

# Nachweis und Charakterisierung von *Campylobacter* spp. aus unterschiedlichen Matrizen

Laura Lehmann, Anna Löwenstein, Frederic Lehnert, Greta Gölz, Thomas Alter  
 Institut für Lebensmittelhygiene, Freie Universität Berlin

## Einleitung

*Campylobacter* (*C.*) spp. gehören zu den bedeutendsten lebensmittelassoziierten Zoonoseerregern weltweit.

Ziel dieser Studie war der Nachweis und die Charakterisierung von *Campylobacter* spp. aus Haus- und Nutztieren sowie Umweltproben, wobei der Schwerpunkt auf der Untersuchung von Hunden, Katzen und Vögeln lag. Für die Isolation wurde das Cape Town-Protokoll (nicht-selektive Filtermethode) mit der ISO 10272-1:2006 Teil 1 (selektive Anreicherungsmethode) verglichen. Die isolierten *C. jejuni*- und *C. coli*-Stämme wurden durch MLST-Analysen genotypisiert und das Antibiotika-Resistenzprofil anhand der Mikrodilutionsmethode bestimmt.

## Material und Methoden

### Proben

Insgesamt wurden 876 Proben (Faeces, Tupferabstriche vom Rektum oder der Kloake, Wasser und Bodenproben) in dieser Studie berücksichtigt. Wenn nicht anders erwähnt, wurden alle Inkubationen bei 37°C und mikroaeroben Bedingungen durchgeführt.

### Nachweis von *Campylobacter* spp.

Cape-Town-Protokoll (CT) (Lastovica und le Roux, 2000)

Die Proben wurden in 3 ml PBS verdünnt und 250 µl auf einen Filter mit 0,6 µm Porengröße getropft, der auf einer Tryptose-Blut-Agar (TBA) Platte auflag. Nachdem die Flüssigkeit durch den Filter diffundiert war, wurde der Filter entfernt und die Platten für 5 d in H<sub>2</sub> angereicherter, mikroaerobere Atmosphäre (Anaerogen-Kit ohne Katalysator) inkubiert.

### ISO 10272:2006 Teil 1

In Anlehnung an ISO 10272 wurden die Proben in Preston-Bouillon suspendiert und für 24 h inkubiert. 10 µl dieser Anreicherung wurden auf mCCDA-Platten ausgestrichen und weitere 48 h inkubiert. Verdächtige Kolonien von TBA- und mCCDA-Platten wurden auf Mueller-Hinton-Blut-Platten ausgestrichen und für 48 h bebrütet. Die DNA wurde mittels der Chelex Methode extrahiert und die Spezies der Isolate über eine mPCR nach Wang et al. (2002) bestimmt.

### Charakterisierung der *Campylobacter*-Isolate

#### MLST

Die MLST wurde nach den Angaben von pubMLST (<http://pubmlst.org/campylobacter/>) durchgeführt und als Minimum Spanning Tree (MST) dargestellt (Bionumerics v6.01).

#### Antibiotikaresistenz-Bestimmung

Die Antibiotikaresistenztestung erfolgte mit dem Mikrodilutionsverfahren. 10 ml Mueller-Hinton II-Bouillon (CAMHB) + 5% lysiertes Pferdeblut wurden mit 100 µl der Vorkulturen inokuliert, die EUCAMP-Platten mit 100 µl des Inokulums beimpft und für 48 h inkubiert. Die Auswertung erfolgte nach den Angaben des EU Referenzlabors für antimikrobielle Resistenzen (EQAS, 2012).

## Ergebnisse

### Prävalenzen

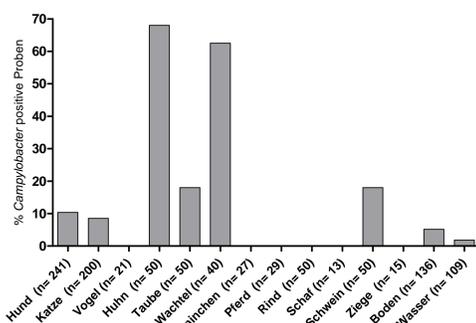


Abb. 1: *Campylobacter*-Prävalenz in unterschiedlichen Matrizen

In 128 der 876 untersuchten Proben konnten *Campylobacter* spp. nachgewiesen werden (Abb.1). Die Prävalenz betrug bei Hühnern 68 % (n= 50), Wachteln 62,5 % (n= 40), Schweinen 18 % (n= 50), Tauben 18 % (n= 50), Hunden 10,4 % (n= 241) und bei Katzen 8,5 % (n= 200).

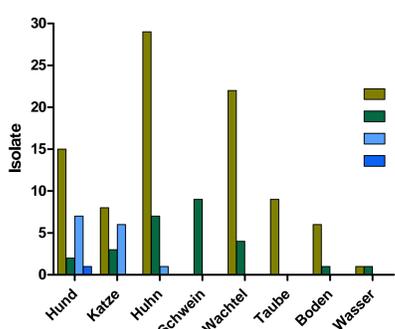


Abb. 2: Nachweis von *Campylobacter*-Spezies in unterschiedlichen Matrizen

Bei Tauben, Hühnern und Wachteln wurden in 100 %, 85,3 % und 88 % der positiven Proben *C. jejuni* (CJ), bei Schweinen in 100 % *C. coli* (CC), und bei Hunden und Katzen sowohl *C. jejuni* (in 60 % und 47,1 %) als auch *C. upsaliensis* (CU) (in 28 % und 35 %) als häufigste Spezies nachgewiesen. Vereinzelt finden sich *C. lari* (CL) (Abb. 2).

