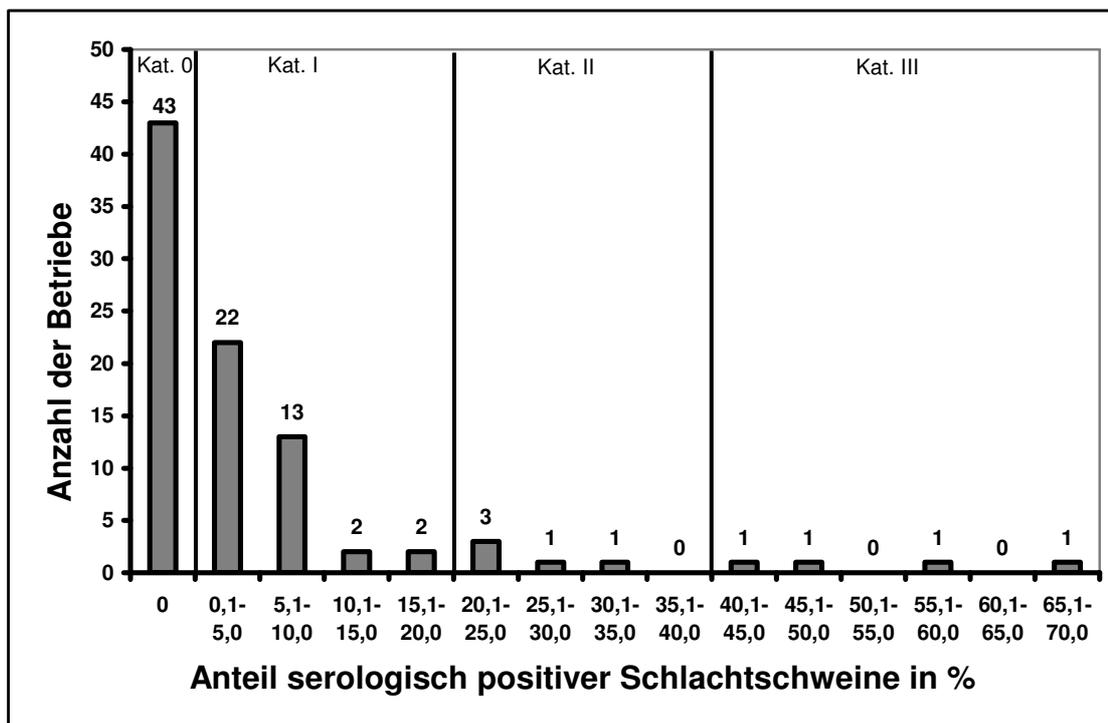


Abbildung 5
Häufigkeitsverteilung von 91 schweinehaltenden Betrieben in Baden-Württemberg nach dem Anteil serologisch positiver Schlachtschweine pro Betrieb.

In die Auswertung wurden nur diejenigen 91 Betriebe einbezogen, die das geforderte Stichproben-Soll zu keiner Zeit erfüllt hatten. Es wurden die SALMOTYPE®-ELISA-Ergebnisse aller Fleischsaftproben berücksichtigt, die von diesen Betrieben gezogen worden waren (Kategorisierung nach Schweine-Salmonellen-Verordnung im Entwurf vom 20.04.2005).

Einfluss des Stichprobenumfanges auf das Ergebnis der Betriebskategorisierung

Es sollte geprüft werden, inwieweit die Kategorisierung von der Anzahl der dazu berücksichtigten Stichproben abhing. Je Betrieb wurde hierzu zunächst diejenige Kategorie ermittelt, die sich aus den Ergebnissen für das erste erfüllte Stichproben-Soll ergab. Einige Betriebe lieferten in dem 12-Monatszeitraum, in dem sie die Proben für dieses erste Stichproben-Soll abgaben, noch zusätzliche Proben. Deshalb wurde für diese Betriebe eine zweite Kategorisierung vorgenommen, wobei die Messergebnisse für alle in diesem 12-Monatszeitraum gezogenen Proben berücksichtigt wurden.

Tabelle 17 zeigt eine detaillierte Zusammenfassung der Resultate.

Je nachdem wieviele Stichproben man berücksichtigte, wurden insgesamt 20 (10 %) der 200 Betriebe unterschiedlich kategorisiert. Die Unterschiede betragen jeweils eine Kategoriestufe. So wurden 99 Betriebe anhand des ersten erfüllten Stichproben-Solls in Kategorie 0 eingestuft. Von ihnen blieben 86 Betriebe auch bei der Berücksichtigung

aller Proben des entsprechenden 12-Monatszeitraums in Kategorie 0, 13 Betriebe fielen in Kategorie I. Von den 92 Kategorie-I-Betrieben verschlechterten drei ihre Einstufung um eine Kategorie. Von den acht Kategorie-II-Betrieben anhand des ersten erfüllten Stichproben-Solls verbesserte sich ein Betrieb in Kategorie I, während fünf Betriebe in Kategorie II blieben und zwei sich in Kategorie III verschlechterten. Der einzige Kategorie-III-Betrieb verbesserte sich durch die Berücksichtigung aller Proben in Kategorie II.

Dynamik der Betriebskategorisierung im Untersuchungszeitraum

Alle Entwürfe der Schweine-Salmonellen-Verordnung sehen vor, dass Schlachtschweine-liefernde Betriebe alle drei Monate erneut zu kategorisieren sind, wobei dann immer wieder die Messergebnisse der jeweils 12 zurückliegenden Monate zu berücksichtigen sind. Inwieweit sich die Kategorie eines Betriebes dabei dynamisch ändert, wurde anhand der 200 kategorisierbaren Betriebe in der vorliegenden Studie näher untersucht. Bei dieser Analyse wurde jeweils von derjenigen Kategorie ausgegangen, die sich unter Berücksichtigung aller Proben des 12-Monatszeitraumes ergab, in dem der Betrieb sein erstes Stichproben-Soll erfüllte. Es galt immer derjenige Monatserste als Stichtag, an dem das erste erfüllte Stichproben-Soll und die jeweilige 12-Monats-spanne erfüllt waren. Ab diesem Tag wurde, für jeden Betrieb individuell, alle drei Monate neu kategorisiert, wobei alle Proben der jeweils vorhergehenden 12 Monate zur Beurteilung herangezogen wurden. Die **Tabelle 18** gibt zu dem Aspekt "Dynamik der Betriebskategorisierung im gesamten Untersuchungszeitraum" einen detaillierten Überblick.

Von den 200 Betrieben behielten 150 (75 %) ihre Kategorie im gesamten Untersuchungszeitraum bei, 50 (25 %) Betriebe änderten ihre Kategorie. 26 Betriebe verschlechterten sich von Kategorie 0 zu I, wobei ein Betrieb nach 6 Monaten wieder besser eingestuft wurde. 18 Kategorie-I-Betriebe verbesserten sich zu Kategorie 0, wovon fünf im Verlauf der Zeit aber erneut zur schlechteren Kategorie I abzuwerten waren. Nur ein Kategorie-I-Betrieb wechselte zu Kategorie II. Von den vier Kategorie-II-Betrieben, die im Untersuchungszeitraum ihre Kategorie wechselten, verbesserten sich drei in Kategorie I, ein Betrieb stieg in Kategorie III ab. Einer der beiden Kategorie-III-Betriebe wechselte zu Kategorie II, während der andere seine Einstufung nicht verbessern konnte.

Tabelle 17

Kategorisierung von schweinehaltenden Betrieben nach dem Anteil seropositiver Schlachtschweine: Abhängigkeit der Kategorie von der Anzahl der dazu berücksichtigten Stichproben.

Bei der Berechnung wurden nur die Ergebnisse der 200 kategorisierbaren Betriebe berücksichtigt (Ergebnisse der Fleischsaftproben im SALMOTYPE®-ELISA).

Kategorie		Anzahl der Betriebe	Anteil [%] ⁽³⁾
gemäß Ergebnissen des Stichprobensolls ⁽¹⁾	gemäß Ergebnissen aller Stichproben ⁽²⁾		
0	0	86	43
	I	13	6,5
	II	0	0
	III	0	0
	Summe	99	49,5
I	0	0	0
	I	89	44,5
	II	3	1,5
	III	0	0
	Summe	92	46
II	0	0	0
	I	1	0,5
	II	5	2,5
	III	2	1
	Summe	8	4
III	0	0	0
	I	0	0
	II	1	0,5
	III	0	0
	Summe	1	0,5

Erläuterungen: (1: Stichproben des ersten erfüllten Stichproben-Solls eines Betriebs. (2: Alle Stichproben im 12-Monatszeitraum des ersten erfüllten Stichproben-Solls (3: Anteile der Betriebe jeweils auf die Gesamtzahl von 200 Betrieben bezogen.

Tabelle 18

Dynamik der Betriebskategorisierung im gesamten Untersuchungszeitraum

Bei der Berechnung wurden alle Ergebnisse der 200 kategorisierbaren Betriebe berücksichtigt (Ergebnisse der Fleischsaftproben im SALMOTYPE®-ELISA).

Veränderung gegenüber der ersten Kategorisierung	Anzahl der Betriebe			
	Ergebnis der ersten Kategorisierung ⁽¹⁾			
	Kat. 0	Kat. I	Kat. II	Kat. III
keine	60	-	-	-
	-	84	-	-
	-	-	5	-
	-	-	-	1
0→1	4	-	-	-
0→0→1	2	-	-	-
0→0→0→1	1	-	-	-
0→0→0→0→1	2	-	-	-
0→0→0→0→0→0→1	3	-	-	-
0→1→1→1→1	1	-	-	-
0→0→1→1	2	-	-	-
0→0→1→1→1	1	-	-	-
0→0→1→1→1→1	3	-	-	-
0→0→1→1→1→1→1	1	-	-	-
0→0→0→1→1	1	-	-	-
0→0→0→1→1→1	2	-	-	-
0→0→0→1→1→1→1	1	-	-	-
0→0→0→0→1→1	1	-	-	-
0→1→1→0→0	1	-	-	-
1→0	-	1	-	-
1→0→0	-	1	-	-
1→0→0→0	-	1	-	-
1→0→0→0→0	-	1	-	-
1→0→1	-	1	-	-
1→0→0→0→0→1	-	1	-	-
1→0→1→1→1	-	1	-	-
1→1→0→0	-	3	-	-
1→1→0→1	-	1	-	-
1→1→1→0	-	1	-	-
1→1→1→0→0	-	2	-	-
1→1→1→1→0→0	-	1	-	-
1→1→1→1→0→0→0→0	-	1	-	-
1→1→1→1→0→1→1	-	1	-	-
1→1→1→1→2	-	1	-	-
1→1→1→1→1→0→0→0	-	1	-	-
2→1→1→1	-	-	1	-
2→2→1→1→1→1	-	-	1	-
2→2→3	-	-	1	-
2→2→2→1	-	-	1	-
3→2	-	-	-	1
Summe	86	103	9	2

Erläuterungen: (1: Anhand aller Stichproben im 12-Monatszeitraum des ersten erfüllten Stichproben-Solls.

3.2.3 Gegenüberstellung der kulturell-bakteriologischen und der serologischen Ergebnisse in baden-württembergischen Schweinemastbetrieben

Zur Prüfung des Zusammenhangs zwischen der serologisch begründeten Kategorisierung und dem kulturell-bakteriologischen Nachweis von Salmonellen und *Campylobacter* spp. wurden die Ergebnisse der sowohl kulturell-bakteriologisch als auch serologisch untersuchten Betriebe miteinander verglichen (**Tabelle 19**). Dabei zeigte sich, dass es in jeder Kategorie Betriebe gab, in denen mit Salmonellen- und / oder *Campylobacter*-infizierte Schweine nachweisbar waren. Tendenziell waren die Anteile *Salmonella*-positiver Betriebe umso größer, je höher die Kategorie war, in die die Betriebe aufgrund der serologischen Ergebnisse eingestuft worden waren. Von den insgesamt 124 untersuchten Betrieben wurden 44 (35,5 %) in Kategorie 0 eingestuft, davon waren zwei (4,5 %) Betriebe *Salmonella*-positiv, in 20 (45,5 %) der Betriebe ließen sich *Campylobacter* nachweisen. In Kategorie I wurden 50 (40,3 %) Betriebe eingestuft, davon waren insgesamt sechs (12 %) *Salmonella*- und 28 (56 %) *Campylobacter*-positiv. Fünf (4 %) Betriebe fielen in Kategorie II, in einem dieser Betriebe (20 %) ließen sich Salmonellen aus den Kotproben isolieren zudem waren vier (80 %) der Betriebe *Campylobacter*-positiv. Ein Betrieb fiel in Kategorie III und war sowohl *Salmonella*- als auch *Campylobacter*-positiv. Mit Hilfe des exakten Wilcoxon-Mann-Whitney-Tests konnte der Zusammenhang zwischen der Kategorie eines Betriebes und dem tatsächlichen Vorkommen von Salmonellen als statistisch signifikant gesichert werden ($p = 0,040$). Das heißt, dass im Mittel bei Betrieben mit kulturell-bakteriologisch positiven *Salmonella*-Befunden häufiger schlechtere Kategorien beobachtet wurden. Bezüglich des *Campylobacter*-Nachweises und der Kategorisierung konnte kein signifikanter Zusammenhang festgestellt ($p = 0,10$) werden. 24 Betriebe waren aufgrund des zu geringen Stichprobenumfangs serologisch nicht kategorisierbar, in 12,5 % bzw. 41,7 % dieser Betriebe wurden ebenfalls Salmonellen- und / oder *Campylobacter*-infizierte Schweine gefunden.

Tabelle 19

Zusammenhang zwischen der serologisch begründeten Kategorisierung und dem kulturell-bakteriologischen Nachweis von *Salmonellen* und *Campylobacter* spp. in diesen schweinehaltenden Betrieben

Kategorie	Anzahl der Betriebe												
	Probenentnahme durch Ringberater oder Landwirt				eigene Probenentnahmen				Gesamt				
	1 Sammelkotprobe		2 (1 Sammelkotproben		unter- sucht	S. positiv	C. positiv	unter- sucht	S. positiv	C. positiv	unter- sucht	S. positiv	C. positiv
0	10	0	2	19	1	8	15	1	10	44	2	20	(4,5%) (45,5%)
I	9	0	3	15	0	8	26	6	17	50	6	28	(12%) (56%)
II	2	0	1	0	0	0	3	1	3	5	1	4	(20%) (80%)
III	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	(100%) (100%)
Stichproben- Soll nicht erfüllt, daher nicht kategorisiert	14	1	2	6	0	5	4	2	3	24	3	10	(12,5%) (41,7%)
[gesamt]	35	1 (2,9%)	8 (22,9%)	40 (114,3%)	1 (2,5%)	21 (52,5%)	49 (139,7%)	11 (22,4%)	34 (69,4%)	124 (353,7%)	13 (10,5%)	63 (50,8%)	(10,5%) (50,8%)

Erläuterungen: (1: Entnahme an verschiedenen Tagen. S.: *Salmonella*. C.: *Campylobacter* spp.

3.2.4 Zusammenhang zwischen Betriebsparametern und der Häufigkeit von Salmonellen und *Campylobacter* spp. bzw. Antikörpern gegen Salmonellen in Schweinemastbetrieben in Baden-Württemberg

Mit Hilfe einer multiplen logistischen Regression wurde zunächst geprüft, ob es einen statistischen Zusammenhang zwischen den kulturell-bakteriologisch ermittelten Ergebnissen und dem Produktionstyp oder der Betriebsgröße gab. Von den reinen Mastbetrieben waren 7,9 % *Salmonella*-positiv, während diese Quote bei den kombinierten Betrieben fast doppelt so hoch war (14,6 %). In der *Campylobacter*-Quote unterschieden sich beide Produktionstypen nur wenig. 52,6 % der reinen Mastbetriebe waren *Campylobacter*-positiv, bei den kombinierten Betrieben lag die *Campylobacter*-Quote bei 47,9 %. Nach Anzahl der Mastplätze schwankte der prozentuale Anteil *Salmonella*-positiver Betriebe zwischen 0 % und 16,7 %, bei den *Campylobacter*-positiven Betrieben lag der Anteil zwischen 42,1 % und 91,7 % (**Tabelle 20**). Ein statistisch signifikanter Zusammenhang konnte insgesamt aber nur zwischen dem Nachweis von *Campylobacter coli* und der Betriebsgröße gesichert werden (Signifikanzschwelle: 0,05). Je größer ein Betrieb war, umso häufiger wurden positive *C. coli*-Befunde ($p = 0,043$) erhoben. Im Durchschnitt stieg die Chance eines positiven Befundes von Betriebsgrößenklasse zu Betriebsgrößenklasse um den Faktor 1,4.

Tabelle 20
Verteilung der Betriebe hinsichtlich der Betriebsparameter Produktionstyp und Betriebsgröße im Hinblick auf die Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchung auf *Salmonella* spp. und *Campylobacter* spp.

Betriebsparameter		Anzahl der Betriebe			
		untersucht	<i>Salmonella</i> -positiv	<i>Campylobacter</i> -positiv	<i>C. coli</i> -positiv
Produktionstyp	nur Mast	76	6 (7,9 %)	40 (52,6 %)	20 (26,3 %)
	Erzeugung und Mast	48	7 (14,6 %)	23 (47,9 %)	12 (25,0 %)
Betriebsgröße (nach Anzahl der Mastplätze)	< 250 MP	19	1 (5,3 %)	8 (42,1 %)	3 (15,8 %)
	250 – 500 MP	46	5 (10,9 %)	21 (45,7 %)	13 (28,3 %)
	501 – 750 MP	33	4 (12,1 %)	15 (45,5 %)	5 (15,2 %)
	751 -1.000 MP	10	1 (10,0 %)	5 (50,0 %)	1 (10,0 %)
	1.001 – 1500 MP	12	2 (16,7 %)	11 (91,7 %)	9 (75,0 %)
	> 1500 MP	4	0 (0,0 %)	3 (75,0 %)	1 (25,0 %)

Erläuterungen: MP: Mastplätze

Betrachtete man nur die 49 von mir selbst besichtigten Betriebe hinsichtlich der oben genannten Variablen ließ sich kein signifikanter Einfluss feststellen.

Danach wurde dann auch in ähnlicher Art und Weise geprüft, ob es einen statistisch fassbaren Zusammenhang zwischen bestimmten betrieblichen Eigenschaften und den Ergebnissen der Betriebe bei der serologischen Prüfung (hier: Anteil serologisch positiver Schlachtschweine pro Betrieb) gab. In **Tabelle 21** ist der durchschnittliche Anteil serologisch positiver Schlachtschweine pro Betrieb nach den verschiedenen Betriebsparametern aufgeschlüsselt, wobei für diese Daten alle untersuchten Fleischsaftproben aus allen 291 untersuchten Betrieben berücksichtigt wurden. Die Datengrundlage für die **Tabelle 22** bildete dagegen die ELISA-Ergebnisse aller Fleischsaftproben aus denjenigen 200 Betrieben, die wenigstens einmal Stichproben in dem von der Schweine-Salmonellen-Verordnung (Entwurf vom 20.04.2005) geforderten Umfang geliefert hatten. Da der Anteil serologisch positiver Schlachtschweine pro Betrieb keiner Normalverteilung folgte, sondern einer rechtsschiefen Verteilung, wurde zur statistischen Analyse eine logarithmische Transformation der Daten durchgeführt.

Bei der mehrfaktoriellen parametrischen Auswertung (Kovarianzanalyse ohne Wechselwirkungen) ließ sich sowohl bei allen 291 untersuchten Betrieben als auch bei den 200 Betrieben, die das Stichproben-Soll erfüllt hatten, ein signifikant positiver Zusammenhang mit der Serologie nur für die Betriebsgröße feststellen ($p = 0,0002$ bzw. $p = 0,0338$). Der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman (r_s) lag bei 0,192 für alle 291 Betriebe und bei 0,168 für die 200 kategorisierbaren Betriebe. Auch die einfaktorielle nicht parametrische Auswertung (Kruskal-Wallis-Test) ergab nur für die Betriebsgröße eine signifikant positive Korrelation zum Anteil positiver Schlachtschweine pro Betrieb ($p = 0,01$ bei allen 291 Betrieben; $p = 0,05$ bei den 200 kategorisierbaren Betrieben).

Tabelle 21

Anteil serologisch positiver Schlachtschweine pro Betrieb in Abhängigkeit von verschiedenen Betriebsparametern.

Bei der Berechnung wurden die Ergebnisse im SALMOTYPE®-ELISA von allen untersuchten Fleischsaftproben der 291 Betriebe berücksichtigt.

Betriebsparameter		Anzahl der getesteten Betriebe	seropositive Schlachtschweine pro Betrieb [%]		p-Wert	
			MW	STABW	KW-Test	MFP-Test
Produktionstyp	nur Mast	179	4,2	8,2	0,76	0,71
	Erzeugung und Mast	112	5,2	9,5		
Betriebsgröße	< 250 MP	49	3,0	5,3	0,01	0,0002
	250 – 500 MP	127	4,4	8,6		
	501 – 750 MP	63	4,0	6,4		
	751 -1.000 MP	30	5,2	8,4		
	1.001 – 1500 MP	17	8,6	15,4		
	> 1500 MP	5	17,1	16,6		
Ferkelherkunft	eigener Betrieb	110	5,3	9,6	0,19	0,70
	ein anderer Betrieb	128	3,8	8,3		
	mehrere and. Betriebe	53	5,1	7,5		
Belegung	rein - raus	40	6,0	9,8	0,16	0,24
	kontinuierlich	251	4,4	8,5		
Reinigung und Desinfektion (RD)	RD regelmäßig	73	3,1	4,0	0,98	0,46
	RD unregelmäßig	90	5,2	9,9		
	nur R	93	5,2	10,4		
	keine RD	35	4,4	7,3		
Boden	Teilspalten	63	3,9	9,3	0,26	0,60
	Vollspalten	172	5,2	9,2		
	Stroheinstreu	37	3,6	6,7		
	gemischt	19	3,7	5,0		
Heizung	mit	95	5,5	10,6	0,91	0,40
	ohne	196	4,2	7,6		
Lüftung	mit	234	4,8	9,2	0,84	0,97
	ohne	57	3,7	6,2		
Futterherkunft	eigener Betrieb	258	4,6	8,7	0,85	0,93
	Handel	33	4,7	8,7		
Fütterungstechnik	trocken	54	5,1	9,9	0,78	0,31
	flüssig	219	4,6	8,7		
	gemischt	18	3,6	4,9		
Futterzuteilung	rationiert	120	5,3	11,2	0,68	0,89
	ad libitum	154	4,2	6,5		
	gemischt	17	3,8	5,7		

Erläuterungen: **KW-Test:** Kruskal-Wallis-Test. **MFP-Test:** mehrfaktorielle parametrische Auswertung. **MW:** Mittelwert. **STABW:** Standardabweichung

Tabelle 22

Anteil serologisch positiver Schlachtschweine pro Betrieb in Abhängigkeit von verschiedenen Betriebsparametern

In die Auswertung wurden die SALMOTYPE®-ELISA-Ergebnisse aller Fleischsaftproben aus denjenigen 200 Betrieben einbezogen, die das geforderte Stichproben-Soll wenigstens einmal erfüllt hatten.

Betriebsparameter		Anzahl der getesteten Betriebe	seropositive Schlachtschweine pro Betrieb [%]		p-Wert	
			MW	STABW	KW-Test	MFP-Test
Produktionstyp	nur Mast	123	3,9	5,7	0,63	0,59
	Erzeugung und Mast	77	4,5	8,2		
Betriebsgröße	< 250 MP	32	3,1	5,5	0,05	0,03
	250 – 500 MP	79	4,1	7,6		
	501 – 750 MP	51	4,3	6,2		
	751 -1.000 MP	23	3,8	7,4		
	1.001 – 1500 MP	12	5,7	5,6		
	> 1500 MP	3	8,5	2,9		
Ferkelherkunft	eigener Betrieb	75	4,5	8,3	0,46	0,77
	ein anderer Betrieb	88	3,5	5,1		
	mehrere and. Betriebe	37	4,9	6,8		
Belegung	rein - raus	26	4,8	6,9	0,32	0,74
	kontinuierlich	174	4,0	6,8		
Reinigung und Desinfektion (RD)	RD regelmäßig	50	3,5	4,3	0,69	0,81
	RD unregelmäßig	56	4,1	7,3		
	nur R	67	4,6	7,5		
	keine RD	27	4,0	7,5		
Boden	Teilspalten	40	3,3	5,4	0,33	0,65
	Vollspalten	120	4,8	7,8		
	Stroheinstreu	27	2,9	4,5		
	gemischt	13	3,1	2,4		
Heizung	mit	66	5,0	8,5	0,90	1,00
	ohne	134	3,7	5,8		
Lüftung	mit	156	4,4	7,3	0,40	0,64
	ohne	44	3,0	4,4		
Futterherkunft	eigener Betrieb	172	4,0	6,3	0,65	0,96
	Handel	28	5,0	9,3		
Fütterungstechnik	trocken	41	4,5	7,2	0,79	0,39
	flüssig	146	4,0	6,8		
	gemischt	13	4,2	5,5		
Futterzuteilung	rationiert	85	4,0	7,5	0,41	0,46
	ad libitum	101	4,2	6,3		
	gemischt	14	4,4	6,1		

Erläuterungen: **KW-Test:** Kruskal-Wallis-Test. **MFP-Test:** mehrfaktorielle parametrische Auswertung. **MW:** Mittelwert. **STABW:** Standardabweichung

Um zu prüfen, ob es auch einen statistisch fassbaren Einfluß der Betriebsgröße auf die serologisch fundierte Kategorisierung eines Betriebs gab, wurden die Betriebe in sechs Gruppen mit unterschiedlicher Mastplatzanzahl eingeteilt (< 250 MP, 250 – 500 MP, 501 – 750 MP, 1.001 – 1.500 MP, > 1.500 MP). Zur Festlegung der *Salmonella*-Belastungskategorie der Betriebe wurde der Bewertungsschlüssel nach **Tabelle 13** und die ELISA-Daten der Fleischsaftproben des jeweils ersten erfüllten Stichproben-Solls herangezogen. Von den Betrieben mit < 250 MP, 250 – 500 MP und 751 – 1.000 MP wurde jeweils der größte Anteil der Betriebe in Kategorie 0 eingestuft. Bei einer Betriebsgröße von 501 – 750 MP, 1.001 – 1.500 MP und > 1.500 MP lag der größte Anteil der Betriebe in Kategorie I. Der prozentuale Anteil an Betrieben der unterschiedlichen Kategorien in Bezug auf die jeweilige Betriebsgröße schwankte bei Kategorie 0 zwischen 0 % und 56 %, bei Kategorie I zwischen 39,1 % und 100 %, bei Kategorie II zwischen 0 % und 8,3 %, bei Kategorie III lag der Anteil zwischen 0 % und 2 % (**Tabelle 23**).

Da die Kategorie ordinal skaliert ist, wurde der statistische Zusammenhang zwischen der Betriebsgrößenklasse und der Kategorie mit Hilfe des Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman geprüft. Dieser betrug 0,084 und war bei einem p-Wert von 0,23 nicht signifikant verschieden von Null. Es konnte somit statistisch kein Zusammenhang zwischen der Betriebsgröße und den unterschiedlichen Kategorien nachgewiesen werden.

