

**Nachweis von *Chlamydophila psittaci*
in unterschiedlichen Bereichen in zwei
Hähnchen- und zwei Putenschlachtereien
mittels direkter Immunfluoreszenz nach
Erregeranzüchtung in
Buffalo-Green-Monkey-Kidney-Zellkulturen
sowie der Polymerase-Ketten-Reaktion mit
anschließender Restriktionsenzymanalyse**

**INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
beim Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen**

HEIKE NÜCHTER

**édition scientifique
WB LAUFERSWEILER VERLAG**

ISBN 3-89687-659-7

Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.

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

1. Auflage 2004

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

1st Edition 2004

© 2004 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Wetttenberg
Printed in Germany

VVB LAUFERSWEILER VERLAG
édition scientifique

GLEIBERGER WEG 4, D-35435 WETTENBERG
Tel: 06406-4413 Fax: 06406-72757
Email: VVB-IPS@T-ONLINE.DE
www.vvb-ips.de

Aus der Klinik für Vögel, Reptilien, Amphibien und Fische
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Betreuer: Prof. Dr. E. F. Kaleta

**Nachweis von *Chlamydophila psittaci* in unterschiedlichen
Bereichen in zwei Hähnchen- und zwei Putenschlachtereien
mittels direkter Immunfluoreszenz nach Erregeranzüchtung
in Buffalo-Green-Monkey-Kidney-Zellkulturen sowie der
Polymerase-Ketten-Reaktion mit anschließender
Restriktionszymanalyse**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
beim Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von
HEIKE NÜCHTER
Tierärztin aus Frankfurt am Main

Gießen 2004

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

Dekan: Prof. Dr. Dr. h.c. B. Hoffmann

1. Berichterstatter: Prof. Dr. E. F. Kaleta

2. Berichterstatter: Prof. Dr. M. Bülte

Tag der mündlichen Prüfung: 28. Januar 2004

Meiner Familie

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungen

1	Einleitung	1
2	Literaturübersicht	5
2.1	Chlamydien	5
2.1.1	Klassifizierung und Eigenschaften der Chlamydien	5
2.1.2	Morphologie und Biochemie der Chlamydien	10
2.1.3	Antigenetische Differenzen von Chlamydien	13
2.1.4	Vermehrung von Chlamydien	14
2.1.5	Virulenzunterschiede	17
2.1.6	Resistenz von Chlamydien	19
2.1.6.1	Methodiken zum Resistenznachweis	19
2.1.6.2	Resistenz von Chlamydien gegenüber Antiinfektiva	22
2.1.7	Tenazität von Chlamydien	24
2.1.7.1	Tenazität von Chlamydien gegenüber physikalischen Einflüssen	26
2.1.7.2	Tenazität von Chlamydien gegenüber chemischen Einflüssen	27
2.1.7.3	Tenazität von Chlamydien gegenüber Desinfektionsmitteln	27
2.1.8	Wirtsspektrum von Chlamydien	28
2.1.8.1	Wirtsspektrum von <i>Chlamydophila psittaci</i>	28
2.1.8.2	Wirtsspektrum von <i>Chlamydophila pneumoniae</i>	31
2.1.8.3	Wirtsspektrum von <i>Chlamydia trachomatis</i>	32
2.1.8.4	Wirtsspektrum von <i>Chlamydophila pecorum</i>	32
2.2	Rechtliche Bestimmungen	32
2.3	Chlamydien in der Geflügelwirtschaft	34
2.3.1	Geschichte der Chlamydien	34
2.3.2	Chlamydien in Hühner- und Putenbeständen	36

2.3.2.1	<i>Chlamydophila psittaci</i>	36
2.3.2.1.1	Prävalenz, Vorkommen und Verbreitung von <i>Chlamydophila psittaci</i> in Hühner- und Putenbeständen	36
2.3.2.1.1.1	Prävalenz, Vorkommen und Verbreitung von <i>Chlamydophila psittaci</i> bei Puten	37
2.3.2.1.1.2	Prävalenz, Vorkommen und Verbreitung von <i>Chlamydophila psittaci</i> bei Masthühnern	40
2.3.2.1.1.3	Prävalenz, Vorkommen und Verbreitung von <i>Chlamydophila psittaci</i> bei Legehühnern	41
2.3.2.1.2	Epidemiologie	42
2.3.2.1.2.1	Erregerreservoir von <i>Chlamydophila psittaci</i>	42
2.3.2.1.2.2	Mögliche Infektionswege beim Hausgeflügel	42
2.3.2.1.2.3	Pathogenese einer <i>Chlamydophila psittaci</i> -Infektion beim Hausgeflügel	43
2.3.2.1.2.4	Ausscheidungswege von <i>Chlamydophila psittaci</i> beim Hausgeflügel	44
2.3.2.1.2.5	Belastungsfaktoren, die den Ausbruch einer <i>Chlamydophila psittaci</i> -Infektion begünstigen	45
2.3.2.1.3	Verlaufsformen und Symptome der Chlamydiose	45
2.3.2.1.3.1	Verlaufsformen und Symptome der Chlamydiose bei Puten	46
2.3.2.1.3.2	Verlaufsformen und Symptome der Chlamydiose bei Masthühnern	48
2.3.2.1.3.3	Verlaufsformen und Symptome der Chlamydiose bei Legehühnern	48
2.3.2.1.4	Makroskopische Veränderungen	48
2.3.2.1.4.1	Makroskopische Veränderungen bei Puten	49
2.3.2.1.4.2	Makroskopische Veränderungen bei Masthühnern	49
2.3.2.1.4.3	Makroskopische Veränderungen bei Legehühnern	49
2.3.2.1.5	Histopathologische Veränderungen beim Geflügel	50
2.3.2.1.5.1	Histopathologische Veränderungen bei Puten	50
2.3.2.1.5.2	Histopathologische Veränderungen bei Masthühnern	51
2.3.2.1.5.3	Histopathologische Veränderungen bei Legehühnern	51
2.3.2.1.6	Therapie der Chlamydiose beim Wirtschaftsgeflügel	51
2.3.2.1.7	Metaphylaxe (Impfung) beim Geflügel	52

2.3.2.2	Sonstige Chlamydien-Spezies beim Wirtschaftsgeflügel	54
2.3.3	Chlamydien als Zoonoseerreger	54
2.3.3.1	<i>Chlamydophila psittaci</i> als Zoonoseerreger	54
2.3.3.1.1	Häufigkeit, Vorkommen und Verbreitung von <i>Chlamydophila psittaci</i> bei beruflich exponierten Personengruppen (Schlachtereipersonal)	54
2.3.3.1.2	Infektionswege des Menschen mit <i>Chlamydophila psittaci</i>	59
2.3.3.1.3	Verlauf der Ornithose beim Menschen	60
2.3.3.1.4	Therapie der Ornithose beim Menschen	61
2.3.3.1.5	Metaphylaxe (Impfung) beim Menschen	62
2.3.3.1.6	Rechtliche Bestimmungen zur Ornithose des Menschen	62
2.3.4	Vorkommen und Verlaufsformen von <i>Chlamydophila pneumoniae</i> -Infektionen	62
2.3.5	Vorkommen und Verlaufsformen von <i>Chlamydia trachomatis</i> -Infektionen	63
2.3.6	Vorkommen und Verlaufsformen von <i>Chlamydophila pecorum</i> -Infektionen	64
2.4	Geflügelfleischerzeugung	64
2.4.1	Geflügelfleischverbrauch	64
2.4.2	Rechtsvorschriften	66
2.4.3	Geflügelhaltung	72
2.4.4	Schlachtgeflügeltransport	73
2.4.5	Geflügelschlachtung (Schlachttechnologie)	74
2.4.6	Hygienisch kritische Punkte der Geflügelschlachtung	78
2.4.7	Eintrag von Chlamydien in die Schlachtereie	82
2.4.8	Chlamydien-exponierte Betriebsbereiche	83
2.4.9	Ziele und Durchsetzung von Hygiene in Geflügelschlachtereien	84
2.4.9.1	Ziele von Hygiene in Geflügelschlachtereien	84
2.4.9.2	Durchsetzung von Hygiene in Geflügelschlachtereien	84
2.4.9.2.1	Betriebshygiene	84
2.4.9.2.2	Betriebsmanagement/Hygienebeauftragter	85
2.4.9.2.3	Hygiene des Personals	86

2.5	Reinigung und Desinfektion in Geflügelschlachtereien	87
2.5.1	Hygiene- oder Reinigungsplan	87
2.5.2	Reinigung und Reinigungsmittel	88
2.5.2.1	Reinigungsmittel	89
2.5.2.2	Reinigungsvorgang	90
2.5.3	Desinfektion und Desinfektionsmittel	91
2.5.3.1	Physikalische Desinfektion	92
2.5.3.2	Chemische Desinfektion	93
2.5.4	Reinigungs- und Desinfektionsverfahren bei Chlamydien	96
2.6	Chlamydiennachweise	97
2.6.1	Mögliche Proben zur Chlamydiendiagnostik	97
2.6.1.1	Tierproben für die Chlamydiendiagnostik	97
2.6.1.1.1	Chlamydiendiagnostik am toten Tier	98
2.6.1.1.2	Chlamydiendiagnostik am lebenden Tier	98
2.6.1.2	Sonstiges geeignetes Probenmaterial für die Chlamydiendiagnostik	99
2.6.2	Möglichkeiten des Transportes von Chlamydien-Probenmaterial	99
2.6.3	Verfahren zum Chlamydiennachweis	100
2.6.3.1	Direkte Nachweismethoden	101
2.6.3.1.1	Spezialfärbungen	101
2.6.3.1.2	Direkte Immunfluoreszenz	102
2.6.3.1.3	Embryoniertes Hühnerei	103
2.6.3.1.4	Tierversuch	103
2.6.3.1.5	Antigen-ELISA	103
2.6.3.1.6	Immunoassay	104
2.6.3.1.7	Elektronenmikroskop	104
2.6.3.1.8	Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR)	104
2.6.3.2	Indirekte Nachweismethoden	105
2.6.3.2.1	Komplementbindungsreaktion (KBR)	105
2.6.3.2.2	Hämagglutinationshemmtest (HAH)	105
2.6.3.2.3	Agargelpräzipitationstest (AGP)	106
2.6.3.2.4	Latex-Agglutinations-Test	106
2.6.3.2.5	Antikörper-ELISA	106

2.6.3.2.6	Indirekter Immunfluoreszenztest	106
2.6.4	Angewandte Nachweismethoden	107
2.6.4.1	Erregeranzüchtung in der BGM-Zellkultur mit anschließender direkter Immunfluoreszenz	107
2.6.4.2	Polymerase-Ketten-Reaktion mit anschließender Restriktionsenzymanalyse	110
2.6.4.2.1	Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR)	110
2.6.4.2.1.1	Reaktionsschritte	112
2.6.4.2.1.2	Mastermix	112
2.6.4.2.1.3	PCR in der Chlamydiendiagnostik	113
2.6.4.2.2	Restriktionsenzymanalyse (REA)	114
2.7	Methodenvergleiche	115
3	Material und Methoden	117
3.1	Material	117
3.1.1	Untersuchungsmaterial	117
3.1.2	Herkunft des Untersuchungsmaterials	117
3.1.3	Anzahl der Besuche zur Probeentnahme	119
3.1.4	Probeentnahmeorte	119
3.1.5	Materialien und Medien zur Probeentnahme und Transport	136
3.1.5.1	Materialien zur Probeentnahme und zum Transport	136
3.1.5.2	Medien zur Probeentnahme und zum Transport	136
3.1.6	Verwendete Zellkulturen	137
3.1.6.1	Buffalo-Green-Monkey-Kidney-(BGM-) Zellen	137
3.1.7	Benötigte Materialien, Medien und Reagenzien	137
3.1.7.1	BGM-Zellkultur	137
3.1.7.2	Direkte Immunfluoreszenz (IFT)	139
3.1.7.3	Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR)	140
3.1.7.4	Restriktionsenzymanalyse (REA)	143
3.1.7.5	Geräte	143
3.1.7.6	Computerprogramme	144

3.2	Methoden	145
3.2.1	Befragung der Hygienebeauftragten der vier Schlachtereien	145
3.2.2	Technik der Probeentnahme	145
3.2.2.1	Technik der Probeentnahme auf feuchten Oberflächen	145
3.2.2.2	Technik der Probeentnahme auf trockenen Oberflächen	146
3.2.2.3	Technik der Organprobenentnahme	146
3.2.2.4	Dauer der Probeentnahme	148
3.2.3	Transport der Proben	148
3.2.4	Lagerung der Proben	148
3.2.5	Aufbereitung des Probenmaterials	148
3.2.5.1	Aufbereitung der Tupferproben	148
3.2.5.2	Aufbereitung der Organproben	149
3.2.6	Buffalo-Green-Monkey-Kidney-(BGM-) Zellen	149
3.2.6.1	Subkultivieren von BGM-Zellen	149
3.2.6.2	Herstellung von Zellkulturen in 24-Loch-Platten	150
3.2.6.3	Beimpfen der Zellkultur	150
3.2.6.4	Passagierung der Proben	150
3.2.6.5	Filtration der Proben	151
3.2.7	Angewandte Nachweismethoden	151
3.2.7.1	Direkter Immunfluoreszenztest (IFT)	151
3.2.7.1.1	Testprinzip	151
3.2.7.1.2	Durchführung des Tests	152
3.2.7.1.3	Auswertung des Tests	152
3.2.7.1.4	Kreuzreaktionen	153
3.2.7.2	Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR)	154
3.2.7.2.1	DNA-Isolierung (Probenaufbereitung)	154
3.2.7.2.1.1	Tupferproben	154
3.2.7.2.1.2	Organproben (Milzen)	155
3.2.7.2.2	Prinzip der Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR)	156
3.2.7.2.3	Mastermix-Herstellung	157
3.2.7.2.4	Zyklusbedingungen	158
3.2.7.2.5	Mitzuführende Kontrollen	159
3.2.7.2.6	Vorsichtsmaßnahmen zur Verhinderung von Kontaminationen	159

3.2.7.2.7	Nachweis der PCR-Produkte mittels Agarose-Gel-Elektrophorese	160
3.2.7.2.8	Sensitivität der PCR	161
3.2.7.3	Restriktionsenzymanalyse (REA)	162
3.2.7.3.1	Prinzip der Restriktionsenzymanalyse	162
3.2.7.3.2	Durchführung der Restriktionsenzymanalyse	162
3.2.7.3.3	Nachweis der Fragmente mittels Agarose-Gel-Elektrophorese	163
4	Ergebnisse	164
4.1	Chlamydiennachweis mittels direkter Immunfluoreszenz nach Erregeranzüchtung in der BGM-Zellkultur	164
4.1.1	Direkter Immunfluoreszenztest (IFT)	164
4.1.2	Hähnchen (Broiler) -schlachtereie 1	165
4.1.3	Hähnchen (Broiler) -schlachtereie 2	168
4.1.4	Putenschlachtereie 1	171
4.1.5	Putenschlachtereie 2	174
4.1.6	Vergleiche zwischen den vier Schlachtereien	177
4.1.7	Vergleiche zwischen ähnlichen Betriebsbereichen	178
4.2	Chlamydiennachweis mittels Polymerase-Ketten-Reaktion mit anschließender Restriktionsenzymanalyse	181
4.2.1	Chlamydiennachweis mittels PCR	181
4.2.2	Sensitivität der PCR	182
4.2.3	<i>Chlamydophila psittaci</i> -Nachweis mittels Restriktionsenzymanalyse	184
4.2.4	Hähnchen (Broiler) -schlachtereie 1	186
4.2.5	Hähnchen (Broiler) -schlachtereie 2	189
4.2.6	Putenschlachtereie 1	192
4.2.7	Putenschlachtereie 2	195
4.2.8	Vergleiche zwischen den vier Schlachtereien	198
4.2.9	Vergleiche zwischen ähnlichen Betriebsbereichen	199
4.3	Vergleich der beiden Nachweismethoden	202
4.3.1	Methodenvergleich je Schlachtereie	202

