

Aus dem Institut für Tierhygiene und öffentliches Veterinärwesen der
Veterinärmedizinischen Fakultät
der Universität Leipzig

und

dem Institut für Umwelt- und Tierhygiene
sowie Tiermedizin mit Tierklinik
der Universität Hohenheim

**Erarbeitung von Methoden und Strategien zur Prävention des
Eintrages von Salmonellen in die Nahrungskette
auf der Ebene der Primärproduktion
beim Schwein**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doctor medicinae veterinariae (Dr. med. vet.)
durch die Veterinärmedizinische Fakultät
der Universität Leipzig

eingereicht von
Muhammed Yilmaz
aus Siegburg
Leipzig, 2011

Mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

Dekan: Prof. Dr. Uwe Truyen

Betreuer: Prof. Dr. Uwe Truyen, Institut für Tierhygiene und öffentliches Veterinärwesen der Universität Leipzig, Leipzig

Prof. Dr. Reinhard Böhm, Institut für Umwelt- und Tierhygiene der Universität Hohenheim, Stuttgart

Gutachter: Prof. Dr. Uwe Truyen, Institut für Tierhygiene und Öffentliches Veterinärwesen der Universität Leipzig, Leipzig

Prof. Dr. Reinhard Böhm, Institut für Umwelt und Tierhygiene der Universität Hohenheim, Stuttgart

Prof. Dr. Uwe Rösler, Institut für Tier- und Umwelthygiene der Freien Universität Berlin, Berlin

Tag der Verteidigung: 19.04.2011

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
2	Literatur	3
2.1	Salmonella	3
2.1.1	Gattungsmerkmale.....	3
2.1.2	Taxonomie	3
2.1.3	Pathogenität.....	5
2.1.3.1	Pathogenitätsinseln.....	5
2.1.3.2	Virulenzfaktoren	6
2.1.3.2.1	Chromosomal kodierte Virulenzfaktoren.....	7
2.1.3.2.2	Plasmid-kodierte Virulenzfaktoren.....	8
2.1.3.2.3	Intrazelluläre Persistenz und Replikation von <i>Salmonella</i> sp.....	8
2.1.4	Epidemiologie	8
2.1.4.1	Salmonellose des Menschen.....	11
2.1.4.2	Salmonellose beim Schwein.....	13
2.1.5	Gesetzliche Regelungen	15
2.1.6	<i>Salmonella</i> -Diagnostik.....	16
2.1.6.1	Kulturelle Diagnostika.....	16
2.1.6.2	Immunochemischer Antigennachweis	18
2.1.6.2.1	Direkter <i>ELISA</i>	18
2.1.6.2.2	Immunoseparation	19
2.1.6.3	Molekularbiologische Methoden	19
2.1.6.3.1	DNA-Hybridisierung	19
2.1.6.3.2	Polymerase-Kettenreaktion (PCR)	20
2.1.6.3.3	Antikörper-Nachweis mittels <i>ELISA</i>	20
2.1.7	Möglichkeiten zur Reduzierung des Vorkommens von Salmonellen im Schweinebestand.....	22
2.1.7.1	Fütterung.....	22
2.1.7.2	Management.....	23
2.1.7.3	Vakzinierung	24
2.1.7.4	Weitere Maßnahmen.....	25
3	Eigene Untersuchungen	26
3.1	Material und Methoden.....	26
3.1.1	Langzeituntersuchungen	26

3.1.1.1	Teilnehmende Betriebe	26
3.1.1.2	Beschreibung der Proben aus den Schweinehaltungsbetrieben.....	27
3.1.2	Querschnittuntersuchungen	31
3.1.2.1	Teilnehmende Betriebe	31
3.1.3	Untersuchungen auf dem Schlachthof.....	37
3.1.4	Bakteriologische Untersuchungen	37
3.1.4.1	Vergleichende Untersuchungen auf Salmonellen	37
3.1.4.1.1	Vergleichende Untersuchungen mit kulturellen Nachweisverfahren	38
3.1.4.1.2	ttr-basiertes real-time PCR-Verfahren zum Nachweis von Salmonellen, vergleichend mit einem Voranreicherungsschritt in gepuffertem Peptonwasser mit oder ohne Novobiocin	40
3.1.4.1.2.1	Extraktion mikrobieller DNA.....	40
3.1.4.1.2.2	ttrC/ttrA basierte real-time PCR.....	41
3.1.4.1.2.3	Herstellung der internen Amplifikationskontrolle	42
3.1.4.1.2.4	Nachweisgrenze der Real-Time PCR bei Reinkulturen in Anwesenheit einer Internenamplifikationskontrolle 10 ² Kopien/μl	43
3.1.4.2	Empfindlichkeitsprüfung von Salmonellen gegen ausgewählte Chemotherapeutika mit der Makrodilutionsmethode (auch Bouillon-Dilutionsmethode) nach DIN 58940 Teil 1	44
4	Ergebnisse.....	46
4.1	Ergebnisse der Langzeituntersuchungen	46
4.1.1	Ergebnisse der kulturellen Verfahren zum Nachweis von Salmonellen	46
4.1.2	Ergebnisse der ttr-basierten Real-Time PCR zum Nachweis von Salmonellen.....	54
4.2	Vergleichende Ergebnisse aller Proben aus den Langzeituntersuchungen im Zusammenhang der angewandten Nachweisverfahren.....	60
4.3	Statistik: Sensitivität der in den Langzeituntersuchungen angewandten Nachweisverfahren.....	64
4.4	Ergebnisse der Querschnittsuntersuchungen mit Methode V	65
4.5	Ergebnisse der Querschnittsuntersuchungen mit Methode III.....	69
4.6	Ergebnisse der Schlachthofuntersuchungen	71
4.7	Isolierte Salmonellen-Serovare und die jeweiligen Ergebnisse der Empfindlichkeitsprüfung gegen ausgewählte Chemotherapeutika	73
5	Diskussion	81
5.1	Auswahl der Nachweismethoden	81
5.2	Auswahl der Probennahmepunkte	84
5.3	Allgemeine Diskussion der Ergebnisse	86
5.3.1	Ergebnisse der Langzeituntersuchungen	86
5.3.2	Ergebnisse der Querschnittsuntersuchungen.....	90

5.3.3	Erkenntnisse der Resistenzprüfung gegen Antibiotika der isolierten <i>Salmonella</i> -Serovare sowie der Schlachthofuntersuchungen.....	92
5.4	Strategien zur Prävention des Eintrages von Salmonellen in die Nahrungskette	93
6	Zusammenfassung	97
7	Summary	99
8	Literaturverzeichnis	101
9	Anhang	114
9.1	Herstellung der verwendeten Nährmedien	114
9.2	Tabellarische Darstellung der positiven Ergebnisse	117

Abkürzungsverzeichnis

μ	Mikro
μl	Mikroliter
Abb.	Abbildung
AMOX	Amoxicillin
APRA	Apramycin
BFR	Bundesamt für Risikobewertung
Bp	Basenpaare
BPLS	Brillantgrün Phenolrot Lactose Saccharose
BPW	Buffered Peptonwater = gepuffertes Peptonwasser
°C	Grad Celsius
ca.	Circa
CE	Competitive Exclusion = konkurrierender Ausschluss
CEN	European Committee for Standardization = Europäisches Komitee für Standardisierung
COL	Colistin
DIN	Deutsches Institut für Normung
DNA	Deoxyribonucleic acid = Desoxyribonukleinsäure
EFSA	European Food Safety Authority = Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit
EG	Europäische Gemeinschaft
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
EN	Europäische Norm
ENRO	Enrofloxacin
EU	Europäische Union
FAE	Follicle Associated Epithelium
FLOR	Florfenicol
g	Gramm
GEN	Gentamicin
Gy	Gray
HPI	High Pathogenicity Island
I	Intermedier
IfSG	Infektionsschutzgesetz
Ig	Immunglobulin
ILT	Isolated Lymphoid Propria
ISO	International Organization for Standardization
KBE	Kolonienbildende Einheit
l	Liter
LFGB	Lebensmittel- und Futtermittel Gesetzbuch
LMHV	Lebensmittelhygieneverordnung
m	Meter
M	Molar

MHK	Minimale Hemmkonzentration
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mM	Millimolar
MSRV	Modified Semisolid Rappaport Vassiliadis Medium = Modifizierter Rappaport Vassiliadis Medium
NEO	Neomycin
PCR	Polymerase Chain Reaction = Polymerase Kettenreaktion
pH	Potentia Hydrogenii = Wasserstoffionenkonzentration
R	Resistent
RKI	Robert Koch Institut
RNA	Ribonucleic acid = Ribonukleinsäure
RVS	Rappaport Vassiliadis Medium
S	Sensibl
S.	<i>Salmonella</i>
SGI	<i>Salmonella</i> Genomische Insel
SILT	Solitary Intestinal Lymphoid Tissue
SPI	Salmonellen Pathogenitätinsel
SSV	Schweine-Salmonellen-Verordnung
Tab.	Tabelle
TET	Tetracycline
TierSG	Tierseuchengesetz
TKrMeldpfV	Verordnung über meldepflichtige Tierkrankheiten
ttr	Tethrationatreduktase
U	Unit
VO	Verordnung
XLD	Xylose Lysine Deoxycholat Agar

1 Einleitung

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, Methoden und Strategien zu entwickeln, die auf der Ebene Primärproduktion Schwachstellen im Bezug auf das Vorkommen von Salmonellen beim Schwein schon möglichst vor der Schlachtung aufdecken, um gezielte Maßnahmen zur Verhinderung der Einschleppung und Verbreitung sowie zur Bekämpfung von Salmonellen im Schweinebestand zu ergreifen.

Die Notwendigkeit dazu ergibt sich daraus, dass eine Salmonellen-Infektion im Schweinebestand in den meisten Fällen nicht mit krankheitsbedingten Symptomen verbunden ist, was dazu führt, dass diese Keime in der Herde meist unerkannt bleiben und mit infizierten Schweinen sowie Ferkeln von Betrieb zu Betrieb gelangen (BFR 2009a). Solche Tiere stellen bekanntlich auch die Ursache eines möglichen Eintrages in die Lebensmittelkette dar (PIOTOWSKI 2008).

Die Ergebnisse einer EU-weiten Studie zu Salmonellen in Haltungsbetrieben mit Zuchtschweinen zeigten, dass in den meisten EU Mitgliedsstaaten diese Erreger anzutreffen sind und in allen Mitgliedsstaaten mit intensiver Schweineproduktion nachgewiesen werden konnten (EFSA 2009). Die Studie wurde nach einem von der EU vorgegebenem Studienplan zwischen dem 01. Januar und 31. Dezember 2008 durchgeführt. Dabei wurden in jedem Mitgliedsstaat mindestens 80% der Zuchtschweine erfasst und die Untersuchungen in Betrieben mit mindestens 50 Zuchtschweinen durchgeführt (HARTUNG 2010).

Die Ergebnisse der Untersuchungen in der Bundesrepublik Deutschland zur EU-weiten Grundlagenstudie machten deutlich, dass von 2010 untersuchten Kotproben aus 201 Schweinebeständen 125 Proben (6,2%) positiv auf Salmonellen getestet wurden. Als positiv für *Salmonella* spp. erwiesen sich 45 Schweinebestände (22,4%). In diesen Betrieben waren in den meisten Fällen nur eine (15 Betriebe) bis zwei (elf Betriebe) von zehn untersuchten Kotproben positiv, was darauf hindeutet, dass nur wenige Tiere in den betroffenen Beständen Salmonellen ausscheiden (HARTUNG 2010).

Mit der seit März 2007 geltenden „Verordnung zur Verminderung der Salmonellenverbreitung durch Schlachtschweine“ (Schweine-Salmonellen-Verordnung), wurde die europäische Verordnung zur Zoonosenbekämpfung VO EG 2160/2003 im Hinblick auf die Salmonellenproblematik bei Mastschweinen in Deutschland umgesetzt. Die mit dieser Verordnung ermittelten serologischen Befunde haben einen retrospektiven Charakter und erreichen den Schweinezüchter meist Wochen nach der Schlachtung. Daher können diese Befunde keinen Hinweis über die aktuelle Salmonellen-Situation im Schweinebestand geben.

Ziel der Untersuchungen nach der SSV (Schweine-Salmonellen-Verordnung) ist nicht die Identifikation Salmonellen-infizierter Einzeltiere sondern, die Kategorisierung der Schweinemastbetriebe, um Schlachttiere aus Salmonellen-belasteten Betrieben gesondert

dem Schlachtprozess zu unterziehen, die zur Kontrolle des Erfolgs eines Hygienemanagements auf Herdenbasis mittels der zugelassenen serologischen Tests erfolgen. Für die Untersuchung von Einzeltieren sind diese Tests aufgrund ihrer Konzeption nicht geeignet (RÖSLER 2006). Es fällt dem Inhaber eines Endmastbetriebes meist schwer die Schwachstellen im eigenen Schweinemastbetrieb aufzudecken und diese zu beheben. Schließlich wird in diesem Zusammenhang mit dem erwähnten serologischen Vorgehen eine größere Bedeutung dem Monitoring von Salmonellen im Bestand beigemessen, als der Prävalenz und das schnelle Erkennen von Veränderungen. Zur Prävention des Eintrages von Salmonellen in die Nahrungskette fehlen gezielte Methoden und Strategien, welche zeitnah dem Landwirt einen Hinweis über die aktuelle Situation im Schweinebestand geben können.

Ein wirkungsvolles Vorgehen zur Verhinderung des Eintrages von Salmonellen in die Nahrungskette („Food Chain“) ist somit nur bei weitgehender Einbindung der Primärproduktion in das Vorgehen möglich, dazu muss aber der landwirtschaftliche Betrieb wissen welche Maßnahmen zur Eigenkontrolle er sinnvoller Weise bei einem vertretbaren Kostenansatz durchführen kann. Um dies zu ermöglichen, musste zuerst eine Analyse der Schwachstellen und die Identifizierung von effektiven Probenahmestellen in ausgewählten, unterschiedlich konzipierten Betrieben erfolgen. Gleichzeitig musste eine Nachweismethode entwickelt werden, die mit einer begrenzten Menge Probenmaterial von verschiedenen Probenahmeorten im Betrieb einen weitgehend sicheren und empfindlichen Salmonellennachweis ermöglicht. Dies geschah in zwei Schritten, zuerst in Langzeituntersuchungen ausgewählter Betriebe, gefolgt von einem zweiten Schritt zur Verifizierung der aus diesen Untersuchungen resultierenden Beprobungsstrategie. Zunächst wurden in sogenannten Langzeituntersuchungen verschiedene Probenpunkte mit fünf standardisierten Nachweisverfahren auf vier verschiedenen Schweinemastbetrieben vergleichend untersucht. Mit den Ergebnissen wurde die effektivste Nachweismethode sowie die aus praktischer Sicht anwendbaren Probennahmepunkte ermittelt. Mit den sich anschließenden sogenannten Querschnittsuntersuchungen konnten die ermittelten Probennahmepunkte und Nachweismethoden auf acht zufällig ausgewählten Schweinebetrieben angewandt und bestätigt werden.

2 Literatur

2.1 Salmonella

2.1.1 Gattungsmerkmale

Salmonellen zählen zu den wichtigsten bakteriellen Infektionserregern bei Menschen und Tieren. Sie wurden nach dem amerikanischen Bakteriologen Daniel Salmon benannt. Die Erreger des Typhus abdominalis wurden bereits 1880 von Robert Koch und Karl Joseph Eberth entdeckt und 1884 von Theodor August Gaffky in Reinkultur gezüchtet (HOF und DÖRRIES 2009). Der Genus *Salmonella* gehört zur Familie der Enterobacteriaceae (BHUNIA 2008). Salmonellen sind 0,7 – 1,5 x 2,0 – 5,0 µm große gramnegative fakultativ anaerobe Stäbchenbakterien. Bis auf wenige Ausnahmen sind Salmonellen beweglich, ihre charakteristischen Stoffwechseleigenschaften sind die Reduktion von Nitrat zu Nitrit, die Bildung von H₂S, der Abbau von Propilenglykol und die Nutzung von Citrat als alleinige Kohlenstoffquelle. Mit Ausnahme der Subspezies *arizonae* und *diarizonae* können sie keine Laktose abbauen. Auf Blutagar tritt keine Hämolyse auf (SELBITZ et al. 2002).

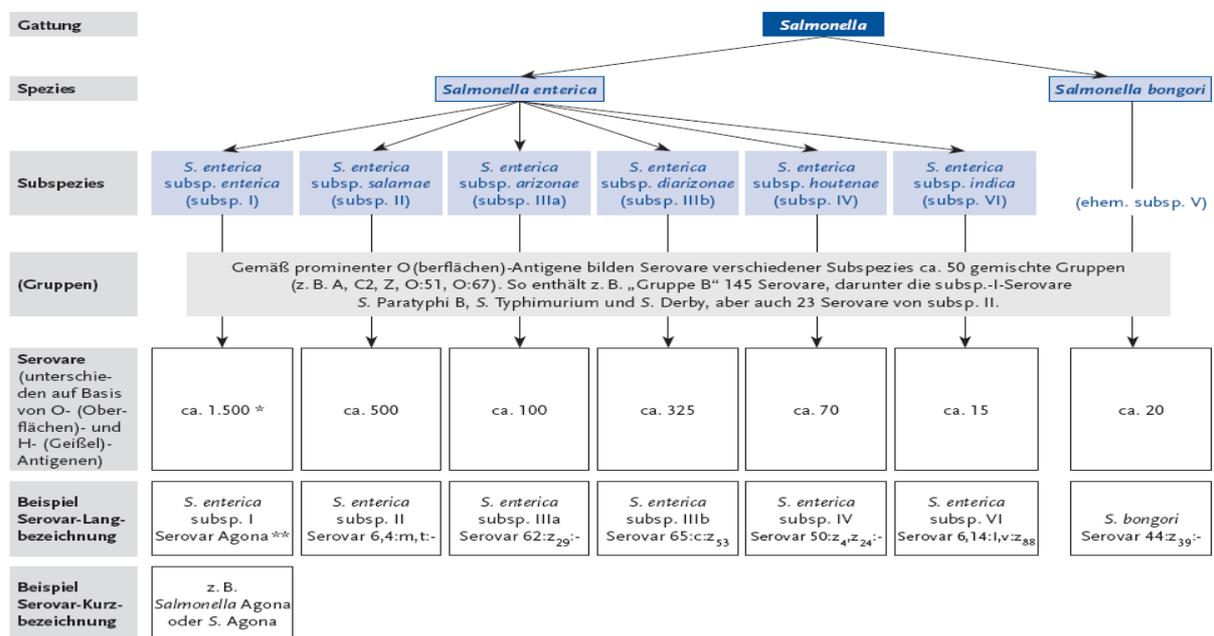
Unter fakultativ anaeroben und aeroben Bedingungen wachsen Salmonellen auf einfachen, festen Nährböden aus Agarbasis, diese enthalten meist einen Hemmstoff um alle grampositiven und die meisten der zur Familie *Enterobacteriaceae* gehörenden gramnegativen Stäbchen zu hemmen. Sie bilden auf diesen Nährböden helle, runde und glänzende Kolonien mit einem Durchmesser von 2-4 mm (RÖSLER 2006).

2.1.2 Taxonomie

Mit der Weiterentwicklung der bakteriologischen Charakterisierungsverfahren veränderte sich die Taxonomie des Genus *Salmonella* mehrfach. Anfangs wurden alle *Salmonella*-Serovare als eine eigene Spezies betrachtet bis KAUFMANN (1966) das Genus *Salmonella* aufgrund der verschiedenen biochemischen Eigenschaften in vier Subgenera und jedes Serovar als Spezies unterteilte (RÖSLER 2006). Anhand von genetischen Markern in der Multilokus-Enzym-Elektrophorese machten REEVES et al. (1989) den Vorschlag, die Spezies *Salmonella*, in zwei Subspezies *Salmonella enterica* und *Salmonella bongori* einzuteilen. POPOFF et al. (1994) differenzierte zwei *Salmonella*-Spezies: *Salmonella cholerasuis* und *Salmonella bongori*. Die Bezeichnung der Spezies *Salmonella cholerasuis* und die gleichzeitige Benennung eines Serovar mit diesem Namen führte zur Verwirrung. Daher wurde der Vorschlag gemacht, sowohl die Spezies als auch die Subspezies

Salmonella choleraesuis unter der Spezieskennzeichnung *Salmonella enterica* zu unterteilen (LE MINOR und POPOFF 1987, EUZEBY 1999).

Salmonellen werden derzeit aufgrund der Struktur ihrer O- (Oberflächen) und H- (Geißel) Antigene nach dem White-Kauffmann-Le Minor-Schema (früher Kauffmann-White-Schema) und anhand einer Antigenformel in Serovare differenziert (RKI 2009). Es sind ca. 2500 Serovare bekannt, die eine Gattung mit den beiden Arten *Salmonella (S.) enterica* und *S. bongori* bilden. *S. enterica* wird in 6 Subspezies eingeteilt von denen die Untergruppen der Subspezies I (*S. enterica* subsp. *enterica*) in etwa 1500 meist mit Eigennamen versehene Serovare unterteilt werden. Unter Subspezies *enterica* befinden sich alle für den Menschen und homoiotherme Tiere bedeutenden Serovare (BARROW et al. 2010). Die anderen Subspezies werden nur durch ihre Antigenformel bezeichnet (RKI 2009).



* darunter auch *S. Typhi* und *S. Paratyphi* A, B oder C, aber auch *S. Enteritidis* (Gruppe D₁) und *S. Typhimurium* (Gruppe B)
 ** nur Serovare der subsp. I tragen krankheitsbeschreibende, Personen- oder Ortsnamen (z. B. *S. Enteritidis*, *S. Virchow*, *S. London*), Serovar-Varianten werden mit der Antigenformel bezeichnet (z. B. eine monophasische Variante von *S. Typhimurium* mit 4,_[5],12:1-)

Abb. 1: Stammbaum der Gattung *Salmonella* (RKI 2009)

O-Antigene sind hitzeresistente und säurefeste Lipopolysaccharid-Komplexe die Bestandteile der Zellwand sowie der Endotoxine sind (BLAHA 1988, DEDIÉ et al. 1993).

Die in den Geißeln lokalisierten hitze-, säure-, und alkohollabilen Proteine werden als H-Antigene bezeichnet. Sie kommen in zwei serologisch unterscheidbaren Phasen einer spezifischen Phase 1 oder einer unspezifischen Phase 2 vor, dabei ist ein Wechsel zwischen den beiden Phasen möglich (BISPING und AMTSBERG 1988, BLAHA 1988).

K-Antigene kommen in der Form eines Vi-Antigens nur bei *S. Typhi* und *S. Paratyphi* vor, F-Antigene spielen bei Salmonellen nur eine untergeordnete Rolle (BLAHA 1988, DEDIÉ et al. 1993, ROLLE und MAYR 2007).

2.1.3 Pathogenität

Jedes vom Tier isolierte *Salmonella*-Serovar gilt als potentieller Zoonoserreger. Die Einstufung als avirulentes Serovar oder avirulenter Stamm darf erst nach entsprechender Prüfung erfolgen. Generell werden beide Spezies *S. enterica* und *S. bongori* als pathogen für Mensch und Tier angesehen (RÖSLER 2006).

Im intestinalen Trakt zeigt der Genus *Salmonella* ein Tropismus auf die intestinalen lymphatischen Strukturen und durchläuft die Mucosal Microfold (M)-Zellen, die sich im follikelverbundenen Epithelium (FAE= follicle associated epithelium) über den Peyer`schen-Platten (PP= Peyer`s Patches) befinden. Die M-Zellen und dendritischen Zellen sind in der Lamina propria lokalisiert und halten die Homeostasis der luminalen Mikrobiota aufrecht; ein Prozess, mit dem Salmonellen die epitheliale Barriere überqueren. M-Zellen sind in vereinzelt lymphatischen Strukturen (SILT= solitary intestinal lymphoid tissue) lokalisiert und dieses dient als Vorlage für die Invasion der Salmonellen. Vereinzelt lymphatische Strukturen setzen sich aus isolierten lymphatischen Follikeln (ILT= isolated lymphoid follicles), welche B- und M-Zellen beinhalten, zusammen. In der Lamina propria werden Salmonellen von resistenten dendritischen Zellen und Makrophagen umhüllt. Sie replizieren sich in den Wirtszellen oder führen zu einer Apoptose (BHUNIA 2008).

Unabhängig von dem durch die M-Zellen vermittelten Eintrag dringen Salmonellen in das apikale Epithel des Ileums, Cecum und des proximalen Kolon ein. Sie lösen signifikante Inflammationen an Stellen aus, die sich durch massive neutrophile Infiltrationen charakterisieren und zu Nekrose, Ödem und Sekretionen führen. Dies trifft in den ersten 1-3 Stunden der Infektion zu. In manchen Fällen verbreiten sich Salmonellen in mesenterischen Lymphknoten der Leber und der Milz (BHUNIA 2008).

Mechanismen wie der Adhäsivität, Invasivität, dem intrazellulären Parasitismus und der Toxinbildung definieren die Virulenz des Isolates. Salmonellen verfügen über ca. 200 Virulenzfaktoren, diese bilden keine Gruppen mit voneinander abgrenzbaren Virulenzeigenschaften (FEDORKA-CRAY et al. 2000, RÖSLER 2006).

2.1.3.1 Pathogenitätsinseln

Die virulenten Gen-Cluster der Gattung *Salmonella* sind auf 12 Pathogenitätsinseln (SPI) lokalisiert. Die virulenten Gene, welche in die intestinale Phase der Infektion involviert sind, befinden sich auf der SPI 1 und SPI 2. Die restlichen SPI sind für die systemische Infektion,

interzelluläres Überleben, fimbriale Expression, Antibiotikaresistenz, Mg²⁺ und Eisenaufnahme zuständig (Tabelle 1) (BHUNIA 2008).

Tabelle 1. *Salmonella* Pathogenitätsinseln (SPI) nach BHUNIA (2008) und HENSEL (2004)

Pathogenitätsinseln	<i>Salmonella</i> Serovare	Länge (kb)	Funktion
SPI 1	<i>S. enterica</i> und <i>S.bongori</i>	43	Type III Sekretionssystem, Invasion, Eisenaufnahme
SPI 2	<i>S. enterica</i>	40	Type III Sekretionssystem, Invasion, systematische Infektion
SPI 3	<i>S. enterica</i> und <i>S.bongori</i>	17	Mg ²⁺ Aufnahme, Überlebensfähigkeit in Makrophagen
SPI 4	<i>S. enterica</i> und <i>S.bongori</i>	27	Überlebensfähigkeit in Makrophagen
SPI 5	<i>S. enterica</i> und <i>S.bongori</i>	7.6	Enteropathogenität
SPI 6	<i>S. enterica subspecies enterica</i>	59	Fimbrien
SPI 7	Serovare Typhi, Dublin, Paratyphi	133	Vi Antigene
SPI 8	Serovar Typhi	6.8	unbekannt
SPI 9	<i>S. enterica</i> und <i>S.bongori</i>	16.3	Type I Sekretionssystem und RTX-ähnliches Toxin
SPI 10	Serovare Typhi und Enteritidis	32.8	Sef Fimbrien
SGI 1	Serovare Typhimurium (DT104), Paratyhi und Agona	43	Antibiotikaresistenz-Gen
HPI	<i>S. enterica subspecies</i> IIIa, IIIb, IV	?	Hohe Affinität zur Aufnahme von Eisen, Septikämie

2.1.3.2 Virulenzfaktoren

Die Virulenzfaktoren der Salmonellen teilen sich laut RÖSLER (2006) folgendermaßen auf:

1. Chromosomal kodierte Virulenzfaktoren
2. Plasmid kodierte Virulenzfaktoren
3. Intrazelluläre Persistenz und Replikation von *Salmonella* sp.

2.1.3.2.1 Chromosomal kodierte Virulenzfaktoren

4 % des *Salmonella*-Chromosoms kodieren Virulenzfaktoren (BOWE et al. 1998, RÖSLER 2006). Aus diesen Genen werden Pathogenitätsinseln formiert, die sich in kleineren Genklustern zeigen oder sie liegen einzeln vor (McCLELLAND et al. 2001, RÖSLER 2006). Die *Salmonella*-Pathogenitätsinseln SPI 1 und 5 beinhalten die für die Invasion der Erreger in die Darmepithelzellen verantwortlichen Gene (RÖSLER 2006). Für das Überleben und Replizieren der Salmonellen in der Wirtszelle sind SPI 2, SPI 3 und SPI 4 zuständig und führen zu einer systematischen Ausbreitung (FIELDS et al. 1986, MORGAN et al. 2004). Für den Invasionsprozess muss eine Anheftung an das Darmepithel erfolgen. Vermittelt durch fimbrielle Adhäsine ist dies der erste spezifische Kontakt, je nach Wirt, an Enterozyten oder M-Zellen innerhalb der Peyerschen Platten (BAUMLER et al. 1997, FROST et al. 1997, RÖSLER 2006). Die Mehrheit dieser Gene befindet sich auf der Pathogenitätsinsel SPI 1 (RÖSLER 2006).

Die Pathogenitätsinsel SPI 2 kann in zwei Abschnitte unterteilt werden. Zum einen bei Centisom 30,5 auf einem 15 kb großen Fragment, hier befinden sich Gene für ein Tetrathionatreduktasesystem, das Salmonellen ermöglicht, Tetrathionat als Elektronenakzeptor in der anaeroben Atmung zu nutzen. Für die Virulenz ist der Abschnitt bei Centisom 31 auf einem 25 kb großen Fragment von Bedeutung. Es trägt Gene, die für den Typ III-Sektionsapparat Effektorproteine kodieren (HENSEL et al. 1999, RÖSLER 2006). Ebenfalls von großer Bedeutung sind Gene, die auf der SPI 1 und SPI 2 lokalisierten Gene, die wiederum zwei voneinander unabhängige Typ III-Sekretionssysteme kodieren. Die Komponenten eines Typ III-Sekretionsapparates können in diese vier Hauptgruppen unterteilt werden (GALAN 2001, GALAN und BLISKA 1996, RÖSLER 2006):

- Strukturelle Proteine (Strukturproteine)
- Akzessorische Proteine
- Regulatorproteine
- Sezernierte Proteine (Effektorproteine)

Die Sekretionssysteme ermöglichen dem Mikroorganismus die Einschleusung von Effektorproteinen in die Wirtszelle (HUECK 1998). Die wirtseigenen Signaltransduktionswege werden durch diese Effektorproteine beeinflusst und eine Reihe zellulärer Antworten ausgelöst (RÖSLER 2006).

Zur strukturellen Komponente des auf der SPI 1 kodierten Typ III-Sekretionssystems zählt das *invC*-Gen (GALAN und CURTISS 1989). Man kann davon ausgehen, dass es durch seine signifikante ATPase-Aktivität zur Versorgung des Protein-Export-Apparates mit Energie beiträgt (EICHEMBERG et al. 1994).

Ein weiteres wichtiges Kennzeichen der Pathogenese stellt das Überleben und die Replikation von *Salmonella* sp. in Makrophagen dar (RÖSLER 2006), dieses wird durch den auf der SPI 2 kodierten Typ III-Sekretionsapparat realisiert (SHEA et al. 1999).

Geißeln, Fimbrien, Enterotoxin, Cytotoxin, Hitzeschockprotein, Lipopolysaccharide und Siderophore sind weitere potentielle Virulenzfaktoren, die mit Salmonelleninfektionen in Verbindung gebracht werden (RÖSLER 2006).

2.1.3.2.2 Plasmid-kodierte Virulenzfaktoren

Bei fast allen wirtsadaptierten Serovaren, außer *S. Typhisuis*, *S. Typhi* und *S. Paratyphi* findet man Virulenzplasmide. Nicht-wirtsadaptierte Serovare tragen generell keine Plasmide, mit Ausnahme von *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis* und *S. Bovismorficans* (RÖSLER 2006).

Bei den *Salmonella*-Virusplasmiden („Low-Copy“-Plasmide) handelt es sich um große, doppelsträngige, zirkuläre DNA-Moleküle, von denen bis zu drei Kopien in einer Salmonellen-Zelle vorkommen (TINGE und CURTISS 1990).

Das Auftreten des „*Salmonella* plasmid virulence“-Locus (*spv*-Locus), der in Aufbau und Sequenz gleich ist, bildet ein Charakteristikum: die Serovar-spezifische Größe von 50 bis 140 kb haben alle Plasmide (RÖSLER 2006). Der 7,8 kb umfassende Abschnitt des *spv*-Locus beinhaltet fünf als Operon organisierte Strukturgene: *spvR*, -A, -B, -C und -D (GUINEY et al. 1994).

Auf dem Virusplasmid befindet sich auch ein *mig-5*-Gen (macrophage inducible gene), es kodiert ein Lipoprotein, das als Carbonanhydrase fungiert (RÖSLER 2006).

2.1.3.2.3 Intrazelluläre Persistenz und Replikation von *Salmonella* sp.

Durch die Fähigkeit der intrazellulären Persistenz und Replikation in Wirtszellen ist es dem Erreger möglich, sich im Körper auszubreiten und der Wirtsabwehr zu entgehen (LINDGREN et al. 1996, RÖSLER 2006). Laut RÖSLER (2006) scheint diese Befähigung an die Wirtsadaptation des Erregers gekoppelt zu sein. SCHWAN und KOPECKO (1997) stellten fest, dass sich die Überlebenszeit beim Vergleich von *S. Typhimurium* und *S. Typhi* in murinen und humanen Makrophagen in den jeweiligen wirtsspezifischen Zellen deutlich erhöht.

2.1.4 Epidemiologie

Habitat der Salmonellen ist der Darm von Mensch und Tier, sie kommen in der unbelebten und belebten Umwelt des Menschen und des Tieres weltweit vor (RÖSLER 2006). Durch ihr weites Wirtsspektrum, fäkaler Ausscheidungen der Wirtstiere, einer langen Überlebenszeit in der Umwelt, sowie die Nutzung von verschiedenen Vektoren verbreiten sich Salmonellen in der Umwelt (STRAW et al. 2006). Eine Infektion mit Salmonellen erfolgt hauptsächlich oral, da sie keine Wirtsspezifität besitzen können, komplexe Infektionsketten mit verschiedenen Tierarten, Menschen sowie der Umwelt entstehen (BLAHA 1993, ROLLE und MAYR 2007).

Die Haltung und Fütterung der Tiere, die Lebensweise des Menschen und insbesondere die angewandten Hygienemaßnahmen sind wichtige Faktoren, die die Häufigkeit des Vorkommens beeinflussen. Häufiges Vorkommen kann insbesondere in Ländern mit mangelhafter öffentlicher Hygiene, Ländern der wärmeren Klimazonen und während der wärmeren Jahreszeit beobachtet werden. Salmonellen-bedingte Infektionen können auch in Ländern mit entwickelten Hygienestandards durch die intensive Haltung von landwirtschaftlichen Nutztieren, einschließlich Massenschlachtung und durch den Import von Futtermitteln zu einem bedeutenden Problem werden. In Schlachtkörpern von Geflügel, Schwein und Rind, in Schadinsekten und Vögeln, bei Hunden und Katzen sowie in Kaltblütern und Reptilien können Salmonellen in unterschiedlicher Häufigkeit nachgewiesen werden (RÖSLER 2006). Der Kontakt zu Klär- und Abwasseranlagen, abwasserhaltige Hafenbecken, Schlachthöfen und Müll steigert den Befallsgrad der Wildvögel und Schadinsekten (FRANSEN et al. 1996). Bei auf Schlachthöfen lebenden Ratten konnten durch Kotuntersuchungen eine Salmonellen-Quote von 30 % festgestellt werden, dabei kommen auch in Lebensmittelbetrieben insbesondere Fliegen und Schaben als Transporteur in Betracht (OLSEN und HAMMACK 2000, RÖSLER 2006). Die nicht mit landwirtschaftlichen Nutztieren im Kontakt stehenden Kaltblüter und Reptilien sind häufig latente Salmonellen-Träger (RÖSLER 2006).

Salmonellen können in verschiedenen Materialien, wie z. B. Lebens- und Futtermitteln, über sehr lange Zeit infektionsfähig bleiben, ihre Überlebenszeit sind von Faktoren, wie der Art des Materials, der Temperatur, der Material- und Luftfeuchte, dem pH-Wert, dem Sonnenlicht und der *Salmonella*-Art sowie der Ausgangskeimzahl abhängig (BÖHM 1993, BOES et al. 2005, JENSEN et al. 2006, PIETSCH 1981, RÖSLER 2006).

Tabelle 2. Überlebenszeiten von Salmonellen in der Umwelt nach BÖHM (1993), ROLLE und MAYR (2007), NESER (1994), GAREIS (1995) und BERENDS et al. 1996

Material	Nachweisbarkeit
glatte Metalloberfläche	14 Tage
Insekten	16 Tage
gepökelttes Fleisch	75 Tage
trockener Schweinekot	291 Tage
feuchte Erde	12 Monate
trockene Erde	16 Monate
Gülle	33 Monate

Material	Nachweisbarkeit
Abwasser	2,7 Jahre
Staub	4 Jahre
Volleipulver	13 Jahre

Salmonella Enteritidis und *Salmonella* Typhimurium können sich beispielsweise bei einem minimalen Nährstoffangebot von 60 mg Protein/ml und bei einer Temperatur von +7°C bis +47°C vermehren (BÖHM 1993). Das Einfrieren bei -18 °C bis -20°C können Salmonellen überstehen, jedoch sind sie bei einer Hitzeeinwirkung von 55°C für eine Stunde sowie von 60°C für 30 Minuten nicht überlebensfähig. Sie sind relativ widerstandsfähig gegen niedrige pH-Werte, allerdings kommt es bei einem pH-Wert < 4,0 und > 9,0 nur zu kurzen Überlebenszeiten. Sie sind gegenüber trockener Wärme widerstandsfähiger als gegenüber feuchter Wärme. Je nach Substrat und Stärke sind die zur Dekontamination bei Futter- und Lebensmitteln eingesetzten ionisierenden Strahlen bei 0,3 - 1,0 x 10⁴ Gy wirksam. Soweit sie nicht durch umhüllende Stoffe wie Kot und Schleim geschützt sind, können sie mit Desinfektionsmitteln in wenigen Minuten abgetötet werden (DAVIES und BRESLIN 2003, SELBITZ 2002, RÖSLER 2006).

Nach ihrem Infektionsspektrum können Salmonellen in verschiedene Gruppen eingeteilt werden (DEDIÉ et al. 1993, KRAUS et al. 1997, MEYER 1992, SELBITZ 1992, SELBITZ und BISPING 1995, RÖSLER 2006):

1. An den Menschen adaptierte wirtsspezifische Serovare
Zu dieser Gruppe gehören *S. Typhi* und *S. Paratyphi*, sie verursachen typhöse Erkrankungen (primäre Salmonellosen) und sind für Tiere ohne Bedeutung.
2. Tierartenadaptierte Serovare, wie z. B. für das Huhn *S. Gallinarum-Pullorum*, für das Rind *S. Dublin*, für das Schwein *S. Choleraesuis* und *S. Typhisuis*, für das Pferd *S. Abortusequi* und für das Schaf *S. Abortusovis* führen bei den entsprechenden Tierarten zu typhoiden Erkrankungen und sind bei anderen Tieren oder beim Menschen nahezu bedeutungslos.
3. Nicht-wirtsadaptierte, schwach virulente Serovare, sie treten bei allen Tieren passagär oder latent auf und können beim Menschen Lebensmittelinfektionen auslösen. Zu dieser Gruppe zählen *S. Agona*, *S. Infantis*, *S. Manhattan*, *S. Ohio* und *S. Saintpaul*. Diese bleiben auf einen Bestand beschränkt und verschwinden nach der Anwendung veterinärhygienischer Maßnahmen sehr schnell.

4. Nicht-wirtsadaptierte, hoch virulente Serovare, sie können sowohl beim Menschen als auch bei bestimmten Tierarten zu schweren *Salmonella*-Infektionen mit teilweise Mortalität führen. Die wichtigsten Serovare dieser Gruppe sind *S. Typhimurium* und *S. Enteritidis*.

Salmonellen können wegen ihrer epidemiologischen Verflechtung tierischer Wirte, ihrer Fähigkeit zwischen verschiedenen Menschen und Tieren zu zirkulieren, der geringen und fehlenden Wirtsspezifität der meisten Serovare, der langen Überlebensdauer in der Umwelt und der Möglichkeit, latente Infektionen auszulösen, die als eine Infektion ohne Manifestation auftreten, komplexe und schwer zu überblickende Infektionsketten auslösen, an deren Ende oftmals der Mensch steht (BÖHM 1993, KRAUS et al. 1997, SELBITZ 1992, SELBITZ u. BISPING 1995).

2.1.4.1 Salmonellose des Menschen

In der Bundesrepublik Deutschland wurden aufgrund der Meldepflicht nach Infektionsschutzgesetz (IfSG) insgesamt 45.401 *Salmonella*-Infektionen an das Robert Koch Institut übermittelt, darunter befanden sich 42.902 Erkrankungen (RKI 2009). Mit einem Maximum bei Kleinkindern treten die höchsten altersspezifischen Inzidenzen bei Kindern unter 10 Jahren auf. Zwar sind Todesfälle durch Salmonellose in Deutschland selten, jedoch wurden im Jahr 2008 mit einem Altersdurchschnitt von 79 Jahren 33 Salmonellose-Fälle als krankheitsbedingt verstorben an das RKI übermittelt (RKI 2009). Dabei ist zu beachten, dass durch diese Meldedaten Todesfälle unterschätzt werden können, weil einmal gemeldete Infektionen nicht bis zum Ende verfolgt werden (RKI 2009).

Eine Infektion erfolgt meist oral über Lebensmittel, die primär oder sekundär kontaminiert sind (SANDER 1993). Die Salmonellose ist die klassische Lebensmittelinfektion des Menschen, das in Deutschland dominierende Serovar *S. Enteritidis* wird über nicht ausreichend erhitzte Eier, eihaltige Speisen und Zubereitungen übertragen, besonders wenn diese Rohei enthalten, wie z. B. Kuchenteig, Eischäume, Cremes, Konditoreiwaren, Mayonnaise und Speiseeis (FRANK et al. 2007, RKI 2006, RKI 2009). Salmonellen können auch durch rohes Fleisch, bzw. durch nicht oder nicht ausreichend erhitzte Fleischerzeugnisse übertragen werden (JANSEN et al. 2005, JANSEN et al. 2007, RKI 2009). Mit sogenannten Kreuzkontaminationen können auch primär nicht mit Salmonellen kontaminierte Lebensmittel, durch die Berührung infizierter Menschen, Kontakt mit kontaminierten Lebensmittel sowie Oberflächen, ein Infektionsrisiko darstellen (RKI 2009).

Es gab in Deutschland verschiedene Ausbrüche, in denen Salmonellen im Zusammenhang mit dem Verzehr von Kräutertee, Schokolade und geräuchertem Aal nachgewiesen wurden (KOCH et al. 2005, RABSCH et al. 2005, WERBER et al. 2005, FELL et al. 2000, RKI 2009).

Salmonellen können auch aus pflanzlichen Lebensmitteln nachgewiesen werden, wie beispielsweise bei Sprossen oder Tomaten, ein epidemiologischer oder mikrobiologischer Zusammenhang zwischen Salmonellenerkrankungen und dem Verzehr dieser Lebensmittel konnte in Deutschland allerdings noch nicht hergestellt werden (WINTHROP 2003, GUPTA 2007, RKI 2009).

Durch den direkten Kontakt zu Tieren, die Salmonellen ausscheiden, erfolgt in seltenen Fällen eine Übertragung auf den Menschen. Diese Übertragung ist besonders bei Heimtieren, insbesondere bei Reptilien möglich. In diesem Zusammenhang wurden in verschiedenen Literaturangaben die besondere Gefährdung von Säuglingen und Kleinkindern mehrfach beschrieben (BERTRAND 2008, MERMIN 2004, RKI 2009).

Ebenfalls wurde eine direkte oder indirekte Übertragung von Mensch zu Mensch, insbesondere von mehrfachresistenten *Salmonella*-Serovaren beschrieben, vor allem als Hospitalinfektion bei besonders disponierten Personen oder unter hygienisch mangelhaften Bedingungen (OLSEN 2001, RKI 2007, WADULA 2006, RKI 2009).

Die Infektionsdosis liegt etwa zwischen 1 bis 10^9 KBE/g, verschiedene Studien belegen, dass nur eine Dosis zwischen 10^5 - 10^{10} *Salmonella*-Organismen erforderlich ist, um eine Infektion bei erwachsenen Menschen zu verursachen (BHUNIA 2008).

Symptome treten binnen von 6-24 Stunden mit Übelkeit, Brechreiz, Appendizitis ähnelnder abdominalen Schmerzen, Kopfschmerzen, hämorrhagische oder non-hämorrhagische Diarrhöe, gefolgt durch muskuläre Schwäche sowie Muskelschmerzen, allgemeine Schwäche und Fieber auf. Diese Symptome können 2-3 Tage anhalten. Die Mortalitätsrate für Salmonellosen beim Menschen beträgt 4.1 %. Bei bis zu 5 % der Patienten kann die Infektion chronisch verlaufen und führt zu einer Ausscheidung der Bakterien von 3 Monaten bis zu einem Jahr. Systematische Infektionen können bei Kindern, immungeschwächten Erwachsenen, einschließlich Krebs- und AIDS-Patienten, auftreten (BHUNIA 2008). Bei dieser Salmonellen-bedingten *Enteritis infectiosa* handelt es sich um eine lokal beschränkte und selbst limitierende Erkrankung, die durch Organbesiedlung, Septikämie und Arthritis zu einem typhoiden Verlauf führen kann. Bei diesen Personen führt bereits eine Anzahl unter 10^2 Keimen zur Erkrankung. Für solch einen typhoiden Verlauf ergeben sich weitere therapeutische Komplikationen, wenn es sich um einen Erreger mit Antibiotika-Mehrfachresistenz handelt (RÖSLER 2006).

2.1.4.2 Salmonellose beim Schwein

Die Infektionen beim Schwein können sich im Zusammenhang des jeweiligen Serovars zum einen als primäre Salmonellosen durch schweineadaptierte Serovare, wie *S. Cholerasuis* und *S. Typhisuis*, sowie sekundäre Salmonellosen, die durch *S. Enteritidis* und *S. Typhimurium* und auch andere zahlreiche Serovare verursacht werden, zeigen (BOLLWAHN 1991, MEYER 1992, QUANTE 2000, RÖSLER 2006).

Die primäre Salmonellose wird in die enterische, lokal begrenzte, abszedierende und septikämische Form unterteilt. Der Verlauf ist abhängig von verschiedenen Stressfaktoren, dem Serovar, der Abwehr des Tieres und des Manifestationsortes (MARG et al. 2001, RÖSLER 2006). Hauptsächlich kommt es über den fäkal-oralen Weg zur Infektion, das Reservoir stellen hier überwiegend latent infizierte Tiere dar (FEDORKA-CRAY 1997). Die Inkubationszeit kann zwischen einem Tag bis zu mehreren Wochen liegen, in diesem Zeitpunkt erkranken vor allem Schweine in einem Alter von zwei bis vier Monaten an einer perakuten bis chronischen Form. Dabei steht meistens die Septikämie mit gehäuften Todesfällen im Vordergrund und es werden Symptome wie Fieber, Erbrechen, Diarrhoe und Zyanose beobachtet (ANDERSON et al. 1998, RÖSLER 2006). Bei akuter Salmonellose treten pneumonische Symptome auf, die sich bei der subakuten und chronischen Form, gefolgt durch die vorherrschende Obstipation, meist mit Durchfall und mit wechselnder Kotkonsistenz zeigen (RÖSLER 2006).

Die Hauptinfektionsquellen von *S. Cholerasuis* sind infizierte ausscheidende Tiere und die kontaminierte Umgebung (STRAW et al. 2006, BODE 2007). Die klinische Erkrankung erfolgt vorwiegend bei Absetzferkeln und Jungschweinen bis zu etwa 60 kg, Saugferkel, Zuchtschweine und ältere Mastschweine sind dagegen meist latent infiziert (WALDMANN und WENDT 2004, HEINRITZI et al 2006, BODE 2007). Die geringe Erkrankungsrate bei Saugferkeln tritt wegen ihrer laktogenen Immunität über die Sauen ante partum oder einer Impfung der Muttersauen auf (STRAW et al 2006).

Die Infektion mit *S. Cholerasuis* verläuft in septikämischer Form mit plötzlichen Todesfällen. Die Symptome zeigen sich nach 24-48 Stunden mit Fieber, Mattigkeit und Fressunlust. Blau-rote Verfärbung der Ohrmuscheln, der Rüsselscheibe, des Bauches und der Glieder sind signifikante Merkmale. Der durch die enterotoxinbedingte Hypersekretion und entzündungsbedingt durch Prostaglandine zustande kommende, wässrig gelb-graue Durchfall tritt nach drei bis vier Tagen auf (BODE 2007).

Obwohl die Infektion mit *S. Typhisuis* nur eine geringe Verbreitung aufweist, kann es zu einem schleichenden Verlauf mit intermittierenden Durchfällen, Abmagerung und chronischen Pneumonien kommen, dabei sind in den meisten Fällen Absetzferkel betroffen (ROLLE und MAYR 2007).

Die sekundäre Salmonellose beim Schwein stellen ein Problem für die Fleischhygiene dar, da es sich um die latente Form der Salmonellose handelt und die betroffenen Tiere keine klinischen Symptome zeigen, obwohl diese als Ausscheider, besonders im Schlachtprozess, zu einer Kontamination von Produkten führen können (GAREIS 1995, RÖSLER 2006). Diese werden durch nicht an das Schwein adaptierte *Salmonella*-Serovare verursacht und können je nach Immunabwehr auch akute und perakute Verläufe bilden (RÖSLER 2006). Sie neigen zur Chronozität der Infektion, somit funktionieren betroffene Tiere als Dauerausscheider (GAREIS 1995, JOHNSTON et al. 2001).

Laut WRAY und SOYKA (1977) gibt es in diesem Hinblick drei Arten von Keimträgern:

1. **Aktive Ausscheider:** Infolge einer klinischen Erkrankung wird der Erreger über Monate und Jahre ausgeschieden.
2. **Passive Ausscheider:** Nach der oralen Aufnahme der Salmonellen werden sie nach der Passage im Magen-Darm-Trakt wieder ausgeschieden.
3. **Latente Keimträger:** Nach Aufnahme persistieren Salmonellen in den inneren Organen und sie werden nicht kontinuierlich mit dem Kot ausgeschieden.

Die Salmonellen-Infektion im Bestand kann durch die direkte Erregerübertragung zwischen Menschen und/oder Tieren sowie durch die indirekte Übertragung meist ursprünglich von tierischen Ausscheidungen über lebende und tote Vektoren, wie kontaminierte Stalleinrichtungen, Futter, Einstreu, Gülle, Dung, Wasser, Schädlinge und Insekten erfolgen (BLAHA 1993, BÖHM 1996, MEYER 1992). Dabei spielt die orale Infektion mit Futtermitteln, die durch Ausscheidungen von infizierten Tieren, Gülle, Jauche oder Abwässer kontaminiert sind, eine wichtige Rolle. Ebenfalls kann es zu Infektionen durch kontaminierte Eiweißkonzentrate aus tierischer oder pflanzlicher Herkunft kommen, darüber hinaus sind Infektionen auf aerogenem, konjunktivalem Weg und über den lymphoretikulären Rachenring nicht auszuschließen (DEDIÉ et al 1993, SELBITZ 1992, QUANTE 2000).

Staub- und Tröpfchen-Aerosole sind sehr kontagiös, Staubteilchen können durch Abrieb und Zerstäubung aus Stroh, Kot und Trockenfutter entstehen. Dabei schweben sie als Aerosol-Teilchen in der Luft oder es können durch Niesen, Luftfeuchtigkeit, Berieselung, Impfstoffe und Hochdruckreiniger Nebeltröpfchen entstehen (DEDIÉ et al. 1993).

Der obere Respirationstrakt stellt eine Eingangspforte dar, bereits drei Stunden nach dem Inkontaktkommen des respiratorischen Gewebes mit Salmonellen, konnten diese im Darm wiedergefunden werden (FEDORKA-CRAY 1997). Vektoren wie Mäuse, stellen ein natürliches Wirtreservoir für Salmonellen dar und haben eine nicht zu unterschätzende Bedeutung für *Salmonella*-Infektionen im Bestand (BÖHM 1993). Einer der wichtigsten Vektoren im Schweinebestand sind Menschen, die mit kontaminierten Stiefeln, Overalls und

Gerätschaften größere Mengen an *Salmonella* ssp. verbreiten als jeder andere Vektor, wie Schädner oder Insekten (BERENDS et al. 1996, QUANTE 2000).