Tabelle 23
Kategorisierung anhand des ersten erfüllten Stichproben-Solls im SALMOTYPE®-ELISA von 200 schweinehaltenden Betrieben in Bezug auf die unterschiedlichen Betriebsgrößen

Mastplätze (Anzahl)	Anzahl der Betriebe				
	getestet	Kategorie 0	Kategorie I	Kategorie II	Kategorie III
< 250	32	16 (50,0%)	15 (46,9 %)	1 (3,1 %)	0 (0,0 %)
250 – 500	79	44 (55,7 %)	31 (39,2 %)	4 (5,1 %)	0 (0,0 %)
501 – 750	51	22 (43,1 %)	27 (52,9 %)	1 (2,0 %)	1 (2,0 %)
751 - 1.000	23	13 (56,0 %)	9 (39,1 %)	1 (4,3 %)	0 (0,0 %)
1.001 - 1.500	12	4 (33,3 %)	7 (58,3 %)	1 (8,3 %)	0 (0,0 %)
> 1.500	3	0 (0,0 %)	3(100,0 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)
Gesamt (n=200)	200	99 (49,5 %)	92 (46,0 %)	8 (4,0 %)	1 (0,5 %)

3.2.5 Präzision der Testergebnisse bei wiederholter Messung auf einer ELISA-Mikrotiterplatte (Intra-Plattenpräzision)

Um die Reproduzierbarkeit von Messwerten bei Mehrfachmessung einer Probe in demselben Testsystem zu überprüfen, wurden im SALMOTYPE[®]-ELISA (Verwendete Charge: 500S31), im Enterisol[®]-ELISA (Verwendete Charge: 2553HPD) und im HerdChek-ELISA (Verwendete Charge: 44100-3090) Versuche mit jeweils 36 Fleischsaftproben durchgeführt. Die Proben waren bereits im Vorfeld mit dem Pipettierroboter in Einzelbestimmung bearbeitet, und mit dem SALMOTYPE[®]-ELISA gemessen worden, sodass ihre Titer in diesem System bekannt waren. Sie wurden so ausgesucht, dass ihre Titer den Messbereich von < 5 OD % bis > 100 OD % im SALMOTYPE[®]-ELISA abdeckten. Aus technischen Gründen (begrenzte Proben volumina) konnten nicht in allen drei Testsystemen die gleichen 36 Proben untersucht werden. Die Fleischsaftproben wurden je fünfmal auf derselben Platte getestet. Für die fünf Einzelmesswerte wurden anschließend die durchschnittlichen Variationskoeffizienten, deren Standardabweichungen, Minima, Mediane und Maxima berechnet. Die Variationskoeffizienten der 36 in jedem System getesteten Fleischsaftproben sind in **Tabelle 24** zusammengefasst.

Laut Angaben der Firma Labor Diagnostik GmbH Leipzig liegt ein Variationskoeffizient von $\leq 20\%$ beim Intra-Plattenpräzisionstest im Toleranzbereich. In den Tests von Boehringer Ingelheim und IDEXX LABORATORIES ist der Variationskoeffizient tolerierbar, wenn er unter 10 % liegt. Im diagnostischen Routinebetrieb ist nach IDEXX LABORATORIES auch ein höherer Variationskoeffizient bis zu 20 % noch annehmbar. Die bei der vorliegenden Untersuchung ermittelten Variationskoeffizienten lagen bei allen Proben in allen drei Testsystemen unter dieser Toleranzschwelle.

Tabelle 24

Variationskoeffizienten bei der Fünffachmessung von jeweils 36 Fleischsaftproben zum Nachweis von *Salmonella*-LPS-spezifischen Antikörpern bei Schweinen (Intra-Plattenpräzision)

ELISA-System	laut Hersteller tolerierbar	Variationskoeffizient in %				
		aus eigenen Untersuchungen				
		Arithmetischer Mittelwert	STABW	Min.	Med.	Max.
SALMOTYPE®-ELISA	≤ 20	7,7	3,3	1,4	7,4	17,4
Enterisol®-ELISA	< 10	4,9	2,5	0,8	4,9	9,5
HerdChek-ELISA	< 10 / < 20 ⁽¹⁾	6,0	3,8	0,9	4,2	14,9

Erläuterungen: (1: im Routinebetrieb)

Die Abhängigkeit des Variationskoeffizienten vom Titer einer Probe wurde mit dem Programm BMDP6D einer Regressionsanalyse unterzogen. Bei allen drei Testsystemen bestand ein signifikanter Einfluß. Im SALMOTYPE®-ELISA und im HerdChek-ELISA war der Variationskoeffizient signifikant negativ mit der Titerhöhe korreliert ($p = 0,016$ bzw. $0,005$; siehe **Abbildungen 6** und **8**) im Enterisol®-ELISA signifikant positiv ($p = 0,027$; siehe **Abbildung 7**).

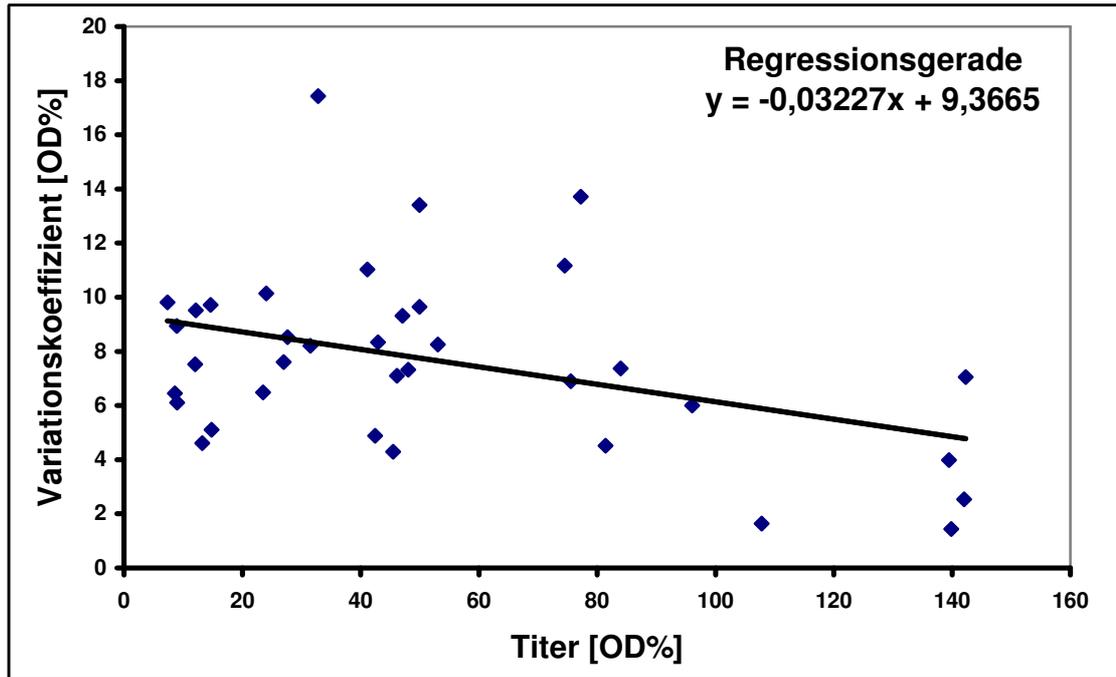


Abbildung 6
 Zusammenhang zwischen dem Mittelwert und dem Variationskoeffizient eines Titers bei der Fünffach-Messung von Fleischsaftproben (n = 36) auf derselben Platte.
 (SALMOTYPE®-ELISA)

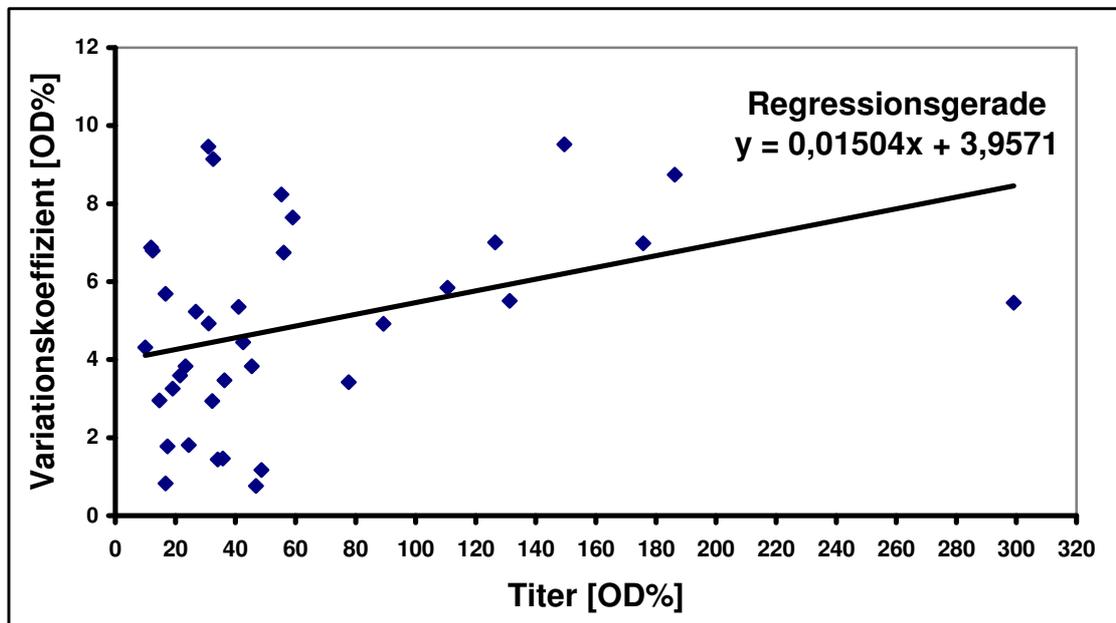


Abbildung 7
 Zusammenhang zwischen dem Mittelwert und dem Variationskoeffizient eines Titers bei der Fünffach-Messung von Fleischsaftproben (n = 36) auf derselben Platte.
 (Enterisol®-ELISA)

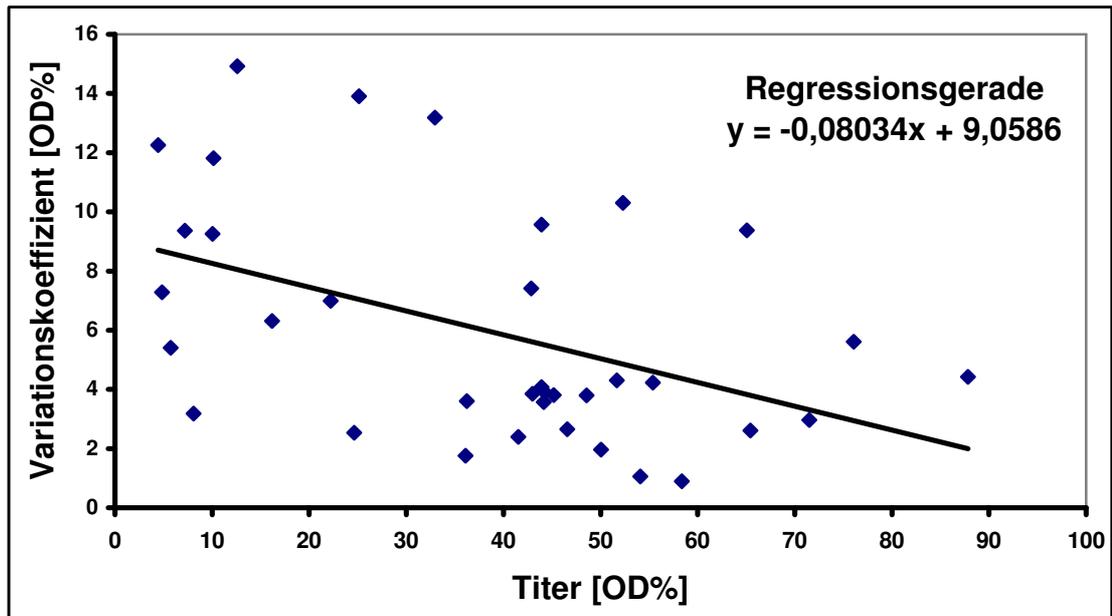


Abbildung 8
 Zusammenhang zwischen dem Mittelwert und dem Variationskoeffizient eines Titers bei der Fünffach-Messung von Fleischsaftproben (n = 36) auf derselben Platte.
 (HerdChek-ELISA)

3.2.6 Präzision der Testergebnisse bei wiederholter Messung auf verschiedenen ELISA-Mikrotiterplatten eines Testsystems (Inter-Plattenpräzision)

Um die Reproduzierbarkeit von Titerwerten bei Verwendung verschiedener Platten eines ELISA-Systems zu prüfen, wurden Untersuchungen mit jeweils 160 Fleischsaftproben im SALMOTYPE®-ELISA (Verwendete Charge: 500S31), im Enterisol®-ELISA (Verwendete Charge: 2553HPD) und im HerdChek-ELISA (Verwendete Charge: 44100-3090) durchgeführt. Die Proben wurden nach dem gleichen Gesichtspunkt wie schon die Proben für den Intra-Plattenpräzisionstest ausgewählt (siehe 3.2.5). Auch hier konnten ebenfalls wegen begrenzter Probenvolumina nicht die gleichen Proben in den drei verschiedenen Testsystemen eingesetzt werden. Jede Fleischsaftprobe wurde an demselben Tag unter gleichen Bedingungen auf drei verschiedenen Mikrotiterplatten eines ELISA-Systems jeweils im Einfachansatz untersucht. Die drei Einzelmesswerte wurden zu arithmetischen Mittelwerten, Standardabweichungen und Variationskoeffizienten verrechnet. In **Tabelle 25** sind die Variationskoeffizienten als arithmetische Mittelwerte, Standardabweichungen, sowie Minima, Mediane und Maxima zusammengefasst.

Tabelle 25

Variationskoeffizienten bei der Einfachmessung von 160 Fleischsaftproben auf drei Platten zum Nachweis von *Salmonella*-LPS-spezifischen Antikörpern bei Schweinen (Inter-Plattenpräzision)

ELISA-System	Variationskoeffizient in %					
	aus eigenen Untersuchungen					
	laut Hersteller tolerierbar	Arithmetischer Mittelwert	STABW	Min.	Med.	Max.
SALMOTYPE®-ELISA	≤ 20	9,3	4,4	1,3	9,1	19,8
Enterisol®-ELISA	< 15	8,5	3,7	0,5	8,6	15,0
HerdChek-ELISA	< 15 / < 20 ⁽¹⁾	7,3	3,9	0,3	6,4	19,8

Erläuterungen: (1: im Routinebetrieb)

Auch für die Variation bei Verwendung verschiedener Mikrotiterplatten eines Testsystems (Inter-Plattenpräzision) geben die Hersteller Toleranzbereiche an. Dieser liegt beim SALMOTYPE®-ELISA bei bis zu 20 % und bei den beiden anderen ELISA-Systemen unter 10 % bzw. unter 20 % (HerdChek-ELISA im diagnostischen Routinebetrieb). Die im Rahmen der vorliegenden Arbeit ermittelten Variationskoeffizienten überschritten diese Schwellenwerte in keinem der drei Testsysteme, wobei für die Untersuchungen mit dem HerdChek-ELISA eine Toleranzschwelle von 20 % zugrunde gelegt wurde.

In Analogie zur Evaluierung der Intra-Plattenpräzision, wurde auch bei der Untersuchung der Inter-Plattenpräzision die Beziehung zwischen dem Variationskoeffizienten und dem Titermittelwert analysiert (Regressionsanalyse mit dem Programm BMDP6). Die hierbei ermittelten Beziehungen sind in den **Abbildungen 9, 10** und **11** grafisch dargestellt. Im SALMOTYPE®-ELISA und im HerdChek-ELISA war der Variationskoeffizient signifikant negativ mit der Titerhöhe korreliert ($p = 0,01$ bzw. $p < 0,001$; siehe **Abbildungen 9** und **11**). Beim Enterisol®-ELISA wurde ebenfalls ein Trend zur negativen Korrelation beobachtet, der jedoch statistisch nicht zu sichern war ($p = 0,175$; siehe **Abbildung 10**).

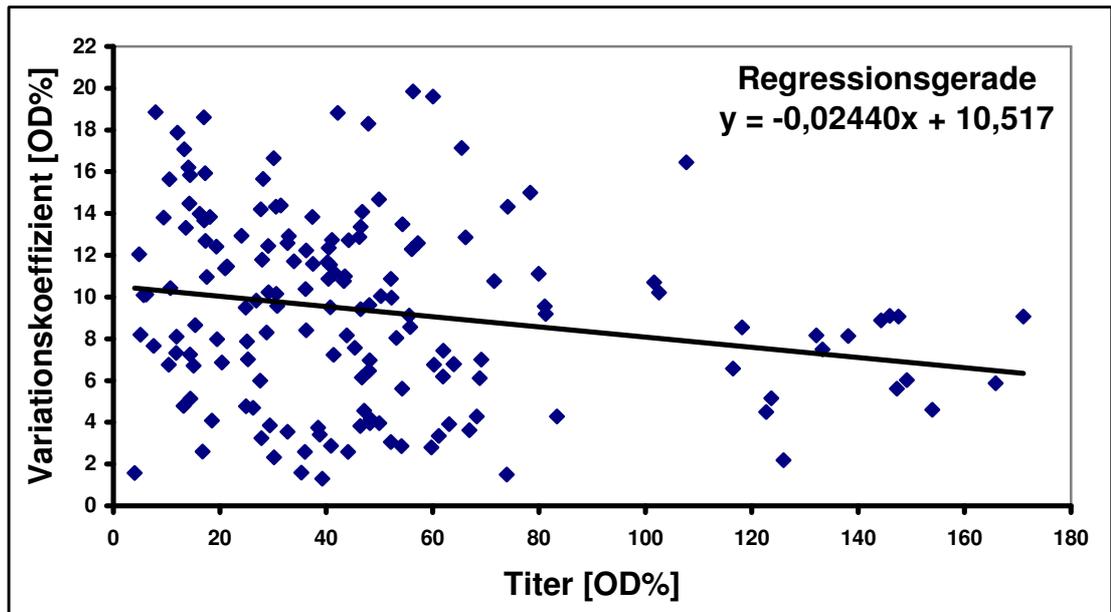


Abbildung 9
 Zusammenhang zwischen dem Mittelwert und dem Variationskoeffizient bei der Einfach-Messung von Fleischsaftproben (n = 160) auf drei verschiedenen Platten. (SALMOTYPE®-ELISA)

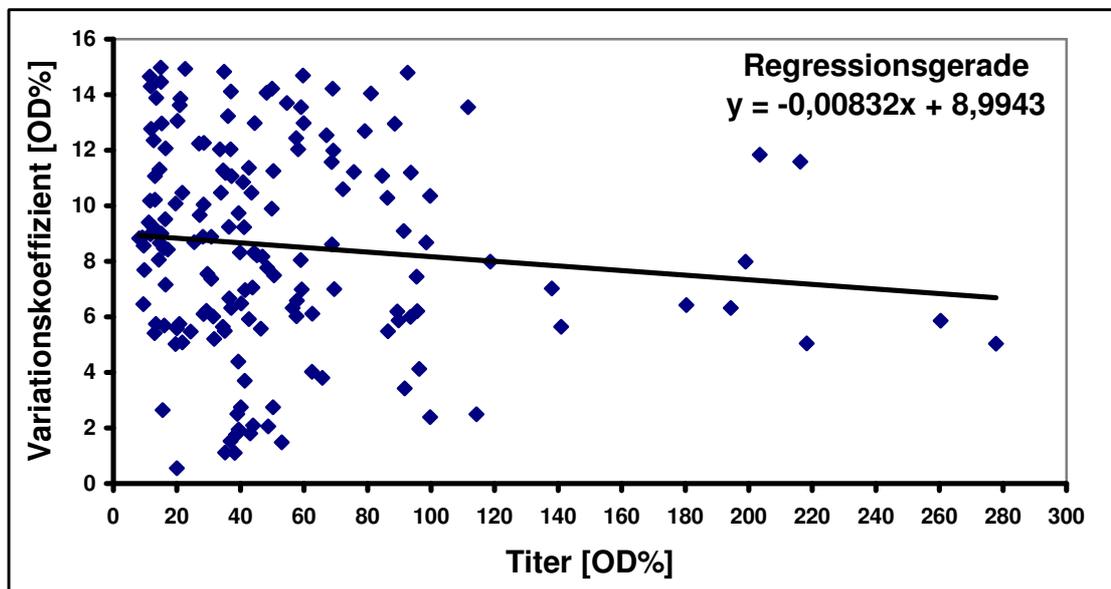


Abbildung 10
 Zusammenhang zwischen dem Mittelwert und dem Variationskoeffizient bei der Einfach-Messung von Fleischsaftproben (n = 160) auf drei verschiedenen Platten. (Enterisol®-ELISA)

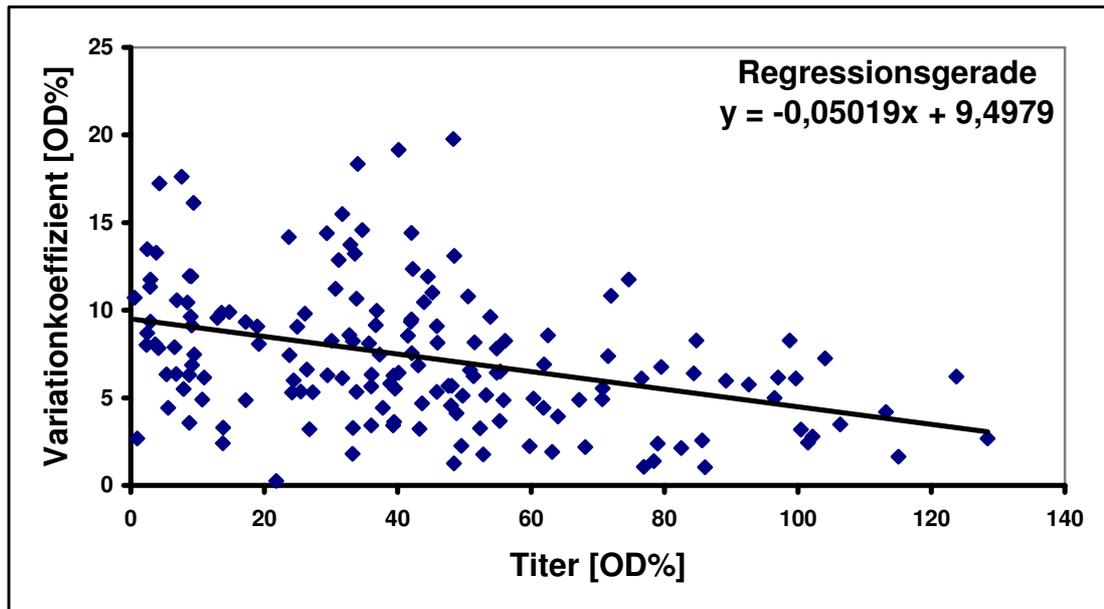


Abbildung 11

Zusammenhang zwischen dem Mittelwert und dem Variationskoeffizient bei der Einfach-Messung von Fleischsaftproben (n = 160) auf drei verschiedenen Platten. (HerdChek-ELISA)

3.2.7 Vergleichende Untersuchungen von SALMOTYPE[®]-ELISA, HerdChek-ELISA und Enterisol[®]-ELISA zum Nachweis von Antikörpern gegen Salmonellen bei Schlachtschweinen

Die drei ELISA-Testsysteme SALMOTYPE[®]-ELISA, Enterisol[®]-ELISA und HerdChek-ELISA wurden auf ihre Übereinstimmung beim Nachweis von *Salmonella*-LPS-spezifischen Antikörpern in Fleischsaftproben von Schweinen untersucht. Hierzu wurden 687 Fleischsaftproben ausgewählt, die im Vorfeld bereits mit dem Pipettierroboter in Einzelbestimmung bearbeitet und mit dem SALMOTYPE[®]-ELISA gemessen worden waren. Es wurde versucht, durch Auswahl der Proben, den Titermessbereich von < 5 OD % bis > 100 OD % gleichmäßig abzudecken. Alle Proben wurden dann mit jedem der drei ELISA-Systeme erneut untersucht und ihr Titer entsprechend den Herstelleranweisungen bestimmt. Der Cut off-Wert für die Positiv / Negativ-Bewertung betrug in allen drei Testsystemen 40 OD %, sodass Titer von 40 OD % und mehr als positiv und Titer unter 40 OD % als negativ bewertet wurden.

In der **Tabelle 26** sind die erzielten Titer in Form von arithmetischen Mittelwerten, Standardabweichungen, Medianen, Minima und Maxima für alle drei Testsysteme zusammengefasst. Im HerdChek-ELISA wurden insgesamt die niedrigsten Titer

ermittelt (Mittelwert 37,6 OD %; Median 30 OD %), im Enterisol®-ELISA die höchsten (Mittelwert 56,9 OD %; Median 46 OD %). Im Enterisol®-ELISA wurde mit 265,9 OD % insgesamt auch der höchste Titer gemessen, gefolgt vom SALMOTYPE®-ELISA mit einem Titer von 163,7 OD % und vom HerdChek-ELISA mit 140,5 OD %. Der niedrigste Titer wurde mit dem HerdChek-ELISA ermittelt (-2 OD %).

Da es sich um abhängige Stichproben handelte und die Messwerte nicht normalverteilt waren sondern rechtsschief, vergleicht man die Mediane mit Hilfe des Friedman-Test (nicht parametrisches Verfahren). Der Vergleich der Mediane hatte gegenüber dem Vergleich der Mittelwerte den Vorteil, dass die Ausreißerempfindlichkeit geringer war. Zudem konnte keine logarithmische Transformation der Daten vorgenommen werden, um damit die Werte näherungsweise in eine Normalverteilung zu überführen, da im HerdChek-ELISA auch negative Messwerte ermittelt wurden. Der Friedman-Test ergab mit $p < 0,0001$ statistisch hoch signifikant, dass die drei ELISA-Systeme unterschiedliche Messergebnisse lieferten. Daraufhin wurde mit dem Wilcoxon-Wilcox-Test ein paarweiser Vergleich der drei Testsysteme vorgenommen. Beim Vergleich des SALMOTYPE®-ELISA und des Enterisol®-ELISA wurden ein p-Wert von $< 0,001$ und statistisch hoch signifikante Unterschiede nachgewiesen, auch beim Vergleich des HerdChek-ELISA mit dem Enterisol®-ELISA lag der p-Wert bei $< 0,001$ und somit eine hohe statistische Signifikanz vor. Beim Vergleich des SALMOTYPE®-ELISA mit dem HerdChek-ELISA konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede nachgewiesen werden. Das heißt mit dem Enterisol®-ELISA wurden im Mittel statistisch signifikant höhere Messwerte erzielt, als mit den beiden anderen ELISA-Systemen.

Tabelle 26
Nachweis von *Salmonella*-LPS-spezifischen Antikörpern in Fleischsaftproben von Schweinen (n = 687) mit kommerziellen ELISA-Systemen.

ELISA-System	Titer [OD %]				
	arithmetischer Mittelwert	STABW	Min.	Med.	Max.
SALMOTYPE®-ELISA	42,8	32,6	0,4	34,9	163,7
Enterisol®-ELISA	56,9	41,8	5,2	46,0	265,9
HerdChek-ELISA	37,6	32,3	-2,0	30,0	140,5

Um Zusammenhänge zwischen den drei verschiedenen Testsystemen zu beschreiben, wurden die Messergebnisse mit Hilfe des Statistik-Programm-Pakets BMDP einer

Korrelations- und Hauptkomponentenanalyse unterzogen. Die Ergebnisse der paarweisen Vergleiche wurden grafisch in den **Abbildungen 12 bis 14** dargestellt sowie in der **Tabelle 27** zusammengefasst.

Die Gegenüberstellung des SALMOTYPE[®]-ELISA und des Enterisol[®]-ELISA ergab mit einem Wert von 0,787 den höchsten Korrelationskoeffizienten (**Abbildung 12**). Die Ergebnisse im SALMOTYPE[®]-ELISA und im HerdChek-ELISA korrelierten bereits deutlich weniger miteinander (Korrelationskoeffizient: 0,333) (**Abbildung 13**). Die schlechteste Korrelation wurde zwischen dem Enterisol[®]-ELISA und dem HerdChek-ELISA ermittelt (Korrelationskoeffizient: 0,246) (**Abbildung 14**). Dennoch waren alle 3 Korrelationskoeffizienten statistisch signifikant positiv mit jeweils $p < 0,001$.