4.3.1.1	Hähnchen (Broiler) -schlachtere	202
4.3.1.2	Hähnchen (Broiler) -schlachtere	205
4.3.1.3	Putenschlachtere	208
4.3.1.4	Putenschlachtere	211
4.3.2	Methodenvergleich je Betriebsbereich	214
4.3.3	Gegenüberstellung der vier Schlachtereien	217
4.3.4	Methodenvergleich mit der Gesamtprobenanzahl	218
4.4	Auswertung des Fragebogens	219
5	Diskussion	234
5.1	Bewertung der angewendeten Nachweismethoden	234
5.1.1	Bewertung der Erregeranzüchtung in BGM-Zellkulturen mit anschließender direkter Immunfluoreszenz	234
5.1.2	Bewertung der Amplifikation des <i>omp1</i> -Gens mittels Polymerase-Ketten-Reaktion	237
5.2	Bewertung der Ergebnisse	238
5.2.1	Bewertung der Ergebnisse aus der Hähnchen (Broiler) -schlachtere	239
5.2.2	Bewertung der Ergebnisse aus der Hähnchen (Broiler) -schlachtere	243
5.2.3	Bewertung der Ergebnisse aus der Putenschlachtere	246
5.2.4	Bewertung der Ergebnisse aus der Putenschlachtere	251
5.2.5	Bewertung der Ergebnisse nach Betriebsbereichen	254
5.2.5.1	Annahme/Einhängen	254
5.2.5.2	Entbluten	255
5.2.5.3	Brühen & Rupfen	257
5.2.5.4	Umhängeraum	257
5.2.5.5	Eviszeration	258
5.2.5.6	Zerlegung	259
5.2.5.7	Verpackung	259
5.2.5.8	Produktionsbüro	260

5.2.5.9	Milzen	261
5.2.5.10	Transportkäfige	262
5.2.5.11	Sonstige	262
5.2.5.12	Arbeitsgeräte	263
5.3	Analyse der Mängel bei der Durchführung von Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen	263
5.4	Präventive Maßnahmen zum Schutz des Schlachtere- Personals vor <i>Chlamydophila psittaci</i> -Infektionen	266
6	Zusammenfassung	269
7	Summary	272
8	Literaturverzeichnis	275
9	Anhang	322
10	Danksagung	346

Abkürzungen

Abb.	Abbildung
ADP	Adenosindiphosphat
Ag	Antigen
AGP	Agargelpräzipitationstest
AK	Antikörper
Aqua bidest.	Aqua bidestillata
Aqua dest.	Aqua destillata
ATP	Adenosintriphosphat
BGM	Buffalo-Green-Monkey-Kidney-Zellen
BME	Basal Medium Eagle
bp	Basenpaare
BSA	Bovines Serumalbumin
bzw.	beziehungsweise
CTC	Chlortetracyclin
°C	Grad Celsius
dATP	Desoxyadenosintriphosphat
dCTP	Desoxycytidintriphosphat
dGTP	Desoxyguanosintriphosphat
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dTTP	Desoxythymidintriphosphat
DVG	Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e.V., Gießen
EK	Elementarkörperchen
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
et al.	et alii (und andere)
evtl.	eventuell
FITC	Fluorescein-Iso-Thio-Cyanat
FKS	Fetales Kälberserum

g	Gramm
GFIHG	Geflügelfleischhygiene-Gesetz
GFIHV	Geflügelfleischhygiene-Verordnung
ggf.	gegebenenfalls
GTP	Guanintriphosphat
h	Stunde
HAH	Hämagglutinationshemmtest
i.d.R.	in der Regel
i.m.	intramuskulär
IfSG	Infektionsschutz-Gesetz
IFT	Immunfluoreszenztest
IK	Intermediärkörperchen
JLU	Justus-Liebig-Universität
KBE	Kolonie bildende Einheiten
KBR	Komplementbindungsreaktion
KC	Kilocycles per second
LMBG	Lebensmittel- und Bedarfsgegenständegesetz
LPS	Lipopolysaccharid
max.	maximal
MBK	minimale bakterizide Konzentration
MEM	Minimum Essential Medium Eagle
mg	Milligramm
MHK	minimale Hemmkonzentration
MIC	minimum inhibitory concentration
min	Minuten
ml	Milliliter
mM	Millimolar
µl	Mikroliter
µmol	Mikromol
MOMP	Major Outer Membrane Protein

NaCl	Natriumchlorid
NAD ⁺	Nicotinamidadenindinucleotid
NAPD ⁺	Nicotinamidadenindinucleotidphosphat
neg.	negativ
NPS	Nebenprodukte der Schlachtung
NTP	Nukleosidtriphosphat
p.i.	post infectionem
PCR	Polymerase-Ketten-Reaktion
pH	Negativer Logarithmus der H ⁺ Ionenkonzentration (Potentia hydrogenii)
REA	Restriktionsenzymanalyse
RK	Retikularkörperchen
sp.	Spezies
SPF	spezifisch pathogenfrei
Tab.	Tabelle
TierSchlV	Tierschutz-Schlachtverordnung
TierSG	Tierseuchengesetz
usw.	und so weiter
UV	Ultraviolett
VO	Verordnung
W & R	Washed and Reincubated-Methode
z.B.	zum Beispiel

1 Einleitung

Chlamydien sind gram-negative, obligat intrazelluläre Bakterien mit einem komplexen Reproduktionszyklus (Elementar-, Retikular- und Intermediärkörperchen). Sie sind in der Natur weit verbreitet und liegen mit einer Größe von 0,2 (Elementarkörperchen) bis 0,4 µm (Retikularkörperchen) an der Grenze der Mikroskopierbarkeit (ROLLE und MAYR, 1993; ANDERSEN und VANROMPAY, 2003).

Zur Familie der Chlamydiaceae gehörten bisher *Chlamydia psittaci*, *Chlamydia pneumoniae*, *Chlamydia trachomatis* und *Chlamydia pecorum* (PAGE, 1966, 1968; STORZ et al., 1971; MOULDER, 1984; CAMPBELL et al., 1987; GRAYSTON et al., 1989; FUKUSHI und HIRAI, 1992). Im Jahre 1999 stellten EVERETT et al. einen neuen Vorschlag für die Systematik der Chlamydien vor, womit nachfolgend weitergearbeitet werden soll. SACHSE und HOTZEL (2000a) verglichen die „Alte“ mit der „Neuen“ Systematik:

NEUE SYSTEMATIK	ALTE SYSTEMATIK
<i>Chlamydia trachomatis</i>	
<i>Chlamydia muridarum</i>	<i>Chlamydia trachomatis</i>
<i>Chlamydia suis</i>	
<hr/>	
<i>Chlamydophila abortus</i>	
<i>Chlamydophila psittaci</i>	<i>Chlamydia psittaci</i>
<i>Chlamydophila caviae</i>	
<i>Chlamydophila felis</i>	
<hr/>	
<i>Chlamydophila pecorum</i>	<i>Chlamydia pecorum</i>
<hr/>	
<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	<i>Chlamydia pneumoniae</i>

Das Wirtsspektrum von *Chlamydophila psittaci* ist fast unerschöpflich. Nachdem MEYER (1941) beweisen konnte, dass Chlamydien nicht nur bei Papageienvögeln auftreten sondern auch bei anderen Vögeln vorkommen, setzte eine intensive Suche nach dem Erreger ein. In relativ kurzen Zeitabständen wurden immer längere Listen der

Chlamydophila-positiven Vogelordnungen und Vogelspezies publiziert. Diese Aussage belegt folgende Übersicht:

Tabelle 1: Nachweise von Chlamydien bei Ordnungen und Spezies der Vögel.

Zahl Chlamydien-positiver		Literaturquelle
Ordnungen	Spezies	
10	70	Meyer, 1952
12	120	Meyer, 1967
14	144	Burkhart & Page, 1971
15	159	Brand, 1989
29	376	Taday, 1998
30	467	Kaleta & Taday, 2003

Chlamydien wurden auch bei Arthropoden, Mollusken, Amphibien, Fischen, Säugetieren und dem Menschen nachgewiesen (MEYER, 1967; WACHENDÖRFER, 1970; WOLKE et al., 1970; SCHMATZ et al., 1977; JOHNSON, 1983; WARD, 1983; KRAUSS und SCHMEER, 1992; GERLACH, 1993; MUTSCHMANN, 1998a, 1998b). Beim Wirtschaftsgeflügel sind Infektionen mit *Chlamydophila psittaci* relativ häufig zu finden (HAFEZ und STING, 1992; UNKRIG, 1993; RYLL et al., 1994; HAFEZ und STING, 1997). Sie verlaufen jedoch meist klinisch inapparent, wobei die Erregerausscheidung regelmäßig bis intermittierend sein kann. Besonders latent infizierte Tiere können den Erreger über Jahre ausscheiden ohne dabei selbst zu erkranken (KRAUSS und SCHMEER, 1992; ROLLE und MAYR, 1993; GERLACH, 1994; HOLZINGER, 1996; GYLSTORFF und GRIMM, 1998). In Stresssituationen (z.B. Ausstellen, Be- und Entladen, Transporte) kann es zur vermehrten Erreger-Ausscheidung kommen.

Die Ornithose des Geflügels unterliegt seit 1970 der Meldepflicht. Die Bekämpfung, das Meldewesen sowie Schutzmaßnahmen sind in der Verordnung zum Schutz gegen die Psittakose und Ornithose (Psittakose-VO) vom 14. November 1991, zuletzt geändert am 14. Oktober 1999, den Ausführungshinweisen zur Psittakose-VO vom 16. Mai 1975, zuletzt geändert am 26. Oktober 1987 und der Verordnung über meldepflichtige

Tierkrankheiten vom 11. April 2001 geregelt. Die Ornithose des Menschen muss nach dem Gesetz zur Verhütung und Bekämpfung von Infektionskrankheiten beim Menschen vom 20. Juli 2000 (Infektionsschutz-Gesetz) gemeldet werden.

Chlamydien haben Zoonosecharakter, so ist die durch *Chlamydophila psittaci* hervorgerufene Ornithose des Menschen eine Zoonose (SELBITZ, 1992). Die Erregerübertragung von Vogel zu Vogel, aber auch die von Vogel zu Säugetier oder Mensch erfolgt hauptsächlich durch die Inhalation von erregerhaltigem, angetrocknetem Staub oder Aerosolen aus Federn, eingetrocknetem Auswurf oder Kot (PAGE, 1959; PAGE und GRIMES, 1984; STORZ und KRAUSS, 1985; KRAUSS und SCHMEER, 1992).

Chlamydieninfektionen bei Mitarbeitern, besonders in der Geflügelzucht und in Geflügelschlachtereien, sind bekannt und mehrfach beschrieben worden (IRONS et al., 1951; GRABER und POMEROY, 1958; DUFREE et al., 1975; HEDBERG et al., 1989; NEWMAN, 1989; KRAUSS, 1992; LEDERER und MÜLLER, 1999; ANDERSEN, 2000; MANKE, 2000). Bei der rechtlich vorgeschriebenen Schlachtgeflügeluntersuchung (gemäß § 4 GFIHV) werden nur klinisch erkrankte Tiere erfasst und unterliegen dem Schlachtverbot (FRIES et al., 2001). Da die meisten Tiere jedoch klinisch inapparent infiziert bleiben (BECKER et al., 1992; SELBITZ, 1992; KALETA et al., 1997), werden *Chlamydophila psittaci*-Infektionen bei der Schlachtgeflügeluntersuchung nicht entdeckt. Diese Untersuchung bietet daher keinen wirksamen Schutz gegen die Einschleppung des Erregers in die Schlachtereie.

Mitarbeiter von Geflügelschlachtereien sind einer hohen Konzentration von infektiösen Aerosolen, kontaminiertem Federstaub und Kot ausgesetzt (LEACHMAN und YOW, 1958; GLASS et al., 1975). Infektionen mit *Chlamydophila psittaci* können in den unterschiedlichsten Arbeitsbereichen erfolgen (IRONS et al., 1951, 1956; GRABER und POMEROY, 1958; RINDGE et al., 1959; DICKERSON, 1962; OTTO, 1961; DUFREE et al., 1975; ANDERSON et al., 1978; KIM et al., 1982; NEWMAN et al., 1989; HEDBERG et al., 1989; RHYNE et al., 1990; MANKE et al., 2000).

Ziel dieser Arbeit ist es, den Nachweis von Chlamydien in Geflügelschlachtereien zu erbringen, zu lokalisieren und somit mögliche Infektionsquellen für das Schlachthofpersonal zu ermitteln. Hierfür wurden Tupfer- und Organproben von zwei Hähnchen- und zwei Putenschlachtereien auf Chlamydien untersucht. Beprobte wurden Organe (Milzen), Oberflächen, Gegenstände und Gerätschaften, mit denen das

Betriebspersonal direkt und/oder indirekt in Kontakt kam. Als Untersuchungsmethoden wurden die Anzuchtung des Erregers in Buffalo-Green-Monkey-Kidney-Zellkulturen (BGM-Zellen) mit anschließender direkter Immunfluoreszenz sowie die Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) mit anschließender Restriktionsenzymanalyse (REA) angewandt.

Die Fragestellungen der eigenen Untersuchungen lauten demnach:

- *Ist Chlamydophila psittaci in Hähnchen- und Putenschlachteereien vorhanden?*
- *Welche Bereiche der Schlachtbetriebe sind von Chlamydophila psittaci betroffen und können somit mögliche Infektionsquellen für das dort beschäftigte Personal darstellen?*

2 Literaturübersicht

2.1 Chlamydien

2.1.1 Klassifizierung und Eigenschaften der Chlamydien

Der Name Chlamydia entstammt dem Griechischen und bedeutet soviel wie Kragen, Mantel oder Hülle, da Chlamydien im Zytoplasma der Wirtszelle von einer Membran, also einer Art Mantel umhüllt sind. Chlamydien wurden lange Zeit als „große Viren“ bezeichnet (PAGE und GRIMES, 1978), sie sind jedoch die kleinsten uns bekannten Bakterien. Früher gebrauchte Bezeichnungen waren *Miyagawanella psittaci* bzw. *ornithosis*, *Chlamydozoon*, *Ehrlichia*, *Bedsonia*, *Levinthal-Coles-Lillie`sche Körperchen*, *Rakeia*, *Psittakose-Lymphogranuloma-Trachom-Gruppe*, *Rickettsiaformes* oder *Neorickettsien* (GRATZL und KÖHLER, 1968; PAGE und GRIMES, 1978; KRAUSS und SCHMEER, 1992). Chlamydien haben besondere morphologische und metabolische Eigenschaften, wie z.B. einen Entwicklungszyklus mit Elementar-, Retikular- und Intermediärkörperchen, nur Spuren von Muramin in der Zellwand und die Unfähigkeit zur eigenen Energiesynthese (z.B. ATP, ADP, GTP). Daher schlugen PAGE (1966, 1968) und STORZ et al. (1971) eine eigene Ordnung innerhalb der Bakterien vor, die gemäß dem „International Code of Nomenclature of Bacteria“ akzeptiert wurde. Noch immer nimmt der Erreger eine eigene Ordnung ein (PAGE, 1966, 1968; STORZ et al., 1971; MOULDER, 1984; CAMPBELL et al., 1987; GRAYSTON et al., 1989).

<u>Ordnung:</u>	Chlamydiales
<u>Familie:</u>	Chlamydiaceae
<u>Genus:</u>	Chlamydia
<u>Spezies:</u>	<i>Chlamydia psittaci</i> <i>Chlamydia pneumoniae</i> <i>Chlamydia trachomatis</i> <i>Chlamydia pecorum</i>

Die Einteilung in Spezies erfolgte aufgrund unterschiedlicher Eigenschaften der Isolate (MOULDER, 1984; PAGE und GRIMES, 1984; FUKUSHI und HIRAI, 1989; KRAUSS und SCHMEER, 1992). Ein Unterscheidungsmerkmal war die Glykogenspeicherfähigkeit (Anfärbbarkeit mit Jod). *Chlamydia trachomatis* z.B. verfügt im Gegensatz zu *Chlamydia psittaci* über die Fähigkeit Glykogen zu synthetisieren (GORDON und QUAN, 1965a). Auch bei der Folsäurebildung (Sulfonamidempfindlichkeit) existieren Unterschiede. *Chlamydia trachomatis* ist empfindlicher gegen Natriumsulfadiazin als *Chlamydia psittaci* (LIN und MOULDER, 1966). Appliziert man Natriumsulfadiazin in den Dottersack von Hühnerembryonen, wird sich nur *Chlamydia psittaci* weiter vermehren (ROLLE und MAYR, 1993). Ebenso können sich die Spezies in ihrem Krankheitsbild und Wirtsspektrum unterscheiden. Auch die Morphologie der Einschlusskörperchen (Mikrokolonien) ist verschieden (ROLLE und MAYR, 1993).

Mit Hilfe von Restriktions-Endonuklease-Analysen konnte *Chlamydia psittaci* in fünf Hauptgruppen eingeteilt werden (ANDERSEN et al., 1989):

- Vogel-Gruppe
- Abort-Gruppe
- Polyarthritits-Konjunktivitis-Gruppe
- Bisamratten-Gruppe
- Meerschweinchen-Konjunktivitis-Gruppe

Die Chlamydiosen der Vögel werden meist durch *Chlamydia psittaci* der Vogel-Gruppe verursacht. Innerhalb dieser Vogel-Gruppe lassen sich mit Hilfe monoklonaler Antikörper mindestens acht Serovare (A-F, M 56, WC) differenzieren (ANDERSEN, 1991, 1997, 1998; VANROMPAY, 1992; VANROMPAY et al., 1993; ANDERSEN und VANROMPAY, 2003) (Tab. 2).