2.1.5 Gesetzliche Regelungen

Die europäische Zoonosen-Überwachungsrichtlinie 2003/99/EG und die Verordnung (EG) 2160/2003 zur Bekämpfung von Salmonellen und anderen durch Lebensmittel übertragbare Zoonoseerreger bilden die rechtlichen Rahmenbedingungen in der EU. Laut ELLERBROEK (2007) verfolgt die Richtlinie 2003/99/EG das Ziel einer Verbesserung der bestehenden Überwachungs- und Datenerfassungssysteme für das Vorkommen von Salmonellen bei Tieren, Lebensmitteln und Menschen. Mit der Verordnung (EG) 2160/2003 wurden die Mitgliedsstaaten dazu aufgerufen, nationale Seroprävalenzstudien bei Schweinen durchzuführen und Bekämpfungsmaßnahmen zu ergreifen (RKI 2005, ELLERBROEK 2007). Im nationalen Bereich spielt das Tierseuchengesetz (TierSG) und die Verordnung meldepflichtiger Tierkrankheiten (TKrMeldpfIV) eine wichtige Rolle, hier darf nicht vergessen werden, dass Tierärzte bei der Feststellung einer Schweine-Salmonellose gegenüber dem Veterinäramt meldepflichtig sind (PIOTKOWSKI 2008).

Darüber hinaus verpflichtet die Lebensmittelhygiene-Verordnung (LMHV) jeden Betrieb, der Lebensmittel herstellt, verarbeitet oder in Verkehr bringt, im Prozessablauf die für die Lebensmittel kritischen Arbeitsstufen zu ermitteln, zu überwachen und angemessene Sicherheitsmaßnahmen festzulegen (ANON 2007).

Laut PIOTKOWSKI (2008) hat die Verordnung zur Verminderung der Salmonellenverbreitung durch Schlachtschweine (SchwSalmoV) die größte Bedeutung für Landwirte und die betreuenden Tierärzte. Diese Bedeutung wird folgendermaßen geschildert:

Der Inhaber eines Endmastbetriebes hat dafür Sorge zu tragen, dass Proben wie Blutproben zur Gewinnung von Serum oder Muskelproben zur Gewinnung von Fleischsaft in regelmäßigen Abständen nach dem Stichprobenschlüssel der Anlage der Verordnung über den gesamten Betrieb verteilt oder die Betriebsabteilungen zu entnehmen sind. Hierbei ist es für den Landwirt wichtig, die Probenentnahme durch die Archivierung eines Probenahmeberichtes dokumentieren zu können. Danach erfolgt die vierteljährliche Kategorisierung des Endmastbetriebes. Die Verantwortung für die korrekte Übersendung des Probenahmeberichtes, indem ihm die Ergebnisse von der Untersuchungsstelle unverzüglich mitgeteilt und alle Ergebnisse mindestens drei Jahre aufbewahrt werden, bleibt bei dem Betriebsinhaber. Die Kategorie I bedeutet eine positive Befundrate von 0 bis 20 % der Proben, Kategorie II eine von mehr als 20 % und bis zu 40 % und schließlich Kategorie III eine Befundrate von mehr als 40 %. Spätestens ab Kategorie III ist der Landwirt unter

Einbeziehung des betreuenden Tierarztes verpflichtet, bakteriologische und molekularbiologische Untersuchungen auf Salmonellen durchzuführen, um die Eintragsquellen zu ermitteln und entsprechende Maßnahmen zur Senkung dieser Quote einzuleiten. Zu diesen Maßnahmen gehören auch die Reinigung und Desinfektion sowie eine Schädnerbekämpfung.

2.1.6 *Salmonella*-Diagnostik

2.1.6.1 Kulturelle Diagnostika

Es bestehen große Unterschiede in der Nachweisrate von *Salmonella* zwischen den verschiedenen Laboratorien und den gewählten Methoden. Gemäß ihrer medizinischen Bedeutung wurden bis heute eine große Anzahl von Methoden beschrieben (ANDREWS 1996, BUSSE 1995, WALTMAN und MALLINSON 1995, RÖSLER 2006).

In der Bundesrepublik Deutschland erfolgt die amtliche Untersuchung von Lebensmitteln auf Salmonellen nach dem Lebensmittel-, Bedarfsgegenstände- und Futtermittelgesetzbuch (LFGB), die darin vorgeschriebene kulturelle bakteriologische Untersuchung basiert auf der Norm 6579:2002 der Internationalen Organisation für Standardisierung (ISO) (ISO 2002, RÖSLER 2006).

Seit Jahrzehnten wird der bakteriologische Nachweis von Salmonellen mit der Vorgehensweise aus nicht-selektiver Voranreicherung, gefolgt von einer selektiven Anreicherung, nach folgendem Ausstrich auf selektiven festen Agarmedien und abschließender biochemischer und serologischer Identifizierung der Isolate geführt (RÖSLER 2006).

In der ISO Norm 6579 sind die nicht-selektive Voranreicherung in Phosphat-gepuffertem Peptonwasser (BPW) und eine nachfolgende selektive Anreicherung parallel in Rappaport-Vassiliadis-Medium (RVS) und in Tetrathionat-Novobiocin-Bouillon nach Müller-Kaufmann vorgeschrieben. Phosphat-gepuffertes Peptonwasser ist nährstoffreich und hemmstofffrei, dies hat ein intensives Wachstum und eine hohe Wiederbelebungsrate von subletal geschädigten Salmonellen zur Folge (RÖSLER 2006). Die sich ungünstig auswirkenden pH-Wert-Schwankungen werden durch den Phosphat-Puffer ausgeglichen (PIETZSCH 1981). Im Vergleich der verschiedenen Voranreicherungsmedien konnten JUVEN et al. (1984) zeigen, dass gepuffertes Peptonwasser das am besten geeignete Flüssigmedium zur Voranreicherung für *Salmonella* sp. ist.

Erstmals beschrieb RAPPAPORT et al. (1956) ein selektives Nährmedium für Salmonellen, dies wurde zweimal durch VASSILIADIS et al. (1976) modifiziert, indem der Gehalt an

Malachitgrün reduziert und somit eine Inkubation bei 42°C ermöglicht wurde. Viele Studien konnten zeigen, dass RVS zur selektiven Anreicherung dem Tetrathionat- oder Selenitmedium überlegen ist (BAGER und PETERSEN 1991, SCHLUNDT und MÜNCH 1993). Der Vorteil wird durch den Zusatz von Malachitgrün, gegen welches Salmonellen resistent sind, begründet. Ebenfalls wird beim RVS die Fähigkeit von Salmonellen genutzt, sich bei 42°C, einem hohen osmotischen Druck und einem niedrigen pH-Wert, vermehren zu können. Dieser Anreicherung in RVS muss jedoch eine nicht selektive Voranreicherung vorausgehen. Um die hohe Selektivität und Spezifität des Mediums nicht herabzusetzen, kann man nur geringe Volumina in einem Verhältnis von 1:100 inokulieren (RÖSLER 2006).

Zu den beschriebenen positiven Eigenschaften für die Anreicherung von Salmonellen wird mittels des modifizierten halbfesten Rappaport-Vassiliadis-Mediums (MSRV) in verschiedenen Studien die Eigenschaft der Eigenbeweglichkeit, die Salmonellen aufweisen, genutzt (JENSEN et al. 2003, PERALES und ERKIAGA 1991, WIBERG und NORBERG 1996, RÖSLER 2006). Die Salmonellen befinden sich in den deutlich sichtbaren Schwärmzonen um die Beimpfungstelle der MSRV-Platten herum, von denen kann dann die Subkultur auf Selektivnährböden erfolgen. Mit dieser Methode wird die unbewegliche Begleitflora, wie z. B. *Citrobacter* sp. vom folgenden Untersuchungsgang auf Selektivnährböden ausgeschlossen (RÖSLER 2006). Die erwähnte Methode wurde zum Anhang D der ISO 6579:2002 zum Nachweis von Salmonellen aus Kot- und Umweltproben aufgenommen (ISO 2005).

Durch die oben aufgeführte Voranreicherung, in Kombination mit einer Selektivanreicherung, wird die Salmonellenzahl in der Flüssigkultur erhöht und es wird einfacher, diese auf Selektivnährmedien nachzuweisen. Die ISO 6579:2002 schreibt vor, parallele Ausstriche auf Xylose-Lysine-Desoxycholat-Agar (XLD-Agar) und einem weiteren frei zu wählendem festen Selektivmedium durchzuführen. Mit XLD-Agar werden pathogene *Enterobacteriaceae*, insbesondere die Spezies *Shigella* und *Salmonella*, isoliert und differenziert. Dieser Nährboden wurde von TAYLOR (1965) entwickelt, eine hohe Anzahl von Salmonellen können nach einer geeigneten Voranreicherung, aber auch im Direktausstrich, nachgewiesen werden (BHAT und RAJAN 1975, DUNN und MARTIN 1971, RÖSLER 2006).

Durch den Abbau von Xylose, Laktose und Saccharose zu Säure zeigt sich der Phenolrot-Indikator mit dem Farbumschlag nach Gelb, die Decarboxylierung von Lysin zu Kadaverin wird durch die purpurrote Färbung der Kolonien infolge der pH-Wert-Verschiebung, bis hin zum alkalischen Bereich deutlich. Durch die Schwefelwasserstoff-Bildung aus Thiosulfat und Eisen (III)-Salzen unter Ausfällung von Eisensulfid, kommt es zu einer Schwärzung der Kolonien. Ein Nachteil des XLD-Agar sind die falsch-positiven Ergebnisse durch *Proteus* und durch nicht schwefelbildende Salmonellen (RÖSLER 2006).

Der von KRISTENSEN et al. (1925) entwickelte und später von KAUFFMANN (1935) modifizierte Brillantgrün-Phenolrot-Sucrose-Agar (BPLS-Agar) wird häufig als frei zu wählendes Agarmedium parallel zum XLD-Agar genutzt. Das Vorhandensein von Brillantgrün, Laktose und Saccharose ist die Basis der Selektivität dieses Nährbodens. Salmonellen sind Laktose- und Saccharose-negativ, daher erscheinen solche Kolonien rosarot mit einem roten Hof. Bei Laktose- und Saccharose-positiven Keimen wie *E.coli*, *Citrobacter* und *Proteus* wachsen die Kolonien gelbgrün mit gelbgrünem Hof. Dabei ist zu beachten, dass Brillantgrün weitgehend das Wachstum der Begleitflora hemmt (RÖSLER 2006).

Die endgültige Diagnostik der verdächtigen Kolonien der Selektiv- und Differenzierungsnährböden wird anhand einer Objektträgerschnellagglutination mit diagnostischen O- und H-Antigen-spezifischen-Antiseren durchgeführt. Das verdünnte Serum wird auf einem Objektträger mit einer Impföse Kulturmaterial in einem Tropfen gebrauchsfertig verdünntem Serums auf einem Objektträger verrieben, innerhalb weniger Minuten tritt eine körnige O- oder flockige H- Agglutination ein. Es ist zu beachten, dass eine Störung der O-Agglutination durch das bei wenigen Serovaren exprimierte vi-Antigen oder durch Fimbrien-Antigene möglich sein kann (RÖSLER 2006). Bei einzelnen Serovaren können die O-Antigene fehlen, bei R-Varianten sogar zusätzlich auch die H-Antigene (PIETZSCH 1981). Meistens haben die Serovare zwei oder seltener auch drei H-Phasen, diese sind dabei oft quantitativ unterschiedlich ausgebildet und die weniger stark ausgeprägte Phase kann bei der Objektträgerschnellagglutination nicht nachgewiesen werden (RÖSLER 2006).

Die Isolate werden schließlich zum jeweiligen Serovar anhand des aktuellen White-Kauffmann-Le Minor-Schema zugeordnet.

2.1.6.2 Immunochemischer Antigennachweis

2.1.6.2.1 Direkter *ELISA*

Es gibt verschiedene Immunoassays zum Nachweis von Salmonellen in Lebensmitteln, für den Nachweiserfolg ist die Art des Nachweissystems von großer Bedeutung. Falsch-positive Ergebnisse treten hauptsächlich bei rohen Fleischproben auf (RÖSLER 2006).

Störende Effekte durch kompetitive Mikroorganismen wurden durch den Einsatz von Polycarbonat-beschichteten Metallkugeln reduziert und die Nachweisgrenze auf 10^5 KBE/ml Untersuchungsflüssigkeit erhöht (RÖSLER 2006).

2.1.6.2.2 Immunoseparation

Wenn spezifische poly- und monoklonale *Salmonella*-Antikörper kovalent an superparamagnetische Polysterol-Perlen gebunden werden, nennt man dieses Verfahren Immunoseparation. Nach dem Schütteln in einem Voranreicherungsmedium kommt es zu einer Antigen-Antikörper-Reaktion, die Separation erfolgt dann in einem Magnetpartikel-Konzentrierer. Die Dynabeads bleiben an der Wand haften und so kann das Voranreicherungsmedium abpipettiert werden. Schließlich können die mittels der *Salmonella*-Dynabeads-Komplexe angereicherten Salmonellen mittels Standardmethoden kulturell oder biochemisch nachgewiesen werden (EROL et al. 1999, HELMUTH 1993, HSIH und TSEN 2001, RÖSLER 2006).

2.1.6.3 Molekularbiologische Methoden

2.1.6.3.1 DNA-Hybridisierung

Diese Methode beruht auf der Reaktion der nachzuweisenden DNA mit einer zuvor in vitro markierten komplementären Einzelstrang-DNA oder -RNA und bildet ein Hybrid, das mit einer Markierung durch einen Fluoreszenzfarbstoff sichtbar gemacht und dadurch nachgewiesen werden kann (RÖSLER 2006).

Auf dem Grundprinzip der DNA-Hybridisierung beruhende, jedoch vollkommen andere Nachweissysteme, sind die Fluoreszenz-In-situ-Hybridisierung (FISH) und die Real-Time-PCR. Für die Untersuchung mit der FISH wird die zu untersuchende Probe einem Voranreicherungsschritt unterzogen (z.B. BPW), die erhaltene Bakteriensuspension fixiert und mit einer *Salmonella*-spezifischen Fluoreszenzfarbstoff-markierten Sonde inkubiert und hybridisiert. Es folgt die Detektion mit Hilfe eines Fluoreszenz-Mikroskops. Diese Methode weist eine deutlich höhere Sensitivität und Spezifität als die konventionell kulturellen Methoden auf und verkürzt den Zeitaufwand um ca. die Hälfte. Der Nachteil ist jedoch der große Arbeitsaufwand dieses Nachweissystems (FANG et al. 2003, STENDER et al. 2001, RÖSLER 2006).

Bei der Sonden-basierten Real-Time-PCR kommt es zur Hybridisierung von *Salmonella*-spezifischen, Fluoreszenzfarbstoff-markierten Sonden und parallel in einer *Salmonella*-spezifischen PCR hergestellten Amplifikaten, dies ist mit einer Steigerung der Sensitivität und Spezifität verbunden. Eine Voranreicherung der zu untersuchenden Proben, aus der die Target-DNA für die *Salmonella*-spezifische PCR gewonnen wird, kann darüber hinaus zu einer Sensitivitäts-Steigerung beitragen. Verglichen mit dem kulturellen Nachweis sind Sensitivitäten von 100% sowie sehr niedrige Nachweisgrenzen von 1 KBE/ml der zu

untersuchenden Probe möglich (CHEN et al. 2000, ELLINGSON et al. 2004, RÖSSLER 2006).

2.1.6.3.2 Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

WIDJOJOATMODJO et al. (1992) publizierten eine der wichtigsten PCR-Methode zum Nachweis von Salmonellen und nutzten Oligonukleotide, die auf einem Abschnitt des Replikationsgens *oriC* basieren. RAHN et al. (1992) entschieden sich für die *invA*-Gen basierenden Oligonukleotide, die von GALAN et al. (1992) entdeckt wurden. Die Nachweisgrenze dieser Methode lag bei 3×10^2 KBE und die Spezifität bei 100%. ARNOLD et al. (2004) konnte Spezifitäts-Probleme besonders bei Organproben vom Schwein, die durch bestimmte Varietäten von *E.coli* verursacht wurden, feststellen.

Durch die Sequenzanalyse von 20 verschiedenen *Salmonella*-Serovaren konnte ein 2.3 kb großer DNA-Abschnitt ermittelt werden, der eine komplette Basenhomologie in allen Serovaren aufwies (OLSEN et al. 1991). AABO et al. (1993) entwickelten darauf aufbauend ein Oligonukleotidpaar, das anhand von 146 Salmonellen-Stämmen und 41 Nicht-Salmonellen-Spezies auf seine Spezifität überprüft wurde und bei 100% lag.

Die beschriebenen Oligonukleotide nach RAHN et al. (1992) und AABO et al. (1993) wurden vom Deutschen Institut für Normung e. V. in der DIN 10135 als geeignete Oligonukleotidpaare für den Nachweis von Salmonellen aufgenommen (DIN 1999). In dieser Norm wird ausdrücklich darauf hingewiesen, dass nach fachlicher Prüfung auch andere geeignete Oligonukleotide für den Nachweis von Salmonellen eingesetzt werden dürfen. Solch ein geeignetes PCR wurde zum Beispiel von MALORNY et al. 2004 basierend auf den *Salmonella*-Spezifischen *ttrC/ttrA*-Gen beschrieben und im Jahre 2007 als offizielle Untersuchungsmethode in die Methodensammlung der § 64 LFGB aufgenommen. Die Nachweisgrenze dieser Methode lag bei weniger als 3 KBE/ml und 100% Sensitivität.

2.1.6.3.3 Antikörper-Nachweis mittels ELISA

Laut RÖSSLER (2006) gibt es zwei unterschiedliche Prinzipien, die für den Nachweis von *Salmonella*-Antikörper auf enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) basieren. Dies sind zum einen Testsysteme, die auf dem Prinzip eines indirekten ELISAs konzipiert sind, und zum anderen Testsysteme, die auf dem Prinzip des Sandwich-ELISAs basieren. Beim indirekten ELISA werden die Mikrotiterplatten mit einem Gemisch von *Salmonella*-Antigenen (LPS, Geißeln, SEF14-Fimbrien, Außenmembranproteinen, Rohantigene) beschichtet. Beim spezifischeren Sandwich-ELISA mit monoklonalen Antikörpern gegen dieses Antigen-Gemisch ge-coated und anschließend mit Antigenen abgesättigt.

In Deutschland haben vor allem die indirekten Nachweismethoden an Gewicht gewonnen. Hier wurden im Rahmen des QS-Systems und der „Leitlinie zur Reduzierung von Salmonellen durch Schlachtschweine in der Fleischgewinnung“ (ANON. 2006) mehrere ELISA zum Nachweis von Salmonellen-Antikörpern im Fleischsaft und Serum verwendet. Diese Systeme basieren in der Mehrzahl auf einem nicht-kommerziellen Mix-ELISA, BgVV-ELISA, welcher ein Antigen-Gemisch aus den LPS-Fraktionen von *S. Typhimurium* und *S. Cholerasuis* beinhaltet und somit dem dänischen Mix-ELISA entspricht. Es werden Werte >40 Antikörper Optische Dichte % als seropositives Ergebnis gewertet (RÖSLER 2006).

Das im Rahmen des QS-Systems etablierte Salmonellen-Überwachungsprogramm diene als Grundlage für die seit 2007 geltende „Verordnung zur Verminderung der Salmonellenverbreitung durch Schlachtschweine“ (SchwSalmoV). In dieser Verordnung werden die anzuwendenden serologischen Testsysteme, im Unterschied des QS-Systems, nicht explizit genannt. Derzeit stehen prinzipiell drei verschiedene kommerzielle, vom Friedrich-Löffler-Institut zugelassene, ELISA-Testsysteme zur Verfügung. Diese basieren auf ähnlichen *Salmonella*-Lypopolysaccharid (LPS)-Antigenen und ermöglichen eine indirekte Diagnostik. Sie finden in der staatlichen Salmonellenüberwachung breite Anwendung. Dies hängt insbesondere damit zusammen, dass sie neben einem von den Test-Herstellern wissenschaftlich validierten Grenzwert (Cutoff-Wert) für eine positive Diagnose auch einen deutlich höher liegenden einheitlichen Grenzwert für Überwachungsprogramme aufweisen (RÖSLER 2009). Es gelingt zwar gut, Schweinebestände mit mittlerer und hoher Prävalenz zu identifizieren (BLAHA 2004), jedoch sind diese Tests für detaillierte Angaben über tatsächlich infizierte Tiere in einem Bestand nicht geeignet (RÖSLER 2009).

Um insbesondere in Schweinebeständen und Aufzuchtbetrieben einzelne infizierte Tiere zu identifizieren und um ein präzises Monitoring der Antikörperantwort nach der Impfung zu ermöglichen, steht ein ELISA zur Verfügung, der auf einem Ganzzellenlysesantigen von *Salmonella Typhimurium* basiert. Der differenzierte Nachweis der Antikörperisotypen Immunglobulin (Ig)M, IgA und IgG stellt mit einer exakten Überprüfung der Serokonversion einen wichtigen Unterschied dar (LEHMANN et al. 2004, RÖSLER 2009).

2.1.7 Möglichkeiten zur Reduzierung des Vorkommens von Salmonellen im Schweinebestand

2.1.7.1 Fütterung

Die Kontamination der Futtermittel kann während der Gewinnung, Bearbeitung, Lagerung oder des Transports auf verschiedenen Wegen zustande kommen, dabei hat der Eintrag durch kontaminierte Ausgangsstoffe und die Ausscheidungen *Salmonella*-infizierter Vögel und Schadhager eine immense Bedeutung (BISPING 1993, DAVIES et al. 2004, OSTERBERG et al. 2006). Wegen der Gefahr des Eintrages von Salmonellen durch Futtermittel in die Primärproduktion wurden verschiedene Verfahren zur Dekontamination des Futters untersucht. Dabei wurden insbesondere Futtermittel mit einem hohen Eiweißanteil mittels Dampfdesinfektion dekontaminiert, aus ökologischer und diätetischer Sicht wurde von diesem Verfahren jedoch immer häufiger Abstand genommen.

Das Pelletieren von Futtermitteln hingegen hat sich mit der Zeit besser bewährt. Hierbei entsteht durch die Reibung eine Temperatur von 65-75°C, was auch zur Verminderung des Salmonellen-Gehaltes in Futtermitteln beiträgt. Die ausreichende Dampfeinwirkung von 7-8 Minuten bei 55°C kann die Keimzahl der Salmonellen um zwei Zehnerpotenzen reduzieren und die gleichlange Erhitzung im Anschluss bei 90°C trägt zu der nahezu vollständigen Eliminierung bei (DOYLE und MAZOTTA, 2000, RÖSLER 2006). Mit der chemischen Behandlung von Futtermitteln können ebenfalls gute Ergebnisse erzielt werden. Besonders der Zusatz von organischen Säuren konnte sich als effektiv und schonend erweisen, da diese als Energieträger vom tierischen Organismus weiter verwertet werden können. Wird dem Futter 2,5 – 5 % Propionsäure über eine Mindestdauer von zwölf Stunden zugemischt, senkt sich der pH-Wert auf 4,5 und reduziert somit den Salmonellen-Gehalt des Futtermittels, denn Salmonellen wachsen bei einem maximalen pH-Wert von 5,0 (AL TARAZI und ALSHAWABKEH 2003, MATLHO et al. 1997, RÖSLER 2006). Die Verfütterung gekapselter organischer Säuren (Ameisensäure, Zitronensäure u.ä.), die ihre pH-Wert-Aktivität erst im Dickdarm entfalten, führen zu deutlich niedrigeren Kolonisierungs- und Ausscheidungsraten nach einer Salmonellen-Infektion (VAN IMMERSEEL et al. 2004). Die Struktur und die Zusammensetzung der verschiedenen Futtermittel, wie z.B. die Verfütterung von grob geschrotetem Futter, kann zu einer Reduzierung der *Salmonella*-Prävalenz führen, in dem eine Senkung des pH-Wertes im Duodenum und die Stimulation der Laktobacillen zu einer Erhöhung der Konzentration an organischen Säuren und so zur Reduzierung der Salmonellen führen (HEDEMANN et al. 2005, PAPENBROCK et al. 2005).

In Schweinemastbetrieben, die Flüssigfutter an die Tiere verfüttern, konnte festgestellt werden, dass die Prävalenz des Vorkommens von Salmonellen bei diesen Tieren deutlich niedriger lag, als bei Schweinen die mit Trockenfutter gefüttert wurden. Die Salmonellen

wurden gehemmt, indem die in fermentierten Flüssigfutter erhaltenen Milchsäurebakterien Milchsäure und im geringen Maße Essigsäure produzieren und den pH-Wert auf 4,0 bis 5,5 senken (FARZAN et al. 2006, RÖSLER 2006).

Auch die prophylaktische Verfütterung von Laktulose verringert die Salmonellenausscheidung der Tiere. Der Darminhalt wird angesäuert, wodurch die Vermehrung bzw. die Anhaftung der Erreger an die Darmwand erschwert wird. Die Darmperistaltik wird angeregt, die Passage beschleunigt und schädliche Stoffwechselprodukte schneller ausgeschieden (KAMPHUES et al. 2003, SCHUMANN 2002, RÖSLER 2006).

2.1.7.2 Management

Der wichtigste Ansatz, das Vorkommen von Salmonellen in der Primärproduktion zu verringern, ist die Unterbrechung des enzootischen Infektionskreises, um eine Infektion Salmonellen-freier Schweine zu verhindern. Dabei sind die wichtigsten Ziele die Schaffung *Salmonella*-freier Elterntierbestände und die Verbesserung der Hygienemaßnahmen (RÖSLER 2006). Das Rein-Raus-Prinzip, bei welchem der Stall über eine längere Zeit leer stehen sollte, um eine effektive Reinigung und Desinfektion durchzuführen, ist von äußerst wichtiger Bedeutung (DAHL et al. 1997). Dabei ist es auch empfehlenswert, auf allen Stufen der Primärproduktion eine laufende Desinfektion von Standplätzen und Einrichtungsgegenständen sowie die laufende Beseitigung des Kotes durchzuführen. Bei der Auswahl von Desinfektionsmitteln sollten hochwirksame Mittel wie z.B. Formalin oder Peressigsäure in Betracht kommen. Die Selektion von Dauerausscheidern, die durch mikrobiologische oder serologische Untersuchungen auffindig gemacht wurden, stellen die allgemeinen Sicherheitsvorkehrungen dar. Quarantäne- und Isolierungsmaßnahmen inklusive eine Zukaufsuntersuchung, sind weitere angesagte Maßnahmen. Der Eintrag und die Verbreitung von Salmonellen im Schweinebestand kann durch eingeschränkten Personenverkehr in Kombination mit Desinfektionsmaßnahmen in den Ein- und Ausgangsbereichen der Ställe, durch Vermeidung des Kontaktes von Tieren aus unterschiedlichen Gruppen und Arten, der Bekämpfung von Schadnagern und Insekten, sowie der Vermeidung von Staub- und Aerosolbildung, verhindert werden. Wenn noch zusätzlich die Dekontamination von Produktionsabwässern aus den Betrieben, in denen mit Salmonellen belastete Rohstoffe be- und verarbeitet werden, erfolgt, besteht die Möglichkeit zur Verhinderung einer Umweltkontamination und Verbreitung der Salmonellen (ERDMAN et al. 2005, HALD et al. 2003, RÖSLER 2006, SCHMIDT et al. 2004).

Ein weiterer wichtiger Faktor der *Salmonella*-Bekämpfung besteht in der Desinfestation, der Schadnager- und Insektenbekämpfung, denn sowohl Schadnager als auch Insekten können Salmonellen in den Bestand eintragen und eine bestehende *Salmonella*-Infektion innerhalb des Bestandes aufrecht erhalten (BÖHM 1993, MEERBURG et al. 2006). Sinnvoll ist auch,

frei- oder wildlebende Vögel von Gebäuden und Futterlagern des Primärbetriebes fernzuhalten, insbesondere Tauben können im hohen Maße mit Salmonellen infiziert sein (RÖSLER 2006). Durch die Kombination von Desinfektionsmaßnahmen und einer gezielten Abtrennung/Umstallung von frisch abgesetzten Ferkeln oder deren Muttersauen in vorher dekontaminierte Abteile, können ebenfalls gute Ergebnisse erzielt werden. Mit dieser Strategie konnten in hochgradig Salmonellen-infizierten Schweinemastbetrieben Salmonellen-reduzierte Ferkel und Läufer produziert werden, in Einzelfällen gelang es, die Salmonellen-Infektion zu eradizieren (DAHL et al. 1997, RÖSLER 2006, OSTERBERG et al. 2001).

2.1.7.3 Vakzinierung

Mit der Vakzination kann keine Tilgung der Salmonellen-Infektion erzielt werden. Allerdings führt sie bei nicht infizierten Tieren zu einer erhöhten Resistenz gegenüber einer Neuinfektion sowie durch die Verminderung oder Unterbindung der Erregerausscheidung zur Unterbrechung von Infektionsketten. Vakzinationsmaßnahmen sind ein Teilglied im Rahmen der *Salmonella*-Bekämpfung (RÖSLER 2006).

Bei Salmonellen handelt es sich um fakultativ intrazelluläre Bakterien, daher hat die zellvermittelte Immunität für einen wirksamen Impfschutz eine wichtige Bedeutung (BERNDT und METHNER 2001, JONES und FALKOW 1996, MITTRUCKER et al. 2002). McSORLEY und JENKINS (2000), MITTRUCKER und KAUFMANN (2000) konnten zeigen, dass im Unterschied zu den meisten anderen intrazellulären Bakterien auch die humorale Immunantwort, insbesondere vom sekretorischen IgA in der Darmmukosa für die Kontrolle einer Salmonellen-Infektion von entscheidender Bedeutung ist. Die am häufigsten in Nutztierhaltungen angewandte Vakzinierungsmethode ist aufgrund der Eigenschaft, die zelluläre Immunantwort in sehr hohem Maße anzuregen, der Einsatz von attenuierten Lebendimpfstoffen (FEBERWEE et al. 2001, HAESEBROUCK et al. 2004, LINDE et al. 1996, SPRINGER et al. 2001).

Seit 2002 gibt es in Deutschland einen derartigen attenuierten Lebendimpfstoff: „Salmporc®“ der Impfstoffwerke Dessau-Tornau GmbH Rosslau, dieser ist zur Bekämpfung der *S. Typhimurium*-Infektion des Schweines zugelassen. Der Impfstoff basiert auf einer stabilen attenuierten *S. Typhimurium*-Mutante und aktiviert nach oraler/subkutaner Impfung zelluläre und humorale Immunmechanismen und führt zu einer signifikanten Reduktion der Erregerausscheidung und -persistenz bei Läufern und Mastschweinen. Der Immunisierungsversuch bei Zuchtsauen zeigte, dass durch die orale Anwendung die Ausscheidung des Feldstammes zwar reduziert wurde, aber der Impfstofferreger ebenfalls intermittierend ausgeschieden wird. Ein signifikanter Anstieg der Antikörper im Blutserum, womit in der serologischen Untersuchung die Serumproben vakzinierter Tiere nicht von

infizierten zu unterscheiden sind, konnte in dieser Studie registriert werden (RÖSLER 2006). Mittlerweile steht der serologische Test Salmotype® Pig STM-WCE ELISA (Labor Diagnostik GmbH Leipzig) zur Verfügung, dieser ermöglicht die Überwachung des Immunisierungserfolges und eine Unterscheidung zwischen Salmporc® geimpften Tieren und Salmonellen-infizierten Tieren (LEHMANN et al. 2003).

2.1.7.4 Weitere Maßnahmen

Competitive Exclusion (CE, konkurrierender Ausschluss)

Bei dieser Methode wird der Darmtrakt junger Tiere gezielt mit einer gesunden Darmflora erwachsener Tiere besiedelt, somit wird pathogenen Keimen die Kolonisierung erschwert (RÖSLER 2006).

FREDORKA-CRAY et al. (1999), GENOVESE et al. (2003) und METHNER et al. (2001) konnten zeigen, dass durch den Einsatz von aus gesunden Tieren gewonnenen CE-Kulturen bei experimentell mit *S. Typhimurium* infizierten Absatzferkeln und Hühnern eine Invasion und folgende Kolonisierung der Salmonellen in verschiedenen Geweben signifikant gemindert werden konnte. Diese Wirkung konnte mit einer attenuierten Lebendvakzine gesteigert werden. Die Wirkung der CE erstreckt sich in der Regel nur auf den Zeitraum unmittelbar nach der Anwendung (RÖSLER 2006).

3 Eigene Untersuchungen

Beginnend mit der Analyse von Schwachstellen und der Identifizierung von effektiven Probenahmepunkten in ausgewählten, unterschiedlich konzipierten Betrieben sollte gleichzeitig die effektivste Nachweismethode ermittelt werden, die mit einer begrenzten Menge an Probenmaterial von verschiedenen Probenahmeorten im Betrieb einen weitgehend sicheren und empfindlichen Salmonellennachweis ermöglicht. Dies erfolgte im Zusammenhang von Langzeituntersuchungen ausgewählter Betriebe, gefolgt von einem zweiten Schritt zur Verifizierung der aus diesen Untersuchungen resultierenden Beprobungsstrategie. Dabei wurden zunächst in Langzeituntersuchungen verschiedene Probenpunkte mit fünf standardisierten Nachweisverfahren auf vier verschiedenen Schweinemastbetrieben vergleichend untersucht. Mit den Ergebnissen sollte die effektivste Nachweismethode sowie die aus praktischer Sicht anwendbaren Probennahmepunkte ermittelt werden. Mit den sich anschließenden Querschnittsuntersuchungen sollten die ermittelten Probennahmepunkte und Nachweismethoden auf acht zufällig ausgewählten Schweinebetrieben angewandt und bestätigt werden.

3.1 Material und Methoden

3.1.1 Langzeituntersuchungen

3.1.1.1 Teilnehmende Betriebe

Die Untersuchungen der vorliegenden Arbeit wurden auf den folgenden vier Schweinemastbetrieben durchgeführt:

Betrieb I: Eingestuft in Kategorie I, bestand aus drei modernen Außenklimaställen mit Auslauf, 6 Futtersilos und einem offenen Güllesilo. Die Ställe bestanden aus je 24 Buchten mit Teilspaltenböden, Einstreu, Nippeltränken und Futterautomaten. Das Tränkewasser kommt von den Stadtwerken und das Futter wird zugekauft. In den Buchten befinden sich je 7-15 Schweine. Der Betrieb ist familiengeführt, unter normalen Bedingungen haben nicht mehr als zwei Personen Zugang zu den Ställen. Zum Zeitpunkt der Untersuchungen wurden die Zukaufferkel von zwei verschiedenen Lieferanten geliefert.

Betrieb II: Der in Kategorie II eingestufte Betrieb bestand nur aus einem Außenklimastall mit 24 Buchten, einem Futterlager und einer Güllegrube. Die Buchten waren mit 2 bis max. 14 Tieren belegt. Weizen und Gerste stammen aus eigener Produktion, Sojaschrot und Mineralfutter wurden zugekauft. Das Tränkewasser wurde von den Stadtwerken bezogen.

Betrieb III: Dieser befand sich während den Untersuchungen ebenfalls in Kategorie I und bestand aus vier Außenklimaställen und einem Futterlager. Einer der Ställe stammt aus den 50'er Jahren und hat je 20 Buchten mit Auslauf, dazu kommen ein umgebauter Rinderstall mit drei großen Buchten und weitere zwei Ställen mit je drei großen Buchten. In den Buchten dieser Ställe befanden sich max. 50 Tiere, in dem ersten Stall mit 20 Buchten hingegen je 7 Tiere. Die Wasserversorgung wird von den Stadtwerken gesichert, Futter wie Raps, Weizen und Gerste stammen aus eigener Produktion, Sojaschrot und Mineralfutter wurden zugekauft.

Betrieb IV: Der letzte Betrieb in den Langzeituntersuchungen war eingeteilt in Kategorie III und hatte massive Defizite in der Hygiene. Dieser bestand aus einem Abferkelstall, einem Ferkelstall, einem Stall für die Vor- und die Endmast mit insgesamt 4 Stallbereichen und 1000 Mastplätzen, einem Futterlager und einem offenen Güllesilo. Weizen und Gerste stammen aus eigener Produktion, Sojaschrot und Mineralfutter wurden zugekauft. Auch hier wurde das Tränkewasser von den Stadtwerken bezogen.

3.1.1.2 Beschreibung der Proben aus den Schweinehaltungsbetrieben

Im monatlichen Rhythmus und acht periodischen Abständen wurden verschiedene Proben aus den oben beschriebenen vier Schweinehaltungsbetrieben entnommen. Die Proben umfassten Sammelproben aus der Umgebung der Schweine wie Sammelkot, Einstreu, Futter aus Lager, Silos und Buchten, Staub, Gülle, Wasserproben aus Tränken und vom Zulauf des Stalles, Fliegen und Mäuse. Ebenfalls wurden Tupferproben von ausgewählten Tieren sowie aus der Umgebung entnommen, dabei umfassten diese Proben Tupfer der Tränken, Futtertrog bzw. Automaten und Oberflächen wie Wände oder Spielzeug. Je nach Kooperationsbereitschaft der verschiedenen Landwirte konnten regelmäßige und unregelmäßige Proben in acht verschiedenen Durchläufen entnommen werden. Die jeweiligen Proben sind unter den folgenden Abbildungen 2-6 ersichtlich.

Die während der Langzeituntersuchungen auf den vier untersuchten Betrieben entnommenen 1577 Proben sind in Abbildung 2 aufgeführt.

Aus den Betrieben der Langzeituntersuchungen wurden insgesamt 107 Futtermittelproben aus dem Stallbereich, 179 Proben aus dem Futtermittellager, 107 Tupferproben aus den Futterautomaten, 102 Tupferproben aus den Tränken, 116 Tupfer von Oberflächen der Umgebung, 82 Sammelproben aus der Umgebung der Tiere, 199 Proben des Sammelkotes, 417 Rektaltupfer, 100 Proben von je 10-20 g Staub, 18 Gülleproben, 106 Proben Tränkewasser, 30 Proben Zulaufwasser, 10 Proben von Fliegen, 3 Proben von Mäusen und eine Festmistprobe entnommen (Abb. 2).

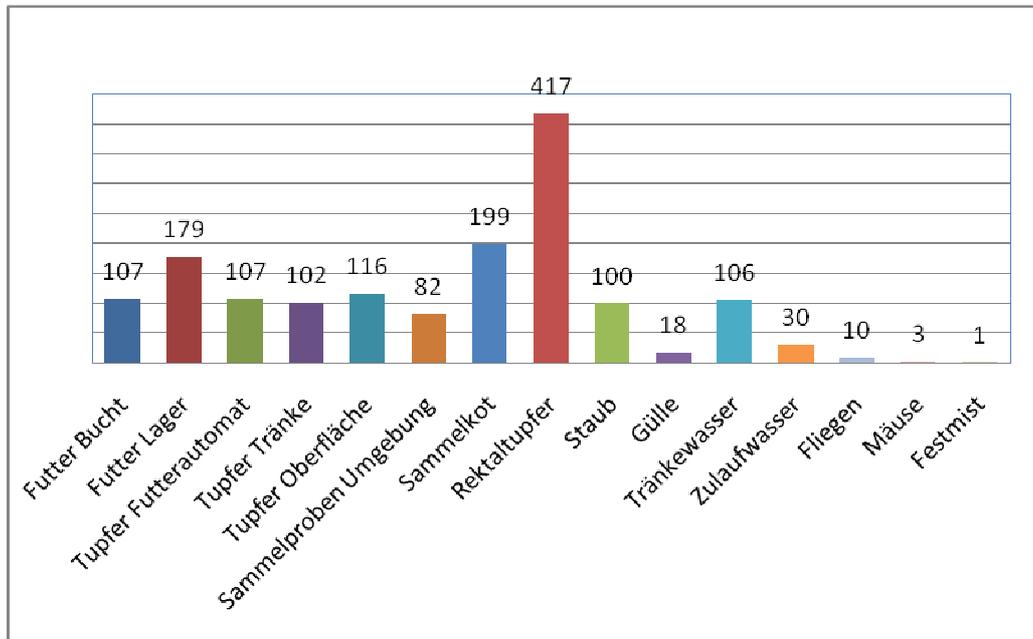


Abb. 2: Übersicht zur Probenanzahl während der Langzeituntersuchungen

Aus Betrieb I wurden 24 Futterproben aus dem Stall, vier aus dem Futterlager, 23 Tupfer aus den Futterautomaten, 18 Tupfer von den Tränken, 26 Tupfer der Oberflächen, 24 Sammelproben aus der Umgebung der Tiere, 24 Sammelkotproben, 148 Rektaltupfer, 20 Staubproben, sieben Gülleproben, 23 Tränkewasser, acht Zulaufwasser, zwei Proben der Fliegen und von einer Maus entnommen (Abb. 3).

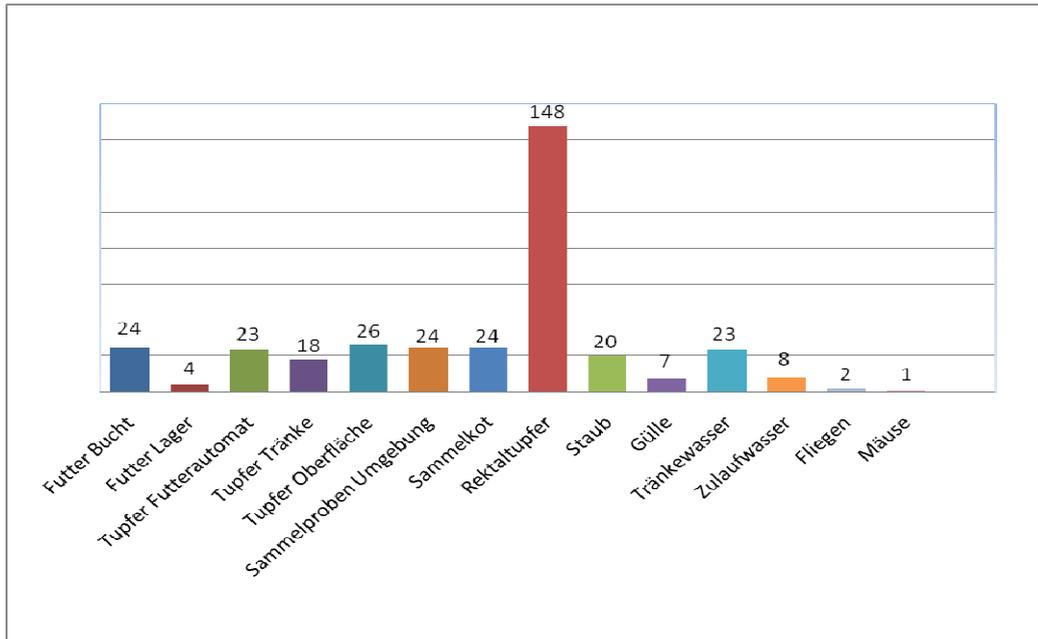


Abb. 3: Proben der Langzeituntersuchungen aus Betrieb I

Aus Betrieb II wurden 24 Futterproben aus dem Stall, 50 aus dem Futterlager, 24 Tupfer aus den Futterautomaten, 24 Tupfer von den Tränken, dreißig Tupfer der Oberflächen, 24 Sammelproben aus der direkten Umgebung der Tiere, 24 Sammelkotproben, 119 Rektaltupfer, 24 Staubproben, sechs Gülleproben, 24 Tränkwasser, acht Zulaufwasser, drei Proben der Fliegen und von einer Maus entnommen (Abb. 4).

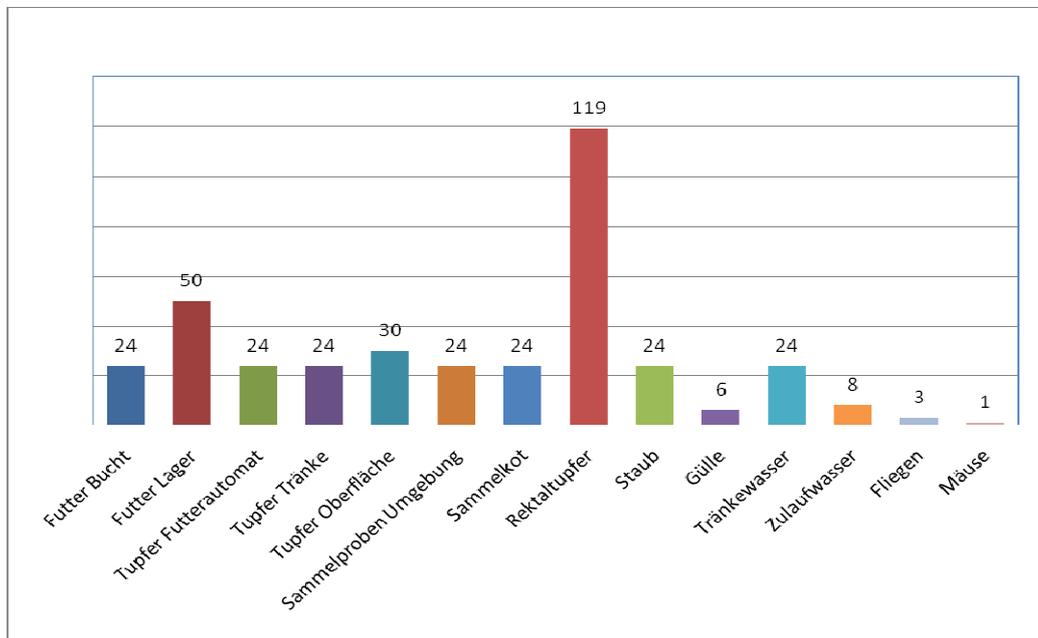


Abb. 4: Proben der Langzeituntersuchungen aus Betrieb II

Aus Betrieb III wurden 30 Futterproben aus dem Stall, 66 aus dem Futterlager, 31 Tupfer aus den Futterautomaten, 31 Tupfer von der Tränke, 31 Tupfer der Oberflächen, 34 Sammelproben aus der Umgebung der Tiere, 30 Sammelkotproben, 30 Staubproben, 31 Tränkewasser, sieben Zulaufwasser, vier Proben der Fliegen, von einer Maus und einmal aus Festmist entnommen (Abb. 5).

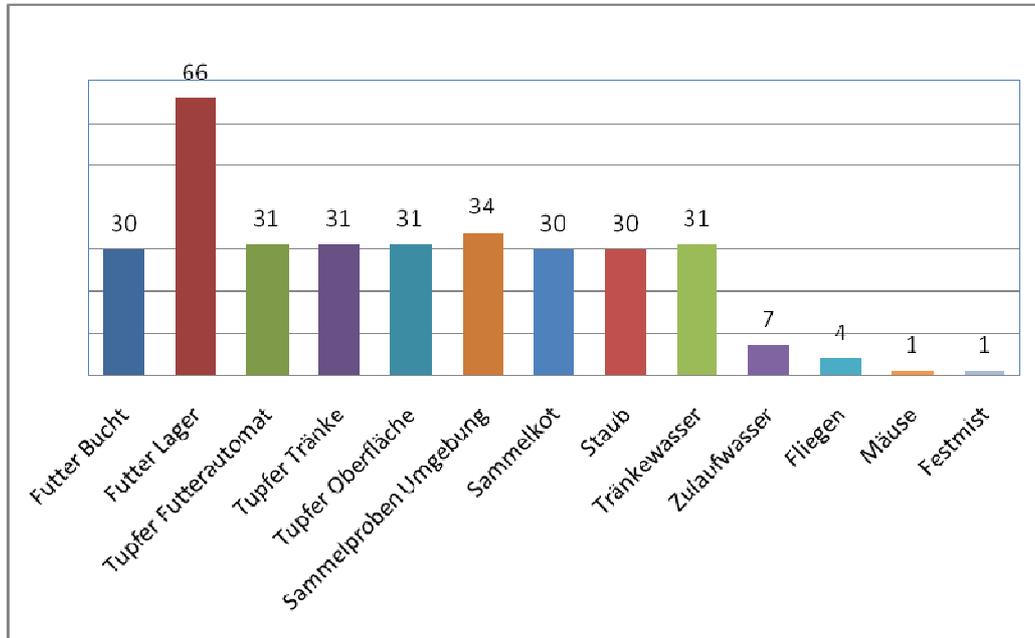


Abb. 5: Proben der Langzeituntersuchungen aus Betrieb III

Aus Betrieb IV wurden 29 Futterproben aus dem Stall, 59 aus dem Futterlager, 29 Tupfer aus den Futterautomaten, 29 Tupfer von den Tränken, 29 Tupfer der Oberflächen, 121 Sammelkotproben, 150 Rektaltupfer, 26 Staubproben, fünf Gülleproben, 28 Tränkewasser, sieben Zulaufwasser und eine Probe der Fliegen entnommen (Abb. 6).

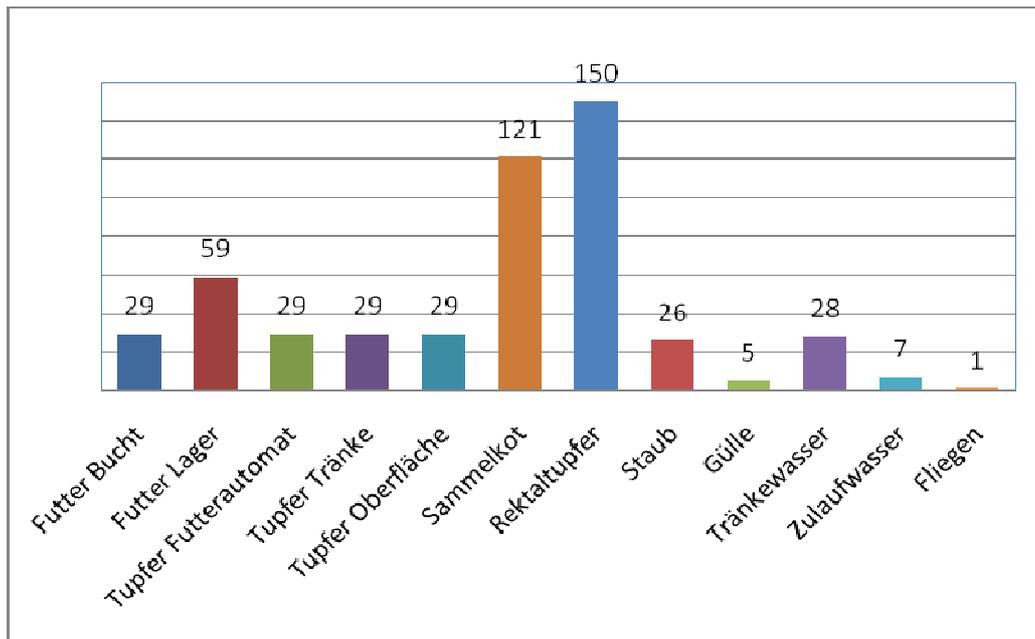


Abb. 6: Proben der Langzeituntersuchungen aus Betrieb IV

Darauf folgend wurden die erzielten positiven Ergebnisse der fünf standardisierten Nachweisverfahren und die Probenpunkte ins Verhältnis zueinander gesetzt. Als Ergebnis konnte die Auswahl der effektivsten Nachweismethode erfolgen sowie die mit vertretbarem Aufwand zu untersuchenden Probenpunkte ausgewählt werden.

3.1.2 Querschnittuntersuchungen

3.1.2.1 Teilnehmende Betriebe

Betrieb Q1: Der Kategorie I Betrieb verfügte über 800-1000 Mastplätze.

Betrieb Q2: Der Schweinemastbetrieb hat um die 1500 Mastplätze und war zum Zeitpunkt der Untersuchungen in Kategorie II eingeteilt.

Betrieb Q3: Kategorie I Betrieb mit 750-900 Mastplätzen.

Betrieb Q4: Kategorie I Betrieb mit bis zu 1000 Mastplätzen.

Betrieb Q5: Kategorie I Betrieb mit bis zu 800 Mastplätzen.

Betrieb Q6: Ein Ferkelaufzuchtbetrieb mit 240 Sauen, unterliegt keiner Kategorisierung.

Betrieb Q7: Dieser Kategorie I Betrieb hatte 650-800 Mastplätze.

Betrieb Q8: Ein Kategorie I Betrieb mit 660 Mastplätzen.