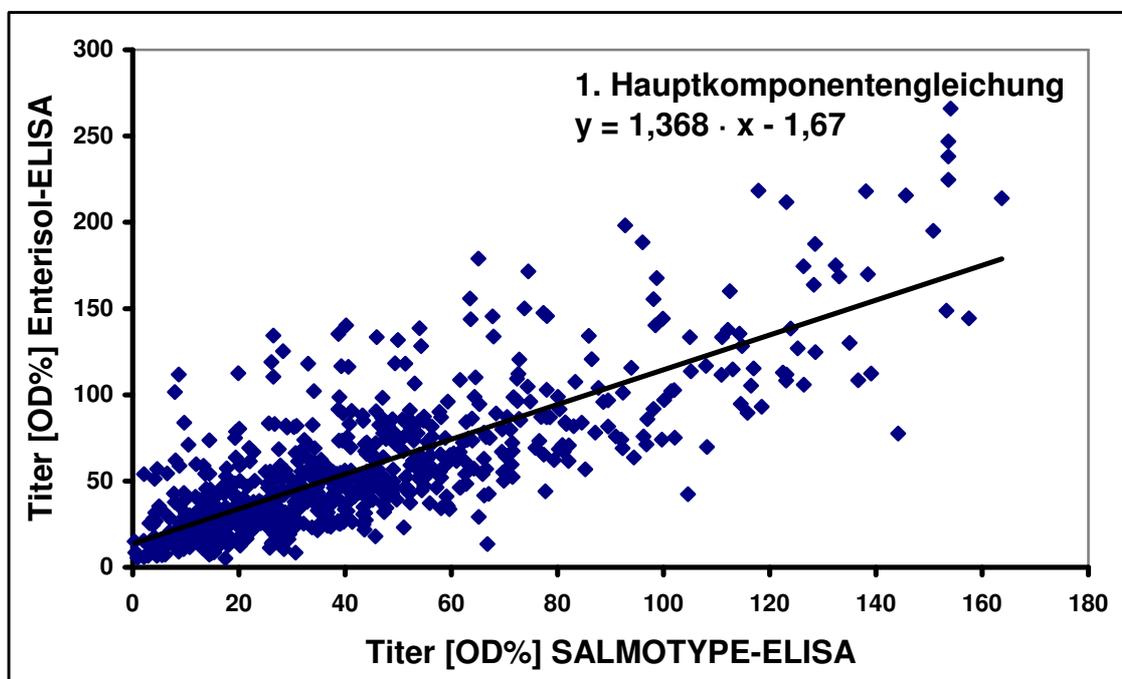


Abbildung 12
Korrelation zwischen den Titern von Fleischsaftproben im SALMOTYPE[®]-ELISA und im Enterisol[®]-ELISA

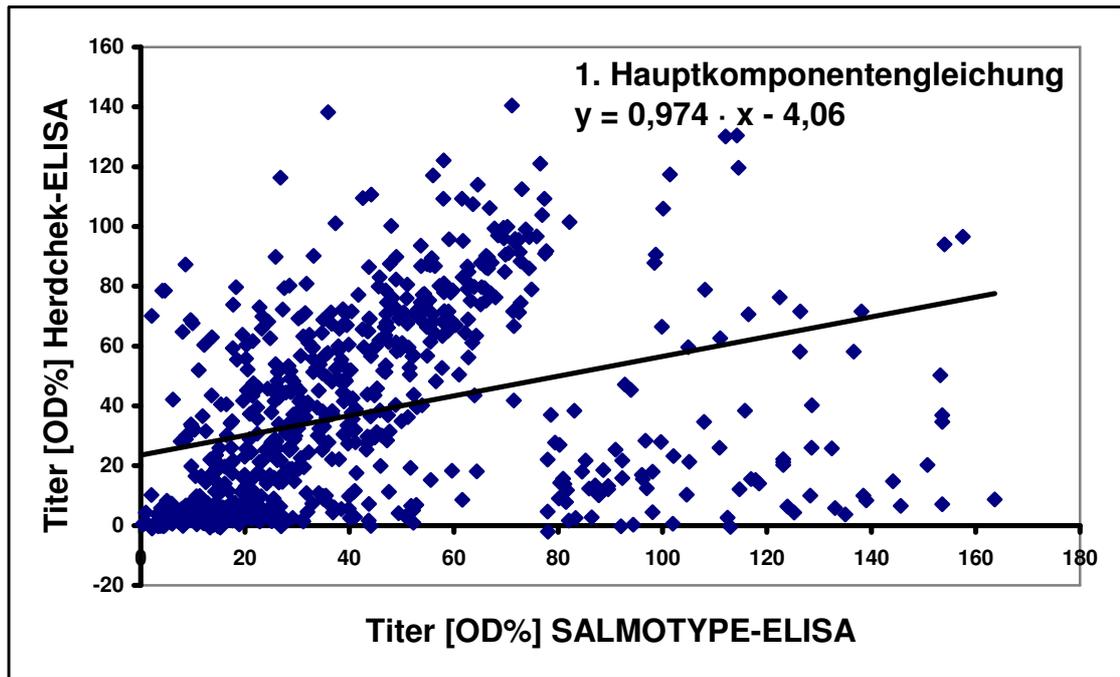


Abbildung 13
Korrelation zwischen den Titern von Fleischsaftproben im SALMOTYPE®-ELISA und im HerdChek-ELISA

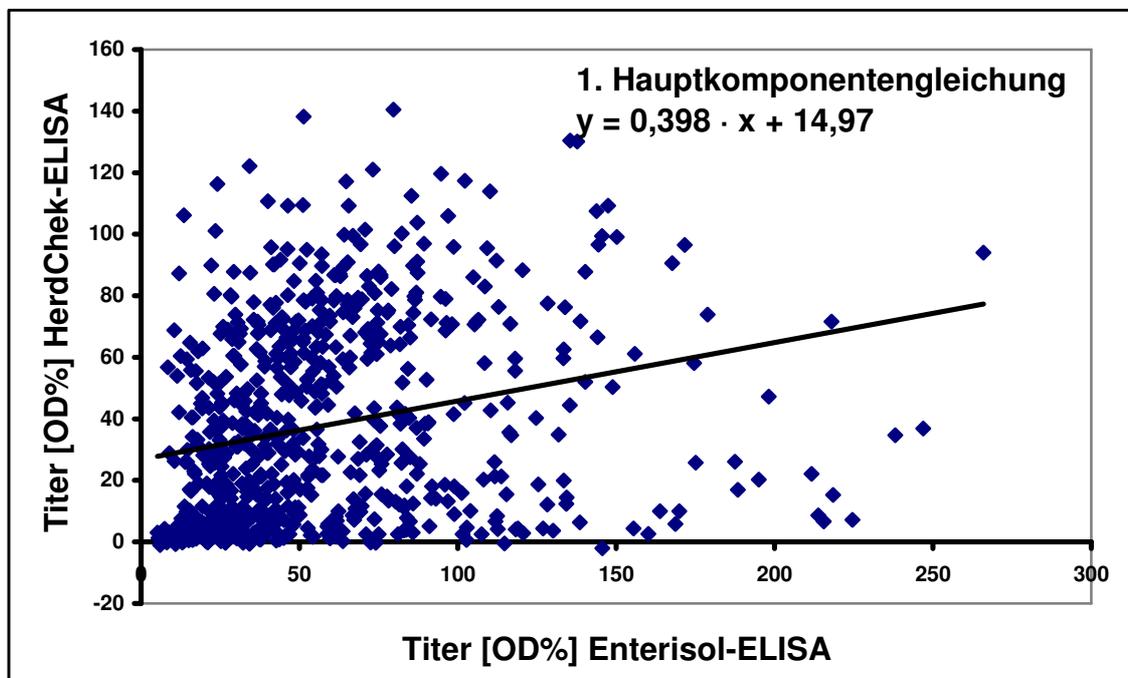


Abbildung 14
Korrelation zwischen den Titern von Fleischsaftproben im Enterisol®-ELISA und im HerdChek-ELISA

Tabelle 27
Parameter der Korrelationsparameter zwischen den drei ELISA-Systemen zum Nachweis von *Salmonella*-LPS-spezifischen Antikörpern in Fleischsaftproben von Schweinen

Korrelierte Testsysteme	1. Hauptkomponentengleichung	Korrelationskoeffizient
SALMOTYPE®-ELISA / Enterisol®-ELISA	$y = 1,368 x - 1,67$	0,787
SALMOTYPE®-ELISA / HerdChek-ELISA	$y = 0,974 x - 4,06$	0,333
Enterisol®-ELISA / HerdChek-ELISA	$y = 0,398 x + 14,97$	0,246

In den **Tabellen 28 bis 33** ist dargestellt, wie die ELISA-Systeme beim paarweisen Vergleich hinsichtlich der Einstufung der Fleischsaftproben im serologisch positiven oder negativen Bereich übereinstimmten. Von den insgesamt 687 untersuchten Fleischsaftproben wurden 211 (30,7 %) in allen drei Testsystemen negativ bewertet und 167 (24,3 %) Proben in allen drei Testsystemen positiv. Insgesamt lag somit eine Übereinstimmung von 55 % zwischen allen drei Testsystemen vor.

Vergleicht man die mit dem SALMOTYPE®-ELISA ermittelten Befunde mit denen des Enterisol®-ELISA, dann kam man zu dem Ergebnis, dass insgesamt 537 (78,2 %) der Fleischsaftproben von beiden Tests gleich bewertet wurden (**Tabelle 28**). 392 Proben erzielten im SALMOTYPE®-ELISA einen Titer von < 40 OD % und wurden negativ beurteilt; 268 (68,4 %) von ihnen wurden mit dem Enterisol®-ELISA ebenfalls negativ eingestuft. Im positiven Messbereich betrug die Übereinstimmung 91,2 %, da von 295 im SALMOTYPE®-ELISA positiv bewerteten Fleischsaftproben, 269 im Enterisol®-ELISA ebenfalls positiv reagierten.

Beim Vergleich zwischen den im HerdChek-ELISA und im SALMOTYPE®-ELISA gemessenen Ergebnissen, ergab sich im negativen Messbereich für 184 Proben (62,4 %) und im positiven Messbereich für 288 Proben (73,5 %) eine Übereinstimmung, sodass insgesamt eine 68,7 %ige Übereinstimmung vorlag (**Tabelle 29**).

Mit dem Enterisol®-ELISA wurden 294 Fleischsaftproben negativ und 393 Proben positiv beurteilt (**Tabelle 30**). Von den 294 negativ beurteilten Proben, waren 220 Proben (74,8 %) auch im HerdChek-ELISA negativ. Von den 393 positiven Proben lagen 214 Proben (54,5 %) auch beim HerdChek-ELISA im positiven Bereich. Somit ergab sich bei diesen beiden Testsystemen eine Gesamt-Übereinstimmung von 63,2 %.

3 Eigene Untersuchungen - 3.2 Ergebnisse

Im negativen Bereich war damit die Übereinstimmung zwischen dem Enterisol[®]-ELISA und dem HerdChek-ELISA am größten (74,8 %), während im positiven Bereich der Enterisol[®]-ELISA und der SALMOTYPE[®]-ELISA am besten übereinstimmten (91,2 %). Die größte Gesamt-Übereinstimmung von 537 Proben (78,2 %) wurde zwischen dem Enterisol[®]-ELISA und dem SALMOTYPE[®]-ELISA erreicht.

Tabelle 28
Ergebnisse der vergleichenden Untersuchung von Fleischsaftproben im SALMOTYPE[®]-ELISA und im Enterisol[®]-ELISA

Titer im SALMOTYPE [®] -ELISA [OD %]	Anzahl der Fleischsaftproben			
	untersucht (n = 687)	Titer im Enterisol [®] -ELISA [OD %]		
		< 40,0	≥ 40,0	
< 40,0	392 (100 %)	268 (68,4 %)	124 (31,6 %)	
≥ 40,0	295 (100 %)	26 (9,8 %)	269 (91,2 %)	

Tabelle 29
Ergebnisse der vergleichenden Untersuchung von Fleischsaftproben im SALMOTYPE[®]-ELISA und im HerdChek-ELISA

Titer im SALMOTYPE [®] -ELISA [OD %]	Anzahl der Fleischsaftproben			
	untersucht (n = 687)	Titer im HerdChek-ELISA [OD %]		
		< 40,0	≥ 40,0	
< 40,0	392 (100 %)	288 (73,5 %)	104 (26,5 %)	
≥ 40,0	295 (100 %)	111 (37,6 %)	184 (62,4 %)	

Tabelle 30
Ergebnisse der vergleichenden Untersuchung von Fleischsaftproben im Enterisol[®]-ELISA und im HerdChek-ELISA

Titer im Enterisol [®] -ELISA [OD %]	Anzahl der Fleischsaftproben			
	untersucht (n = 687)	Titer im HerdChek-ELISA [OD %]		
		< 40,0	≥ 40,0	
< 40,0	294 (100 %)	220 (74,8 %)	74 (25,2 %)	
≥ 40,0	393 (100 %)	179 (45,5 %)	214 (54,5 %)	

Um einen genaueren Einblick über die gefundenen Differenzen zwischen den verschiedenen Testsystemen zu erhalten, wurden die Messbereiche feiner aufgeschlüsselt (< 30,0 OD %, 30,0 – 39,9 OD %, 40,0 – 49,9 OD % und \geq 50,0 OD %) (**Tabellen 31 bis 33**).

In den knapp negativen Messbereich (30,0 - 39,9 OD %) wurden mit Hilfe des SALMOTYPE[®]-ELISA 92 Proben eingestuft, von diesen wurden im Enterisol[®]-ELISA nur 38 ebenfalls negativ beurteilt. In den knapp positiven Bereich des SALMOTYPE[®]-ELISA (40,0 – 49,9 OD %) wurden 77 Proben eingestuft, wobei 60 Proben im Enterisol[®]-ELISA ebenfalls positiv bewertet wurden. Die Übereinstimmung bei den 169 grenzwertig beurteilten Proben, ausgehend vom SALMOTYPE[®]-ELISA, lag somit bei 58 %.

300 Proben wurden vom SALMOTYPE[®]-ELISA < 30,0 % gemessen, davon wurden vom Enterisol[®]-ELISA 235 Proben ebenfalls negativ gemessen (unter 40,0 %). 218 Proben beurteilte der SALMOTYPE[®]-ELISA \geq 50,0 %, von diesen wurden 209 positiv bewertet (über 39,9 %). Somit lag die Übereinstimmung im entfernten Messbereich (< 30,0 % und \geq 50,0 %) bei 85,7 %. Das heißt, im grenzwertigen, nahen Messbereich (30,0 - 39,9 OD % und 40,0 – 49,9 OD %) war die Übereinstimmung der beiden ELISAs deutlich schlechter als im entfernten Bereich (**Tabelle 31**).

Der analoge Vergleich von SALMOTYPE[®]-ELISA und HerdChek-ELISA ergab folgende Resultate (**Tabelle 32**). Fleischsaftproben mit einem SALMOTYPE[®]-ELISA-Titer \pm 10 OD % vom Cut off-Wert wurden nach ihrem Titer im HerdChek-ELISA in 88 von 169 Fällen (52,1 %) in gleicher Weise wie mit dem SALMOTYPE[®]-ELISA eingestuft. Für Fleischsaftproben mit einem SALMOTYPE[®]-ELISA-Titer, der sich um mehr als 10 OD % vom Cut off-Wert unterschied, betrug der Prozentsatz 74,1 %.

Fleischsaftproben mit einem Cut off-Wert nahen Titer im Enterisol[®]-ELISA, erzielten nur in 56 % der Fälle (93 von 166 Proben) im HerdChek-ELISA dieselbe Bewertung, während dies auf 65,5 % der Fleischsaftproben mit einem Cut off-Wert fernen Titer zutraf (341 von 521 Proben) (**Tabelle 33**).

Tabelle 31
Ergebnisse der vergleichenden Untersuchung im SALMOTYPE[®]-ELISA und Enterisol[®]-ELISA mit feinerer Unterteilung der Messbereiche

Titer im SALMOTYPE [®] -ELISA [OD %]	untersucht (n = 687)	Anzahl der Fleischsaftproben			
		Titer im Enterisol [®] -ELISA [OD %]			
		< 30,0	30,0 – 39,9	40,0 – 49,9	≥ 50,0
< 30,0	300 (100,0 %)	183 (61,0 %)	47 (15,7 %)	24 (8,0 %)	46 (15,3 %)
30,0 – 39,9	92 (100,0 %)	17 (18,5 %)	21 (22,8 %)	21 (22,8 %)	33 (35,9 %)
40,0 – 49,9	77 (100,0 %)	5 (6,5 %)	12 (15,6 %)	20 (26,0 %)	40 (52,0 %)
≥ 50,0	218 (100,0 %)	3 (1,4 %)	6 (2,8 %)	15 (6,9 %)	194 (89,0 %)

Tabelle 32
Ergebnisse der vergleichenden Untersuchung im SALMOTYPE[®]-ELISA und HerdChek-ELISA mit feinerer Unterteilung der Messbereiche

Titer SALMOTYPE [®] -ELISA [OD %]	untersucht (n = 687)	Anzahl der Fleischsaftproben			
		Titer HerdChek-ELISA [OD %]			
		< 30,0	30,0 – 39,9	40,0 – 49,9	≥ 50,0
< 30,0	300 (100,0 %)	227 (75,7 %)	19 (6,3 %)	21 (7,0 %)	33 (11,0 %)
30,0 – 39,9	92 (100,0 %)	26 (28,3 %)	16 (17,4 %)	15 (16,3 %)	35 (38,0 %)
40,0 – 49,9	77 (100,0 %)	18 (23,4 %)	13 (16,9 %)	7 (9,1 %)	39 (50,6 %)
≥ 50,0	218 (100,0 %)	72 (33,0 %)	8 (3,7 %)	8 (3,7 %)	130 (59,6 %)

Tabelle 33
Ergebnisse der vergleichenden Untersuchung im Enterisol®-ELISA und HerdChek-ELISA mit feinerer Unterteilung der Messbereiche

Titer Enterisol®-ELISA [OD %]	untersucht (n = 687)	Anzahl der Fleischsaftproben			
		< 30,0	30,0 – 39,9	40,0 – 49,9	≥ 50,0
< 30,0	208 (100,0 %)	150 (72,1 %)	15 (7,2 %)	12 (5,8 %)	31 (14,9 %)
30,0 – 39,9	86 (100,0 %)	43 (50,0 %)	12 (14,0 %)	13 (15,1 %)	18 (20,9 %)
40,0 – 49,9	80 (100,0 %)	34 (42,5 %)	8 (10,0 %)	4 (5,0 %)	34 (42,5 %)
≥ 50,0	313 (100,0 %)	116 (37,1 %)	21 (6,7 %)	21 (6,7 %)	155 (49,5 %)

Da die drei ELISA-Systeme sich hinsichtlich der Bewertung der Fleischsaftproben beträchtlich voneinander unterschieden, wurde nachfolgend der Frage nachgegangen, ob sich diese Unterschiede auch auf die serologisch fundierte Kategorisierung der Betriebe auswirkten (Kategorisierung gemäß Entwurf der Schweine-Salmonellen-Verordnung vom 20.04.2005). Hierzu wurden die im SALMOTYPE®-ELISA ermittelten Titer derjenigen Fleischsaftproben, die bei den 200 kategorisierbaren Betrieben das jeweils erste erfüllte Stichproben-Soll repräsentierten, herangezogen und mit Hilfe der ermittelten Hauptkomponentengleichungen (**Tabelle 27**) in theoretische Enterisol®-ELISA- und Herdchek-ELISA-Titer umgerechnet. Somit konnte eine neue Kategorisierung für den Enterisol®-ELISA und den HerdChek-ELISA vorgenommen werden. Aufgrund der niedrigen Korrelationskoeffizienten handelte es sich nur um eine Prognoserechnung. Insgesamt wurden von allen drei ELISA-Testsystemen 143 (71,5 %) der 200 Betriebe übereinstimmend bewertet, 71 davon fielen in Kategorie 0, 70 in Kategorie I und zwei in Kategorie II.

Im SALMOTYPE®-ELISA wurden 99 (49,5 %) von den 200 Betrieben in Kategorie 0 eingestuft. Der HerdChek-ELISA stufte diese 99 Betriebe ebenfalls in Kategorie 0 ein. Vom Enterisol®-ELISA wurden nur 71 der 99 Betriebe als Kategorie 0 bewertet, die restlichen 28 Betriebe fielen in Kategorie I. 92 Betriebe fielen mit den im SALMOTYPE®-ELISA ermittelten Ergebnissen in die Kategorie I, im Enterisol®-ELISA wurden 85 dieser 92 Betriebe ebenfalls in Kategorie I und sieben Betriebe in Kategorie II eingestuft. Der HerdChek-ELISA beurteilte 77 Betriebe als Kategorie I und 15 als Kategorie 0. Acht Betriebe gehörten wegen ihrer im SALMOTYPE®-ELISA ermittelten Ergebnisse in die Kategorie II, davon wurden anhand der Enterisol®-ELISA-Resultate fünf Betriebe in Kategorie II eingestuft und drei in Kategorie III. Die mit dem HerdChek-

ELISA ermittelten Ergebnisse kategorisierten drei der Betriebe in Kategorie I und fünf Betriebe in Kategorie II. Der vom SALMOTYPE®-ELISA ermittelte Kategorie-III-Betrieb, wurde auch im Enterisol®-ELISA als Kategorie-III-Betrieb ermittelt, im HerdChek-ELISA hingegen als Kategorie-II-Betrieb. **Tabelle 34** gibt die Gegenüberstellung der mit den verschiedenen ELISA-Systemen ermittelten Kategorien der 200 schweinehaltenden Betriebe in Baden-Württemberg wieder.

Tabelle 34

Gegenüberstellung der mit den verschiedenen ELISA-Systemen ermittelten Kategorien für 200 schweinehaltende Betriebe in Baden-Württemberg

In die Auswertung wurden nur diejenigen 200 Betriebe einbezogen, die das geforderte Stichproben-Soll erfüllt hatten. Ferner wurden nur die SALMOTYPE®-ELISA-Ergebnisse derjenigen Fleischsaftproben berücksichtigt, die das erste erfüllte Stichproben-Soll repräsentierten (Kategorisierung nach Schweine-Salmonellen-Verordnung im Entwurf vom 20.04.2005).

SALMOTYPE®-ELISA		Anzahl der Betriebe							
Kategorie	Anzahl der Betriebe	Enterisol®-ELISA ⁽¹⁾				HerdChek-ELISA ⁽¹⁾			
		0	I	II	III	0	I	II	III
0	99 (49,5 %)	71	28	0	0	99	0	0	0
I	92 (46,0 %)	0	85	7	0	15	77	0	0
II	8 (4,0 %)	0	0	5	3	0	3	5	0
III	1 (0,5 %)	0	0	0	1	0	0	1	0
Gesamt	200 (100,0 %)	71	113	12	4	114	80	6	0
		35,5 %	56,5 %	6,0 %	2,0 %	57,0 %	40,0 %	3,0 %	0,0 %

Erläuterungen: (1: Kategorisierung anhand der rechnerisch mit Hilfe der Hauptkomponentengleichungen (**Tabelle 27**) ermittelten Titer.

4 Besprechung der Ergebnisse

4.1 Kulturell-bakteriologischer Salmonellennachweis in schweinehaltenden Betrieben in Baden-Württemberg

Der mit der kulturell-bakteriologischen Untersuchung ermittelte Anteil an schweinehaltenden Betrieben, die von Salmonelleninfektionen bei ihren Tieren betroffen waren, lag bei 13 von 124 Betrieben (10,5 %). In denjenigen Betrieben, die von der Autorin selbst beprobt worden waren, ließen sich Salmonellen sogar in 22,4 % (elf Betriebe) der Betriebe nachweisen. In den anderen Betrieben, die selbst nur eine oder zwei Sammelkotproben zur Untersuchung eingesandt hatten, wurden Salmonellen nur in jeweils einem Betrieb gefunden.

Diese Ergebnisse der eigenen Probenentnahme stimmen mit denen einiger anderer Studien zumindest annähernd überein. In Dänemark lag die von Baggesen *et al.* (1996) anhand von Kotproben ermittelte Salmonellen-Prävalenz für 1.363 Schweineherden bei 22,2 % **(19)**. Auch die in den Niederlanden 1998 an 317 Mastschweineherden durchgeführten Untersuchungen, in denen 23,7 % der Herden *Salmonella*-positiv waren, sind im Ergebnis mit der vorliegenden Studie überraschend gut vergleichbar **(274)**. Andere Untersucher ermittelten *Salmonella*-belastete Betriebe noch deutlich häufiger. Beispielsweise fand Schöning (1999) Salmonellen in 52,8 % der 36 untersuchten Betriebe in der Region Ostwestfalen-Lippe und im südlichen Niedersachsen **(241)**.

Im Schrifttum lassen sich aber auch einige Publikationen finden, deren Ergebnisse der relativ niedrigen Salmonellennachweisquote ähneln, wie sie im Rahmen der hier beschriebenen Studie in den nicht von der Autorin selbst genommenen Proben ermittelt wurde. Aus jenen Publikationen geht nicht eindeutig hervor, von wem und wie die Probenentnahme durchgeführt wurde **(140, 260, 278)**. So untersuchte Greil (2001) Kotproben aus sieben verschiedenen Betrieben sowie 31 Sammelkotproben aus Warteställen am Schlachthof. Dabei fand er Salmonellen nur in einer einzigen Probe **(106, 107)**. Fehlhaber *et al.* (1996) untersuchten im Zeitraum von 1992 bis 1996 Kotproben von tauglich beurteilten Schlachtschweinen, auf das Vorkommen von Salmonellen. Auch in diesen drei Studien schwankte die Nachweisquote erheblich und lag zwischen 1,3 % und 26,9 % **(83)**.

Ein Grund für die zum Teil erheblich voneinander abweichenden Ergebnisse in den verschiedenen Studien dürfte die bekannte Tatsache sein, dass nicht jedes salmonelleninfizierte Schwein bei einer einzelnen Beprobung und kulturell-bakteriologischen Untersuchung auch ein positives Testergebnis erzielt **(20, 39)**. Konkret belegen das unter anderem die Befunde während einer dänischen Langzeitstudie, in der 180 Schweine über sechs Monate monatlich einmal kulturell-bakteriologisch auf Salmonellen im Kot untersucht wurden. Bei 53,1 % der Schweine ließen sich Salmonellen einmal nachweisen und nur bei weiteren 3,7 % der Probanden zweimal **(151)**. In einer anderen Studie konnten Salmonellen nur bei ca. 25 % derjenigen Schweine, die Salmonellen in den Lymphknoten beherbergten, also nachweislich als Salmonellenträger anzusehen waren, auch in Kotproben gefunden werden **(211, 260)**.