Tabelle 2: Aviäre *Chlamydia psittaci*-Serovare (ANDERSEN, 1997; ANDERSEN und VANROMPAY, 2003).

Serovare	Repräsentativer Chlamydienstamm	Vorkommen	Human-pathogenität
A (Psittaziden-Serovar I)	VS 1	Psittaciformes, Tauben, Kanarienvögel, Puten	hoch
B (Tauben-Serovar I)	GP 3	Tauben, Kanarienvögel, Küken, Fasane, Puten	mittel
C (Enten-Serovar)	GR 9	Enten, Schwäne, Gänse	hoch
D (Puten-Serovar)	NJ 1	Puten	hoch
E (Tauben-Serovar II)	MN	Tauben, Puten, Strauße, Nandus	hoch
F (Psittaziden-Serovar II)	VS 225	Sittich	?
M 56	M 56	Schneehase, Bisamratte	?
WC	WC	Rind	?

Die bei den unterschiedlichen Tierspezies vorkommenden Chlamydienstämme stellen nach WACHENDÖRFER (1970), STORZ (1971) sowie STORZ und KRAUSS (1985) Adaptationsformen dar, sie besitzen keine absolute Tierartspezifität. Auch aviäre Serovare zeigen keine ausgesprochene Wirtsspezifität. Sie können bei anderen Tierarten wie z.B. Schwein, Rind, Schaf und beim Menschen nachgewiesen werden, sie unterscheiden sich hier jedoch in ihrer Virulenz (ANDERSEN, 1991a; GERLACH, 1993; VANROMPAY et al., 1994). Während einer schweren Epizootie bei Puten in Texas konnten bei 100 % der Ziegen, 43 % der Rinder, 65 % der Amseln, 44 % der Regenpfeifer und 27 % der Sperlinge, die in direkter Nachbarschaft zu den erkrankten Puten lebten, Antikörper gegen Chlamydien nachgewiesen werden (PAGE und GRIMES, 1978). Eine Infektion mit einem aviären Chlamydien-Serovar, welches für

eine andere Vogelspezies typisch ist, stellt keine Seltenheit dar. VANROMPAY et al. (1993a) isolierten aus Hühnern (Isolat 91/138, 91/1013) und Puten (Isolat 91/776) das Serovar B, welches ein typisches Tauben-Isolat darstellt.

Chlamydia trachomatis wird in 3 Biovare eingeteilt. Das Maus-Pneumonitis-Biovar ist antigenetisch verschieden zu den sich ähnlichen Trachoma- und Lymphogranuloma Venerum (LGV)- Biovar. Das Trachoma-Biovar wird in 12 Serovare (A, B, Ba, C, D bis K) und das LGV-Biovar in 3 Serovare (L1, L2 und L3) eingeteilt (WANG et al., 1985; HOLLÄNDER, 1988).

Das erste *Chlamydia pneumoniae* Isolat (TW-183) wurde 1965 aus den Konjunktiven eines Kindes (Taiwan) isoliert. Das erste Isolat aus dem Pharynx (AR-39) wurde aus einem Studenten (Seattle) mit Pharyngitis isoliert. Beide wurden als TWAR-Stamm bezeichnet (TW-183 von Taiwan und AR-39 von acute Respiratory), welcher als Serovar von *Chlamydia psittaci* eingeteilt wurde (GRAYSTON et al., 1986). Dieser TWAR-Stamm wird heute jedoch als eigene Spezies *Chlamydia pneumoniae* geführt (GRAYSTON et al., 1989; HOLLAND et al., 1990; BLACK et al., 1991; VANROMPAY et al., 1995a).

Chlamydia pecorum wurde aus Wiederkäuern (Rinder, Schafe, Ziegen), Schweinen und Koalabären isoliert und stellt die vierte Chlamydienspezies dar (FUKUSHI und HIRAI, 1992; KDE & MEW, 2002).

EVERETT et al. (1999) stellten einen neuen Vorschlag für die Systematik der Chlamydien vor (Auszug):

Ordnung: Chlamydiales

Familie: Chlamydiaceae

Genus: Chlamydia

Spezies: *Chlamydia muridarum*

Chlamydia suis

Chlamydia trachomatis

Genus: Chlamydophila

Spezies: *Chlamydophila abortus*

Chlamydophila caviae

Chlamydophila felis

Chlamydophila pecorum

Chlamydophila pneumoniae

Chlamydophila cf. pneumoniae CPXT1

Chlamydophila psittaci

Chlamydophila sp. PEENT

Unclassified Chlamydiaceae

Chlamydiaceae gen. sp. EQVAG

SACHSE und HOTZEL (2000a) verglichen die von EVERETT et al. (1999) mit der von PAGE (1966, 1968) und STORZ et al. (1971) empfohlenen Systematik (Tab. 3).

Tabelle 3: Vergleich Systematik Chlamydien (nach SACHSE und HOTZEL, 2000a).

Neue Spezies	Alte Spezies
<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Chlamydia trachomatis</i>
<i>Chlamydia muridarum</i>	
<i>Chlamydia suis</i>	
<i>Chlamydophila psittaci</i>	<i>Chlamydia psittaci</i>
<i>Chlamydophila abortus</i>	
<i>Chlamydophila caviae</i>	
<i>Chlamydophila felis</i>	
<i>Chlamydophila pecorum</i>	<i>Chlamydia pecorum</i>
<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	<i>Chlamydia pneumoniae</i>

Nachfolgend wird wegen der Aktualität mit der Systematik nach EVERETT et al. (1999) weitergearbeitet. Die in der älteren Literatur verwendete Bezeichnung *Chlamydia psittaci* wird durch *Chlamydophila psittaci* ersetzt, ebenso die Bezeichnungen *Chlamydia pecorum* und *Chlamydia pneumoniae*. Der umgangssprachliche Terminus „Chlamydien“ wird in dieser Arbeit jedoch weitgehend beibehalten.

2.1.2 Morphologie und Biochemie der Chlamydien

Chlamydien sind sehr kleine, gram-negative und unbewegliche Mikroorganismen. Sie verfügen im Gegensatz zu Viren über DNS und RNS und werden den Bakterien zugeordnet. Chlamydien besitzen Ribosomen und Enzyme, wodurch sie in der Lage sind, ihre Nukleinsäuren, Fette und Proteine selbst zu synthetisieren. Sie sind jedoch nicht in der Lage, energiereiche Verbindungen wie Adenosintriphosphat (ATP), Adenosindiphosphat (ADP), Guanintriphosphat (GTP) und andere Nukleosid-

triphosphate zu synthetisieren (WARD, 1983; MOULDER, 1984; GRAYSTON et al., 1989; HAHN, 1991; FUKUSHI und HIRAI, 1992; ROLLE und MAYR, 1993; ANDERSEN et al., 1997; ANDERSEN, 1998; ANDERSEN und VANROMPAY, 2003). Auch Metaboliten wie Nicotinamid (NAD^+), NAPD^+ und essentielle Aminosäuren wie Leucin, Isoleucin, Cystein, Tyrosin, Valin und Phenylalanin beziehen Chlamydien von ihrem Wirt (BADER und MORGAN, 1958; LINDENSTRUTH, 1992; TADAY, 1998). Sie besitzen eine den gram-negativen Bakterien (z.B. *Escherichia coli*) ähnliche Zellwand, der charakteristischerweise die Peptidoglykanschicht fehlt und nur Spuren von Murein enthält. Alle Chlamydien innerhalb der beiden Genera Chlamydia und Chlamydophila der Familie Chlamydiaceae besitzen ein gemeinsames genuspezifisches Lipopolysaccharid (LPS, gruppenspezifisches Antigen), dessen Aufbau dem gram-negativer Bakterien gleicht und während des gesamten Vermehrungszyklus präsent ist (KRAUSS und SCHMEER, 1992). Das Molekulargewicht des LPS beträgt 10 kDa (VANROMPAY et al., 1995a; ANDERSEN und VANROMPAY, 2003). Mikromorphologisch sind während der Vermehrung der Chlamydien drei unterschiedliche Formen, die Elementar-, Intermediär- und Retikularkörperchen unterscheidbar. Elementarkörperchen (EK), Intermediärkörperchen (IK) und Retikularkörperchen (RK) formen in der Wirtszelle das charakteristische Einschlusskörperchen, welches von der Membran einer zytoplasmatischen Vakuole umschlossen ist. Das Einschlusskörperchen liegt in der Nähe des Zellkerns im Zytoplasma und ist lichtmikroskopisch sichtbar.

Die Elementarkörperchen (EK) stellen die infektiöse Form der Chlamydien dar. Sie sind extrazellulär überlebensfähig, kokkoid, haben eine Größe von 0,2 bis 0,3 μm und einen elektronenmikroskopisch dichten Innenkörper aus ringförmig geschlossener DNS mit einem Molekulargewicht von $6,6 \times 10^8$ Dalton (BECKER, 1978; SCHIEFER und KRAUSS, 1982; MOULDER, 1984; WYRICK und RICHMOND, 1989; GRIMES und WYRICK, 1991; ANDERSEN und VANROMPAY, 2003). Sie sind intrazellulär nicht vermehrungsfähig und das Zytoplasma enthält wenige Ribosomen. Die Zellwand ist starr, dreischichtig und besteht aus Proteinen (70 %), Phospholipoiden (5,1 %) und sauren Polysacchariden. Sie enthält Galaktosamin und Glukosamin (SCHIEFER und KRAUSS, 1982; WYRICK und RICHMOND, 1989; HAHN, 1991; GRIMES und WYRICK, 1991; VANROMPAY et al., 1995a; ANDERSEN et al., 1997). Der Outer Membrane Komplex der Chlamydien besteht aus drei Proteinen, dem cysteinreichen

Major Outer Membrane Protein (MOMP) und zwei cysteinreichen Proteinen, dem Outer Membrane Complex B Protein (OmcB) und dem Outer Membrane Complex A Protein (OmcA). Die Major Outer Membrane Proteine (MOMP's) sind speziesspezifische Oberflächenproteine (Polypeptide) an der äußeren Zellmembran von Elementarkörperchen und kommen auch nur bei diesen vor. Das MOMP macht 60 % des Proteinanteiles der äußeren Zellwand aus und ist zu 30 % an der Gesamtmasse der Chlamydien beteiligt (CALDWELL und SCHACHTER, 1982; ANDERSEN und VANROMPAY, 2003). Die Form der Chlamydien und Stabilität der Zellwand wird durch Disulfidbrücken im MOMP beeinflusst, außerdem übernimmt es die Funktion des fehlenden Peptidoglykangerüsts. Durch die Ausweitung bzw. Verengung des supramolekularen Netzwerkes aus Disulfidbrücken ist das MOMP maßgeblich an der Porenbildung in der Membran beteiligt (NEWHALL und JONES, 1983; FUKUSHI und HIRAI, 1988; YUAN et al., 1990; GRIMES und WYRICK, 1991) (Tab. 4).

Die Intermediärkörperchen (IK, englisch: Intermediate bodys [IB]) haben eine Größe von 0,3 bis 1,0 μm und entstehen bei der Transformation von Retikular- zu Elementarkörperchen innerhalb des Einschlusskörperchens am Ende des Entwicklungszyklus. Sie stellen also eine Entwicklungs-Zwischenform zwischen Retikular- und Elementarkörperchen vor der Lysis der Zelle dar (PAGE, 1974; SCHIEFER und KRAUSS, 1982; WYRICK und RICHMOND, 1989; KRAUSS und SCHMEER, 1992; VANROMPAY et al., 1995a). Das elektronenmikroskopisch dicht erscheinende Zentrum der Intermediärkörperchen ist zentral gelegen und von Fasern, welche radiär angeordnet sind, umgeben. Zytoplasmatische Granula liegen dicht gepackt in der Peripherie der Intermediärkörperchen und separieren das Zentrum von einer durchsichtigen Zone (ANDERSEN und VANROMPAY, 2003).

Die Retikularkörperchen (RK) haben einen Durchmesser von 0,5 bis 1,5 μm und sind von pleomorpher Form. RK sind nicht infektiös, intrazellulär vermehrungsfähig und das Zytoplasma ist reich an Ribosomen. Die Zellwand ist dünn und fragil und empfindlich gegen mechanische Beanspruchung, osmotischen Druck und Trypsin (Tab. 4) (ANDERSEN und VANROMPAY, 2003).

2.1.3 Antigenetische Differenzen von Chlamydien

„Die Antigenstruktur der Chlamydien ist komplex, die Mehrzahl der Antigene ist in der Zellwand lokalisiert. Unterschieden werden gattungsspezifische, art- und typspezifische Antigene“ (ROLLE und MAYR, 1993).

Das zellwandständige, thermostabile (100 °C, 30 min) LPS-Antigen, welches auch diagnostisch relevant ist, kann mit monoklonalen oder polyklonalen Antikörpern nachgewiesen werden (ANDERSEN, 1991a; WITTENBRINK, 1999). „Die immun-dominante Gruppe des Antigens bildet ein Trisaccharid aus 3-Desoxy-D-manno-Octulonsäure (KDO), dessen Antigenität durch Natriummetaperiodat (0,005 M) sowie durch milde Säurehydrolyse (0,1 N Schwefelsäure bei 80 °C für 1 h) zerstört werden kann“ (aus DHIR et al., 1972 und BRADE et al., 1986, 1987; nach KRAUSS und SCHMEER, 1992).

Das Major Outer Membrane Protein (MOMP) ist ein sehr bedeutendes Proteinantigen der Elementarkörperchen und weist bei den verschiedenen Chlamydienpezies unterschiedliche Molekulargewichte auf (CALDWELL und SCHACHTER, 1982). Das *omp1*-Gen (früher *ompA*) welches für das MOMP kodiert, gilt vom phylogenetischen Standpunkt als hochkonservierter Abschnitt und ist als Zielregion für den Nachweis von Chlamydien geeignet. Die DNA-Sequenzhomologien zwischen den entsprechenden Genen der vier Chlamydienpezies betragen hier 68 bis 71 %. Dagegen betragen die Sequenzhomologien der Gesamt-DNA weniger als 10 %. Eine Sequenzanalyse zeigte, dass innerhalb dieses hochkonservierten Abschnittes vier variable Domänen (VD I bis IV) vorhanden sind, die sich bei den unterschiedlichen Spezies hinsichtlich Länge und Basenabfolge der Nukleotidsequenzen unterscheiden (KALTENBÖCK et al., 1993; SACHSE und HOTZEL, 2000; ANDERSEN und VANROMPAY, 2003) (Abb. 1).

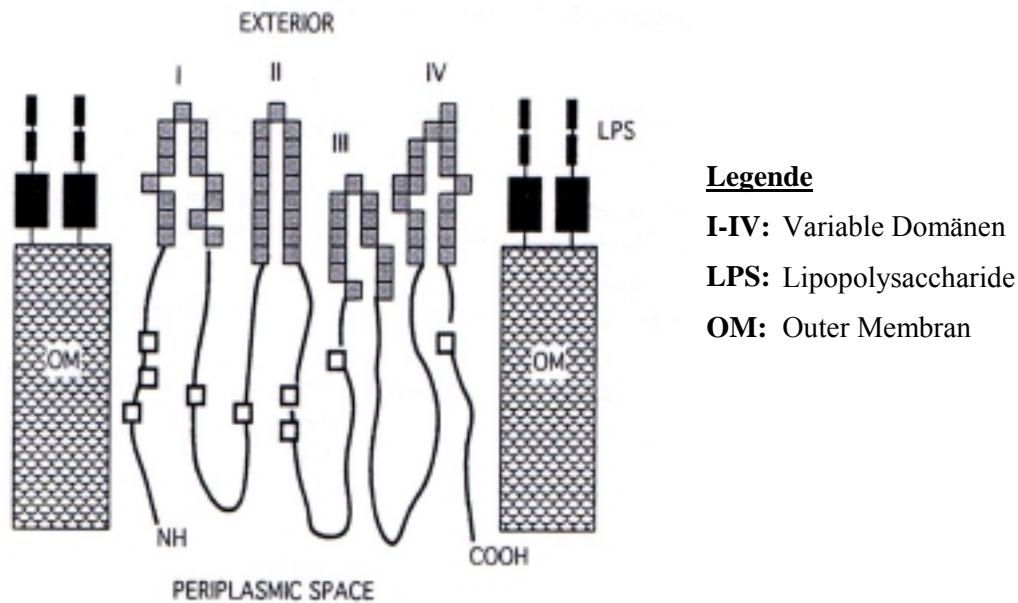


Abbildung 1: Schema des MOMP (nach VANROMPAY et al., 1995a).

