

# Prävalenz und genetische Diversität von *Arcobacter* aus Lebensmitteln in Deutschland

Daniel Lehmann<sup>1</sup>, Laura Lehmann<sup>1</sup>, Thomas Alter<sup>1</sup>, Tassilo Seidler<sup>2</sup>, Greta Gözl<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institut für Lebensmittelhygiene, Freie Universität Berlin, Berlin

<sup>2</sup> Life Sciences and Technology, Beuth Hochschule für Technik, Berlin



BEUTH HOCHSCHULE FÜR TECHNIK BERLIN  
University of Applied Sciences

## Einleitung

*Arcobacter* sind gram-negative, bewegliche, korkenzieherförmige Bakterien, die zu der Familie der *Campylobacteraceae* gehören. Die Spezies *Arcobacter* (*A.*) *butzleri* wird auch mit humanen Erkrankungen, wie akuten bzw. andauernden wässrigen Durchfällen und Bauchkrämpfen, in Zusammenhang gebracht.

Ziel der Studie war, die Prävalenz von *Arcobacter* spp. in Lebensmittelproben in Deutschland zu bestimmen. Zusätzlich wurde die Anwesenheit putativer Virulenzgene und die genetische Diversität der *A. butzleri* Stämme untersucht.

## Material und Methoden

### Probenmaterial

Insgesamt wurden 157 Proben aus dem Berliner Einzelhandel in dieser Studie berücksichtigt: frisches Fischfleisch aus Aquakultur/Wildfang n = 50; gemischtes Hackfleisch n = 51, Geflügelfleisch n = 56.

### Nachweis von *Arcobacter* spp. (nach Ataby et al. 2003)

Es wurden jeweils 1 g Probe 1:10 in *Arcobacter* Boullion (Oxoid, Wesel) + CAT-Supplement zerkleinert und für 48 h bei 30° C unter mikroaeroben Bedingungen inkubiert. Die Anreicherungskultur wurde 1:10 in *Brucella* Boullion verdünnt und 300 µl auf einen Filter mit 0,6 µm Porengröße, der auf einer Mueller-Hinton Blut-Agarplatte (MHB; Oxoid) auflag, verteilt. Nach 1 h Inkubation bei 30° C unter aeroben Bedingungen wurde der Filter entfernt und die Platten bis zu 7 Tagen weiter inkubiert. Verdächtige Kolonien wurden auf MHB-Platten bei 30° C unter mikroaeroben Bedingungen angereichert.

### Identifizierung der Isolate

Die DNA der Isolate wurde mittels Chelex-Methode extrahiert und anhand der *Arcobacter*-mPCR nach Houf et al. (2000) der Genus *Arcobacter* und die Spezies bestimmt. Von mPCR-positiven Isolaten wurde zusätzlich der 16S rRNA Locus sequenziert (Coenye et al. 1999) und mittels BLAST (NCBI) die Spezies bestätigt.

### PCR zum Virulenzgenachweis

Die 10 putativen Virulenzgene *cadF*, *pldA*, *irgA*, *hecA*, *hecB*, *cj1349*, *ciaB*, *mviN*, *tlyA* und *iroE* wurden mittels PCR (Karadas et al. 2013) nachgewiesen.

### ERIC-PCR zur Genotypisierung

Der Genotyp der *A. butzleri* Isolate wurde anhand der enterobacterial repetitive intergenic consensus (ERIC)-PCR nach Houf et al. (2000) bestimmt. Das Dendrogramm wurde anhand des PCR-Bandenmusters mittels BioNumerics v6.1 erstellt. Die Ähnlichkeit der Bandenmuster wurden mit dem Pearson-Korrelations-Koeffizienten und die Cluster-Zugehörigkeit mit UPGMA kalkuliert.

## Zusammenfassung

Zusammenfassend belegt diese Studie, dass etwa ein Drittel der Fisch- und Geflügelfleischproben aus dem Einzelhandel *Arcobacter* spp. enthielten. Diese Daten unterstreichen die Notwendigkeit, die Bedeutung von *Arcobacter* für den gesundheitlichen Verbraucherschutz weitergehend zu untersuchen.