Bei der Auswertung der kulturell-bakteriologischen Untersuchungen war es auffällig, dass aus denjenigen Proben, die in den Betrieben während der Betriebsbesichtigungen von der Autorin selbst genommen worden waren, mit 22,4 % deutlich häufiger Salmonellen isoliert werden konnten, als aus Proben, die die Landwirte und Ringberater genommen hatten (2,7 %). Da beide Arten von Proben über den gleichen Untersuchungszeitraum und das gesamte Jahr genommen wurden, sind jahreszeitlich bedingte Schwankungen als Erklärung für diese deutlichen Unterschiede wenig wahrscheinlich. Auch Both *et al.* (1982) konnte bei ihren Untersuchungen keine starken jahreszeitlichen Schwankungen vermerken **(39)**. Auch Unterschiede in der Anzahl der je Schwein genommen Proben, kann die erheblichen Divergenzen bei der Nachweisfrequenz nicht erklären. So war die Anzahl der in einer Sammelkotprobe repräsentierten Schweine gleich ($n = 10$). Auch wenn die Proben, die von den Landwirten und Ringberatern genommen worden waren, einmal 350 Schweine (einmalige Beprobung) und das andere Mal 800 Schweine (zweimalige Beprobung) repräsentierten, war die Nachweisquote mit jeweils einer positiven Probe in beiden Fällen gleich niedrig. Andererseits fanden sich unter den von der Autorin selbst genommenen Proben, die 980 Schweine repräsentierten, elf *Salmonella*-positive.

Eine plausible Erklärung für die Unterschiede bei den Nachweisquoten ist die verschieden starke Belastung („Stress“) der beprobten Tiere. Physischer und sozialer Stress, wie er beispielsweise beim Tiertransport auftritt, kann nachgewiesenermaßen die fäkale Ausscheidung von Salmonellen provozieren **(56, 82, 108, 173)**. Erfahrungsgemäß stellt die Probenentnahme durch betriebsfremde Personen eine Störung der vertrauten Verhältnisse dar, die von Schweinen ebenfalls als starke Belastung empfunden werden kann. Weitere, wichtige Gründe für die Unterschiede

könnten die „gezieltere“ Entnahmetechnik der Autorin sowie die schnellere Weiterverarbeitung der selbst entnommenen Proben sein. Unter „gezielter“ ist vor allem gemeint, dass eine entsprechend geschulte und erfahrene Tierärztin unter der Zielsetzung *Salmonella*-Ausscheider finden zu wollen bevorzugt krankheitsverdächtige Tiere beproben wird.

4.2 Gegenüberstellung der Ergebnisse aus der serologischen und der kulturell-bakteriologischen Untersuchung auf Salmonellen

Dem in Dänemark und nun auch in Deutschland implementierten Überwachungs- und Bekämpfungssystem liegt die Annahme zugrunde, dass der Prozentsatz an serologisch positiven Schweinen in einem Betrieb ein Maß für die Anzahl der salmonelleninfizierten Schweine in diesem Betrieb ist und damit sekundär auch ein Maß für das Risiko, dass Salmonellen durch Schlachttiere aus eben diesem Betrieb in die Schlachtbetriebe eingetragen werden. Die Gültigkeit dieser Annahme ist mittlerweile durch eine Reihe von wissenschaftlichen Untersuchungen gut belegt. So sahen Protz *et al.* dass Schweine mit einem mittleren Salmonellen-Antikörpertiter über 30 OD % eine etwa sechsmal höhere Salmonellenbelastung aufwiesen als Tiere mit einer mittleren Salmonellen-Antikörperkonzentration unter 30 OD % **(260)**. Auch im Rahmen des EU-Projektes „*Salmonella* in Pork (Salinpork)“ (2000) konnte der Zusammenhang zwischen serologischen Befunden und dem Vorkommen von Salmonellen beobachtet werden. Schweine in 20 Mastbetrieben wurden sowohl serologisch auf *Salmonella*-Antikörper als auch kulturell-bakteriologisch auf Salmonellen untersucht. In fünf (1,7 %) von 303 untersuchten Kotproben wurde *Salmonella* Derby nachgewiesen. Die positiven Proben stammten alle aus einem serologisch hoch positiven Bestand, in dem 39 (78 %) der serologisch untersuchten Schweine einen Titer von über 40 OD % aufwiesen. In den anderen 19 Beständen waren Salmonellen kulturell-bakteriologisch nicht nachweisbar, ihre Seroprävalenz lag nur zwischen 0 und 12 % **(278)**.

Auch die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung stützen die Ansicht, dass die Seroprävalenz in einem Betrieb die Einschätzung seiner Salmonellenbelastung erlaubt. Von den 124 kulturell-bakteriologisch untersuchten Betrieben, ließen sich 100 Betriebe anhand der in ihnen ermittelten serologischen Ergebnisse nach der „Schweine-Salmonellen-Verordnung“ (Entwurf vom 20.04.2005) in Kategorien einteilen. Deshalb war es möglich, zumindest bei diesen Betrieben die kulturell-bakteriologischen Befunde

der serologisch fundierten Klassifizierung gegenüber zu stellen. Die Analyse ergab, dass die beiden Parameter signifikant positiv miteinander korreliert waren. Je schlechter die Kategorie war, in die die Betriebe aufgrund der serologischen Ergebnisse eingestuft wurden, desto größer war der Prozentsatz an Betrieben, in denen Salmonellen in den Sammelkotproben gefunden wurden. Die Befunde der eigenen Untersuchung machen zugleich aber auch die Grenzen deutlich, innerhalb derer die serologischen Befunde interpretiert werden dürfen. Abgesehen von Unterschieden wegen verschiedener Nachweisgrenzen der direkten und indirekten Tests, zeigen zirkulierende Antikörper nicht notwendigerweise nur aktuell bestehende, sondern auch überstandene Infektionen an (Seronarben) und müssen andererseits gerade in der Frühphase von Infektionen noch gar nicht vorhanden sein **(211, 260, 262)**. Aus experimentellen Untersuchungen weiß man außerdem, dass ein Teil der infizierten Tiere auf eine Salmonelleninfektion aus bisher unbekanntem Gründen sogar überhaupt nicht mit der Produktion von Antikörpern reagiert **(189, 262)**. So auch in einer Studie von Nielsen *et al.*, in der ein Schwein trotz oraler Inokulation von 10^8 cfu von *S. Typhimurium* im Gegensatz zu den anderen Tieren der Gruppe überhaupt keine humorale Immunreaktion zeigte **(189, 262)**. Aus diesem Grund decken sich bei einem gewissen Prozentsatz der Tiere die Ergebnisse aus serologischen und kulturell-bakteriologischen Untersuchungen eben nicht. Während also *Salmonella*-spezifische Antikörper und Salmonellen bei einem bestimmten Schwein zu einem bestimmten Zeitpunkt nicht zusammen auftreten müssen, besteht in einer Population von Schweinen (z.B. Schlachttieren eines Mastdurchganges oder eines Mastbetriebes) ein statistisch gesicherter Zusammenhang zwischen der Anzahl an seropositiven Tieren und der Anzahl an Tieren, bei denen zu diesem Zeitpunkt eine Salmonelleninfektion besteht **(262)**. In der von Protz *et al.* durchgeführten Studie wurde aber auch deutlich, dass die Identifizierung von sicher *Salmonella*-freien Herden anhand negativer serologischer Untersuchungsergebnisse dennoch nicht möglich ist **(211, 260)**. Die eigenen Ergebnisse machen deutlich, dass eine serologische Einstufung eines Betriebes in die Kategorie 0 oder in die Kategorie I nicht dahingehend verstanden werden darf, dass von seinen Tieren keinerlei Salmonellenrisiko ausgehen kann. Vielmehr waren in der vorliegenden Studie Salmonellenausscheider in den Betrieben aller Kategorien nachweisbar, wenn auch in den Betrieben der niedrigen Kategorien in vergleichsweise geringerer Anzahl. Andere Untersucher kamen zu prinzipiell ähnlichen Ergebnissen. Kühnel (2004) untersuchte Tonsillenproben von Schweinen aus Kategorie-I- und aus Kategorie-III-Betrieben. In vier von 60 Proben waren Salmonellen nachweisbar, wobei allein drei Proben von Tieren aus Kategorie-I-Betrieben stammten **(154)**. In einer von mehreren Instituten in Deutschland durchgeführten Studie an 748

nachweislich kulturell-bakteriologisch *Salmonella*-positiven Schweinen, waren bei einem Cut off-Wert von 40 OD % 70 % der Tiere serologisch negativ **(255)**. Nollet *et al.* (2005) machten sehr ähnliche Beobachtungen. Sie entdeckten mit einer kulturell-bakteriologischen Untersuchung von Mesenteriallymphknoten 1.066 *Salmonella*-positive Schweine, von denen immerhin 698 (65,5 %) bei einem Cut off-Wert von 40 OD % serologisch als negativ zu beurteilen waren **(193)**.

4.3 Einfluss von Betriebseigenschaften auf die Salmonellenbelastung in Schweinebeständen

Die neuen tierseuchenrechtlichen Regelungen zur Bekämpfung von Salmonellen beim Schwein sehen nicht nur vor, die Endmastbestände permanent auf Salmonelleninfektionen zu untersuchen, sondern in stärker belasteten Betrieben auch Maßnahmen zu ergreifen, um die Salmonellen zurückzudrängen. Konkret schreibt die Salmonellen-Verordnung hierzu vor:

- (1) unverzüglich die Ursache des Salmonellen-Eintrags mit Hilfe von bakteriologischen und epidemiologischen Untersuchungen zu ermitteln,
- (2) frei werdende Buchten oder Betriebsabteilungen zu reinigen und zu desinfizieren sowie
- (3) eine Schadnagerbekämpfung durchzuführen.

Ansonsten fordert die Verordnung, dass „weitere Maßnahmen, zur Verminderung des Vom-Hundert-Anteils von mehr als 40 ergriffen werden“, beschreibt diese Maßnahmen aber nicht näher **(54)**. Von verschiedener Seite wurden deshalb Vorschläge gemacht, wie Salmonelleninfektionen in den Mastbetrieben begegnet werden könnte. Das Spektrum der Maßnahmen ist sehr breit und basiert in seiner Zusammensetzung, Breite und Wichtung nicht immer auf den Ergebnissen gezielter oder kontrollierter Untersuchungen in salmonellenbelasteten Schweinebeständen. Oft folgen die Vorschläge nur den Grundsätzen der allgemeinen Tierhygiene oder Erfahrungen mit anderen Infektionserregern und / oder bei anderen Tierarten. Der Maßnahmenkatalog reicht von der Verabreichung antimikrobieller Wirkstoffe, über die Impfung und diätetische Maßnahmen bis hin zur Betriebsorganisation (Kontrolle und Begrenzung von Zulieferbetrieben für Ferkel, Fütterungstechnik, Rein-Raus-Belegung, logistisches Schlachten) **(34, 243)**. Um Anhaltspunkte dafür zu ermitteln, welche technischen oder organisatorischen Faktoren sich auf die Salmonellenbelastung der Betriebe auswirken

könnten, wurden in der vorliegenden Studie verschiedene Betriebsparameter auf einen statistisch fassbaren Zusammenhang mit den kulturell-bakteriologischen und serologischen Befunden geprüft. Die Wahl der Betriebsparameter folgte der Checkliste „Salmonellen im Schweinebestand“ von Conraths und Ganter (61). Außerdem wurde die Auswahl der in dieser Arbeit untersuchten Betriebsparameter unter Absprache und Empfehlung des Landesverbandes Baden-Württemberg für Leistungsprüfungen in der Tierzucht e.V. festgelegt. Ähnliche Betriebsparameter wurden auch bei dem Projekt „*Salmonella* in Pork (Salinpork)“ anhand eines Fragebogens untersucht (278).

Bei der Auswertung der in dieser Arbeit ermittelten Ergebnisse war ein Zusammenhang zwischen der Häufigkeit positiver Laborbefunde und der Betriebsgröße statistisch zu sichern. Positive Befunde kamen sowohl bei der kulturell-bakteriologischen als auch bei der serologischen Untersuchung umso häufiger vor, je größer der betreffende Betrieb war. Auch Baggesen *et al.* (1996) fanden heraus, dass größere Herden häufiger *Salmonella*-positiv waren als kleinere Herden (19). Mousing *et al.* (1997) konnten diese Feststellung ebenfalls in ihren Untersuchungen untermauern, sie fanden in kleineren Betrieben weniger positive Fleischsaftproben als in großen Betrieben (186). Auch nach Carstensen *et al.* (1998) steigt das Risiko einer Salmonelleninfektion mit steigender Herdengröße (58). Andere Untersucher machten allerdings gegensätzliche Beobachtungen. So stellte Penner (2004) in ihren Untersuchungen die Tendenz fest, dass die Seroprävalenz in kleineren Betrieben größer war als in größeren Betrieben (203). Auch van der Wolf *et al.* (2001) stellten bei kleineren Herdengrößen (< 800 Schlachtschweine) höhere Seroprävalenzen fest (275). Auch nach Erhebungen von Thielen *et al.* (1997) war der Prozentsatz serologisch negativer Herden in größeren Betrieben größer (266). Man geht heute aber allgemein davon aus, dass das Infektionsrisiko in größeren Betrieben größer ist als in kleinen. Denn mit der Anzahl der gehaltenen Tiere steigt die Anzahl der Kontakte nach außen (Tiertransporte, Tierarztbesuche, Entsorgungs-, Versorgungsfahrten) und damit die Wahrscheinlichkeit, dass Infektionen eingeschleppt und auf eine größere Anzahl von anderen Schweinen übertragen werden. Auch die Verschleppungsgefahr, z.B. durch tierische Ausscheidungen oder Gegenstände, denen kontaminierter Kot anhaftet (Stiefel, Schutzkleidung, Werkzeuge, Schubkarren) (28, 22, 252), steigt mit der Größe des Betriebes. Ferner sind Erreger in größeren Beständen mit Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen oft schwieriger zurückzudrängen als in kleineren Beständen. Oft befindet sich das Personal in größeren Betrieben am Rande seiner Arbeitskapazität. Vor allem in Zeiten erhöhter Arbeitsbelastung, wie z.B. während der Ernte, können Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen deshalb zu kurz kommen. Aber auch in

kleinbäuerlichen Betrieben werden die Reinigung und Desinfektion häufig vernachlässigt oder sind aufgrund der maroden Bausubstanz und Ausstattung nicht fachgerecht durchzuführen. Madec *et al.* (1999) zeigte, dass der Restkeimgehalt auf rauhen Oberflächen wie Mauerwerk oder Holz in älteren Stallgebäuden nach der Reinigung und Desinfektion erheblich größer war als auf glatten Flächen **(172)**. Jedenfalls führt laut Funk *et al.* (2001) eine nicht effektiv durchgeführte Reinigung und Desinfektion dazu, dass Salmonellen auf dem Boden zurückbleiben **(89)**. In der vorliegenden Arbeit konnte allerdings kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Häufigkeit positiver Befunde und der Durchführung von Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen hergestellt werden. Ein möglicher Grund ist, dass die Qualität der Reinigung und Desinfektion von vielen Variablen abhängig und ohne umfangreiche Prüfungen schwierig zu quantifizieren ist. In größeren Betrieben ist auch die konsequente Umsetzung des Rein-Raus-Verfahrens häufig nicht möglich, sodass neu eingestellte Tiere direkt und indirekt mit älteren Tieren und nicht gereinigten / desinfizierten Bereichen in Kontakt kommen können, und auf diese Weise Infektketten über viele Mastdurchgänge aufrecht erhalten werden. In kleineren Betrieben ist die Umsetzung des Rein-Raus-Prinzips einfacher. Dahl *et al.* zeigten, dass die Salmonellenbelastung bei kontinuierlicher Belegung der Ställe höher ist als bei diskontinuierlicher Belegung mit zwischengeschalteter Reinigung und Desinfektion **(64, 65)**.

Trotz der deutlichen Unterschiede zwischen den untersuchten Betrieben war in dieser Studie eine Assoziation zwischen der Salmonellenausscheidung oder dem Vorhandensein salmonellenspezifischer Antikörper und den anderen untersuchten betrieblichen Parametern statistisch nicht zu sichern. Dagegen listet die Fachliteratur neben der Betriebsgröße und der Reinigung und Desinfektion viele weitere Risikofaktoren für Salmonelleninfektionen auf. Nach Erhebungen von Thielen *et al.* (1997) wurden in Betrieben mit Personenschleuse bessere serologische Ergebnisse ermittelt als in Betrieben ohne. **(266)**. Das Halten von Katzen auf einem Betrieb **(31, 37, 178, 233, 260)**, die Übertragung durch Kleidung **(28)** und Schadhagerbefall **(28, 37, 92, 178)** werden ebenfalls als Risikofaktoren aufgeführt. Meyer (2004) konnte für Sauen in konventioneller Haltung einen signifikanten Einfluss des Faktors „Anzahl der betreuenden Personen“ feststellen. So war die Chance serologisch positiver Befunde in Betrieben mit weniger Personal signifikant höher. Ebenso verhielt es sich mit dem Faktor „Stallform“. In Betrieben mit Offenstall- oder Auslaufhaltung war die Chance eines serologischen Nachweises signifikant höher als in Betrieben mit geschlossenen Stallgebäuden. Auch in Betrieben mit einer Hygieneschleuse konnten signifikant

häufiger seropositive Tiere nachgewiesen werden als in Betrieben ohne Hygieneschleuse. Dagegen war der Anteil serologisch positiver Befunde signifikant geringer, wenn der Betrieb mit einem Quarantänestall ausgestattet war. Ferner wurden bei Haltung auf Teilspaltenböden signifikant höhere Seroprävalenzen ermittelt als auf Vollspaltenböden (178). Nollet *et al.* (2003) konnten diesen Einfluss bestätigen (192). Als signifikant erwies sich auch der Einfluss von Granulatfütterung auf die Seroprävalenz von Mastschweinen, wobei sich die Chance eines positiven Befundes verdoppelte, wenn Granulat anstelle von Mehl verfüttert wurde (178). Das EU-Projekt Salinpork (2000) identifizierte auch pelletiertes Futter als einen möglichen Risikofaktor für Salmonelleninfektionen des Schweines (278).

Die Unterschiede, die hinsichtlich der relevanten Risikofaktoren für Salmonelleninfektionen bei Schlachtschweinen ermittelt oder vermutet werden, lassen zum einen darauf schließen, dass das Ausschalten nur eines Faktors oder nur weniger Faktoren die Salmonellen-Bekämpfung nicht zum Erfolg führen wird. Vielmehr deutet sich an, dass das Problem flächendeckend nur durch ein komplexes Maßnahmenpaket zu lösen sein wird, dessen Einzelkomponenten gleichzeitig an vielen verschiedenen Stellen der Schweinehaltung ansetzen. Ferner deuten die unterschiedlichen Ergebnisse in der Fachliteratur darauf hin, dass zur Sanierung von Problembetrieben Schwachstellenanalysen und Lösungsansätze erforderlich sind, die gezielt auf die Produktionsbedingungen des jeweiligen Betriebs ausgerichtet sein müssen.

4.4 Häufigkeit von *Campylobacter*-Infektionen bei Schlachtschweinen in Baden-Württemberg

Die in den eigenen Untersuchungen ermittelte hohe Quote an *Campylobacter*-positiven Betrieben (50,8 %; bei eigener Probenentnahme 69,4 %) stimmt mit den veröffentlichten Ergebnissen vieler anderer Untersucher sehr gut überein und zwar unabhängig davon, ob diese Daten in Deutschland (7, 141, 153) oder in anderen Ländern (98, 99, 111, 182, 240, 263, 295) erhoben wurden. Daten aus einer flächendeckenden bzw. repräsentativen Grundlagenstudie, wie sie in der EU beispielsweise zur Erhebung der Prävalenz von *Campylobacter* bei Masthähnchen durchgeführt worden ist, liegen allerdings nicht vor.

Eine Überraschung bereitete die Speziesverteilung, denn in der vorliegenden Studie gehörten 56,9 % der Isolate taxonomisch zur Spezies *C. jejuni* und nur 43,2 % zu

C. coli. Diese Relation steht im Gegensatz zu den meisten anderen Studien, in denen *C. coli* die beim Schwein dominierende *Campylobacter*-Art repräsentierte (40, 99, 111, 115, 153, 263). Es gibt aber auch Berichte, dass *C. jejuni* in manchen Schweinepopulationen häufiger als *C. coli* auftrat. So fand man in den U.S.A. *Campylobacter*-Bakterien in den Kotproben von 76 % der untersuchten Tiere, wobei Infektionen mit *C. jejuni* (76,3 %) insgesamt deutlich überwogen (295). Möglicherweise sind die Infektionsquote und die relativen Häufigkeiten der *Campylobacter*-Spezies altersabhängig, denn zum einen stieg die Quote infizierter Tiere mit dem Alter von 57,8 % (Ferkel am Tage der Geburt), über 85 % (Absetzferkel) auf 100 % (trächtige Sauen) an. Zum anderen variierten die Quoten von *C. jejuni* und *C. coli* je nach Alter und betrugen 31,7 % bzw. 68,3 % (Ferkel am Tage der Geburt), 82 % bzw. 18 % (Absetzferkel) und 89 % bzw. 11 % (trächtige Sauen) (295).

Die in der vorliegenden Arbeit und in vielen anderen Studien ermittelte hohe Prävalenz von *Campylobacter*-Infektionen, weist deutlich darauf hin, dass das Schwein aus menschlicher Sicht ein sehr wichtiges, natürliches Reservoir für humanpathogene *Campylobacter*-Arten darstellt. In Analogie zur Bedrohung durch Salmonellen bedeutet die hohe Nachweisquote ein Risiko für den Eintrag von *Campylobacter*-Keimen in die Lebensmittelkette, indem die Erreger mit den Schlachttieren in die Schlachthöfe gelangen und im Zuge der Schlachtung und Verarbeitung Gerätschaften, Schlachtkörper und Fleisch kontaminieren. Derzeit gibt es noch keine tierseuchenrechtlichen Vorschriften zur Bekämpfung von *Campylobacter* spp. bei lebensmittelliefernden Haustieren. Immerhin wurde 2004 die Meldepflicht eingeführt. Darüber hinaus wird das Vorkommen von *Campylobacter* bei Schweinen und beim Geflügel kontinuierlich im Rahmen nationaler Monitoringprogramme erfasst. Dennoch fehlen noch viele Daten, um beispielsweise die kritischen Momente auf jeder einzelnen Stufe in der Produktionskette Schweinefleisch zu identifizieren. Nur über eine derartige Analyse scheint es sinnvoll, adäquate Maßnahmen gegen den Erregereintrag und die Keimverschleppung zu benennen. In der vorliegenden Studie konnte ähnlich wie bei den Salmonellen bezüglich möglicher Risikofaktoren für die *Campylobacter*-Prävalenz in Mastschweinebetrieben lediglich ein signifikant positiver Zusammenhang zwischen der Nachweisquote von *C. coli* und der Betriebsgröße erkannt werden.

4.5 Häufigkeit von Antikörpern gegen Salmonellen bei Schlachtschweinen und Kategorisierung der Betriebe in Baden-Württemberg

Die in der vorliegenden Arbeit für Baden-Württemberg ermittelte Häufigkeit von 4,1 %, mit der Salmonellen-spezifische Antikörper in den Fleischproben von 30.090 Schlachtschweinen vorkamen, stimmt mit den Ergebnissen anderer Studien ebenfalls recht gut überein (**1, 59, 63, 106, 107, 154, 170, 178, 179, 203, 206, 209, 210, 213, 217, 260, 278**).

Auffällig ist allerdings der Unterschied zu den Daten, die kürzlich im Zuge der Grundlagenstudie unter Führung des BfR ermittelt wurden. Dort liegt der prozentuale Anteil serologisch positiver Schlachtschweine bei 32,3 % (**48**). Sehr wahrscheinlich hat der niedrigere Cut off-Wert von 20 OD % dazu geführt, dass in jener Studie viele Proben positiv gewertet wurden, die mit den Kriterien der vorliegenden Studie als negativ eingestuft worden wären. Auf diesen Zusammenhang weist sehr direkt auch eine weitere Studie hin, in der 13.511 Schweine aus 76 deutschen Betrieben auf *Salmonella*-spezifische Immunglobuline untersucht wurden. Mit dem Cut off-Wert von 20 OD % wurden 23,8 % der untersuchten Tiere als positiv bewertet, mit dem Cut off-Wert von 40 OD % nur 9,5 % (**282**). Diese Ergebnisse machen deutlich, dass es die Verwendung unterschiedlicher Cut off-Werte schwierig oder sogar unmöglich macht, Daten zur Seroprävalenz miteinander zu vergleichen. Deshalb ist es beispielsweise seit dem Jahr 2001 auch sehr schwierig, Seroprävalenzdaten aus Dänemark mit solchen aus Deutschland zu vergleichen, denn das dänische Überwachungsprogramm wurde ab jenem Zeitpunkt verschärft, indem der Cut off von 40 auf 20 OD % gesenkt wurde (**3, 190**). Die Intensität der Salmonellen-Bekämpfung wäre prinzipiell auch in Deutschland über die Definition des Cut off-Wertes steuerbar. Letztlich ist es eine politische Entscheidung, wie man den Cut off-Wert definiert. Dabei aber nicht nur die aktuell in der fraglichen Population vorhandene Seroprävalenz zu berücksichtigen, sondern auch ökonomische Aspekte und die Akzeptanz durch die betroffenen Tierhalter.

Ein zweiter möglicher Grund für die Unterschiede zwischen den in der vorliegenden Studie präsentierten Zahlen zur Seroprävalenz und den Zahlen der Grundlagenstudie ist, dass der Hygienestandard der Betriebe, die im Rahmen dieser Studie beprobt wurden, überdurchschnittlich gut war. Denn alle Betriebe waren dem LKV Baden-Württemberg angeschlossen und wurden von Ringberatern regelmäßig kontrolliert und beraten. Da sich die Verabschiedung der Schweine-Salmonellen-Verordnung damals bereits abzeichnete, waren die Betriebsleiter außerdem bestrebt, schon in der hier

unternommenen Pilotstudie möglichst gut abzuschneiden und möglichst wenige verdächtige Tiere im Bestand zu haben.

Aufgrund der insgesamt niedrigen Seroprävalenz in den untersuchten Betrieben, wurde die Quote von 40 % seropositiver Schweine in den Stichproben auch nur von einem einzigen (0,5 %) von 200 kategorisierbaren Betrieben überschritten und dieser Betrieb folgerichtig in die Kategorie III eingestuft. Von den restlichen Betrieben waren 191 Betriebe den Kategorien 0 oder I zuzuordnen und nur acht der Kategorie II. Andere Untersucher ermittelten in Deutschland sehr ähnliche Quoten. Die umfangreichen Ergebnisse der Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der Tiere in Wusterhausen unterstreichen ebenfalls die niedrige serologische *Salmonella*-Prävalenz in den Betrieben. Von 520 Betrieben wurden nur 3,5 % in Kategorie III eingeteilt (zitiert nach **198**). Quante (2000) teilte aufgrund ihrer von Juli 1997 bis März 1999 in Niedersachsen ermittelten Untersuchungsergebnisse 79 Mastbetriebe in Kategorie I, sieben Betriebe in Kategorie II und einen Betrieb in Kategorie III ein (**213**). Czerny *et al.* (2001) untersuchte 3.048 Schlachtschweine aus 52 Mastbeständen in Bayern. 51 Betriebe fielen in Kategorie I und ebenfalls nur ein Betrieb wurde in Kategorie III eingestuft (**63**). Bei entsprechenden Untersuchungen in Nordrhein-Westfalen fielen 168 (97,1 %) von 173 Betrieben in Kategorie I, fünf (2,9 %) in Kategorie II und kein Betrieb in Kategorie III (**206**). In Sachsen wurden 79 (88,8 %) von 89 untersuchten Betrieben in Kategorie I eingeordnet und jeweils fünf (5,6 %) Betriebe in die Kategorien II und III (**1**).