2.1.4 Vermehrung von Chlamydien

Chlamydien haben einen komplexen Reproduktionszyklus (Elementar-, Intermediär- und Retikularkörperchen). Sie sind obligat intrazelluläre Parasiten und benötigen für ihre Vermehrung eukaryotische Wirtszellen (KRAUSS und SCHMEER, 1992).

Die Elementarkörperchen (EK) kommen meist als erstes mit Epithelzellen des Respirations- oder Verdauungstrakts in Kontakt. Für die Bindung des Elementarkörperchens an die Rezeptoren der Wirtszelle ist das MOMP verantwortlich (HACKSTADT, 1986; SU et al., 1990; GERLACH, 1993). Nach der Adsorption desselben an den neuraminsäurehaltigen Rezeptor der Wirtszelle, beginnt die langsame Endozytose die ca. 2 bis 5 Stunden nach der Infektion abgeschlossen ist. Dieser Vorgang findet bei Temperaturen von 30 bis 37 °C (Körpertemperatur) statt (SCHIEFER und KRAUSS, 1982; GERLACH, 1993). Nach vollendeter Endozytose liegen die Elementarkörperchen als Vakuole, umschlossen von einer von der Wirtszelle stammenden Vesikelmembran, im Zytoplasma vor (WYRICK und RICHMOND, 1989; GERLACH, 1993). Die Oberflächenantigene vitaler Chlamydien verhindern eine Verschmelzung der Vakuole mit den Lysosomen zu Phagolysosomen, so dass der Erreger innerhalb dieser Vakuole vor der Immunabwehr des Wirtes geschützt ist (SCHACHTER und CALDWELL, 1980; WARD, 1983). Sind die Chlamydien jedoch

mit Antikörpern beladen oder nicht mehr infektiös, kommt es zu einer Verschmelzung mit Lysosomen zu Phagolysosomen.

Die Elementarkörperchen werden nun in den folgenden 6 bis 8 Stunden innerhalb der endozytotischen Membran durch Strukturveränderungen der Zellwand und Aktivierung des Stoffwechsels über die „aufgelockerte Form“ (dispersing form) in nicht infektiöse, stoffwechselaktive Retikularkörperchen (RK) umgebaut. Während der folgenden 4 bis 6 Stunden, bis etwa zur 15. Stunde post infectionem vermehren sich die Retikularkörperchen durch binäre Teilung innerhalb der endozytotischen Vakuole, die durch EK und RK ausgefüllt zum charakteristischen Einschlusskörperchen wird. Die binäre Teilung der Retikularkörperchen innerhalb der Vakuole einer eukaryonten Wirtszelle ist charakterisiert durch die Umwandlung zunächst ovaler RK in RK mit einer typischen „Sanduhren-Form“ (ANDERSEN und VANROMPAY, 2003). Durch die Einschlusskörperchen wird der Stoffwechsel der Wirtszelle erheblich beeinträchtigt. So werden z.B. Glukoseaufnahme und Stoffwechsel gesteigert, die DNS- und RNS Synthese der Wirtszelle jedoch vermindert. Die Mitochondrien der Wirtszelle lagern sich an die Chlamydienmembran an und liefern die benötigten energiereichen Phosphate wie ATP, GTP, UTP und CTP. Die Retikularkörperchen „saugen“ die Wirtszelle aus, so dass ihr keine Energie für den eigenen Stoffwechsel bleibt (Energieparasitismus). Sie teilen sich weiter und werden am Ende der Vermehrung über sogenannte Intermediärkörperchen (IK) (0,3 bis 1,0 μm) wieder zu infektiösen Elementarkörperchen transformiert. Am Ende des Entwicklungszyklus (nach ca. 30 Stunden) sind zahlreiche neue EK entstanden, die schließlich durch Platzen der Membran des Einschlusskörperchens freigesetzt werden und neue Zellen infizieren können (STORZ et al., 1977; SCHIEFER und KRAUSS, 1982; WYRICK und RICHMOND, 1989; GERLACH, 1993; ROLLE und MAYR, 1993) (Tab. 4, Abb. 2).

Tabelle 4: Unterschiede zwischen Elementar- (EK) und Retikularkörperchen (RK) (MOULDER, 1984).

Merkmal	EK	RK
Durchmesser (μm)	0,2-0,3	0,5-1,5
Dichte (g/cm^3)	1,21	1,18
Form/Äußeres	kokkoid	pleomorph
Infektiosität	+	-
Intrazelluläre Vermehrung	-	+
Maus-Letalität	+	-
Zellwand empfindlich gegen mechanische Beanspruchung	-	+
osmotischen Druck	-	+
Trypsin	-	+
Hämagglutination	+	-
DNA	kompakt	locker
RNA/DNA Verhältnis	1	3-4
Ribosomen	wenige	zahlreich
ATP/ADP-Transport	-	+
ATP-abhängige, wirtsfreie Proteinsynthese	-	+
Extrazelluläre Überlebensfähigkeit	+	-
Zellwand	starr, fest	dünn, fragil
Metabolische Aktivität	-	+
MOMP an der äußeren Zellmembran	+	-

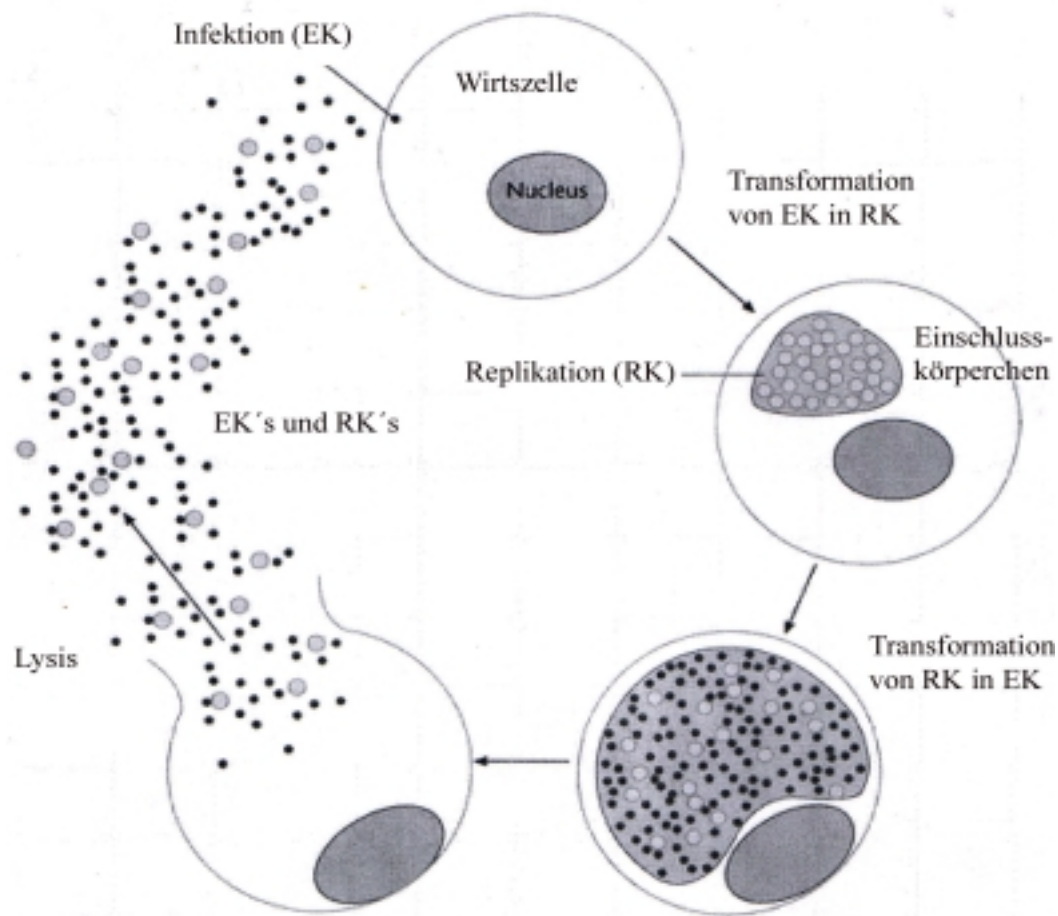


Abbildung 2: Replikation der Chlamydien (nach EVERETT, Internet).

2.1.5 Virulenzunterschiede

„Die Virulenz ist der Grad der Aggressivität von Mikroorganismen im Makroorganismus als quantitative Eigenschaft“ (PSCHYREMBEL, 1994). Chlamydien (Aviäre Serovare) unterscheiden sich durch ihre unterschiedlich hohe Virulenz bei den einzelnen Tierarten (ANDERSEN, 1991a; GERLACH, 1993; VANROMPAY et al., 1994). So führten experimentelle Infektionen mit hochvirulenten Putenstämmen bei Hühnern, Tauben und Sperlingen zu keinen oder nur geringfügigen Erkrankungen, während Kakadus und Papageien schwer erkrankten und hohe Mortalitätsraten aufwiesen (ANDERSEN et al., 1989a; TAPPE et al., 1989; GRIMES und WYRICK, 1991). Infektionsversuche mit Wildvogel- (Purpurgrackel = *Quiscalus quiscula*) Chlamydien auf Wirtschaftsgeflügel zeigten, dass die aus diesen Tieren isolierten Chlamydien bei Puten zu keinen Krankheitssymptomen führten (GRIMES, 1978;

GRIMES et al., 1979). Derselbe Stamm wurde aus den experimentell infizierten Puten isoliert und Reihern, Opossums und Katzen intramuskulär appliziert, wo es zu klinisch manifesten Erkrankungen mit Hepatitis, Splenitis und Pneumonie kam. Aus Puten isolierte Chlamydien zeigten generell eine sehr hohe Virulenz für Puten, Sittiche, Mäuse und Meerschweinchen, wobei bei Tauben, Sperlingen und Lämmern keine klinischen Erkrankungen zu verzeichnen waren. Ein aus Tauben isolierter Chlamydien-Stamm war für Meerschweinchen und Lämmer avirulent, während alle anderen infizierten Vögel verschiedener Arten und die Maus klinische Symptome zeigten (KRAUSS und SCHMEER, 1992). Aufgrund dieser Erfahrungen kann man feststellen, dass die Virulenz des Erregers wohl nicht vom Serovar abhängt, sondern andere Faktoren hierfür verantwortlich sind. Als wichtigster Virulenzfaktor gelten bei Chlamydien die mit der Oberfläche der Elementarkörperchen verbundenen Proteine, die Major Outer Membrane Proteine (MOMP's) (siehe 2.1.2 und 2.1.3). Sie haben antigenen Charakter, sind hitzelabil und für die Bindung an die Wirtszelle verantwortlich. Das Molekulargewicht der MOMP's korreliert mit der Virulenz. Je geringer das Molekulargewicht, desto virulenter (WINSOR und GRIMES, 1988). Eine Virulenzsteigerung innerhalb eines Serovars kann jedoch auch durch schnelle Passagierung erfolgen, wodurch es zum Erscheinen von neuen heterologen Antigenen auf der Oberfläche der Elementarkörperchen kommen kann (KRAUSS und SCHMEER, 1992; GERLACH, 1994; GYLSTORFF und GRIMM, 1998). Die unterschiedlichen Vermehrungsraten der Chlamydien-Isolate bei verschiedenen Körpertemperaturen können auf stammspezifische Virulenzmechanismen hindeuten. So vermehren sich z.B. Chlamydien-Stämme, die für Tauben und Sperlinge virulent sind, noch bei 43 °C was der Körpertemperatur dieser Tiere entspricht (PAGE, 1966, 1971). In aviären Chlamydien wurden Plasmide nachgewiesen, welche ebenfalls Einfluss auf Virulenzeigenschaften nehmen könnten (McCLENAGHAN et al., 1986; VANROMPAY et al., 1995).

ANDERSEN und VANROMPAY (2003) unterscheiden generell zwei „Virulenz-Kategorien“:

1. hoch virulente Chlamydien-Stämme, welche akut verlaufende Epidemien beim Geflügel mit Mortalitätsraten von 5 bis 30 % auslösen und
2. geringer virulente Chlamydien-Stämme welche langsame, progressiv verlaufende Epidemien beim Geflügel mit Mortalitätsraten unter 5 % hervorrufen.

Hoch virulente Stämme werden sehr oft aus Puten und gelegentlich aus klinisch unauffälligen Wildvögeln isoliert. Das *Chlamydophila psittaci*-Serovar D ist fast immer an schweren Ornithose-Ausbrüchen mit Organläsionen und hohen Mortalitätsraten bei Mensch und Geflügel (Puten) beteiligt. Bei langsam und progressiv verlaufenden Ornithose-Erkrankungen mit niedrigen Mortalitätsraten sind meist die Serovare B oder E beteiligt. Diese sind häufig aus Tauben, Enten und gelegentlich aus Puten, Sperlingen und Wildvögeln zu isolieren (ANDERSEN und VANROMPAY, 2003).

2.1.6 Resistenz von Chlamydien

„Mikroorganismen sind in der Lage, eine Resistenz gegen zahlreiche Fremdstoffe (z.B. Antibiotika) in ihrer Umgebung zu entwickeln und verfügen dabei über erstaunliche Fähigkeiten“ (ROLLE und MAYR, 1993). Die natürliche Resistenz ist die stets vorhandene Unempfindlichkeit bzw. Widerstandsfähigkeit von Mikroorganismen gegenüber einem bestimmten Wirkstoff (z.B. Antibiotika bzw. Chemotherapeutika). Die erworbene Resistenz ist eine erworbene Widerstandsfähigkeit (genetische und biochemische Mechanismen) von Mikroorganismen gegenüber einem bestimmten Wirkstoff (z.B. Antibiotika bzw. Chemotherapeutika) (ROLLE und MAYR, 1993; PSCHYREMBEL, 1994). In der Literatur wird allgemein über die Resistenz von „Chlamydien“ berichtet. Es erfolgt dabei keine Differenzierung zwischen Elementar-, Intermediär- und Retikularkörperchen.

2.1.6.1 Methodiken zum Resistenznachweis

Bei den meisten Bakterien ist die Bestimmung der Resistenz gegen Antibiotika auf Nährböden möglich. Bei Chlamydien kommen wegen ihrer obligat intrazellulären Vermehrung nur lebende Systeme wie Zellkulturen (BGM, HeLa, McCoy), embryonierte Hühnereier oder Versuchstiere in Betracht (HENNING und KRAUSS, 1986; BUTAYE et al., 1997).

Zur Überprüfung der Wirksamkeit von antimikrobiellen Substanzen auf *Chlamydophila psittaci* kann die Ermittlung der minimalen Hemmkonzentration (MHK, engl.: minimum inhibitory concentration [MIC]) dienen. HENNING und KRAUSS (1986, 1986a) definieren die MHK als die niedrigste Konzentration einer antimikrobiell

wirksamen Substanz, bei der keine Einschlüsse (mittels Giménez-Färbung) zu finden sind.

Zur Bestimmung der MHK wurden Zellkulturen mit *Chlamydophila psittaci* infiziert und antimikrobielle Substanzen zugesetzt, wobei der Antibiotika-Zusatz je nach Untersucher teils vor und teils nach der Aufzentrifugation des Erregers auf die Zellen erfolgte (HENNING und KRAUSS, 1986). Es wurden McCoy-Zellen (RIDGWAY et al., 1978; HENNING und KRAUSS, 1986), HeLa-Zellen, L-229-Zellen (KUO et al., 1977), Mäusefibroblasten (TRIBBY et al., 1973) und BGM-Zellen (HENNING und KRAUSS, 1986; THEIS, Diss. in Vorbereitung) für diese Untersuchungen verwendet. Je nach Autor wurden die Zellen mit unterschiedlichen Substanzen wie Cycloheximid, Diäthylaminoäthyl-dextran (DEAE-Dextran), 5-Jod-2-desoxy-uridin (IURD) oder einer Kombination aus DEAE-Dextran und IURD vorbehandelt (KUO et al., 1977; LEE et al., 1978; RIDGWAY et al., 1978; MOURAD, 1980; HENNING und KRAUSS, 1986). Die Untersuchung der infizierten Zellen auf Chlamydien-Einschlüsse im Zytoplasma fand 48 bis 72 Stunden nach der Infektion der Zellkulturen statt.