Die sich während der Langzeituntersuchungen als wirkungsvoll ergebenden Probennahmepunkte und Nachweismethoden wurden auf acht verschiedenen Schweinehaltungsbetrieben angewandt. Es wurden insgesamt 214 Proben untersucht, davon 21 Proben aus dem Futterlager, sieben Zulaufwasser-, 35 Tränkwasser-, 34 Futterproben aus dem Stall, 25 Staubproben, 36 Sammelkot-, 48 Rektaltupfer- und acht Sammelproben aus der Umgebung der Tiere. Mit den Untersuchungen sollte die Effizienz der Probennahmetechnik und Nachweismethodik verifiziert werden (Abb. 7).

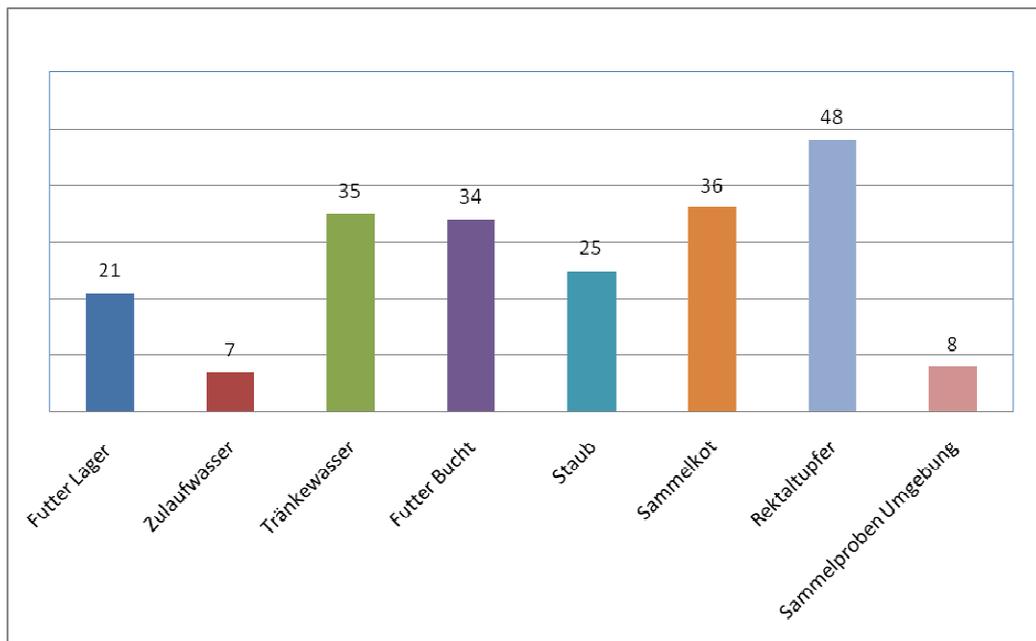


Abb. 7: Gesamtübersicht zur Probenzahl der Querschnittsuntersuchungen

Die Verteilung der Proben auf die acht Schweinehaltungsbetriebe Betrieb Q1-Q8 sind aus Abbildung 8-15 ersichtlich.

Aus Betrieb Q1 wurden zwei Proben aus dem Futtermittellager, eine Probe vom Zulaufwasser, fünf Proben vom Tränkwasser, fünf Futtermittelproben aus dem Stall, drei Staubproben und drei Sammelkotproben entnommen (Abb. 8).

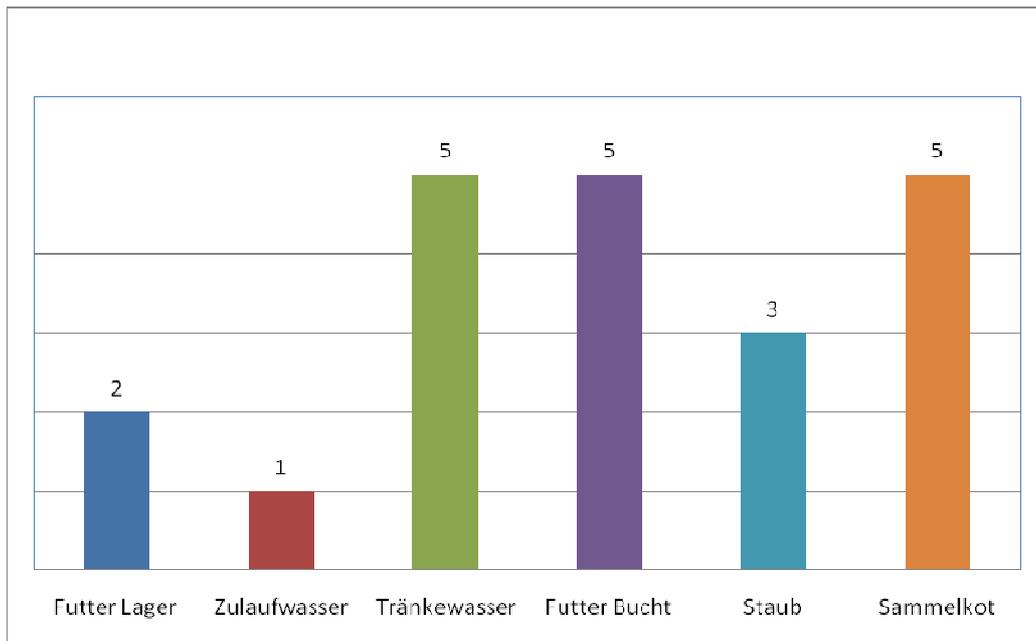


Abb. 8: Proben der Querschnittsuntersuchungen aus Betrieb Q1

Die Proben aus Betrieb Q2 bestanden aus zwei Proben aus dem Futtermittellager, eine Wasserprobe vom Zulauf, vier Wasserproben aus den Tränken, vier Futtermittelproben aus den Buchten, zwei Staubproben und vier Sammelkotproben (Abb. 9).

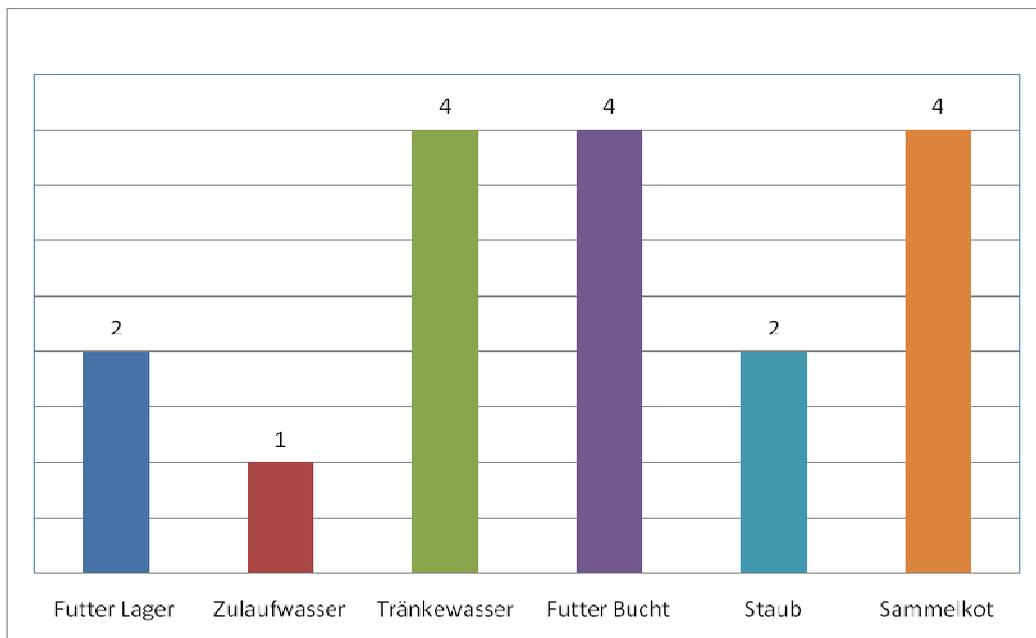


Abb. 9: Proben der Querschnittsuntersuchungen aus Betrieb Q2

Aus Betrieb Q3 konnten acht Wasserproben aus den Tränken, acht Futterproben aus dem Stall, acht Sammelkotproben, vier Staubproben, 19 Rektaltupferproben und drei Sammelproben aus der Umgebung auf Salmonellen untersucht werden (Abb. 10).

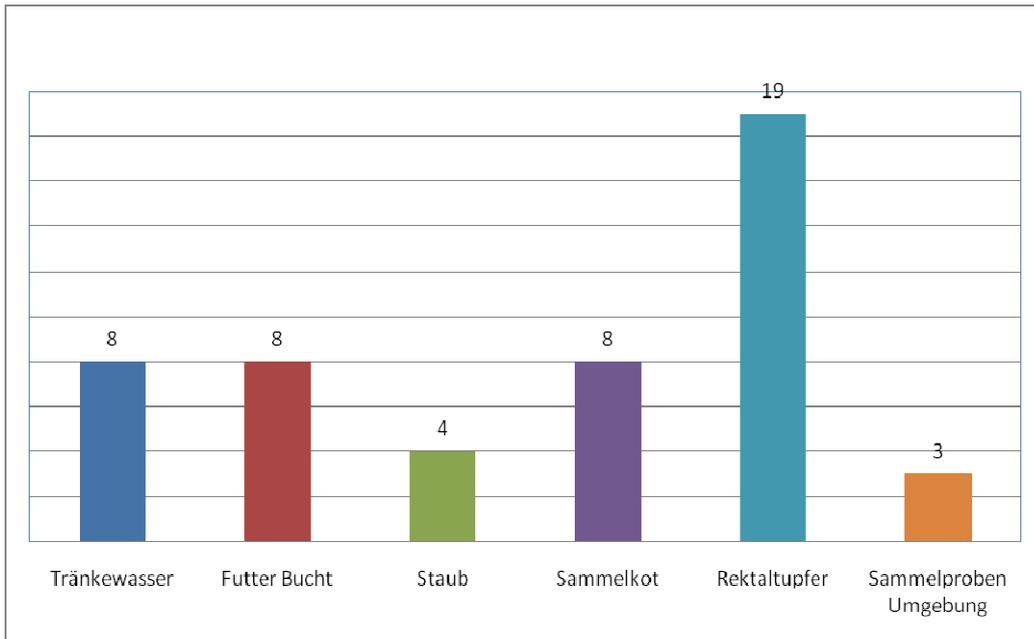


Abb. 10: Proben der Querschnittsuntersuchungen aus Betrieb Q3

Die entnommenen Proben aus Betrieb Q4 stellen sich aus zwei Proben aus dem Futtermittelager, eine Wasserprobe vom Zulauf, vier Wasserproben aus den Tränken, fünf Futterproben aus dem Stall, fünf Staubproben, fünf Sammelkotproben und neun Rektaltupferproben zusammen (Abb. 11).

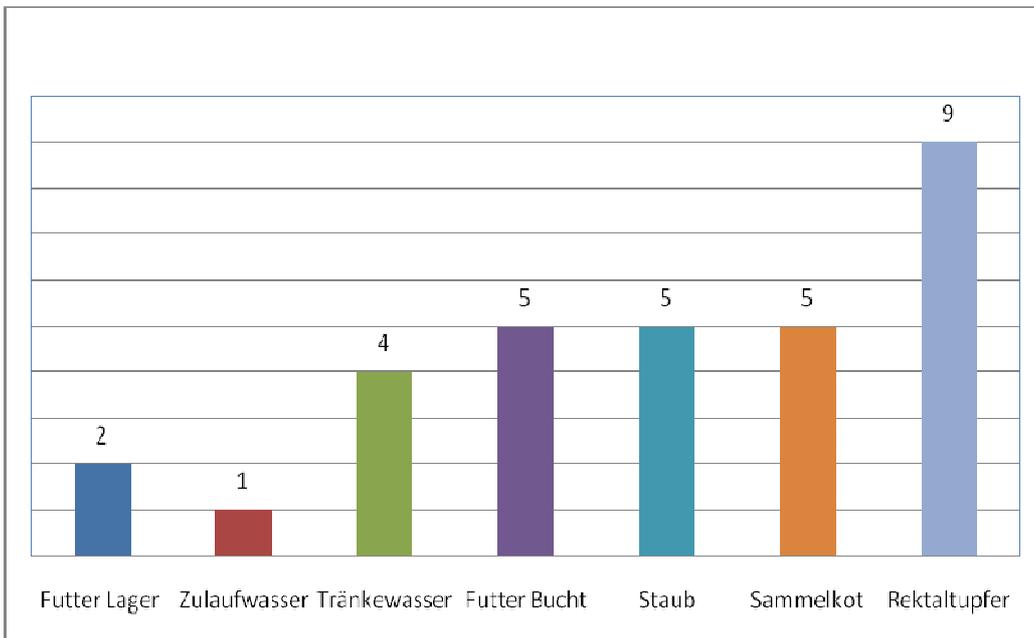


Abb. 11: Proben der Querschnittsuntersuchungen aus Betrieb Q4

Für die Untersuchungen wurden aus Betrieb Q5 vier Proben aus dem Futtermittelager, eine Wasserprobe vom Zulauf, fünf Wasserproben aus den Tränken, fünf Futterproben aus dem

Stall, zwei Staubproben, fünf Sammelkotproben und vier Sammelproben aus der direkten Umgebung der Tiere entnommen (Abb. 12).

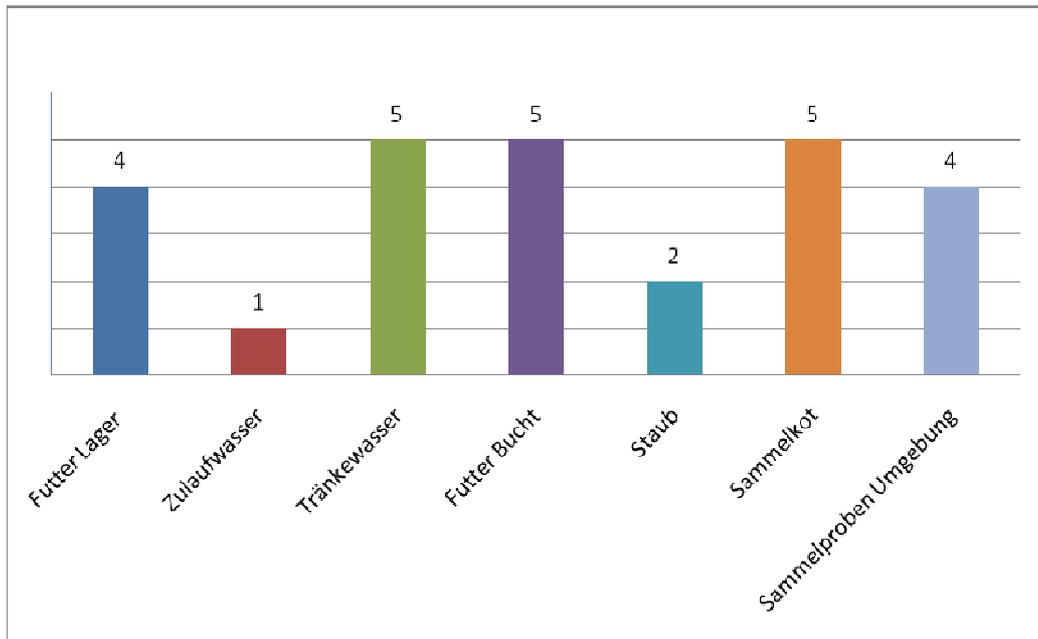


Abb. 12: Proben der Querschnittsuntersuchungen aus Betrieb Q5

Drei Proben aus dem Futtermittelager, eine Wasserprobe aus dem Zulauf, je vier Wasserproben aus den Tränken, Futterproben aus dem Stall, Staubproben, Sammelkotproben, zehn Rektaltupferproben und eine Sammelprobe aus der Umgebung wurden aus Betrieb Q6 entnommen (Abb. 13).

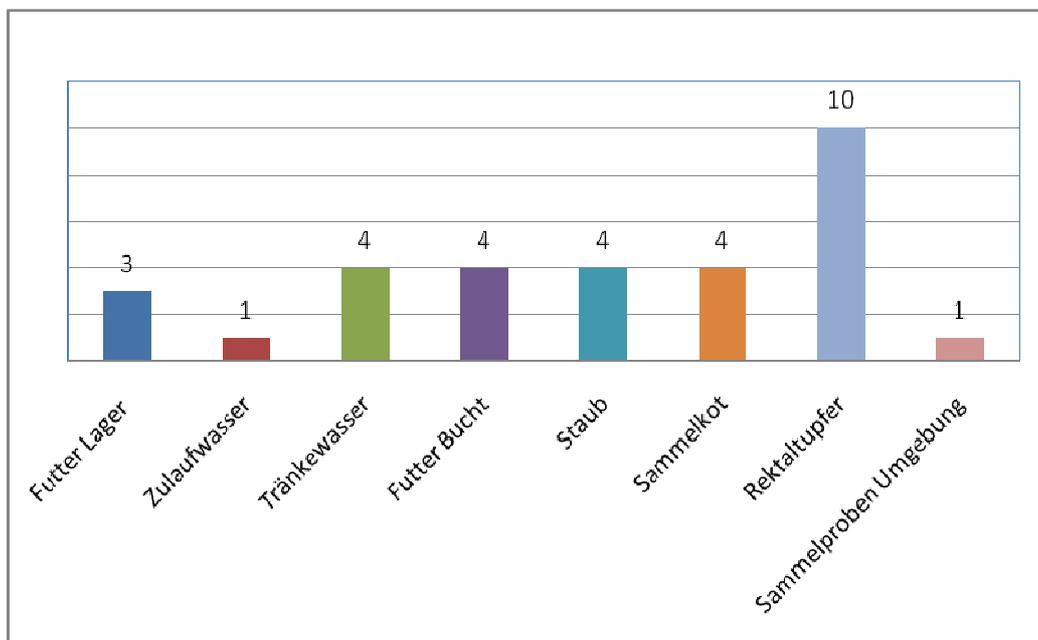


Abb. 13: Proben der Querschnittsuntersuchungen aus Betrieb Q6

Für die Untersuchungen wurden aus Betrieb Q7 vier Futtermittelproben aus dem Lager, eine Wasserprobe vom Zulauf, zwei Wasserproben aus den Tränken, zwei Staubproben, zwei Sammelkotproben und zehn Rektaltupfer entnommen (Abb. 14).

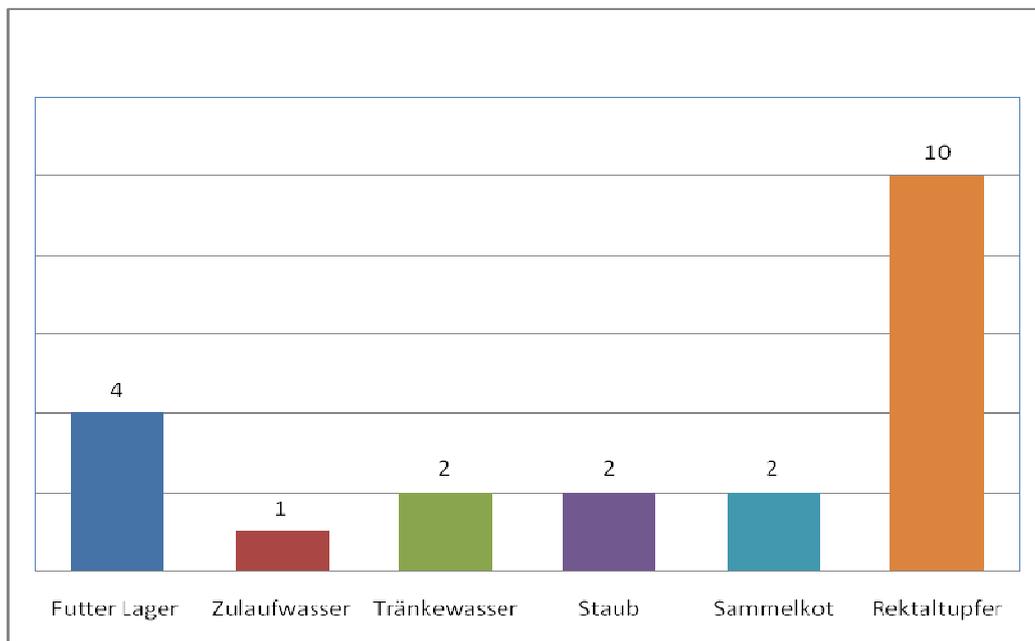


Abb. 14: Proben der Querschnittsuntersuchung aus Betrieb Q7

Die Proben aus Betrieb Q8 bestanden aus vier Proben aus dem Futtermittelager, einer Wasserprobe vom Zulauf, je drei Proben des Tränkewassers, des Futters aus den Buchten, des Staubes und drei Sammelkotproben (Abb. 15).

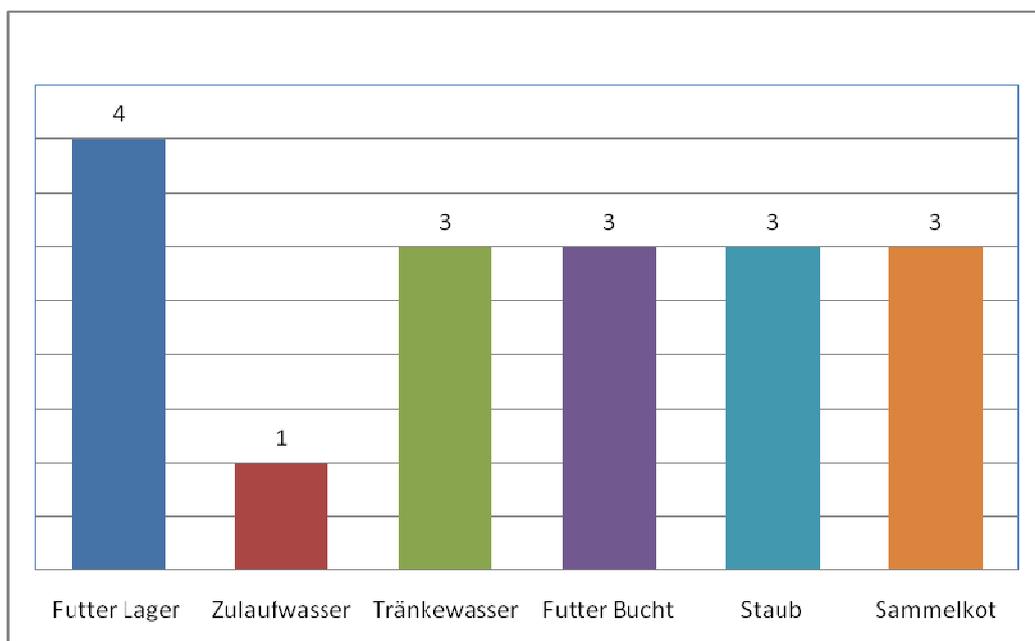


Abb. 15: Proben der Querschnittsuntersuchung aus Betrieb Q8

3.1.3 Untersuchungen auf dem Schlachthof

Um den Eintrag von Salmonellen auf die Lebensmittelkette zu ermitteln, wurden Schweine aus den Betrieben der Langzeituntersuchungen vor und nach der Schlachtung auf Salmonellen untersucht. Die Proben teilen sich so auf, wie in Abbildung 16 dargestellt.

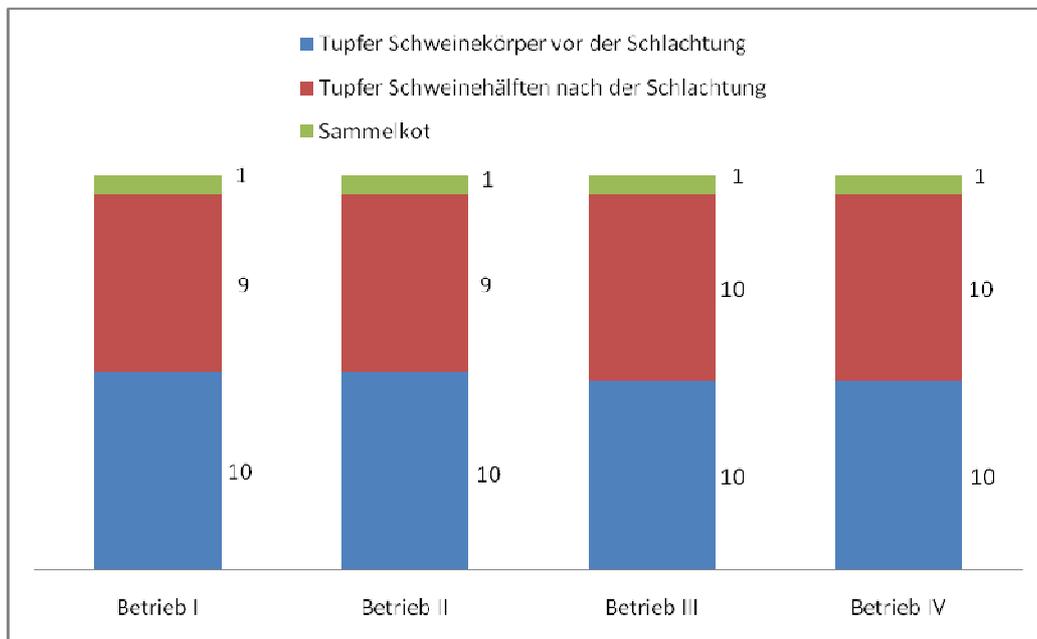


Abb. 16: Schlachthofproben aus Betrieben der Langzeituntersuchungen

Je eine Sammelkotprobe, neun Tupferproben der Schweinekörper vor der Schlachtung und zehn Tupferproben der Schweinehälften nach der Schlachtung wurden aus dem Schlachthof von Betrieb I und II entnommen. Je eine Sammelkotprobe, zehn Tupferproben der Schweinekörper vor der Schlachtung und zehn Tupferproben der Schweinehälften nach der Schlachtung wurden aus dem Schlachthof von Betrieb III und IV entnommen.

3.1.4 Bakteriologische Untersuchungen

3.1.4.1 Vergleichende Untersuchungen auf Salmonellen

Zum Nachweis von Salmonellen wurden drei kulturelle Verfahren und zwei Real-Time PCR-Methoden angewandt. Um die Unterschiede der angewandten fünf Nachweisverfahren besser darzustellen, werden diese hier aufgegliedert in kulturelle Nachweisverfahren und ttr-

basierte Real-Time PCR-Verfahren wiedergegeben. Zur besseren Darstellung der jeweiligen Methodik und deren Unterschiede wurden diese in Tabelle 3 aufgeführt.

Tabelle 3: Tabellarische Darstellung der angewandten Nachweisverfahren

Untersuchungsschritt	Nachweismethoden				
	Method I	Method II	Method III	Method IV	Method V
Voranreicherung	gepuffertes Peptonwasser		gepuffertes Peptonwasser mit Novobiocin	gepuffertes Peptonwasser	gepuffertes Peptonwasser mit Novobiocin
Selektivanreicherung	Rappaport Vassiliadis Bouillon (RVS)	Modifiziertes Semisolid Rappaport Vassiliadis Agar (MSRV)	Rappaport Vassiliadis Bouillon (RVS)	Rappaport Vassiliadis Bouillon (RVS)	Rappaport Vassiliadis Bouillon (RVS)
DNA-Extraktion aus RVS	-	-	-	+	+
Real-Time PCR	-	-	-	+	+
Ausstriche XLD- und BPLS-Agar	+	+	+	-	-
Identifizierung	Objektträger Agglutination mit O-Faktorensereen, Endgültige Differenzierung in Landesgesundheitsamt Stuttgart				

+= wurde durchgeführt, - = wurde nicht durchgeführt

3.1.4.1.1 Vergleichende Untersuchungen mit kulturellen Nachweisverfahren

Method I : DIN EN ISO 6579: Horizontales Verfahren zum Nachweis der Salmonellen

Method II : DIN EN ISO 6579/A1: Die Isolation der Salmonellen spp. mit der modifizierten Rappaport-Vassiliadis Methode (MSRV)

Method III : Modifizierte Methode nach FD CEN/TR 15215-3: Verfahren der Flüssiganreicherung in gepuffertem Peptonwasser mit Novobiocin gefolgt durch Rappaport Vassiliadis zum qualitativen Nachweis der Salmonellen

Um subletal geschädigte Salmonellen zu revitalisieren und um Informationen zu gewinnen, ob das relativ teure Novobiocin zu diesem Zweck wirklich notwendig ist, wurden die Proben in einem Verhältnis von 1:10 in gepuffertes Peptonwasser mit und ohne 40 mg/l Novobiocin pipettiert oder eingewogen und vergleichend untersucht.

Bei allen Sammelproben außer dem Staub, wurden 50 g, bei Flüssigproben wie Wasser und Gülle 50 ml in 450 ml gepuffertes Peptonwasser mit und ohne 40 mg/l Novobiocin eingewogen bzw. pipettiert. Die Ausbeute von Staub je Probe lag bei ca. 10-15 g, daher wurden 5 g in 450 ml gepuffertes Peptonwasser eingewogen. Im Voranreicherungsschritt wurden die Proben 18 ± 2 Stunden bei 37°C auf dem S chüttler bebrütet.

Es folgte der selektive Anreicherungsschritt in Rappaport-Vassiliadis-Bouillon (RVS) und dem modifizierten Semisolid Rappaport-Vassiliadis-Agar (MSRV). Dieser Schritt fördert das Wachstum von Salmonellen in dem die Begleitflora mit Malachitgrün und Magnesiumchlorid gehemmt wird. 0,1 ml der Voranreicherung mit und ohne Novobiocin wurden je in 9 ml RVS und 0,1 ml der Voranreicherung ohne Novobiocin in 3 gleichmäßigen Tropfen auf MSRV überimpft und 24 Stunden bei $41,5 \pm 1^\circ\text{C}$ bebrütet.

Nach der Bebrütung wurden je zwei Ösenausstriche aus dem Selektivanreicherungsmedium auf Brillantgrün-Phenolrot-Laktose-Saccharose-Agar (BPLS) und Xylose-Lysin-Desoxycholat-Agar angefertigt und 24 Stunden bei 37°C bebrütet. Aus jedem Reagenzglas RVS wurde 1 ml entnommen und für die DNA-Extraktion in ein 1,5 ml Reaktionsgefäß überführt.

BPLS ist ein selektiver Nährboden zur Isolierung von Salmonellen, der Laktose und Saccharose enthält und mit Brillantgrün die grampositive Begleitflora unterdrückt. Wird Laktose abgebaut, entsteht Säure, die wiederum durch einen Farbumschlag des pH-Indikators Phenolrot nach gelb angezeigt wird, jedoch im basischen Bereich eine rosarote Farbe aufweist. Salmonellen bauen weder Saccharose noch Laktose ab und bilden rosarote glänzende Kolonien. Daher kann die Laktose- bzw. Saccharosefermentation der Begleitflora erkannt werden. Im Gegensatz zu BPLS ist XLD kein Selektivmedium, es erlaubt die Prüfung der Xylose- Laktose- Saccharosespaltung durch den Farbumschlag des pH-Indikators Phenolrot auf gelb. Citrat und Desoxycholat unterdrücken die grampositive Begleitflora. Thiosulfat und Eisen-(III)-Salz zeigen Schwefelwasserstoffbildung durch schwarzes Eisensulfid in den Kolonien. BPLS und XLD wurden parallel eingesetzt, weil sie über unterschiedliche Wirkmechanismen verfügen und so auch die Isolierung unterschiedlicher Serovare der Salmonellen möglich ist (KARUNIAWATI 2001).

Nach der Inkubation wurden verdächtige Kolonien auf Standard-I-Agar-Platten übergeimpft und die nach 24 Stunden bei 37°C Bebrütung erhaltenen Reinkulturen serologisch mit Hilfe der O-Faktorensereen und Objektträgeragglutination identifiziert und nach dem Kauffmann-

White-Schema differenziert. Die endgültige Differenzierung erfolgte im Landesgesundheitsamt Stuttgart.

3.1.4.1.2 ttr-basiertes Real-Time PCR-Verfahren zum Nachweis von Salmonellen, vergleichend mit einem Voranreicherungsschritt in gepuffertem Peptonwasser mit oder ohne Novobiocin

Methode IV: ttr-basierte Real-Time PCR modifiziert nach Malorny et al. (2007) (die DNA-Extraktion erfolgt aus Rappaport-Vassiliadis-Bouillon nach der Voranreicherung in gepuffertem Peptonwasser ohne Novobiocin)

Methode V: ttr-basierte Real-Time PCR modifiziert nach Malorny et al. (2007) (die DNA-Extraktion erfolgt aus Rappaport-Vassiliadis-Bouillon nach der Voranreicherung in gepuffertem Peptonwasser mit Novobiocin)

Folgende Schritte umfasst der Real-Time PCR basierte Nachweis von Salmonellen:

1. Bereitstellung der für die PCR benötigten Pipetten, Pipettenspitzen, Reagenzien und der Probe unter der Sicherheitswerkbank
2. Beschriftung der benötigten Reaktionsgefäße
3. Eine nicht-selektive Voranreicherung in gepuffertem Peptonwasser mit oder ohne Novobiocin, folgend mit einer selektiven Anreicherung in Rappaport-Vassiliadis-Bouillon
4. Extraktion der mikrobiellen DNA aus 1 ml Anreicherungsansatz
5. Durchführung der Real-Time PCR mit spezifischen Primern und Sonden im Real-Time PCR-Cycler.

3.1.4.1.2.1 Extraktion mikrobieller DNA

Dieser Vorgang wurde in einem separaten Raum durchgeführt, um das Kontaminationsrisiko auszuschließen. Für die Extraktion mikrobieller DNA wurde 1 ml Aliquot der 24 Stunden bei $41,5 \pm 1^\circ\text{C}$ bebrüteten RVS in ein 1,5 ml- Reaktionsgefäß überführt und folgende Schritte durchgeführt:

- Zentrifugation der Zellsuspension (5 Min., 14.000x g) und Überstand verwerfen,
- Resuspension des Sediments in 1 ml 0,1 x TE Puffer (1 mmol/l Tris-HCl und 0,1 mmol/l EDTANa₂, pH 8,0 ± 0,1), anschließend Zentrifugation der Zellsuspension (5 Min., 14.000x g) und Verwerfen des Überstandes.
- Das Sediment wurde in 300 µl 0,1 x TE Puffer resuspendiert.

- Die Resuspension wurde bei 95°C für 15 Min. erhitzt.
- Um die Extrakte kräftig zu mischen, wurden sie bei 4°C für 3 Min. zentrifugiert (3 Min., 14.000x g)
- Der Überstand wurde in ein neues Reaktionsgefäß überführt.

Die DNA-Extrakte wurden entweder sofort in der PCR eingesetzt oder bei -20°C gelagert.

3.1.4.1.2.2 ttrC/ttrA basierte real-time PCR

Die Primersequenzen sind in Tabelle 4 und Sondensequenzen in Tabelle 5 aufgelistet (MALORNY et al. 2007). Mit den Primern ttr-6 und ttr-4 ergibt sich ein 95 bp PCR-Produkt.

Tabelle 4: Primer zum Nachweis von Salmonellen DNA mit dem ttr-basiertem Real-Time-PCR-Ansatz

Primer	Sequenz	Referenz
ttr-6	CTC ACC AGC AGA TTA CAA CAT GG	(MALORNY et al., 2004)
ttr-4	AGC TCA GAC CAA AAG TGA CCA TC	(MALORNY et al., 2004)

Tabelle 5: Sondensequenzen zum Nachweis von Salmonellen DNA mit ttr-basiertem Real-Time-PCR Ansatz

Sonden	Sequenz	Referenz
ttr-5	FAM-CAC CGA CGG CGA GAC CGA CTT T-DarkQuencher2	(MALORNY et al., 2004)
IK-ttr	HEX-CAG ACG GCG ACG CGA ACG CTT T-DarkQuencher2	(MALORNY et al., 2004)

Der jeweilige Real-Time-PCR-Ansatz ist in Tabelle 6 aufgelistet.

Tabelle 6: ttr-basierter Real-Time-PCR-Ansatz (MALORNY et al. 2007)

Komponenten	µl/Ansatz	Endkonzentration 25 µl-Ansatz
TaqMan Universal Mastermix ohne Uracil-N-Glykolase	12,5	1x
Primer ttr-6	1,0	0,4 µmol/l
Primer ttr-4	1,0	0,4 µmol/l
Sonde ttr-5 (Salmonella DNA spezifische Sonde)	0,25	0,125 µmol/l
Sonde IK-ttr (Interne Amplifikationskontrolle spezifische Sonde)	0,25	0,125 µmol/l
Interne Amplifikationskontrolle-DNA2	1,0	ca. 100 Kopien
H ₂ O	4	
DNA der Untersuchungsprobe	5,0	
Gesamtvolumen	25,0	

Temperatur-Zeit-Ablauf zum ttr-basierten real-time-PCR:

Initiale Denaturierung 95°C 10 Min

45 Zyklen

Denaturierung 95°C 15 Sek.

Anlagerung/Synthese 60°C 60 Sek.

3.1.4.1.2.3 Herstellung der internen Amplifikationskontrolle

Die Herstellung der internen Amplifikationskontrolle erfolgt nach einem Konzept, das auf dem Postweg persönlich von Dr. Burkhard Malorny, am 04.09.2007 vom Nationalen Referenzlabor für Salmonellen übermittelt wurde. Dieses Konzept beinhaltet ein resuspendiertes Lyophil als Template des pEUB38 Plasmides in 250 µl TE Puffer mit pH 8,0 (Endkonzentration 4ng/µl). Die Primersequenzen für die Herstellung der Amplifikationskontrolle können aus Tabelle 7 und der jeweilige PCR-Ansatz aus Tabelle 8 entnommen werden.

Tabelle 7: Primersequenzen für die Herstellung der internen Amplifikationskontrolle

Verwendete Primer	Sequenz	Fragmentgröße
M 13 forward	GTA AAA CGA CGG CCA G	329 bp
M 13 reverse	CAG GAA ACA GCT ATG AC	

Tabelle 8: PCR-Ansatz für die Herstellung der internen Amplifikationskontrolle

Komponenten	µl/Ansatz	Endkonzentration 50 µl-Ansatz
H ₂ O	29,3	
10x PCR Puffer	5,0	
dNTP Mix (2mM)	5,0	200 µM
Primer M13 forward (10 pmol/µl)	4,0	0,4 µM
Primer M13 reverse (10pmol/µl)	4,0	0,4 µM
MgCl ₂ (50mM)	1,5	1,5 µM
Taq Polymerase (5U/µl)	0,2	1,0 U
pEUB 38 1:100 verdünnt	1	
Gesamtvolumen	50	

Temperatur-Zeit-Ablauf zur Herstellung der internen Amplifikationskontrolle im Thermocycler

Initiale Denaturierung	95°C	1 Min.
------------------------	------	--------

33 Zyklen

Denaturierung	95°C	30 Sek.
---------------	------	---------

Annealing	50°C	30 Sek.
-----------	------	---------

Extension	72°C	30 Sek.
-----------	------	---------

Renaturierung	72°C	4 Min.
---------------	------	--------

Final Temperatur	4°C	
------------------	-----	--

Die Produktgröße und Qualität wird mittels Gelelektrophorese überprüft. Dazu wird zunächst ein Kamm zur Herstellung der Slots in ein umrandetes Plexiglasförmchen gestellt und anschließend ein 1,5%iges Agarosegel mit 0,1µg/ml Ethidiumbromid hineingegossen. Nach Einbringen des Gels wird die Elektrophoresekammer mit 1xTAE Puffer gefüllt. Die Proben werden mit 2 µl Startpuffer und die verwendeten Größenmarker in die Slots einpipettiert. Die Elektrophorese beginnt mit 10 Min. 40 Volt und wird mit 60 Volt 50 Min. durchgeführt. Das Gel wird durch Fotografie auf dem Transilluminator ausgewertet.

Das DNA-Amplifikat wird mit einem PCR-Purification-Kit gereinigt und die Konzentration des PCR-Produktes bei 260 nm mit einem Spektrophotometer gemessen. Die Zahl der DNA-Kopien wird mit folgender Formel berechnet:

$$[(\text{Fragmentgewicht in ng}/\mu\text{l}) : (660 \text{ g/mol} \times 329)] \times 6.023 \times 10^{23} = \text{Zahl der Kopien}/\mu\text{l}$$

Die interne Amplifikationskontrolle wird in einer Konzentration von 1×10^2 Kopien/µl eingesetzt.

3.1.4.1.2.4 Nachweisgrenze der Real-Time PCR bei Reinkulturen in Anwesenheit einer Internenamplifikationskontrolle 10^2 Kopien/µl

Zur Bestimmung der Nachweisgrenze wurde der Bakterienstamm *S. Senftenberg*, DSM No: 10062, aus der Stammsammlung des Institutes für Umwelt- und Tierhygiene der Universität Hohenheim in 5 ml 0,9% NaCl suspendiert und auf McFarland Standard 1 (ca. 10^8 KBE/ml) eingestellt. Anschließend wurde eine dezimale Verdünnungsreihe bis zu 10^{-8} (ca. 10^0

KbE/ml) hergestellt. Die letzten fünf Ausgangssuspensionen wurden je aus 2 x 0,1 ml auf Standard-I-Agar ausgestrichen.

Aus den Verdünnungsstufen wurde mittels des oben beschriebenen Verfahrens eine DNA-Extraktion durchgeführt und in der Real-Time PCR eingesetzt.

Die Kolonienzahl der Ausgangssuspension betrug $3,3 \times 10^8$ KbE/ml. Mit der angewandten Methode konnte *S. Senftenberg* bis zur Verdünnungsstufe 10^{-6} (ca. $3,3 \times 10^2$ KbE/ml) nachgewiesen werden.

Zusätzlich wurde die Ausgangssuspension mit einer Konzentration von $3,3 \times 10^0$ KbE/ml (Verdünnungsstufe 10^{-8}) in die Voranreicherung pipettiert und nach dem oben beschriebenen Nachweisverfahren bebrütet. Bei der Extraktion der Salmonellen-DNA aus der Selektivanreicherung war somit auch der Nachweis des Bakteriums bei 10^0 KbE/ml möglich.

3.1.4.2 Empfindlichkeitsprüfung von Salmonellen gegen ausgewählte Chemotherapeutika mit der Makrodilutionsmethode (auch Bouillon-Dilutionsmethode) nach DIN 58940 Teil 1

Als erstes wird eine Keimsuspension in 9 ml Standard-I-Bouillon hergestellt und 24 Stunden bei 37°C bebrütet, danach wird 0,1 ml dieser Keimsuspension in 5ml Müller-Hinton-Bouillon überimpft und nochmals für 24 Stunden bei 37°C inkubiert, auf eine Trübung nach MacFarland-Standard No. 0,5 (1×10^8 KBE/ml) eingestellt. Um die Keimsuspension auf ca. $5,0 \times 10^5$ KBE/ml einzustellen, wurden 50 µl in 10 ml Müller-Hinton-Bouillon pipettiert.

Nach Herstellung der Keimsuspension in gewünschter Keimzahl wurde eine Antibiotika-Stammlösung, je nach der vom Hersteller angegebenen Aktivität, frisch hergestellt und gelöst. Als Lösungsmittel wurde je nach Antibiotikum Ammonium Hydroxide, Hydrochloric Acid, destilliertes Wasser oder Alkohol verwendet.

Folgende Wirkstoffe wurden eingesetzt:

- Amoxicillin
- Apramycin
- Colistin
- Enrofloxacin
- Florfenicol
- Gentamicin
- Neomycin
- Tetracyclin

Schließlich wurde eine Verdünnungsreihe für alle Wirkstoffe mit der Konzentration von 128 µg/ml bis 0,25 µg/ml angelegt. Enrofloxacin wurde bis zu einer Konzentration von 0,0075 µg/ml angesetzt. Es folgte eine Ausgangsverdünnung, die mit einer Wirkstoffkonzentration von 256 µg/ml erreicht wurde, indem 8 ml aus der Antibiotika-Stammlösung mit einer Konzentration von 2000 µg/ml in 54,48 ml Müller-Hinton-Bouillon verdünnt wurden. 1 ml Keimsuspension wurde für jede Wirkstoffkonzentration mit 1 ml Antibiotika-Lösung 1:1 in einem Reagenzglas vermischt. Dabei ist zu beachten, dass mit einer Verdünnung von 1:1 die Antibiotika-Konzentration um eine 2-er Potenz sinkt (siehe Tabelle 9).

Die beimpften Reagenzgläser wurden für die Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration (MHK) 24 Stunden bei 37°C bebrüht und ausgewertet. Hierfür wurde die niedrigste Konzentration, bei der kein sichtbares Wachstum auftritt, als minimale Hemmkonzentration (MHK) festgestellt, in dem die Wirkstoffkonzentration bei der Vermischung mit der Keimsuspension in einem Verhältnis von 1:1 der jeweiligen Verdünnungsreihe abgelesen wird (siehe Tabelle 9 B).

Tabelle 9: Darstellung der Verdünnungsreihe mit den jeweiligen Endkonzentrationen

A	128	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03	0,015	0,007
B	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03	0,015	0,007	0,0035

(A= Wirkstoffkonzentration ohne Keimsuspension, B= Wirkstoffkonzentration bei Vermischung der Keimsuspension in einem Verhältnis von 1:1)

Die Beurteilung der Ergebnisse erfolgte anhand von den in Tabelle 10 aufgeführten Grenzwerten.

Tabelle 10: Darstellung der im Makrodilutionsverfahren geprüften antimikrobiellen Substanzen und deren Beurteilung anhand der Grenzwerte in µg/ml

Antibiotika		MHK			Referenz	
Wirkstoffgruppe	Wirkstoff	Abkürzung	Resistent \geq	Intermediär		Sensibel \leq
B – Lactame	Amoxicillin	AMOX	16	4-8	2	
Aminocyclitole	Apramycin	APRA	32	kein Wert	16	
Polypeptidantibiotika	Colistin	COL	4	1-2	0,5	
Fluochinolone	Enrofloxacin	ENRO	2	1	0,5	(USLING
Phenicol	Floramphenicol	FLOR	32	16	8	2006)
Aminoglykoside	Gentamicin	GEN	8	2-4	1	
Aminoglykoside	Neomycin	NEO	16	kein Wert	8	
Tetracycline	Tetracyclin	TET	8	2-4	1	

4 Ergebnisse

4.1 Ergebnisse der Langzeituntersuchungen

Werden alle Proben der Langzeituntersuchungen mit allen angewandten Methoden, sowie die positiven und negativen Ergebnisse verglichen, wird deutlich, dass mit Methode V die meisten positiven Ergebnisse erzielt werden konnten.

Mit Methode I wurden 43 der 1577 Proben, mit Methode II 44, mit Methode III 74, mit Methode IV 252 und mit Methode V 353 positive Ergebnisse nachgewiesen (Abb. 17). In den folgenden Abbildungen werden bei den verschiedenen Methoden die positiven und negativen Ergebnisse in Relation zur Gesamtzahl dargestellt, insofern wurde je Methode eine einheitliche Balkenhöhe gewählt.

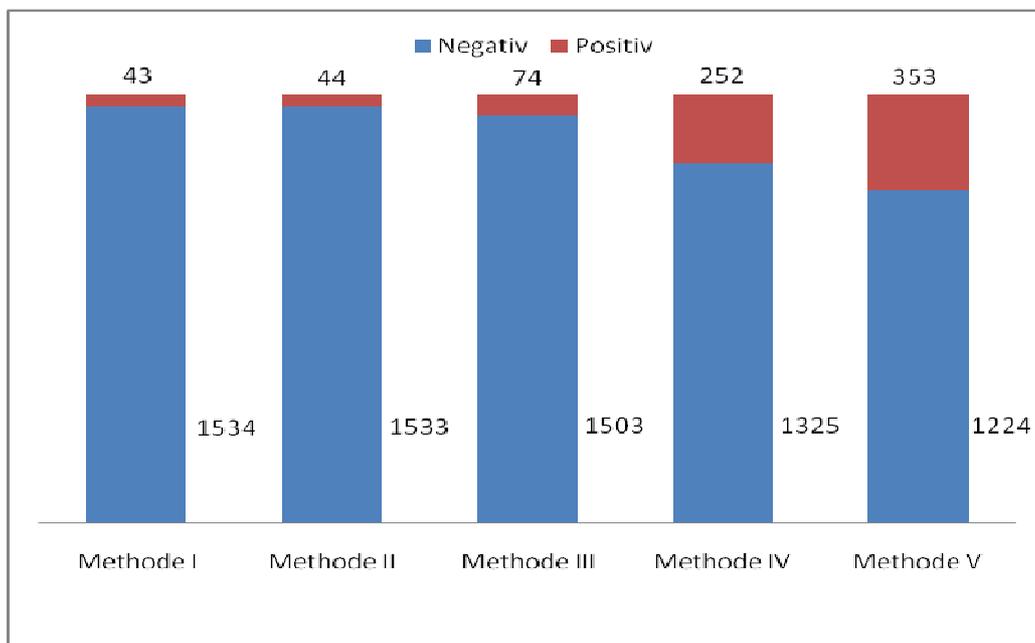


Abb. 17: Vergleich aller Proben der Langzeituntersuchungen mit allen Methoden

4.1.1 Ergebnisse der kulturellen Verfahren zum Nachweis von Salmonellen

Die Abbildungen 18-39 zeigen die positiven und negativen Ergebnisse der einzelnen Betriebe I-IV, verglichen mit der jeweiligen Nachweismethode.

Die Ergebnisse aus Betrieb I mit Methode I zeigen, dass eine von 24 Futtermittelproben aus dem Stall, eins von vier Proben aus dem Futterlager, eine von 24 Sammelproben aus der Umgebung der Tiere, zwei von 148 Rektaltupfern und vier von sieben Gülleproben positiv auf Salmonellen getestet wurden (Abb. 18). In den folgenden Abbildungen werden bei den verschiedenen Probenarten die positiven und negativen Ergebnisse in Relation zur Gesamtzahl dargestellt, insofern wurde je Probenart eine einheitliche Balkenhöhe gewählt.

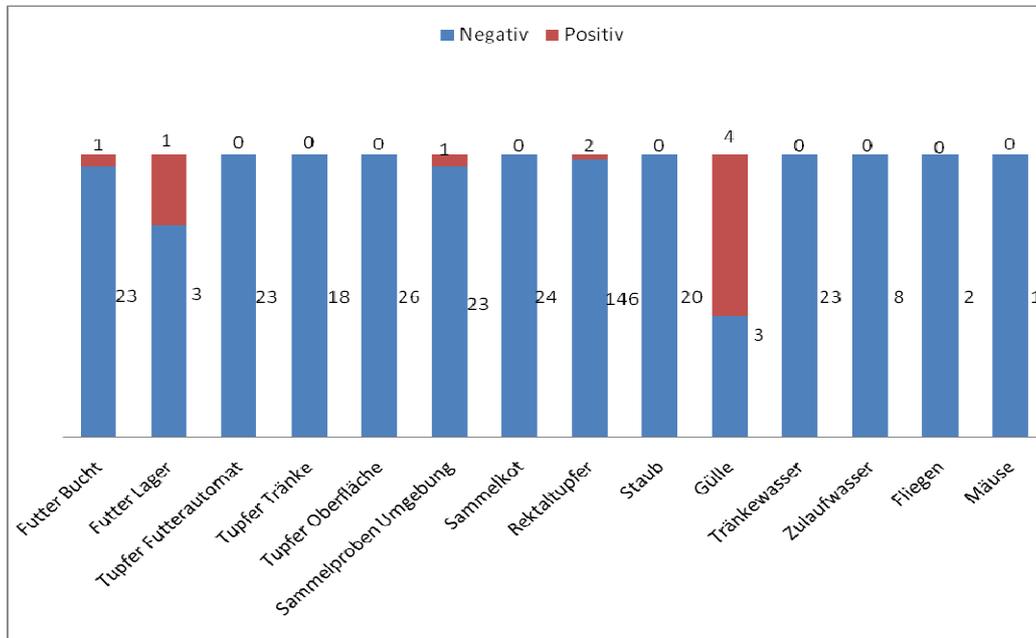


Abb. 18: Vergleich positiver und negativer Ergebnisse von Betrieb I mit Methode I

Beim Vergleich der Ergebnisse von Betrieb I mit Methode II wird deutlich, dass eine von 24 Proben Futtermittel aus Stall, eine von 24 Sammelkotproben, fünf von 148 Rektaltupfern, eine von zwanzig Staubproben, drei von sieben Gülleproben und eine von 23 Wasserproben aus den Tränken positiv auf Salmonellen waren (Abb. 19).