### Literatur

Ataby et al 2003; Int J Food Microbiol  
Houf et al 2000; FEMS Microbiol Lett  
Karadas et al 2013; J Appl Microbiol  
Coenye et al 1999; Int J of Syst Bacteriol



## Ergebnisse

Tabelle 1: Prävalenz von *Arcobacter* spp. in Berliner Einzelhandelsproben

Herkunft	n	Anzahl (%) positive Proben			
		<i>Arcobacter</i> spp.	<i>A. butzleri</i>	<i>A. cryaerophilus</i>	<i>A. skirrowii</i>
Fisch	50	17 (34%)	16 (32%)	1 (2%)	-
Geflügel	56	15 (26.8%)	15 (26.8%)	-	-
Hackfleisch	51	1 (2.0%)	1 (2.0%)	-	-
Total	157	33 (21.0%)	32 (20.4%)	1 (0.6%)	-

*Arcobacter* spp. konnte in 21% der untersuchten Proben - mit *A. butzleri* (97%) als dominierender Spezies - nachgewiesen werden. Die höchste Prävalenz wurde in Fischfleisch (34%), gefolgt von Geflügelfleisch (26,8%) und nur geringfügig in gemischtem Hackfleisch (2%) ermittelt werden.

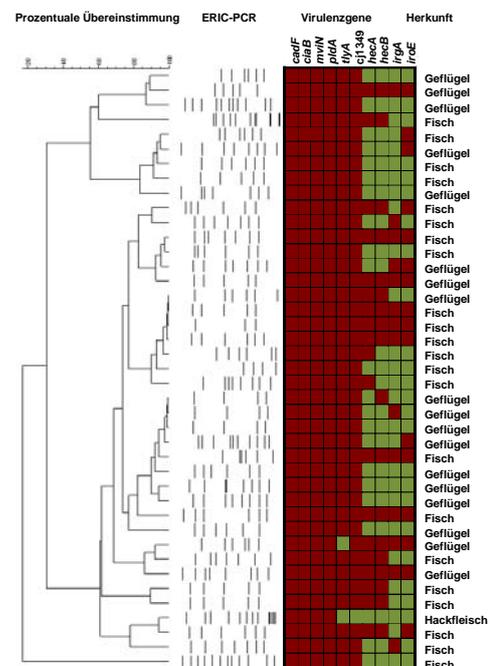


Abbildung 1: Charakterisierung der *A. butzleri*-Isolate mittels ERIC-PCR und Virulenzgenmuster

Das ERIC-PCR Bandenmuster zeigt eine hohe genetische Diversität der *A. butzleri* Isolate auf. Es lässt sich keine Korrelation zwischen dem ERIC-PCR Bandenmuster, der Herkunft des Stammes und dem Virulenzgenmuster herstellen.

Tabelle 2: Verbreitung der Virulenzgene in *A. butzleri* Isolaten aus dem Berliner Einzelhandel

Herkunft	n	Anzahl (%) der positive getesteten Isolate									
		<i>cadF</i>	<i>ciaB</i>	<i>cj1349</i>	<i>irgA</i>	<i>hecA</i>	<i>hecB</i>	<i>mviN</i>	<i>pldA</i>	<i>tlyA</i>	<i>iroE</i>
Fisch	21	21 (100%)	21 (100%)	21 (100%)	8 (38.1%)	14 (66.7%)	12 (57.1%)	21 (100%)	21 (100%)	21 (100%)	9 (42.9%)
Geflügel	19	19 (100%)	19 (100%)	19 (100%)	6 (31.6%)	5 (26.3%)	6 (31.6%)	19 (100%)	19 (100%)	18 (94.7%)	7 (36.8%)
Total	40	40 (100%)	40 (100%)	40 (100%)	14 (35%)	19 (47.5%)	18 (45%)	40 (100%)	40 (100%)	39 (97.5%)	16 (40%)

Alle Isolate codieren für die Virulenzgene *cadF*, *ciaB*, *cj1349* und *mviN*, wohingegen die Virulenzgene *tlyA* (97,5%), *hecA* (47,5%), *hecB* (45%) *iroE* (40%) und *irgA* (35%) in geringerer Häufigkeit nachgewiesen wurden. Die Fisch-Isolate codieren häufiger für das Gene *hecA* ( $p < 0,01$ ; Fischer's exact test) als die Geflügel-Isolate.