HENNING und KRAUSS (1986) ermittelten die MHK für Doxycyclin (Vibravenös®) gegen 12 *Chlamydophila psittaci*-Stämme. Hierfür wurden ein bis drei Tage alte BGM-Zellkulturen und McCoy-Monolayer, welche mit 0,5 ml Chlamydien-Suspension und 0,5 ml Doxycyclin-Lösung in verschiedenen Verdünnungsstufen beschickt wurden, verwendet. Die beimpften Zellen wurden eine Stunde bei 35 °C mit 2000 x g zentrifugiert und dann 40 bis 90 Stunden (37 °C), je nach Zellkultur, inkubiert. Die BGM-Zellen und McCoy-Zellen wurden nach Giménez gefärbt. „Die MHK zeigte keine Abhängigkeit von der Wirtszellart, der Zugabe von Actidion® (Cycloheximid) oder dem Serumgehalt des Mediums. Einen geringen Einfluss hatte die Verlängerung der Inkubationszeit von 40 auf 90 Stunden“ (HENNING und KRAUSS, 1986). Wichtig war der Zeitpunkt der Doxycyclin-Zugabe zur infizierten Zellkultur. Als optimaler Zeitpunkt erwies sich die Zugabe von Doxycyclin innerhalb der ersten zwei Stunden post infectionem. Wurden antimikrobielle Substanzen erst nach 24 Stunden p.i. zugegeben, waren höhere Antibiotikumkonzentrationen nötig, um speziell die „unreifen Einschlüsse“ zu verhindern (HENNING und KRAUSS, 1986, 1986a).

BUTAYE et al. (1997) testeten *Chlamydophila psittaci*-Isolate auf ihre Empfindlichkeit gegenüber Doxycyclin und Enrofloxacin. Hierbei handelte es sich um *Chlamydophila psittaci*-Isolate aus Feldinfektionen von 14 europäischen Mastputen (11 belgische, 2

italienische, 1 deutsches Isolat). Für die Anzucht des Erregers und die Durchführung des Tests wurden BGM-Zellkulturen verwendet, welche in einem Medium ohne Antibiotika-Zusätze angezüchtet wurden. Die Zellen wurden vor der Verimpfung des Erregers zweimal (ohne Antibiotika-Zusätze) subkultiviert. Doxycyclin wurde in einer Konzentration von 0,2 bis 0,00625 µg/ml, Enrofloxacin in einer Konzentration von 1 bis 0,03125 µg/ml eingesetzt (BUTAYE et al., 1997).

Die quantitative Bestimmung der MHK ist bei obligat intrazellulären Bakterien wie *Chlamydomphila psittaci* schwieriger als bei extrazellulären Bakterien. Die Methoden zur Ermittlung der MHK sind nicht standardisiert und werden durch methodische und technische Unterschiede (Zeit von der Inokulation des Erregers bis zur Zugabe des Antibiotikums) bei ihrer Ermittlung beeinflusst (BUTAYE et al., 1997).

Die Ermittlung einer minimalen bakteriziden Konzentration (MBK) kann ebenfalls eine Möglichkeit zur Überprüfung der Wirksamkeit von antimikrobiellen Substanzen auf *Chlamydomphila psittaci* sein. Die MBK wird als diejenige Konzentration eines Stoffes verstanden, die einen Mikroorganismus irreversibel schädigt (ANHALT et al., 1980). Die infizierten und antibiotisch behandelten Zellkulturen wurden mehrmals gewaschen, um zellassoziertes Doxycyclin aus denselben auszuwaschen (KUO et al., 1977; TREHARNE et al., 1977; RIDGWAY et al., 1978). Anschließend wurde die Suspension auf antibiotikumfreie Monolayer verimpft und mehrfach passagiert. Diese Methode führt zu Ergebnissen, die fast identisch mit der MHK sind. In der Studie von HENNING und KRAUSS (1986) konnte die MBK für Doxycyclin (Vibravenös®) nicht bestimmt werden, da 20 µg/ml des Medikaments nicht ausreichten, um den Erreger zu eliminieren und höhere Konzentrationen zytotoxische Effekte in den Zellkulturen hervorriefen. Sie stellten daraufhin die Ermittlung der MBK für *Chlamydomphila psittaci* in Frage (HENNING und KRAUSS, 1986).

Bei der „washed and reincubated“-Methode (w & r) wurden zunächst wie bei der Ermittlung der MHK die Zellkulturen mit *Chlamydomphila psittaci* infiziert und antimikrobielle Substanzen zugesetzt (Tag 0). Nach dreitägiger Inkubationszeit wurden die Zellkulturen durch zweimaliges Waschen mit einer Pufferlösung vom Antibiotikum befreit und neues antibiotikumfreies Medium zugegeben. Nach drei Tagen wurden die Monolayer bei -70 °C eingefroren, aufgetaut, das Inokulum auf neue Zellkulturen verimpft und diese nach drei Tagen gefärbt. Anschließend erfolgte die Beurteilung der Zellkulturen. Als „washed and reincubated“-Konzentration wird die niedrigste

Konzentration einer Substanz bezeichnet, bei der nach einem Wasch- und Inkubationsprozess keine infektiösen Partikel mehr auftreten (BOWIE et al., 1978; LEE et al., 1978; BOWIE, 1981; HENNING und KRAUSS, 1986).

Bei der “washed and reincubated“[2]- und “minimale bakterizide Konzentration“[2]-Methode ist der hauptsächliche Unterschied zu den beschriebenen Methoden (w & r, MBK) im Zeitpunkt der Antibiotikum-Zugabe zu sehen. Die antimikrobiellen Substanzen wurden nicht am Tag null sondern erst am zweiten Tag nach Verimpfung des Erregers zugegeben. Anschließend wurden die Zellkulturen wie bei den vorher beschriebenen Methoden weiter behandelt (BOWIE et al., 1978; LEE et al., 1978; BOWIE, 1981; HENNING und KRAUSS, 1986).

2.1.6.2 Resistenz von Chlamydien gegenüber Antiinfektiva

Die Vermehrung von Chlamydien ist relativ gut mit einigen Antibiotika zu hemmen, wobei das verwendete Medikament eine gute intrazelluläre Aktivität aufweisen muss, um zum Erfolg zu führen. Chlamydien sind empfindlich gegenüber Tetracyclinen (z.B. Chlortetracyclin, Oxytetracyclin), Makrolid-Antibiotika (z.B. Erythromycin), Chloramphenicol, Rifamycin, Chinolone sowie Clindamycin (SELBITZ, 1992; ROLLE und MAYR, 1993; ANDERSEN et al., 1997; ANDERSEN, 1998; THEURETZBACHER und SEEWALD, 1999). Gegen Penicillin sind Chlamydien weniger empfindlich (ANDERSEN und VANROMPAY, 2003). Tetracycline, Erythromycin und Chloramphenicol verhindern die Proteinsynthese des Erregers (ANDERSEN et al., 1997). Penicillin interferiert mit der Zellwandsynthese der Chlamydien. Es entstehen abnorm große Retikularkörperchen, da die Transformation von Retikular- in Elementarkörperchen gestört wird (ANDERSEN und VANROMPAY, 2003).

Chlamydien sind natürlich resistent gegenüber Gentamycin, Kanamycin, Vancomycin, Streptomycin, Ristocetin, Neomycin, Pancomycin, Mycostatin, Nystatin, Amphotericin B, Bacitracin und Sulfonamiden (SPEARS und STORZ, 1979a, 1979b; MOULDER, 1984; HENNING, 1985; GRIMES and WYRICK, 1991; KRAUSS und SCHMEER, 1992; GERLACH, 1994; GYLSTORFF und GRIMM, 1998). Resistenzen von *Chlamydomphila* sp. gegen Tetracycline sind in der Human- und Veterinärmedizin nur in vereinzelten Fällen bekannt geworden (JOHNSON et al., 1983b; JONES et al., 1990).

HENNING und KRAUSS (1986) ermittelten in einer Studie die minimale Hemmkonzentration für Doxycyclin (Vibravenös®) gegen *Chlamydophila psittaci*. Es wurden 12 *Chlamydophila psittaci*-Stämme untersucht. Die MHK betrug im Mittel 0,03 µg/ml (0,01-0,05 µg/ml). Doxycyclin erwies sich als hochwirksames Tetracyclin-Präparat. Alle untersuchten *Chlamydophila psittaci*-Stämme waren voll empfindlich.

BUTAYE et al., (1997) testeten in vitro 14 europäische Puten *Chlamydophila psittaci*-Serovare auf ihre Empfindlichkeit gegenüber Doxycyclin und Enrofloxacin. Bei Doxycyclin lag die MHK bei 0,05 bis 0,2 µg/ml mit einem Mittelwert von 0,1 µg/ml. Bei Enrofloxacin lag die MHK bei 0,25 mg/ml. Resistenzen von *Chlamydophila psittaci* gegen Doxycyclin und Enrofloxacin konnten nicht entdeckt werden (BUTAYE et al., 1997).

Ein Problem, welches mit der Behandlung von Vögeln mit einer *Chlamydophila psittaci*-Infektion assoziiert ist, ist die Möglichkeit der Persistenz des Erregers im Körper nach Beendigung der Therapie. THEIS (Diss. in Vorbereitung) testete daher die MHK von verschiedenen Antibiotika bei 19 *Chlamydophila psittaci*-Isolaten von Psittaziden nach einer Behandlung der Tiere mit Tetracyclinen. Er kam hierbei zu folgenden Ergebnissen (THEIS, Diss. in Vorbereitung):

MHK Chlortetracyclin	1,0 – 10,0 µg/ml
MHK Doxycyclin	1,0 – 10,0 µg/ml
MHK Enrofloxacin	0,5 – 1,0 µg/ml
MHK Difloxacin	0,5 – 1,0 µg/ml

Die minimalen Hemmkonzentrationen für Tetracycline und Doxycycline waren bei vorbehandelten (mit Tetracyclinen) und unbehandelten Vögeln gleich hoch. Dies bedeutet, dass bei keinen der getesteten Isolate eine Resistenz gegen diese beiden Antibiotika vorhanden war (THEIS, Diss. in Vorbereitung).

2.1.7 Tenazität von Chlamydien

„Unter dem Fachausdruck Tenazität wird in der Mikrobiologie die Überlebensfähigkeit von Mikroorganismen einschließlich Viren unter bestimmten äußeren (physikalischen und chemischen) Bedingungen oder Einflüssen verstanden“ (von SPROCKHOFF, 1980). Von SPROCKHOFF führte eine ausgiebige Literatur-Studie zur Überlebensdauer von Chlamydien unter unterschiedlichen Umweltbedingungen durch (Tab. 5).

Die Literaturangaben zum Ausgangsmaterial für Tenazitätsuntersuchungen sind selten präzise genug und deshalb für Wiederholungsuntersuchungen kaum geeignet. Untersucht wurden Chlamydien nach Anzüchtung in Hühnerembryonen, Zellkulturen oder aus Organhomogenisaten. Intra- und/oder extrazellulär gelegene Chlamydien, Zelldetrius, Teile der Kulturmedien, wechselnde pH-Werte und Prüftemperaturen können sich durchaus auf das Ergebnis einer Tenazitätsuntersuchung auswirken. Hinreichend zuverlässige Daten zur Tenazität von Chlamydien sind jedoch insbesondere aus der Sicht erfolgreicher Tierseuchenbekämpfung sowie beim Verfolgen von Infektionskrankheiten bedeutsam. Deshalb soll nachfolgend zur Tenazität der Chlamydien außerhalb der Wirte referiert werden.

Tabelle 5: Überlebensdauer von *Chlamydophila psittaci* unter verschiedenen Umweltbedingungen (nach von SPROCKHOFF, 1980).

Material	Umweltbedingung	Lebensdauer
Infizierte Mäusemilzen	getrocknet, 4 °C	277 Tage infektiös
Getrocknete Ausscheidungen	4 °C	max. 4 Tage infektiös
Organmaterial von infizierten Mäusen (Aufbewahrung in verschlossenen Petrischalen)	4 °C	bis zu 73 Tagen vermehrungsfähig
Infizierte Mäusegehirne und Dottersack von Hühnerembryonen	getrocknet und zerkleinert, 4 °C	2 Wochen ohne Infektiositätsverlust

Material	Umweltbedingung	Lebensdauer
Eiflüssigkeit von Hühnerembryonen mit einem aus einem Wellensittich isolierten Stamm infiziert	in Röhrchen verschlossen, 52 Stunden bei ca. 22 °C und 24 Stunden bei 4 °C a) ohne Cystein als Schutzsubstanz b) mit Cystein als Schutzsubstanz	nach 26 Tagen a) Titerabnahme um 1-2,5 log 10er Stufen b) gegenüber der Kontrolle nur geringer Infektiositätsverlust
Eiflüssigkeit von infizierten Hühnerembryonen	-22 bis -40 °C	nach 4 Wochen Infektiosität fast vollständig verloren
Organe von infizierten Mäusen	-22 bis -40 °C	nach 4 Wochen Infektiosität fast vollständig erhalten
Organmaterial (Leber, Milz, Niere) von natürlich infizierten Puten	in Röhrchen bei -20 °C	nach 372 Tagen Erreger nachweisbar. Abfall der LD50 (Maus) - nach 90 Tagen um 2 log 10er Stufen - nach 181 Tagen um 2,5 log 10er Stufen - nach 372 Tagen um 3 log 10er Stufen
Eiflüssigkeit von infizierten Hühnerembryonen	gefrieretrocknet	nach 6 Monaten Titerabfall um 7 log 10er Stufen
	-15 °C	nach 6 Monaten Titerabfall um 9 log 10er Stufen
Organmaterial von infizierten Mäusen	Wasser	17 Tage
	Tauschnee	15 Tage
	Schnee (-6 bis -10 °C unter Sonneneinwirkung)	18 Tage
	Schnee (-6 bis -10 °C ohne Sonneneinwirkung)	29 Tage
	UV-Licht	3 Minuten

Eine verdünnte Gewebesuspension (20 %ig) mit infektiösen Chlamydien wird bei 56 °C nach 5 min., bei 37 °C nach 48 Stunden, bei 22 °C nach 12 Tagen und bei 4 °C nach 50 Tagen inaktiviert. Chlamydien sind in Wasser bis zu 17 Tagen, in getrocknetem Kot 30 Tage und in Staub, Federn und Einstreu sogar bis zu 6 Monaten infektiös (GYLSTORFF und GRIMM, 1998). Bei -196 °C (flüssiger Stickstoff) können Chlamydien dauerhaft gelagert werden, es kommt jedoch auch hier wie bei allen anderen Einfriervorgängen zu einem Titerverlust beim Auftauen der bis zu 90 % betragen kann. Lagert man Chlamydien bei -20 bis -70 °C, kommt es schneller zu Titerverlusten. Die Titerverluste korrelieren mit der Temperatur, je höher diese ist desto schneller sinken die Titer. Auch kann es zum völligen Verlust des Stammes kommen (SCHNEIDER, 1986). Bei einer Lagerung von -20 °C können Chlamydien laut Literaturangaben noch nach einem Jahr vermehrt werden (PAGE, 1959b; STORZ und KRAUSS, 1985; WEHR und BEER, 1987; ANDERSEN und TAPPE, 1989a). Werden Chlamydien bei -70°C eingefroren, können diese jahrelang überleben (STORZ und KRAUSS, 1985), es zeigen sich jedoch große Infektiositätsverluste (SCHNEIDER, 1986). Wird *Chlamydophila psittaci* bei +4 bis +8 °C im Kühlschrank gelagert, bleiben sie bis zu elf Wochen infektiös.

2.1.7.1 Tenazität von Chlamydien gegenüber physikalischen Einflüssen

Chlamydien (Elementarkörperchen) sind gegenüber Kälte und Austrocknung sehr widerstandsfähig (von SPROCKHOFF, 1980; NIKOLEIT, 1985; SCHOBRIES et al., 1987; GYLSTORFF und GRIMM, 1998). Gegenüber Hitze, Sonnenlicht und Fäulnis jedoch relativ empfindlich (SELBITZ, 1992). Ultraviolettes Licht inaktiviert Chlamydien schon innerhalb weniger Minuten (BRÜNING, 1982; PAGE und GRIMES, 1984; STORZ und KRAUSS, 1985; WEHR und BEER, 1987; ROLLE und MAYR, 1993; GERLACH, 1994). Die Zellwand von Chlamydien wird mittels Ultraschall bei Frequenzen über 100 KC (Kilocycles per second) zerstört (ANDERSEN und VANROMPAY, 2003).