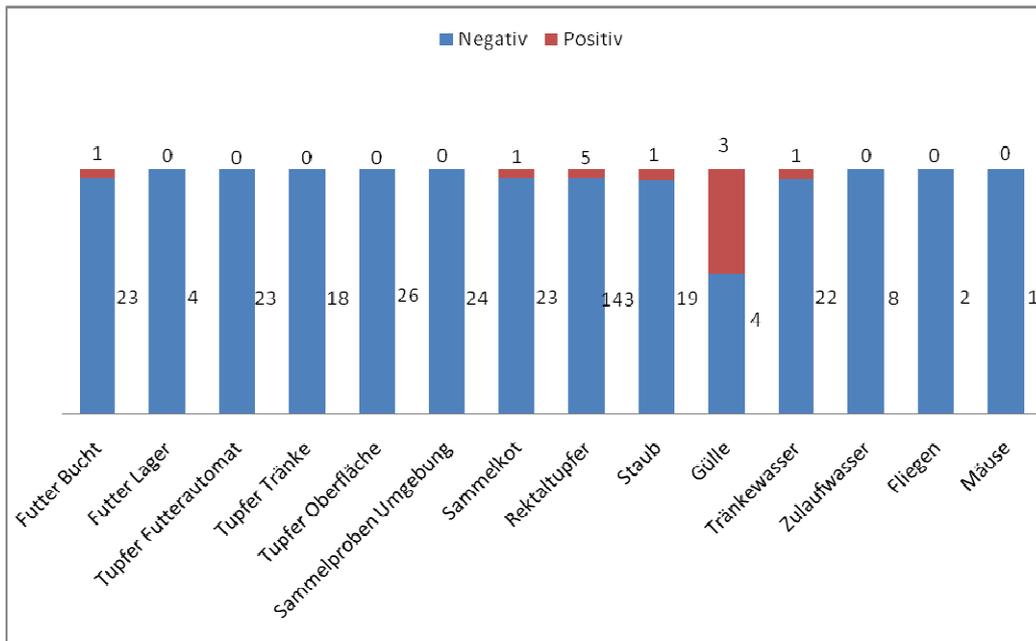


Abb. 19: Vergleich positiver und negativer Ergebnisse von Betrieb I mit Methode II .

Die Ergebnisse der Langzeituntersuchungen von Betrieb I mit Methode III zeigen, dass eine von 24 Futtermittelproben aus dem Stall, zwei von 24 Sammelproben aus der Umgebung der Tiere, fünf von 148 Rektaltupfern, zwei von zwanzig Staubproben sowie vier von sieben Gülleproben Salmonella-positiv waren (Abb. 20).

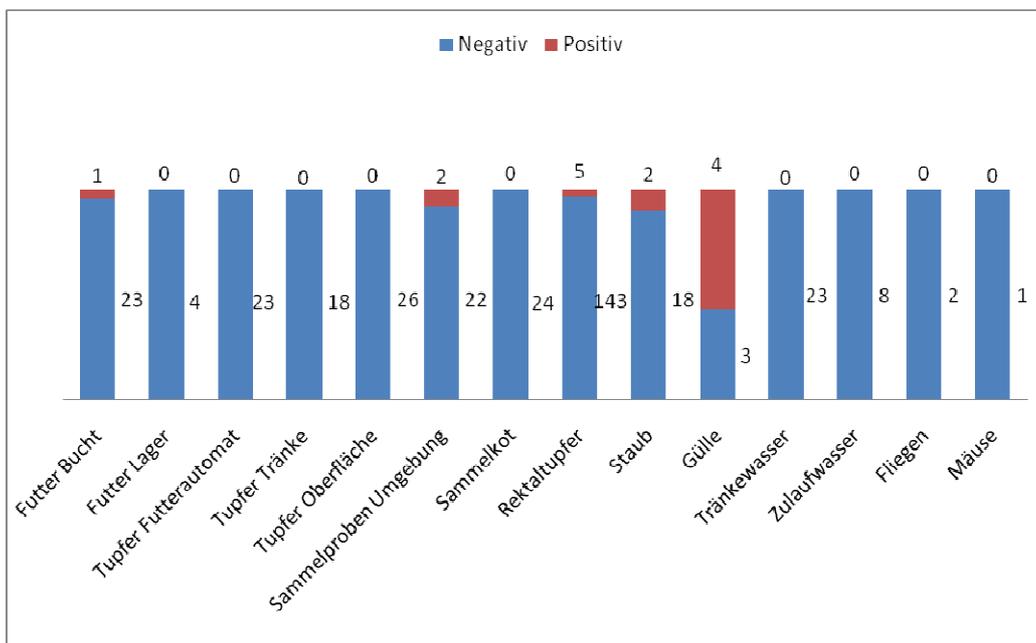


Abb. 20: Vergleich positiver und negativer Ergebnisse von Betrieb I mit Methode III

Aus Betrieb II mit Methode I wurden eine von 24 Futterproben aus dem Stall, drei von fünfzig Futterproben aus dem Lager, eine von 24 Sammelproben aus der Umgebung der Tiere, eine

von 24 Sammelkotproben und eine von sechs Gülleproben positiv auf Salmonellen getestet (Abb. 21).

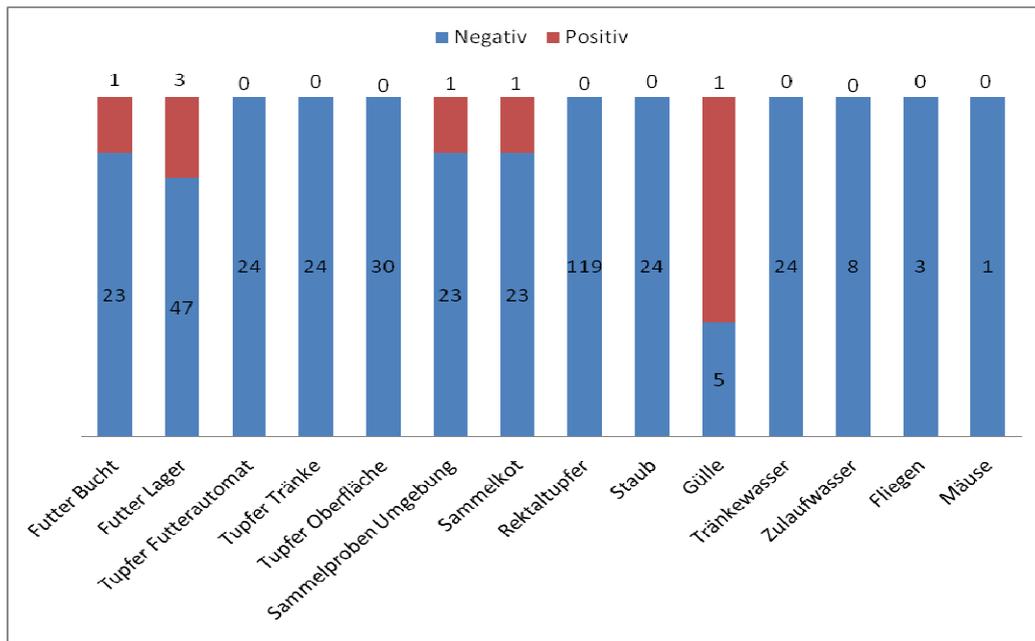


Abb. 21: Vergleich positiver und negativer Ergebnisse von Betrieb II mit Methode I

Die positiven Salmonellen-Befunde aus Betrieb II mit Methode II beschränken sich nur auf eine von 24 Futterproben aus dem Stall (Abb. 22).

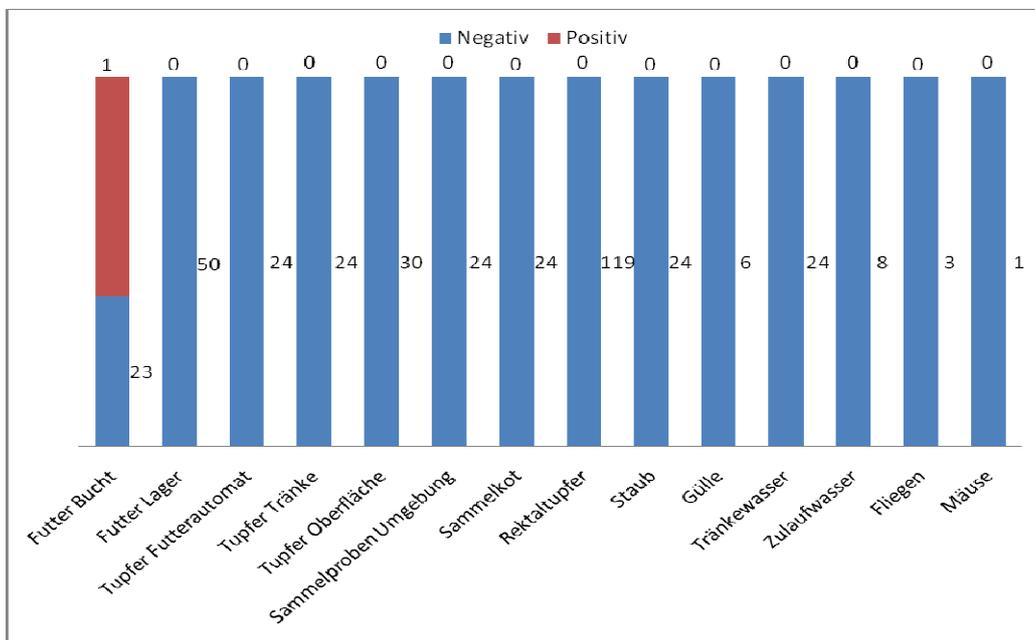


Abb. 22: Vergleich positiver und negativer Ergebnisse von Betrieb II mit Methode II

Die Ergebnisse der Langzeituntersuchungen auf Betrieb II mit Methode III ergaben, dass zwei von 24 Futterproben aus dem Stall, zwei von fünfzig Futterproben aus dem Lager, zwei

von 24 Sammelproben aus der Umgebung, drei von 24 Sammelkotproben, zwei von 24 Staubproben und vier von sechs Gülleproben Salmonellen-positiv waren (Abb. 23).

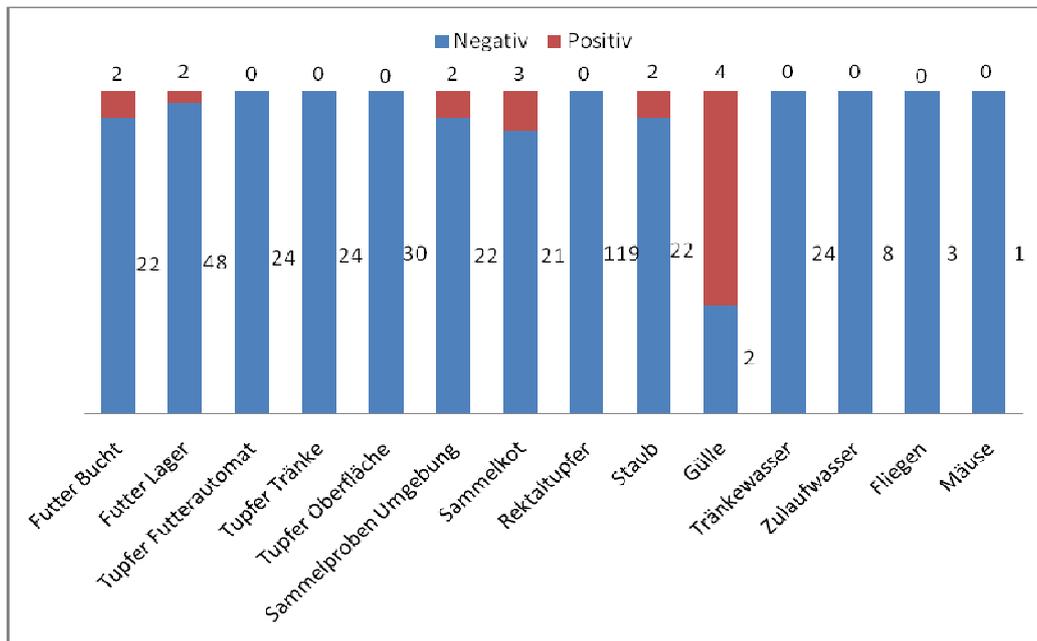


Abb. 23: Vergleich positiver und negativer Ergebnisse von Betrieb II mit Methode III

Werden die Ergebnisse der Langzeituntersuchungen von Betrieb III mit Methode I verglichen, wird deutlich, dass zwei von dreißig Futterproben aus dem Stall, zwei von 31 Tupferproben der Futterautomaten, eine von 31 Tupferproben der Tränken, eine von 31 Tupferproben der Oberflächen, fünf von 34 Sammelproben aus der Umgebung der Tiere, fünf von dreißig Sammelkotproben, vier von dreißig Staubproben, eine von 31 Wasserproben aus den Tränken und eine von vier Proben der Fliegen Salmonella-positiv getestet wurden (Abb. 24).

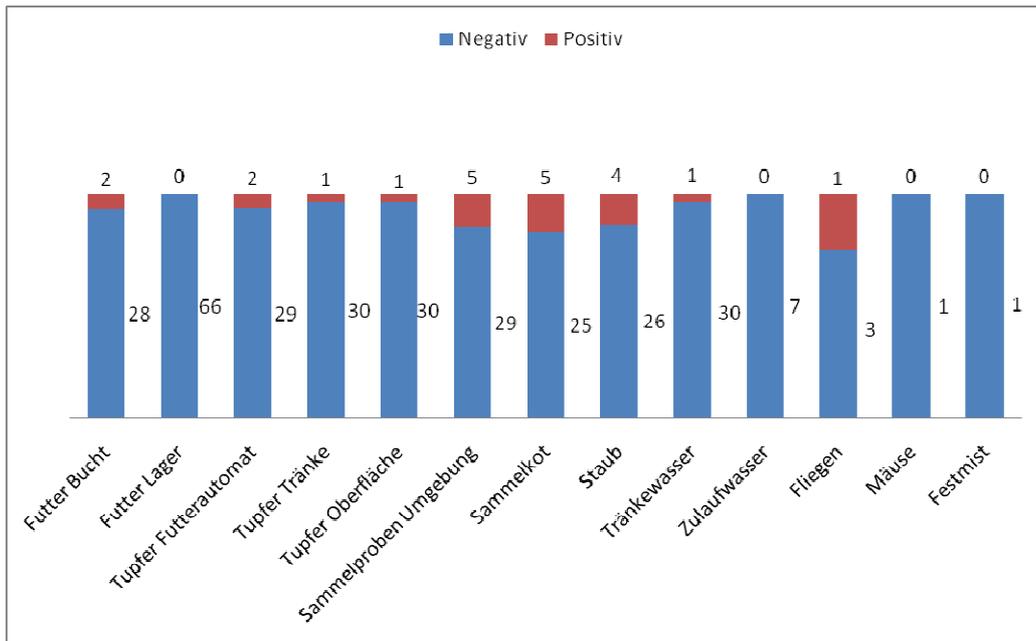


Abb. 24: Vergleich positiver und negativer Ergebnisse von Betrieb III mit Methode I

Die Salmonella-positiven Ergebnisse mit Methode II auf Betrieb III stellen sich aus zwei von dreißig Futterproben aus dem Stall, drei von 31 Tupferproben der Futterautomaten, zwei von 31 Tupferproben der Tränken, eine von 31 Tupferproben der Oberflächen, sechs von 34 Sammelproben aus der Umgebung der Tiere, sechs von dreißig Sammelkotproben, fünf von dreißig Staubproben, zwei von 31 Wasserproben aus den Tränken und eine von vier Proben der Fliegen zusammen (Abb. 25).

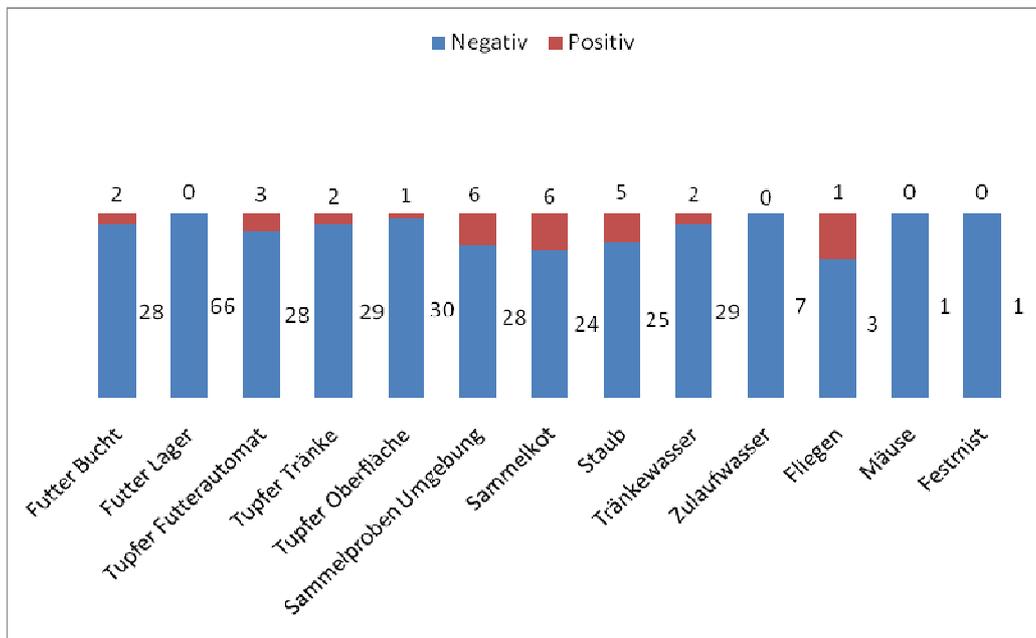


Abb. 25: Vergleich positiver und negativer Ergebnisse von Betrieb III mit Methode II

Auf Betrieb III mit Methode III wurden vier von dreißig Futterproben aus dem Stall, eine von 66 Futterproben aus dem Lager, drei von 31 Tupferproben der Futterautomaten, zwei von 31 Tupferproben der Tränken, eine von 31 Tupferproben der Oberflächen, neun von 34 Sammelproben aus der Umgebung der Tiere, sieben von dreißig Sammelkotproben, acht von 30 Staubproben, zwei von 31 Wasserproben der Tränken als positive Salmonellenbefunde erzielt (Abb. 26).

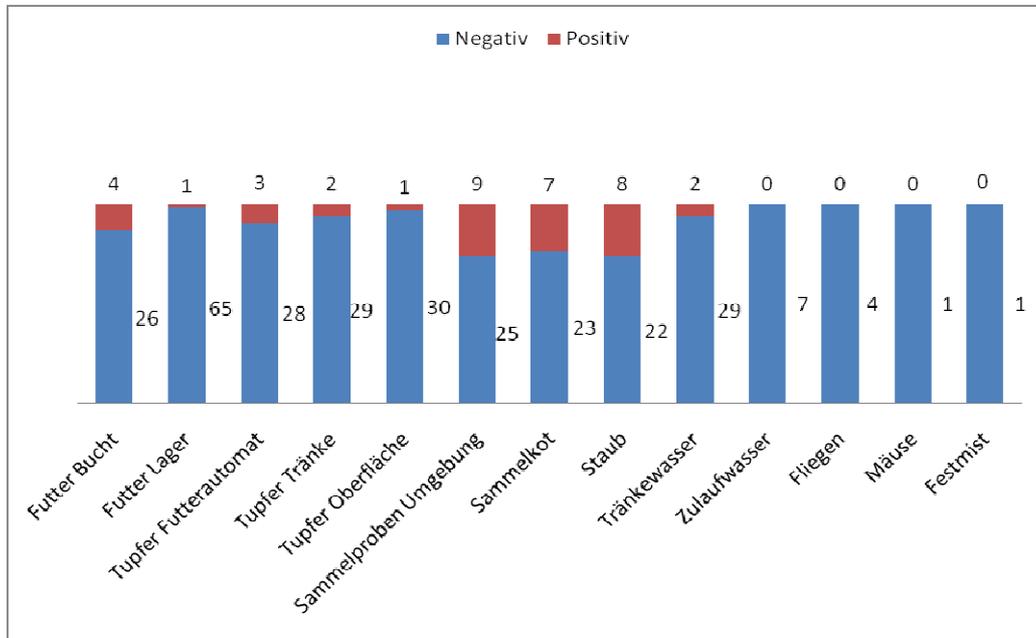


Abb. 26: Vergleich positiver und negativer Ergebnisse von Betrieb III mit Methode III

Von Betrieb IV konnten mit Methode I aus zwei von 29 Futterproben aus dem Stall, eine von 59 Futterproben aus dem Lager und zwei von fünf Gülleproben Salmonellen isoliert werden (Abb. 27).

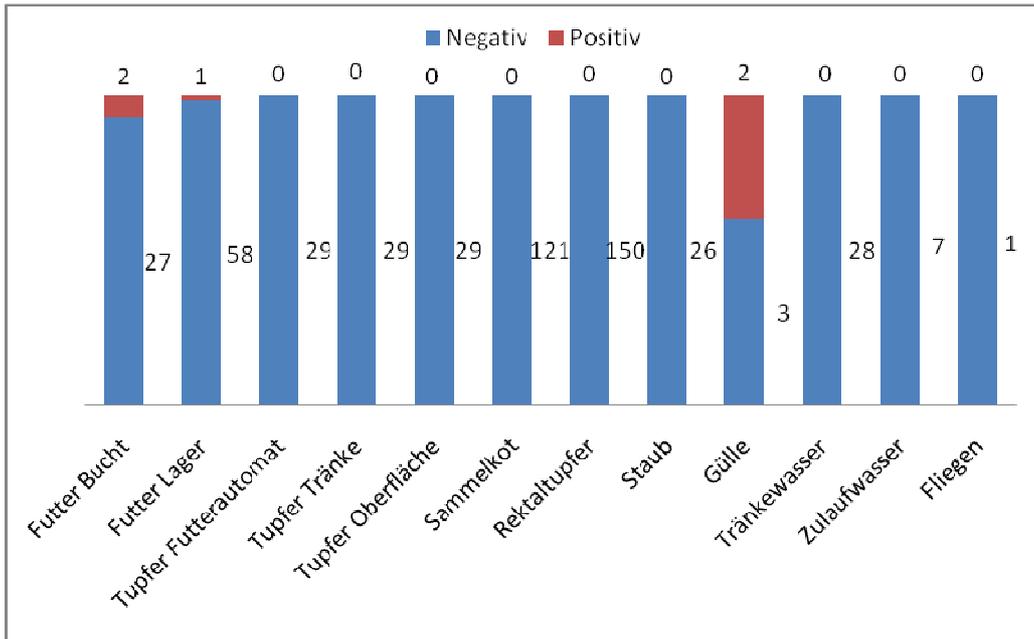


Abb. 27 Vergleich positiver und negativer Ergebnisse von Betrieb IV mit Methode I

Mit Methode II auf Betrieb IV konnten aus einer von 29 Tupferproben der Futterautomaten, einer von 26 Staubproben und einer von fünf Gülleproben Salmonellen isoliert werden (Abb. 28).

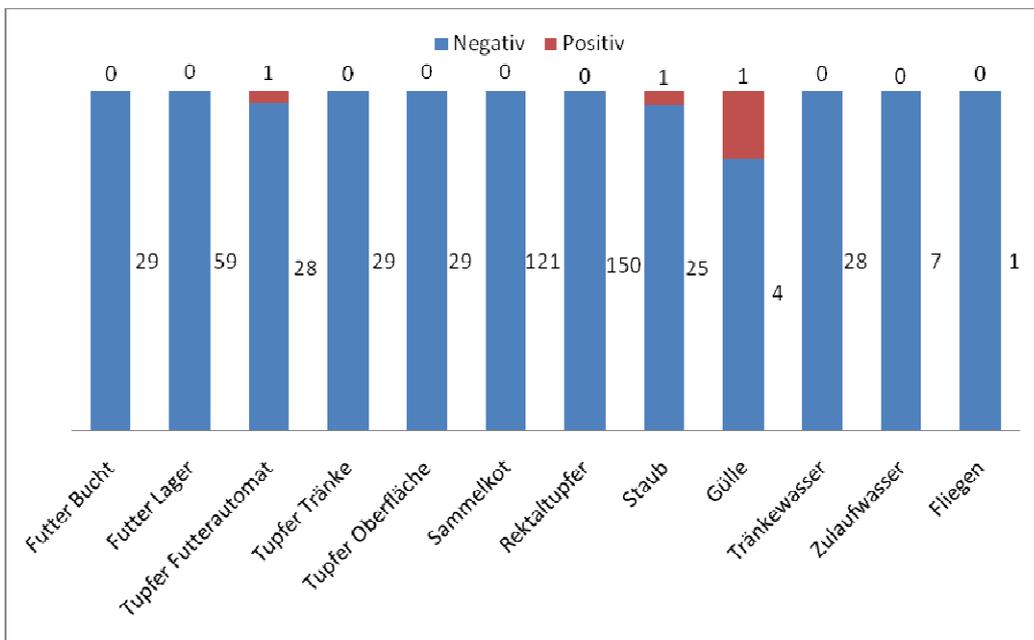


Abb. 28: Vergleich positiver und negativer Ergebnisse von Betrieb IV mit Methode II

Zwei von 29 Futterproben aus dem Stall, zwei von 59 Futterproben aus dem Lager, zwei von 26 Staubproben und zwei von fünf Gülleproben aus Betrieb IV wurden mit Methode III positiv auf Salmonellen getestet (Abb. 29).

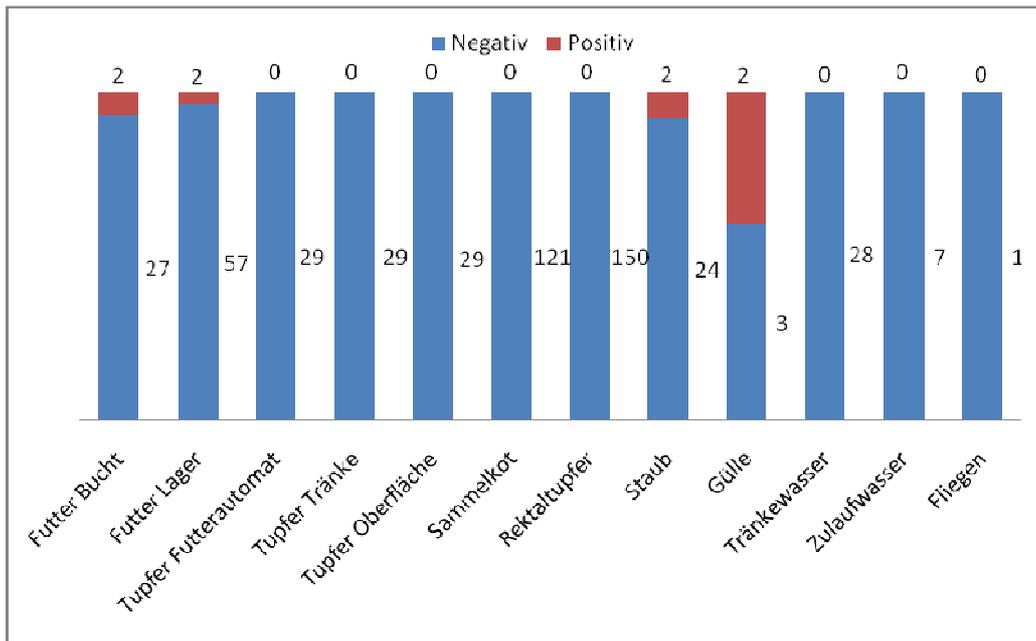


Abb. 29: Vergleich positiver und negativer Ergebnisse von Betrieb IV mit Methode III

4.1.2 Ergebnisse der ttr-basierten Real-Time PCR zum Nachweis von Salmonellen

Mit Methode IV konnten auf Betrieb I aus acht von 24 Futtermittelproben aus dem Stall, eine von 4 Futtermittelproben aus dem Lager, zwei von 23 Tupferproben der Futterautomaten, drei von 18 Tupferproben der Tränken, eine von 26 Tupferproben der Oberflächen, neun von 24 Sammelproben aus der Umgebung der Tiere, elf von 24 Sammelkotproben, 31 von 148 Rektaltupfern, sechs von zwanzig Staubproben, fünf von sieben Gülleproben, zwei von 23 Wasserproben aus den Tränken, zwei von acht Wasserproben aus dem Zulauf Salmonellen nachgewiesen werden (Abb. 30). In den folgenden Abbildungen werden bei den Probenarten die positiven und negativen Ergebnisse in Relation zur Gesamtzahl dargestellt, insofern wurde eine einheitliche Balkenhöhe gewählt.

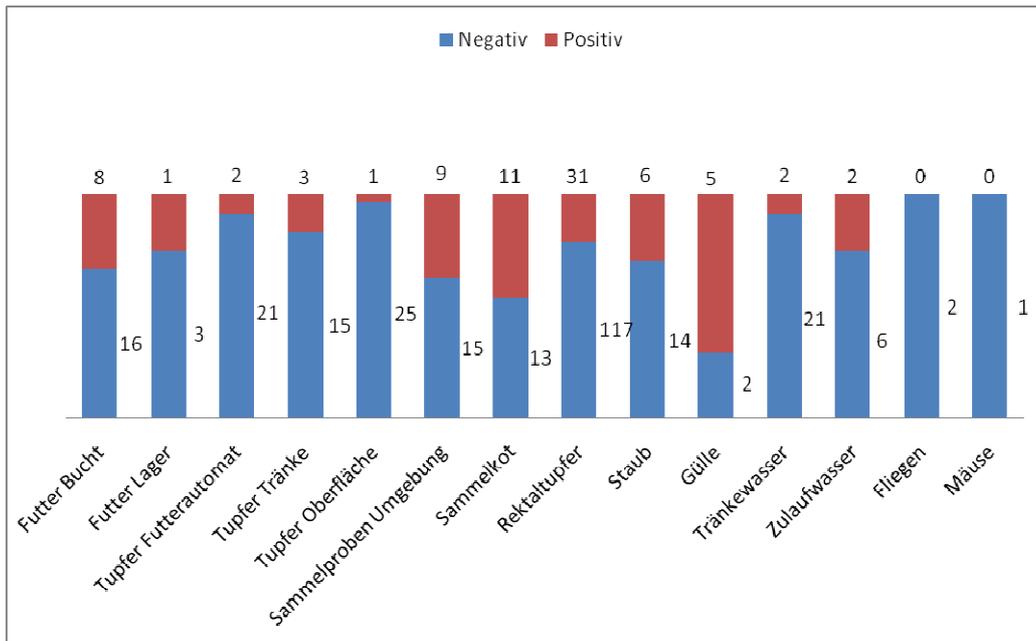


Abb. 30: Vergleich positiver und negativer Ergebnisse von Betrieb I mit Methode IV

Die Salmonella-positiven Ergebnisse mit Methode V von Betrieb I sind acht von 24 Futtermittelproben aus dem Stall, zwei von vier Futtermittelproben aus dem Lager, drei von 23 Tupferproben der Futterautomaten, 4 von 18 Tupferproben der Tränken, 2 von 26 Tupferproben der Oberflächen, neun von 24 Sammelproben aus der Umgebung, zwölf von 24 Sammelkotproben, 47 von 148 Rektaltupfern, acht von zwanzig Staubproben, fünf von sieben Gülleproben, drei von 23 Wasserproben aus den Tränken, zwei von acht Wasserproben vom Zulauf, eine von zwei Proben der Fliegen (Abb. 31).

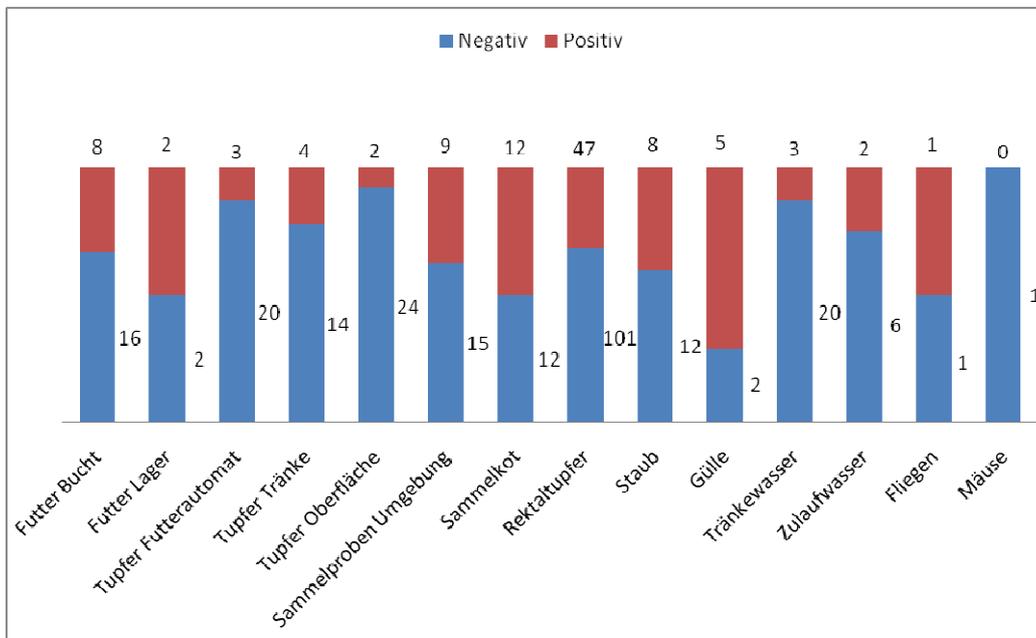


Abb. 31: Vergleich positiver und negativer Ergebnisse von Betrieb I mit Methode V

Auf Betrieb II konnte mit Methode IV festgestellt werden, dass drei von 24 Futterproben aus dem Stall, drei von fünfzig Futterproben aus dem Lager, eine von 24 Tupferproben der Tränken, vier von 24 Sammelproben aus der Umgebung, fünf von 24 Sammelkotproben, neun von 119 Rektaltupfern, zwei von 24 Staubproben, drei von sechs Gülleproben, eine von 24 Wasserproben aus den Tränken und eine von acht Wasserproben aus dem Zulauf Salmonella-positiv waren (Abb. 32).

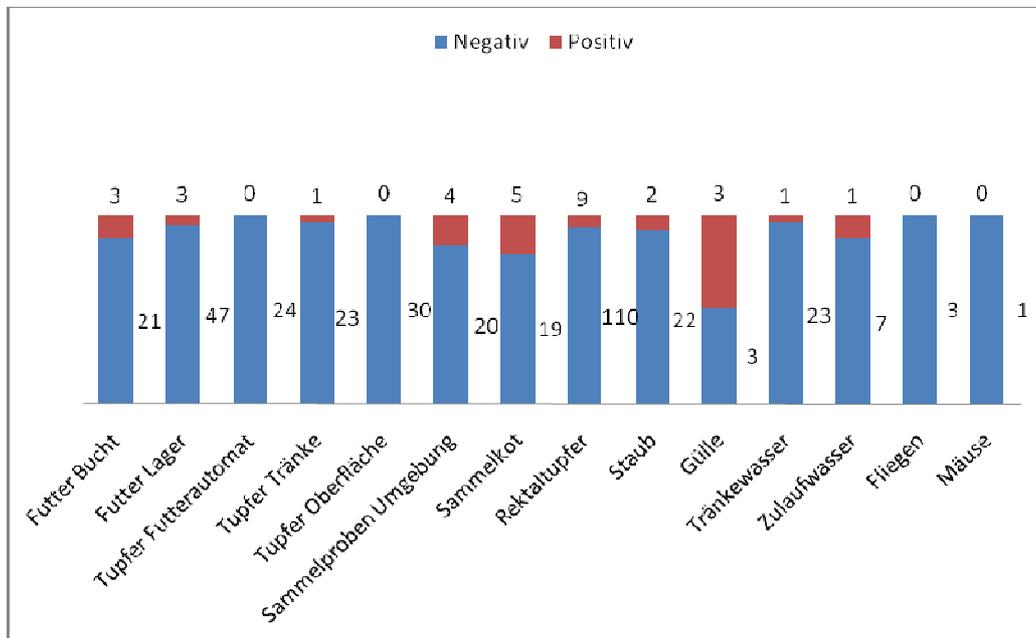


Abb. 32: Vergleich positiver und negativer Ergebnisse von Betrieb II mit Methode IV

Drei von 24 Futterproben aus dem Stall, zehn von fünfzig Futterproben aus dem Lager, drei von 24 Tupferproben der Futterautomaten, eine von 24 Tupferproben der Tränken, vier von 24 Sammelproben aus der Umgebung der Tiere, sieben von 24 Sammelkotproben, elf von 119 Rektaltupfern, zwei von 24 Staubproben, fünf von sechs Gülleproben, zwei von 24 Wasserproben aus den Tränken, eine von acht Wasserproben aus dem Zulauf waren mit Methode V auf Betrieb II positiv auf Salmonellen (Abb. 33).

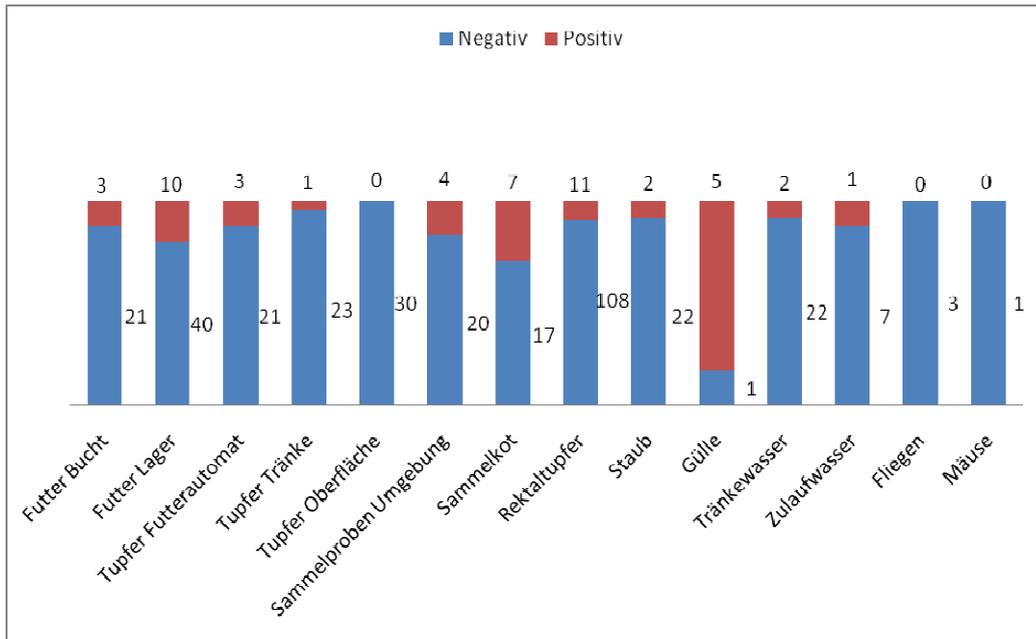


Abb. 33: Vergleich positiver und negativer Ergebnisse von Betrieb II mit Methode V

Bei vier von 30 Futterproben aus dem Stall, neun von 66 Futterproben aus dem Lager, fünf von 31 Tupferproben der Futterautomaten, zwei von 31 Tupferproben der Tränken, drei von 31 Tupferproben der Oberflächen, 13 von 34 Sammelproben aus der Umgebung der Tiere, zehn von dreißig Staubproben, sechs von 31 Wasserproben aus den Tränken, eine von sieben Wasserproben aus dem Zulauf und eine von vier Proben der Fliegen wurden in Betrieb III mit Methode IV positive Befunde im Bezug auf Salmonellen erzielt (Abb. 34).

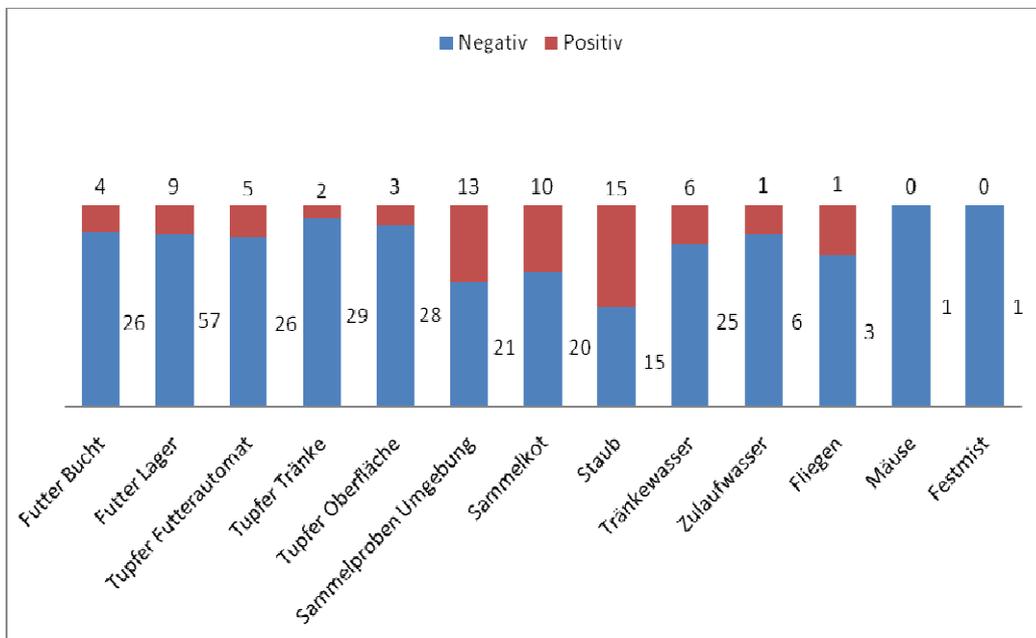


Abb. 34: Vergleich positiver und negativer Ergebnisse von Betrieb III mit Methode IV

Die Salmonella-positiven Befunde von Betrieb III mit Methode V stellen sich aus sieben von 30 Futterproben aus dem Stall, 14 von 66 Futterproben aus dem Lager, acht von 31 Tupferproben der Futterautomaten, fünf von 31 Tupferproben der Tränken, sechs von 31 Tupferproben der Oberflächen, 15 von 34 Sammelproben aus der Umgebung, elf von 30 Sammelkotproben, 15 von 30 Staubproben, acht von 31 Wasserproben aus den Tränken, zwei von sieben Wasserproben aus dem Zulauf und einer von vier Proben der Fliegen zusammen (Abb. 35).

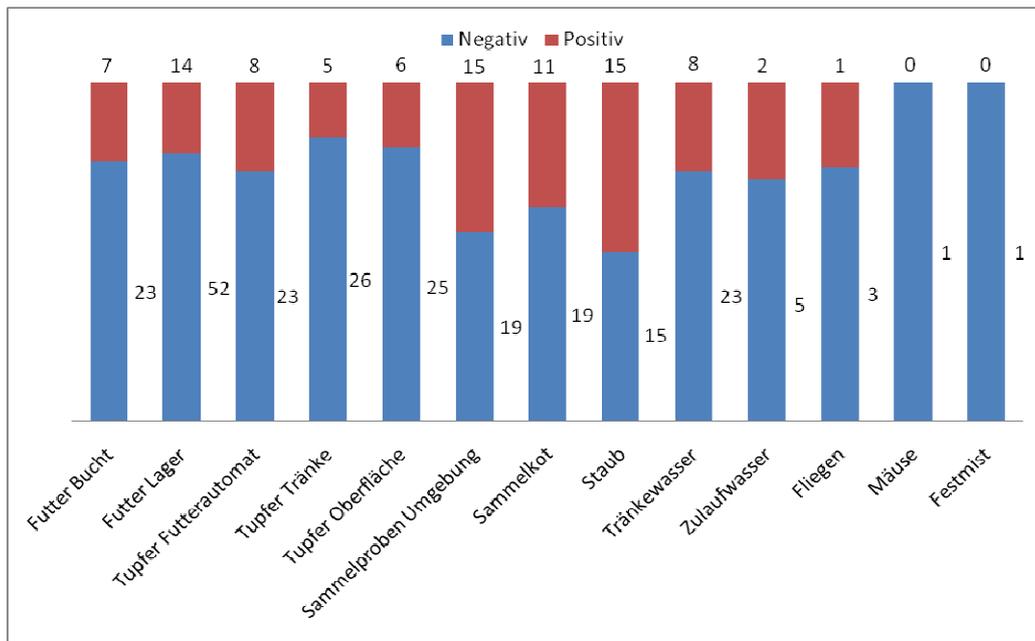


Abb. 35: Vergleich positiver und negativer Ergebnisse von Betrieb III mit Methode V

Mit Methode IV konnten aus Betrieb IV sieben von 29 Futterproben aus dem Stall, elf von 59 Futterproben aus dem Lager, zwei von 29 Tupferproben der Futterautomaten, drei von 29 Tupferproben der Tränken, eine von 29 Tupferproben der Oberflächen, zwölf von 121 Sammelkotproben, zwanzig von 150 Rektaltupfern, fünf von 26 Staubproben, vier von fünf Gülleproben und fünf von 28 Wasserproben aus den Tränken als Salmonellen-positiv ermittelt werden (Abb. 36).

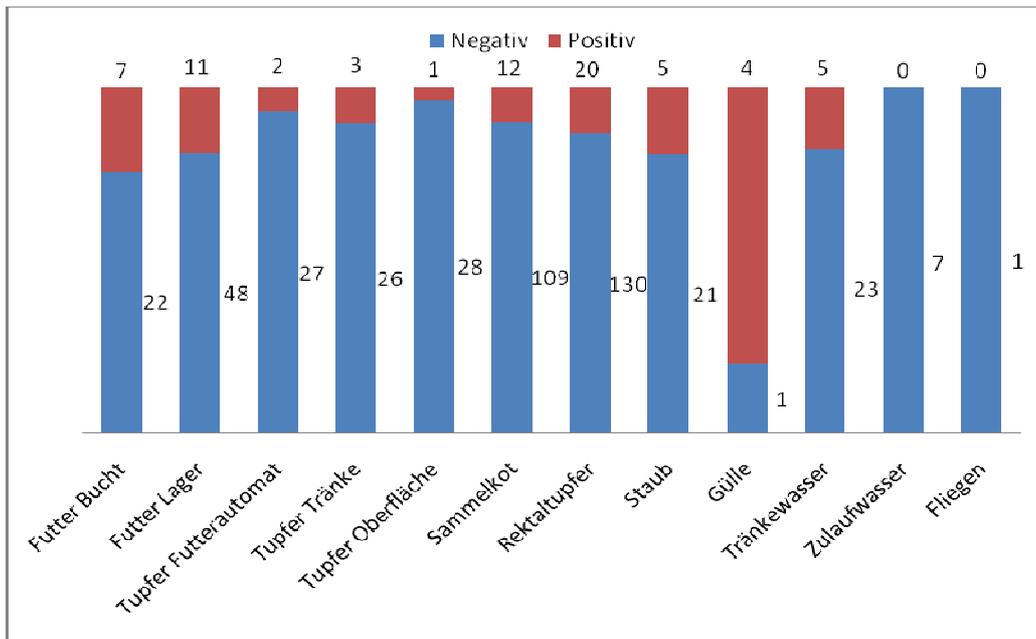


Abb. 36: Vergleich positiver und negativer Ergebnisse von Betrieb IV mit Methode IV

Bei neun von 29 Futterproben aus dem Stall, 16 von 59 Futterproben aus dem Lager, drei von 29 Tupferproben der Futterautomaten, sechs von 29 Tupferproben der Tränken, einer von 29 Tupferproben der Oberflächen, 21 von 121 Sammelkotproben, dreißig von 150 Rektaltupfern, neun von 26 Staubproben, vier von fünf Gülleproben und sieben von 28 Wasserproben aus den Tränken konnten mit Methode V von Betrieb IV Salmonellen isoliert werden (Abb. 37).

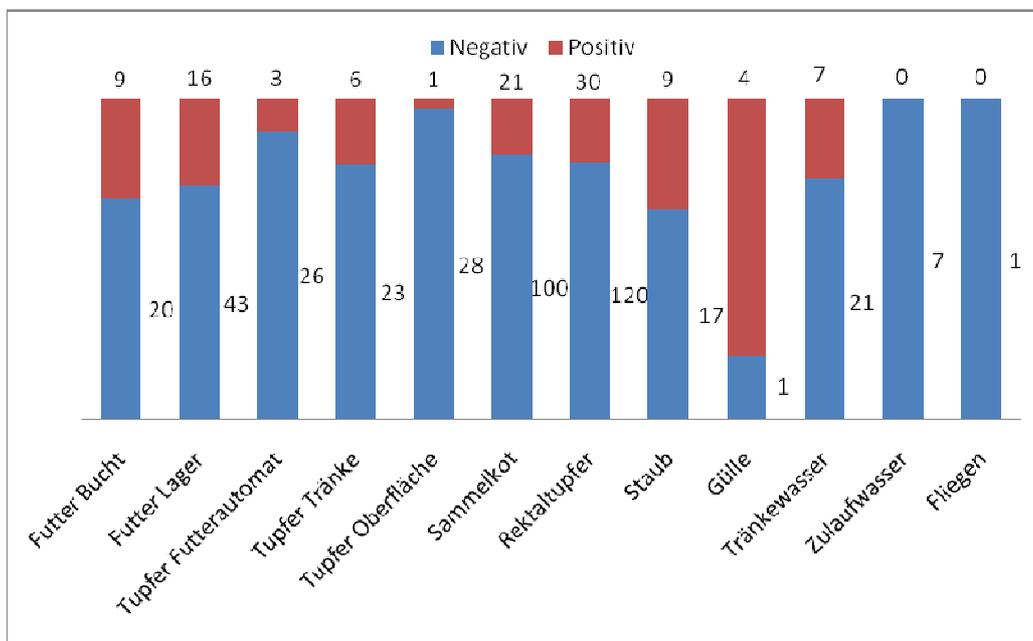


Abb. 37: Vergleich positiver und negativer Ergebnisse von Betrieb IV mit Methode V

4.2 Vergleichende Ergebnisse aller Proben aus den Langzeituntersuchungen im Zusammenhang mit den angewandten Nachweisverfahren

Die erzielten positiven Ergebnisse aus allen Proben der Langzeituntersuchungen mit Methode I stellen sich aus sechs (5,6 %) von 107 Futterproben aus den Buchten, fünf (2,8 %) von 179 Futterproben aus dem Lager, zwei (1,9 %) von 107 Tupferproben der Futterautomaten, eins (ca. 1 %) von 102 Tupferproben der Tränken, eins (0,9 %) von 116 Tupferproben der Oberflächen, sieben (8,5 %) von 82 Sammelproben aus der Umgebung der Tiere, sechs (3 %) von 199 Sammelkotproben, zwei (0,5 %) von 417 Rektaltupfern, vier (4 %) von 100 Staubproben, sieben (39 %) von 18 Gülleproben, eins (0,9 %) von 106 Tränkewasserproben, eins (10 %) von 10 Proben der Fliegen zusammen (siehe Abbildung 38).

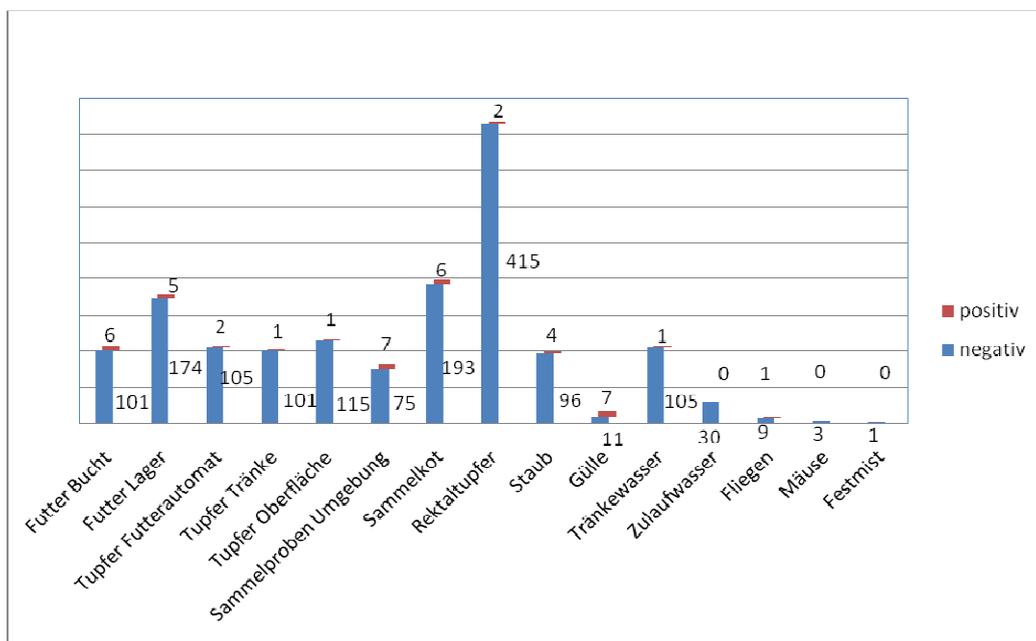


Abb. 38: Vergleich positiver und negativer Ergebnisse aller Proben der Langzeituntersuchungen mit Methode I

Die erzielten positiven Ergebnisse aus allen Proben der Langzeituntersuchungen mit Methode II stellen sich aus vier (3,7 %) von 107 Futterproben aus den Buchten, vier (3,7 %) von 107 Tupferproben der Futterautomaten, zwei (1,9 %) von 102 Tupferproben der Tränken, eins (0,9 %) von 116 Tupferproben der Oberflächen, sechs (7,3 %) von 82 Sammelproben aus der Umgebung der Tiere, sieben (3,5 %) von 199 Sammelkotproben, fünf (1,2 %) von 417 Rektaltupfern, sieben (7 %) von 100 Staubproben, vier (22 %) von 18 Gülleproben, drei (2,8 %) von 106 Tränkewasserproben, eins (10 %) von 10 Proben der Fliegen zusammen (siehe Abbildung 39).