In der vorliegenden Untersuchung konnten mehrere Betriebe über einen längeren Zeitraum gemäß des vorgeschriebenen Stichprobenplans beprobt und an mindestens zwei aufeinanderfolgenden Quartalen kategorisiert werden. Dadurch war es möglich, einen Eindruck davon zu bekommen, wie sich die Kategorie eines Betriebs über die Zeit veränderte. Verschlechterungen traten im Laufe der Zeit vor allem bei den Kategorie-0-Betrieben häufig auf (26 von 86 Betrieben). Das verwundert jedoch nicht, da bereits ein einziges seropositives Schwein dazu ausreicht, dass ein Kategorie-0-Betrieb seinen exzellenten Status verliert. Immerhin konnte die Mehrzahl der Kategorie-0-Betriebe seinen vorzüglichen Status bewahren, und eine Verschlechterung um gar zwei bzw. drei Stufen zu den Kategorien II oder III war nicht zu beobachten. Auch bei den Betrieben der Kategorie I, II und III kam es im Beobachtungszeitraum allenfalls zur Änderung um eine Stufe. Dies lässt zum einen darauf schließen, dass sich Salmonelleninfektionen unter den gegebenen Produktionsbedingungen in den Betrieben nur langsam ausbreiten. Zum anderen deutet es an, dass sich die Salmonellen

durch Bekämpfungsmaßnahmen aber auch nur langsam aus dem Betrieb drängen lassen. Immerhin verbesserten sich bei den Kategorien I, II und III mehr Betriebe als sich verschlechterten. Da die Ergebnisse der serologischen Untersuchungen den Betriebsleitern immer wieder mitgeteilt wurden, spiegeln sich in den Veränderungen vermutlich bereits deren Maßnahmen zur Verbesserung des Status wider. Aus organisatorischen Gründen war es im Rahmen der vorliegenden Studie allerdings nicht möglich, diese Initiativen mit einer systematischen Datenerhebung näher zu untersuchen. Insgesamt ist die hier beschriebene Dynamik, mit der Betriebe ihren Status veränderten, als Signal zu werten, dass sich die Kategorie eines Betriebs innerhalb von drei Monaten zum Schlechteren oder Besseren verändern lässt.

4.6 Erfüllung des gesetzlich geforderten Stichprobenumfangs für die serologische Untersuchung

In der vorliegenden Arbeit wurden Fleischsaftproben von Schweinen aus insgesamt 291 Betrieben auf Salmonellen-spezifische Antikörper untersucht. Bei der Probenentnahme wurde der Stichprobenschlüssel (**Tabelle 8**) des Entwurfs der Schweine-Salmonellen-Verordnung vom 20.4.2005 zugrunde gelegt. Ein Betrieb der zu wenig Proben einsandte oder bei dem sich nicht alle Proben zur Untersuchung eigneten, wurde konsequenterweise nicht kategorisiert. Aus diesem Grund, waren von 291 Betrieben des hier beschriebenen Projektes nur 200 (68,7 %) Betriebe wenigstens einmal in einer Weise zu bewerten, wie sie dem genannten Entwurf der Schweine-Salmonellen-Verordnung entsprach. Auch Penner (2004) war in ihrer Untersuchung von 57 Schweinemastbetrieben mit 11 (19,3 %) Betrieben konfrontiert, welche die nach Plan vorgesehene Anzahl an Stichproben nicht erfüllten (**203**). Die Beobachtung, dass in dieser Arbeit das eigentlich geforderte Stichproben-Soll oft nicht erfüllt wurde, deutet also auf kein regional begrenztes, sondern auf ein eher prinzipielles Problem hin. Hier ist allerdings zu berücksichtigen, dass die Betriebsleiter an der hier präsentierten Untersuchung freiwillig teilnahmen, weshalb die Disziplin bei der Beibringung von Proben möglicherweise geringer ausfiel, als wenn diese gesetzlich vorgeschrieben gewesen wäre. Außerdem hatten die beteiligten Personen am Schlachthof die Durchführung der Überwachung und die Notwendigkeit der regelmäßigen und zuverlässigen Beprobung vielleicht noch nicht hinreichend verinnerlicht. Möglicherweise hatten aber auch die kontroversen Diskussionen, die man in Fachkreisen über den Stichprobenumfang führte, die Betriebsleiter zusätzlich irritiert, sodass einige den Stichprobenschlüssel der vorliegenden Arbeit nicht mehr akzeptieren wollten. Der für

das serologische Überwachungssystem erforderliche Stichprobenumfang ist nach der jährlichen Produktion an Schlachtschweinen gestaffelt und soll die Unterscheidung von Betrieben mit einer Prävalenz von unter 20 % von solchen mit einer Prävalenz von über 40 % mit einer statistischen Sicherheit von 95 % gewährleisten. Mit Modellrechnungen wurde dargelegt, dass die Zahl der Stichproben unter Beibehaltung der statistischen Sicherheit aber deutlich reduziert werden kann und somit erhebliche Einsparungen möglich sind **(198)**. Die Stichprobenkonzepte in früheren Entwürfen zur Schweine-Salmonellen-Verordnung (19.12.2002, 20.4.2005) gingen nämlich von einer höheren Salmonellenbelastung in den Schweinemastbetrieben aus, als sie tatsächlich vorhanden ist. Je weiter aber die tatsächliche Belastung unter einem Wert von 20 % (Grenze zwischen den Kategorien I und II) bzw. über 40 % (Grenze zwischen den Kategorien II und III) liegt, umso geringer kann die Zahl der zu beprobenden Schweine sein, ohne dass die Zuverlässigkeit der Kategorisierung leidet. Nach den von Osterkorn *et al.* zitierten Untersuchungen der damaligen Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der Tiere in Wusterhausen betrug die innerbetriebliche Seroprävalenz in 75,9 % der 520 untersuchten Schweinemastbetrieben aber weniger als 10 % **(198)**. In den eigenen Untersuchungen war der Anteil serologisch positiver Schlachtschweine sogar in 91 % der 200 kategorisierbaren Betriebe kleiner als 10 %. Um die große Mehrzahl der Betriebe also richtigerweise der Kategorie I zuzuordnen, wurden aufgrund der pessimistischen Vorgaben mehr Stichproben gezogen und bearbeitet, als eigentlich erforderlich gewesen war, insbesondere in den kleineren Betrieben **(198)**.

Mit der am 24.3.2007 in Kraft getretenen Schweine-Salmonellen-Verordnung ist die Teilnahme an dem salmonellenspezifischen Überwachungs- und Bekämpfungsprogramm für die Inhaber von Endmastbetrieben nunmehr verpflichtend vorgeschrieben. Den mathematisch fundierten Argumenten hinsichtlich des Stichprobenplans scheint man von Seiten der Politik zumindest teilweise gefolgt zu sein, da der geforderte Stichprobenumfang insbesondere in Betrieben, die nur 27 bis 100 Schlachtschweine pro Jahr produzieren, niedriger ist als in den früheren Entwürfen **(54)**. Außerdem wurde der Geltungsbereich der Verordnung auf Endmastbetriebe mit mehr als 50 Mastplätzen beschränkt, in der Übergangszeit bis zum 31.12.2008 sogar nur auf Endmastbetriebe mit mehr als 100 Mastplätzen **(54)**. Nach § 11 dieser Verordnung ist es dann aber auch als Ordnungswidrigkeit zu ahnden, wenn es ein Betriebsinhaber vorsätzlich oder fahrlässig versäumt, die vorgeschriebenen Blutproben nicht, nicht richtig oder nicht rechtzeitig untersuchen zu lassen **(54)**.

Im Zuge des hier dargestellten Projektes wurde beobachtet, dass für einige Betriebe aber auch mehr Fleischsaftproben gezogen wurden als vorgeschrieben waren. Da alle eingeschickten Proben zur Untersuchung kamen, vielen einerseits zusätzliche Untersuchungskosten an. Andererseits machte es hinsichtlich der Kategorisierung durchaus etwas aus, ob nur exakt die vorgeschriebene Anzahl an Stichproben für die Berechnung des betrieblichen Status herangezogen wurde oder alle Stichproben der jeweils letzten 12 Monate. So wurden insgesamt 20 Betriebe (10 %) unterschiedlich kategorisiert, wobei zwei Betriebe einen besseren Status erlangten, wenn man alle ihre Stichproben berücksichtigte. In der Schweine-Salmonellen-Verordnung ist die Anzahl der Proben nach oben nicht klar begrenzt und es ist auch nicht eindeutig festgelegt, welche Stichproben aus den jeweils vergangenen 12 Monaten bei der Kategorisierung eines Betriebs zu berücksichtigen sind. Für die Praxis wäre deshalb aus den eigenen Ergebnissen abzuleiten, dass diejenige Person oder Einrichtung, die die Proben zieht, strikt darauf zu achten hat, dass sie die in der Verordnung geforderte Anzahl an Stichproben auf jeden Fall erfüllt, diese aber auch nicht allzu sehr überschreitet. Um Manipulationen bei der quartalsweisen Kategorisierung zu verhindern, sollte außerdem der Zeitpunkt der Probenentnahme vom Inhaber eines Endmastbetriebs nicht beeinflusst werden können. In der Praxis wird sich das vermutlich nicht ganz verhindern lassen. Deshalb scheint es theoretisch möglich, dass ein Mäster ein für ihn ungünstiges Zwischenergebnis noch verbessern kann, indem er weitere Proben von Schlachtschweinen entsendet und untersuchen lässt, solange der Stichtag für die erneute Kategorisierung noch nicht erreicht ist. Solange die Betriebsinhaber die Kosten der Beprobung und Untersuchung aber selbst finanzieren müssen, erscheint es aber wenig wahrscheinlich, dass diese Möglichkeit wirklich genutzt werden wird. Im Zuge der hier präsentierten Studie wurde jedenfalls die Erfahrung gemacht, dass die Betriebe unbedingt etwas mehr Fleischsaftproben ziehen müssen, als es die Salmonellen-Verordnung vorschreibt, da manche Muskelproben nicht untersucht werden können, zum Beispiel weil sie zu viel Fett enthalten, zu klein oder eingetrocknet sind oder die Probe bereits auf dem Transportweg ausgelaufen ist. Eine praktische Lösung wäre es, eine Stichprobenspanne (z.B. 55 – 60 Stichproben pro Jahr pro Betrieb) zuzulassen und alle später gezogenen und darüber hinausgehenden Proben bei der Kategorisierung nicht zu berücksichtigen.

4.7 Vergleichbarkeit der mit unterschiedlichen ELISA-Systemen erzielten Ergebnisse

In den drei systematisch miteinander verglichenen ELISA-Systemen erzielte ein erheblicher Prozentsatz der Fleischsaftproben deutlich unterschiedliche Messergebnisse. Von den insgesamt 687 eingesetzten Fleischsaftproben wurden nur 211 (30,7 %) in allen drei Testsystemen negativ und nur 167 (24,3 %) Proben in allen Tests positiv bewertet. Es lag somit nur eine 55 %ige Übereinstimmung zwischen den drei Testsystemen vor. Ähnliche Diskrepanzen fanden auch schon andere Untersucher. Beispielsweise wurden die fünf dänischen Kalibrierungsseren von zwölf verschiedenen Laboratorien im ersten internationalen Ringversuch (2001) untersucht. Hierbei kamen verschiedene ELISA-Systeme zum Einsatz. Nur fünf Teilnehmer testeten alle Serumproben zutreffend, während mehr als die Hälfte die standardisierten Serumproben falsch bewertete (**271**). Auch in Untersuchungen von Camitz *et al.* (2001), in denen der HerdChek-ELISA und ein zweiter kommerziell erhältlicher ELISA verglichen wurden, stellte man erhebliche Divergenzen bei der Beurteilung der gleichen Proben fest (**57**). Lange (2001) unternahm Vergleichsuntersuchungen mit einem laboreigenen ELISA (in der Literatur nicht näher bezeichnet), mit dem Enterisol[®]-ELISA und mit zwei weiteren kommerziellen ELISA-Systemen (nicht namentlich genannt). Der laboreigene ELISA bewertete drei der zehn Proben (fünf Fleischsaft- und fünf Serumproben) anders als der Enterisol[®]-ELISA. Dagegen stimmte er vollkommen mit den Ergebnissen des einen kommerziellen ELISA überein. Mit dem zweiten kommerziellen ELISA kam es wiederum zu starken Differenzen, da vier von fünf Fleischsaftproben unterschiedlich bewertet wurden (**157**). Auch die Fleischsaft-Vergleichsstudie von Ballagi (2002) machte deutlich, dass die Ergebnisse von verschiedenen ELISA-Testsystemen für dieselben Proben erheblich differieren können (siehe **Tabelle 4**) (**20**). Rösler *et al.* (2007) kamen in einer neueren Studie an vier derzeit auf dem deutschen Markt befindlichen Testsystemen ebenfalls zu sehr deutlich divergierenden Resultaten. So waren die Testsensitivitäten bei einem Cut off-Wert von 40 OD % bis zu 60 % unterschiedlich (**235**).

Die möglichen Ursachen für diese Testunterschiede sind vielfältig. Alle drei hier verwendeten ELISA-Systeme verwenden zwar Salmonellen-LPS- bzw. PS-Mix der O-Antigene 1, 4, 5, 6, 7, 12 bzw. O-Antigene der Serogruppen B, C1, D als Fangantigen, aber untereinander sind die Systeme hinsichtlich der Zusammensetzung des Fangantigens und der Herstellung der Mikrotiterplatten nicht standardisiert. So können die Reaktionsoberflächen der Mikrotiterplatten unterschiedlich abgesättigt sein und die Fangantigene die einzelnen Antigenkomponenten auch in unterschiedlichen Mengen-

verhältnisse enthalten. Auf eine unterschiedliche Absättigung der Plattenoberflächen lässt beispielsweise der Unterschied bei der empfohlenen Verdünnung der Proben (1:40, 1:30, 1:2) schließen. Ferner umfassen die Serogruppen B, C1 und D, die vom LPS-Antigengemisch des HerdChek-ELISAs repräsentiert sind, noch andere O-Antigene als 1, 4, 5, 6, 7 und 12. Dazu kommt, dass die Inkubationszeit für Proben im HerdChek-ELISA um die Hälfte kürzer ist als in den beiden anderen ELISA-Systemen. Eine weitere Quelle für unterschiedliche Messergebnisse sind die Unterschiede hinsichtlich der eingesetzten Kontroll- und Referenzsubstanzen.

Die Divergenz der verschiedenen Testsysteme ist durch die eigenen Untersuchungsergebnisse sowie durch die Ergebnisse anderer Untersucher hinlänglich dokumentiert. Inwieweit sich diese Divergenzen dann auch auf die Kategorisierung der Betriebe auswirken, wurde bisher noch nicht näher untersucht und sollte im Rahmen dieser Studie beleuchtet werden. Aus Kostengründen konnten dabei jedoch nicht alle 30.090 Fleischsaftproben in allen drei ELISA-Systemen parallel untersucht werden. Um sich einer belastbaren Aussage wenigstens anzunähern, wurde eine kleinere Anzahl an Proben aus der Gesamtheit aller Fleischsaftproben, die zuvor mit dem SALMOTYPE[®]-ELISA getestet worden waren, ausgewählt. Die Proben wurden so ausgewählt, dass sie einigermaßen gleichmäßig den gesamten Messbereich des SALMOTYPE[®]-ELISA repräsentierten. Nachdem die Proben in den beiden anderen ELISA-Systemen untersucht worden waren, konnten die Messwerte aller anderen Proben, die in den 200 kategorisierbaren Betrieben gezogen worden waren, mit Hilfe von Hauptkomponentengleichungen per Extrapolation berechnet werden. Diese errechneten Messwerte wurden dann zu einer theoretischen Betriebskategorisierung herangezogen, quasi als ob alle Stichproben auch mit dem Enterisol[®]-ELISA oder dem HerdChek-ELISA getestet worden wären. Dabei zeigte sich, dass die Diskrepanzen zwischen den Bewertungen der einzelnen Proben sich auch in Unterschieden bei der Betriebskategorisierung auswirkten. Diese Unterschiede waren allerdings weniger stark. Insgesamt wurden 143 (71,5 %) der 200 Betriebe von allen drei ELISA-Testsystemen übereinstimmend bewertet. Bei Anwendung des HerdChek-ELISA kamen insgesamt 19 Betriebe um eine Stufe besser weg als mit dem SALMOTYPE[®]-ELISA. Bei Verwendung des Enterisol[®]-ELISA wurden dagegen 38 Betriebe schlechter kategorisiert als mit dem SALMOTYPE[®]-ELISA. Die Unterschiede betrafen immer eine Kategoriestufe.

Die in der vorliegenden Studie und in den Untersuchungen anderer Autoren aufgezeigten Unterschiede dürften in der täglichen Praxis von großer Bedeutung sein.

In Dänemark wird das Bekämpfungsverfahren, das der deutschen Schweine-Salmonellen-Verordnung zugrunde liegt, seit Jahren mit gutem Erfolg praktiziert. Ein Teil des Erfolges ist sicherlich der Tatsache geschuldet, dass dort alle Untersuchungen nur von einem einzigen Labor und unter Nutzung eines einzigen, standardisierten Testsystems inklusive entsprechend einheitlicher Kontroll- und Referenzseren durchgeführt werden. In Deutschland wählte man einen anderen Weg. So sind hier gegenwärtig vier kommerzielle Tests (**Tabelle 3**) zum Nachweis von Salmonellen-spezifischen Antikörpern beim Schwein von der Zulassungsstelle im Friedrich-Löffler-Institut nach § 17c des Tierseuchengesetzes zugelassen, der in dieser Studie noch angewandte SALMOTYPE[®]-ELISA wurde inzwischen vom SALMOTYPE[®] PigScreen abgelöst (**75, 242**). Außerdem werden die serologischen Untersuchungen zur Umsetzung der Schweine-Salmonellen-Verordnung hierzulande von verschiedenen Laboratorien durchgeführt. Es besteht deshalb die Gefahr, dass es im Routinebetrieb zu Diskrepanzen und Unstimmigkeiten kommt. Es scheint sogar möglich, dass das gesamte Überwachungs- und Bekämpfungssystem diskreditiert und von den betroffenen Tierhaltern abgelehnt wird. Eine andere Folge könnte sein, dass sich Endmäster gezielt dasjenige Labor suchen, das den am wenigsten sensitiven Test verwendet. Zur Qualitätssicherung in der Diagnostik ist es deshalb unbedingt erforderlich, dass die verschiedenen zugelassenen Testsysteme aufeinander abgestimmt werden. Dies könnte beispielsweise durch die Verwendung von bundesweit oder sogar international einheitlichen Referenzseren und Korrekturfaktoren bewerkstelligt werden. Darüberhinaus sollten die Messqualität und Leistungsfähigkeit der involvierten Untersuchungseinrichtungen in Ringversuchen laufend geprüft werden. Beispielsweise fordert die QS-GmbH, die das nunmehr bundesweit gültige Salmonellen-Überwachungssystem bereits einige Zeit vorher für ein eigenes Markenfleischprogramm eingeführt hatte, von den bei ihr akkreditierten Laboren, dass diese einmal jährlich an Ringversuchen zum Nachweis von Antikörpern gegen Salmonellen beim Schwein teilnehmen (**13**).

5 Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, einen Beitrag zur Einschätzung der *Salmonella*-Seroprävalenz bei Schlachtschweinen in Baden-Württemberg zu leisten und eventuelle betriebliche Risikofaktoren für den serologischen *Salmonella*-Status zu erfassen. Ferner sollte geprüft werden, inwieweit der serologische Status eines Betriebs ein Indikator für das tatsächliche Vorkommen von *Salmonella* spp. und auch für *Campylobacter* spp. in dem Betrieb sein kann. In einer weiteren Versuchsreihe wurde untersucht, ob drei zugelassene kommerzielle ELISA-Systeme zum Nachweis von *Salmonella*-spezifischen Antikörpern beim Schwein im Hinblick auf die Umsetzung der Schweine-Salmonellen-Verordnung vergleichbare Ergebnisse liefern.

Zur Ermittlung der Seroprävalenz von Salmonellen-Infektionen bei Schweinen in Baden-Württemberg wurden im Zeitraum von Oktober 2001 bis Juli 2004 Fleischsaftproben von insgesamt 30.090 Schlachtschweinen aus 291 Betrieben mit dem SALMOTYPE[®]-ELISA auf *Salmonella*-LPS-Antikörper untersucht. Insgesamt reagierten 1.226 Tiere (4,1 %) serologisch positiv. Quartalsweise schwankte dieser Prozentsatz zwischen 1,5 und 5,5 %. Seropositive Reagenten waren in 201 von 291 untersuchten Betrieben (69,1 %) nachweisbar. Der Anteil serologisch positiver Schlachtschweine lag bei 275 (94,5 %) Betrieben bei maximal 20,0 %. 200 Betriebe lieferten innerhalb von zwölf aufeinander folgenden Monaten wenigstens einmal die nach dem Stichprobenplan erforderliche Anzahl von Fleischsaftproben und konnten gemäß der Schweine-Salmonellen-Verordnung (Entwurf vom 20.04.2005) kategorisiert werden: 99 Betriebe (49,5 %) fielen in Kategorie 0, 92 Betriebe (46,0 %) in Kategorie I, acht Betriebe (4,0 %) in Kategorie II und nur ein Betrieb (0,5 %) in Kategorie III. Mit einer Korrelationsanalyse ließ sich nur für den Parameter „Betriebsgröße“ — gemessen an der Anzahl der Mastplätze — ein Zusammenhang zu den serologischen Testergebnissen statistisch sichern. So war die Betriebsgröße signifikant positiv mit dem Anteil seropositiver Schlachtschweine pro Betrieb korreliert ($p = 0,01$ bei allen 291 Betrieben; $p = 0,05$ bei den 200 kategorisierbaren Betrieben).

Aus 124 Betrieben wurden von Januar 2003 bis Juli 2004 auch Kotproben von Endmastschweinen kulturell-bakteriologisch auf *Salmonella* spp., *C. jejuni* und *C. coli* untersucht. Salmonellen waren in 13 (10,5 %) der 124 untersuchten Betriebe zu isolieren, *Campylobacter* spp. in 63 (50,8 %) der Betriebe. Die isolierten Salmonellen gehörten den Serovaren *S. Typhimurium* ($n = 11$) und *S. Enteritidis* ($n = 2$) an. Dabei bestand eine positive Korrelation zu den serologischen Befunden in den Betrieben ($p = 0,04$). So war der Anteil von kulturell-bakteriologisch *Salmonella*-positiv getesteten

Betrieben umso größer, je höher die Kategorie war, in die die Betriebe aufgrund der serologischen Ergebnisse eingestuft worden waren. Salmonellen wurden aber auch bei Schweinen in 2 (4,5 %) von 44 kulturell-bakteriologisch untersuchten Betrieben der Kategorie 0 gefunden. Das Vorkommen von *Campylobacter* spp. war mit dem serologischen *Salmonella*-Status der Betriebe nicht korreliert ($p > 0,05$).

Die Prüfung der drei ELISA-Testsysteme SALMOTYPE[®]-ELISA, Enterisol[®]-ELISA und HerdChek-ELISA auf Übereinstimmung wurde an 687 repräsentativen Fleischsaftproben vorgenommen. Dabei korrelierten die im HerdChek-ELISA ermittelten Antikörpertiter nur wenig mit denjenigen, die im SALMOTYPE[®]-ELISA und im Enterisol[®]-ELISA gemessen wurden (Korrelationskoeffizienten 0,333 und 0,246). Der SALMOTYPE[®]-ELISA und der Enterisol[®]-ELISA korrelierten in ihren Ergebnissen besser miteinander (0,787). In der Bewertung der Proben in seropositiv und seronegativ machte sich das in einer Übereinstimmung bei 78,2 % (SALMOTYPE[®]-ELISA und Enterisol[®]-ELISA) bzw. 63,2 % (HerdChek-ELISA und Enterisol[®]-ELISA) bzw. 68,7 % (HerdChek-ELISA und SALMOTYPE[®]-ELISA) der Fleischsaftproben bemerkbar. Insgesamt führten alle drei Testsysteme nur bei 55,0 % der Proben zu derselben Bewertung. Anhand der ermittelten Korrelationen wurden die Messergebnisse der repräsentativen Fleischsaftproben auf alle 30.090 Fleischsaftproben extrapoliert. Die Analyse der extrapolierten Antikörpertiter ergab, dass sich die testbedingten Unterschiede auch auf die Kategorisierung der Betriebe auswirken würden. So wären insgesamt 57 von 200 Betrieben (28,5 %) unterschiedlich kategorisiert worden, und zwar 28 (28,3 %) der mit dem SALMOTYPE[®]-ELISA als Kategorie 0 eingestuften Betriebe, 22 (23,9 %) der Kategorie-I-, 6 (75,0 %) der Kategorie-II-Betriebe sowie der Kategorie-III-Betrieb (100 %).

Nach diesen Ergebnissen sind ca. 70 % der dem Landeskontrollverband Baden-Württemberg (LKV) angeschlossenen Schweinemastbetriebe mit Salmonelleninfektionen bei ihren Tieren konfrontiert. Die meisten Betriebe sind jedoch nur geringgradig belastet. Um die Qualität und Akzeptanz der serologisch basierten Kategorisierung von Betrieben zu sichern, sollten die zugelassenen Testsysteme deutschlandweit standardisiert werden.

5 Summary

The aim of this study was to assess the *Salmonella* seroprevalence and farm associated risk factors for infection in slaughter pigs in the federal state of Baden-Württemberg, Germany. In addition, it was analyzed whether the serological status of a herd may be a useful indicator for pigs shedding *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp. with their feces. In a second experimental setting three approved commercial ELISA systems were assessed for their capability to provide comparable results in the detection of *Salmonella*-specific antibodies in pigs with regard to the German legislation (“Pig *Salmonella* Regulation”, “Schweine-Salmonellen-Verordnung”).

To determine the seroprevalence of *Salmonella* infections, meat juice samples were collected from a total of 30,090 slaughter pigs originating from 291 farms in Baden-Württemberg (time frame: October 2001 through July 2004). Samples were analyzed for the presence of *Salmonella*-LPS antibodies using the SALMOTYPE[®]-ELISA. A total of 1,226 animals (4.1 %) were tested positive. This percentage fluctuated quarterly between 1.5 % and 5.5 %. Seropositive pigs were detected in 201 out of 291 farms (69.1%). In 275 farms (94.5 %), the percentage of serologically positive slaughter pigs was not greater than 20.0 %. Only 200 farms provided at least once the minimum annual number of meat juice samples requested by the sampling plan of the Pig *Salmonella* Regulation (draft of 20.04.2005). These farms were categorized as follows: category 0, 99 farms (49.5 %); category I, 92 farms (46.0 %); category II, eight farms (4.0 %); category III, one farm (0.5 %). Statistical analysis revealed that the serological test results correlated with the farm size, i.e. the percentage of seropositive slaughter pigs in a farm was correlated positively with the number of fattening spaces in that facility ($p = 0.01$ for all 291 facilities; $p = 0.05$ for the 200 categorized farms).

In addition to serological tests, slaughter pigs from 124 farms were tested for *Salmonella* spp., *C. jejuni* and *C. coli* by fecal culture (time frame: January 2003 through July 2004). *Salmonella* were isolated in samples from 13 (10.5 %) of the farms tested. *Campylobacter* spp. were found in 63 (50.8 %) facilities. *Salmonella* isolates were classified as serovars Typhimurium ($n = 11$) and Enteritidis ($n = 2$). Bacterial culture results correlated positively with serological findings ($p = 0.04$), i.e. the higher the serological category, the greater the percentage of *Salmonella* shedders in the herd. However, *Salmonella* were also isolated from pigs in two of the 44 category-0-

farms (4.5 %). No correlation was detectable when comparing shedders of *Campylobacter* spp. and the serological *Salmonella* status of the farms ($p > 0.05$).