2.1.7.2 Tenazität von Chlamydien gegenüber chemischen Einflüssen

Chlamydien sind gegen Fäulnis relativ empfindlich (SELBITZ, 1992). Außerdem sind sie gegenüber Chemikalien welche die Lipidkomponente ihrer Zellwand angreifen sehr empfindlich. Sie können durch 0,1 %iges Formalin oder 0,5 %iges Phenol innerhalb von 24 bis 36 Stunden inaktiviert werden. Mit 3 %igem Lysol oder o-, m- und p-Methylhydroxybenzol (Kresol) mit Kaliseife aus Leinölfettsäuren gelingt die totale Inaktivierung schon nach 30 Minuten. Alkohole, Chlor, Jod, Permanganat, 3 %ige Wasserstoffperoxidlösungen und Diäthyläther zerstören Chlamydien bei Zimmertemperatur innerhalb von 30 Minuten. Eine 0,3 %ige quaternäre Ammoniumverbindung, 5 %iges Kresol oder 2 %ige Natronlauge schafft die totale Inaktivierung in nur 5 Minuten (BRÜNING, 1982; PAGE und GRIMES, 1984; STORZ und KRAUSS, 1985; WEHR und BEER, 1987; GRIMES und WYRICK, 1991; ROLLE und MAYR, 1993; GERLACH, 1994).

2.1.7.3 Tenazität von Chlamydien gegenüber Desinfektionsmitteln

Chlamydien können gut mit Chemikalien, welche Inhaltsstoffe der meisten bakterizid wirkenden Desinfektionsmittel sind, abgetötet werden (siehe 2.1.7.2). Geprüfte Desinfektionsmittel werden in der Desinfektionsmittelliste der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft e.V., Gießen (DVG) in regelmäßigen Abständen im Deutschen Tierärzteblatt veröffentlicht. Dort sind Chlamydien jedoch nicht expressis verbis aufgeführt. HENNEBERG und HÖPPNER (1960) führten eine Desinfektionsmittelprüfung gegen das „Psittakose-Virus“ durch. Der Erreger wurde auf Batistläppchen aufgebracht und im angetrocknetem, z.T. auch im feuchtem Zustand dem Desinfektionsmittel ausgesetzt (Tab. 6).

Tabelle 6: Ergebnisse von Desinfektionsversuchen bei Zimmertemperatur mit *Chlamydophila psittaci* (Psittakosevirus, Instituts-Stämme 155/53, 1/54 und 56/54) und Batistkeimträgern (nach HENNEBERG und HÖPPNER, 1960).

Desinfektionsmittel	Nicht getrocknet		getrocknet	
	Konzentration (%)	Minuten	Konzentration (%)	Minuten
Formalin	1	30	0,5	10
Chloramin	1	60	1	20
Phenol			1	20
Lysol	5	20	5	10
Aethylalkohol	70	1	70	1
Propylalkohol	70	1	70	1

2.1.8 Wirtsspektrum von Chlamydien

Das Wirtsspektrum von Chlamydien ist fast unerschöpflich. Eine genaue Übersicht über das bisher bekannte aviäre Wirtsspektrum von *Chlamydophila* sp. findet sich in TADAY (1998) und KALETA und TADAY (2003). Danach konnten bisher in Probenmaterial aus 469 Vogelarten, die zu 30 der insgesamt 50 Ordnungen der Vögel gehören, Chlamydien nachgewiesen werden.

2.1.8.1 Wirtsspektrum von *Chlamydophila psittaci*

Chlamydophila psittaci sind weltweit verbreitet und bisher bei zahlreichen Vogelarten (Tab. 7 und Tab. 8), Arthropoden, Mollusken, Amphibien, Säugetieren (Haus- und Wildsäugetiere) und dem Menschen nachgewiesen worden (WACHENDÖRFER, 1970; SCHMATZ et al., 1977; JOHNSON, 1983; WARD, 1983; KRAUSS und SCHMEER, 1992; GERLACH, 1993). MEYER (1967) fand Chlamydien auch bei Spinnentieren und Insekten, hier konnten jedoch keine Krankheitssymptome festgestellt werden (MEYER, 1967). In Kammuscheln (*Argopecten irradians*) (LEIBOVITZ, 1989), Fischen (*Morone*

saxatilis, *Morone americanus*) (WOLKE et al., 1970), Krallenfröschen (*Xenopus laevis*) (NEWCOMER et al., 1982; MUTSCHMANN, 1998a, 1998b), Puffottern (*Bitis arietans*) (KÖHLER, 1996; JAKOBSON et al., 1989), Krokodilen (*Crocodilus niloticus*) (HUCHZERMEYER et al., 1994; KÖHLER, 1996) und in der Maurischen Schildkröte (*Testudo graeca*) wurde der Erreger ebenfalls nachgewiesen (VANROMPAY et al., 1994a). Chlamydien wurden auch aus Federlingen und Milben von Hühnern, Puten und Tauben isoliert (EDDIE et al., 1962; WEYER, 1970; GOROVITS et al., 1979).

Die Übertragung von *Chlamydophila psittaci* von Vogel zu Vogel aber auch von Vogel zu Mensch und Vogel zu Säugetier erfolgt meist auf aerogenem Weg durch erregerhaltige Stäube oder Aerosole. Eine Erregerübertragung durch direkte Kontakte ist auch möglich. Die Übertragung von *Chlamydophila psittaci* von Mensch zu Mensch ist sehr selten (ANONYM, 2001). *Chlamydophila psittaci*-infizierte Vögel (klinisch erkrankt oder klinisch inapparent infiziert) scheiden den Erreger über alle Se- und Exkrete aus (siehe 2.3.2.1.2.4). Diese trocknen ein und werden dann durch Wind und sonstige Luftströmungen verbreitet. Eine Verbreitung durch Aerosolbildung ist häufig anzutreffen.

Tabelle 7: Nachweise von Chlamydien bei Ordnungen und Spezies der Vögel.

Zahl Chlamydien-positiver		Literaturquelle
Ordnungen	Spezies	
10	70	Meyer, 1952
12	120	Meyer, 1967
14	144	Burkhart & Page, 1971
15	159	Brand, 1989
29	376	Taday, 1998
30	469	Kaleta & Taday, 2003

Tabelle 8: Vergleich der Zahl der Vogelspezies je Ordnung mit der Zahl der *Chlamydothila* sp.-positiven Spezies je Ordnung (KALETA und TADAY, 2003).

Vogelordnung		Zahl der Spezies je Ordnung		
		Insgesamt	Chlam. sp. pos.	% Chlam. sp. pos.
Apterygiiiformes	Kiwis	3	1	33
Struthioniformes	Flachbrustvögel	7	3	43
Otidiformes	Trappen	22	2	9
Gruiformes	Kranichvögel	14	2	14
Ralliformes	Rallen	140	2	1
Podicipediformes	Lappentaucher	20	2	10
Charadriiformes	Watvögel	194	18	9
Lariformes	Möwenvögel	92	26	28
Alciformes	Alken	23	6	26
Sphenisciformes	Pinguine	16	4	25
Procellariiformes	Röhrennasen	102	5	5
Pelecaniformes	Ruderfüßer	57	8	14
Columbiformes	Taubenvögel	307	17	6
Psittaciformes	Papageien	342	155	45
Strigiformes	Eulen	142	12	9
Falconiformes	Falken	63	9	14
Accipitriformes	Greifvögel	225	30	13
Sagittariiformes	Sekretäre	1	1	100
Cathartiformes	Neuweltgeier	7	1	14
Ciconiiformes	Schreitvögel	113	13	12
Anseriformes	Entenvögel	157	33	21
Phasianiformes	Hühnervögel	259	14	5
Musophagiformes	Turakos	22	1	5
Cuculiformes	Kuckucksvögel	131	2	3
Coraciiformes	Rackenvögel	17	1	6

Vogelordnung		Zahl der Spezies je Ordnung		
		Insgesamt	Chlam. sp. pos.	% Chlam. sp. pos.
Upupiformes	Hopfartige	53	2	4
Trochiliformes	Kolibris	317	2	1
Apodiformes	Segler	92	1	1
Piciformes	Spechtvögel	379	7	2
Passeriformes	Sperlingsvögel	ca. 4000	89	2
Summe		3.317 + 4000	469	

2.1.8.2 Wirtsspektrum von *Chlamydophila pneumoniae*

Chlamydophila pneumoniae verursacht weltweit verbreitete Infektionen des menschlichen Respirationstraktes. Der Durchseuchungsgrad in der Bevölkerung ist hoch. Die Übertragung erfolgt durch Speichelkontakt oder auf aerogenem Wege von Mensch zu Mensch. Der Erreger wurde bisher beim Menschen, Pferd und Koalabären nachgewiesen. Bei dem erkrankten Pferd (respiratorische Symptome) wurde der Stamm N16 isoliert und das MOMP-Gen sequenziert. Die bestimmte DNA-Sequenz war zu 94,4 % mit der DNA-Sequenz des entsprechenden Gens eines aus dem menschlichen Respirationstraktes isolierten TWAR-Stammes von *Chlamydophila pneumoniae* identisch. Die Chlamydien aus dem Konjunktivalabstrich eines Koalabären wurden ebenfalls sequenziert. Auch in diesem Fall war die DNA-Sequenz des MOMP-Gens zu 93,8 % homolog zur DNA-Sequenz eines humanen TWAR-Stammes (STOREY et al., 1993). Das natürliche Erregerreservoir von *Chlamydophila pneumoniae* ist der Mensch (MARRE und HAHN, 2000; ANONYM, 2001). „Animale *Chlamydophila pneumoniae*-Biovare (Pferd, Koala) sind wahrscheinlich für menschliche Erkrankungen nicht von Bedeutung“ (ANONYM, 2001).

2.1.8.3 Wirtsspektrum von *Chlamydia trachomatis*

Chlamydia trachomatis ist eigentlich ein humanpathogener Erreger, der jedoch auch bei der Maus nachgewiesen wurde. Die Serotypen A bis C kommen beim Menschen vor. Die Übertragung ist von Mensch zu Mensch durch Schmierinfektionen innerhalb enger Lebensgemeinschaften (z.B. Familie) möglich. Die Serotypen D bis K kommen ebenfalls nur beim Menschen vor und werden durch Schmierinfektionen und Geschlechtsverkehr von Mensch zu Mensch übertragen. Bei den Serotypen L1 bis L3 ist der Mensch das natürliche Erregerreservoir. Die Übertragung erfolgt durch Sexualkontakte (MARRE und HAHN, 2000). Eine Erregerübertragung von Vogel auf Mensch oder Säugetier ist nicht bekannt.

2.1.8.4 Wirtsspektrum von *Chlamydophila pecorum*

Chlamydophila pecorum ist bisher nur bei Wiederkäuern (Rinder, Schafe, Ziegen), Schweinen und Koalabären isoliert worden (FUKUSHI und HIRAI, 1992; KDE & MEW, 2002). Eine Erregerübertragung von Vogel auf Mensch oder Säugetier ist ebenfalls nicht bekannt.

2.2 Rechtliche Bestimmungen

Chlamydien haben Zoonosecharakter, daher wird die Ornithose/Psittakose in Deutschland nach dem Gesetz zur Verhütung und Bekämpfung von Infektionskrankheiten beim Menschen (Infektionsschutz-Gesetz) vom 20. Juli 2000, zuletzt geändert am 6. August 2002 und dem Tierseuchengesetz vom 20. Dezember 1995, zuletzt geändert am 22. Dezember 1997 staatlich bekämpft. "Tierseuchen sind Infektionskrankheiten mit zeitlich und räumlich gehäuften Auftreten, was auf eine hohe Kontagiosität des Erregers hinweist" (FRIES, 2001). Das Tierseuchengesetz legt die prinzipiell zu ergreifenden Maßnahmen fest, konkrete Einzelheiten werden in den speziellen Rechtsvorschriften (z.B. Psittakose-Verordnung) geregelt (FRIES, 2001). Die Psittakose (alle Papageienartigen) unterliegt nach dem Tierseuchengesetz seit 1934 der Anzeigepflicht, die Ornithose (alle nicht Papageienartigen) seit 1970 der Meldepflicht.

Die Bekämpfung der Ornithose, das Meldewesen sowie Schutzmaßnahmen sind in der Verordnung zum Schutz gegen die Psittakose und Ornithose (Psittakose-Verordnung) vom 14. November 1991, zuletzt geändert am 14. Oktober 1999, den Ausführungshinweisen zur Psittakose-Verordnung vom 16. Mai 1975, zuletzt geändert am 26. Oktober 1987 und der Verordnung über meldepflichtige Tierkrankheiten vom 11. April 2001 geregelt.

In der Psittakose-Verordnung sind die durchzuführenden Bekämpfungs- und Schutzmaßnahmen bei Ausbruch oder Verdacht des Ausbruchs der Psittakose/Ornithose festgelegt. Die Ausführungshinweise zu dieser Verordnung geben genauere Anweisungen, Anleitungen und Hilfestellungen. In der Verordnung über meldepflichtige Tierkrankheiten ist die Ornithose nach der Anlage eine meldepflichtige Tierkrankheit bei Puten, Gänsen, Enten, Hühnern und Tauben. Hier ist auch das Meldewesen geregelt.

„Die Bekämpfung der Ornithose/Psittakose ist in den EU-Mitgliedsstaaten nicht einheitlich geregelt. So unterliegt die Ornithose und Psittakose in Frankreich, Portugal und Nordirland der Anzeigepflicht. Spanien und Luxemburg haben die gleiche Regelung wie Deutschland, hier ist nur die Psittakose anzeigepflichtig. In anderen Mitgliedstaaten wie England, Belgien, Dänemark und den Niederlanden existiert keine vergleichbare gesetzliche Regelung“ (HAFEZ und STING, 1997).

Die Psittakose-Verordnung regelt die staatliche Bekämpfung der Psittakose und Ornithose. Hier ist die Vorgehensweise bei Verdacht oder amtlicher Feststellung der Ornithose beim Geflügel einschließlich der Tauben festgelegt. § 12 besagt, dass die zuständige Behörde bei Verdacht oder Feststellung der Ornithose hier sinngemäß die zur Bekämpfung der Psittakose in den §§ 6 bis 9 enthaltenen Maßregeln anordnen kann, §§ 10 und 11 gelten entsprechend.

§ 6 der Psittakose-Verordnung legt die Vorgehensweise nach amtlicher Feststellung eines Psittakose- (Ornithose) Ausbruchs fest. Hier unterliegen das Gehöft bzw. die Räumlichkeiten der Sperre. An den Eingängen sind Schilder mit der Aufschrift „Psittakose - Unbefugter Zutritt verboten“ anzubringen. Die Tiere sind abzusondern und einzusperren, sie dürfen nur mit Genehmigung der Behörde entfernt werden. Tote Tiere sind nach Anweisung des beamteten Tierarztes unschädlich zu beseitigen. Die Räumlichkeiten dürfen von befugten Personen nur mit Schutzkleidung und Atemschutz betreten werden. Diese ist nach Verlassen abzulegen, feucht zu reinigen, alle drei Tage

zu wechseln und sicher zu verwahren. Hände, Arme und Schuhe sind nach dem Verlassen der Räumlichkeiten zu reinigen und zu desinfizieren. Vögel, Tiere, Teile von Tieren, Futter und sonstige Gegenstände dürfen nur mit behördlicher Genehmigung in oder aus dem Bestand verbracht werden, Dung und Einstreu nur zur unschädlichen Beseitigung. An Ein- und Ausgängen sind feuchte saugfähige Bodenauflagen anzubringen. Fußböden sind täglich feucht zu reinigen und zu desinfizieren.

§ 7 besagt, dass alle Tiere mit einem wirksamen Mittel gegen Psittakose tierärztlich zu behandeln oder unter behördlicher Aufsicht zu töten sind. Die Durchführung der Behandlung (Medikamente, Dosierung, Dauer) ist in den Ausführungshinweisen zur Psittakose-Verordnung erläutert. Die zuständige Behörde kann außerdem die Tötung der Tiere anordnen, wenn eine Weiterverbreitung der Seuche zu befürchten ist. § 8 regelt das Vorgehen bei Ansteckungsverdacht.

§ 9 ordnet die Reinigung und Desinfektion aller Räume, Käfige sowie sonstiger Gegenstände nach Tötung, Entfernung oder Behandlung der Vögel an. Dung, Futter, Einstreu und sonstige Gegenstände (nicht desinfizierbar), die Träger des Ansteckungsstoffes sein können, sind zu verbrennen oder unschädlich zu beseitigen.

§ 10 nennt die einzuhaltenden Schutzmaßnahmen bei sonstigen Tierhaltern, Tierschauen und Märkten. § 11 beschreibt, wann in einem Bestand die Psittakose (Ornithose) oder der Verdacht hierauf als erloschen gilt und die getroffenen Schutzmaßnahmen aufgehoben werden (PSITTAKOSE-VERORDNUNG, 1999).