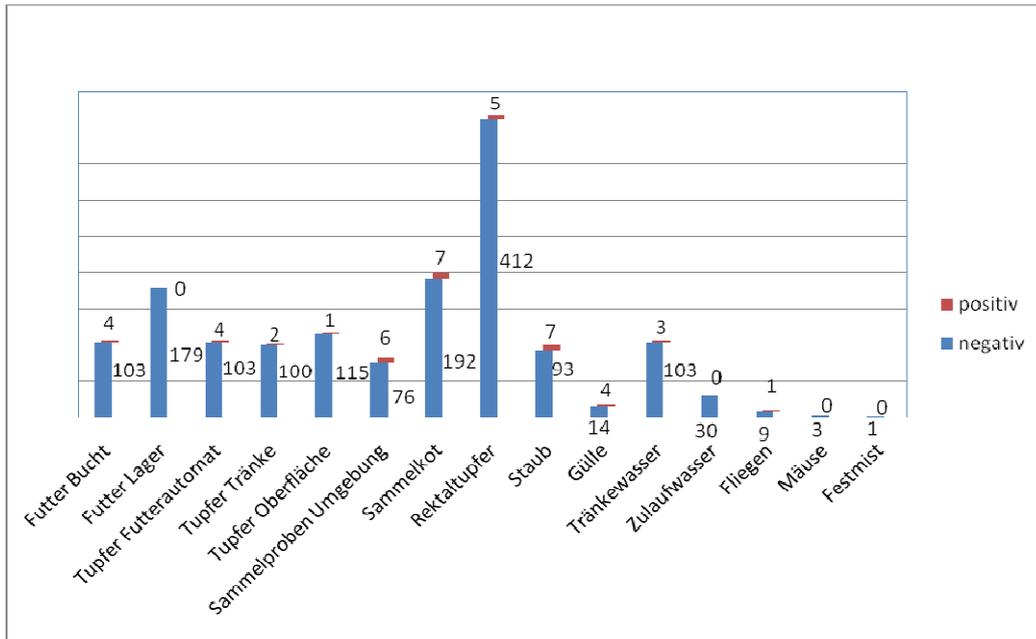


Abb. 39: Vergleich positiver und negativer Ergebnisse aller Proben der Langzeituntersuchungen mit Methode II

Die erzielten positiven Ergebnisse aus allen Proben der Langzeituntersuchungen mit Methode III stellen sich aus neun (8,4 %) von 107 Futterproben aus den Buchten, fünf (2,8 %) von 179 Futterproben aus dem Lager, drei (2,8 %) von 107 Tupferproben der Futterautomaten, zwei (ca. 1,9 %) von 102 Tupferproben der Tränken, eins (0,9 %) von 116 Tupferproben der Oberflächen, 13 (16 %) von 82 Sammelproben aus der Umgebung der Tiere, zehn (5 %) von 199 Sammelkotproben, fünf (1,2 %) von 417 Rektaltupfern, 14 (14 %) von 100 Staubproben, zehn (55 %) von 18 Gülleproben, zwei (1,9 %) von 106 Tränkwasserproben zusammen (siehe Abbildung 40).

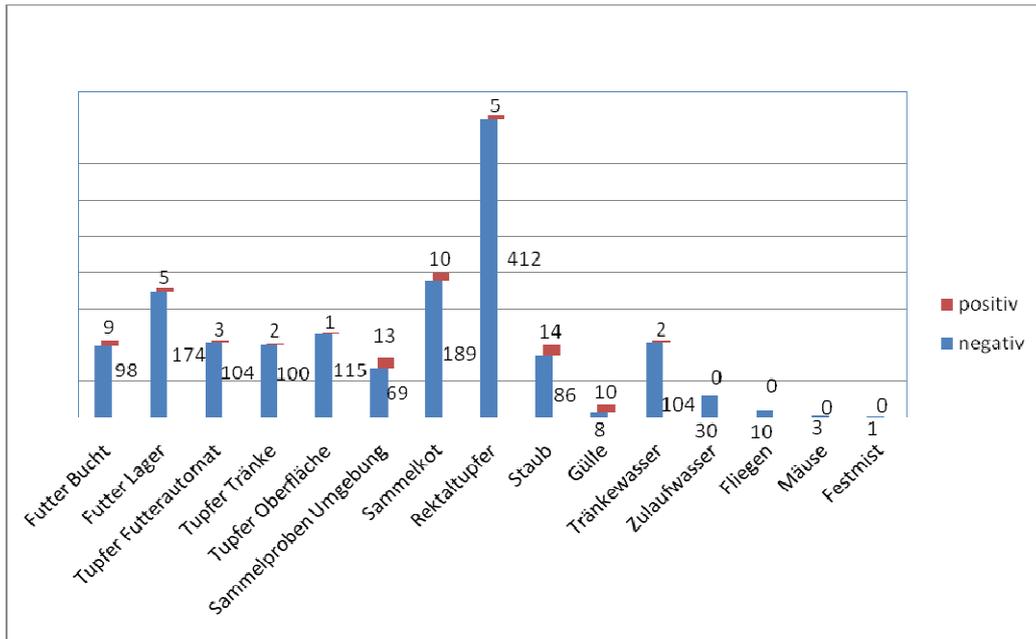


Abb. 40: Vergleich positiver und negativer Ergebnisse aller Proben der Langzeituntersuchungen mit Methode III

Die erzielten positiven Ergebnisse aus allen Proben der Langzeituntersuchungen mit Methode IV stellen sich aus 22 (20 %) von 107 Futterproben aus den Buchten, 24 (13 %) von 179 Futterproben aus dem Lager, neun (8,4 %) von 107 Tupferproben der Futterautomaten, neun (8,8 %) von 102 Tupferproben der Tränken, fünf (4,3 %) von 116 Tupferproben der Oberflächen, 26 (31,7 %) von 82 Sammelproben aus der Umgebung der Tiere, 38 (19 %) von 199 Sammelkotproben, 60 (14,4 %) von 417 Rektaltupfern, 28 (28 %) von 100 Staubproben, zwölf (66,7 %) von 18 Gülleproben, 14 (13,2 %) von 106 Tränkwasserproben, vier (13,3 %) von 30 Zulaufwasserproben und eins (10 %) von 10 Proben der Fliegen zusammen (siehe Abbildung 41).

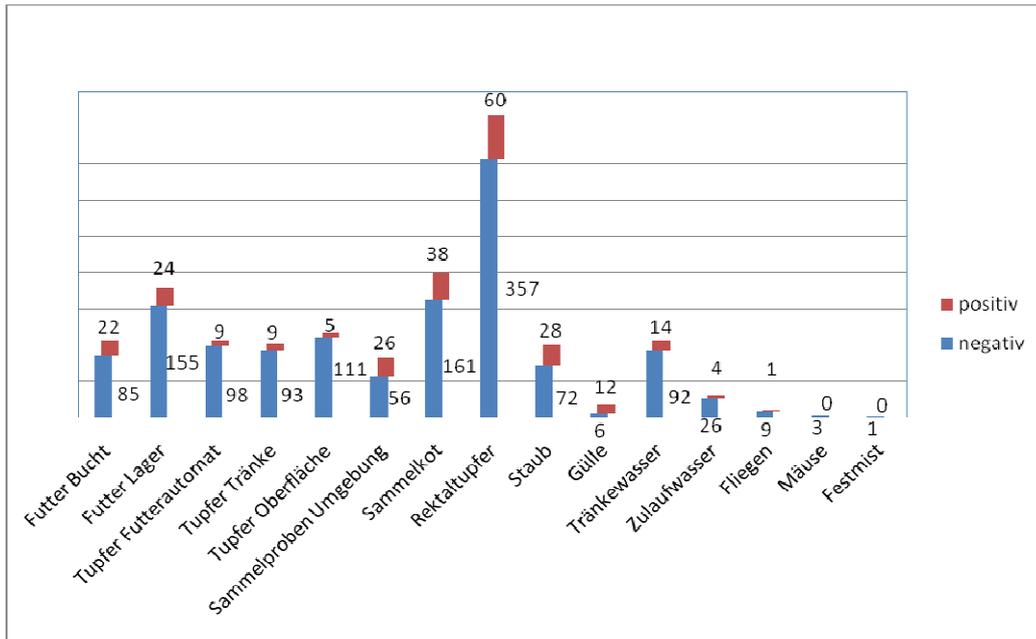


Abb. 41: Vergleich positiver und negativer Ergebnisse aller Proben der Langzeituntersuchungen mit Methode IV

Die erzielten positiven Ergebnisse aus allen Proben der Langzeituntersuchungen mit Methode V stellen sich aus 27 (25,2 %) von 107 Futterproben aus dem Stall, 42 (23,5 %) von 179 Futterproben aus dem Lager, 17 (15,9 %) von 107 Tupferproben der Futtermat, 16 (15,7 %) von 102 Tupferproben der Tränken, neun (7,76 %) von 116 Tupferproben der Oberflächen, 28 (34,1 %) von 82 Sammelproben aus der Umgebung der Tiere, 51 (42,9 %) von 199 Sammelkotproben, 88 (21,1 %) von 417 Rektaltupfern, 34 (34 %) von hundert Staubproben, 14 (77,8 %) von 18 Gülleproben, zwanzig (18,9 %) von 106 Wasserproben aus den Tränken, fünf (16,7 %) von 30 Wasserproben vom Zulauf und zwei (20 %) von zehn Proben der Fliegen zusammen (siehe Abbildung 42).

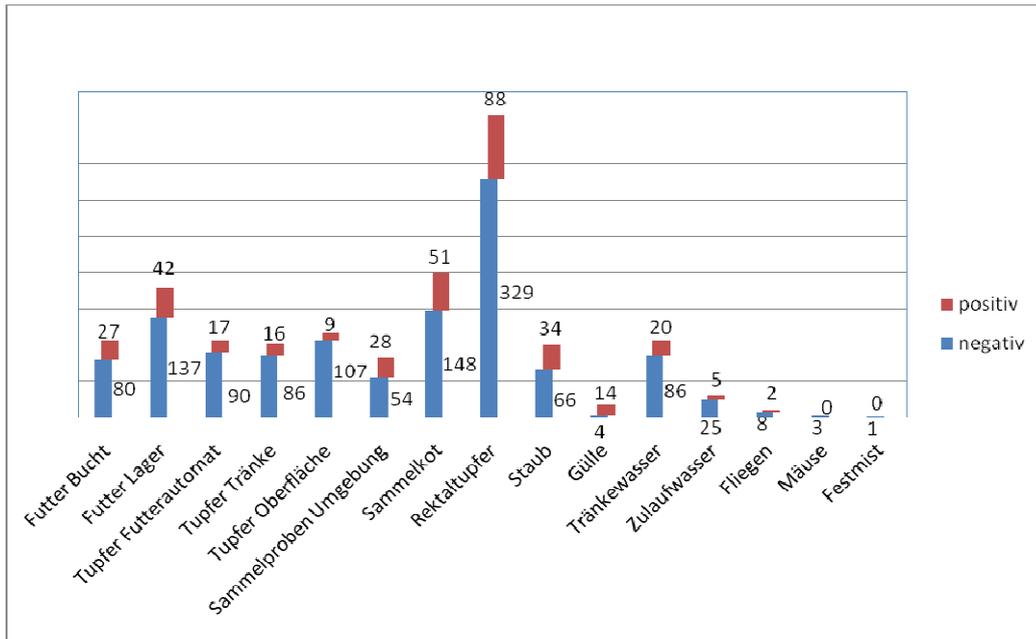


Abb. 42: Vergleich positiver und negativer Ergebnisse aller Proben der Langzeituntersuchungen mit Methode V

4.3 Statistik: Sensitivität der in den Langzeituntersuchungen angewandten Nachweisverfahren

Zur Ermittlung der sensitivsten Nachweismethoden wurden die Ergebnisse der kulturellen Nachweismethoden und der Real-Time PCR gesondert betrachtet. Dabei wurden die meisten kulturell positiven Ergebnisse mit Methode III erzielt. Wenn die positiven und negativen Ergebnisse der drei kulturellen Methoden ins Verhältnis zueinander gesetzt werden stellt sich heraus, dass Methode I mit einer Sensitivität von **64 %** und Methode II mit **62 %** im Gegensatz zu Methode III deutlich weniger positive Ergebnisse nachweisen konnten. Folglich zeigen diese Ergebnisse, dass Methode III die sensitivste kulturelle Nachweismethode in den Langzeituntersuchungen ist. Bei der Ermittlung der sensitivsten Real-Time PCR Methode stellte sich heraus, dass Methode IV nur eine Sensitivität von **77 %** im Gegensatz zur Methode V aufweisen konnte. Aus den vorliegenden Ergebnissen geht eindeutig hervor, dass unter den beiden Real-Time PCR-Verfahren Methode V die sensitivste Real-Time PCR-Methode der Langzeituntersuchungen ist.

4.4 Ergebnisse der Querschnittsuntersuchungen mit Methode V

Die Ergebnisse der Querschnittsuntersuchungen bestätigen die ausgewählten Probennahmeorte und die Methode V. Abbildung 43 - 50 zeigen die positiven und negativen Ergebnisse der Betriebe Q1 - Q8. Dabei ist auffällig, dass bei guter Qualitätskontrolle und Hygienemanagement weniger positive Ergebnisse erzielt werden konnten als bei Defiziten in der Qualitätskontrolle sowie deren Hygienemanagement. Dies trifft insbesondere bei Betrieb Q5 und Q6 zu (Abb. 47 und 48).

Bei nur einer von fünf Wasserproben der Tränken konnten mit Methode V Salmonellen auf Betrieb Q1 nachgewiesen werden (Abb. 43). In den folgenden Abbildungen werden bei den verschiedenen Probenarten die positiven und negativen Ergebnisse in Relation zur Gesamtzahl dargestellt, insofern wurde je Probenart eine einheitliche Balkenhöhe gewählt.

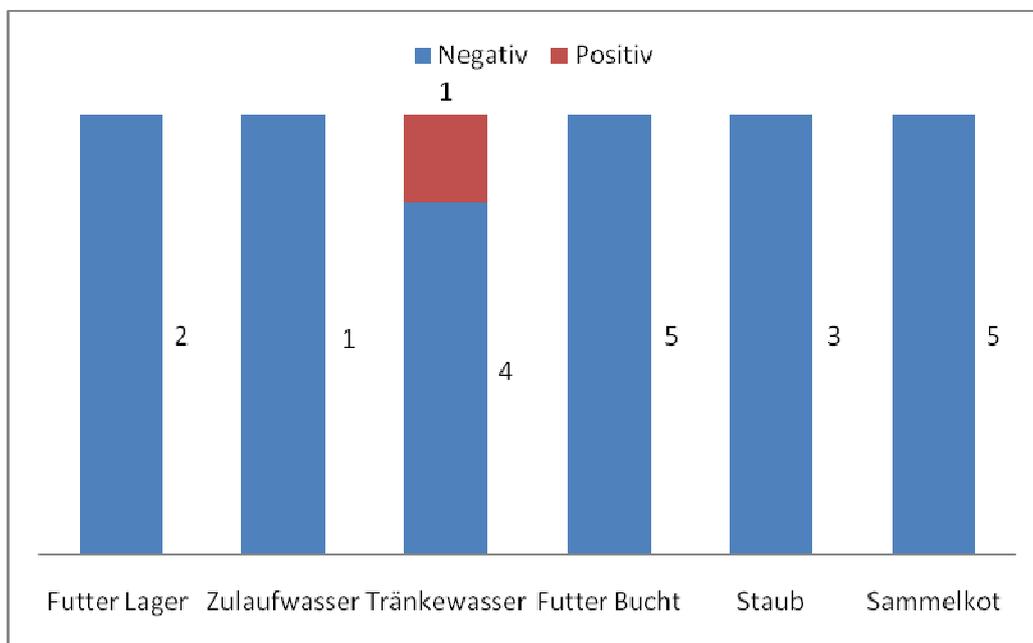


Abb. 43: Vergleich positiver und negativer Ergebnisse von Betrieb Q1 mit Methode V

Bei keiner Probe von Betrieb Q2 konnte mit Methode V Salmonellen nachgewiesen werden (Abb. 44).

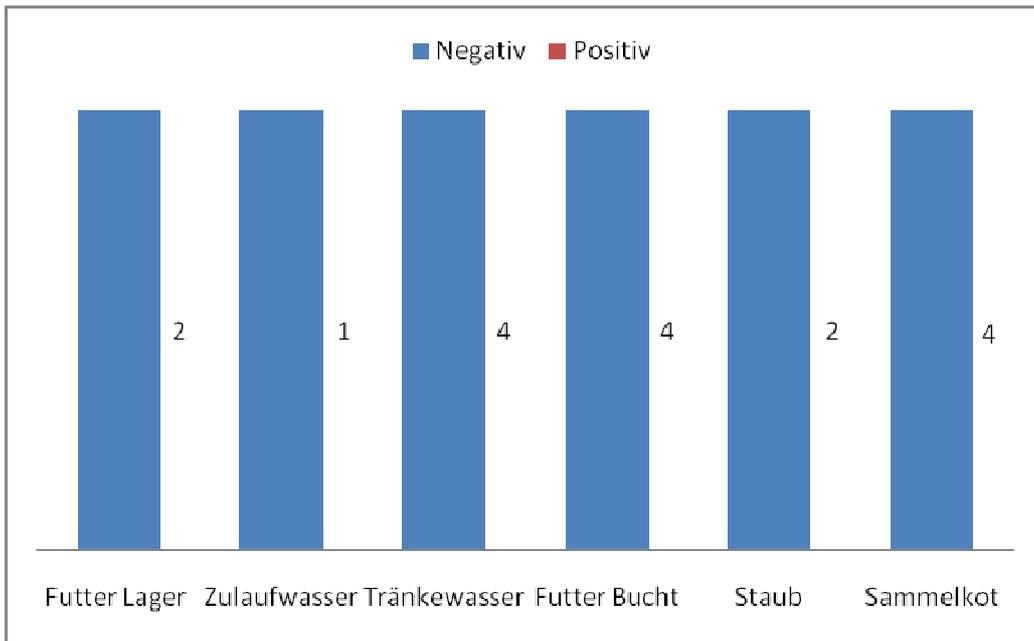


Abb. 44: Vergleich positiver und negativer Ergebnisse von Betrieb Q2 mit Methode V

Die Untersuchungsergebnisse der Proben von Betrieb Q3 zeigten, dass nur eine von acht Futtermittelproben aus dem Stall mit Methode V positiv waren (Abb. 45).

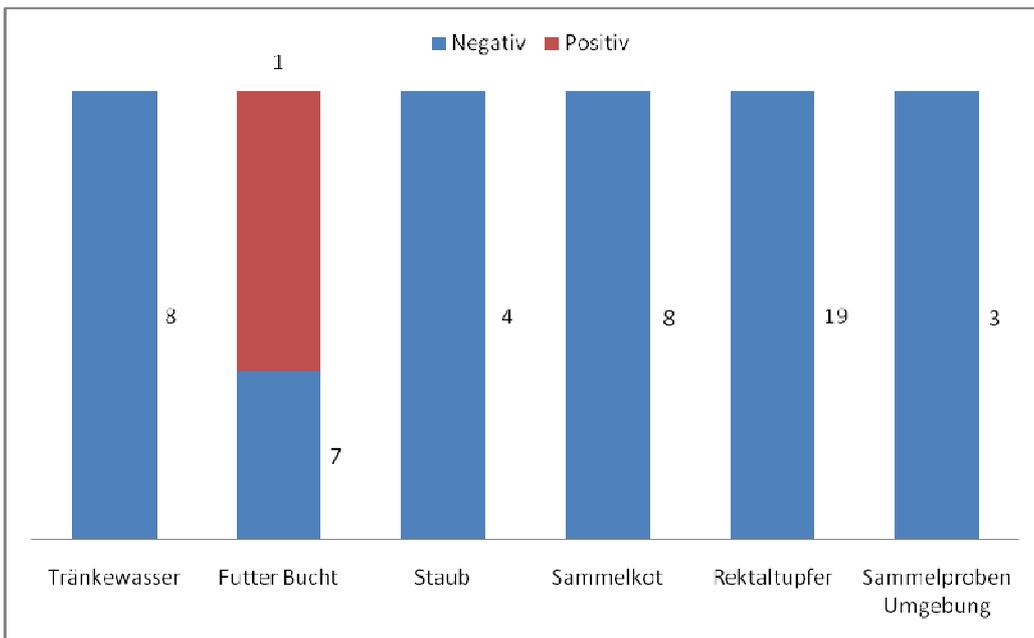


Abb. 45: Vergleich positiver und negativer Ergebnisse von Betrieb Q3 mit Methode V

Mit Methode V konnten bei einer von fünf Sammelkotproben aus Betrieb Q4 Salmonellen ermittelt werden (Abb. 46).

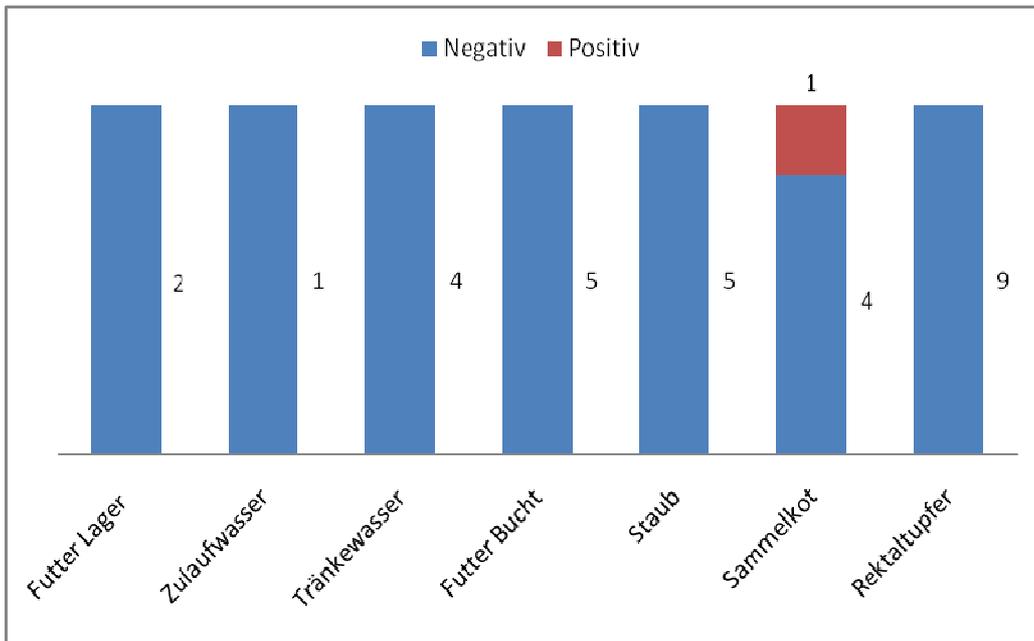


Abb. 46: Vergleich positiver und negativer Ergebnisse von Betrieb Q4 mit Methode V

Die Untersuchungen mit Methode V von Proben des Betriebes Q5 ergaben, dass zwei von fünf Wasserproben aus den Tränken, zwei von fünf Futtermittelproben aus dem Stall, alle zwei Staubproben, zwei von fünf Sammelkotproben und zwei von vier Sammelproben aus der Umgebung der Tiere Salmonella-positiv waren (Abb. 47).

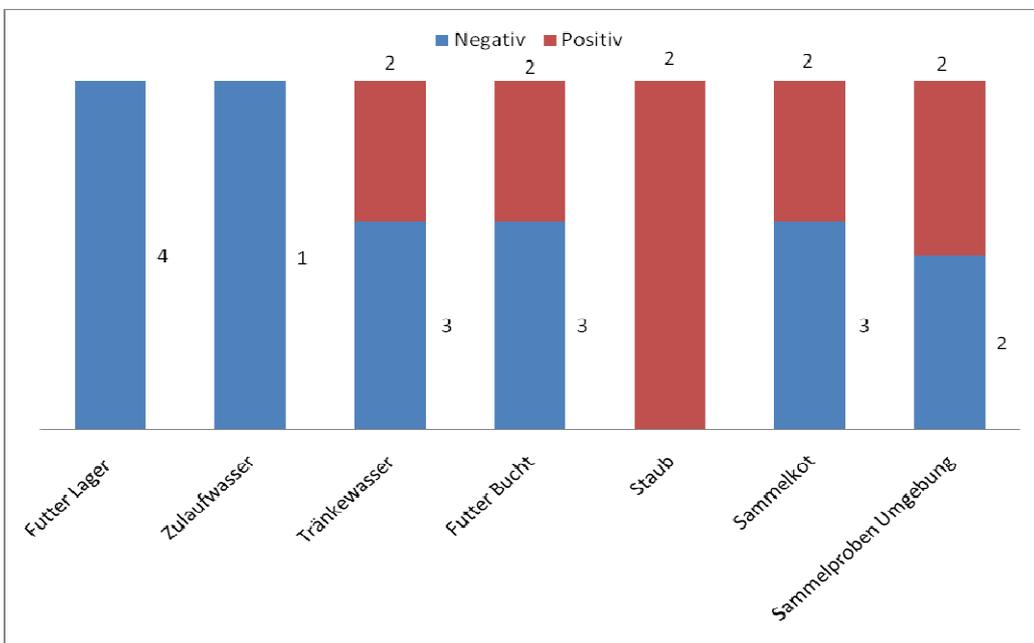


Abb. 47: Vergleich positiver und negativer Ergebnisse von Betrieb Q5 mit Methode V

Bei einer von drei Futtermittelproben aus dem Lager, einer von vier Wasserproben der Tränken, einer von vier Futtermittelproben aus dem Stall, eine von vier Staubproben, zwei von vier Sammelkotproben und einer von einer Sammelproben aus der Umgebung der Tiere

von Betrieb Q6 konnten mit Methode V positive Salmonellen-Befunde ermittelt werden (Abb. 48).

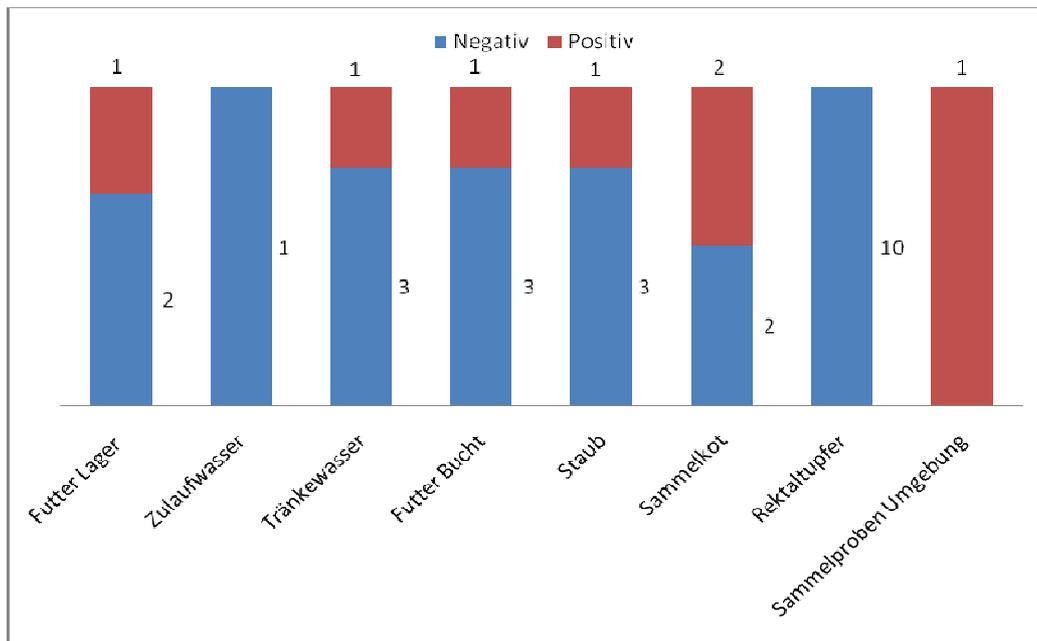


Abb. 48: Vergleich positiver und negativer Ergebnisse von Betrieb Q6 mit Methode V

Mit Methode V konnte von Betrieb Q7 nur eine von zehn Rektaltupfern als Salmonellen-positiv identifiziert werden (Abb. 49).

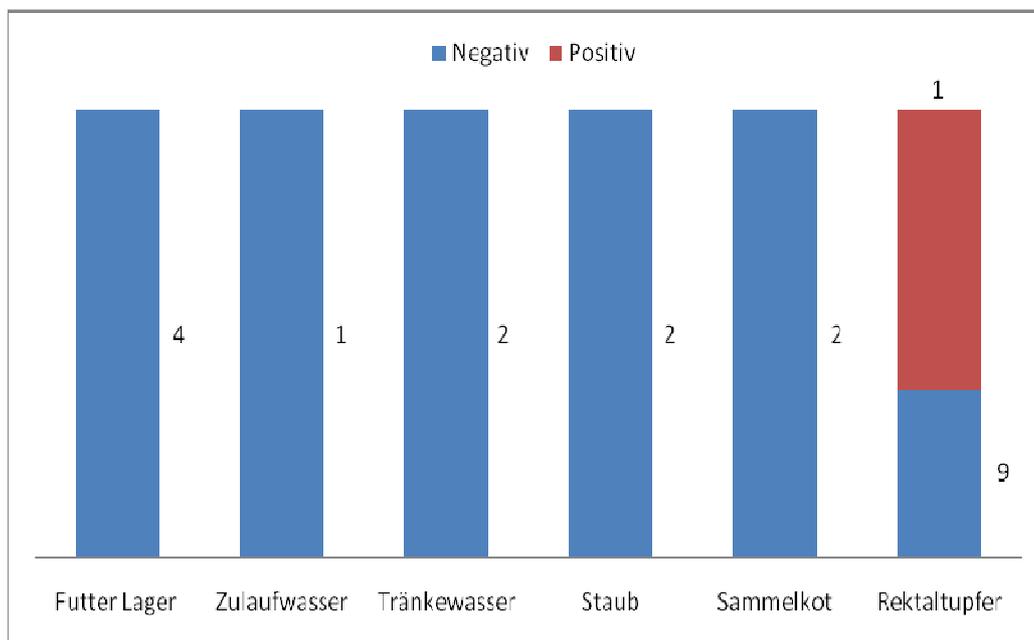


Abb.49: Vergleich positiver und negativer Ergebnisse von Betrieb Q7 mit Methode V

Aus keiner Probe von Betrieb Q8 konnte ein Salmonellen-positives Ergebnis erzielt werden (Abb. 50).

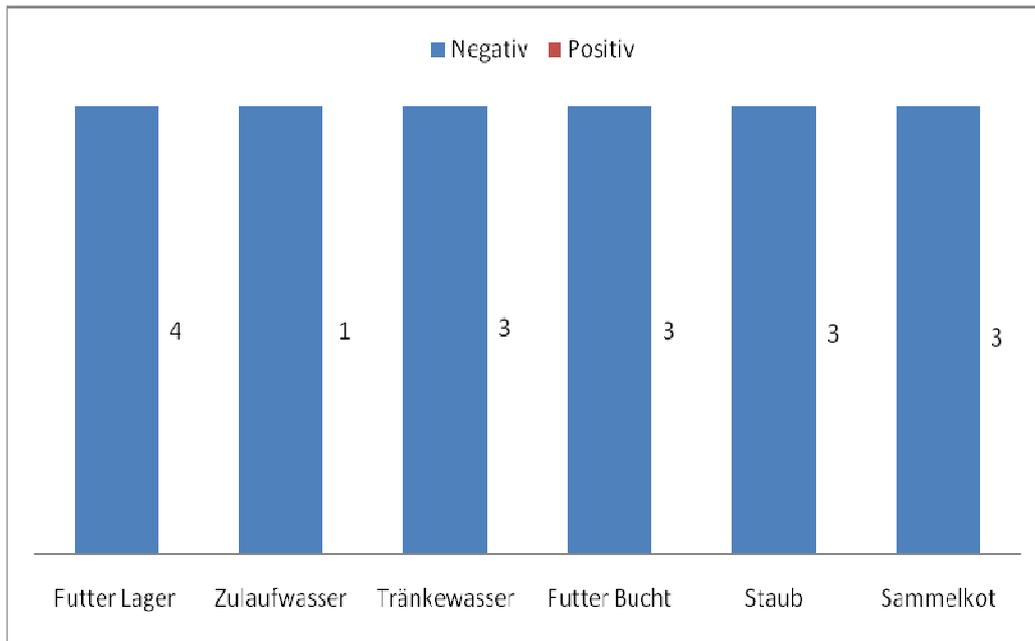


Abb. 50: Vergleich positiver und negativer Ergebnisse von Betrieb Q8 mit Methode V

4.5 Ergebnisse der Querschnittsuntersuchungen mit Methode III

Aus den Betrieben Q1-Q8 der Querschnittsuntersuchungen konnten nur aus Betrieb Q5 und Betrieb Q6 Salmonellen mittels Methode III kulturell isoliert werden. Die Ergebnisse der zwei Betriebe stellen sich wie folgt dar:

Mit Methode III wurden aus einer von fünf Wasserproben der Tränken, sowie einer von fünf Sammelkotproben von Betrieb Q5 Salmonellen isoliert (Abb. 51). In den folgenden Abbildungen werden bei den verschiedenen Probenarten die positiven und negativen Ergebnisse in Relation zur Gesamtzahl dargestellt, insofern wurde je Probenart eine einheitliche Balkenhöhe gewählt.

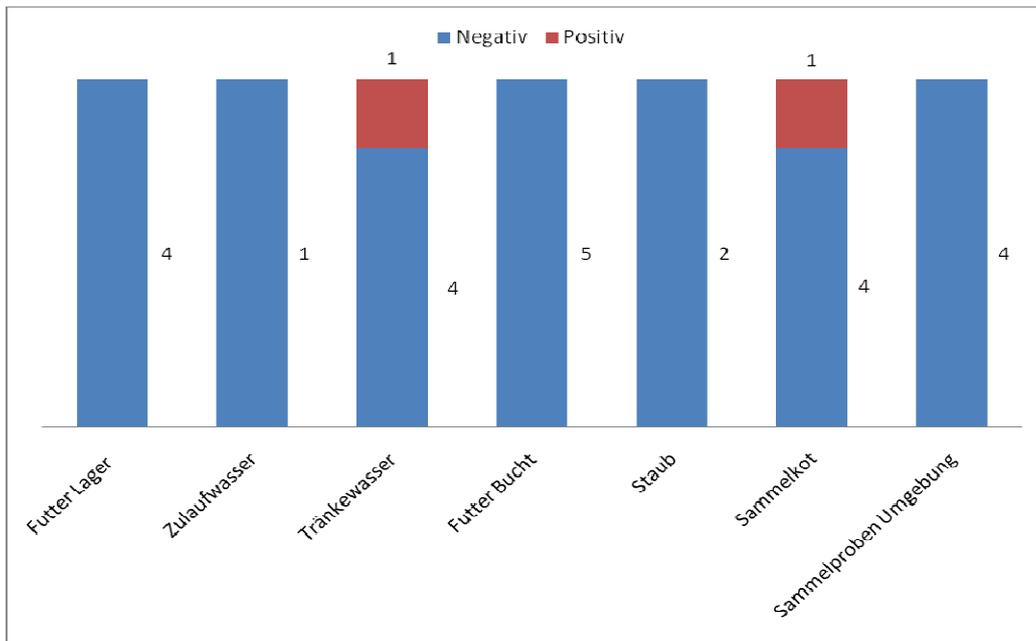


Abb. 51: Vergleich positiver und negativer Ergebnisse von Betrieb Q5 mit Methode III

Von Betrieb Q6 konnten mit Methode III aus einer von vier Futtermittelproben aus den Buchten, einer von vier Staubproben, zwei von vier Sammelkotproben und aus einer Sammelprobe aus der Umgebung der Tiere Salmonellen isoliert werden (Abb. 52).

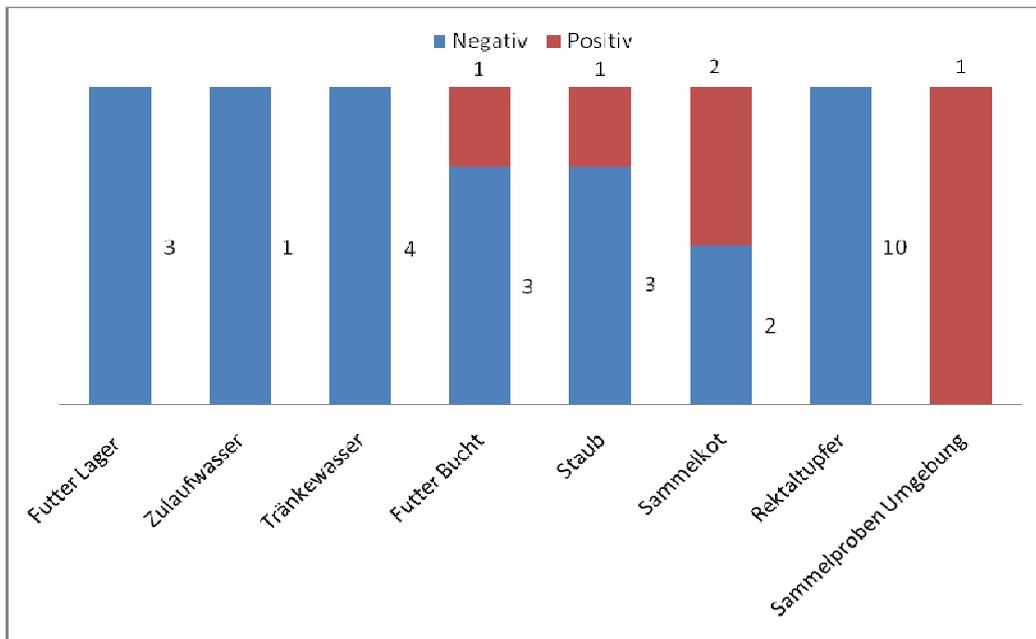


Abb. 52: Vergleich positiver und negativer Ergebnisse von Betrieb Q6 mit Methode III

4.6 Ergebnisse der Schlachthofuntersuchungen

Während der Langzeituntersuchungen konnten aus den Betrieben I-IV immer wieder Salmonellen mittels Methode V nachgewiesen werden. Die Untersuchungen von Schlachtschweinen auf dem Schlachthof machten deutlich, dass aus Proben vor und nach der Schlachtung ebenfalls DNA von Salmonellen nachgewiesen werden konnte (Abb. 53-56). Laut der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach §64 des Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuches (LFGB) müssen PCR-positive Ergebnisse von Lebensmitteln kulturell bestätigt werden. Nach kultureller Bestätigung wird die Probe als positiv angesehen. Dieses trifft in den vorliegenden Ergebnissen nicht zu, jedoch konnten DNA-Spuren von Salmonellen nachgewiesen werden.

Bei den Schlachthofuntersuchungen von Betrieb I konnten bei zwei von zehn Tupferproben vom Schweinekörper vor der Schlachtung, sowie bei einer von neun Tupfern der Schweinehälften nach der Schlachtung Salmonellen mittels Methode V nachgewiesen werden (Abb. 53). In den folgenden Abbildungen werden bei den verschiedenen Probenarten die positiven und negativen Ergebnisse in Relation zur Gesamtzahl dargestellt, insofern wurde je Probenart eine einheitliche Balkenhöhe gewählt.

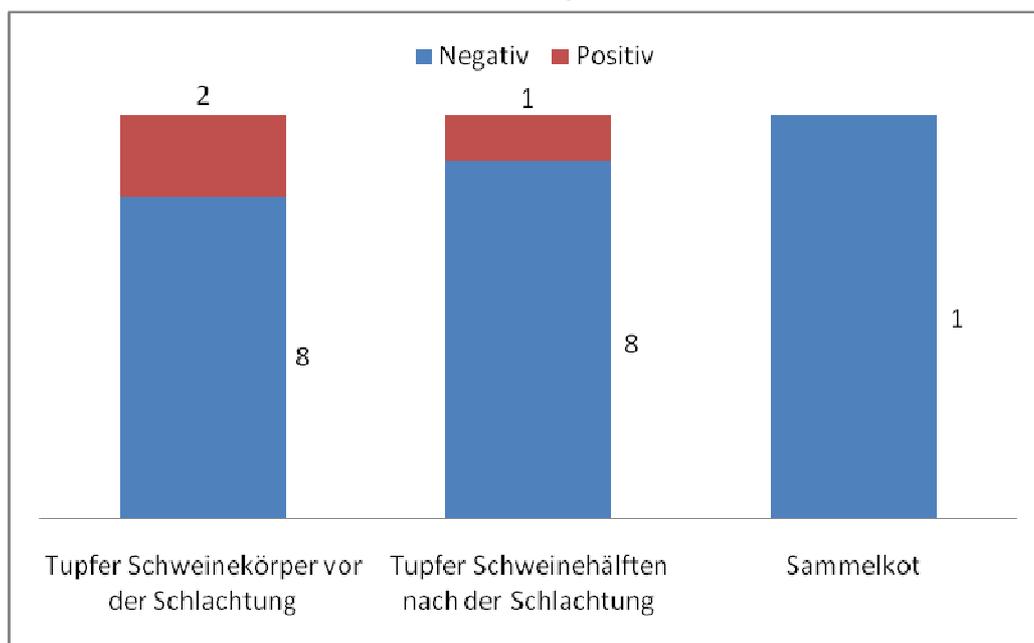


Abb. 53: Vergleich PCR-positiver und -negativer Ergebnisse der Schlachthofproben von Betrieb I

Bei zwei von zehn Tupfern der Schweinekörper vor der Schlachtung konnten ebenfalls positive Salmonellen-Befunde von Betrieb II erzielt werden (Abb. 54).

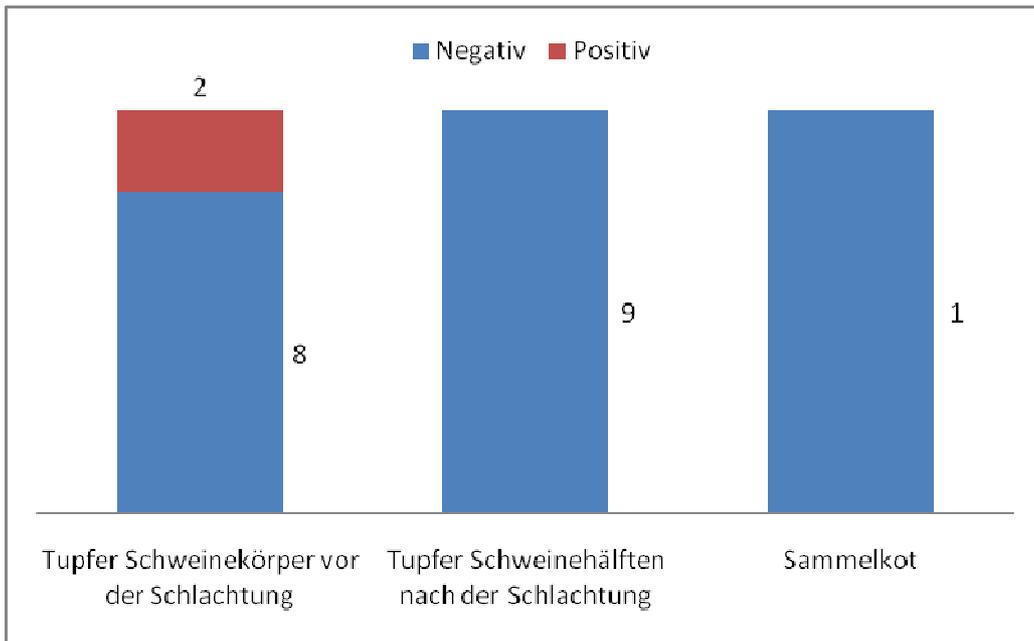


Abb. 54: Vergleich PCR-positiver und -negativer Ergebnisse der Schlachthofproben von Betrieb II

Zwei von zehn Tupfern der Schweinekörper vor der Schlachtung, zwei von zehn Tupfern der Schweinehälften nach der Schlachtung sowie bei einer von einer Sammelkotproben konnten mit derselben Methode Salmonellen von Betrieb III nachgewiesen werden (Abb. 55).

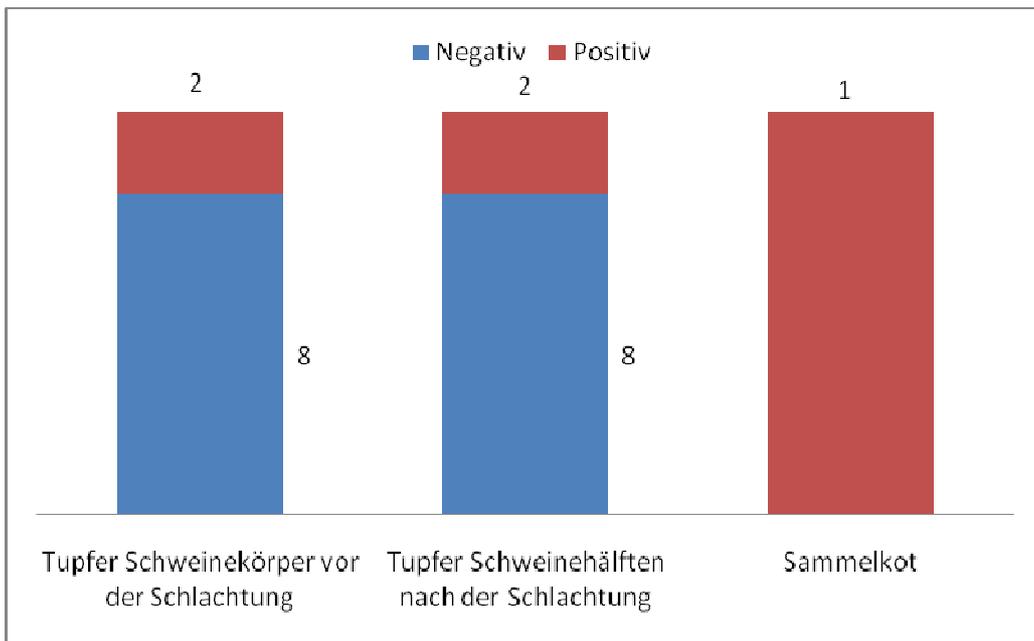


Abb. 55: Vergleich PCR-positiver und -negativer Ergebnisse der Schlachthofproben von Betrieb III

Mittels Methode V konnten nur bei einer von zehn Tupferproben der Schweinekörper vor der Schlachtung Salmonellen von Betrieb IV ermittelt werden (Abb. 56).

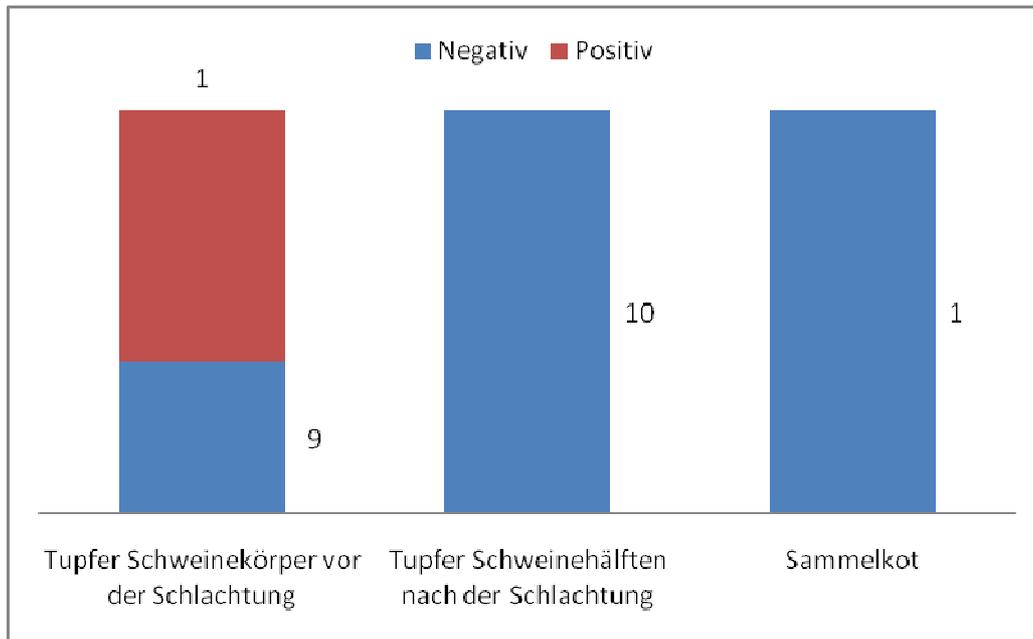


Abb. 56: Vergleich PCR-positiver und -negativer Ergebnisse der Schlachthofproben von Betrieb IV

4.7 Isolierte Salmonellen-Serovare und die jeweiligen Ergebnisse der Empfindlichkeitsprüfung gegen ausgewählte Chemotherapeutika

Die mit den kulturellen Nachweisverfahren Methode I - III aus den vier Betrieben der Langzeituntersuchungen isolierten Salmonellen-Serovare und deren Empfindlichkeit gegen ausgesuchte Antibiotika sind aus der Tabelle 11 - 23 ersichtlich.