Representative meat juice samples ($n = 687$) were selected to compare the test results of three commercially available ELISA systems (SALMOTYPE[®]-ELISA, Enterisol[®]-ELISA, HerdChek-ELISA). Antibody titers determined in the HerdChek-ELISA correlated weakly when compared to those measured in the SALMOTYPE[®]-ELISA and the Enterisol[®]-ELISA (correlation coefficients 0.333 and 0.246, respectively). A stronger correlation was observed when comparing the SALMOTYPE[®]-ELISA and the Enterisol[®]-ELISA (0.787). Identical test results (seronegative or seropositive) were obtained in 78.2 % (SALMOTYPE[®]-ELISA and Enterisol[®]-ELISA), 63.2 % (HerdChek-ELISA and Enterisol[®]-ELISA) and 68.7 % (HerdChek-ELISA and SALMOTYPE[®]-ELISA) of the tested meat juice samples, respectively. Overall, only 55.0 % of the samples were classified identically by all three test systems. Based on these calculated correlations, the results of the 687 representative meat juice samples were extrapolated to all 30,090 meat juice samples. The analysis of these extrapolated antibody titers revealed that the test-related differences would also affect the categorization of farms. Thus, 57 of the 200 categorized farms (28.5 %) would have been assigned to a different category if another ELISA had been used than the SALMOTYPE[®]-ELISA. In detail, 28 (28.3 %) of the category-0-farms, 22 (23.9 %) of the category-I-farms, six (75.0 %) of the category-II-farms, and the category-III-farm (100 %) would have been assigned to a different category.

Based on these results, approximately 70 % of the pig fattening farms that are members of the Landeskontrollverband Baden-Württemberg (LKV – State Monitoring Association Baden-Württemberg) harbor *Salmonella* infected animals. However, in the majority of farms the percentage of infected pigs is rather small. In order to guarantee the quality and acceptance of the serologically based categorization system, the approved ELISA systems should be standardized on a national level.

6 Literaturverzeichnis

1. **Ahrens, A.** 2002. Epidemiologische Untersuchungen zum Vorkommen von Salmonellen bei sächsischen Mastschweinen mittels Fleischsaft-ELISA Technik und bakteriologischer Untersuchungsmethodik nach der amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG. Vet. med. Diss., Universität Leipzig.
2. **AbuOun, M., G. Manning, S. A. Cawthraw, A. Ridley, I. H. Ahmed, T. M. Wassenaar, D. G. Newell.** 2005. Cytolethal distending toxin (CDT) negative *Campylobacter jejuni* strains and anti-CDT neutralizing antibodies are induced during human infection but not during colonization in chickens. Infect. Immun. **73** (5): 3053-3062.
3. **Alban, L., H. Stege, J. Dahl.** 2002. The new classification system for slaughter-pig herds in the Danish *Salmonella* surveillance-and-control program. Prev. Vet. Med. **53** (1-2): 133-146.
4. **Alpers, K., A. Jansen.** 2004. Infektionen mit Salmonellen beim Menschen. In: M. Hartung (Hrsg.) Epidemiologische Situation der Zoonosen in Deutschland im Jahr 2003. Berlin. BfR Wissenschaft: 15-18.
5. **Altekruse, S. F., N. J. Stern, P. I. Fields, D. L. Swerdlow.** 1999. *Campylobacter jejuni* – an emerging foodborne pathogen. Emerg. Inf. Dis. **5** (1): 28-35.
6. **Alter T., G. Glünder.** 2008. Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR). *Campylobacter*- die EU-Perspektive: aktuelle Forschungsansätze, Monitoringprogramme, Ausblick. Geflügeltagung 2008. Gemeinsame Tagung von BVET und WPSA Gruppe Schweiz. Zollikofen, 28.2.2008.
7. **Alter, T., S. Kasimir, M. Gurtler, K. Fehlhaber.** 2005. Distribution and genetic characterization of porcine *Campylobacter coli* isolates. Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr. **118** (5-6): 214-219.
8. **Althouse, C., S. Patterson, P. Fedorka-Cray, R. E. Isaacson.** 2003. Type 1 Fimbriae of *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium bind to enterocytes and contribute to colonization of swine in vivo. Infect. Immun. **71** (11): 6446-6452.
9. **Ammon, A., W. H. Mehnert, I. Schöneberg, W. Hellenbrand.** 2000. Human infections with *Salmonella*. In: M. Hartung (Hrsg.) Bericht über die epidemiologische Situation der Zoonosen in Deutschland für 1999. Übersicht über die Meldungen der Bundesländer Berlin. BgVV-Heft **08**: 15-18.
10. **Anderson, A. D., J. M. Nelson, S. Rossiter, F. J Angulo.** 2003. Public health consequences of use of antimicrobial agents in food animals in the United States. Microb. Drug Resist. **9**: 373-379.
11. **Andrews, G. P.** 1998. The enteric *Campylobacter*: they are everywhere. Clin. Lab. Sci. **11** (5): 305-308.

12. **Anonymus.** 2005. Presseinformation. QS hält am Salmonellenmonitoring fest. www.q-s.info (letzter Zugriff am 13.4.2010).
13. **Anonymus.** 2010. Programme zum Monitoring und zur Reduzierung von lebensmittelassoziierten Zoonoseerregern im Rahmen des QS-Prüfzeichens: I. Salmonellenmonitoring- und -reduzierungsprogramm für die Schweinefleischerzeugung. Leitfaden, Version: 01.01.2010.
14. **Arnold, T., U. Rösler, H. Marg, H. Scholz, A. Hensel.** 2003. Einfluss von Langzeit-Transportstress und/oder einer persistenten *Salmonella* Typhimurium-Infektion auf die spätere Produktqualität vom Schwein stammender Lebensmittel. Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e.V. (DVG). Der 25. Kongress. Berlin, 3.-4.4.2003. Tagungsbericht: 403-408.
15. **Atanassova, V., C. Ring.** 2000. *Campylobacter* – ein bedeutender Infektionserreger. Fleischwirtschaft **5**: 78-82.
16. **Atanassova, V., C. Ring.** 2000a. *Campylobacter* spp. – ein vernachlässigtes Infektionsrisiko. Amtstierärztlicher Dienst und Lebensmittelkontrolle. Bundesverband der beamteten Tierärzte (BbT). 7. Jahrgang. I/2000.
17. **Atanassova, V., C. Ring.** 2001. Zur Epidemiologie von *Campylobacter* in Geflügelfleisch aus Ländern der EU. Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e.V. (DVG). 42. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene. Garmisch-Partenkirchen, 25.-28.9.2001. Tagungsbericht: 459-460.
18. **Bager, F., H.-D. Emborg, L. L. Sorensen, C. Halgaard, P. T. Jensen.** 1995. Salmonellenkontrolle in dänischem Schweinefleisch. Fleischwirtschaft **75**: 141-142.
19. **Baggesen, D. L., H. C. Wegener, F. Bager, H. Stege, J. Christensen.** 1996. Herd prevalence of *Salmonella enterica* infections in Danish slaughter pigs determined by microbiological testing. Prev. Vet. Med. **26** (3-4): 201-213.
20. **Ballagi, A., C. Goetz, A. Camitz, A. Fuchs, A. Hjalmarsson, G. Holmquist.** 2003. IDEXX Skandinavia AB, Österbybruk, Schweden, IDEXX GmbH, Wörrstadt, Deutschland, IDEXX LABORATORIES, Westbrook, Maine, U.S.A. HerdChek-Swine-*Salmonella*-Testkit zum Nachweis von Antikörpern gegen Salmonellen beim Schwein. 22. Arbeits- und Fortbildungstagung des Arbeitskreises für veterinärmedizinische Infektionsdiagnostik (AVID) der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft e.V. (DVG). Kloster Banz, Staffelstein, 17.-19.9.2003.
21. **Bär, W., G. Fricke.** 1987. Rapid and improved gas-liquid chromatography technique for detection of hippurate hydrolysis by *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. J. Clin. Microbiol. **25** (9): 1776-1778.
22. **Barber, D., R. M. Weigel, R. E. Isaacson, P. B. Bahnson, C. J. Jones.** 2002. Distribution of *Salmonella* in swine production ecosystems.

- J. Food Prot. **65**: 1861-1868.
23. **Bauer, J., S. Hörmannsdorfer.** 1995. Salmonellosen bei Nutztieren. Fleischwirtschaft **75**: 958-960.
24. **Baum, D. H, D. L. Harris, B. Nielsen.** 1999. Serologic and bacteriological responses of pigs infected with three serotypes of *Salmonella*. 3rd International Symposium on the epidemiology and control of *Salmonella* in pork. Washington D.C., 5.-7.8.1999. Proceedings: 22-23.
25. **Bäumler, A. J., R. M. Tsois, F. Heffron.** 1996. Contribution of fimbrial operons to attachment to invasion of epithelial cell lines by *Salmonella* Typhimurium. Infect. Immun. **64** (5): 1862-1865.
26. **Bäumler, A. J., R. M. Tsois, T. A. Ficht, L. G. Adams.** 1998. Evolution of host adaption in *Salmonella enterica*. Infect. Immun. **66** (10): 4579-4587.
27. **Baylis, C. L., S. MacPhee, K. W. Martin, T. J. Humphrey, R. P. Betts.** 2000. Comparison of three enrichment media for the isolation of *Campylobacter* spp. from foods. J. Appl. Microbiol. **89** (5): 884–891.
28. **Berends, B. R., H. A. P. Urlings, J. M. A. Snijders, F. Van Knapen.** 1996. Identification and quantification of risk factors in animal management and transport regarding *Salmonella* in pigs. Int. J. Food Microbiol. **30** (1-2): 37-53.
29. **Bereswill, S., M. Kist.** 2002. Molecular microbiology and pathogenesis of *Helicobacter* and *Campylobacter* updated: a meeting report of the 11th conference on *Campylobacter*, *Helicobacter* and related organisms. Mol. Microbiol. **45**: 255-262.
30. **Bisping, W., G. Amtsberg.** 1988. Colour atlas for the diagnosis of bacterial pathogens in animals. Paul Parey Verlag. Berlin und Hamburg.
31. **Blaha, T.** 1993. The diffusion dynamics of Salmonellae in animal herds. Dtsch. Tierärztl. Wochenschr. **100** (7): 278-280.
32. **Blaha, T.** 2003a. Implementing a *Salmonella* monitoring programme for pork in Germany. Safe Pork. 5th International Symposium on the epidemiology and control of food borne pathogens in pork. Kreta, 1.-4.10.2003. Proceedings: 200-202.
33. **Blaha, T.** 2003b. Was bringt die geplante Salmonellen-Verordnung? Top Agrar **2**: 10–11.
34. **Blaha, T.** 2007. Frühzeitige Reaktionsmöglichkeiten der Betriebe als erstem Glied der Lebensmittelkette. QS-/ZDS (Zentralverband der Deutschen Schweineproduktion e.V.) Workshop: Salmonellenüberwachung / -bekämpfung. QS-/ZDS-Fachtagung. Kassel, 18.10.2007.
www.zds-Bonn.de/cms/download.php/1196/blaha_neu.pdf
(letzter Zugriff am 13.4.2010).

35. **Boehringer Ingelheim.** 2002. Enterisol® SALMONELLEN-DIAGNOSTIKUM. In Vitro-Diagnostikum zum Nachweis von Antikörpern gegen *Salmonella* Typhimurium und *Salmonella* Choleraesuis und *Salmonella* Infantis in Blutserum, Blutplasma und Fleischsaft bei Schweinen. Gebrauchsinformation, entsprechend §17c TierSG zugelassen. Zulassungs-Nr. BGVV-B 341.
36. **Boes, J, L. Nersting, E. M. Nielsen, S. Kranker, C. Enøe, H. C. Wachmann, D. L. Baggesen.** 2005. Prevalence and diversity of *Campylobacter jejuni* in pig herds on farms with and without cattle or poultry. J. Food Prot. **68** (4): 722-727.
37. **Böhm, R.** 1993. Verhalten ausgewählter Salmonellen in der Umwelt. Dtsch. Tierärztl. Wochenschr. **100**: 275-278.
38. **Borrmann, E., I. Hänel, T. Alter.** 2003. *Campylobacter-jejuni*-Isolate von Putenschlachtkörpern – Genotypische und phänotypische Charakterisierung. Bundesinstitut für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft. Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der Tiere. Jahresbericht: 157-159.
39. **Both, G., K. Möller, F. W. Busse, E. Nitzschke, D. Jonas.** 1982. Untersuchungen über das Vorkommen von Salmonellen in klinisch gesunden Schweinezuchtbeständen. Dtsch. Tierärztl. Wochenschr. **89**: 3-6.
40. **Botteldoorn, N., M. Hendrickx, N. Rijpens, L. Herman.** 2001. Prevalence of *Salmonella*, *Campylobacter* and VTEC on pig farms. Meded. Rijksuniv. Gent Fak. Landbouwk. Toegep. Biol. Wet. **66** (3b): 373-80.
41. **Botteldoorn, N., M. Heyndrickx, N. Rijpens, L. Herman.** 2001. The prevalence of *Salmonella* and *Campylobacter* and VTEC in pig farms. 4th International Symposium on the epidemiology and control of *Salmonella* and other food borne pathogens in pork. Leipzig, 2.-5.9.2001. Proceedings: 139-142.
42. **Boyd, E. F., F.-S. Wang, T. S. Whittam, R. K. Selander.** 1996. Molecular genetic relationships of the Salmonellae. Appl. Environ. Microbiol. **62** (3): 804-808.
43. **Brenner, F. W., R. G. Villar, F. J. Angulo, R. Tauxe, B. Swaminathan.** 2000. *Salmonella* Nomenclature. J. Clin. Microbiol. **38** (7): 2465-2467.
44. **Broman, T., H. Palmgren, S. Bergstöm, M. Sellin, J. Waldenström, M. L. Danielsson-Tham, B. Olsen.** 2002. *Campylobacter jejuni* in black-headed gulls (*Larus ridibundus*): prevalence, genotypes and influence on *C. jejuni* epidemiology. J. Clin. Microbiol. **40** (12): 4594-4602.
45. **Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin (BgVV).** 1998. *Campylobacter jejuni* - als Erreger bakterieller Lebensmittelinfektionen vielfach unterschätzt.

Pressemitteilung 06/1998, 9.3.1998.

46. **Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin (BgVV).** 2000/2001. Sonderforschungs-zwischenbericht *Campylobacter jejuni*: Nachweis und Charakterisierung von Virulenzfaktoren sowie Untersuchungen zur Beeinflussung des Infektionsverlaufes. 3-8.
47. **Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR).** 2006a. Erhebung des Vorkommens von *Campylobacter* spp. bei Masthähnchen in Deutschland (*Campylobacter*-Monitoring-Projekt): Endbericht: 1-10.
48. **Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR).** 2008. Grundlagenstudie zur Erhebung der Prävalenz von Salmonellen in Mastschweinen: Bericht des BfR vom 20. Februar 2008. 1-9.
49. **Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten (BMELF).** 1998. Bekanntmachung der Leitlinien für ein Programm zur Reduzierung des Eintrags von Salmonellen durch Schlachtschweine in die Fleischgewinnung. Bundesanzeiger **44**: 2905.
50. **Bundesministerium für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft (BMVEL).** 2002. Entwurf: Verordnung zur Verminderung des Salmonelleneintrags durch Schlachtschweine bei der Fleischgewinnung. BMVEL Referat 323 (323-3602-5/3), BMVEL Referat 317 (317-7543-17/19).
51. **Bundesministerium für Ernährung Landwirtschaft und Verbraucher schutz (BMELV).** 2004. Verordnung über meldepflichtige Tierkrankheiten. Bundesgesetzblatt **58**: 2791.
52. **Bundesministerium für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft (BMVEL).** 2005. Entwurf: Verordnung zur Verminderung des Salmonelleneintrags durch Schlachtschweine bei der Fleischgewinnung. BMVEL Referat 323 (323-3602-5/3), BMVEL Referat 329 (329-7543-17/19). Stand 20.4.2005.
53. **Bundesministerium für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft (BMVEL).** 2005. Entwurf: Verordnung zur Verminderung des Salmonelleneintrags durch Schlachtschweine bei der Fleischgewinnung. BMVEL Referat 323 (323-3602-5/3), BMVEL Referat 329 (329-7543-17/19). Stand 28.6.2005.
54. **Bundesministerium für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft (BMVEL).** 2007. Verordnung zur Verminderung der Salmonellenverbreitung durch Schlachtschweine (Schweine-Salmonellen-Verordnung) 13.3.2007.
55. **Butzler, J. P.** 2004. *Campylobacter*, from obscurity to celebrity. Clin. Microbiol. Infect. **10** (10): 868-876.
56. **Callaway T. R., J. L. Morrow, K. J. Dowd, J. Carroll, J. W. Dailey, R. B. Harvey, T. L. Poole, R. C. Anderson, D. J. Nisbet.** 2006. Social Stress increases fecal shedding of *Salmonella* Typhimurium by early weaned piglets. Curr. Issues Intest. Microbiol. **7** (2): 65-71.

57. **Camitz, A., G. Holmquist, A. and Rodgers, S.** 2001. HerdChek *Salmonella* antibody ELISA for serological monitoring of *Salmonella* infection in swine. 4th International Symposium on the epidemiology and control of *Salmonella* and other food borne pathogens in pork. Leipzig, 2.-5.9.2001. Proceedings: 505-508.
58. **Carstensen, B., J. Christensen.** 1998. Herd size and sero-prevalence of *Salmonella enterica* in Danish swine Herds: a random effects model for register data. *Prev. Vet. Med.* **34** (2-3): 191-203.
59. **Chaunchoy, S.** 2003. Assessment of *Salmonella* contamination using an antibody-ELISA test and a PCR technique in pigs at slaughter and on farm level. *Vet. med. Diss., Tierärztliche Hochschule Hannover.*
60. **Chiu, C.-H., L.-H. Su, C. Chu.** 2004. *Salmonella enterica* serotype Cholerasuis: epidemiology, pathogenesis, clinical disease and treatment. *Clin. Microbiol. Rev.* **17** (2): 311-322.
61. **Conraths, F. J., M. Ganter unter Mitwirkung einer Arbeitsgruppe „Betriebsberatung“ im Zentralverband der Deutschen Schweineproduktion e. V. (ZDS).** 1999. Checkliste für eine Statuserhebung "Salmonellen im Schweinebestand". Persönliche schriftliche Mitteilung von Dr. Michael Buchholz, Leiter Abteilung Erzeugerringe; Projektmanagement; Schwerpunkt Schweinemast (LKV Baden-Württemberg) und Markus Jurich, EDV- und Projektbetreuung; Energieberatung (LKV Baden-Württemberg).
62. **Criss, A. K., D. M. Ahlgren, T-S. Jou, B. A. McCormick, J. E. Casanova.** 2001. The GTPase Rac1 selectively regulates *Salmonella* invasion at the apical plasma membrane of polarized epithelial cells. *J. Cell. Sci.* **114** (7): 1331-1341.
63. **Czerny, C.-P., K. Osterkorn, G. Wittkowski, M. Huber.** 2001. Meat juice ELISA for determination of *Salmonella* incidence in slaughter pig herds in Bavaria. *Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr.* **114** (1-2): 35-39.
64. **Dahl, J., A. Wingstrand, D. L. Baggesen, B. Nielsen.** 1997. *Salmonella* reduction at the farm level. 2nd International Symposium on epidemiology and control of *Salmonella* in pork. Copenhagen, Denmark, 20.-22.8.1997. Proceedings: 182-184.
65. **Dahl, J., A. Wingstrand, D. L. Baggesen, B. Nielsen.** 1997a. Elimination of *Salmonella* Typhimurium infection by the strategic movement of pigs. *Vet. Rec.* **140** (26): 679-681.
66. **Daniels, M. J., Y. Zhang, M. M. Erdman, I. T. Harris.** 2001. Experience with the Danish Mix-ELISA in the United States. 4th International Symposium on the epidemiology and control of *Salmonella* and other food borne pathogens in pork. Leipzig, 2.-5.9.2001. Proceedings: 492-495.
67. **Danuser, J.** 2002. Zoonoseüberwachung am Beispiel der Campylobacteriose. *BbT. Bundesverband der beamteten Tierärzte.* Bad Staffelstein, 22.-23.4.2002. Kongressbericht: 85-94.

68. **Darwin, K. H., V. L. Miller.** 1999. Molecular basis of the interaction of *Salmonella* with the intestinal mucosa. Clin. Microbiol. Rev. **12** (3): 405-428.
69. **Dassanayake, R. P., Y. Zhou, S. Hinkley, C. J. Stryker, G. Plauche, J. T. Borda ´, K. Sestak, G. E. Duhamel.** 2005. Characterization of cytolethal distending toxin of *Campylobacter* species isolated from captive macaque monkeys. J. Clin. Microbiol. **43** (2): 641-649.
70. **Davies, P. R., F. T. Jones, W. E. M. Morrow, J A. Funk, F. G. Bovee.** 1997. *Salmonella* serotypes in multiple-site production system. 2nd International Symposium on epidemiology and control of *Salmonella* in pork. Copenhagen, Denmark, 20.-22.8.1997. Proceedings: 142-144.
71. **Davies, P. R., P. K. Turkson, J. A. Funk, M. A. Nichols, S. R. Ladely, P. J. Fedorka-Cray.** 2000. Comparison of methods for isolation *Salmonella* bacteria from faeces of naturally infected pigs. J. Appl. Microbiol. **89** (1): 169-177.
72. **Day, W. A. Jr., J. L. Sajewski, T. M. Pitts, A. J. Joens.** 2000. Role of catalase in *Campylobacter jejuni* intracellular survival. Inf. Immun. **68** (11): 6337-6345.
73. **De Melo, M. A., J. C. Pechère.** 1990. Identification of *Campylobacter jejuni* surface proteins that bind to eucaryotic cells in vitro. Infect. Immun. **58** (6): 1749-1756.
74. **Dedié, K., J. Bockemühl, H. Kühn, K.-J. Volkmer, T. Weinke.** 1993. Bakterielle Zoonosen bei Mensch und Tier. Ferdinand Enke Verlag Stuttgart.
75. **Dorn, C., K. Nöckler.** 2006. Bundesinstitut für Risikobewertung. ZDS-Fachtagung. Kassel, 11.12.2006.
76. **Edel W., E. H. Kampelmacher.** 1970. *Salmonella* in mesenteric and portal lymph nodes and faeces from normal slaughter-pigs. Zbl. Vet. Med. B **17**: 875-879.
77. **Ehlers, J., M. Alt, D. Trepnau, J. Lehmann.** 2006. Anwendung neuer Immunglobulin-isotypspezifischer ELISA-Systeme zur Erkennung von Salmonelleninfektionen bei Schweinen. Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr. **119** (11-12): 461-466.
78. **Ekperigin, H. E., K. V. Nagaraja.** 1998. Microbial food borne pathogens. *Salmonella*. Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. **14** (1): 17-29.
79. **Enøe, C., J. Boes, B. Nielsen.** 2003. Evaluation of diagnostic methods used in zoonosis-surveillance programs. Safe Pork. 5th International Symposium on the epidemiology and control of food borne pathogens in pork. Kreta, 1.-4.10.2003. Proceedings: 5-11.
80. **Enøe, C., S. Andreson, H. Wachmann, L. L. Sørensen.** 2001. Estimation of sensitivity and specificity of an indirect enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for detection of antibodies

- against *Salmonella enterica* in meat juice and of microbiological examination of caecal content and mesenteric caecal lymph nodes for *S. enterica*. 4th International Symposium on the epidemiology and control of *Salmonella* and other food borne pathogens in pork. Leipzig, 2.-5.9.2001. Proceedings: 518-520.
81. **Everst, P. H., H. Goossens, J. P. Butzler, D. Lloyd, S. Knutton, J. M. Ketley, P. H. Williams.** 1992. Differentiated CaCo-2 cells as a model for enteric invasion by *Campylobacter jejuni* and *C. coli*. J. Med. Microbiol. **37** (5): 319-325.
82. **Fehlhaber, K.** 2001. Schwierigkeiten und Defizite in der Bekämpfung Lebensmittel bedingter Salmonellosen. Fleischwirtschaft **11**: 108-110.
83. **Fehlhaber, K., A. Krüger, M. Schnabel, H. W. Krutsch.** 1996. Untersuchungen zum *Salmonella*-Vorkommen bei tauglich beurteilten Schlachtschweinen. Fleischwirtschaft **76**: 1167-1169.
84. **Feierl, G.** 2004. Epidemiologie, Klinik und Therapie der Campylobacteriose. Krankenhaushygiene Fortbildungstage. Europahaus Wien. 13.-14.9.2004.
85. **Feldhusen, F.** 2006. Die aktuelle epidemiologische Situation aus veterinärmedizinischer Sicht -*Salmonella, Campylobacter*-. 15. Gemeinschaftstagung der Amtsärzte und Amtstierärzte im öffentlichen Dienst. Schlemmin, 11.12.2006.
86. **Foster, G., B. Holmes, A. G. Steigerwalt, P. A. Lawson, P. Thorne, D. E. Byrer, H. M. Ross, J. Xerry, P. M. Thompson, M. D. Collins.** 2004. *Campylobacter insulaenigrae* sp. nov., isolated from marine mammals. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. **54** (6): 2369-2373.
87. **Fries, R., C. Hilbert, D. Jaeger, M. Oetjen.** 2002. Zoonoseerreger in der Gewinnung von Schweinefleisch - Herkunftsbezogene Aufschlüsselung. DVG: 43. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene. Garmisch-Partenkirchen, 24.-27.9.2002. Tagungsbericht: 326-331.
88. **Fuchs, K., A. Deutz, J. Köfer, P. Wagner.** 2000. Influence of diagnostic tests estimating prevalence during surveillance programs. Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr. **113** (9): 348-351.
89. **Funk, J. A., P.R. Davies, W. Gebreyes.** 2001. Risk factors associated with *Salmonella enterica* prevalence in three-site swine production systems in North Carolina, U.S.A. Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr. **114** (9-10): 335-338.
90. **Gabert, J., B. Schalch, B. Greil, B. Sperner, A. Stolle, C. Weber, T. Kramer.** 1999. The use of a commercial test system (SALMOTYPE[®]-ELISA) for tracing antibodies against *Salmonella* in the serum of pigs. 3rd International Symposium on the epidemiology and control of *Salmonella* in pork. Washington D.C., 5.-7.8.1999. Proceedings: 38-42.
91. **Galán, J. E., D. Zhou.** 2000. Striking a balance: Modulation of the actin