### Methodenvergleich

Bei Einsatz der ISO-Methode wurden 103 *Campylobacter*-Stämme und mit der CT-Methode 41 *Campylobacter*-Stämme isoliert. In 11 der 128 positiven Proben wurden bei parallelem Einsatz beider Methoden die gleichen *Campylobacter*-Spezies nachgewiesen (Abb. 3). In drei Proben wurde mit jeder Methode eine andere Spezies nachgewiesen.

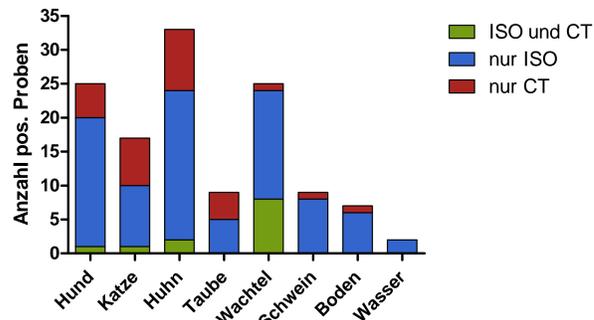


Abb. 3: Methodenvergleich zum Nachweis von *Campylobacter* spp. in unterschiedlichen Matrizen

Die Spezies *C. jejuni* und *C. coli* konnten effizienter mit der ISO 10272-1:2006-Methode und *C. upsaliensis* mit der CT-Methode nachgewiesen werden (Abb. 4).

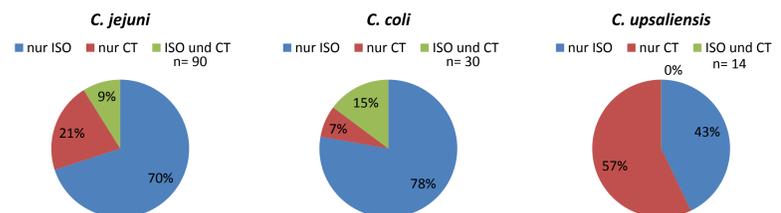


Abb. 4: Methodenvergleich zum Nachweis von *Campylobacter* spp.

### Charakterisierung der *Campylobacter*-Isolate

#### MLST

Klar ist die Abgrenzung der *C. jejuni*-Stämme von den *C. coli*-Stämmen sichtbar. In der *C. coli*-Gruppe dominieren die porcinen Stämme, in *C. jejuni* die aviären Stämme. Die caninen *C. jejuni*-Stämme finden sich ausschließlich in einem Ast des MST.

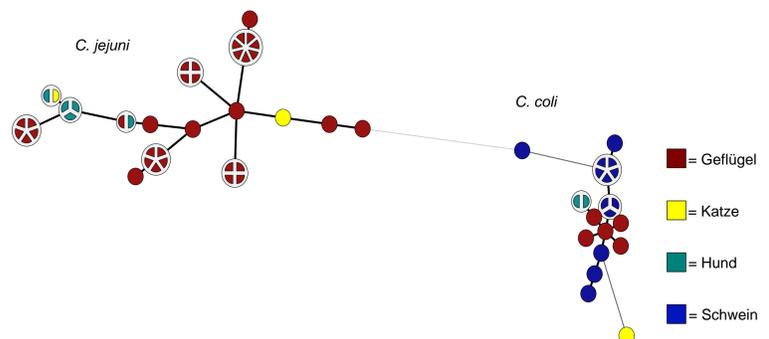


Abb. 5: MLST von *C. jejuni*- und *C. coli*-Isolaten, dargestellt als Minimum Spanning Tree (MST)

#### Antibiotikaresistenz-Bestimmung

Die höchsten Resistenzraten finden sich gegen Tetracyclin (TET) und Ciprofloxacin (CIP). Gegen Gentamicin (GEN) und Chloramphenicol (CHL) sind die untersuchten Isolate sensibel. *C. coli* zeigt im Gegensatz zu *C. jejuni* höhere Resistenzen gegen Streptomycin (STR) und Erythromycin (ERY) (Tab. 1).

Tab. 1: Antibiotikaresistenzen (%) von ausgewählten *C. jejuni* und *C. coli* Isolaten

	n	GEN	CIP	TET	ERY	NAL	CHL	STR
<i>C. jejuni</i>	20	0	50	65	0	30	0	5
<i>C. coli</i>	16	0	37,5	81,25	18,75	12,5	0	50

## Diskussion

Die höchsten *Campylobacter*-Prävalenz fanden sich in Geflügel und Schweinen, aber auch in Hunden und Katzen waren Prävalenzen von ca. 10 % zu finden.

In Hunden und Katzen war *C. jejuni* die am häufigsten nachweisbare Spezies, gefolgt von *C. upsaliensis*.

*C. jejuni* und *C. coli* sind mit der ISO-Methode am besten nachweisbar. Das Cape Town-Protokoll konnte im Vergleich mehr *C. upsaliensis* nachweisen als die ISO-Methode. Erstaunlicherweise fanden sich wenig Kongruenzen im Speziesnachweis bei parallelem Einsatz beider Methoden.

Die Antibiotikaresistenzuntersuchungen bestätigen bereits vorliegende nationale Daten zum Resistenzprofil von *Campylobacter*.

#### Literatur

Lastovica und le Roux (2000) J. Clin. Microbiol.  
 Wang et al. (2002) J. Clin. Microbiol.