Tabelle 11: Mit Methode I aus Betrieb I der Langzeituntersuchungen isolierte *Salmonella*-Serovare und die Bewertungsstufen der Empfindlichkeit gegen ausgewählte Chemotherapeutika

BETRIEB I mit METHODE I									
Probennummer	Isolate	AMOX	APRA	COL	ENRO	FLOR	GEN	NEO	TET
113	<i>S. mbandaka</i>	I	R	S	S	S	R	R	R
1116	<i>S. give</i>	R	R	R	S	S	R	R	I
1122	<i>S. typhimurium</i>	I	R	R	S	S	I	S	I
1134	<i>S. monophas.B-Stamm; O4, 5:i:-</i>	R	R	I	S	S	R	R	R
1218	<i>S. jerusalem</i>	R	R	R	S	S	R	S	I
1243	<i>S. give</i>	R	R	R	S	S	R	S	I
1330	<i>S. give</i>	R	R	R	S	S	R	R	I
1438	<i>S. typhimurium</i>	R	R	I	S	S	R	R	R
1710	<i>S. typhimurium</i>	R	S	S	S	R	R	S	R

Tabelle 12: Mit Methode I aus Betrieb II der Langzeituntersuchungen isolierte *Salmonella*-Serovare und die Bewertungsstufen der Empfindlichkeit gegen ausgewählte Chemotherapeutika

BETRIEB II mit METHODE I									
Probennummer	Isolate	AMOX	APRA	COL	ENRO	FLOR	GEN	NEO	TET
214	<i>S. agona</i>	R	R	I	S	S	R	S	I
2247	<i>S. agona</i>	R	R	I	S	S	I	S	I
2352	<i>S. senftenberg</i>	R	R	I	S	S	R	R	I
2353	<i>S. senftenberg</i>	R	R	R	S	S	R	R	R
2543	<i>S. typhimurium</i>	R	R	R	S	R	R	R	R
2833	<i>S. typhimurium</i>	R	R	R	S	S	R	S	R
2836	<i>S. typhimurium</i>	R	R	R	S	S	R	R	R

Tabelle 13: Mit Methode I aus Betrieb III der Langzeituntersuchungen isolierte *Salmonella*-Serovare und die Bewertungsstufen der Empfindlichkeit gegen ausgewählte Chemotherapeutika

BETRIEB III mit METHODE I									
Probennummer	Isolate	AMOX	APRA	COL	ENRO	FLOR	GEN	NEO	TET
337	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	S	R	R	R
338	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	S	R	R	I
3117	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	S	R	R	I
3120	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	S	R	R	I
3228	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	S	R	R	I
3329	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	S	R	R	I
3330	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	S	R	R	R
3331	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	S	R	R	R
3521	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	S	R	R	R
3525	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	S	R	R	R
3527	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	I	S	S	R	R	R
3717	<i>S. schwarzengrund</i>	R	S	R	S	I	I	R	I
3719	<i>S. schwarzengrund</i>	R	S	I	S	S	I	S	I
3720	<i>S. schwarzengrund</i>	R	S	I	S	S	I	R	R
3721	<i>S. schwarzengrund</i>	R	S	R	S	S	I	S	R
3722	<i>S. schwarzengrund</i>	R	S	I	S	S	I	R	I
3723	<i>S. schwarzengrund</i>	R	S	I	S	2	I	R	S
3724	<i>S. schwarzengrund</i>	R	S	I	S	S	I	R	S
3826	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	S	R	R	R
3827	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	S	R	R	R
3833	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	S	R	R	R
3837	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	S	R	R	R

Tabelle 14: Mit Methode I aus Betrieb IV der Langzeituntersuchungen isolierte *Salmonella*-Serovare und die Bewertungsstufen der Empfindlichkeit gegen ausgewählte Chemotherapeutika

BETRIEB IV mit METHODE I									
Probennummer	Isolate	AMOX	APRA	COL	ENRO	FLOR	GEN	NEO	TET
4149	<i>S. typhimurium</i>	R	R	R	S	R	I	R	R
4178	<i>S. typhimurium</i>	R	R	R	S	R	I	S	R
4544	<i>S. cerro</i>	R	R	R	S	S	R	R	I
4818	<i>S. typhimurium</i>	R	R	R	S	R	R	R	R
4845	<i>S. typhimurium</i>	R	S	R	S	S	R	S	R

Tabelle 15: Mit Methode II aus Betrieb I der Langzeituntersuchungen isolierte *Salmonella*-Serovare und die Bewertungsstufen der Empfindlichkeit gegen ausgewählte Chemotherapeutika

BETRIEB I mit METHODE II									
Probennummer	Isolate	AMOX	APRA	COL	ENRO	FLOR	GEN	NEO	TET
1243	<i>S. give</i>	R	R	I	S	S	R	S	I
1330	<i>S. give</i>	R	R	R	S	S	R	R	I
1438	<i>S. give</i>	R	R	I	S	S	R	R	I
1521	<i>S. monophas.B-Stamm; O4, 5:i:-</i>	R	R	I	S	R	R	S	R
1523	<i>S. typhimurium</i>	R	R	I	S	R	R	R	R
1524	<i>S. typhimurium</i>	R	R	R	S	R	R	R	R
1615	<i>S. typhimurium</i>	R	R	R	S	S	R	R	I
1620	<i>S. typhimurium</i>	R	R	I	S	R	R	R	R
1625	<i>S. typhimurium</i>	R	R	I	S	R	R	R	R
1635	<i>S. typhimurium</i>	R	R	I	S	R	R	R	R
1636	<i>S. typhimurium</i>	R	R	R	S	R	R	R	R
1710	<i>S. typhimurium</i>	R	S	I	S	R	S	R	R

Tabelle 16: Mit Methode II aus Betrieb II der Langzeituntersuchungen isolierte *Salmonella*-Serovare und die Bewertungsstufen der Empfindlichkeit gegen ausgewählte Chemotherapeutika

BETRIEB II mit METHODE II									
Probennummer	Isolate	AMOX	APRA	COL	ENRO	FLOR	GEN	NEO	TET
2247	<i>S. agona</i>	R	R	R	S	I	R	S	I

Tabelle 17: Mit Methode II aus Betrieb III der Langzeituntersuchungen isolierte *Salmonella*-Serovare und die Bewertungsstufen der Empfindlichkeit gegen ausgewählte Chemotherapeutika

BETRIEB III mit METHODE II									
Probennummer	Isolate	AMOX	APRA	COL	ENRO	FLOR	GEN	NEO	TET
3117	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	S	R	R	R
3120	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	S	R	S	I
3213	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	I	S	S	R	R	I
3214	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	S	R	R	I

BETRIEB III mit METHODE II									
Probennummer	Isolate	AMOX	APRA	COL	ENRO	FLOR	GEN	NEO	TET
3223	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	S	R	R	I
3227	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	S	R	R	I
3228	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	S	R	R	I
338	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	S	R	R	I
3325	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	I	R	R	R
3326	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	S	R	R	I
3329	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	S	R	R	I
3330	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	S	R	R	I
3331	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	S	R	R	R
357	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	I	S	I	R	R	R
3521	nicht typisierbar	R	R	R	S	R	R	R	R
3525	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	I	R	R	R
3527	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	I	R	R	R
3617	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	S	R	R	I
3621	<i>S. senftenberg</i>	R	R	R	S	S	R	R	I
3717	<i>S. schwarzengrund</i>	R	S	I	S	S	I	R	I
3719	<i>S. schwarzengrund</i>	R	S	R	S	S	I	R	S
3720	<i>S. schwarzengrund</i>	R	S	I	S	2	I	R	S
3721	<i>S. schwarzengrund</i>	R	S	I	S	2	R	R	I
3722	<i>S. schwarzengrund</i>	R	S	R	S	S	I	R	I
3723	<i>S. schwarzengrund</i>	R	S	R	S	2	I	R	S
3724	<i>S. schwarzengrund</i>	R	S	I	S	S	I	R	I
3827	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	S	R	R	R
3837	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	S	R	R	R

Tabelle 18: Mit Methode II aus Betrieb IV der Langzeituntersuchungen isolierte *Salmonella*-Serovare und die Bewertungsstufen der Empfindlichkeit gegen ausgewählte Chemotherapeutika

BETRIEB IV mit METHODE II									
Probennummer	Isolate	AMOX	APRA	COL	ENRO	FLOR	GEN	NEO	TET
4231	nicht typisierbar	R	R	R	S	R	R	R	R
4639	<i>S. typhimurium</i>	R	R	R	S	R	R	R	R
4845	<i>S. typhimurium</i>	R	R	I	S	R	I	S	R

Tabelle 19: Mit Methode III aus Betrieb I der Langzeituntersuchungen isolierte *Salmonella*-Serovare und die Bewertungsstufen der Empfindlichkeit gegen ausgewählte Chemotherapeutika

BETRIEB I mit METHODE III									
Probennummer	Isolate	AMOX	APRA	COL	ENRO	FLOR	GEN	NEO	TET
1116	<i>S. give</i>	R	R	R	S	S	R	S	I
1122	<i>S. mbandaka</i>	I	R	I	S	I	R	S	R
1134	<i>S. monophas.B-Stamm; O4, 5:i:-</i>	I	R	R	S	S	R	R	R

BETRIEB I mit METHODE III

Probennummer	Isolate	AMOX	APRA	COL	ENRO	FLOR	GEN	NEO	TET
1243	<i>S. give</i>	R	R	R	S	S	R	S	I
1243	<i>S. typhimurium</i>	R	S	I	S	S	I	S	I
1323	<i>S. senftenberg</i>	R	R	R	S	S	R	R	I
1330	<i>S. give</i>	R	R	R	S	I	R	R	I
1438	<i>S. give</i>	R	R	R	S	S	R	R	R
1515	<i>S. typhimurium</i>	R	R	I	S	R	R	R	R
1523	<i>S. typhimurium</i>	R	R	R	S	R	R	R	R
1620	<i>S. typhimurium</i>	R	R	R	S	R	R	R	R
1625	<i>S. typhimurium</i>	R	R	I	S	R	I	S	R
1635	<i>S. typhimurium</i>	R	R	R	S	R	R	R	R
1639	<i>S. typhimurium</i>	R	R	R	S	R	R	R	R
1710	<i>S. typhimurium</i>	R	S	I	S	R	S	R	R

Tabelle 20: Mit Methode III aus Betrieb II der Langzeituntersuchungen isolierte *Salmonella*-Serovare und die Bewertungsstufen der Empfindlichkeit gegen ausgewählte Chemotherapeutika

BETRIEB II mit METHODE III

Probennummer	Isolate	AMOX	APRA	COL	ENRO	FLOR	GEN	NEO	TET
2112	<i>S. typhimurium</i>	I	R	I	S	S	R	R	R
2124	<i>S. agona</i>	I	R	R	S	S	R	S	R
2125	<i>S. typhimurium</i>	R	R	R	S	S	R	S	R
2128	<i>S. typhimurium</i>	R	R	I	S	S	R	R	R
2130	<i>S. typhimurium</i>	R	R	R	S	S	R	R	R
2245	<i>S. typhimurium</i>	R	R	I	S	S	R	S	R
2248	<i>S. agona</i>	R	R	I	S	S	I	S	I
2338	<i>S. typhimurium</i>	R	R	R	S	S	R	R	R
2350	<i>S. typhimurium</i>	R	R	R	S	S	R	R	R
2352	<i>S. senftenberg</i>	R	R	I	S	S	R	R	I
2353	<i>S. senftenberg</i>	R	R	R	S	S	R	R	I
2411	<i>S. typhimurium</i>	R	S	R	S	S	R	S	R
2413	<i>S. infantis</i>	R	R	R	S	S	R	R	R
2543	<i>S. typhimurium</i>	R	R	R	S	R	R	R	R
2833	<i>S. typhimurium</i>	R	R	I	S	S	I	R	R

Tabelle 21: Mit Methode III aus Betrieb III der Langzeituntersuchungen isolierte *Salmonella*-Serovare und die Bewertungsstufen der Empfindlichkeit gegen ausgewählte Chemotherapeutika

BETRIEB III mit METHODE III

Probennummer	Isolate	AMOX	APRA	COL	ENRO	FLOR	GEN	NEO	TET
319	<i>S. mbandaka</i>	R	R	I	S	S	R	R	I
3119	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	S	I	R	R
3120	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	S	R	R	I

BETRIEB III mit METHODE III

Probennummer	Isolate	AMOX	APRA	COL	ENRO	FLOR	GEN	NEO	TET
3124	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	S	R	R	R
3210	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	S	R	R	I
3216	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	S	R	R	I
3227	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	S	R	R	I
331	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	S	R	R	R
336	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	S	R	R	I
337	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	S	R	R	I
338	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	I	R	R	I
3325	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	S	R	R	I
3329	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	S	R	R	I
3330	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	S	R	R	I
3331	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	S	R	R	R
3332	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	S	R	R	R
3427	<i>S. tennessee</i>	R	R	I	S	S	R	R	I
3429	<i>S. senftenberg</i>	R	R	R	S	S	R	R	R
3439	<i>S. senftenberg</i>	R	R	R	S	I	R	R	R
3521	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	S	R	R	R
3525	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	I	R	R	R
3615	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	S	R	R	R
3617	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	S	R	R	I
3621	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	S	R	R	I
3717	<i>S. schwarzengrund</i>	R	S	I	S	I	I	R	R
3718	<i>S. schwarzengrund</i>	R	S	I	S	S	I	S	I
3719	<i>S. schwarzengrund</i>	R	S	I	S	S	I	R	S
3720	<i>S. schwarzengrund</i>	R	S	I	S	S	I	S	S
3721	<i>S. schwarzengrund</i>	R	S	I	S	S	R	S	I
3722	<i>S. schwarzengrund</i>	R	S	I	S	2	R	R	S
3723	<i>S. schwarzengrund</i>	R	S	R	S	S	I	R	R
3724	<i>S. schwarzengrund</i>	R	S	I	S	S	I	S	S
3826	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	S	R	R	R
3827	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	S	R	R	R
3832	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	S	R	R	R
3833	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	S	R	R	R
3837	<i>S. schwarzengrund</i>	R	R	R	S	S	R	R	R

Tabelle 22: Mit Methode III aus Betrieb IV der Langzeituntersuchungen isolierte *Salmonella*-Serovare und die Bewertungsstufen der Empfindlichkeit gegen ausgewählte Chemotherapeutika

BETRIEB IV mit METHODE III

Probennummer	Isolate	AMOX	APRA	COL	ENRO	FLOR	GEN	NEO	TET
4149	<i>S. typhimurium</i>	R	R	I	S	R	R	R	R
4180	<i>S. typhimurium</i>	R	R	I	S	R	R	R	R

BETRIEB IV mit METHODE III

Probennummer	Isolate	AMOX	APRA	COL	ENRO	FLOR	GEN	NEO	TET
4333	nicht typisierbar	R	R	R	S	R	R	R	R
4715	<i>Salmonella</i> Subspezies I	R	R	R	S	R	R	S	R
4716	<i>S. typhimurium</i>	R	R	I	S	S	I	S	R
4726	<i>S. typhimurium</i>	R	R	R	S	R	I	S	R
4841	<i>S. typhimurium</i>	R	R	I	S	R	I	S	R
4845	<i>S. typhimurium</i>	R	S	I	S	R	R	R	R

Die mit der Methode III aus den Betrieben der Querschnittsuntersuchungen isolierten Salmonellen-Serovare und deren Ergebnisse zur Empfindlichkeitsprüfung gegen ausgewählte Antibiotika sind in Tabelle 11 aufgelistet.

Tabelle 23: Mit Methode III aus den Betrieben der Querschnittsuntersuchungen isolierte *Salmonella*-Serovare und die Bewertungsstufen der Empfindlichkeit gegen ausgewählte Chemotherapeutika

BETRIEB Q5 mit METHODE III

Probennummer	Isolate	AMOX	APRA	COL	ENRO	FLOR	GEN	NEO	TET
Q57	<i>S. typhimurium</i>	R	R	I	S	R	R	S	R
Q520	<i>S. typhimurium</i>	R	S	R	S	R	I	S	R

BETRIEB Q6 mit METHODE III

Probennummer	Isolate	AMOX	APRA	COL	ENRO	FLOR	GEN	NEO	TET
Q69	<i>S. typhimurium</i>	R	R	I	S	S	R	S	R
Q613	<i>S. typhimurium</i>	R	R	I	S	S	I	S	R
Q617	<i>S. typhimurium</i>	R	R	I	S	S	I	S	R
Q618	<i>S. typhimurium</i>	R	S	R	S	S	I	S	R
Q631	<i>S. typhimurium</i>	R	R	R	S	S	R	S	R

Bei der Empfindlichkeitsprüfung der isolierten 169 *Salmonella*-Serovare gegen ausgewählte Chemotherapeutika wurde festgestellt, dass 96,45 % der Isolate gegen Amoxicillin, 81,66 % gegen Apramycin, 66,28 % gegen Colistin, 20,12 % gegen Florfenicol, 77,51 % gegen Gentamicin, 75,74 % gegen Neomycin und 57,99 % gegen Tetracycline resistent waren. Gegen Enrofloxacin wurde keine Resistenz festgestellt (Abb. 57).

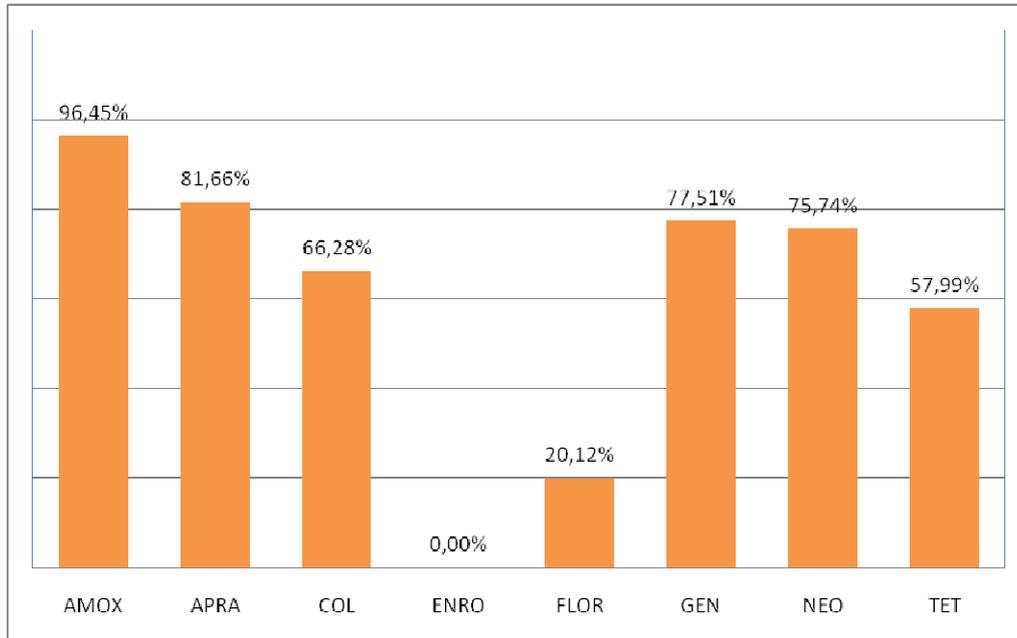


Abb. 57: Vergleich der Resistenzen gegenüber ausgewählten Antibiotika der isolierten Salmonellen-Serovare

5 Diskussion

5.1 Auswahl der Nachweismethoden

Zunächst soll auf die Begriffe „viable but not culturable“ (lebensfähig aber nicht vermehrungsfähig) und „injured“ (geschädigte) Mikroorganismen eingegangen werden.

Das Vorkommen von „viable but not culturable“ Bakterien wurde als ein Unterschied zwischen mikroskopisch ermittelter Gesamtzellenzahl und den auf Agarplatten gebildeten Gesamtkolonien beschrieben (KELL et al. 1998). Grampositive Kokken (*Staphylococcus aureus*, Fäkalstreptokokken), gramnegative Bakterien (*Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Vibrio marinus*) und Hefen konnten schon vor vielen Jahren als „injured“ Bakterien erkannt werden (HURST 1977). „Injured“ Bakterien konnten beobachtet werden, nachdem sie physikalischen und chemischen Behandlungen ausgesetzt wurden, dabei benötigen bestimmte geschädigte Bakterien zum Wachstum und zur Vermehrung zusätzliche Nährstoffe in den Kulturmedien. Zwar verlieren diese vorübergehend ihre Fähigkeit, sich in einem Minimalmedium zu vermehren, jedoch nicht in einem nährstoffreichen Komplettmedium (BUSTA 1978).

Es gibt in der Umwelt eine Dormanzform von vegetativen oder nichtsporenbildenden Bakterien, dies ist die häufigste Form des natürlich vorkommenden physiologischen Zustandes. Zellen in Dormanz können von den „injured“ Bakterien durch die metabolische Aktivität unterschieden werden (KARPELYANTS et al. 1993). Im Gegensatz zu Dormanzzellen sind „injured“ Bakterien metabolisch aktiv. Häufig werden sie mit den „non-culturable“ nichtvermehrungsfähigen Zellen wegen der Schwierigkeiten der Förderung ihres Wachstums mit künstlicher Stimulierung im Labor verwechselt (MASON et al. 1986). Die „non-culturable“ nicht vermehrungsfähigen Bakterien können durch konventionelle Methoden „culturable“ vermehrungsfähig gemacht werden (BARER et al. 1993). In der Literatur wird auch beschrieben, dass in einer stressigen Population von Bakterien diese nicht homogen sind und so eine Mischung aus Dormanz, geschädigten und stressigen Zellen bestehen kann (KARPELYANTS et al. 1993).

Die Untersuchungen von KARUNIAWATI (2001) deuten daraufhin, dass es in der Praxis sehr schwierig ist zwischen den beiden Formen der Zellen durch kulturelle Methoden zu unterscheiden, denn beide Zellformen kommen nur vor der Anzucht vor. Für medizinische und umwelthygienische Untersuchungen haben „non-culturable“, nichtvermehrungsfähige und geschädigte „injured“ Bakterien dieselbe praktische Bedeutung wie Dormanzzellen. Daher gilt für diese Begriffe, dass die Bakterien die Fähigkeit zur Kolonienbildung auf Nährbodenplatten durch Minimalverfahren verloren haben und es mit verschiedenen Anreicherungsverfahren versucht werden muss, diese wiederzugewinnen, um einen erfolgreichen Nachweis zu erzielen.

In der Literatur wird auch über bestimmte Mikroorganismen berichtet, die an Nährstoffmangel leiden können und daher nur eine geringe Vermehrungsfähigkeit zeigen. In diesem Zusammenhang ist es unwahrscheinlich, dass die Anzüchtung auf nährstoffreichen Medien gelingt, denn die Kolonienzahl wird zu niedrig bleiben (ANREW et al. 1984). Meistens ist die Anzahl von pathogenen Bakterien im Vergleich zu den Gesamtzahlen von lebenden Mikroorganismen zu niedrig (KARUNIAWATI 2001). Darüber hinaus nimmt die Anzahl der meisten vermehrungsfähigen pathogenen Bakterien in dem Milieu ständig ab, somit besteht die Notwendigkeit, hoch selektive Anreicherungsverfahren für die Anzüchtung zu verwenden, um die Begleitflora zu unterdrücken, die die subletal geschädigten pathogenen Keime möglicherweise hemmen könnte (ANDREW et al. 1984). Für die Wiederbelebung von Fäkalbakterien empfiehlt ANREW et al. (1984) die Voranreicherung mit nährstoffreichen Bouillons (Peptonwasser) durchzuführen. Dies hat eine besondere Bedeutung, da bei diesen Keimen eine selektive Anreicherung notwendig ist, in dem sich selektive Hemmstoffe befinden, die auf geschädigte Bakterien toxisch wirken können, was wiederum mit einer non-selektiven Voranreicherung verhindert wird (THOMASON et al. 1977). Es wird deutlich, dass die Voranreicherung ein notwendiger Schritt für die Isolierung von Salmonellen ist (FRICKER 1984, ANDREW et al. 1984, ANDREWS 1986).

ANDERSON et al. (2010), ISO (1995) und MÄDE et al. (2004) konnten zeigen, dass eine Zwei-Schritt-Anreicherung auch in Kombination mit PCR geeignet ist. Versuche zur Spezifität, Sensitivität und Präzision des ausgewählten PCR-Konzeptes wurden von MALORNY et al. (2007) durchgeführt. Eine internationale Expertengruppe des europäischen Komitees für Standardisierung wurde damit beauftragt, ein Protokoll für Erreger von Lebensmittelinfektionen mittels PCR zu erstellen (MALORNY et al. 2003). Eine standardisierte PCR-basierte Methode für den Nachweis von Lebensmittelinfektionserregern muss sämtliche Kriterien wie analytische und diagnostische Genauigkeit, eine hohe Detektionsrate, Robustheit (inklusive einer internen Kontrolle), ein niedriges Kontaminationsrisiko sowie ein einfaches, umgängliches Protokoll für die Applikation und Interpretation besitzen (MALORNY et al. 2003). Das *ttr*-basierte Real-Time PCR-Verfahren detektiert mit speziellen Primern den *ttrRSBCA*-locus, welches sich in der Nähe der Salmonellen-Pathogenitätsinsel II auf Centisome 30,5 befindet. Der forward Primer lokalisiert sich ans 3'Ende der *ttrC*-Gene, darüber hinaus lokalisiert sich die TaqMan-Probe der reward Primer ans 5'Ende der *ttrA*-Gene. Der Locus besteht aus fünf organisierten Genen als Operon und wurde der Salmonellen-Pathogenitätsinsel 2 zugeordnet. Es wurde berichtet, dass dieser Operon mittels Hybridisation in allen *S. enterica* Subspezies und *S. bogori* entstand (HENSEL et al. 1999). Die Gene *ttrA*, *ttrB* und *ttrC* kodieren die Tetrathionat-Reduktase-Struktur-Proteine und die Gene *ttrS* und *trR* die Sensorreaktion regulierenden Komponenten der zwei Komponenten-Regulier-Systeme (HENSEL et al. 1999a). Die Methode beinhaltet eine nicht-selektive Voranreicherung in gepuffertem Peptonwasser und eine selektive Anreicherung in Rappaport-Vassiliadis Bouillon (MALORNY et al. 2007).

Zusätzlich berichten REISSBRODT (1995) und SCHADEWINKEL-SCHERKL et al. (1995), dass der Zusatz von Novobiocin in Nährböden das Wachstum von *Proteus spp.* und grampositiven Kokken hemmen kann. Diese Keime kommen besonders häufig in Umweltproben vor und können das Wachstum von Salmonellen beeinträchtigen, daher konnte

auch ein Vorteil von Novobiocin beobachtet werden, wenn es der Voranreicherung zugesetzt wurde (KARANUWATI, 2001).

Diese methodischen Aspekte führten zur Auswahl der Nachweismethodik in den Untersuchungen. Dabei kamen nur Verfahren in Frage, die sich als standardisierte Methoden erwiesen haben und in routinierten Laboratorien täglich zum Einsatz kommen. Mit der vorliegenden Arbeit sollte im Hinblick auf die Methoden herausgefunden werden, welche dieser aus praktischer Sicht den jeweiligen Methoden überlegen ist. Zum einen handelte es sich um die in der DIN EN ISO 6579:2002 beschriebenen Methoden I und II zum Nachweis von Salmonellen aus Lebens- und Futtermitteln, das FD CEN/TR 15215-3 modifizierte Verfahren der Flüssiganreicherung in gepuffertem Peptonwasser mit Novobiocin, gefolgt durch Rappaport-Vassiliadis zum qualitativen Nachweis der Salmonellen Methode III sowie die sich in §64 des Lebensmittel und Futtermittelgesetzbuches (LFGB) nach ASU L.00.00.98 aufgeführte Real-Time PCR Methode IV und dieselbe Real-Time PCR aus der Voranreicherung der Methode III, die in dieser Studie als Methode V definiert wurde. Um bei den angewandten Real-Time PCR-Methoden falsch-negative Ergebnisse auszuschließen, wurde in jedem Reaktionsmix eine interne Amplifikationskontrolle mitgeführt, die wie das Proben-DNA mit denselben Primern amplifiziert werden konnte, jedoch mit einer zusätzlichen Sonde detektiert wurde. Um falsch-positive Ergebnisse zu verhindern, wurden pro Real-Time PCR-Durchlauf und angefertigter Mastermix zwei negative Kontrollen mit interner Amplifikationskontrolle sowie zwei negative Kontrollen ohne interne Amplifikationskontrolle mitgeführt. Die detaillierten Ergebnisse zu den Proben der Langzeituntersuchungen können von der Tabelle 31 im Anhang und den Abbildungen 17-42 entnommen werden. Die Ergebnisse müssen unter der Beachtung folgender Punkte ausgewertet werden:

- Alle Proben wurden sowohl in gepuffertes Peptonwasser ohne Novobiocin und in gepuffertes Peptonwasser mit Novobiocin in einem Verhältnis von 1:10 eingewogen. Somit stammen die Methoden I, II und IV aus der Voranreicherung ohne Novobiocin, hingegen die Methoden III und V aus der Voranreicherung mit Novobiocin.
- Alle kulturellen Nachweisverfahren (Methode I, II und III) konnten auch mit der Real-Time-PCR aus derselben Voranreicherung bestätigt werden. In dieser Studie waren darüber hinaus alle positiven Ergebnisse der Methoden I-IV auch mit Methode V positiv. Abweichungen gab es jedoch bei drei Futterproben mit der Probennummer 113, 4178, 2247. Diese konnten nur aus der Voranreicherung ohne Novobiocin detektiert werden. Die Proben waren mit Methode I und V positiv, ein positives Ergebnis der Probennummer 2247 konnte auch mit Methode II erzielt werden. Es ist bekannt, dass Salmonellen in Proben wie Futtermitteln sich an einem bestimmten Origin befinden können. Selbst bei einer guten Homogenisierung kann es bei einer geringen Anzahl von Salmonellen der Fall sein, dass diese zufällig in die Voranreicherung ohne Novobiocin eingewogen wurden, jedoch nicht in die Voranreicherung mit Novobiocin.

Aus den Ergebnissen der Langzeituntersuchungen geht hervor, dass mit Methode V die meisten positiven Ergebnisse erzielt wurden. Dies führte zu dem Entschluss, dass die darauf folgenden Querschnitts- und Schlachthofuntersuchungen mit Methode V und in Kombination mit dem kulturellen Verfahren Methode III durchgeführt wurden.

Trotz einer Voranreicherung mit Novobiocin in gepuffertem Peptonwasser und einer darauffolgenden Selektivanreicherung in Rappaport-Vassiliadis-Bouillon kann bei einem positiven Real-Time PCR-Ergebnis der Nachweis von DNA bei toten Salmonellen nicht ausgeschlossen werden. Es ist bekannt, dass dieses zweistufige Anreicherungsverfahren lediglich die Nachweisrate von geschädigten und nicht kultivierbaren Salmonellen erhöht (KARANUIWATI 2001).

5.2 Auswahl der Probennahmepunkte

Der Lebensraum von Salmonellen ist unter normalen Bedingungen der Darm von Mensch und Tier, sie können jedoch ubiquitär vorkommen. DEDIÉ et al. (1993) und PIETZSCH (1981) konnten mit ihren Untersuchungen zeigen, dass Salmonellen aus einer Vielzahl von Umweltproben nachgewiesen werden können. Darunter befanden sich vor allem Tierkot, Gülle, Flüssigmist, Schlamm, Erdboden, Weidenland, Heu, Wasser, Abwasser, Fliegen, Stallwände und Stallgebäudeteile. Es ist auch bekannt, dass Salmonellen häufig aus Futtermitteln, insbesondere aus importierten Futtermitteln, nachgewiesen wurden (DEDIÉ et al. 1993, KRAUSS et al. 1997, ROLLE und MAYR 1993). Darüber hinaus zeigte BÖHM (1996), dass man bei Schadnagern, wie Ratten, von einer Befallsrate von 4-30 % ausgehen muss.

Um aus praktischer Sicht Vorschläge für die notwendigen Probennahmepunkte zur Eigenkontrolle im Schweinemastbetrieb erbringen zu können, wurde versucht, wie es aus zahlreichen Veröffentlichungen hervorgeht, mit einer großen Anzahl von Proben mögliche Infektionsquellen aus der Umgebung der Tiere in die Langzeituntersuchungen einzubinden. Die Proben umfassten Futterproben aus Stall, Futterproben aus Lager, Tupferproben der Futterautomaten, Tränken und Oberflächen, Sammelproben aus der Umgebung der Tiere, Sammelkotproben, Rektaltupfer, Staubproben, Gülle, Wasserproben aus den Tränken und dem Zulauf, Fliegen, Mäuse und Festmist. Unter der Berücksichtigung, dass die meisten positiven Ergebnisse mit dem in diesen Untersuchungen angewandten sensitivsten Nachweisverfahren Methode V detektiert wurden, kam der Entschluss, die Auswahl der Probenpunkte auf die Anzahl der meisten positiven Probennahmestellen mit dieser Methode zu beschränken. Die positiven Befunde aller Proben mit Methode V sind aus Abbildung 42 ersichtlich. Demnach wurden aus Gülleproben, Sammelkot, Sammelproben aus der Umgebung der Tiere, Staub, Futterproben aus Stall, Futterproben aus Lager, Rektaltupfern, Tränkewasser die meisten Salmonellen-DNA nachgewiesen.

In den Untersuchungen der Langzeitstudie konnten aus den teilnehmenden Kategorie I-Betrieben (Betrieb I und III) in jedem Durchlauf Salmonellen mittels Real-Time PCR

nachgewiesen werden, die nur in geringer Anzahl kulturell bestätigt wurden. Aufgrund von Beobachtungen wurde festgestellt, dass bei diesen beiden Betrieben Defizite beim Hygienemanagement vorhanden waren. Bei der angewandten Reinigungsmaßnahme auf diesen Betrieben handelte es sich lediglich um die mechanische Entfernung von sichtbarem Schmutz, wobei keine weiteren Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen ergriffen wurden. Werden die isolierten *Salmonella*-Stämme der Betriebe I-IV näher betrachtet, fällt besonders in Betrieb III auf, dass überwiegend dieselben Serovare detektiert werden konnten (siehe Tabelle 27). Dies zeigt, dass bei mangelnden Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen immer wieder die gleichen *Salmonella*-Serovare isoliert werden können. Diese können als stalleigene Serovare betrachtet werden, die aus einer bestimmten Quelle im Betrieb stammen und sich im Schweinebestand verbreitet haben. Auch wenn mit der Real-Time PCR Methode V DNA von toten Salmonellen nachgewiesen werden können, zeigen die Ergebnisse der Betrieb I - IV deutlich, dass ein positives PCR-Ergebnis abgesehen davon ob es sich um tote oder lebendige Salmonellen handelt, einen Hinweis darüber gibt, dass sich diese Keime im Betrieb befunden haben. Dabei ist die Bedeutung von vereinzelt Real-Time PCR Ergebnissen zwar relativ gering, werden jedoch aus einem Schweinebestand in einem Durchlauf aus mehreren Proben Salmonellen mittels PCR nachgewiesen, erhöht sich die Bedeutung erheblich. Werden bei der Untersuchung zum Vorkommen von Salmonellen im Schweinebestand positive PCR Ergebnisse aus mehreren Proben wie Sammelkot, Sammelproben, Futter aus Stall, Futter aus Lager, Rektaltupfer, Tränkwasser und Staub mittels erzielt, zeigt dies, dass sich im Bestand eine mögliche Infektionsquelle befindet, auch wenn diese Ergebnisse mit kulturellen Methoden nicht bestätigt werden können. Auch im Zulaufwasser wurden positive PCR-Ergebnisse sowohl mit Methode IV als auch mit Methode V erzielt. Hier ist zu beachten, dass alle Betriebe an die städtische Wasserversorgung angeschlossen waren und die Entnahme der Zulaufwasser-Proben durch den jeweiligen Betriebsinhaber erfolgten. Somit kann nicht ausgeschlossen werden, ob eine Kontamination durch den Landwirt erfolgt ist. Dennoch sollte in den folgenden Querschnittsuntersuchungen auch Wasserproben aus dem Zulauf entnommen werden. Schließlich kann insbesondere bei nicht kontinuierlich kontrollierten Wasserquellen, wie beispielsweise bei privaten Brunnen, auch der Eintrag von Salmonellen in den Bestand erfolgen.

Um eine bessere Aussage über diese Probennahmepunkte treffen zu können, wurden einmalige Untersuchungen auf zufällig ausgewählten acht Schweinemastbetrieben (überwiegend Kategorie I), sogenannte Querschnittsuntersuchungen, durchgeführt. Aufgrund dessen, das Gülle keine Aussage über die aktuelle Salmonellen-Situation im Schweinebestand geben kann und die Identifizierung der infizierten Tiere sowie der Infektionsquellen mit dieser Probe nicht erfolgen kann, wurden die Untersuchungen von Gülle eingestellt.

5.3 Allgemeine Diskussion der Ergebnisse

5.3.1 Ergebnisse der Langzeituntersuchungen

Die vorliegenden Ergebnisse bestätigen jene der zahlreichen wissenschaftlichen Veröffentlichungen, die sich auf die Bedeutung zur Unterbrechung des enzootischen Infektionskreises beziehen um die Neuinfektion *Salmonella*-freier Schweine zu verhindern (BÖHM et al. 1993, DAHL et al. 1997, ERDMANN et al. 2005, HALD et al. 2003, MEERBURG et al. 2006, OSTERBERG et al. 2001, SCHMIDT et al. 2004). Dabei sind vor allem die Thesen und deren Bedeutung:

- zur Schaffung *Salmonella*-freier Elterntierbestände,
- die Verbesserung von Hygienemaßnahmen,
- die Bedeutung der Rein-Raus-Belegung, bei dem der Stall über eine längere Zeit leer stehen sollte, um eine effektive Reinigung und Desinfektion durchzuführen,
- die Desinfektion von Standplätzen und Einrichtungsgegenständen,
- die laufende Beseitigung des Kotes,
- die Merzung seuchenkranker Tiere oder von Dauerausscheidern,
- die Quarantäne und Isolierungsmaßnahmen bei Neuzugängen,
- der eingeschränkte Personenverkehr in Kombination mit Desinfektionsmaßnahmen in den Ein- und Ausgangsbereichen,
- die Vermeidung des Kontaktes von Tieren aus unterschiedlichen Gruppen und Arten,
- der Bekämpfung von Schadnagern und Insekten,
- der Vermeidung von Staub- und Aerosolbildung
- sowie die Fernhaltung von Vögeln

bestätigt worden.

Bei der Diskussion der Ergebnisse aus den Langzeituntersuchungen müssen folgende Faktoren der Betriebe I-IV berücksichtigt werden, die den Salmonellenstatus der Betriebe beeinflusst haben könnten (Tab. 24).

Tab. 24: Faktoren und Einflüsse auf die Ergebnisse der Betriebe aus den Langzeituntersuchungen

Faktoren	Betrieb I	Betrieb II	Betrieb III	Betrieb IV
Kategorie	Kategorie I	Kategorie II	Kategorie I	Kategorie III
Art des Stalls	Außenklima	Außenklima	Außenklima	Geschlossener Betrieb
zugekaufte Tiere	mehrere Ferkellieferanten	2 Ferkellieferanten	1 Ferkellieferant	hauptsächlich eigene Ferkelaufzucht
Futter	zugekauftes Futter	größten Teils eigenes Futter	größten Teils eigenes Futter	größten Teils eigenes Futter
Reinigung und Desinfektion (R+D)	keine R+D Maßnahmen außer mechanische Entfernung von Schmutz	keine R+D Maßnahmen außer mechanische Entfernung von Schmutz	keine R+D Maßnahmen außer mechanische Entfernung von Schmutz	keine Desinfektionsmaßnahmen außer am Eingang des Stalls eine Desinfektionsmatte, mechanische Entfernung von Schmutz sowie Reinigung mit Hilfe eines Hochdruckreinigers
Maßnahmen gegen Vektoren	keine Maßnahmen gegen Vögel, Schadnager und Fliegen	keine Maßnahmen gegen Vögel, Schadnager und Fliegen	keine Maßnahmen gegen Vögel, Schadnager, Fliegen und Haustiere (freilaufende Katzen im Stall und Futterlager)	keine Maßnahmen gegen Vögel, Schadnager, Fliegen und Haustiere (freilaufende Katzen im Stall und Futterlager)
Zutritt in die Stallbereiche	kein Zutritt außer zuständiges Personal	kein Zutritt außer zuständiges Personal	kein Zutritt außer zuständiges Personal	kein Zutritt außer zuständiges Personal

Betrieb I:

In diesem Kategorie I-Betrieb mit Außenklimastall wurde das Futter zugekauft und in Silos gelagert. Dass Futterproben aus Lager oder Silos mittels Real-Time PCR positive Salmonellen-Befunde liefern können, ist nicht außergewöhnlich. Eigentlich benötigen diese Ergebnisse aufgrund der Unterscheidung von lebenden oder toten Keimen und gemäß der amtlichen Sammlung nach §64 des Lebens- und Futtermittelgesetzbuches (LFGB) eine kulturelle Bestätigung, ansonsten werden diese Proben als negative Ergebnisse betrachtet. Bei den vorliegenden Untersuchungen war es jedoch viel wichtiger, alle positiven Ergebnisse

auszuwerten. Kulturell konnte aus diesem Betrieb in den durchgeführten acht Durchläufen nur die Futtermittelprobe mit der Nummer 1218 bestätigt werden (Tab. 31). Da die Futtermittelproben auf diesem Betrieb in geschlossenen Silos gelagert wurden, konnte die Probennahme nur durch den Landwirt erfolgen. Daher kann bei dieser Probe eine Kontamination durch den Landwirt nicht ausgeschlossen werden. Der Betrieb hatte mehrere Lieferanten von denen die Ferkel bezogen wurden. Beim zweiten Durchlauf fiel auf, dass aus den Rektaltupfern der neuangelieferten Tiere Salmonellen isoliert werden konnten. Im Laufe der Untersuchungen wurden diese Tiere bis zur Schlachtung mittels Rektaltupfern und Umgebungsproben aus den Buchten verfolgt. Es konnten verschiedene Serovare isoliert werden, insbesondere eine Vielzahl positiver PCR-Befunde aus der Umgebung der Tiere lagen vor. Dicke Staubablagerungen, mangelnde Hygiene, vernachlässigte Buchten und gestresste Tiere zählten zum Alltag dieses Betriebes. Im Laufe der Langzeituntersuchungen hatte sich herausgestellt, dass die Schwachstellen des Betriebes nicht nur in Defiziten im Hygienemanagement und der Vektorenbekämpfung begründet lagen, sondern auch bei verschiedenen Ferkellieferanten vorhanden waren.

Werden die mittels kultureller Methoden aus diesem Betrieb isolierten *Salmonella*-Stämme näher betrachtet wird deutlich, dass 6 Serovare isoliert werden konnten und einige in den verschiedenen Durchläufen immer wieder detektiert wurden (Tab. 25).

Tab. 25: *Salmonella*-Isolate aus Betrieb I

<i>Salmonella</i> -Isolate	Durchläufe
<i>S. give</i>	1,2,3,4
<i>S. mbandaka</i>	1
<i>S. monophas.B-Stamm; O4, 5:i:-</i>	1,5
<i>S. jerusalem</i>	2
<i>S. typhimurium</i>	1,4,5,6,7
<i>S. senftenberg</i>	3

Betrieb II:

Es handelt sich bei diesem Kategorie II-Betrieb um einen Außenklimastall. Im Futterlager fiel auf, dass Spuren von Mäusepfoten und Vogelfüßen vorhanden waren. Was darauf hindeutet, dass keine Maßnahmen gegen lebende Vektoren ergriffen wurden. Das Futter stammte zum größten Teil aus eigener Herstellung. Bei der Untersuchung der Futterproben aus diesem Lager konnten zum Teil positive PCR-Ergebnisse kulturell bestätigt und Salmonellen isoliert werden. Der Betrieb wurde von zwei Ferkelaufzuchtbetrieben beliefert. Hier wurden ebenfalls beginnend mit den neuangelieferten Ferkeln bis zu deren Schlachtung fortlaufende Untersuchungen der Rektaltupfer sowie Umgebungsproben durchgeführt. Es konnte ebenfalls eine Vielzahl von PCR-positiven Ergebnissen mit Methode V aus der Umgebung der Tiere erzielt werden (Tab. 26).

Tab. 26: *Salmonella*-Isolate aus Betrieb II

<i>Salmonella</i> -Isolate	Durchläufe
<i>S. agona</i>	1,2
<i>S. senftenberg</i>	3
<i>S. typhimurium</i>	1,4,5,8
<i>S. infantis</i>	4

Auch in diesem Betrieb fehlte es an Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen. Der über 25 Jahre alte Stall wurde nur mechanisch gereinigt, was zum Teil die erzielten Ergebnisse bestätigen.

Betrieb III:

Dieser Betrieb mit Außenklimaställen befand sich in Kategorie I. Die Tiere wurden mit Futter aus eigener Herstellung verfüttert. Schwachstellen konnten sich hier auch im Futterlager zeigen, es konnte aus der Futtermittelprobe 319 Salmonellen isoliert werden. Der Betrieb hatte nur einen Ferkellieferanten. Hier wurde ebenfalls von der Einstellung bis zur Schlachtung eine ausgewählte Gruppe von Schweinen untersucht. Positive Ergebnisse wurden zum größten Teil aus der Umgebung der Tiere erzielt. Am meisten fiel auf, dass die aus diesem Betrieb mittels der angewandten kulturellen Methoden isolierten Serovare von *S. Schwarzengrund* dominiert wurden, was mit erheblichen Mängeln in der Hygienepraxis und der Vektorenbekämpfung zusammenhing (Tab. 27).

Tab. 27: *Salmonella*-Isolate aus Betrieb III

<i>Salmonella</i> -Isolate	Durchläufe
<i>S. schwarzengrund</i>	1,2,3,5,6,7,8
<i>S. senftenberg</i>	4,6
<i>S. mbandaka</i>	1
<i>S. tennessee</i>	4

Betrieb IV:

In diesem geschlossenen Kategorie III-Betrieb wurden selten Tiere zugekauft, es handelte sich eher um einen Betrieb mit eigener Ferkelaufzucht. Hier wurde der Stall mit Hochdruckreinigern zwar gereinigt, jedoch wurde keine Desinfektion durchgeführt. Es wurden auch keine Maßnahmen zur Vektorenkontrolle ergriffen. Bei den zahlreichen positiven Ergebnissen mit Methode V konnten aus diesem Kategorie III-Betrieb nur vereinzelt Salmonellen mit den angewandten kulturellen Methoden isoliert werden.

In diesem Betrieb hinterlässt *S. Typhimurium* den Eindruck ein stalleigener Serovar zu sein, was auch mit Defizite im Hygienemanagement begründet werden kann (Tab. 28).

Tab. 28: *Salmonella*-Isolate aus Betrieb IV

<i>Salmonella</i> -Isolate	Durchläufe
<i>S. typhimurium</i>	1,6,7,8
<i>S. cerro</i>	5

Es ist nicht außergewöhnlich, dass aus Betrieben, egal in welcher Salmonellenkategorie diese auch unterteilt sein mögen, bei mangelndem Hygienemanagement Salmonellen nachgewiesen werden können. Wie auch BODE (2007) zeigen konnte, stehen bei den vorliegenden Ergebnissen nicht nur die ständige Neueinschleppung von Salmonellen über die Ferkelerzeugung oder anderen Vektoren im Vordergrund, sondern auch vorhandene Salmonellenreservoirs, die kontinuierlich zu dauerhaften Belastungen in den jeweiligen Aufzucht- und Mastställen führten und durch mangelnde Reinigung und Desinfektion nicht in den Griff bekommen wurden. Bei keinem der an den Langzeituntersuchungen teilnehmenden Betriebe wurden Maßnahmen gegen Vektoren ergriffen, es erfolgte in keinem dieser Betriebe eine regelmäßige Reinigung und Desinfektion, was sich auch in den Ergebnissen widerspiegelt. Laut Schweine-Salmonellen-Verordnung SSV (2007) weisen Kategorie I-Betriebe eine niedrige, Kategorie II-Betriebe eine mittelmäßige und Kategorie-III-Betriebe eine hohe Salmonellenbelastung auf. Diese Kategorisierung erfolgt schließlich anhand von serologischen Befunden, die im weiteren Verlauf der Diskussionen näher betrachtet werden. Die in den Untersuchungen erzielten Ergebnisse zeigen, dass nicht nur im Kategorie III-Betrieb (Betrieb IV), sondern auch in den Kategorie I-Betrieben (Betrieb I und Betrieb III) sowie im Kategorie II-Betrieb (Betrieb II) häufig Salmonellen nachgewiesen und isoliert werden konnten. Der Betriebsinhaber vom Kategorie III-Betrieb wusste zwar, dass ein Salmonellenproblem vorlag, jedoch konnte er nicht verstehen woher diese Erreger kamen und sich im Bestand verbreiten konnten. Die Inhaber der Kategorie I- und II- Betriebe hingegen sahen es aufgrund der besseren Kategorisierung nicht für notwendig an Maßnahmen zur Reduzierung des Vorkommens von Salmonellen zu ergreifen.

5.3.2 Ergebnisse der Querschnittsuntersuchungen

Die positiven und negativen Ergebnisse der Querschnittsuntersuchungen mit Methode V sind auf den Abbildung 43 - 50 grafisch dargestellt. Aus jedem der Betriebe Q1, Q3, Q4 und Q7 konnten der Reihe nach nur aus je einer Probe DNA von Salmonellen nachgewiesen werden. Die positiven Proben stellen sich der Reihe nach aus je einer Wasserprobe aus den Tränken, Futterprobe aus Stall, Sammelkotprobe und einem Rektaltupfer zusammen. Mittels kultureller Methoden konnten aus diesen Betrieben keine Salmonellen isoliert werden.

Im Gegensatz zu diesen Ergebnissen wurden aus Betrieb Q5 (Ferkelaufzuchtbetrieb unterliegt keiner Kategorisierung) aus je zwei Wasserproben aus den Tränken, Futterproben aus Stall, Staubproben, Sammelkotproben und Sammelproben aus der Umgebung Salmonellen-DNA nachgewiesen. Eine Wasserprobe aus den Tränken und eine

Sammelkotprobe konnte ebenfalls kulturell mit Methode III bestätigt werden (siehe Abbildung 51). Bei diesen positiven Befunden handelt es sich um Proben aus den Buchten der Sauen. Die Salmonelleninfektion der Sauen kann zum Schutz ihrer Ferkel während der Ferkelaufzucht führen, dabei können sie aber auch zu einer indirekten Quelle für Salmonelleninfektionen anderer Tiere der Herde werden (NOLLET et al. 2005). BODE (2007) sieht ein höheres Risiko für antikörpernegative Ferkel, die Kontakt zu salmonellenausscheidenden Sauen bekommen könnten. Diese würden dann auch eine Gefahr für die nachgelagerten Bereiche darstellen.

Derzeit unterliegt eine Ferkelaufzucht betriebs keiner Kategorisierung nach der SSV. Salmonellenantikörper bei Sauen bewertet BODE (2007) anders als bei Mastschweinen, der Grund dieser These ist, dass selbst aus salmonellenpositiven Sauenbeständen Ferkel mit einer geringen Salmonellenbelastung abgesetzt werden können. Dies darf jedoch nicht zu dem Entschluss führen, die Ferkelproduktion zu vernachlässigen. Wie auch in Betrieb I der Langzeituntersuchungen gezeigt werden konnte können auch neuzugekaufte Ferkel zu einer Neuinfektion des Bestandes führen. Um dies zu verhindern ist es im Rahmen der Eigenkontrolle auch wichtig, die bisher vernachlässigte Ferkelerzeugung mittels bakteriologischer Methoden zu untersuchen, um präventive Maßnahmen zur Verhinderung des Eintrages von Salmonellen in die nachgelagerten Bereiche zu ergreifen.

Aus Betrieb Q6 (Kategorie I) wurden mit Methode V je aus einer Futterprobe aus Lager und Stall, Wasserprobe aus den Tränken, Staubprobe, Sammelprobe aus der Umgebung und zwei Sammelkotproben positive Ergebnisse erzielt. Kulturell konnten mit Methode III je eine Futterprobe aus Stall, Staubprobe, Sammelprobe aus der Umgebung und zwei Sammelkotproben bestätigt werden (siehe Abbildung 46). Dieser Betrieb befand sich laut mündlicher Aussage ca. sechs Monate vor der hier aufgeführten Untersuchung noch in Kategorie II. Bei vorherigen bakteriologischen Untersuchungen des zuständigen Tierarztes wurde festgestellt, dass durch bauliche Probleme die Reinigung und Desinfektion nicht ordnungsgemäß durchgeführt werden konnte. Zudem wurde im Futterlager keine Vektorenkontrolle durchgeführt, wobei damals die meisten positiven Ergebnisse aus dem Futterlager stammten. Zum Zeitpunkt der Querschnittsuntersuchungen in Betrieb Q6 konnten herumlaufende Katzen im Futterlager beobachtet werden. Die Untersuchungen mit Methode III und Methode V zeigen, dass, obwohl dieser Betrieb in Kategorie I herunter gestuft werden konnte, keine nachhaltigen Maßnahmen zur Verhinderung des Eintrages von Salmonellen ergriffen wurden.

Die Ergebnisse der Querschnittsuntersuchungen bestätigen die Auswahl der Probenpunkte wie Futterproben aus Lager, Futterproben aus dem Stall, Tränkewasserproben, Staubproben, Sammelkotproben sowie Sammelproben aus der Umgebung der Tiere. Die Betriebe Q1, Q2, Q3, Q4 und Q7 wurden regelmäßig gereinigt und desinfiziert, dabei wurde auch ein striktes Rein-Raus-Verfahren angewandt. Die Hygienemaßnahmen dieser Betriebe wurden auch auf das Futtermittellager, die Futterbehälter, Lüftungssysteme und sogar Tränkewasserleitungen ausgedehnt. Auch eine regelmäßige Vektorenbekämpfung fand hier statt. Diese Betriebe stellten aus hygienischer Sicht genau das Gegenteil der in den Langzeituntersuchungen beprobten Kategorie I-Betriebe dar. Dieser Unterschied spiegelte sich auch in den Ergebnissen wieder. In den Betrieben Q1, Q3, Q4 und Q5 kam es zu

vereinzelten Ergebnissen mit der Real-Time PCR Methode V, in Betrieb Q2 wurden keine positiven Ergebnisse erzielt. Dies zeigt auch deutlich, dass die Kategorie nach der SSV dem Betriebsinhaber keinen Hinweis auf seine Schwachstellen im jeweiligen Betrieb gibt. Es handelt sich dabei um retrospektive Daten von Schweinen, die den Bestand bereits verlassen haben. Die alleinige Kategorisierung anhand von serologischen Befunden verringert nicht das Risiko des Salmonelleneintrages in die Nahrungskette. Eine Kategorisierung in Kategorie I bedeutet nicht, dass keine Salmonellenproblematik vorliegt. Würden aber bakteriologische Untersuchungen und auch Untersuchungen mittels Real-Time PCR im Vorfeld der Schlachtung stattfinden, könnten diese in Verbindung mit den serologischen Befunden eine bessere Aussage über den aktuellen Stand des Betriebes machen. Allerdings muss hier auch beachtet werden, dass die routinemäßig verwendeten *Salmonella* ELISA-Testsysteme die Mehrheit der infizierten Tiere erst ab dem 22. Tag postinfectionem erkennen (RÖSLER et al. 2007).