- cytoskeleton by *Salmonella*. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. **97** (16): 8754-8761.
92. **Gareis, M.** 1995. Salmonellen – Ein Überblick. Fleischwirtschaft **75**: 954-957.
93. **Garth, L. A., M. Hensel.** 2006. Manipulating cellular transport and immune responses: dynamic interactions between intracellular *Salmonella enterica* and its host cells. Cell. Microbiol. **8** (5): 728-737.
94. **Gaull, F.** 2002. Vorkommen thermophiler *Campylobacter* spp. bei Schweinen im Betrieb und auf dem Schlachthof, auf Putenschlachtetierkörpern und in Lebensmitteln tierischen Ursprungs-Typisierung der Isolate mit molekularbiologischen Fingerprintmethoden und Vergleich der Isolate untereinander und mit humanen Isolaten. Vet. med. Diss., Universität Leipzig.
95. **Gaull, F., T. Alter, A. Froeb, K. Fehlhaber.** 2001. *Campylobacter* in pigs: an epidemiological study. 4th International Symposium on the epidemiology and control of *Salmonella* and other food borne pathogens in pork. Leipzig, 2.-5.9.2001. Proceedings: 149-151.
96. **Gaull, F., T. Alter, A. Froeb, K. Fehlhaber.** 2001a. Nachweis und Typisierung von *Campylobacter*-Spezies bei Schweinen und Vergleich mit Isolaten anderer Herkunft. DVG: 42. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene. Garmisch-Partenkirchen, 25.-28.9.2001. Tagungsbericht: 126-131.
97. **Gaynor, E. C., D. H. Wells, J. K. MacKichan, S. Falkow.** 2005. The *Campylobacter jejuni* stringent response controls specific stress survival and virulence-associated phenotypes. Mol. Microbiol. **56** (1): 8-27.
98. **Gebreyes, W. A., P. B. Bahnson, J. A. Funk, W. E. M. Morrow, S. Thakur.** 2003. *Campylobacter* prevalence and diversity in antimicrobial free and conventionally reared market swine. Safe Pork. 5th International Symposium on the epidemiology and control of food borne pathogens in pork. Kreta, 1.-4.10.2003. Proceedings: 49-51.
99. **Gebreyes, W. A., S. Thakur, W. E. Morgan Morrow.** 2005. *Campylobacter coli*: prevalence and antimicrobial resistance in antimicrobial-free (ABF) swine production systems. J. Antimicrob. Chemother. **56** (4): 765-768.
100. **Geue, L., A. Käsbohrer, R. Helmuth, T. Blaha, D. Protz, F. J. Conraths.** 1997. Pilot study on the prevalence of *Salmonella* in slaughter pigs in Germany: Prevalence of *Salmonella* in batches of slaughter pigs, influence of transport time and waiting periods in the abattoirs. 2nd International Symposium on epidemiology and control of *Salmonella* in pork. Copenhagen, Denmark, 20.-22.8.1997. Proceedings: 238-240.
101. **Golden, J. N., D. W. K. Acheson.** 2002. Identification of motility and autoagglutination *Campylobacter jejuni* mutants by random

- transposon mutagenesis. *Inf. Immun.* **70** (4): 1761-1771.
102. **Gonzalez, I., K. A Grant, P. T Richardson, S. F. Park, M. D. Collins.** 1997. Specific identification of the enteropathogens *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* by using a PCR test based on the *ceuE* gene encoding a putative virulence determinant. *J. Clin. Microbiol.* **35** (3): 759-763.
103. **Görgen, M., G. Kirpal, W. Bisping.** 1983. Untersuchungen zum Vorkommen von Keimen der Gattung *Campylobacter* beim Schwein Teil I: Kulturelle Untersuchungen von Kot, Darminhalt und Gallenblasen sowie Infektionsversuche. *Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr.* **96** (3): 86-89.
104. **Grant, C. C., M. E. Konkel, W. Cieplak, L. S. Tompkins.** 1993. Role of flagella in adherence, internalization, and translocation of *Campylobacter jejuni* in nonpolarized and polarized epithelial cell cultures. *Infect. Immun.* **61** (5): 1764-1771.
105. **Gray, J. T., P. J. Fedorka-Cray, T. J. Stabel, T. T. Kramer.** 1996. Natural transmission of *Salmonella* Cholerasuis in swine. *Appl. Environ. Microbiol.* **62** (1): 141-146.
106. **Greil, B.** 2001. Vergleichende Untersuchungen zur selektiven Erfassung von Salmonellen bei Schlachtschweinen unter besonderer Berücksichtigung des Salmonellen-Antikörperstatus in Schweinebeständen. *Vet. med. Diss., Ludwig-Maximilian-Universität München.*
107. **Greil, B., B. Sperner, B. Schalch, A. Stolle.** 2001. Salmonellen vorkommen bei Schlachtschweinen bayerischer Herkunft unter Berücksichtigung des Salmonellenantikörperstatus. DVG: 42. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene. Garmisch-Partenkirchen, 25.-28.9.2001. Tagungsbericht: 487-494.
108. **Grossklaus, D.** 2001. Zoonoses control – new challenges in health protection of consumers. *Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr.* **114** (11-12): 420-427.
109. **Grossklaus, H., H.-J. Sinell, H.-U. Höpke.** 1999. Salmonellabakterien in Schweinehackfleisch. Verbreitung, Ursachen, Verhütung. *Fleischwirtschaft* **2**: 74-78.
110. **Guévremont, E., M. Sirois, S. Quessy.** 2001. Antimicrobial susceptibility patterns of *Campylobacter coli* isolates from swine and humans. 4th International Symposium on the epidemiology and control of *Salmonella* and other food borne pathogens in pork. Leipzig, 2.-5.9.2001. Proceedings: 406-408.
111. **Guévremont, E., R. Higgins, S. Quessy.** 2001a. Prevalence and genetic characterization of *Campylobacter* spp. isolates from swine in Quebec, Canada. 4th International Symposium on the epidemiology and control of *Salmonella* and other food borne pathogens in pork. Leipzig, 2.-5.9.2001. Proceedings: 146-148.
112. **Guévremont, E., R. Higgins, S. Quessy.** 2004. Characterization of

- Campylobacter* isolates recovered from clinically healthy pigs and from sporadic cases of Campylobacteriosis in humans. J. Food Prot. **67** (2): 228-234.
113. **Guiney, D. G.** 2005. The role of host cell death in *Salmonella* infections. Curr. Top Microbiol. Immunol. **289**: 131-150.
114. **Guiney, D. G., M. Lesnick.** 2005. Targeting of the actin cytoskeleton during infection by *Salmonella* strains. Clin. Immunol. **114** (3): 248-255.
115. **Gürtler, M., T. Alter, S. Kasimir, K. Fehlhaber.** 2003. Comparison of *Campylobacter coli* strains isolated from pigs and humans-porcine strains a possible source of human infection? Safe Pork. 5th International Symposium on the epidemiology and control of food borne pathogens in pork. Kreta, 1.-4.10.2003. Proceedings: 116-118.
116. **Hadlok, R.** 1966. Untersuchungen zum Vorkommen von Salmonellen bei gesunden Schlachtschweinen. Fleischwirtschaft **11**: 1226-1230.
117. **Hänel, I., J. Müller, W. Müller Schulze, F.** 2004. Correlation between invasion of Caco-2 eukaryotic cells and colonisation ability in the chick gut in *Campylobacter* Vet Microbiol. **101** (2): 75-82.
118. **Hänel, C.- M.** 2004. Prävalenz von *Campylobacter jejuni* und *Campylobacter coli* in Lebensmitteln tierischen Ursprungs – ermittelt im Wehrbereich West der Bundeswehr. Vet. med. Diss., Tierärztliche Hochschule Hannover.
119. **Hänel, I., E. Borrmann.** 2003. Phänotypische Charakterisierung und Schlussfolgerungen. Bundesinstitut für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft. Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der Tiere. Jahresbericht: 158-159.
120. **Hänninen, M. L., Korkeala, P. Pakkala.** 1984. Effect of various gas atmospheres on the growth and survival of *Campylobacter jejuni* on beef. J. Appl. Bacteriol. **57** (1): 89-94.
121. **Harris, I. T.** 2003. Serologic basis for assessment of subclinical *Salmonella* infection in swine: Part 1. J. Swine Health Prod. **11** (5): 247-251.
122. **Hartung, M.** 2000. Bericht über die epidemiologische Situation der Zoonosen in Deutschland für 1999. BgVV-Hefte 08/2000.
123. **Hartung, M.** 2002. Bedeutung des Schweines für die Übertragung von Zoonosenerregern in Deutschland. 21. Jenaer Symposium. Am Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin Fachbereich 4 "Bakterielle Tierseuchen und Bekämpfung von Zoonosen". Jena, 23.-24.4.2002.
124. **Hartung, M.** 2004. Ergebnisse der Zoonosenerhebung 2003 bei Lebensmitteln. 57. Arbeitstagung des Arbeitskreises der auf dem Gebiet der Lebensmittelhygiene und der vom Tier stammenden Lebensmittel tätigen Sachverständigen (ALTS). Berlin, 14.-16.6.2004.

Tagungsbericht: 31-40.

125. **Hartung, M.** 2007. Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR). Epidemiologische Situation der Zoonosen in Deutschland im Jahr 2005. Übersicht über die Meldungen der Bundesländer. BfR-Hausdruckerei Dahlem.
126. **Harvey, R. B., C. R. Young, R. C. Anderson, R. E. Droleskey, K. J. Genovese, L. F. Egan, D. J. Nisbet.** 2000. Diminution of *Campylobacter* colonization in neonatal pigs reared off-sow. J. Food Prot. **63** (10): 1430-1432.
127. **Harvey, R. B., C. R. Young, R. L. Ziprin, M. E. Hume, K. J. Genovese, R. C. Anderson, R. E. Droleskey, L. H. Stanker, D. J. Nisbet.** 1999. Prevalence of *Campylobacter* spp. isolated from the intestinal tract of pigs raised in an integrated swine production system. J. Am. Vet. Med. Assoc. **215** (11): 1601-1604.
128. **Hein, I., P. Rieck, M. Wagner.** 2001. Zur Subtypisierung von *Campylobacter jejuni* mittels single-strand conformation polymorphism (SSCP)-Technik. DVG: 42. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene. Garmisch-Partenkirchen, 25.-28.9.2001. Tagungsbericht: 242-245.
129. **Helmuth, R., A. Schroeter, C. Dorn.** 2002. Zum Vorkommen von Salmonellen beim Schwein. 21. Jenaer Symposium. Am Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin Fachbereich 4 "Bakterielle Tierseuchen und Bekämpfung von Zoonosen". Jena, 23.-24.4.2002.
130. **Hernandez, L. D., M. Pypaert, R. A. Flavell, E. Galán.** 2003. A *Salmonella* protein causes macrophage cell death by inducing autophagy. J. Cell Biol. **163** (5): 1123-1131.
131. **Hersh, D., D. M. Monack, M. R. Smith, N. Ghori, S. Falkow, A. Zychlinsky.** 1999. The *Salmonella* invasin SipB induces macrophage apoptosis by binding to caspase-1. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. **96** (5): 2396-2401.
132. **Holt, J. G., N. R. Krieg, P. H. A. Sneath, J. T. Staley, S.T. Williams.** 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 9th Edition. Williams & Wilkins. Baltimore. Maryland. U.S.A.
133. **Hudson, J. A., C. Nicol, J. Wright, R. Whyte, S. K. Hasell.** 1999. Seasonal variation of *Campylobacter* types from human cases, veterinary cases, raw chicken, milk and water. J. Appl. Microbiol. **87** (1): 115-124.
134. **IDEXX LABORATORIES.** 2002. HerdChek* Swine *Salmonella*. IDEXX LABORATORIES Testkit zum Nachweis von Antikörpern gegen Salmonellen beim Schwein. In-vitro-Diagnostikum, entsprechend §17c TierSG zugelassen. Zulassungs-Nr. BGVV-B 305. Gebrauchsinformation.
135. **IDEXX LABORATORIES.** 2006. One IDEXX Drive Westbrook, Maine 04092 U.S.A., *Salmonella* Swine *Salmonella* antibody test kits

- validation data report. Glossary Repeatability Sensitivity Specificity.
136. **Isaacson, R. E., C. Althouse, S. Patterson.** 1999: Identification of a porcine-specific adhesin of *Salmonella* and a possible mechanism mediating persistent infections of swine. 3rd International Symposium on the epidemiology and control of *Salmonella* in pork. Washington D.C. 5.-7.8.1999. Proceedings: 66.
137. **Jin S., A. Joe, J. Lynett, E. K. Hani, P. Sherman, V. L. Chan.** 2001. JlpA, a novel surface-exposed lipoprotein specific to *Campylobacter jejuni*, mediates adherence to host epithelial cells. *Mol. Microbiol.* **39** (5): 1225-1236.
138. **Jones, D. M., E. M. Sutcliffe, R. Rios, A. J. Fox, A. Curry.** 1993. *Campylobacter jejuni* adapts to aerobic metabolism in the environment. *J. Med. Microbiol.* **38** (2): 145-150.
139. **Jungwitz, S.** 2001. Erfahrungen bei der Validierung eines neuen PS-ELISA Systems. Landwirtschaftskammer Westfalen-Lippe, Untersuchungszentrum München-LUFA-. Enterisol Serienbrief. Boehringer Ingelheim.
140. **Käsbohrer, A., D. Protz, R. Helmuth, K. Nöckler, T. Blaha, F.J. Conraths, L. Geue.** 2000. *Salmonella* in slaughter pigs of German origin: an epidemiological study. *Eur. J. Epidemiol.* **16** (2): 141-146.
141. **Kasimir, S.** 2005. Verlaufsuntersuchungen zum Vorkommen potentiell humanpathogener *Yersinia enterocolitica* und *Campylobacter* spp. in Schweinebeständen von der Geburt bis zur Schlachtung sowie Gentypisierung ausgewählter Isolate. *Vet. med. Diss., Tierärztliche Hochschule Leipzig.*
142. **Kist, M.** 2002. Lebensmittelbedingte Infektionen durch *Campylobacter*. *Bundesgesundheitsblatt-Gesundheitsforschung-Gesundheitsschutz* Band 45: 497-506.
143. **Kita, E., D. Oku, A. Hamuro, F. Nishikawa, M. Emoto, Y. Yagyu, N. Katsui, S. Kashiba.** 1990. Hepatotoxic activity of *Campylobacter jejuni*. *J. Med. Microbiol.* **33** (3): 171-182.
144. **Konkel, M. E., J. D. Klena, V. Rivera-Amill, M. R. Monteville, D. Biswas, B. Raphael, J. Mickelson.** 2004. Secretion of virulence proteins from *Campylobacter jejuni* is dependent on a functional flagellar export apparatus. *J. Bacteriol.* **186** (11): 3296-3303.
145. **Konkel, M. E., M. R. Monteville, V. Rivera-Amill, L. A. Joens.** 2001. The pathogenesis of *Campylobacter jejuni*-mediated enteritis. *Curr. Issues Intest. Microbiol.* **2** (2): 55-71.
146. **Konkel, M. E., S. A. Gray, B. J. Kim, S. G. Garvis, J. Yoon.** 1999. Identification of the enteropathogens *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* based on the cadF virulence gene and its product. *J. Clin. Microbiol.* **37** (3): 510-517.

-
147. **Konkel, M. E., S. G. Garvis, S. I. Tipton, D. E. Anderson Jr., W. Cieplak Jr.** 1997. Identification and molecular cloning of a gene encoding a fibronectin-binding protein (CadF) from *Campylobacter jejuni*. *Mol. Microbiol.* **24** (5): 953-963.
148. **Kramer, T.** 2006. Labor Diagnostik GmbH Leipzig. Persönliche Mitteilung.
149. **Kramer, T.** 2006a. Labor Diagnostik GmbH Leipzig. Persönliche Mitteilung.
150. **Kramer, T.** 2008. Labor Diagnostik GmbH Leipzig. Persönliche Mitteilung.
151. **Kranker, S, L. Alban J. Boes, J. Dahl.** 2003. Longitudinal study of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium infection in three Danish farrow-to-finish swine herds. *J. Clin. Microbiol.* **41** (6): 2282-2288.
152. **Kranker, S., J. Dahl, A. Wingstrand.** 2001. Bacteriological and serological examination and risk factor analysis of *Salmonella* occurrence in sow herds, including risk factors for high *Salmonella* seroprevalence in receiver finishing herds. 4th International Symposium on the epidemiology and control of *Salmonella* and other food borne pathogens in pork. Leipzig, 2.-5.9.2001. Proceedings: 230-236.
153. **Kühnel, K, T. Blaha.** 2004. Contamination prior to and during slaughter. International Society for Animal Hygiene: Animal production in Europe: the way forward in a changing world. Saint-Malo - France, 11.-13.10.2004. Contents **Vol. 1:** 481-482.
154. **Kühnel, K.** 2004. Semiquantitative Untersuchungen zu der Möglichkeit der Senkung von Kreuzkontaminationen mit Salmonellen bei der Schlachtung von Schweinen. *Vet. med. Diss., Tierärztliche Hochschule Hannover.*
155. **Labor Diagnostik GmbH Leipzig.** 1999. SALMOTYPE[®] Fleischsaft ELISA. Labor Diagnostik GmbH Leipzig. In-Vitro-Diagnostikum für die Veterinärmedizin, entsprechend §17c TierSG zugelassen. Zulassungs-Nr. BGVV-B 275. Gebrauchsinformation.
156. **Labor Diagnostik GmbH Leipzig.** 2004. SALMOTYPE[®] Pig Screen ELISA-Testkit. Zum Nachweis von Antikörpern gegen Salmonellen beim Schwein, entsprechend §17c TierSG zugelassen. Zulassungs-Nr. BFAV-B 380. Gebrauchsinformation.
157. **Lange, S.** 2001. Ringversuch 3-4 / 2001 zur Diagnostik von Antikörpern gegen Salmonellen in Serum- und Fleischsaftproben vom Schwein. Boehringer Ingelheim.
158. **Lange, S.** 2002. Neuartiger PS-Salmonellen-ELISA für Serum und Fleischsaft beim Schwein: Technische Grundlage, Validierung, Ringversuch. 21. Jenaer Symposium. Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin Fachbereich 4. "Bakterielle Tierseuchen und Bekämpfung von Zoonosen". Jena, 23.-24.4.2002.

159. **Lawson, A. J., S. L. W. On, J. M. J. Logan, J. Stanley.** 2001. *Campylobacter hominis* sp. nov., from the human gastrointestinal tract. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **51** (Pt 2): 651-660.
160. **Le Minor, L., M. Y. Popoff.** 1987. Request for an opinion. Designation of *Salmonella enterica* sp. nov., nom. rev., as the type and only species of the genus *Salmonella*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **37** (4): 465-468.
161. **Ledeboer, N. A., J. G. Frye, M. McClelland, B. D. Jones.** 2006. *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium requires the Lpf, Pef, and Tafi fimbriae for biofilm formation on HEp-2 tissue culture cells and chicken intestinal epithelium. *Infect. Immun.* **74** (6): 3156-3169.
162. **Ledergerber, U., G. Regula, J. Danuser, B. Bissig, R. Stephan, K. D. C. Stärk.** 2003. Zoonotic pathogens and antimicrobial resistance in „animal-friendly“ pig production systems in Switzerland. *Safe Pork. 5th International Symposium on the epidemiology and control of food borne pathogens in pork. Kreta, 1.-4.10.2003. Proceedings: 133-134.*
163. **Lee, B. C., D. K. Carver, S. Kathariou.** 2003. Investigations of potential transfer of *Campylobacter coli* between hogs and turkeys. *Safe Pork. 5th International Symposium on the epidemiology and control of food borne pathogens in pork. Kreta, 1.-4.10.2003. Proceedings: 82-85.*
164. **Lee, C. A., S. Silva, A. M. Siber, A. J. Kelly, E. Galyov, B. A. McCormick.** 2000. A secreted *Salmonella* protein induces a proinflammatory response in epithelial cells, which promotes neutrophil migration. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **97** (22): 12283-12288.
165. **Leyk, W., B. Seiffert, Lange S.** 2003. Vergleichende Untersuchung zur Salmonellenserologie beim Schwein: Probenmaterial, Zeitpunkt der Probenentnahme, Ort der Probenentnahme. 22. Arbeits- und Fortbildungstagung des Arbeitskreises für veterinärmedizinische Infektionsdiagnostik (AVID) der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft e.V. (DVG). Kloster Banz, Staffelstein, 17.-19.9.2003.
166. **Leyk, W., B. Seiffert.** 2003. *Salmonella* serology- which samples should be used: Comparison of meatjuice and serum samples of the same pigs. *Safe Pork. 5th International Symposium on the epidemiology and control of food borne pathogens in pork. Kreta, 1.-4.10.2003. Proceedings: 271-273.*
167. **Leyk, W., S. Jungnitz, B. Seiffert, S. Lange.** 2004. Schweine salmonellose- Verbreitung, Ursachen der Einschleppung und Maßnahmen zur Reduzierung der Salmonellenbelastung. *Nutztierpraxis Aktuell 10.*
http://tiergesundheit.org/pdf/artikel/schweine/2004_04_leyk.pdf.
(letzter Zugriff am 13.4.2010).
168. **Lienau, J., G. Klein, L. Ellerbroek.** 2003. *Campylobacter* spp. beim Geflügel. *Fleischwirtschaft* **1**: 86-88.

169. **Ludewig, M., J. Pröhl, K. Fehlhaber.** 2001. Verbreitung von Salmonellen in der Schweinefleischerzeugungskette im Freistaat Sachsen. 1. Untersuchungen in der Primärproduktion. *Fleischwirtschaft* **6**: 95-98.
170. **Ludewig, M., K. Fehlhaber.** 2001. Verbreitung von Salmonellen in der Schweinefleischerzeugerkette im Freistaat Sachsen. 2. Serologische Untersuchungen von Schlachtkörpern. *Fleischwirtschaft* **7**: 96-98.
171. **Madden, R. H., L. Moran, P Scates.** 2000. Optimising recovery of *Campylobacter* spp. from the lower porcine gastrointestinal tract. *J. Microbiol. Methods* **42** (2): 115-119.
172. **Madec, F., F. Humbert, G. Salvat, P. Maris.** 1999. Measurement of the residual contamination of post-weaning facilities for pigs and related risk factors. *Zentralblatt Veterinärmedizin Reihe B.* **46** (1): 37-45.
173. **Marg H., H. C. Scholz, T. Arnold., U Rösler , A. Hensel.** 2001. Influence of long-time transportation stress on re-activation of *Salmonella* Typhimurium DT104 in experimentally infected pigs. *Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr.* **114** (9-10): 385-388.
174. **McCormick B. A., S. I. Miller, D. Carnes, J. L. Madara.** 1995. Trans-epithelial signaling to neutrophils by Salmonellae: a novel virulence mechanism for gastroenteritis. *Inf. Immun.* **63** (6): 2302-2309.
175. **McSweegan, E., R. I. Walker.** 1986. Identification and characterization of two *Campylobacter jejuni* adhesins for cellular and mucous substrates. *Inf. Immun.* **53** (1): 141-148.
176. **Mejia, W., D. Zapata, M. Martin, J. Casal, E. Mateu.** 2003. Comparison of two commercial ELISA for the diagnosis of salmonellosis in swine. *Safe Pork. 5th International Symposium on the epidemiology and control of food borne pathogens in pork.* Kreta, 1.-4.10.2003. *Proceedings*: 269-271.
177. **Methner, U.** 2007. FLI. Institut für bakterielle Infektionen und Zoonosen. Fachtierarzt für Bakteriologie/Mykologie. Persönliche Mitteilung.
178. **Meyer, C.** 2004. Qualitative und Quantitative Risikofaktoren für die Einschleppung und Verbreitung von Salmonellen in unterschiedlichen Produktionsverfahren beim Schwein. *Vet. med. Diss., Tierärztliche Hochschule Hannover.*
179. **Meyer, C., E. große Beilage, J. Krieter.** 2005. Untersuchungen zur *Salmonella*-Seroprävalenz in unterschiedlichen Produktionsstufen beim Schwein. *Tierärztl. Praxis* **33** (G): 104-112.
180. **Miroshnichenko, M. L., S. L´Haridon, P. Schumann, S. Spring, E. A. Bonch-Osmolovskaya, C. Jeanthon, E. Stackebrandt.** 2004. *Caminiobacter profundus* sp. nov., a novel thermophile of *Nautiliales* ord. nov. within the class '*Epsilonproteobacteria*'.

- isolated from a deep-sea hydrothermal vent. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **54** (Pt1): 41-45.
181. **Modolo, J. R., L. F. F. Margato, A. F. Gottschalk, C. A. de Magalhães Lopes.** 1999. Incidence of *Campylobacter* in pigs with and without diarrhoe. *Rev Microbiol.* **30** (1): 19-21.
182. **Møller Nielsen, E., J. Engberg, M. Madsen.** 1997. Distribution of serotypes of *Campylobacter jejuni* and *C. coli* from Danish patients, poultry, cattle and swine. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* **19** (1): 47-56.
183. **Monack, D. M., C. S. Detweiler, S. Falkow.** 2001. *Salmonella* pathogenicity island 2-dependent macrophage death is mediated in part by the host cysteine protease caspase-1. *Cell. Microbiol.* **3** (12): 825-837.
184. **Moore, J. E., D. Corcoran, J. S. G. Dooley, S. Fanning, B. Lucey, M. Matsuda, D. A McDowell, F. Mégraud, B. C Millar, R O'Mahony, L. O'Riordan, M. O'Rourke, J. R. Rao, P. J Rooney, A. Sails, P. Whyte.** 2005. *Campylobacter*. *Vet. Res.* **36** (3): 351-382.
185. **Moore, J. E.** 1999. *Campylobacter* enteritis in humans: sources of infection and modes of transmission. *Hygiene Review. The Society of Food and Technology.*
http://www.sofht.co.uk/isfht/irish_99_enteritis.htm (letzter Zugriff am 14.4.2010).
186. **Mousing, J., P. T. Jensen, C. Halgaard, F. Bager, N. Feld, Bech-Nielsen, J. P. Nielsen, S. Bech-Nielsen.** 1997. Nation-wide *Salmonella enterica* surveillance and control in Danish slaughter swine herds. *Prev. Vet. Med.* **29** (4): 247-261.
187. **Nickerson, C. A., T. J. Goodwin, J. Terlonge, C. M. Ott, K. L. Buchanan, W. C. Uicker, K. Emami, C. L. LeBlanc, R. Ramamurthy, M. S. Clarke, C. R. Vanderburg, T. Hammond, D. L. Pierson.** 2001. Three-dimensional tissue assemblies: novel models for the study of *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium pathogenesis. *Infect. Immun.* **69** (11): 7106-7120.
188. **Nielsen, B.** 2002. Kontrolle über Tier und Fleisch. *Fleischwirtschaft* **4**: 33-34.
189. **Nielsen, B., D. Baggesen, F. Bager, J. Haugegaard, P. Lind.** 1995. The serological response to *Salmonella* serovars Typhimurium and Infantis in experimentally infected pigs. The time course followed with an indirect anti-LPS ELISA and bacteriological examinations. *Vet. Microbiol.* (3-4): 205-218.
190. **Nielsen, B., L. Alban, H. Stege, L. L. Sørensen, V. Møgelmoose, J. Bagger, J. Dahl, D. L. Baggesen.** 2001. A new *Salmonella* surveillance and control programme in Danish pig herds and slaughterhouses. *Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr.* **114** (9-10): 323-326.
191. **Nielsen, E.** 2004. SVANOVA Biotech AB. Uppsala Science Park.

Sweden. Persönliche Mitteilung.