2.3 Chlamydien in der Geflügelwirtschaft

2.3.1 Geschichte der Chlamydien

Das Krankheitsbild der Chlamydiose ist schon lange bekannt. Es existieren bis ins 16. Jahrhundert schriftliche Hinweise auf Psittakoseerkrankungen (KREBSZ, 1995). Im Jahre 1879 beschrieb RITTER (Schweiz) erstmals eine Krankheit des Menschen namens „Pneumotyphus“, die in Beziehung mit dem Import exotischer Vögel (Papageien) stand (RITTER, 1879; KREBSZ, 1995). Der Berliner Arzt MAX WOLFF berichtete 1883 über eine „thierische Mycose von hohem allgemeinen Interesse auch für menschliche Verhältnisse“. Er seziierte 12 Graupapageien, die kurz nach ihrem Import

verendet waren, und beschrieb Ätiologie sowie Symptome der tierischen Ornithose und erkannte die Gefahr einer Übertragung auf den Menschen. WOLFF schlug eine Prophylaxe und hygienische Maßnahmen zum Schutz gegen diese Erkrankung vor (WOLFF, 1883; KREBSZ, 1995). Häufig waren es Papageien und andere exotische Vögel, von denen Epidemien beim Menschen ausgingen. Auch im Jahre 1892 wurde eine Epidemie bei Menschen in Paris beobachtet, die wahrscheinlich von südamerikanischen Papageien ausging. Nach dem Kauf der Papageien stellten sich bei den neuen Besitzern bald schwere Erkrankungen mit Todesfällen ein. Auch viele Papageien starben. Die bedeutendste bakteriologische Arbeit der damaligen Zeit stammte von EDMOND NOCARD aus dem Jahre 1893. Ihm gelang es, aus dem Knochenmark von Flügeln verendeter Papageien ein kurzes, dickes und bewegliches Stäbchen zu isolieren, welches hochpathogen für Papageien, Tauben, Mäuse und Kaninchen war. Er nannte diesen Mikroorganismus *Bakterium psittacosis*, er wurde allerdings später als *Salmonella typhimurium* identifiziert (NOCARD, 1893; KREBSZ, 1995).

Es folgten mehrere Epidemien bei Menschen in Deutschland (Leipzig, 1882-1886; Bonn, 1887-1888; Landsberg 1892; Köln, 1898; Krefeld, 1899; Berlin, 1898-1899; Züllich, 1909), Schweiz (Bern, Nov. 1882), Frankreich (Bernay, 1898), Italien (Florenz 1894-1895; Prato, 1894) und anderen europäischen Ländern sowie in Südamerika. Im Jahre 1895 prägte MORANGE den Begriff der Psittakose als eine menschliche Erkrankung. Später erkannte man, dass auch von anderen Vogelarten eine ähnliche Erkrankung beim Menschen ausgelöst werden kann.

LEVINTHAL, LILLIE und COLES entdeckten fast gleichzeitig im Jahre 1930 den Psittakoseerreger (COLES, 1930; LEVINTHAL, 1930; LILLIE, 1930). Im Jahre 1932 entdeckten BEDSON und BLAND mit Hilfe von Mäuseversuchen den Entwicklungszyklus des Psittakoseerregers. MEYER und EDDIE (1933, 1947) wiesen bei Tauben, Hühnern, Enten und Seevögeln Chlamydien nach und prägten deshalb die Bezeichnung „Ornithose“ für Erkrankungen bei Haus- und Wildgeflügel. Für die Verschleppung des Erregers in Wirtschaftsgeflügelbestände sind Wildvögel wie Sperlinge, Tauben und Reiher erkannt worden. Vor allem BURI (1964) war der Meinung, dass Wildtauben die Wirtschaftsgeflügelbestände verseuchten und somit auch den Menschen gefährdeten. Er forderte eine rigorose Dezimierung der Stadtauben (BURI, 1964; KREBSZ, 1995).

In den 40er und 50er Jahren wurde die Ornithose bei Hausgeflügel, vor allem bei Puten, Haushühnern, Enten und Tauben sowohl in Europa als auch in den Vereinigten Staaten sehr häufig nachgewiesen (GRATZL und KÖHLER, 1968; ANDERSEN et al., 1997). Epizootien bei Mastputen und Enten riefen große wirtschaftliche Verluste hervor. Gleichzeitig kam es hierbei sehr oft zu Erkrankungen bei Menschen, die in Kontakt mit den Tieren standen. Auch kam es immer wieder zu Erkrankungen des Schlachthofpersonals (KREBSZ, 1995). MEYER und EDDIE führten Anfang der 30er Jahre in den USA als erste Untersuchungen über den Zusammenhang der Ornithose mit berufsbedingten Erkrankungen durch (KREBSZ, 1995).

2.3.2 Chlamydien in Hühner- und Putenbeständen

2.3.2.1 *Chlamydophila psittaci*

2.3.2.1.1 Prävalenz, Vorkommen und Verbreitung von *Chlamydophila psittaci* in Hühner- und Putenbeständen

Antikörper gegen *Chlamydophila psittaci* sind in Puten- und Broilerherden häufig anzutreffen (SALISCH et al., 1996; HAFEZ und STING, 1997). Vor allem beim Wirtschaftsgeflügel ist die persistierende Form ohne klinische Symptomatik häufig (BECKER et al., 1992; SELBITZ, 1992; KALETA et al., 1997). Dies erschwert die Ermittlung des tatsächlichen Infektionsstatus in Mastgeflügelherden, da eine Infektion mit dem Erreger übersehen werden kann.

Die gemeldeten Ornithosefälle beim Geflügel sind in den letzten Jahren angestiegen, wobei sie sich insgesamt auf niedrigem Niveau bewegen (Tab. 9) (SACHSE, 2002). Aus der Tabelle 9 wird ersichtlich, dass Tauben den größten Faktor darstellen. Die Zahl der Ornithosefälle bei Puten ist verschwindend gering, allerdings erkranken diese Tiere meist subklinisch. Die tatsächliche epidemiologische Situation wird in solchen Berichten nicht gänzlich erfasst. Ein Grund hierfür kann das Fehlen von einheitlichen und validierten diagnostischen Nachweismethoden (SACHSE, 2002) und eine systematische Untersuchung der Bestände sein.

Tabelle 9: Gemeldete Ornithosefälle bei Vögeln (1995 bis 2000).

(Quelle: Tiergesundheitsjahresbericht 2000, BMVEL, Bonn)

Jahr	Taube	Huhn	Ente	Gans	Pute	Andere Vögel	Summe
1995	49	6	2	1	0	13	71
1996	31	4	1	1	0	14	51
1997	47	8	9	1	0	22	87
1998	66	13	11	3	1	20	114
1999	58	8	11	5	0	22	104
2000	73	15	11	1	1	5	106

2.3.2.1.1 Prävalenz, Vorkommen und Verbreitung von *Chlamydophila psittaci* bei Puten

Puten sind im Vergleich zu anderen Nutzgeflügelarten wie z.B. Hühner für Infektionen mit *Chlamydophila psittaci* besonders empfänglich, hier ist der Erreger weit verbreitet (ANDREWS, 1957; DUFREE et al., 1975; ANDERSON et al., 1978; HEDBERG et al., 1989; NEWMAN et al., 1989; HAFEZ und STING, 1992, 1994). Eine klinisch inapparente *Chlamydophila psittaci*-Infektion ist keineswegs eine Seltenheit. In der Literatur wird aber auch über Krankheitsausbrüche in Putenbeständen mit Beteiligung von Chlamydien in den USA, Niederlanden, Frankreich (Bretagne) und Portugal berichtet (PAGE et al., 1975; ANDRAL und LOUZIS, 1982; GALO et al., 1982; NEWMAN et al., 1989; GRIMES et al., 1991; VANROP MAY et al., 1993).

In den 50er Jahren wurde in den USA bei über 500 und in den 60ern bei 11 Putenherden die Aviäre Chlamydiose festgestellt. In South Carolina und Texas wurden zwischen 1970 und 1976 in über 20 Farmen und 1974 bis 1976 in 19 Herden (Texas) Ornithose-Erkrankungen bei Puten festgestellt. GRABER und POMEROY (1958) untersuchten von Juli 1955 bis Juni 1957 insgesamt 124 Putenbestände in Wisconsin serologisch auf *Chlamydophila* sp.-Antikörper. 18,4 % der Proben wurden als *Chlamydophila* sp.-positiv, 25 % als *Chlamydophila* sp. verdächtig eingestuft.

Im Jahre 1961 konnte aus zwei Putenherden (1.000 und 4.000 Puten) in Yoakum (Texas) *Chlamydomphila psittaci* isoliert werden. Die Puten litten an Diarrhoe und die Sterblichkeit war erhöht. In der Putenschlachtereierkrankten 20 Mitarbeiter an Ornithose (DICKERSON, 1962).

ANDRAL und LOUZIS (1982) berichteten über Ornithosefälle in Putenbeständen in der Bretagne (Frankreich) und GALO et al. (1982) über *Chlamydomphila psittaci*-Infektionen bei Puten in Portugal.

Im Sommer 1986 wurde aus Puten von 10 Farmen in Minnesota *Chlamydomphila psittaci* isoliert. Die Tiere zeigten Symptome wie zerrupftes Gefieder, Depression, Anorexie, Kachexie, leichten Durchfall mit gelblichem Kot und respiratorische Symptome. Hier kam es zur Erregerübertragung auf 172 Farmarbeiter (NEWMAN et al., 1989).

UNKRIG (1993) untersuchte 30 Kloakentupferproben von Puten aus vier Herden. Es wurden eine Mastputenherde (Alter: 16 Wochen) und drei Elterntierherden (Alter: 12, 24, 32 Wochen) beprobt. Alle Tiere waren zum Zeitpunkt der Probeentnahme klinisch gesund und zeigten eine normale Mast- bzw. Legeleistung. Mittels erweiterter Immunfluoreszenz (IF) (Anzüchtung in der BGM-Zellkultur und IF) gelang der Chlamydiennachweis bei 21 Puten, mittels direkter Immunfluoreszenz der Abstriche bei 16 Puten und in der Zellkultur (Färbung: Giménez) bei 17 Puten.

VANROMPAY et al. (1993) berichteten über einen *Chlamydomphila psittaci*-Ausbruch in einer kommerziellen Putenfarm in den Niederlanden. Die Tiere zeigten Konjunktivitis, Schwellung des Sinus infraorbitalis und Schnupfen. Die Mortalitätsrate in den Herden betrug insgesamt 65 %. Es wurde *Chlamydomphila psittaci*-Serovar D isoliert. Das Serovar D ist an den meisten Fällen schwerwiegender Krankheitsausbrüche in wirtschaftlichen Putenbeständen beteiligt.

RYLL et al. (1994) untersuchten 8 Putenherden mit Hilfe eines enzymgebundenen Immunadsorptionstests auf das genusspezifische Chlamydienantigen. Bei Puten aus allen 8 Herden konnte das Chlamydienantigen nachgewiesen werden, jedoch zeigten nur zwei Herden Krankheitssymptome.

Auch HAFEZ und STING (1997) zeigten in einer Studie, dass *Chlamydomphila psittaci* in Putenherden weit verbreitet ist. Klinisch unauffällige Mastputenherden wurden zum Zeitpunkt der Schlachtung auf *Chlamydomphila psittaci*-Antigen- und Antikörper getestet. Es wurden von 25 Puten (männlich und weiblich getrennt) Milz- und Kotproben mittels Antigen-ELISA und Blutproben serologisch (ELISA) untersucht. Bei

den Putenkotproben der weiblichen Tiere waren 10 von 13 Herden positiv (76,9 %), bei den männlichen Tieren 2 von 12 Herden (16,7 %). Die Putenmilzen waren bis auf drei Herden alle negativ. Die Serologie der Putenblutproben ergab bei allen Herden positive Befunde.

VANROMPAY et al. (1997) untersuchten die Prävalenz von *Chlamydophila psittaci* in belgischen Mastputenherden. Das Blutserum der Tiere wurde auf Chlamydien-Antikörper mittels Immunoblotting untersucht. Die entnommenen Konjunktival- und Kloakentupferproben sowie Lungenabklatschproben wurden mittels des IMAGEN[®] Chlamydia-Immunfluoreszenztests auf das *Chlamydophila* sp.-Antigen untersucht. Im Sommer 1992 wurden bei 90 von 100 geschlachteten Puten Antikörper gegen *Chlamydophila* sp. nachgewiesen. Im darauffolgenden Winter gelang dies bei 73 von 100 Tieren. Bei allen 20 Mastputenfarmen, die im Jahre 1992 beprobt wurden, gelang der Nachweis von *Chlamydophila* sp.-Antikörpern. Im Jahre 1993 wurde bei 20 von 40 beprobten Schlachtputen mittels Kloaken- und Konjunktivaltupfer das *Chlamydophila* sp.-Antigen nachgewiesen. Mittels Kloakentupfer gelangen mehr Nachweise als mittels Konjunktivaltupfer. Der Nachweis war in allen 4 beprobten Farmen möglich. In einer Folgestudie wurden auf einer Putenfarm Tiere im Wochenabstand im Alter von einer Woche bis 12 Wochen beprobt. Auch hier waren *Chlamydophila* sp.-Antigen- und Antikörpernachweise während der gesamten Periode möglich. Im Jahre 1994 wurde das *Chlamydophila* sp.-Antigen in 45 von 60 Lungen von Schlacht-Puten aus allen sechs beprobten Farmen nachgewiesen. Im Jahre 1995 gelang der *Chlamydophila* sp.-Antigen-Nachweis in 41 von 54 Lungen von 6 Wochen alten Mastputen. Das Ergebnis dieser Studie besagt, dass die Prävalenz in belgischen Putenbeständen als hoch anzusehen ist (VANROMPAY et al., 1997).

Zu einem ähnlichen Urteil kamen auch Bendheim et al. (VANROMPAY et al., 1997). Sie untersuchten die Prävalenz von Chlamydieninfektionen in israelischen Putenherden. 75 % der untersuchten Lungen waren *Chlamydophila* sp.-positiv, während nur bei 50 % der Konjunktival- und Kloakentupfer das *Chlamydophila* sp.-Antigen nachgewiesen werden konnte. Diese Diskrepanz kann evtl. durch unterschiedlich hohe Replikationsintensitäten in verschiedenen Geweben erklärt werden (VANROMPAY et al., 1997). VANROMPAY et al. (1994, 1997) entdeckten bei experimentell infizierten Puten, dass im Respirationstrakt eine stärkere und länger andauernde Erregervermehrung als in den Konjunktiven oder im Verdauungstrakt stattfand.

FEZIA et al. (1999) untersuchten in Norditalien 229 Kloakentupfer von geschlachteten Mastputen (Alter: 20 bis 22 Wochen) mittels eines modifizierten ELISA (IDEIATM – DAKO Diagnostics) auf das *Chlamydophila* sp.-Antigen. Alle Puten waren zum Zeitpunkt der Schlachtung klinisch gesund und ohne makroskopisch erkennbare pathologisch-anatomische Veränderungen. Die Prävalenz von *Chlamydophila psittaci* in italienischen Putenherden betrug 82,5 %.

Bei einer weiteren Untersuchung von italienischen Mastputen entnahmen BALDELLI et al. (2000) Konjunktival- und Rachentupferproben von Mastputen aus 18 Herden. Diese wurden mittels eines Immunfluoreszenztests auf *Chlamydophila* sp.-Antigen getestet. Es waren bei 74 von 252 getesteten Tieren *Chlamydophila* sp.-Antigennachweise möglich.

KEMPF et al. (2000) untersuchten im Jahre 1998 mittels KBR und ELISA Putenseren aus Geflügelschlachtereien in der Bretagne (Frankreich). Während die meisten Sera in der KBR negativ beurteilt wurden, waren mittels ELISA in 25 von 30 getesteten Herden ein oder mehrere Chlamydiennachweise möglich.

2.3.2.1.1.2 Prävalenz, Vorkommen und Verbreitung von *Chlamydophila psittaci* bei Masthühnern

Veröffentlichungen über klinisch apparente Erkrankungen bei Hühnern sind im Vergleich zu Puten relativ selten. Dennoch gibt es in der Literatur beschriebene Fälle über Krankheitsausbrüche bei Masthühnern mit Beteiligung von Chlamydien (BARR et al., 1986).

Im Jahre 1940 trat eine erhöhte Mortalitätsrate in einem Hühnerbestand auf, nachdem sich eine Taube über mehrere Wochen in den Stallungen aufhielt. Die geschlachteten Hühner waren kachektisch und hatten eine vergrößerte Leber. Von drei untersuchten Hühnern war der *Chlamydophila psittaci*-Nachweis mittels Mäuseversuch bei einem Huhn möglich. Einige Monate später wurden 12 weitere Hühner untersucht. Hier waren zwei Tiere serologisch positiv und bei weiteren Hühnern gelang der Erregernachweis (MEYER, 1941; MEYER und EDDIE, 1942; aus von MALOTTKI, 1995).