5.3.3 Erkenntnisse der Resistenzprüfung gegen Antibiotika der isolierten *Salmonella*-Serovare sowie der Schlachthofuntersuchungen

In Zukunft wird nicht mehr mit einer Vielzahl neuer Wirkstoffe für die Veterinärmedizin gerechnet, daher ist die Bedeutung für den Erhalt der Wirksamkeit von verfügbaren Wirkstoffen sehr groß. Dies kann nur durch verantwortungsbewussten Einsatz dieser Wirkstoffe sichergestellt werden. Dabei darf nicht vergessen werden, dass die Ausweitung von Resistenzgenpools durch die Antibiotikatherapie begünstigt wird (GERMAP 2008). Durch mangelnde Hygiene werden Tierbestände empfänglicher gegen Infektionskrankheiten, was den Bedarf an Antibiotika oftmals steigert (SCHLATETERER 1995). Eine optimale Hygiene hingegen würde sowohl die Arzneimittelkosten senken, als auch die Tiergesundheit und Tierleistung fördern (BÖHM 1996).

Es wird davon berichtet, dass resistente Bakterien, die mit der Nahrung aufgenommen wurden, über Abwässer in Kläranlagen gesammelt und von dort in hohen Konzentrationen in die Umwelt gelangen können, ebenfalls ist eine Verbreitung in der Umwelt durch flüssigen oder festen Abfall aus Massentierhaltungen in Böden, über die Bodenpassage in das Grundwasser sowie durch Oberflächenabfluß in Oberflächengewässern möglich (FEUERPFIL et al. 1999). Die Tatsache, dass von Betrieben, die mit Salmonellen belastet sind, auch eine Gefahr für die Umwelt ausgeht, ist sicherlich auch ein weiterer Aspekt für gezielte Maßnahmen in den Schweinemastbetrieben. Die Resistenzprüfung der isolierten *Salmonella*-Serovare sollte zeigen, dass nicht nur die Salmonellen-Problematik im Schweinebestand ein hygienisches Problem darstellt, sondern auch dadurch multiresistente Salmonellen in die Umwelt gelangen können. Die ermittelten Ergebnisse zeigen (siehe Abbildung 57 und Tabellen 11-23), dass es sich bei den isolierten *Salmonella*-Serovaren zum Teil um mehrfachresistente Isolate handelt. Die Gefahr, dass durch Managementfehler und schlechte Haltungsbedingungen die mehrfachresistenten Salmonellen in der Umwelt verbreitet werden können, ist groß, infizieren solche Keime über Lebensmittel Menschen, können sie zu erheblichen Gesundheitsrisiken führen. Durch den Anstieg resistenter

Bakterien bei Tieren kann es zum Transfer von Resistenzgenen auf humane Erreger kommen, dies könnte zu möglichen Therapieversagen bei Tieren und Menschen führen. Die Verringerung des Antibiotikaeinsatzes ist ein wichtiger Faktor bei der Betrachtung des Resistenzrisikos, dabei darf auch die Mitwirkung des Landwirtes und des Tierarztes beim verantwortungsbewussten Gebrauch der Antibiotika nicht vernachlässigt werden (TROLLDENIER 1997). Hinzu kommt, dass Managementfehler in der Tierhaltung nicht durch den Einsatz von Antibiotika ausgeglichen werden dürfen.

Mit den Schlachthofuntersuchungen sollte gezeigt werden, dass die in den landwirtschaftlichen Betrieben kontinuierlich festgestellten *Salmonella*-Serovare auch im Schlachthof nachgewiesen werden können und, egal in welcher Kategorie sich dieser Betrieb auch befinden mag, Salmonellen in die Nahrungskette gelangen können. Aufgrund von Zugangsbeschränkungen im jeweiligen Schlachthof konnten allerdings diese Untersuchungen nur einmal durchgeführt werden was die Aussagekraft der Ergebnisse erheblich einschränkt. Die mittels Real-Time PCR erzielten positiven Ergebnisse konnten nicht kulturell bestätigt werden. Es kann nicht abschließend beurteilt werden, ob die erzielten positiven PCR-Ergebnisse auf die an den Langzeituntersuchungen teilnehmenden Betriebe I - IV zurückzuführen sind. Schließlich kann eine Kontamination im Wartestall oder während des Schlachtprozesses nicht ausgeschlossen werden.

5.4 Strategien zur Prävention des Eintrages von Salmonellen in die Nahrungskette

Strategien zur Prävention des Eintrages von Salmonellen in die Nahrungskette können erst dann Erfolg erzielen, wenn es allen Beteiligten klar wird, welche Bedeutung und Vorteile sie wirklich bringen. Bei den Untersuchungen zum Vorkommen von Salmonellen im Schweinebestand zeigte sich größtenteils, dass die an der Studie teilnehmenden Landwirte ein sogenanntes „Salmonellenmonitoring“ auf Basis der Schweine-Salmonellen-Verordnung als Schikane betrachteten. Die Betriebe können zwar nicht als repräsentativ für die Schweineproduktion betrachtet werden, jedoch steht fest, dass viele Schweinemäster im Hinblick auf die Prävention keinen lebensmittelhygienischen Bezug sehen. Es muss deutlich gemacht werden, dass präventive Maßnahmen dazu beitragen, Schweinefleisch kontrolliert auf nationaler aber auch internationaler Ebene vermarkten zu können.

Seit März 2007 gilt in Deutschland die „Verordnung zur Verminderung der Salmonellenverbreitung durch Schlachtschweine“ (Schweine-Salmonellen-Verordnung), mit der die Bundesrepublik die EG-Zoonosen-Bekämpfungsverordnung VO EG 2160/2003 umgesetzt hat (ANON. 2007a). Alle Endmastbetriebe wurden verpflichtet, innerhalb von 12 Monaten nach Verordnungserlass ihren Salmonellen-Status gemäß des festgelegten Stichprobenschlüssels untersuchen zu lassen und vierteljährlich zu aktualisieren. Für die Untersuchungen können frühestens 14 Tage vor dem Schlachtzeitpunkt gewonnene Blutproben oder während des Schlachtprozesses gewonnene Fleischsaftproben zum Einsatz

kommen (RÖSLER 2009). In der derzeitigen Schweine-Salmonellen-Verordnung sind die anzuwendenden Testsysteme nicht eindeutig genannt, es stehen jedoch prinzipiell drei verschiedene kommerzielle, vom Friedrich-Löffler-Institut zugelassene ELISA-Testsysteme zur Verfügung. Diese drei Tests basieren auf sehr ähnlichen *Salmonella*-Lipopolysaccharid (LPS)-Antigenen und ermöglichen eine indirekte Diagnostik über den Nachweis von Salmonellen-spezifischen Antikörpern. Die Tests haben neben dem wissenschaftlich validierten Grenzwert (Cutoff) für eine positive Diagnose auch einen deutlich höher liegenden einheitlichen Grenzwert für Überwachungsprogramme (> 20 OD %, z.B. nach Schweine-Salmonellen-VO und QS-System). Für detaillierte Hinweise über die tatsächlich infizierten Tiere im Bestand sind diese Tests nicht geeignet, da sie aufgrund des Testprinzips nur semiquantitative Aussagen über den Gehalt an LPS-Antikörpern in einer definierten Stichprobe von Tieren liefern können (RÖSLER 2009).

Die mit der Schweine-Salmonellen-Verordnung (SSV) erhobenen retrospektiven Daten vom Schlachthof sind für die Eigenkontrolle des Landwirtes im Schweinemastbetrieb nicht geeignet. Die erfassten Daten werden den Schweinemästern zu spät übermittelt, so dass der Salmonelleneintrag Monate zurückliegt und es schwierig wird, die Eintragsquelle zu identifizieren. Hinzu kommt, dass Daten aus der Ferkelerzeugung, gemäß der Schweine-Salmonellen-Verordnung nicht berücksichtigt werden. Somit fallen Ferkelerzeuger als Lieferanten der nachgelagerten Bereiche und als mögliche Eintragsquellen aus dem Augenschein. Ein weiterer Punkt ist, dass bakteriologische und epidemiologische Maßnahmen erst dann ergriffen werden müssen, wenn der Endmastbetrieb in Kategorie III eingestuft wurde. Mit den vorliegenden Ergebnissen konnte gezeigt werden, dass auch aus den an der Untersuchung teilnehmenden Kategorie I-Betrieben in hohem Maße Salmonellen nachgewiesen werden konnten. Dies hängt damit zusammen, dass der Cutoff-Wert für eine positive Diagnose höher als der allgemeine wissenschaftliche Grenzwert liegt. Um den Eintrag von Salmonellen in die Nahrungskette vorzubeugen, müssen gezielte Maßnahmen erfolgen, die den Landwirt bei der Eigenkontrolle des Betriebes unterstützen. Werden frühzeitig die Schwachstellen im Betrieb erkannt und Defizite im Hygienemanagement festgestellt, können diese mit einer wirkungsvollen Vorgehensweise beseitigt werden. Deshalb muss der Tierhalter zunächst eine Analyse der Stoffflüsse, inklusive der Tierbewegungen in seinem Betrieb machen und die potentiellen Eintragswege identifizieren um hier, falls notwendig, Kontrollpunkte einzurichten oder vertragliche Zusicherungen auf Salmonellenfreiheit zu erwirken, bzw. beide Maßnahmen miteinander zu kombinieren. Dann muss er sein Konzept zur Tierhaltungshygiene überprüfen, sowohl was die baulichen Gegebenheiten als auch was die Wirksamkeit der Maßnahmen zur Stallhygiene betrifft. Mindestens muss er einen Hygieneplan mit Kontrollen auf die Wirksamkeit von Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen erstellen. Dabei ist es wichtig, dass neben Proben aus der direkten Umgebung der Tiere auch Proben von Boden, Wänden, Decken und aus der Lüftung mit einer geeigneten Methode auf Salmonellen untersucht werden.

Für eine effiziente Eigenkontrolle im Schweinemastbetrieb müssen in periodischen Abständen mindestens dreimal bis zur Schlachtung alle Futtermittelarten aus Lager, Futter aus den Buchten, Sammelkot, Sammelproben und Staub aus der Umgebung der Tiere sowie deren Tränkwasser und Zulaufwasser (bei der Wasserversorgung durch die Stadtwerke entfällt diese Probe) auf Salmonellen untersucht werden. Dabei sollten die Proben

mindestens 10 % der vorhandenen Buchten im Schweinemastbetrieb abdecken und je Probe mindestens 50 - 100 g entnommen werden (Wasserproben 100 - 200 ml, Staub 5 - 10 g je Stall). Hat z.B. ein Schweinemastbetrieb 30 Buchten, sollten mindestens drei zufällig ausgewählte Buchten in die Probennahme einbezogen werden. Die Langzeit- und Querschnitts-Untersuchungen zeigten, dass die Schwachstellen der beprobten Betriebe in verschiedenen Bereichen der Schweinehaltung lagen. Daher ist es empfehlenswert, die Beprobung so zu planen, dass in der oben erwähnten Vorgehensweise mindestens eine Bucht aus der Endmast, Vormast und Ferkelaufzucht einbezogen werden.

Aus praktischer Sicht ist es möglich, Proben von gleichen Beprobungsorten zusammenzuführen und vor der Untersuchung zu homogenisieren. In diesem Fall sollten aber repräsentative Restmengen der Einzelproben bis zum endgültigen Vorliegen der Ergebnisse gekühlt aufbewahrt werden, um sie gegebenenfalls mit einem kulturellen Verfahren weitergehend zu untersuchen. Somit könnte im ersten Untersuchungsschritt die Probenanzahl reduziert werden und eine detaillierte Untersuchung der einzelnen Proben findet nur nach einem positiven Ergebnis der Gesamtproben statt.

Beispiel:

Betrieb Mustermann ist ein Schweinemastbetrieb mit 600 Mastplätzen verteilt auf 30 Buchten mit Einstreu. In 2 Buchten befinden sich Ferkel, in 14 Buchten Schweine aus der Vormast und in den restlichen 14 Buchten Tiere aus der Endmast. Im Futterlager des Betriebes befinden sich je ein Silo mit Sojaschrot, Weizen, Hafer, Futtermix für die Vormast, die Endmast und die Ferkelerzeugung. Das Trinkwasser wird von den Stadtwerken bezogen.

Wenn 10 % der vorhandenen Buchten eingezogen werden, müssen 3 Buchten in diesem Betrieb beprobt werden.

Aus den jeweiligen 3 Buchten werden:

- 100 ml Tränkewasser
- 100 g Futter
- 100 g Einstreu bzw. Sammelproben aus der Umgebung der Tiere
- 100 g Sammelkot
- 5 - 10 g Staub aus dem gesamten Stallbereich entnommen.

Aus dem Futterlager werden je Futtersorte 100 g Proben entnommen (Tab. 29).

Tabelle 29: Probennahmeschlüssel Betrieb Mustermann

Probensorte	Anzahl der Proben
Futter aus den Buchten	3
Tränkwasser	3
Einstreu bzw. Sammelproben	3
Sammelkot	3
Staub	1
Futter aus Lager	6
Insgesamt	19

Werden aus diesen 19 Proben wie oben beschrieben Teilmengen (50 g) entsprechender Herkunft aus den verschiedenen Buchten zu einer Gesamtprobe zusammengeführt und gründlich homogenisiert reduziert sich die Anzahl der Proben auf 11 (Tab. 30).

Tabelle 30: Probennahmeschlüssel Betrieb Mustermann nach Reduzierung

Probensorte	Anzahl der Proben
Futter aus den Buchten	1
Tränkwasser	1
Einstreu bzw. Sammelproben	1
Sammelkot	1
Staub	1
Futter aus Lager	6
Insgesamt	11

Mit der ausgewählten Nachweismethode für Salmonellen „Methode V“ kann im gleichen Zeitraum eine große Anzahl von Proben untersucht werden und das Ergebnis liegt schnell vor. Dadurch ist es möglich, ohne großen Zeitverlust die entsprechenden Einzelproben aus den Buchten nachzuuntersuchen, falls in einer der Gesamtproben aus den Buchten Salmonellen nachgewiesen werden.

6 Zusammenfassung

Muhammed Yilmaz

Erarbeitung von Methoden und Strategien zur Prävention des Eintrages von Salmonellen in die Nahrungskette auf der Ebene der Primärproduktion beim Schwein

Institut für Tierhygiene und öffentliches Veterinärwesen der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

und dem

Institut für Umwelt- und Tierhygiene sowie Tiermedizin mit Tierklinik der Universität Hohenheim.

100 Seiten, 57 Abbildungen, 33 Tabellen, 179 Literaturangaben, Anhang mit 3 Tabellen

Schlüsselwörter: Salmonellen, Schwein, Strategien, Eigenkontrolle

Mit der seit März 2007 geltenden „Verordnung zur Verminderung der Salmonellenverbreitung durch Schlachtschweine“ (Schweine-Salmonellen-Verordnung), wurde die europäische Verordnung zur Zoonosenbekämpfung EG 2160/2003 im Hinblick auf die Salmonellenproblematik bei Mastschweinen in Deutschland umgesetzt. Die mit dieser Verordnung ermittelten serologischen Befunde haben einen retrospektiven Charakter und erreichen den Schweinezüchter meist Wochen nach der Schlachtung. Daher können diese Befunde keinen Hinweis über die aktuelle Salmonellen-Situation im Schweinebestand geben. Ziel der Untersuchungen nach der SSV (Schweine-Salmonellen-Verordnung) ist nicht die Identifikation Salmonellen-infizierter Einzeltiere, sondern, die Kategorisierung der Schweinemastbetriebe, um Schlachttiere aus Salmonellen-belasteten Betrieben gesondert dem Schlachtprozess zu unterziehen, die zur Kontrolle des Erfolgs eines Hygienemanagements auf Herdenbasis mittels der zugelassenen serologischen Tests erfolgen. Für die Untersuchung von Einzeltieren sind diese Tests aufgrund ihrer Konzeption nicht geeignet. Es fällt dem Inhaber eines Endmastbetriebes meist schwer, die Schwachstellen im eigenen Schweinemastbetrieb aufzudecken und diese zu beheben. Schließlich wird in diesem Zusammenhang mit dem erwähnten serologischen Vorgehen eine größere Bedeutung dem Monitoring von Salmonellen im Bestand beigemessen, als der Prävalenz und das schnelle Erkennen von Veränderungen. Zur Prävention des Eintrages von Salmonellen in die Nahrungskette fehlen gezielte Methoden und Strategien welche zeitnah dem Landwirt einen Hinweis über die aktuelle Situation im Schweinebestand geben können.

Eine wirkungsvolles Vorgehen zur Verhinderung des Eintrages von Salmonellen in die Nahrungskette („Food Chain“) ist nur bei weitgehender Einbindung der Primärproduktion in das Vorgehen möglich, dazu muss aber der landwirtschaftliche Betrieb wissen, welche Maßnahmen zur Eigenkontrolle er sinnvollerweise bei einem vertretbaren Kostenansatz durchführen kann. Um dies zu ermöglichen, musste zuerst eine Analyse der Schwachstellen

und die Identifizierung von effektiven Probenahmeorten in ausgewählten unterschiedlich konzipierten Betrieben erfolgen. Gleichzeitig musste eine Nachweismethode entwickelt werden, die mit einer begrenzten Menge Probenmaterial von verschiedenen Probenahmeorten im Betrieb einen weitgehend sicheren und empfindlichen Salmonellennachweis ermöglicht. Dies geschah in zwei Schritten, zuerst in Langzeituntersuchungen ausgewählter Betriebe, gefolgt von einem zweiten Schritt zur Verifizierung der aus diesen Untersuchungen resultierenden Beprobungsstrategie. Zunächst wurden in sogenannten Langzeituntersuchungen verschiedene Probenpunkte mit drei standardisierten bakteriologischen Nachweisverfahren und zwei Real-Time PCR-Verfahren auf vier verschiedenen Schweinemastbetrieben vergleichend untersucht. Mit den Ergebnissen wurde die effektivste Nachweismethode sowie die aus praktischer Sicht anwendbaren Probenahmeorte ermittelt. Mit den sich anschließenden sogenannten Querschnittsuntersuchungen konnten die ermittelten Probenahmeorte und Nachweismethoden auf acht zufällig ausgewählten Schweinebetrieben angewandt und bestätigt werden.

Um den Eintrag von Salmonellen in die Nahrungskette vorzubeugen, müssen gezielte Maßnahmen erfolgen, die den Landwirt bei der Eigenkontrolle des Betriebes unterstützen. Werden frühzeitig die Schwachstellen im Betrieb erkannt und Defizite im Hygienemanagement festgestellt, können diese mit einer wirkungsvollen Vorgehensweise beseitigt werden. Deshalb muss der Tierhalter zunächst eine Analyse der Stoffflüsse, inklusive der Tierbewegungen in seinem Betrieb machen und die potentiellen Eintragswege identifizieren um hier, falls notwendig, Kontrollpunkte einzurichten oder vertragliche Zusicherungen auf Salmonellenfreiheit zu erwirken, bzw. beide Maßnahmen miteinander zu kombinieren. Dann muss er sein Konzept zur Tierhaltungshygiene überprüfen, sowohl was die baulichen Gegebenheiten als auch was die Wirksamkeit der Maßnahmen zur Stallhygiene betrifft. Mindestens muss er einen Hygieneplan mit Kontrollen auf die Wirksamkeit von Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen erstellen. Dabei ist es wichtig, dass Proben aus der direkten Umgebung der Tiere untersucht werden, dabei sollten auch Proben vom Boden, den Wänden, der Decke und aus der Lüftung einbezogen werden und mit den Methode III und V auf Salmonellen untersucht werden.

7 Summary

Muhammed Yilmaz

Development of methods and strategies for preventing the entry of *Salmonella* into the food chain at the level of primary production in pigs

Institute of Animal Hygiene and Veterinary Public Health of the Veterinary Faculty of the University of Leipzig

and the

Institute for Environmental and Animal Hygiene and Veterinary Medicine with Animal Clinic of the University of Hohenheim

100 pages, 57 figures, 33 tables, 179 references, appendix with 3 tables

Key words: *Salmonella*, pig, strategies, self-monitoring

With the "Regulation to reduce salmonella spread by pigs" (porcine salmonella regulation or SSV), in effect since March 2007, the European Regulation EC 2160/2003 on the control of zoonoses has been implemented in terms of the problem of salmonella in feeding pigs in Germany. The serological findings obtained with this regulation have a retrospective character and reach the farmer usually weeks after the slaughter. Therefore, these findings do not indicate the current salmonella situation in the pig farms. The aim of the investigations conducted under the SSV is not to identify individual salmonella-infected animals but to categorize the pig farms in order to slaughter animals from salmonella-contaminated farms separately; this process helps monitor the outcome of a hygiene management on a herd basis using the approved serological tests. Because of their design, these tests are not suitable for examining individual animals. It is usually difficult for the owner of a final fattening farm to uncover and fix the weaknesses in their own pig farm. After all, with the previously mentioned serological approach in this context, greater importance is given to monitoring current levels of salmonella than to the prevalence and rapid detection of changes. In terms of preventing the entry of salmonella into the food chain, there is a lack of systematic methods and strategies that could give farmers an indication of the current situation in the pig population.

An approach for preventing the entry of salmonella into the food chain can only be effective if it incorporates primary production to a large extent; in addition, farmers must know which measures they can implement to sensibly self-monitor at a reasonable cost. To make this possible, weak points had to be analyzed and effective sampling points had to be identified in a selection of farms with varying designs. At the same time, a method had to be developed for detecting salmonella with great accuracy and sensitivity with a limited amount of sample material from a variety of sampling locations in an operation. This occurred in two stages: first, long-term analyses of selected operations, and second, verification of the sampling

strategy resulting from these analyses. The first stage used long-term analyses to study and compare various sampling points at four different pig farms, using three standardized bacteriological detection methods and two real-time PCR methods. The results helped determine the most effective detection methods and, from a practical viewpoint, the applicable sampling points. With the subsequent cross-sectional studies, the determined sampling points and detection methods were implemented on eight randomly selected pig farms and confirmed.

To prevent the entry of salmonella into the food chain, specific measures must be available to support farmers in self-monitoring their operations. If weak points in operations and hygiene management are detected early, they can be eliminated with an effective approach. For this reason, farmers must first analyze material flows in their operations, including animal movement, and identify potential entry paths; based on these findings, they can, if necessary, set up monitoring points and/or effect contractual guarantees of a lack of salmonella. Then, they must assess their concept for livestock health, including structural conditions and the effectiveness of stall hygiene measures. At the very least, they must draw up a hygiene plan that includes monitoring the effectiveness of cleaning and disinfection measures. During this process, it is important that samples from the animals' immediate surroundings be analyzed; this means that samples from the floor, walls, ceiling, and ventilation must be included and tested for salmonella using methods III and V.

8 Literaturverzeichnis

Aabo S, Rasmussen OF, Rossen L, Sorensen PD, Olsen JE. *Salmonella* identification by the polymerase chain reaction. Moll Cell Probes 1993; 7: 171-8.

Al Tarazi YH, Alshawabkeh K. Effect of dietary formic and propionic acids on *Salmonella* pullorum shedding and mortality in layer chicks after experimental infection. J Vet Med B. 2003; 50: 112-7.

Anderson A, Pietsch K, Zucker R, Mayr A, Müller-Hohe E, Messelhäusser U, Sing A, Busch U, Huber I. Validation of a duplex Real-Time PCR for the detection of *Salmonella* spp. in different food products. 2010 (zitiert vom 11.06.2010): 1-9, DOI 10.1007/s12161-010-9142-8 <<http://www.springerlink.com/content/x4l5471635671178>>.

Anderson RC, Nisbet DJ, Buckley SA, Genovese KJ, Harvey RB, DeLoach JR, Keith NK, Stanker LH. Experimental and natural infection of early weaned pigs with *Salmonella* cholerasuis. Res Vet Sci. 1998; 64: 261-2.

Andrew MHE, Russell AD. The revival of injured microbes. 1. Aufl. London: Academic Press; 1984.

Andrews WH. Resuscitation of injured *Salmonella* spp. and Coliforms from Foods. J Food Prot. 1986; 49: 62-75.

Andrews WH. Wiley Award Address. Evolution of methods for the detection of *Salmonella* in foods. J AOAC Int. 1996; 79: 4-12.

Anon. Leitfaden für Programme zum Monitoring und zur Reduzierung von lebensmittelassoziierten Zoonoseerregern im Rahmen des QS-Prüfzeichens: I. Salmonellenmonitoring und –reduzierungsprogramm für die Schweinefleischerzeugung. Version: 01.03.2006. QS Qualität und Sicherheit GmbH; 2006.

Anon. Verordnung über Anforderungen an die Hygiene beim Herstellen, Behandeln und Inverkehrbringen von Lebensmitteln (LMHV) vom 08.08.2007 BGBl I.S.2008.

Anon. Verordnung zur Verminderung der Salmonellenverbreitung durch Schlachtschweine (SchwSalmoV) vom 13.03.2007a BGBl I.S.322.

Arnold T, Scholz HC, Marg H, Roesler U, Hensel A. Impact of invA-PCR and culture detection methods on occurrence and survival of *Salmonella* in the flesh, internal organs and lymphoid tissues of experimentally infected pigs. J Vet Med B.2004; 51: 459-63.

Bager F, Petersen J. Sensitivity and Specificity of Different Methods for the Isolation of *Salmonella* from Pigs. Acta Veterinaria Scandinavica 1991; 32: 473-81.

Barer MR, Gribbon LT, Harwood CR, Nwoguh CE. The viable but non-culturable hypothesis and medical microbiology. Rev Med Microbiol. 1993; 4: 183-91.

- Barrow PA, Jones MA, Thomson N. *Salmonella*. In: Gyles CL, Prescott JF, Songer G, Thoen CO, Hrsg. Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals. 1. Aufl. Iowa: Blackwell; 2010. p. 231-57.
- Baumler AJ, Tsolis RM, Heffron F. Role in bacterial interactions with epithelial cells. *Adv Exp Med Biol*. 1997; 412: 149-58.
- Berends BR, Urlings HAP, Snijders JMA, Van Knapen F. Identification and quantification of risk factors in animal management and transport regarding *Salmonella* spp. in pigs. *Int J Food Microbiol*. 1996; 30: 37-53.
- Berndt A, Methner U. Gamma/delta T cell response of chickens after oral administration of attenuated and non-attenuated *Salmonella* typhimurium strains. *Vet Immunol Immunopathol*. 2001; 78: 143-61.
- Bertrand S, Rimhanen-Finne R, Weill FX. *Salmonella* infections associated with reptiles: the current situation in Europe. *EuroSurveill*. 2008; 13: 24.
- Bhat P, Rajan D. Comparative Evaluation of Deoxycholate Citrate Medium and Xylose Lysine Deoxycholate Medium in Isolation of Shigellae. *Amer J Clin Pathol*. 1975; 64: 399-04.
- Bhunja AK. Foodborne Microbial Pathogens. In: *Salmonella enterica*. 1. Aufl. USA: Springer Science+Business Media LLC; 2008. p. 201-216.
- Bisping W, Amtsberg G. Farbatlas zur Diagnose bakterieller Infektionserreger der Tiere. 1. Aufl. Berlin: Parey Scientific Publishers Verlag; 1988.
- Bisping W. Salmonellen in Futtermitteln. *Dtsch Tierärztl Wochenschr*. 1993; 100: 262-3.
- Blahe T. Angewandte Epizootiologie und Tierseuchenbekämpfung. 1. Aufl. München: Urban & Fischer Verlag; 1988.
- Blahe T. Bisherige Erkenntnisse aus dem QS-Salmonellenmonitoring- und reduzierungsprogramm. *Dtsch Tierärztl Wochenschr*. 2004; 111: 324-6.
- Blahe T. Die Ausbreitungsdynamik von Salmonellen in Tierbeständen. *Dtsch Tierärztl Wochenschr*. 1993; 100: 278-80.
- Bode K. Serologische und epidemiologische Untersuchungen zur Salmonellendynamik in Schweinebeständen für die Optimierung des Salmonellenmonitorings beim Schwein. [Dissertation med. vet]. Hannover: TiHo; 2007.
- Boes J, Alban L, Bagger J, Mogelmose V, Bagessen DL, Olsen JE. Survival of *Escherichia coli* and *Salmonella* Typhimurium in slurry applied to clay soil on a Danish swine farm. *Prev Vet Med*. 2005; 69: 213- 28.
- Böhm R. Auswirkungen von Rückständen von Antiinfektiva in tierischen Ausscheidungen auf Güllebehandlung und Boden; 1996 Feb 23; Hannover: 24. Seminar Umwelthygiene „Gesundheits- und Umweltrisiken nach Anwendung von Antiinfektiva und Antiparasitika in

der Nutztierhaltung“ World Health Organisation Collaborating Center for Research and Training in Veterinary Public Health an der Tierärztlichen Hochschule Hannover; 1996b.

Böhm R. Verbreitungswege für Infektionserreger in der Umwelt. Lebensmittelsicherheit durch Gesundheits- und Umweltschutz im Tierbereich; 1996 Sep 27-29; Berlin: Seminar Fortbildungszentrum Gesundheits- und Umweltschutz Berlin e.V.; 1996a.

Böhm R. Verhalten ausgewählter Salmonellen in der Umwelt. Dtsch Tierärztl Wochenschr. 1993; 100: 275-8.

Bollwahn W. Zoonosen beim Schwein – Risiken und Maßnahmen. Schriftreihen der Akademie für Tiergesundheit: Zoonosen; Risiken aus übertragbaren Krankheiten und deren Bekämpfung für die Gesundheit von Tier und Mensch; 1991 Mär 14-15; Wiesbaden-Naurod: Verlag der Ferber'schen Universitätsbuchhandlung; 1991.

Bowe F, Lipps CJ, Tsohis RM, Groisman E, Heffron F, Kusters JG. At least for percent of the *Salmonella typhimurium* genome is required for fatal infection of mice. Infect Immun. 1998; 66: 3372-7.

Busse M. Media for *Salmonella*. Int J Food Microbiol. 1995; 26: 117-31.

Busta FF. Introduction to injury and repair of microbial cells. Appl Microbiol. 1978; 23: 195-200.

Chen W, Martinez G, Mulchandani A. Molecular beacons: a real time polymerase chain reaction assay for detecting *Salmonella*. Anal Biochem. 2000; 280: 166-72.

Dahl J, Wingstrand A, Nielsen B, Baggesen DL. Elimination of *Salmonella typhimurium* infection by the strategic movement of pigs. Vet Rec. 1997; 140: 679-81.

Davies PR, Scott HH, Funk JA, Fedorka-Cray PJ, Jones FT. The role of contaminated feed in the epidemiology and control of *Salmonella enteric* in pork production. Foodborne Patho Dis. 2004; 1: 202-15.

Davies RH, Breslin M. Investigation of *Salmonella* contamination and disinfection in farm egg-packing plants. J Appl Microbiol. 2003; 94: 191-6.

Dedié K, Bockemühl J, Kühn H, Volkmer KJ, Weinke T. Bakterielle Zoonosen bei Tier und Mensch. 1. Aufl. Stuttgart: Enke; 1993.

Deutsches Institut für Normung (DIN) 1999. DIN 10135: Verfahren zum Nachweis von Salmonellen mit der Polymerase-Kettenreaktion (PCR).

Doyle ME, Mazotta AS. Review of studies on the thermal resistance of Salmonellae. J Food Prot. 2000; 63: 779-95.

Dunn C, Martin WJ. Comparison of Media for Isolation of Salmonellae and Shigellae from Fecal Specimens. App Microbiol. 1971; 22: 17-23.

- Eichelberg K, Ginocchio CC, Galan JE. Molecular and functional characterisation of the *Salmonella* typhimurium invasion genes *invB* and *invC*: homology of *invC* to the F0F1 ATPase family of proteins. *J Bacteriol.* 1994; 176: 4501-10.
- Ellerbroek L. Stärkeres Augenmerk auf Schweinefleisch. *Fleischwirtschaft.* 2007; 7: 15-7.
- Ellingson JL, Anderson JL, Carlson SA, Sharma VK. Twelve hour real-time PCR technique for the sensitive and specific detection of *Salmonella* in raw and ready-to-eat meat products. *Mol Cell Probes* 2004; 18: 51-7.
- Erdman MM, Harris IT, Torremorell M, Wilt VM, Harris DL. Occurrence of *Salmonella* serotype Typhimurium DT104 on a commercial swine farm before, during and after depopulation and repopulation. *J Am Vet Med Assoc.* 2005; 227: 460-6.
- Erol I, Kleer J, Hildebrandt G, Yurtyeri A. Coupling of immunomagnetic separation and polymerase chain reaction for the rapid detection of *Salmonellae* in minced meat and chicken giblets. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.* 1999; 112: 100-3.
- European Food Safety Authority (EFSA) 2009. Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Salmonella* in holdings with breeding pigs in the EU, 2008. *EFSA Journal* 2009; 7: 1-93.
- Euzeby JP. Revised *Salmonella* nomenclature: designation of *Salmonella enteric* (ex Kauffmann and Edwards 1952) Le Minor and Popoff 1987 sp. nov., nom. rev. as the neotype species of the genus *Salmonella* Lignieres 1900 (approved lists 1980), rejection of the name *Salmonella choleraesuis* (Smith 1894) Weldin 1927 (approved lists 1980), and conservation of the name *Salmonella typhi* (Schroeter 1886) Warren and Scott 1930 (approved lists 1980). *Int J Syst Bacteriol.* 1999; 49: 927-30.
- Fang Q, Brockmann S, Botzenhart K, Wiedenmann A. Improved detection of *Salmonella* spp. in foods by fluorescent in situ hybridization with 23S rRNA probes: a comparison with conventional culture methods. *J Food Prot.* 2003; 66: 723-31.
- Farzan A, Friendship RM, Dewey CE, Warriner K, Poppe C, Klotins K. Prevalence of *Salmonella* spp. on Canadian pig farms using liquid or dry-feeding. *Prev Vet Med.* 2006; 73: 241-54.
- Feberwee A, De Vries TS, Hartman EG, De Wit JJ, Elbers AR, De Jong WA. Vaccination against *Salmonella* enteritidis in Dutch commercial layer flocks with a vaccine based on a live *Salmonella gallinarum* 9R strain: evaluation of efficacy, safety and performance of serologic *Salmonella* tests. *Avian Dis.* 2001; 45: 83-91.
- Fedorka-Cray PJ, Bailey JS, Stern NJ, Cox NA, Ladely SR, Musgrove M. Mucosal competitive exclusion to reduce *Salmonella* in swine. *J Food Prot.* 1999; 62: 1376-80.
- Fedorka-Cray PJ, Gray JT, Wray C. *Salmonella* infections in Pigs. In: Wray C, Wray A, Hrsg. *Salmonella* in domestic animals. 1. Aufl. New York: CABI Publishing; 2000. p. 191-208.

- Fedorka-Cray PJ. Mechanism of host-agent interactions in subclinical *Salmonella* infections in pig herds. Proceedings 2nd International Symposium on Epidemiology and Control of *Salmonella* in Pork; 1997 Aug 20-22; Copenhagen;1997.
- Fell G, Hamouda O, Lindner R. An outbreak of *Salmonella* blockley infections following smoked eel consumption in Germany. *Epidemiol Infect.* 2000; 125: 9-12.
- Feuerpfeil I, Lopez-Pila J, Schmidt R, Schneider E, Szewzyk R. Antibiotikaresistente Bakterien und Antibiotika in der Umwelt. *Bundesgesundheitsbl.* 1999; 42: 37-50.
- Fields PI, Swason RV, Haidaris CG, Heffron F. Mutants of *Salmonella* typhimurium that cannot survive within the macrophage are avirulent. *Proc Natl Acad Sci.* 1986; 83: 5189-93.
- Frank C, Buchholz U, Maaß M. Protracted outbreak of *S. Enteritidis* PT 21C in a large Hamburg nursing home. *BMC Public Health* 2007; 7: 243.
- Fransen NG, Van den Elzen AM, Urlings, BA, Bijker PG. Pathogenic microorganisms in slaughterhouse sludge a survey. *Int J Food Microbiol.* 1996; 33: 245-56.
- Friker CR. A comparison of isolation procedures for salmonellas from polluted water using two forms of Rappaport's medium. *J Appl Bacteriol.* 1984; 56: 305-9.
- Frost AJ, Bland AP, Wallis TS. The early dynamic response of the calf ileal epithelium to *Salmonella* typhimurium. *Vet Pathol.* 1997; 34: 369-86.
- Galan JE, Bliska JB. Cross-talk between bacterial pathogens and their host cells. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 1996; 12: 221-55.
- Galan JE, Curtiss R. Cloning and Molecular Characterization of Genes Whos products allow *Salmonella* Typhimurium to penetrate tissue-culture Cells. *Proc Natl Acad Sci.* 1989; 86: 6383-7.
- Galan JE, Ginochio C, Costeas P. Molecular and functional characterization of the *Salmonella* invasion gene *invA* homology of *InvA* to members of a new protein family. *J.Bacteriol.* 1992; 174: 4338-49.
- Galan JE. *Salmonella* interactions with host cells: type III secretion at work. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2001; 17: 53-86.
- Gareis M. *Salmonellae* – A survey. *Fleischwirtschaft.* 1995; 75: 954-7.
- Genovese KJ, Anderson RC, Harvey RB, Callaway TR, Poole TL, Edrington TS, Fedorka-Cray PJ, Nisbet DJ. Competitive exclusion of *Salmonella* from the gut of neonatal and weaned pigs. *J Food Prot.* 2003; 66: 1353-9.
- Germap (2008): Antibiotika-Resistenz und –Verbrauch. Bericht über den Antibiotikaverbrauch und die Verbreitung von Antibiotikaresistenzen in der Human- und Veterinärmedizin in Deutschland. Antiinfectives Intelligence, Gesellschaft für klinisch-mikrobiologische Forschung und Kominakation mbH.

- Guiney DG, Fang FC, Krause M, Libby S. Plasmid-mediated virulence genes in non-typhoid *Salmonella* serovars. *FEMS Microbiol Lett.* 1994; 124: 1-9.
- Gupta SK, Nalluswami K, Snider C. Outbreak of *Salmonella* Braenderup infections associated with Roma tomatoes, northeastern United States, 2004: a useful method for subtyping exposures in field investigations. *Epidemiol Infect.* 2007; 135: 1165-73.
- Haesenbrouck F, Pasmans F, Chiers K, Maes D, Ducatelle R, Decostere A. Efficacy of vaccines against bacterial diseases in swine: what can we expect?. *Vet Microbiol.* 2004; 100: 255-68.
- Hald T, Wingstrand A, Swanenburg M, Von Altrock A, Thorberg BM. The occurrence and epidemiology of *Salmonella* in European pig slaughterhouses. *Epidemiol Infect.* 2003; 131: 1187-1203.
- Hartung M. Erreger von Zoonosen in Deutschland im Jahr 2008 – Mitteilungen der Länder zu Lebensmitteln, Tieren, Futtermitteln und Umweltproben. Berlin: BfR Hausdruckerei Dahlem; 2010.
- Hedemann MS, Mikkelsen LL, Naughton, PJ, Jensen BB. Effect of feed particle size and feed processing on morphological characteristics in the small and large intestine of pigs and on adhesion of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium DT12 in the ileum in vitro. *J Anim Sci.* 2005; 83: 1554-62.
- Heinritzi K, Gindele HR, Reiner G, Schnurrbusch U. Schweinekrankheiten. 1. Aufl. Stuttgart: Ulmer; 2006.
- Helmuth R. Die molekularbiologische Basis der Virulenz von Salmonellen und daraus resultierenden neue Nachweismethoden. *Dtsch Tierarztl Wochenschr.* 1993; 100: 252-5.
- Hensel M, Hinsley AP, Nikolaus T, Sawers G, Berks BC. The genetic basis of tetrathionate respiration in *Salmonella typhimurium*. *Mol Microbiol.* 1999a; 32: 275-87.
- Hensel M, Nikolaus T, Egelseer C. Molecular and functional analysis indicates a mosaic structure of *Salmonella* pathogenicity island 2. *Mol Microbiol.* 1999; 31: 489-98.
- Hensel M. Evolution of pathogenicity islands of *Salmonella enterica*. *Int J Med Microbiol.* 2004; 294: 95-102.
- Hof H, Dörries R. Medizinische Mikrobiologie. 4 Aufl. Stuttgart: Thieme; 2009.
- Hsieh HY, Tsen HY. Combination of immunomagnetic separation and polymerase chain reaction for the simultaneous detection of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. in food samples. *J Food Prot.* 2001; 64: 1744-50.
- Hueck CJ. Type III protein secretion systems in bacterial pathogens of animals and plants. *Microbiol Mol Biol Rev.* 1998; 62: 379-433.
- Hurst A. Bacterial injury: A review. *Canad J Microbiol.* 1977; 23: 936-42.

International Organization for Standardization (ISO) 1995. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for detection of thermotolerant *Campylobacter* (ISO 10272:1995).

International Organization for Standardization (ISO) 2002. Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln – Horizontales Verfahren zum Nachweis von *Salmonella* spp. (ISO 6579:2002).

International Organization for Standardization (ISO) 2005. Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln – Horizontales Verfahren zum Nachweis von *Salmonella* spp. – Änderung 1 Anhang D: Nachweis von *Salmonella* spp. In Tierkot und in Proben aus der Primärproduktion (ISO 6579:2002/DAmD 1:2005).

Jansen A, Frank C, Prager R. Nation-wide outbreak of *Salmonella* Give in Germany 2004. Z Gastroenterol. 2005; 43: 707-13.

Jansen A, Frank C, Stark K. Pork and pork products as a source for human salmonellosis in Germany. Berl Münch Tierärztl Wochenschr. 2007; 120: 340-6.

Jensen AN, Dalsgaard A, Stockmarr A, Nielsen EM, Baggesen DL. Survival and transmission of *Salmonella enterica* serovar typhimurium in an outdoor organic pig farming environment. Appl Environ Microbiol. 2006; 72: 1833-42.

Jensen AN, Sorensen G, Baggesen DL, Bodker R, Hoorfar, J. Addition of Novobiocin in pre-enrichment step can improve *Salmonella* culture protocol of modified semisolid Rappaport-Vassiliadis. J Microbiol Methods. 2003; 55, 249-55.

Johnston WT, Dewey CE, Friendship RM, Smart N, McEwen BJ, Stalker M, De Lange CF. An investigation of the etiology of a mild diarrhea observed in a group of grower/finisher pigs. Can Vet J. 2001; 42: 33-7.

Jones BD, Falkow S. Salmonellosis: host immune responses and bacterial virulence determinants. Annu Rev Immunol. 1996; 14: 533-61.

Juven BJ, Cox NA, Bailey JS, Thomson JE, Charles OW, Schütze JW. Recovery of *Salmonella* from artificially contaminated poultry feeds in nonselective and selective broth media. J Food Prot. 1984; 47: 299-302.

Kamphues J, Tabeling R, Stuke O. Interessante diätetische Effekte von Laktulose als Futterzusatzstoff in Schweinefutter. Dtsch Tierärztl Wochenschr. 2003; 110: 365-8.

Karpelyants AS, Gottschal JC, Kell DB. Dormancy in nonsporulating bacteria. FEMS Microbiol Rev. 1993; 104: 271-86.

Karuniawati A. Untersuchungen von Umweltproben auf „viable but not culturable“ *Salmonellen* und enterohämorrhagische *Escherichia coli* (EHEC). [Dissertation sc. agr.]. Stuttgart: Univ. Hohenheim; 2001.

Kauffmann, F. Das *Salmonella* subgenus IV. Ann Immunol Hungar. 1966; 9: 77-80.

- Kauffmann, F. Weitere Erfahrungen mit dem kombinierten Anreicherungsverfahren für Salmonella Bazillen. Zeitschrift Hyg Infektionskrnkh. 1935; 117: 26-32.
- Kell DB, Karpelyants DB, Weichart DH, Harwood CR, Barer MR. Viability and activity in readily culturable bacteria: A review and discussion of the practical issues. Antonie van Leeuwenhoeck. 1998; 73: 169-87.
- Koch J, Schrauder A, Alpers K. Salmonella agona outbreak from contaminated aniseed, Germany. Emerg Infect Dis. 2005; 11: 1124-7.
- Kraus, H., Weber, A., Enders, B., Schiefer, H. G., Slenczka, W., Zahner, H. Zoonosen. 2. Aufl. Köln: Deutscher Ärzteverlag; 1997.
- Kristensen M, Lester V, Jürgens A. Use of trypsinized casein, brom-thymol blue, brom-cresol-purple, phenol-red and brilliant green for bacteriological nutrient media. Br J Exp Pathol. 1925; 6: 291-9.
- Le Minor L, Popoff MY. 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. 1987; 37: 465-8.
- Lehmann J, Lindner T, Naumann M, Kramer T, Steinbach G, Blaha T, Ehlers J, Selbitz HJ, Gabert J, Roesler U. Application of a novel Pig Immunoglobulin-Isotype-specific Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Detection of Salmonella enterica Serovar Thyphimurium Antibodies in Serum and Meat Juice. Proceedings of the 18. International Pig Veterinary Society World Congress; 2004 June 27-July 1; Hamburg, 2004.
- Lehmann J, Roesler U, Lindner T, Kramer T, Gabert J, Hensel A. Discrimination of vaccinated and infected pigs by Salmonella-specific IgA antibodies. Proceedings of the 5th International symposium on the Epidemiology and Control of food borne pathogens in Pork; 2003 Oct 1-4; Hersonissos, Heraklion, Creete-Greece; 2003.
- Linde K, Hahn I, Vielitz E. Entwicklung von optimal für das Huhn attenuierten Salmonella-Lebendimpfstoffen. Tierärztl Umschau. 1996; 51: 23-31.
- Lindgren SW, Stojiljkovic I, Hefron F. Macrophage killing is an essential virulence mechanism of Salmonella typhimurium. Proc Natl Acad Sci. 1996; 93: 4197-201.
- Mäde D, Petersen R, Trumper K, Stark R, Grohmann L. In-house validation of real-time PCR method for rapid detection of *Salmonella* ssp. in food products. EURO Food Res Technol. 2004; 219: 171-7.
- Malorny B, Anderson A, Huber I. *Salmonella* real-time PCR-Nachweis. J Verbr Lebensm. 2007; 2: 149-56.
- Malorny B, Paccassoni E, Fach P, Bunge C, Martin A, Helmuth R. Diagnostic real-time-PCR for the detection of Salmonella in food. Appl Environ Microbiol. 2004; 70: 7046-52.

- Malorny B, Tassios PT, Rådström P, Cook N, Wagner M, Hoorfar J. Standardization of diagnostic PCR for the detection of foodborne pathogens. *Int J Food Microbiol.* 2003; 83: 39-48.
- Marg H, Scholz HC, Arnold T, Rösler U, Hensel A. Influence of long-time transportation stress on re-activation of *Salmonella typhimurium* DT104 in experimentally infected pigs. *Berl Münch Tierärztl Wochensch.* 2001; 114: 385-8.
- Mason CA, Hamer G, Bryers JD. The death and lysis of microorganisms in environmental processes. *FEMS Microbiol Rev.* 1986; 39: 373-401.
- Matlho G, Himathongkham S, Riemann H, Kass P. Destruction of *Salmonella enteritidis* in poultry feed by combination of heat and propionic acid. *Avian Dis.* 1997; 41: 58-61.
- McClelland M, Sanderson KE, Spieth J, Clifton SW, Latreille P, Courtney L, Porwollik S, Ali J, Dante M, Du F, Hou S, Layman D, Leonard S, Nguyen C, Scott K, Holmes A, Grewal N, Mulvaney E, Ryan E, Sun H, Florea L, Miller W, Stoneking T, Nhan M, Waterston R, Wilson RK. Complete genome sequence of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium LT2. *Nature.* 2001; 413: 852-6.
- McSorley SJ, Jenkins MK. Antibody is required for protection against virulent but not attenuated *Salmonella enteric* serovar typhimurium. *Infect Immun.* 2000; 68: 3344-8.
- Meerburg BG, Jacobs-Reitsma WF, Wagenaar JA, Kijlstra A. Presence of *Salmonella* and *Campylobacter* spp. in wild small mammals on organic farms. *Appl Environ Microbiol.* 2006; 72: 960-2.
- Mermin J, Hutwagner L, Vugia D. Reptiles, amphibians and human *Salmonella* infection: a population-based, case control study. *Clin Infect Dis.* 2004; 38: 253-61.
- Methner U, Berndt A, Steinbach G. Combination of competitive exclusion and immunization with an attenuated live *Salmonella* vaccine strain in chickens. *Avian Dis.* 2001; 45: 631-8.
- Meyer, H. Zur Epidemiologie der *Salmonella*-Infektionen bei Rind und Schwein. Akademie für Tierärztliche Fortbildung Schriftenreihe: Interdisziplinäres Symposium SALMONELLOSE; 1992 Nov 16-17; Bonn- Bad Godesberg; 1992.
- Mittrucker HW, Kaufmann SH. Immune response to infection with *Salmonella typhimurium* in mice. *J Leukoc Biol.* 2000; 67: 457-63.
- Mittrucker HW, Kohler A, Kaufmann SH. Characterization of the murine T-lymphocyte response to *Salmonella enterica* serovar Typhimurium infection. *Infect Immun.* 2002; 70, 199-203.
- Morgan E, Campbell JD, Rowe SC, Bispham J, Stevens MP, Bowen AJ, Barrow PA, Maskell DJ, Wallis TS. Identification of host specific colonization factors of *Salmonella enteric* serovar Typhimurium. *Mol Microbiol.* 2004; 54: 994-1010.

- Neser JA. Porcine Salmonellosis. In: Coetzer JAW, Thomson GR, Tustin RC, Hrsg. Infectious disease of livestock. Oxford: University press; 1994. p. 1120-4.
- Nollet, N., Houf, K., Dewulf, J., De Kruif, A., De Zutter, L., Maes, D. (2005): Transmission of *Salmonella* from sows to piglets: a longitudinal study. Proceedings of the 6th International Symposium on the Epidemiology and Control of Foodborne Pathogens in Pork (Safepork); 2005 Sep 6-9; Rohnert Park, California, USA; 2005.
- Olsen A, Aabo S, Nielsen EO, Nielsen BB. Isolation of *Salmonella*-specific DNA hybridization probe. APMIS. 1991; 99: 114-20.
- Olsen AR, Hammack TS. Isolation of *Salmonella* spp. from the housefly, *Musca domestica* L., and the dump fly, *Hydrotaea aenescens* (Wiedemann) (Diptera: Muscidae), at caged-layer houses. J Food Prot. 2000; 63: 958-60.
- Olsen SJ, DeBess EE, McGivern TE. A nosocomial outbreak of fluoroquinolone-resistant *Salmonella* infection. N Engl J Med. 2001; 344: 1572-9.
- Osterberg J, Ekwall SJ, Nilsson I, Stampe M, Engvall A, Wallgren P. Eradication of *Salmonella* Yoruba in an integrated pig herd. Berl Münch Tierärztl Wochenschr. 2001; 114: 331-4.
- Osterberg J, Vagsholm I, Boqvist S, Lewerin SS. Feed-borne outbreak of *Salmonella cubana* in Swedish pig farms: risk factors affecting the restriction period in infected farms. Acta Vet Scand. 2006; 47: 13-21.
- Pappenbrock S, Stemme K, Amtsberg G, Verspohl J, Kamphues J. Investigations on prophylactic effects of coarse feed structure and/or potassium diformate on the microflora in the digestive tract of weaned piglets experimentally infected with *Salmonella* Derby. J Anim Physiol Anim Nutr. 2005; 89: 84-7.
- Perales I, Erkiaga E. Comparison between semisolid Rappaport and modified semisolid Rappaport-Vassiliadis media for the isolation of *Salmonella* spp. from foods and feeds. Int J Food Microbiol. 1991; 14: 51-7.
- Pietzsch, O. Handbuch der bakteriellen Infektionen bei Tieren. 1.Aufl. Jena: VEB Fischer Verlag; 1981.
- Piotkowski, A. (2008): Salmonellen beim Schwein – rechtlich betrachtet. In: Salmonellen Handbuch. 1. Aufl. Horstmar-Leer: Agrar- und Veterinärakademi; 2008. p. 12-15.
- Popoff MY, Bockemuhl J, McWhorter-Murlin A. Supplement 1993 (no. 37) to the Kauffmann-White scheme. Res Microbiol. 1994; 145: 711-6.
- Quante, U. Untersuchungen zum Vorkommen von Salmonellen bei Zuchtschweinen. [Dissertation med. vet]. Hannover: TiHo; 2000.