192. **Nollet, N., D. Maes, L. Duchateau, K. Huysmans, R. Geers, A. de Kruif, L. De Zutter, J. Van Hoof.** 2003. Risk factors for the prevalence of *Salmonella* in Belgian slaughter pigs. 5th International Symposium on the epidemiology and control of food borne pathogens in pork. Kreta, 1.-4.10.2003. Proceedings: 72-73.
193. **Nollet, N., D. Maes, L. Duchateau, V. Hautekiet, K. Houf, J. Van Hoof, L. De Zutter, A. De Kruif, R. Geers.** 2005. Discrepancies between the isolation of *Salmonella* from mesenteric lymph nodes and the results of serological screening in slaughter pigs. *Vet. Res.* **36** (4): 545-555.
194. **Office International des Epizooties.** 2000. Manual of standards for diagnostic tests and vaccines fourth edition. World Organisation for Animal Health.
195. **On, S. L. W.** 2005. Taxonomy, phylogeny, and methods for the identification of *Campylobacter* species. *Campylobacter: Molecular and Cellular Biology*, Chapter 2: 13-42.
196. **On, S. W.** 1996. Identification methods for *Campylobacters*, *Helicobacters* and related organisms. *Clin. Microbiol. Rev.* **9** (3): 405-422.
197. **Opfer, C., J. Kleer, G. Hildebrandt.** 2001. Comparison of two different PCR assays for the detection of thermotolerant *Campylobacter* spp. in poultry. *Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr.* **114** (11-12): 470-472.
198. **Osterkorn, K., C. -P. Czerny, G. Wittkowski, M. Huber.** 2001. Sampling plan for the establishment of a serologic *Salmonella* surveillance for slaughter pigs with meat juice ELISA. *Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr.* **114** (1-2): 30-34.
199. **Paluszak, Z., H. Olszewska.** 2000. Einfluß der Temperatur auf die Überlebensfähigkeit von *Campylobacter jejuni* in gelagerter Rindergülle. *Tierärztl. Umschau.* **55** (1): 45-48.
200. **Payot, S., S. Dridi, M. Laroche, M. Federighi, C. Magras.** 2004. Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter coli* isolated from fattening pigs in France. *Vet. Microbiol.* **101** (2): 91-99.
201. **Pearce, R. A., F. M. Wallace, J. E. Call, R. L. Dudley, A. Oser, L. Yoder, J. J. Sheridan, J. B. Luchansky.** 2003. Prevalence of *Campylobacter* within a swine slaughter and processing facility. *J. Food Prot.* **66** (9): 1550-1556.
202. **Penner, J. L., Balows A. (Hrsg.).** 1991. Manual of clinical microbiology. American Society for Microbiology. Washington D.C.: 402-409.
203. **Penner, K.** 2004. Untersuchungen zum Vorkommen von Salmonellen-Antikörpern bei Mastschweinen im Einzugsgebiet des Schlachthofes Karlsruhe im Hinblick auf die Einführung eines staatlichen Salmonellen-Monitoring. *Vet. med. Diss., Ludwig-Maximilians-*

Universität München.

204. **Peternel, M.** 2006. Untersuchungen zur Verwendbarkeit des Immunglobulinklassen differenzierenden Salmonellen-Antikörper Test SALMOTYPE® Pig STM-WCE ELISA zur Analyse der Salmonellendynamik in Schweinebeständen. Vet. med. Diss., Tierärztliche Hochschule Hannover.
205. **Pichner, R.** 2001. Aktuelles aus der internationalen Fleischforschung. Fleischwirtschaft **11**: 94-95.
206. **Pirron, N.** 2001. Empirische Untersuchungen zum Vorkommen von Salmonellen in Schweinemastbetrieben. Vet. med. Diss., Tierärztliche Hochschule Hannover.
207. **Plonait, H., K. Bickhardt.** 1997. Salmonelleninfektion und Salmonellose. Lehrbuch der Schweinekrankheiten. Parey Verlag. Berlin. 344-348.
208. **Popoff, M. Y., J. Bockemühl, L. L. Gheesling.** 2004. Supplement 2002 (no.46) to the Kauffmann-White scheme. Res. Microbiol. **155** (7): 568-570.
209. **Pröhl, J.** 1999. Epidemiologische Untersuchungen zum Vorkommen von Salmonellen in sächsischen Schweinezucht- und Mastbetrieben sowie bei der Fleischgewinnung. Vet. med. Diss., Universität Leipzig.
210. **Pröhl, J., A. Kögler.** 1998. *Salmonella*-Monitoring in Futtermitteln sowie in sächsischen Schweinemast- und Schlachtbetrieben. ATF-Tagung „Lebensmittelsicherheit – aktuelle Probleme und Forschungsergebnisse“. Leipzig, 28.3.1998.
211. **Protz, D., C. Staak, G. Steinbach, A. Käsbohrer, R. Helmuth.** 1997. Pilot study on the prevalence of *Salmonella* in slaughter pigs in Germany: IV. Field experiences using the Danish serological method for detection. 2nd International Symposium on epidemiology and control of *Salmonella* in pork. Copenhagen, Denmark, 20.-22.8.1997. Proceedings: 251-253.
212. **QS Qualität und Sicherheit GmbH.** 2007. Leitfaden. Programme zum Monitoring und zur Reduzierung von lebensmittelassoziierten Zoonoseerregern im Rahmen des QS-Prüfzeichens: I. Salmonellenmonitoring und -reduzierungsprogramm für die Schweinefleischerzeugung.
213. **Quante, U.** 2000. Untersuchungen zum Vorkommen von Salmonellen bei Zuchtschweinen. Vet. med. Diss., Tierärztliche Hochschule Hannover.
214. **Quinn, P. J., M. E. Carter, B. Markey, G. R. Carter.** 1999. Clinical Veterinary Microbiology. Wolfe.
215. **Rammelt, K.** 2008. IDEXX Switzerland AG. PAS Technical Service. Stationsstrasse 12, 3097 Bern-Liebefeld. Persönliche Mitteilung per e-Mail.

216. **Reeves, M. W., G. M. Evins, A. A. Heiba, B. D. Plikaytis, J. J. Farmer III.** 1989. Clonal nature of *Salmonella* Typhi and its genetic relatedness to other Salmonellae as shown by multilocus enzyme electrophoresis, and proposal of *Salmonella bongori* comb. nov. J. Clin. Microbiol. **27** (2): 313-320.
217. **Riber, U., D.L. Baggesen, B. Nielsen, P. Lind.** 1997. Host defence responses in pigs experimentally infected with *Salmonella* Typhimurium. 2nd International Symposium on epidemiology and control of *Salmonella* in pork. Copenhagen, Denmark, 20.-22.8.1997. Proceedings: 74-77.
218. **Robert Koch Institut (RKI).** 1999. Epidemiologisches Bulletin. Ratgeber Infektionskrankheiten. 7. Folge: *Campylobacter*-Infektionen **35**: 259-261.
219. **Robert Koch Institut (RKI).** 2002. Bakterielle Gastroenteritiden in Deutschland 2001. Epidemiologisches Bulletin **50**: 417-422.
220. **Robert Koch Institut (RKI).** 2002a. *Campylobacter*-Enteritis. Infektions-epidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2001. 40-42.
221. **Robert Koch Institut (RKI).** 2003. Ausgewählte bakterielle Gastroenteritiden im Jahr 2002. Epidemiologisches Bulletin **46**: 373-374.
222. **Robert Koch Institut (RKI).** 2004. Bakterielle Gastroenteritiden: Situationsbericht 2003. Epidemiologisches Bulletin **31**: 251-254.
223. **Robert Koch Institut (RKI).** 2004a. *Salmonella* Anatum - vermehrte Infektionen im Jahr 2003. Epidemiologisches Bulletin **7**: 53-60.
224. **Robert Koch Institut (RKI).** 2005. Bakterielle Gastroenteritiden-Focus Salmonellosen und Schweinefleisch-assoziierte Ausbrüche (2001 - 1.Halbjahr 2005). Epidemiologisches Bulletin **33**: 295-299.
225. **Robert Koch Institut (RKI).** 2005a. *Campylobacter*-Enteritis. Infektions-epidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2005: 54-57.
226. **Robert Koch Institut (RKI).** 2005b. Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2005. Datenstand 1.3.2006.
227. **Robert Koch Institut (RKI).** 2006. *Campylobacter*-Enteritis. Infektions-epidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2006.
228. **Robert Koch Institut (RKI).** 2006a. Zur Situation bei wichtigen Infektionskrankheiten in Deutschland: Ausgewählte Zoonosen im Jahr 2005: Durch Lebensmittel übertragbare bakterielle gastrointestinale Infektionen. Epidemiologisches Bulletin **41**: 351-356.
229. **Robert Koch Institut (RKI).** 2007. Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2006. Datenstand 1.3.2007.

230. **Robert Koch Institut (RKI).** 2007a. Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2007. Datenstand 1.3.2008.
231. **Robert Koch Institut (RKI).** 2008. Meldepflichtige Infektionskrankheiten: Aktuelle Statistik 52. Woche 2007 (Stand 16.1.2008). Epidemiologisches Bulletin **3**: 26.
232. **Rodríguez-Buenfil, J. C., M. Álvarez-Fleites, Z. Y. Villarreal-Morales, J. C. Segura-Correa.** 2004. Incidence and identification of *Salmonella* species in pigs on two arm systems in Mexico. Vet. Rec. **154** (5): 150-152.
233. **Rolle, M., Mayr A.** 2002. Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre. 7. Auflage. Enke Verlag. Stuttgart.
234. **Rösler, U. H.** 2007. Charakterisierung der porcinen *Salmonella* Typhimurium DT 104- Infektionen und Maßnahmen zur Salmonellen-Reduktion in Schweinemast- und Schweinezuchtbetrieben. Habilitation an der veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig.
235. **Rösler, U. H., I. Szabó, C. Matthies, K. Albrecht, K. Scherer, M. Leffler, K Nöckler, A. Hensel, U. Truyen.** 2007. Vergleichende Evaluierung der in Deutschland für die Salmonellendiagnostik beim Schwein zugelassenen ELISA-Systeme nach experimenteller Langzeitinfektion mit den *Salmonella enterica*-Serovaren Typhimurium, Infantis und Derby. 26. Arbeits- und Fortbildungstagung des Arbeitskreises für veterinärmedizinische Infektionsdiagnostik (AVID) der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft e.V. (DVG). Kloster Banz, Staffelstein, 24.-26.10.2007.
236. **Russel, R. G., M. O'Donnoghue, D C Blake, J. Zulty, L. J DeTolla.** 1993. Early colonic damage and invasion of *Campylobacter jejuni* in experimentally challenged infant *Macaca mulatta*. J. Infect. Dis. **168** (1): 210-215.
237. **Sander, J.** 1993. Pathogenese der *Salmonella*-Infektionen des Menschen. Dtsch. Tierärztl. Wochenschr. **100** (7): 283-285.
238. **Schlumberger, M. C., A. J. Müller, K. Ehrbar, B. Winnen, I. Duss, B. Stecher, W.-D. Hardt.** 2005. Real-time imaging of type III secretion: *Salmonella* SipA injection into host cells. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. **102** (35): 12548-12553.
239. **Schlumberger, M. C., W. D. Hardt.** 2006. *Salmonella* type III secretion effectors: pulling the host cell's strings. Curr. Opin. Microbiol. **9** (19): 46-54.
240. **Schnötzlinger, G.** 1994. Vorkommen und Nachweis von Salmonellen und *Campylobacter coli / jejuni* beim Schlachtschwein in Österreich. Wien. Tierärztl. Mschr. **81**: 219.
241. **Schöning, S.** 1999. Untersuchungen zur Epidemiologie von Salmonelleninfektionen und zur Sanierung von salmonelleninfizierten

Schweinezucht- und -vermehrerbetrieben. Vet. med. Diss.,
Tierärztliche Hochschule Hannover.

242. **Schroeder, C., T. Kramer, S. Seifert, O. Sasse, J. Gabert.** 2007. Die Schweine-Salmonellen-Verordnung und der SALMOTYPE®PigScreen ELISA. I. Leipziger Labor Diagnostik Symposium. Leipzig, 28.6.2007.
243. **Schulte-Wülwer, J.** 2007. Salmonellenbekämpfung: Vermeidungsstrategien. Meppen, Oktober 2007.
www.zds-bonn.de/download.php/1200/schultewuelwer.pdf
(letzter Zugriff am 13.4.2010).
244. **Schulze, F., I. Hänel, J. Müller, W. Müller.** 2003. *Campylobacter jejuni* Beziehung zwischen der Invasion von eukaryotischen Zellen (Caco-2) und der Kolonisationsfähigkeit im Kükendarm. Bundesministerium für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft. Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der Tiere. Jahresbericht 2003: 156-157.
245. **Selbitz, H. -J.** 2001. Das Salmonellenproblem beim Schwein. Fleischwirtschaft **11**: 12-15.
246. **Selbitz, H.-J.** 2002. Zur Immunprophylaxe von Salmonelleninfektionen des Schweines. 21. Jenaer Symposium. Jena, 23.-24.4.2002.
247. **Selbitz, H.-J., H.-J. Sinell, A. Sziegoleit.** 1995. Das Salmonellen-Problem. Gustav Fischer Verlag Jena, Stuttgart.
248. **Sinell, H.-J.** 2004. Einführung in die Lebensmittelhygiene. Parey Verlag. Stuttgart.
249. **Skirrow, M. B.** 1977. *Campylobacter* enteritis: a „new“ disease. Br. Med. J. **2** (6078): 9-11.
250. **Skirrow, M. B.** 1994. Diseases due to *Campylobacter*, *Helicobacter* and related bacteria. J. Comp. Pathol. **111** (2): 113-149.
251. **Sørensen, L. L., L. Alban, B. Nielsen, J. Dahl.** 2004. The correlation between *Salmonella* serology and isolation of *Salmonella* in Danish pigs at slaughter. Vet. Microbiol. **101** (2): 131-141.
252. **Stärk, K. D. C., A. Wingstrand, J. Dahl, V. Møgelmse, D. M. A. Lo Fo Wong.** 2002. Differences and similarities among expert opinions on *Salmonella enterica* dynamics in swine pre-harvest. Prev. Vet. Med. **53** (1-2): 7-20.
253. **Stege, H., J. Christensen, J P. Nielsen, P. Willeberg.** 2001. Data-quality issues and alternative variable-screening methods in a questionnaire-based study on subclinical *Salmonella enterica* infection in Danish pig herds. Prev. Vet. Med. **48** (1): 35-54.
254. **Steinbach, G.** 2000. Serologische Untersuchungen zum Vorkommen von Salmonellen in Schweinebeständen. Amtstierärztlicher Dienst und Lebensmittelkontrolle. BbT 7. Jahrgang IV / 2000: 304-309.

255. **Steinbach, G.** 2002. Bekämpfung von *Salmonella*-Infektionen bei Schweinen. Möglichkeiten und Grenzen von serologischen Untersuchungen. *Fleischwirtschaft* **12**: 93-96.
256. **Steinbach, G., C. Staak, P. Bahn.** 2000. Possibilities for standardization of ELISA for detection of *Salmonella* antibodies in sera and meat juice of pigs. *Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr.* **113** (9): 331-334.
257. **Steinbach, G., M. Hartung.** 1999. An attempt to estimate the share of human cases of salmonellosis attributable to *Salmonella* originating from swine. *Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr.* **112** (8): 296-300.
258. **Steinbach, G., U. Dinjus, B. Kreutzer.** 1995. The specificity of antibody reacting with *Salmonella* antigens in ELISA. *Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr.* **108** (1): 28-30.
259. **Steinbach, G., U. Kroell, H. Meyer, U. Methner.** 2003. Die Brauchbarkeit serologischer Untersuchungen bei der Analyse des Salmonellen-geschehens in Schweinebeständen. *Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr.* **116** (7/8): 281-287.
260. **Steinbach, G., U. Kroell.** 1999. Salmonelleninfektionen in Schweinebeständen - Zu ihrer Epidemiologie und Bedeutung für Erkrankungen des Menschen. *Dtsch. Tierärztl. Wochenschr.* **106** (7): 282-288.
261. **Steinbach, G., U. Methner, S. Springer, T. Lindner, H.-J. Selbitz.** 2003. Untersuchungen zur humoralen Immunantwort des Schweines nach experimenteller Infektion mit *Salmonella* Typhimurium. *Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr.* **116** (3/4): 124-129.
262. **Steinbach, G., U. Methner.** 2002. Überlegungen zum Einsatz der Immunprophylaxe bei der Bekämpfung der Salmonelleninfektionen des Schweines. *Amtstierärztlicher Dienst und Lebensmittelkontrolle*, 9. Jahrgang: 135-140.
263. **Steinhauserova, I., M. Nebola, M. Mikulicova.** 2005. Prevalence of thermophilic *Campylobacter* spp. in slaughtered pigs in the Czech Republic, 2001-2003. *Vet. Med.-Czech.* **50** (4): 171-174.
264. **Szaszák, Á., T. G. Blaha, J. Deen, D. H. Baum, J. J. Grass.** 2001. Evaluation of the suitability of a commercially available ELISA test as a monitoring tool for estimating the *Salmonella* prevalence of commercial swine herds. 4th International Symposium on the epidemiology and control of *Salmonella* and other food borne pathogens in pork. Leipzig, 2.-5.9.2001. Proceedings: 509-511.
265. **Teufel, P.** 2000. Lebensmittelinfektionen und Lebensmittelintoxikationen. Salmonellose. *Ernährungsbericht 2000*. Deutsche Gesellschaft für Ernährung e. V. Frankfurt am Main: 214-217.
266. **Thielen, M. J. M., F. W. van Schie, P. J. van der Wolf, A. R. W. Elbers, J. M. C. C. Koppens, W. B. Wolbers.** 1997. Risk factors and control measures for subclinical *Salmonella* infection in pig herds.

- 2nd International Symposium on epidemiology and control of *Salmonella* in pork. Copenhagen, Denmark, 20.-22.8.1997. Proceedings: 32-35.
267. **Thurm, V.** 2000. Zu Ursachen und Prävention der Campylobacteriose als lebensmittelbedingter Erkrankung. Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin (BgVV) **08**: 113-115.
268. **Thurm, V., R. Stark, D. Mäde., S. Fanghähnel, W. Berger, H. Knobloch, D. Lange.** 2000. Rohmilch als Ursache lebensmittelbedingter *Campylobacter*-Infektionen. Erneuter Ausbruch nach Rohmilch-Verzehr in Sachsen-Anhalt. Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung – Gesundheitsschutz **43** (10): 777-780.
269. **Van Damme, P., S. L. W. On.** 2001. Recommendations of the subcommittee on the taxonomy of *Campylobacter* and related bacteria. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. **51** (Pt2): 719-721.
270. **Van de Giessen, A. W., M. Bouwkneeg, W. D. C. Dam-Deisz, W. J. B. Wannet, M. Nieuwenhuis, E. A. M. Graat, G. Visser.** 2003. Surveillance of zoonotic bacteria in finishing pig in the Netherlands. Safe Pork. 5th International Symposium on the epidemiology and control of food borne pathogens in pork. Kreta, 1.-4.10.2003. Proceedings: 36-39.
271. **Van der Heijden, H. M. J. F.** 2001. First international ring trial of ELISAs for *Salmonella*-antibody detection in swine. Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr. **114** (9/10): 389-392
272. **Van der Stede, Y., A. Daems, R. Peeters, V. Hautekiet, D. Smulders, R. Geers, P. Heylen.** 2004. Evaluation of three commercial ELISA kits for on farm detection of *Salmonella*-specific serum antibodies in pigs. 18th IPVS Congress. Hamburg, Germany, 27.6.-1.8.2004. Proceedings Vol. **2**: 681.
273. **Van der Wolf, P.** 2002. Monitoring von *Salmonella* im Schweinebestand: worauf kommt es an. BPT (Bundesverband praktizierender Tierärzte)-Kongress Nürnberg. Der praktische Tierarzt **85** (1): 40-45 (2004).
274. **Van der Wolf, P. J., J. H. Bongers, A. R. W. Elbers, F. M. M. C. Franssen, W. A. Hunneman, A. C. A. van Exsel, M. J. M. Tielen.** 1998. *Salmonella* infections in finishing pigs in the Netherlands: bacteriological herd prevalence, serogroup and antibiotic resistance of isolates and risk factors for infection. Vet. Microbiol. **67** (4): 263-275.
275. **Van der Wolf, P. J., W. B. Wolbers, A. R. W. Elbers, H. van der Heidjen, J. Koppen, W. A. Hunneman, f. W. van Schie, M. J. M. Tielen.** 2001. Herd level husbandry factors associated with the serological *Salmonella* prevalence in finishing pig herds in the Netherlands. Vet. Microbiol. **78** (3): 205-219.
276. **Van der Zee, H., B. Wit, E. de Boer.** 2003. Pathogenic bacteria an indicator organisms for anti-microbial resistance in pork meat at

- retail level in the Netherlands. Safe Pork. 5th International Symposium on the epidemiology and control of food borne pathogens in pork. Kreta, 1.-4.10. 2003. Proceedings: 118-120.
277. **Van Winsen, R. L., A. van Nes, D. Keuzenkamp, H. A. P. Urlings, L. J. A. Lipman, S. Biesterveld, J. M. A. Sniijders, J. H. M. Verheijden, F. van Knapen.** 2001. Monitoring of transmission of *Salmonella enterica* serovars in pigs using bacteriological and serological detection methods. *Vet. Microbiol.* **80** (3): 267-274.
278. **Von Altrock, A., A. Schütte, G. Hildebrandt.** 2000. Results of the German investigation in the EU-Project „*Salmonella* in Pork (Salinpork)“-Part 1: investigations in the farms. *Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr.* **113** (5): 191-201.
279. **Von Altrock, A., K. H. Waldmann.** 2003. Outlook for control of current zoonoses in swine – an issue on consumer health protection. *Dtsch. Tierärztl. Wochenschr.* **110** (9): 354-357.
280. **Von Altrock, A., K.-H. Waldmann.** 2002. Salmonellenbekämpfung im Schweinebestand. *Vet-Med Report. Sonderausgabe V6* **26**: 7.
281. **Von Altrock, A., R. M. Weber, G. Glünder, K.-H. Waldmann.** 2004. Investigation into the occurrence of *Campylobacter* spp. on pig carcasses. 18th IPVS (International Pig Veterinary Society) Congress. Hamburg, Germany, 27.6.-1.8.2004. Proceedings Vol. **2**: 683.
282. **Vonnahme, J.** 2005. Serologische und epidemiologische Untersuchungen zur Identifikation von Risikofaktoren für die Ausbreitung von Salmonellen in Aufzuchtbeständen für Jungsauen. *Vet. med. Diss., Tierärztliche Hochschule Hannover.*
283. **Wallis, T. S., E. E. Galyov.** 2000. Molecular basis of *Salmonella*-induced enteritis. *Mol. Microbiol.* **36** (5): 997-1005.
284. **Wassenaar, T. M.** 1997. Toxin production by *Campylobacter* spp. *Clin. Microbiol. Rev.* **10** (3): 466-476.
285. **Weber, A.** 1985. Vorkommen von *Campylobacter jejuni* bei Tieren und die Bedeutung für den Menschen. *Tierärztl. Prax.* **13**: 151-157.
286. **Weber, A., C. Lembke, R. Schäfer.** 1985. Über die jahreszeitliche Häufigkeit des Nachweises von *Campylobacter jejuni* und *Campylobacter coli* in Kotproben gesunder Schlachtrinder. *Zbl. Vet. Med. B.* **32** (3): 197-201.
287. **Wehebrink, T.** 2007. *Campylobacter* spp., *Yersinia* spp. and *Salmonella* spp. as zoonotic pathogens in pig production. Dissertation der Agrar- und Ernährungswissenschaften. Christian-Albrechts-Universität zu Kiel.
288. **Weijtens, M. J. B. M., Bijker, P. G., Van der Plas, J., Urlings, H. A., Biesheuvel, M. H.** 1993. Prevalence of *Campylobacter* in pigs during fattening; an epidemiological study. *Vet Q* **15** (4): 138-143.

289. **Weijtens, M. J. B. M., H. A. Urlings, J. Van der Plas.** 2000. Establishing a *Campylobacter*-free pig population through a top-down approach. *Lett. Appl. Microbiol.* **30** (6): 479-484.
290. **Weijtens, M. J. B. M., J. van der Plas, P.G.H. Bijker, H.A.P. Urlings, D. Koster, J. G. van Logtestijn, J. H. J. Huis in't Veld.** 1997. The transmission of *Campylobacter* in piggeries; an epidemiological study. *J. Appl. Microbiol.* **83** (6): 693-698.
291. **Weijtens, M. J. B. M., R. D. Reinders, H. A. P. Urlings, J. van der Plas.** 1999. *Campylobacter* infections in fattening pigs; excretion pattern and genetic diversity. *J. Appl. Microbiol.* **86** (1): 63-70.
292. **Weinstein, D. L., B. L. O'Neil, D. M. Hone, E. S. Metcalf.** 1998. Differential early interactions between *Salmonella enterica* serovar Typhi and two other pathogenic *Salmonella* serovars with intestinal epithelial cells. *Infect. Immun.* **66** (5): 2310-2318.
293. **Wieler, L. H., C. Laternus.** 2003. Classification and typing of *Campylobacter*: Application of genotypical methods in veterinary medicine. *Genome Letters* **2**: 53-61.
294. **Wieler, L. H., R. Bauerfeind.** 1999. *Salmonella*-Infektionen beim Tier und deren Bedeutung für die Human- und Tiergesundheit. *Vet. Med. Labor Fortbildungsveranstaltung "Zoonosen"*. <http://www.animal-health-online.de/drms/.../salmonella.htm>. (letzter Zugriff am 17.4.2010).
295. **Young, C. R., R. Harvey, R. Anderson, D. Nisbet, L. H. Stanker.** 2000. Enteric colonisation following natural exposure to *Campylobacter* in pigs. *Res. Vet. Sci.* **68** (1): 75-78.
296. **Zhang, S., R. A. Kingsley, R. Santos, H. Andrews-Olymenis, M. Raffatellu, J. Figueiredo, J. Nunes, R. M. Tsolis, L. G. Adams, A. J. Bäumlner.** 2003. Molecular pathogenesis of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium-induced diarrhoe. *Infect. Immun.* **71** (1-12): 1-12.

Danksagung

Herrn Prof. Dr. R. Bauerfeind danke ich für die Betreuung der Arbeit und die Überlassung des Themas. Seine vielen wertvollen Anregungen, Diskussionen und die konstruktive Kritik haben zum Gelingen dieser Arbeit wesentlich beigetragen.

Bei der Landesstiftung Baden-Württemberg bedanke ich mich für die Bereitstellung der Mittel. Herrn Dr. M. Buchholz und Herrn M. Jurich vom Landesverband Baden-Württemberg für Leistungsprüfungen in der Tierzucht e.V. danke ich für die erforderliche Vermittlung von Betrieben und die organisatorische Unterstützung. Insbesondere die Mitarbeit von engagierten Ringberatern sei hier ausdrücklich hervorgehoben.

Herrn Ltd. Vet. Dir. Dr. H. Stöppler, danke ich für die großzügige Bereitstellung der Einrichtungen des Staatlichen Tierärztlichen Untersuchungsamtes Aulendorf und für seine zahlreichen Hilfeleistungen bei der Erstellung dieser Arbeit.

Mein besonderer Dank geht an Frau Dr. K. Schneider für ihre ständige Hilfsbereitschaft bei jeglichen auftretenden Problemen im Verlauf dieser Arbeit und die stets wertvollen Verbesserungsvorschläge und ihr Engagement bei der Durchsicht dieses Manuskriptes. Ihre Energie und Ihr Ideenreichtum waren mir stets von großer Hilfe.

Bei Herrn Ltd. Vet. Dir. Dr. H.-R. Gindele, SGD Nord und VD Dr. J. Czöndör, SGD Süd, sowie bei den SGD-Kollegen Dres. Beker, Gundlich, Hornstein und Lohner bedanke ich mich für die Unterstützung bei den Betriebsbegehungen.

Frau M. Lenhardt, Frau B. Bausch und Frau A. Fritsche danke ich für die exzellente Arbeit und die Beratung im Rahmen der Laborarbeit sowie allen anderen, hier nicht namentlich genannten Mitarbeitern des STUA Aulendorf, für die jederzeit freundliche Unterstützung.

Bei Herrn Dr. K. Failing, Arbeitsgruppe Biomathematik und Datenverarbeitung am Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Giessen, bedanke ich für die Hilfe bei der Auswertung der Daten.

Und schließlich danke ich meinem Mann für die seelische Unterstützung und große Geduld.

Ich erkläre, ich habe die vorgelegte Dissertation selbstständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Arbeit, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.



édition scientifique

VVB LAUFERSWEILER VERLAG

VVB LAUFERSWEILER VERLAG
STAUFENBERGRING 15
D-35396 GIESSEN

Tel: 0641-5599888 Fax: -5599890
redaktion@doktorverlag.de
www.doktorverlag.de

ISBN: 978-3-8359-5716-9



9 783835 957169