- Rabsch W, Prager R, Koch J. Molecular epidemiology of *Salmonella enterica* serovar Agona: characterization of a diffuse outbreak caused by aniseed-fennel-caraway infusion. *Epidemiol Infect.* 2005; 133: 837-44.
- Rahn K, De Grandis SA, Clarke RC, McEwen SA, Galan JE, Ginocchio C, Curtiss R, Gyles CL. Amplification of an *invA* gene sequence of *Salmonella typhimurium* by polymerase chain reaction as a specific method of detection of *Salmonella*. *Mol Cell Probes.* 1992; 6: 271-9.
- Rappaport F, Konforti N, Navon B. A New Enrichment Medium for Certain *Salmonellae*. *J Clin Pathol.* 1956; 9: 261-6.
- Reeves MW, Evins GM, Heiba AA, Plikaytis BD, Farmer JJ. 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.* 1989; 27: 313-20.
- Reissbrodt, R. Conventional and alternative methods for isolation and identification of *Salmonella* an overview. *Biotest Bulletin.* 1995; 5: 143-56.
- Robert Koch Institut (RKI). Ausbruch von Erkrankungen durch *Salmonella* Enteritidis nach dem Verzehr von Backwaren. *Epid Bull.* 2006; 3: 223-44.
- Robert Koch Institut (RKI). Salmonellose (Salmonellen-Gastroenteritis). *Epid Bull.* 2009; 13: 117-22.
- Robert Koch Institut (RKI). Salmonellose: Zu einem Ausbruch in Fulda, einem Ausbruch in einem Wolfburger Klinikum, einem Ausbruch im Klinikum Dortmund. *Epid Bull.* 2007; 48: 445-52.
- Robert Koch Institut (RKI). Zum Risiko Schweinefleisch-assoziiertes Salmonellosen und zu möglichen Präventionsstrategien im Bereich der Produktion. *Epid Bull.* 2005; 33: 295-6.
- Rolle M, Mayr A. *Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre.* 8. Aufl. Stuttgart: Enke Verlag; 2007.
- Rösler U, Matthies C, Szabó I, Schürer K, Nöckler K, Hensel A, Truyen U. Comparative evaluation of different ELISA Systems for intra vitam diagnosis of porcine *Salmonella* infection caused by *S. Typhimurium* and *S. Infantis*. *Proceedings of the 13th International Congress in Animal Hygiene (ISAH); 2007 June 17-21; Tartu, Estonia; 2007.*
- Rösler U. Charakterisierung der Porzinen *Salmonella Typhimurium* DT104-Infektion und Maßnahmen zur Salmonellen-Reduktion in Schweinemast- und Schweinezuchtbetrieben [Habilschr. med. vet.]. Leipzig: Univ. Leipzig; 2006.
- Rösler U. Überwachung und Bekämpfung der Salmonellen-Infektion beim Schwein. *Der prakt.Tierarzt.* 2009; 90: 64-9.
- Sander J. Die Pathogenese von Salmonelleninfektionen des Menschen. *Dtsch Tierärztl Wochenschr.* 1993; 100: 283-5.

- Schadewinkel-Scherkl, A. M., Scherkl, R. Antibiotika und Chemotherapeutika in der tierärztlichen Praxis. 1. Aufl. Jena: Gustav Fischer Verlag; 1995.
- Schlatterer B. Bakterielle Resistenzen-Stand und Entwicklung bei Isolaten aus Mensch und Tier. Dtsch tierärztl Wschr. 1995; 102: 251-6.
- Schlundt J, Münch B. A comparison of the efficiency of Rappaport-Vassiliadis, tetrathionate and selenite broths with and without pre-enrichment for the isolation of Salmonella in animal waste biogas plants. Zentralbl Bakteriol. 1993; 279: 336-43.
- Schmidt PL, O'Connor AM, McKean JD, Hurd HS. The association between cleaning and disinfection of lairage pens and the prevalence of Salmonella enterica in swine at harvest. J Food Prot. 2004; 67: 1384-8.
- Schumann C. Medical, nutritional and technological properties of lactulose. An update. Eur J Nutr. 2002; 41: 17-25.
- Schwan WR, Kopecko DJ. Serovar specific differences in Salmonella survival within macrophage cells. Adv Exp Med Biol. 1997; 412: 277-8.
- Selbitz HJ, Bisping W. Tierseuchen und Zoonosen – Alte und neue Herausforderungen. 1. Aufl. Jena, Stuttgart: Fischer Verlag; 1995.
- Selbitz HJ, Rolle M, Mayr A. Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre. 7 Aufl. Stuttgart: Enke Verlag; 2002.
- Selbitz HJ. Lehrbuch der veterinärmedizinischen Bakteriologie. 1. Aufl. Jena, Stuttgart: Fischer Verlag; 1992.
- Shea JE, Beuzon CR, Gleeson C, Mundy R, Holden DW. Influence of the Salmonella typhimurium pathogenicity island 2 type III secretion system on bacterial growth in the mouse. Infect Immun. 1999; 67: 213-9.
- Springer S, Lindner T, Steinbach G, Selbitz HJ. Investigation of the efficacy of a genetically-stabile live Salmonella typhimurium vaccine for use in swine. Berl Münch Tierärztl Wochenschr. 2001; 114: 342-5.
- Stender H, Sage A, Oliveira K, Broomer AJ, Young B, Coull J. Combination of ATP-bioluminescence and PNA Probes allows rapid total counts and identification of specific microorganisms in mixed populations. J Microbiol Methods. 2001; 46: 69-75.
- Straw BE, Zimmermann JJ, D'Allaire S, Taylor DJ. Diseases of swine. 9. Aufl. Iowa-USA: Blackwell Publishing; 2006.
- Taylor WI. Isolation of Shigellae. I. Xylose lysine agars; new media for isolation of enteric pathogens. Am J Clin Pathol. 1965; 44: 471-5.
- Thomason BM, Dodd DJ, Cherry WB. Increased recovery of salmonellae from environmental samples enriched with buffered peptone water. Appl Environ Microbiol. 1977; 34: 270-3.

- Tinge SA, Curtiss R. Isolation of the replication and partitioning regions of the *Salmonella typhimurium* virulence plasmid and stabilization of heterologous replicons. J Bacteriol. 1990; 172: 5266-77.
- Trolldenier, H. Resistenzfassung und –auswertung in der Veterinärmedizin. Bundesgesundheitsbl. 1997; 11: 431-5.
- Usling M. Untersuchungen zu den möglichen Zusammenhängen zwischen Betriebsmanagement und der Resistenzsituation bakterieller Krankheitserreger aus Schweinebeständen in Nordwestdeutschland [Dissertation med. vet.]. Hannover: TiHo; 2006.
- Van Immerseel F, Fievez V, De Buck J, Pasmans F, Martel A, Haesebrouck F, Ducatelle R. Microencapsulated short-chain fatty acids in feed modify colonization and invasion early after infection with *Salmonella enteritidis* in young chickens. Poultry Sci. 2004; 83: 69-74.
- Vassiliadis P, Pateraki E, Papaiconomou N, Papadakis JA, Trichopoulos D. New Procedure of *Salmonella* Enrichment. Ann Microbiol. 1976; 127: 195-200.
- Wadula J, Von Gottberg A, Kilner D. Nosocomial outbreak of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Salmonella* isangi in pediatric wards. Pediatr Infect Dis. 2006; 25: 843-4.
- Waldmann KH, Wendt M. Lehrbuch der Schweinekrankheiten. 4. Aufl. Stuttgart: Verlag Parey; 2004.
- Waltman WD, Mallinson ET. Isolation of *Salmonella* from poultry tissue and environmental samples: a nationwide survey. Avian Dis. 1995; 39: 45-54.
- Werber D, Dreesman J, Feil F. Internatinal outbreak of *Salmonella* Oranienburg due to German chocolate. BMC Infect Dis. 2005; 5: 7.
- Wiberg C, Norberg P. Comparison between a cultural procedure using Rappaport-Vassiliadis broth and motility enrichments on modified semisolid Rappaport-Vassiliadis medium for *Salmonella* detection from food and feed. Int J Food Microbiol. 1996; 29: 353-60.
- Widjojoatmodjo MN, Fluit AC, Torensma R, Verdonk GP, Verhoef J. The magnetic immuno polymerase chain reaction assay for direct detection of *Salmonellae* in fecal samples. J Clin Microbiol. 1992; 30: 3195-9.
- Winthrop KL, Palumbo MS, Farar JA. Alfalfa sprouts and *Salmonella* Kottbus infection: a multistate outbreak following inadequate seed disinfection with head and chlorine. J Food Prot. 2003; 66: 13-17.
- Wray CW, Soyka WJ. Reviews of the progress of dairy science bovine salmonellosis. J Dairy Sci 1977; 44: 383-425.

9 Anhang

9.1 Herstellung der verwendeten Nährmedien

Gepuffertes Peptonwasser (BPW) (Art.-Nr. CM 509, Fa. Oxoid GmbH)

Typische Zusammensetzung (g/l)

Pepton	10
Natriumchlorid	5
Dinatriumhydrogenphosphat	3,5
Kaliumdihydrogenphosphat	1,5
pH 7,2 ± 0,2	

Zubereitung

20 g gepuffertes Peptonwasser wurde in 1 l destillierten Wasser gelöst, vermischt und nach dem Verteilen auf entsprechende Gefäße 15 Minuten bei 121°C autoklaviert.

Novobiocin (Fa. Sigma-Aldrich GmbH)

1 g Novobiocin wurde in 10 ml destillierten Wasser suspendiert. Da diese Lösung eine Konzentration von 100 mg/µl hat, wurden 180 µl in 450 ml gepuffertes Peptonwasser pipettiert, um die Menge von 40 µg/ml zu erreichen.

Rappaport- Vassiliadis- Anreicherungslösung (RV) (Art.-Nr. CM 669, Fa. Oxoid GmbH)

Typische Zusammensetzung (g/l)

Sojapepton	5
Natriumchlorid	8,0
Kaliumdihydrogenphosphat	1,6
Magnesiumchlorid x 6 H ₂ O	40,0
Malachitgrün	0,04
pH 5,2 ± 0,2	

Zubereitung

30 g Rappaport- Vassiliadis- Anreicherungslösung (RV) wird in 1 l destillierten Wasser suspendiert und bis zum vollständigen Lösen langsam erhitzt. Nach Abfüllen in Reagenzgläser werden diese 15 Minuten bei 121°C autoklaviert.

Modified- Semisolid- Rappaport- Vassiliadis- Medium (MSRV) (Art.-Nr. 3526r, Fa. Heipha GmbH)

Typische Zusammensetzung pro l

Trypton	4,6 g
Caseinhydrolysat	4,6 g
NaCl	7,4 g
KH ₂ PO ₄	1,5 g
MgCl ₂	11,0 g
Malachitgrün	37 mg
Novobiocin	20 mg
Agar	2,7 g
pH 5,2 ± 0,2	

Zubereitung

Die 10 ml Röhren 15 Minuten auf 95°C erhitzen, anschließend auf 45°C runterkühlen und nach Erreichen dieser Temperatur das MSRV auf Agar-Platten gießen und abkühlen lassen.

Xylose- Lysin- Desoxycholat- Agar (XLD) (Art.-Nr. CM 469, Fa. Oxoid GmbH)

Typische Zusammensetzung (g/l)

Hefeextrakt	3,0
Lysin	5,0
Xylose	3,75
Lactose	7,5
Saccharose	7,5
Natriumdesoxycholat	1,0
Natriumchlorid	5,0
Natriumthiosulfat	6,8
Eisen(III)-ammoniumcitrat	0,8

Phenolrot	0,08
Agar	12,5
pH 7,4 ± 0,2	

Zubereitung

53 g XLD-Agar wurde in 1 l destillierten Wasser suspendiert und unter Rühren bis zum vollständigen Lösen erhitzt. Nach dem Lösen im Wasserbad wurde der Agar auf 50°C abgekühlt und auf Agar-Platten gegossen.

Brillantgrün- Phenolrot- Laktose- Saccharose- Agar (BPLS) (Art.-Nr. CM 329, Fa. Oxoid GmbH)

Typische Zusammensetzung	(g/l)
Fleischextrakt `Lab-Lemco´	5,0
Pepton	10,0
Hefeextrakt	3,0
Dinatriumhydrogenphosphat	1,0
Natriumdihydrogenphosphat	0,6
Lactose	10,0
Saccharose	10,0
Phenolrot	0,09
Brillantgrün	0,0047
Agar	12,0
pH 6,9 ± 0,2	

Zubereitung

52 g Brillantgrün- Phenolrot- Laktose- Saccharose- Agar wurde in 1 l destillierten Wasser suspendiert und unter Rühren bis zum vollständigen Lösen erhitzt. Nach dem Lösen im Wasserbad wurde der Agar auf 50°C abgekühlt und auf Agar-Platten gegossen.

Mueller-Hinton-Bouillon (MHB) (Art.-Nr. CM 405)

Typische Zusammensetzung	(g/l)
Rindfleisch, getrocknete Infusion aus 300 g	2,0

Caseinhydrolysat	17,5
Stärke	1,5
pH 7,4 ± 0,2	

Zubereitung

21 g Mueller-Hinton-Bouillon wurde in 1 l destillierten Wasser gelöst und 15 Minuten bei 121°C autoklaviert.

9.2 Verwendete Antibiotika und Geräte

9.2.1 Antibiotika

Amoxicillin, Artikel Nr. A8523-5G, Sigma Aldrich GmbH

Apramycin, Artikel Nr. A2024-1G, Sigma Aldrich GmbH

Colistin, Artikel Nr. C4461-100MG, Sigma Aldrich GmbH

Enrofloxacin, Artikel Nr. 17849-5G, Sigma Aldrich GmbH

Florfenicol, Artikel Nr. F1427-500MG, Sigma Aldrich GmbH

Gentamicin, Artikel Nr. G4918-250MG, Sigma Aldrich GmbH

Neomycin, Artikel Nr. N1876-25G, Sigma Aldrich GmbH

Novobiocin, Artikel Nr. N1628-100G, Sigma Aldrich GmbH

Tetracycline, Artikel Nr. T3258-5G, Sigma Aldrich GmbH

9.2.2 Geräte

Applied Biosystems StepOne Real-Time PCR Systems, Instrument No. 271000173.

Hermle Zentrifuge, Instrument Nr. Z 233 MK

Amersham Bioscience, Ultrospec 2100pro, Spektrophotometer

Biometra, T Gradient Thermoblock

Biometra TB7 Thermoblock

9.3 Tabellarische Darstellung der positiven Ergebnisse

Wichtige Hinweise zur Tabelle 31:

X = positives Ergebnis mit der jeweiligen Methode

Beschriftung der Proben:

Die erste Zahl der Probennummer bezieht sich auf den jeweiligen Betrieb der Langzeituntersuchungen.

1= Betrieb I

2= Betrieb II

3= Betrieb III

4= Betrieb IV

Die zweite Zahl der Probennummer bezieht sich auf den jeweiligen Durchlauf 1-8.

Die danach folgenden Zahlen stehen für die jeweilige Probe.

Beispiel:

Probennummer 1 1 3 = erster Betrieb, erster Durchlauf Probe 3.

Probennummer 1 1 16= erster Betrieb, erster Durchlauf Probe 16.

Tab. 31: Alle positiven Ergebnisse der Proben aus den Langzeituntersuchungen im Vergleich mit den Methoden I-V

Probennummer	Probenbezeichnung	Methode I	Methode II	Methode III	Methode IV	Methode V
1 1 3	Futter Bucht	X			X	
1 1 16	Gülle	X		X	X	X
1 1 22	Sammelprobe Umgebung	X		X	X	X
1 1 34	Rektaltupfer	X		X	X	X
1 2 2	Rektaltupfer					X
1 2 3	Rektaltupfer					X
1 2 5	Rektaltupfer					X
1 2 6	Rektaltupfer					X
1 2 7	Rektaltupfer					X
1 2 8	Rektaltupfer					X
1 2 9	Rektaltupfer					X
1 2 10	Rektaltupfer					X

Proben- nummer	Proben- bezeichnung	Methode I	Methode II	Methode III	Methode IV	Methode V
1 2 11	Rektaltupfer				X	X
1 2 12	Rektaltupfer					X
1 2 13	Rektaltupfer				X	X
1 2 14	Rektaltupfer					X
1 2 17	Rektaltupfer				X	X
1 2 18	Futter Lager	X			X	X
1 2 19	Futter Lager					X
1 2 43	Gülle	X	X	X	X	X
1 3 1	Rektaltupfer				X	X
1 3 2	Rektaltupfer				X	X
1 3 3	Rektaltupfer				X	X
1 3 11	Futter Bucht				X	X
1 3 16	Tupfer Tränke				X	X
1 3 23	Futter Bucht			X	X	X
1 3 24	Staub				X	X
1 3 29	Zulaufwasser				X	X
1 3 30	Gülle	X	X	X	X	X
1 3 31	Sammelkot				X	X
1 3 32	Sammelkot				X	X
1 3 36	Sammelprobe Umgebung				X	X
1 4 1	Rektaltupfer				X	X
1 4 3	Rektaltupfer				X	X
1 4 5	Rektaltupfer				X	X
1 4 7	Rektaltupfer				X	X
1 4 8	Rektaltupfer				X	X
1 4 9	Rektaltupfer				X	X
1 4 11	Rektaltupfer				X	X
1 4 16	Futter Bucht				X	X
1 4 17	Sammelkot				X	X
1 4 18	Staub				X	X
1 4 21	Tupfer Tränke				X	X
1 4 23	Futter Bucht				X	X
1 4 24	Sammelkot				X	X
1 4 26	Sammelprobe Umgebung				X	X
1 4 30	Futter Bucht				X	X
1 4 31	Sammelkot				X	X
1 4 32	Staub				X	X
1 4 33	Sammelprobe Umgebung				X	X

Proben- nummer	Proben- bezeichnung	Methode I	Methode II	Methode III	Methode IV	Methode V
1 4 37	Zulaufwasser				X	X
1 4 38	Gülle	X	X	X	X	X
1 5 3	Rektaltupfer				X	X
1 5 4	Rektaltupfer					X
1 5 5	Rektaltupfer					X
1 5 6	Rektaltupfer					X
1 5 7	Rektaltupfer					X
1 5 8	Tränkwasser					X
1 5 9	Tupfer Oberfläche					X
1 5 10	Tupfer Futterautomat					X
1 5 11	Tupfer Tränke					X
1 5 12	Futter Bucht					X
1 5 15	Staub			X		X
1 5 16	Tränkwasser				X	X
1 5 17	Tupfer Oberfläche				X	X
1 5 18	Tupfer Futterautomat				X	X
1 5 21	Sammelkot		X		X	X
1 5 22	Sammelprobe Umgebung				X	X
1 5 23	Staub		X	X	X	X
1 5 24	Tränkwasser		X		X	X
1 5 29	Sammelkot				X	X
1 6 3	Rektaltupfer				X	X
1 6 4	Rektaltupfer				X	X
1 6 5	Rektaltupfer				X	X
1 6 7	Rektaltupfer				X	X
1 6 15	Rektaltupfer		X		X	X
1 6 20	Rektaltupfer		X	X	X	X
1 6 25	Rektaltupfer		X	X	X	X
1 6 35	Rektaltupfer		X	X	X	X
1 6 36	Futter Bucht		X		X	X
1 6 38	Sammelkot					X
1 6 39	Sammelprobe Umgebung			X	X	X
1 6 40	Fliegen					X
1 6 47	Sammelkot				X	X
1 6 52	Tupfer				X	X

Proben- nummer	Proben- bezeichnung	Methode I	Methode II	Methode III	Methode IV	Methode V
	Futterautomat					
1 6 55	Sammelkot				X	X
1 6 56	Sammelprobe Umgebung				X	X
1 6 57	Staub					X
1 6 62	Gülle				X	X
1 7 10	Rektaltupfer	X	X	X	X	X
1 7 11	Rektaltupfer				X	X
1 7 13	Rektaltupfer				X	X
1 7 15	Rektaltupfer				X	X
1 7 17	Rektaltupfer				X	X
1 7 23	Rektaltupfer				X	X
1 7 30	Rektaltupfer				X	X
1 7 48	Sammelkot				X	X
1 7 50	Tupfer Tränke				X	X
1 7 53	Futter Bucht				X	X
1 7 59	Sammelprobe Umgebung				X	X
1 8 4	Rektaltupfer				X	X
1 8 9	Rektaltupfer					X
1 8 13	Rektaltupfer					X
1 8 20	Staub				X	X
1 8 27	Sammelkot				X	X
1 8 28	Staub				X	X
1 8 29	Sammelprobe Umgebung				X	X
2 1 4	Futter Lager	X			X	X
2 1 7	Futter Lager					X
2 1 12	Futter Bucht			X	X	X
2 1 24	Gülle			X		X
2 1 25	Sammelkot			X	X	X
2 1 28	Sammelprobe Umgebung			X	X	X
2 1 30	Sammelprobe Umgebung			X	X	X
2 2 45	Gülle			X	X	X
2 2 47	Futter Bucht	X	X		X	
2 2 48	Futter Bucht			X		X
2 2 49	Futter Bucht				X	X
2 3 10	Rektaltupfer				X	X
2 3 12	Rektaltupfer				X	X

Proben- nummer	Proben- bezeichnung	Methode I	Methode II	Methode III	Methode IV	Methode V
2 3 15	Rektaltupfer				X	X
2 3 19	Rektaltupfer				X	X
2 3 27	Tupfer Futterautomat					X
2 3 32	Sammelkot				X	X
2 3 38	Staub			X	X	X
2 3 44	Tränkwasser					X
2 3 48	Sammelkot					X
2 3 49	Zulaufwasser				X	X
2 3 50	Gülle			X		X
2 3 51	Futter Lager					X
2 3 52	Futter Lager	X		X	X	X
2 3 53	Futter Lager	X		X	X	X
2 3 56	Futter Lager					X
2 3 58	Futter Lager					X
2 4 11	Staub			X	X	X
2 4 13	Sammelkot			X	X	X
2 4 15	Tupfer Futterautomat					X
2 4 29	Futter Lager					X
2 4 33	Futter Lager					X
2 5 11	Rektaltupfer					X
2 5 22	Rektaltupfer					X
2 5 34	Sammelprobe Umgebung				X	X
2 5 43	Sammelkot	X		X	X	X
2 5 52	Gülle				X	X
2 6 4	Futter Lager					X
2 6 11	Sammelkot					X
2 6 12	Tupfer Tränke				X	X
2 6 13	Tupfer Futterautomat					X
2 7 14	Rektaltupfer				X	X
2 7 19	Rektaltupfer				X	X
2 8 3	Rektaltupfer				X	X
2 8 8	Rektaltupfer				X	X
2 8 16	Rektaltupfer				X	X
2 8 33	Gülle	X		X	X	X
2 8 36	Sammelprobe Umgebung	X			X	X
2 8 37	Sammelkot				X	X

Proben- nummer	Proben- bezeichnung	Methode I	Methode II	Methode III	Methode IV	Methode V
2 8 50	Tränkwasser				X	X
3 1 9	Futter Lager			X	X	X
3 1 17	Sammelprobe Umgebung	X	X		X	X
3 1 19	Sammelprobe Umgebung			X	X	X
3 1 20	Sammelprobe Umgebung	X	X	X	X	X
3 1 24	Staub			X	X	X
3 2 10	Tupfer Tränke			X		X
3 2 13	Sammelprobe Umgebung		X		X	X
3 2 14	Sammelkot		X		X	X
3 2 15	Staub				X	X
3 2 16	Futter Bucht			X		X
3 2 21	Sammelprobe Umgebung				X	X
3 2 23	Staub		X		X	X
3 2 25	Tupfer Oberfläche					X
3 2 27	Tränkwasser		X	X	X	X
3 2 28	Tupfer Futterautomat	X	X		X	X
3 2 32	Futter Bucht					X
3 2 39	Futter Lager					X
3 3 1	Tupfer Futterautomat			X		X
3 3 6	Sammelprobe Umgebung			X		X
3 3 7	Staub	X		X	X	X
3 3 8	Sammelkot	X	X	X	X	X
3 3 12	Tränkwasser				X	X
3 3 14	Sammelprobe Umgebung				X	X
3 3 16	Sammelkot				X	X
3 3 20	Tränkwasser					X
3 3 22	Sammelprobe Umgebung				X	X
3 3 23	Staub				X	X
3 3 25	Tupfer Futterautomat		X	X	X	X
3 3 26	Tupfer Tränke		X		X	X

Proben- nummer	Proben- bezeichnung	Methode I	Methode II	Methode III	Methode IV	Methode V
3 3 29	Futter Bucht	X	X	X	X	X
3 3 30	Sammelprobe Umgebung	X	X	X	X	X
3 3 31	Staub	X	X	X	X	X
3 3 32	Sammelkot			X	X	X
3 3 33	Zulaufwasser				X	X
3 3 34	Futter Lager				X	X
3 3 37	Futter Lager				X	X
3 3 38	Futter Lager				X	X
3 3 39	Futter Lager					X
3 3 40	Futter Lager				X	X
3 4 19	Futter Bucht				X	X
3 4 27	Futter Bucht			X		X
3 4 29	Staub			X	X	X
3 4 39	Sammelprobe Umgebung			X	X	X
3 5 7	Sammelkot		X		X	X
3 5 11	Tränkwasser				X	X
3 5 12	Staub				X	X
3 5 13	Tupfer Futterautomat					X
3 5 14	Tupfer Oberfläche					X
3 5 15	Tupfer Tränke					X
3 5 21	Staub	X	X	X	X	X
3 5 25	Sammelkot	X	X	X	X	X
3 5 27	Fliegen	X	X		X	X
3 5 30	Staub				X	X
3 5 38	Futter Lager				X	X
3 5 40	Zulaufwasser					X
3 5 41	Futter Lager					X
3 6 12	Tupfer Oberfläche				X	X
3 6 15	Sammelkot			X	X	X
3 6 17	Sammelprobe Umgebung		X	X	X	X
3 6 21	Staub		X	X	X	X
3 6 28	Staub				X	X
3 6 30	Futter Bucht				X	X
3 6 33	Tupfer Oberfläche				X	X

Proben- nummer	Proben- bezeichnung	Methode I	Methode II	Methode III	Methode IV	Methode V
3 6 34	Tupfer Futterautomat				X	X
3 6 40	Tränkwasser				X	X
3 7 11	Sammelprobe Umgebung				X	X
3 7 17	Futter Bucht	X	X	X	X	X
3 7 18	Staub			X	X	X
3 7 19	Sammelprobe Umgebung	X	X	X	X	X
3 7 20	Sammelkot	X	X	X	X	X
3 7 21	Tränkwasser	X	X	X	X	X
3 7 22	Tupfer Oberfläche	X	X	X	X	X
3 7 23	Tupfer Tränke	X	X	X	X	X
3 7 24	Tupfer Futterautomat	X	X	X	X	X
3 7 26	Staub				X	X
3 7 28	Sammelkot					X
3 7 29	Tränkwasser				X	X
3 7 31	Tupfer Tränke					X
3 7 32	Tupfer Futterautomat					X
3 7 33	Futter Lager					X
3 7 37	Futter Lager				X	X
3 7 38	Futter Lager				X	X
3 7 39	Futter Lager					X
3 8 1	Futter Lager				X	X
3 8 22	Tupfer Futterautomat				X	X
3 8 26	Sammelprobe Umgebung	X		X	X	X
3 8 27	Sammelkot	X	X	X	X	X
3 8 31	Tränkwasser					X
3 8 32	Sammelprobe Umgebung			X		X
3 8 33	Sammelkot	X		X	X	X
3 8 34	Tupfer Oberfläche					X
3 8 37	Staub	X	X	X	X	X
4 1 22	Rektaltupfer				X	X
4 1 41	Tupfer Oberfläche				X	X

Proben- nummer	Proben- bezeichnung	Methode I	Methode II	Methode III	Methode IV	Methode V
4 1 49	Gülle	X		X	X	X
4 1 50	Sammelkot				X	X
4 1 51	Staub				X	X
4 1 53	Futter Bucht				X	X
4 1 55	Futter Bucht					X
4 1 57	Sammelkot					X
4 1 60	Sammelkot				X	X
4 1 70	Sammelkot				X	X
4 1 77	Sammelkot				X	X
4 1 78	Futter Bucht	X			X	
4 1 80	Futter Bucht			X		X
4 1 83	Staub					X
4 1 89	Futter Lager					X
4 1 90	Futter Lager				X	X
4 1 94	Futter Lager					X
4 2 1	Rektaltupfer					X
4 2 2	Rektaltupfer					X
4 2 11	Rektaltupfer					X
4 2 13	Rektaltupfer					X
4 2 20	Rektaltupfer					X
4 2 31	Tupfer Futterautomat		X		X	X
4 2 34	Futter Bucht				X	X
4 2 44	Tränkwasser				X	X
4 2 46	Tupfer Tränke					X
4 2 51	Sammelkot				X	X
4 2 54	Sammelkot					X
4 2 55	Sammelkot					X
4 2 56	Sammelkot					X
4 2 58	Sammelkot					X
4 2 61	Sammelkot				X	X
4 2 63	Sammelkot				X	X
4 2 65	Sammelkot					X
4 2 69	Sammelkot				X	X
4 2 72	Sammelkot				X	X
4 2 73	Gülle				X	X
4 2 74	Futter Lager				X	X
4 2 75	Futter Lager				X	X
4 3 3	Rektaltupfer					X
4 3 11	Rektaltupfer				X	X

Proben- nummer	Proben- bezeichnung	Methode I	Methode II	Methode III	Methode IV	Methode V
4 3 22	Sammelkot					X
4 3 33	Staub			X		X
4 3 34	Tränkwasser				X	X
4 3 42	Gülle				X	X
4 4 4	Rektaltupfer				X	X
4 4 10	Rektaltupfer				X	X
4 4 29	Sammelkot				X	X
4 4 33	Staub				X	X
4 4 34	Tränkwasser				X	X
4 4 35	Futter Bucht				X	X
4 5 6	Rektaltupfer				X	X
4 5 9	Rektaltupfer				X	X
4 5 10	Rektaltupfer				X	X
4 5 11	Rektaltupfer				X	X
4 5 13	Rektaltupfer				X	X
4 5 14	Rektaltupfer				X	X
4 5 18	Rektaltupfer				X	X
4 5 19	Rektaltupfer				X	X
4 5 20	Rektaltupfer				X	X
4 5 36	Rektaltupfer				X	X
4 5 38	Futter Lager				X	X
4 5 39	Futter Lager				X	X
4 5 42	Futter Lager				X	X
4 5 44	Futter Bucht	X			X	X
4 5 46	Sammelkot				X	X
4 5 48	Tupfer Futterautomat				X	X
4 5 50	Staub				X	X
4 5 60	Sammelkot				X	X
4 6 17	Rektaltupfer					X
4 6 27	Tupfer Tränke					X
4 6 29	Futter Bucht					X
4 6 30	Tränkwasser				X	X
4 6 39	Staub		X		X	X
4 6 46	Futter Lager				X	X
4 7 2	Rektaltupfer				X	X
4 7 3	Rektaltupfer					X
4 7 4	Rektaltupfer					X
4 7 6	Rektaltupfer					X
4 7 7	Rektaltupfer				X	X

Proben- nummer	Proben- bezeichnung	Methode I	Methode II	Methode III	Methode IV	Methode V
4 7 10	Rektaltupfer				X	X
4 7 13	Futter Lager					X
4 7 14	Futter Lager				X	X
4 7 15	Futter Lager			X	X	X
4 7 16	Futter Lager			X		X
4 7 17	Futter Lager				X	X
4 7 18	Tränkwasser				X	X
4 7 20	Staub					X
4 7 21	Sammelkot					X
4 7 23	Tupfer Tränke				X	X
4 7 26	Futter Bucht			X	X	X
4 7 27	Staub				X	X
4 7 30	Tupfer Tränke				X	X
4 8 11	Rektaltupfer				X	X
4 8 12	Rektaltupfer				X	X
4 8 17	Rektaltupfer				X	X
4 8 18	Futter Lager	X			X	X
4 8 22	Futter Lager					X
4 8 24	Tränkwasser					X
4 8 29	Tupfer Tränke				X	X
4 8 31	Tränkwasser					X
4 8 36	Tupfer Tränke					X
4 8 39	Futter Bucht				X	X
4 8 40	Sammelkot					X
4 8 41	Staub			X		X
4 8 42	Tupfer Futterautomat					X
4 8 45	Gülle	X	X	X	X	X

Wichtige Hinweise zur Tabelle 32:

X = positives Ergebnis mit der jeweiligen Methode

Beschriftung der Proben:

Der Buchstabe Q bezieht sich auf die Querschnittsuntersuchungen die danach folgende Zahl gibt den jeweiligen Betrieb an.

Q1= Betrieb Q1

Q2= Betrieb Q2

Q3= Betrieb Q3

Q4= Betrieb Q4

Q5= Betrieb Q5

Q6= Betrieb Q6

Q7= Betrieb Q7

Die danach folgenden Zahlen stehen für die jeweilige Probe.

Beispiel:

Probennummer Q1 6 = Betrieb Q1, Probe 6.

Probennummer Q3 12= Betrieb Q3, Probe 12.

Tab. 32: Alle positiven Ergebnisse der Proben aus den Querschnittsuntersuchungen im Vergleich mit den Methoden III und V

Probennummer	Probename	Methode III	Methode V
Q1 6	Tränkewasser		X
Q3 12	Futter Bucht		X
Q4 18	Sammelkot		X
Q5 7	Tränkewasser	X	X
Q5 9	Tränkewasser		X
Q5 12	Futter Bucht		X
Q5 13	Futter Bucht		X
Q5 16	Staub		X
Q5 17	Staub		X
Q5 20	Sammelkot	X	X
Q5 21	Sammelkot		X
Q5 24	Sammelproben Umgebung		X
Q5 25	Sammelproben Umgebung		X
Q6 2	Futter Lager		X
Q6 5	Tränkewasser		X
Q6 9	Futter Bucht	X	X
Q6 13	Staub	X	X
Q6 17	Sammelkot	X	X
Q6 18	Sammelkot	X	X
Q6 31	Sammelproben Umgebung	X	X
Q7 17	Rektaltupfer		X

Wichtige Hinweise zur Tabelle 33:

KH = keine Hemmung

KW = kein Wachstum

AMOX = Amoxicillin

APRA = Apramycin

COL = Colistin

ENRO = Enrofloxacin

FLOR = Floramphenicol

GEN = Gentamycin

NEO = Neomycin

TET = Tetracycline

Tab. 33: MHK-Werte der isolierten *Salmonella*-Serovare in µg/ml

Probennummer	Serovar	AMOX	APRA	COL	ENRO	FLOR	GEN	NEO	TET
2 1 4	<i>S. agona</i>	16	32	1	0,06	8	8	8	4
3 1 9	<i>S. mbandaka</i>	16	32	1	0,06	8	8	16	4
3 3 1	<i>S. schwarzengrund</i>	16	32	4	0,06	8	16	32	32
3 3 6	<i>S. schwarzengrund</i>	16	32	4	0,06	8	16	16	4
3 3 7	<i>S. schwarzengrund</i>	16	32	8	0,06	8	16	16	4
3 3 7	<i>S. schwarzengrund</i>	16	64	4	0,06	8	16	16	32
3 3 8	<i>S. schwarzengrund</i>	16	32	8	0,06	8	16	32	4
3 3 8	<i>S. schwarzengrund</i>	16	32	4	0,06	16	16	16	4
3 3 8	<i>S. schwarzengrund</i>	16	32	4	0,06	8	16	16	4
3 5 7	<i>S. schwarzengrund</i>	16	64	2	0,007	16	32	64	8
1 1 3	<i>S. mbandaka</i>	8	32	0,5	0,06	4	8	16	8
1 1 16	<i>S. give</i>	16	32	4	0,125	8	8	8	2
1 1 16	<i>S. give</i>	16	32	8	0,06	8	8	16	2
1 1 22	<i>S. typhimurium</i>	8	32	4	0,06	8	4	8	2
1 1 22	<i>S. mbandaka</i>	8	32	2	0,06	16	8	8	8
1 1 34	<i>S. monophas.B-Stamm; O4, 5:i:-</i>	16	64	2	0,06	KW	8	16	32
1 1 34	<i>S. monophas.B-Stamm; O4, 5:i:-</i>	8	32	4	0,125	8	8	16	32
1 2 18	<i>S. jerusalem</i>	32	32	16	0,06	8	8	8	4
1 2 43	<i>S. give</i>	32	32	2	0,06	8	8	8	4
1 2 43	<i>S. give</i>	32	32	4	0,06	8	8	8	4
1 2 43	<i>S. give</i>	32	32	4	0,06	8	8	8	4

Probennummer	Serovar	AMOX	APRA	COL	ENRO	FLOR	GEN	NEO	TET
1 2 43	<i>S. typhimurium</i>	32	16	1	0,125	8	4	8	4
1 3 23	<i>S. senftenberg</i>	16	32	8	0,06	8	16	32	4
1 3 30	<i>S. give</i>	16	32	8	0,06	8	8	16	4
1 3 30	<i>S. give</i>	32	64	4	0,06	16	32	16	4
1 3 30	<i>S. give</i>	32	32	4	0,06	4	16	16	4
1 4 38	<i>S. typhimurium</i>	32	32	2	0,125	8	16	16	8
1 4 38	<i>S. give</i>	16	32	4	0,125	8	16	16	8
1 4 38	<i>S. give</i>	32	64	2	0,125	8	16	16	4
1 5 15	<i>S. typhimurium</i>	16	KH	2	0,03	KH	32	64	32
1 5 21	<i>S. monophas.B-Stamm; O4, 5:i:-</i>	16	64	2	0,03	KH	16	8	32
1 5 23	<i>S. typhimurium</i>	16	64	2	0,007	KH	16	16	32
1 5 23	<i>S. typhimurium</i>	16	64	4	0,007	KH	32	32	64
1 5 24	<i>S. typhimurium</i>	16	64	4	0,03	KH	32	16	32
1 6 15	<i>S. schwarzengrund</i>	16	32	16	0,06	8	16	16	4
1 6 20	<i>S. typhimurium</i>	16	64	8	0,06	KH	16	64	32
1 6 20	<i>S. typhimurium</i>	16	64	1	0,06	KH	16	16	32
1 6 25	<i>S. typhimurium</i>	16	32	2	0,06	KH	8	16	16
1 6 25	<i>S. typhimurium</i>	16	32	1	0,06	KH	4	8	32
1 6 35	<i>S. typhimurium</i>	16	64	4	0,06	KH	8	16	32
1 6 35	<i>S. typhimurium</i>	16	32	1	0,06	KH	16	16	32
1 6 36	<i>S. typhimurium</i>	16	32	4	0,06	KH	8	16	32
1 6 39	<i>S. typhimurium</i>	16	64	8	0,06	KH	8	16	32
1 7 10	<i>S. typhimurium</i>	16	16	2	0,125	KH	0,25	16	64
1 7 10	<i>S. typhimurium</i>	16	16	1	0,06	KH	0,125	16	64
1 7 10	<i>S. typhimurium</i>	16	16	0,5	0,06	KH	8	4	64
2 1 12	<i>S. typhimurium</i>	8	32	2	0,06	8	8	16	64
2 1 24	<i>S. agona</i>	8	32	4	0,125	8	8	8	64
2 1 25	<i>S. typhimurium</i>	16	32	4	0,06	8	8	8	64
2 1 28	<i>S. typhimurium</i>	16	32	2	0,06	8	16	16	64
2 1 30	<i>S. typhimurium</i>	16	32	4	0,5	8	8	16	64
2 2 45	<i>S. typhimurium</i>	32	32	2	0,25	8	8	8	16
2 2 47	<i>S. agona</i>	32	32	1	0,06	8	4	8	4
2 2 47	<i>S. agona</i>	32	32	16	0,06	16	8	8	4
2 2 48	<i>S. agona</i>	32	32	2	0,06	8	4	8	4
2 3 38	<i>S. typhimurium</i>	16	32	4	0,06	8	16	32	32
2 3 50	<i>S. typhimurium</i>	16	32	4	0,06	8	16	16	32
2 3 52	<i>S. senftenberg</i>	16	32	2	0,06	4	8	16	4
2 3 52	<i>S. senftenberg</i>	16	32	2	0,06	8	8	16	4
2 3 53	<i>S. senftenberg</i>	16	32	4	0,06	8	8	16	4
2 3 53	<i>S. senftenberg</i>	16	32	4	0,125	8	8	16	8
2 4 11	<i>S. typhimurium</i>	16	16	4	0,125	4	8	8	32

Probennummer	Serovar	AMOX	APRA	COL	ENRO	FLOR	GEN	NEO	TET
2 4 13	<i>S. infantis</i>	16	64	4	0,125	8	32	16	8
2 5 43	<i>S. typhimurium</i>	16	64	4	0,007	KH	32	32	64
2 5 43	<i>S. typhimurium</i>	16	64	4	0,007	KH	64	64	32
2 8 33	<i>S. typhimurium</i>	16	32	4	0,06	8	8	8	16
2 8 33	<i>S. typhimurium</i>	16	32	2	0,06	8	4	16	16
2 8 36	<i>S. typhimurium</i>	16	32	16	0,06	8	8	16	16
3 1 17	<i>S. schwarzengrund</i>	16	32	4	0,06	8	8	16	8
3 1 17	<i>S. schwarzengrund</i>	16	32	4	0,06	8	8	16	4
3 1 19	<i>S. schwarzengrund</i>	16	32	4	0,06	8	4	16	16
3 1 20	<i>S. schwarzengrund</i>	16	32	8	0,06	8	16	16	4
3 1 20	<i>S. schwarzengrund</i>	16	32	4	0,06	4	8	32	4
3 1 20	<i>S. schwarzengrund</i>	16	32	8	0,06	4	8	8	2
3 1 24	<i>S. schwarzengrund</i>	16	32	4	0,125	8	8	16	8
3 2 10	<i>S. schwarzengrund</i>	32	32	4	0,06	8	8	16	4
3 2 13	<i>S. schwarzengrund</i>	32	32	2	0,125	8	16	16	4
3 2 14	<i>S. schwarzengrund</i>	16	32	8	0,06	8	16	16	4
3 2 16	<i>S. schwarzengrund</i>	32	32	4	0,125	8	16	16	4
3 2 23	<i>S. schwarzengrund</i>	16	32	4	0,06	8	16	16	4
3 2 27	<i>S. schwarzengrund</i>	16	32	4	0,06	4	16	16	4
3 2 27	<i>S. schwarzengrund</i>	32	32	4	0,06	4	16	16	4
3 2 28	<i>S. schwarzengrund</i>	32	32	4	0,06	8	16	16	4
3 2 28	<i>S. schwarzengrund</i>	32	32	8	0,5	8	8	16	4
3 3 25	<i>S. schwarzengrund</i>	16	32	8	0,06	4	8	32	4
3 3 25	<i>S. schwarzengrund</i>	16	32	4	0,06	16	8	32	8
3 3 26	<i>S. schwarzengrund</i>	16	64	4	0,06	8	8	16	4
3 3 29	<i>S. schwarzengrund</i>	16	64	4	0,06	4	8	16	4
3 3 29	<i>S. schwarzengrund</i>	16	32	16	0,06	8	8	16	4
3 3 29	<i>S. schwarzengrund</i>	16	32	16	0,06	8	16	32	4
3 3 30	<i>S. schwarzengrund</i>	32	32	8	0,06	4	16	16	8
3 3 30	<i>S. schwarzengrund</i>	32	64	4	0,06	8	32	16	4
3 3 30	<i>S. schwarzengrund</i>	32	64	4	0,06	4	16	16	4
3 3 31	<i>S. schwarzengrund</i>	16	32	4	0,06	8	8	32	8
3 3 31	<i>S. schwarzengrund</i>	16	64	8	0,06	4	32	16	16
3 3 31	<i>S. schwarzengrund</i>	16	32	8	0,125	8	16	16	8
3 3 32	<i>S. schwarzengrund</i>	16	64	4	0,06	8	16	16	8
3 4 27	<i>S. tennessee</i>	16	32	2	0,03	8	8	32	4
3 4 29	<i>S. senftenberg</i>	32	64	8	0,06	8	32	32	64
3 4 39	<i>S. senftenberg</i>	16	64	16	0,007	16	32	64	KH
3 5 21	<i>S. schwarzengrund</i>	16	64	4	0,007	8	16	32	KH
3 5 21	<i>S. schwarzengrund</i>	16	32	4	0,06	8	32	32	KH
3 5 21	nicht typisierbar	16	64	4	0,06	32	16	32	KH

Probennummer	Serovar	AMOX	APRA	COL	ENRO	FLOR	GEN	NEO	TET
3 5 25	<i>S. schwarzengrund</i>	32	KH	8	0,06	8	32	64	KH
3 5 25	<i>S. schwarzengrund</i>	16	64	8	0,125	16	32	64	KH
3 5 25	<i>S. schwarzengrund</i>	16	32	8	0,125	16	16	32	16
3 5 27	<i>S. schwarzengrund</i>	16	32	2	0,06	8	16	32	8
3 5 27	<i>S. schwarzengrund</i>	16	64	4	0,06	16	16	64	16
3 6 15	<i>S. schwarzengrund</i>	16	32	4	0,125	8	8	16	8
3 6 17	<i>S. schwarzengrund</i>	16	32	8	0,06	8	8	16	4
3 6 17	<i>S. schwarzengrund</i>	16	32	8	0,06	8	8	16	4
3 6 21	<i>S. schwarzengrund</i>	16	32	16	0,06	8	8	16	4
3 6 21	<i>S. senftenberg</i>	16	32	4	0,125	8	8	16	4
3 7 17	<i>S. schwarzengrund</i>	16	16	2	0,06	16	4	16	32
3 7 17	<i>S. schwarzengrund</i>	16	16	8	0,125	16	4	16	4
3 7 17	<i>S. schwarzengrund</i>	16	16	2	0,06	8	4	16	2
3 7 18	<i>S. schwarzengrund</i>	16	16	1	0,06	8	4	2	2
3 7 19	<i>S. schwarzengrund</i>	16	16	2	0,125	8	4	8	2
3 7 19	<i>S. schwarzengrund</i>	16	16	2	0,06	4	4	16	1
3 7 19	<i>S. schwarzengrund</i>	16	16	4	0,06	8	4	16	0,5
3 7 20	<i>S. schwarzengrund</i>	16	16	2	0,125	8	4	16	32
3 7 20	<i>S. schwarzengrund</i>	16	16	2	0,06	8	4	2	1
3 7 20	<i>S. schwarzengrund</i>	16	16	2	0,06	2	4	16	1
3 7 21	<i>S. schwarzengrund</i>	16	16	KH	0,125	8	4	2	32
3 7 21	<i>S. schwarzengrund</i>	16	16	2	0,06	8	8	8	2
3 7 21	<i>S. schwarzengrund</i>	16	16	2	0,06	2	8	16	2
3 7 22	<i>S. schwarzengrund</i>	16	16	2	0,06	8	4	16	2
3 7 22	<i>S. schwarzengrund</i>	16	16	2	0,125	2	8	32	1
3 7 22	<i>S. schwarzengrund</i>	16	16	4	0,06	0,25	4	16	2
3 7 23	<i>S. schwarzengrund</i>	16	16	2	0,06	2	4	16	1
3 7 23	<i>S. schwarzengrund</i>	16	16	KH	0,25	8	4	16	16
3 7 23	<i>S. schwarzengrund</i>	16	16	16	0,06	2	4	16	1
3 7 24	<i>S. schwarzengrund</i>	16	16	2	0,06	8	4	8	1
3 7 24	<i>S. schwarzengrund</i>	16	16	1	0,06	4	4	16	1
3 7 24	<i>S. schwarzengrund</i>	16	16	2	0,03	8	4	16	2
3 8 26	<i>S. schwarzengrund</i>	16	32	4	0,06	4	8	16	8
3 8 26	<i>S. schwarzengrund</i>	16	32	4	0,06	8	8	16	8
3 8 27	<i>S. schwarzengrund</i>	16	32	4	0,06	8	8	32	8
3 8 27	<i>S. schwarzengrund</i>	16	32	8	0,06	8	8	16	8
3 8 27	<i>S. schwarzengrund</i>	16	32	4	0,06	8	8	16	8
3 8 32	<i>S. schwarzengrund</i>	16	32	8	0,06	4	8	16	8
3 8 33	<i>S. schwarzengrund</i>	16	32	4	0,06	8	8	16	8
3 8 33	<i>S. schwarzengrund</i>	16	32	4	0,06	8	8	16	8
3 8 37	<i>S. schwarzengrund</i>	16	32	4	0,06	4	8	16	8

Probennummer	Serovar	AMOX	APRA	COL	ENRO	FLOR	GEN	NEO	TET
3 8 37	<i>S. schwarzengrund</i>	16	32	8	0,06	4	8	16	8
3 8 37	<i>S. schwarzengrund</i>	16	32	8	0,06	4	8	16	8
4 1 49	<i>S. typhimurium</i>	32	32	2	0,06	32	8	16	8
4 1 49	<i>S. typhimurium</i>	32	64	KH	0,06	64	4	16	8
4 1 78	<i>S. typhimurium</i>	32	32	32	0,06	32	4	8	8
4 1 80	<i>S. typhimurium</i>	32	32	1	0,06	32	8	16	8
4 2 31	nicht typisierbar	16	32	4	0,25	32	8	16	16
4 3 33	nicht typisierbar	16	32	4	0,125	32	16	16	16
4 5 44	<i>S. cerro</i>	16	32	8	0,06	8	16	64	4
4 6 39	<i>S. typhimurium</i>	16	32	4	0,06	32	8	16	16
4 7 15	<i>Salmonella</i> Subspezies I	16	32	4	0,03	32	8	8	8
4 7 16	<i>S. typhimurium</i>	16	32	1	0,03	4	4	8	8
4 7 26	<i>S. typhimurium</i>	16	32	8	0,06	32	4	8	16
4 8 18	<i>S. typhimurium</i>	16	32	8	0,06	32	8	16	16
4 8 41	<i>S. typhimurium</i>	16	32	2	0,06	32	4	8	16
4 8 45	<i>S. typhimurium</i>	16	2	32	0,06	4	16	8	16
4 8 45	<i>S. typhimurium</i>	16	16	2	0,06	32	8	16	16
4 8 45	<i>S. typhimurium</i>	16	32	2	0,06	32	4	8	16
Q5 20	<i>S. typhimurium</i>	16	32	1	0,06	32	8	8	16
Q5 7	<i>S. typhimurium</i>	16	16	4	0,06	32	4	8	16
Q6 13	<i>S. typhimurium</i>	16	32	2	0,06	8	4	8	8
Q6 17	<i>S. typhimurium</i>	16	16	4	0,06	8	4	8	8
Q6 18	<i>S. typhimurium</i>	16	32	4	0,06	8	8	8	8
Q6 31	<i>S. typhimurium</i>	16	32	2	0,06	8	4	8	8
Q6 9	<i>S. typhimurium</i>	16	32	2	0,06	8	8	8	8

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Reinhard Böhm für die Überlassung des Themas und seine unermüdliche fachliche Beratung. Durch seine väterliche Art und Weise und die gute Atmosphäre am Institut für Umwelt- und Tierhygiene der Universität Hohenheim hatte ich für die Erstellung meiner Arbeit die besten Voraussetzungen. Als mein Doktorvater gab er mir immer seine volle Unterstützung, sein Engagement für seine Mitarbeiter wird für mich immer ein Vorbild sein.

Herrn Prof. Dr. Uwe Truyen und Herrn Prof. Dr. Uwe Rösler danke ich für die Annahme der Arbeit und für die Vertretung am Fachbereich Tiermedizin der Universität Leipzig.

Herrn Dr. Werner Philipp danke ich sehr herzlich für seine wissenschaftliche und vor allem freundschaftliche Unterstützung, die wesentlich zum Gelingen der Arbeit beigetragen haben.

Dem Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) gebührt mein Dank für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit.

Bei allen Mitarbeitern des Institutes für Umwelt- und Tierhygiene bedanke ich mich für die gute Zusammenarbeit. Mein besonderer Dank gilt in diesem Zusammenhang Frau Petra Veit sowie Frau Dr. Birgit Hunsinger, Frau Dr. Renate Haumacher, Herrn Dr. Milan Drča, Herrn Dr. Wolfgang Beyer, Frau Sabine Hoche und Frau Elisabeth Blaschke.

Frau Gisela Kinzler danke ich für das wunderbare Klima im Sekretariat.

Meinen lieben Freunden Astrid Zimbelmann, Marie Schöffler, Dr. Angela Ortiz, Dr. Racha Tepsorn, Karen Hills, Philipp Marro, Sophie Gmelin danke ich herzlich für deren Unterstützung und Engagement. Vielen Dank, dass Ihr immer ein offenes Ohr für mich hattet.

Dir lieber Frank danke ich herzlich für Deine moralische Unterstützung und dafür das Du immer an meiner Seite bist.