Über einen Ornithose-Ausbruch bei Masthähnchen in Australien berichteten BARR et al. (1986). Es war eine Herde (21.000 Tiere) mit 36 Tage alten Masthähnchen betroffen. Nach der Infektion mit *Chlamydophila psittaci* zeigten die Tiere Gewichtsabnahme und

Schätzungsweise 2,5 % der Masthähnchen erblindeten aufgrund einer Keratokonjunktivitis. Es starben über 40 Tiere pro Tag.

HAFEZ und STING (1997) testeten klinisch unauffällige Broilerherden zum Zeitpunkt der Schlachtung auf *Chlamydophila psittaci*-Antigen und -Antikörper. Es wurden von 25 Broilerherden Milz- und Kotproben mittels Antigen-ELISA und Blutproben serologisch (ELISA) untersucht. Die Kotproben aller 25 Herden waren positiv, die Milzen alle negativ. Die Serologie ergab bei 16 von 25 untersuchten Herden positive Befunde.

CHAHOTA et al. (1997) untersuchten 186 Vogelproben (Leber, Milz, Lunge, Herz), wobei 125 Proben von Masthühnern stammten, mittels Giemsa-Färbung und Mikro-Immunfluoreszenztest auf das Vorkommen von *Chlamydophila psittaci*. Von insgesamt 125 Masthähnchen-Proben, die in einem Geflügelschlachthof entnommenen wurden, waren 26 *Chlamydophila psittaci*-positiv.

2.3.2.1.1.3 Prävalenz, Vorkommen und Verbreitung von *Chlamydophila psittaci* bei Legehühnern

Berichte über klinisch apparente Erkrankungen bei Legehühnern sind selten (MALKINSON et al., 1987; ARZEY et al., 1990).

KARRER et al. (1950) berichteten über die Ornithose eines Hühnerfarmers, der 55 klinisch gesunde Legehühner hielt. Zwanzig Tiere wurden mittels einer Blutprobe auf *Chlamydophila psittaci* untersucht. Zehn Hühner waren serologisch positiv, ein Tier zweifelhaft und neun Tiere negativ.

MALKINSON et al. (1987) beschrieben einen Ornithose-Ausbruch bei 10 Monate alten Legehühnern in Israel. Die Mortalität im Monat des Ausbruchs lag bei 0,3 bis 1,5 %/Monat, die Zahl der Erkrankungen bei 54 bis 64 %/Monat. Im Folgemonat ging die Mortalität auf 0,6 %/Monat zurück, die Zahl der Erkrankungen lag bei 58 %/Monat. Es wurden außer Chlamydien auch *Haemophilus gallinarium*, Hühnerpockenvirus und Befall mit *Ascaridi galli* nachgewiesen. Über Ornithosefälle bei Legehühnern in Australien berichteten ARZEY und ARZEY (1990). UNKRIG (1993) untersuchte jeweils 30 Kloakentupferproben von Legehühnern in Batteriehaltung aus vier Herden. Alle Tiere waren zum Zeitpunkt der Probeentnahme klinisch gesund und zeigten eine normale Legeleistung. Mittels erweiterter Immunfluoreszenz (IF) (Anzüchtung in der

BGM-Zellkultur und IF) gelang der Chlamydiennachweis bei 40 Hühnern, mittels direkter Immunfluoreszenz der Abstriche bei 34 Hühnern und in der Zellkultur (Färbung Giménez) bei 26 Hühnern.

2.3.2.1.2 Epidemiologie

2.3.2.1.2.1 Erregerreservoir von *Chlamydophila psittaci*

Chlamydien sind unter Wildvögeln und Wildsäugetieren weit verbreitet (SCHOLZ, 1978; KALETA und TADAY, 2003). Wildlebende infizierte Vogelarten oder Wildvögel, die in direkter Nachbarschaft von Wirtschaftsgeflügel leben, dürften eine große Rolle als Infektionsreservoir für Wirtschaftsgeflügel spielen (GRIMES und WYRICK, 1991; KRAUSS und SCHMEER, 1992; GERLACH, 1993; KUMMERFELD, 1995). In experimentellen Infektions- und Übertragungsversuchen konnte die Übertragung von Chlamydien von infizierten Wildvögeln auf Wirtschaftsgeflügel nachgewiesen werden (PAGE, 1960; GRIMES, 1978; ROBERTS and GRIMES, 1978; GRIMES et al., 1979). Tauben (Haustauben, Wildtauben oder wild lebende Tauben) und Haussperlinge sind ein bedeutendes Erregerreservoir und sollen bei der Übertragung von Chlamydien auf Wirtschaftsgeflügel eine große Rolle spielen. Sie sind meist Dauerausscheider und klinisch inapparent infiziert (GRATZL und KÖHLER, 1968; HARRIS, 1983; MILON et al., 1983; WACHENDÖRFER, 1984; BEVAN und BRACEWELL, 1986). Der Erreger wurde auch aus Federlingen, Läusen und Milben von Hühnern, Puten und Tauben isoliert (EDDIE et al., 1962; MEYER, 1967; WEYER, 1970; GOROVITS et al., 1979; SHEWEN, 1980). Diese Arthropoden könnten als mechanische Vektoren für die Verbreitung von *Chlamydophila psittaci* in Frage kommen (MEYER, 1967).

2.3.2.1.2.2 Mögliche Infektionswege beim Hausgeflügel

Der wichtigste Infektionsweg des Hausgeflügels ist die Inhalation von erregerhaltigem, angetrocknetem Staub oder Aerosol aus Federn, eingetrocknetem Auswurf oder Kot, aber auch eine Tröpfcheninfektion ist bei sehr enger Tierhaltung möglich (PAGE, 1959; PAGE und GRIMES, 1984; STORZ und KRAUSS, 1985; KRAUSS und SCHMEER,

1992). Eine Übertragung kann auch durch direkten Kontakt mit kontaminiertem Kot, Federn, staubigen Transportbehältern, staubigem Futter, Wasser oder Gerätschaften erfolgen (BECKER et al., 1992; ROLLE und MAYR, 1993; GYSTORFF und GRIMM, 1998). Zu einer oralen Infektion des Nachwuchses kann es beim Füttern, Schnäbeln aber auch durch kloakale Ausscheidungen kommen (PAGE, 1959; GRATZL und KÖHLER, 1968; GYLSTORFF und GRIMM, 1998). Chlamydien ließen sich schon vereinzelt in Eiern von Hühnern, Enten, Sittichen, Schneegänsen und Seemöwen isolieren (MEYER und EDDIE, 1933; ILLNER, 1962; LEHNERT, 1962; WILT et al., 1972; WITTENBRINK et al., 1993). VANROMPAY et al. (1997) isolierten das *Chlamydophila* sp.-Antigen aus 4 von 20 untersuchten, eine Woche alten, Puten. Die Tiere wurden im Rein-Raus-Haltungssystem gehalten. Im Bestand wurden alle sanitären und hygienischen Maßnahmen eingehalten. Die Puten mussten sich in einem sehr jungen Alter infiziert haben. VANROMPAY et al. (1997) schlossen eine vertikale Erregerübertragung daher nicht aus. Chlamydien können auch von blutsaugenden Ektoparasiten (Arachnidae, Läuse, Simulidae) auf Puten übertragen werden. Hierbei spielen die Ektoparasiten jedoch eher als mechanische Vektoren und nicht als Zwischenwirt eine Rolle (SHEWEN, 1980).

2.3.2.1.2.3 Pathogenese einer *Chlamydophila psittaci*-Infektion beim Hausgeflügel

„Die krankmachende Potenz von Chlamydien ist abhängig von der Virulenz oder Toxigenität des Stammes, der Vogelart, Übertragungsart, Infektionsdosis sowie zusätzlichen Belastungsfaktoren“ (KRAUSS und SCHMEER, 1992). Die meisten Daten über die Ausbreitung von *Chlamydophila psittaci* im Organismus von Hausgeflügel basieren auf Untersuchungen von experimentell infizierten Puten (BEASLEY et al., 1959, 1961; PAGE, 1959; KRAUSS und SCHMEER, 1992). PAGE (1959) wies anhand von Infektionsversuchen bei Puten nach, dass sich der Erreger nach Inhalation von chlamydienhaltigem Staub oder Aerosol (aerogene Infektion) innerhalb von 24 Stunden sehr stark in den Epithelzellen von Lunge und Luftsäcken vermehrt, wobei auch die benachbarten serösen Häute (Peri- und Epikard) mitbetroffen sind. Chlamydien sind schon 4 Stunden post infectionem in Lunge, Luftsäcken und Herzbeutel zu finden. Am Perikard sind 2 Tage p.i. Fibrinbeläge zu erkennen, die sich in den folgenden Tagen zu einer dicken Fibrinschicht, die das ganze Herz umgibt, weiterentwickeln können. Nach

48 Stunden hat eine Generalisierung über das Blut, vor allem von Lunge und Luftsäcken ausgehend, stattgefunden. Chlamydien sind nun in Blut, Milz, Leber und Niere zu finden. Nach 72 Stunden ist der Erreger in nahezu allen Organen wie Knochenmark, Hoden, Ovarien und Muskeln nachweisbar (PAGE, 1959; BEASLEY et al., 1959, 1961; GALE et al., 1960). Eine orale Aufnahme von *Chlamydophila psittaci* führt in der Regel nicht zu einer klinisch manifesten Erkrankung, sondern zu einer latenten Infektion. Bei einigen Tieren kommt es zu einer Chlamydiämie. Der Erreger passiert den Darm-Trakt und kann somit durch getrocknete, erregerhaltige Ausscheidungen unbemerkt weiterverbreitet werden (PAGE, 1959; GERLACH, 1993). Berichte über die Pathogenese einer *Chlamydophila psittaci*-Infektion (experimentell oder natürlich) speziell bei Hühnern konnte in der zugänglichen Literatur nicht gefunden werden.

2.3.2.1.2.4 Ausscheidungswege von *Chlamydophila psittaci* beim Hausgeflügel

Die Erregerausscheidung erfolgt in der akuten Infektionsphase über alle Se- und Exkrete (Kot [bis zu 100000 infektiöse Einheiten/g Kot], Nasensekret, Tränenflüssigkeit, Schnabel- und Rachenschleim, Kropfmilch bei Tauben), während in der chronischen, oft klinisch inapparenten Phase, diese meistens über den Kot erfolgt (PAGE, 1959; GRIMES et al., 1978; ROBERTS und GRIMES, 1978; ARENS und WEINGARTEN, 1981; BARR et al., 1986; BEVAN and BRACEWELL, 1986; GYLSDORF und GRIMM, 1998). Die Erregerausscheidung kann bei der subklinischen persistierenden, aber auch bei der akuten Verlaufsform regelmäßig bis intermittierend sein. Besonders latent infizierte Tiere können Chlamydien über Jahre ausscheiden, ohne dabei selbst zu erkranken. Sie stellen somit Infektionsquellen dar (KRAUSS und SCHMEER, 1992; ROLLE UND MAYR, 1993; GERLACH, 1994; HOLZINGER, 1996; GYLSTORFF und GRIMM, 1998). In Stresssituationen (Ausstellen, Be- und Entladen, Transport) scheiden die Tiere den Erreger vermehrt aus. Hier kann es zu Infektionen der Menschen kommen, die mit den Tieren umgehen (ANDERSEN et al., 1997; ANDERSEN und VANROMPAY, 2003).

2.3.2.1.2.5 Belastungsfaktoren, die den Ausbruch einer *Chlamydophila psittaci*-Infektion begünstigen

Belastungsfaktoren, die den Ausbruch der Erkrankung begünstigen, stellen unsachgemäße Fütterung, Futterwechsel, Stress, Transport, starke Ermüdung der Tiere, schlechte Umwelt- und Hygienebedingungen, Kälte oder zu hohe Temperaturen, zu hoher Tierbesatz je Stallgrundfläche oder Mehrfachinfektionen (fakultativ pathogene Keime, Parasiten, Salmonellen, Aflatoxikose [Crowding disease]) dar (GRATZL und KÖHLER, 1962; BECKER et al., 1992; KRAUSS und SCHMEER, 1992; SELBITZ, 1992; SALISCH et al., 1996; ANDERSEN und VANROMPAY, 2003). All diese Faktoren beeinflussen den Verlauf einer Chlamydieninfektion. Besonders empfänglich für Chlamydien-Infektionen sind junge und resistenzgeschwächte Tiere.

2.3.2.1.3 Verlaufsformen und Symptome der Chlamydiose

Eine Infektion mit *Chlamydophila psittaci* kann ganz unterschiedlich verlaufen, es existieren keine pathognomonischen Symptome. Ein Erregernachweis zur Absicherung der Diagnose sollte daher immer erfolgen (KALETA, 1997). Eine klinisch manifeste Erkrankung bildet die Ausnahme und kommt meist bei Jungvögeln oder beim Vorliegen zusätzlicher Belastungsfaktoren auch bei älteren Tieren vor (siehe 2.3.2.1.2.5). Der Verlauf einer *Chlamydophila psittaci*-Infektion ist außerdem von der Virulenz des Erregers, der Immunitätslage, der betroffenen Vogelart, dem Übertragungsweg und der Infektionsdosis abhängig. Die Verlaufsformen der aviären Chlamydiose wurden von KALETA (1997) skizziert (Tab. 10).

Tabelle 10: Verlaufsformen der aviären Chlamydiosen (KALETA, 1997).

Verlaufsform	Inkubations-zeit	Krankheits-dauer	Symptome/ Bemerkungen
Akute, letale systemische Form	3-7 Tage	8-14 Tage	Anorexie, Apathie, Diarrhoe, junge Vögel
Subakute bis protrahierte Form	7-14 Tage	> 3 Wochen	Anorexie, Apathie, Diarrhoe, adulte Vögel
Chronische Form	30-90 Tage	> 2 Monate	Apathie, Kachexie, Diarrhoe, Atemnot, adulte Vögel
Subklinische persistierende Form	Keine	Ohne	Häufigste Form, ohne Symptome, adulte Vögel
Aktivierete persistierende Form	> 3 Monate bis Jahre	> 2 Monate	Aktivierung durch endogene und exogene Faktoren, dann Apathie, Anorexie, Diarrhoe, Kachexie, respiratorische Symptome

2.3.2.1.3.1 Verlaufsformen und Symptome der Chlamydiose bei Puten

Puten sind in der Regel latent infiziert, eine klinisch manifeste Erkrankung bildet die Ausnahme. Bei klinisch apparenten *Chlamydophila psittaci*-Infektionen sind unspezifische Krankheitssymptome die Regel. Bei Puten ist meist nur ein gesträubtes Gefieder und Schwäche zu erkennen (ROLLE und MAYR, 1993). Es kann aber auch zu Depression, Schlafsucht, Mattigkeit, Zittern, Unfähigkeit zu stehen, plötzliche Todesfälle beim Auftreiben, Schrumpfung und Zyanose der Kopfanhänge, Nachlassen der Legeleistung, mangelnde Fruchtbarkeit, Kümern, Anorexie und Kachexie kommen. Weitere Symptome sind Diarrhoe mit gelbem Kot (hoher Anteil an Gallenfarbstoffen) der auch Blut enthalten kann, kotverschmutztes Gefieder im Bereich der Kloake oder Kloakenvorfälle. Die Tiere zeigen respiratorische Symptome, Konjunktivitis, Schwellung des Sinus infraorbitalis, Schnupfen, Ausfluss aus Nase und Augen, Husten und Dyspnoe (FRITZSCHE et al., 1962; HILBRICH, 1978; GRIMES and WYRICK, 1991; BECKER et al., 1992; KRAUSS und SCHMEER, 1992; ROLLE und MAYR, 1993; VANROMPAY et al., 1993, 1995, 1997).

Der Schweregrad der Erkrankung ist bei Puten vom Chlamydien-Serovar und anderen, schon vorhandenen Erkrankungen (Crowding disease) abhängig. Das hochvirulente Serovar D ist in den meisten Fällen von schwerwiegenden Krankheitsausbrüchen in wirtschaftlichen Putenbeständen beteiligt (TAPPE et al., 1989; VANROMPAY et al., 1993; ANDERSEN et al., 1997; ANDERSEN und VANROMPAY, 2003). Hierbei kann es auch zu Erkrankungen des beschäftigten Personals kommen (ANDERSEN et al., 1997; ANDERSEN und VANROMPAY, 2003). Die Morbiditätsrate kann 5 bis 65 % betragen, wenn eine Antibiotika-Therapie nicht sofort eingeleitet wird (TAPPE et al., 1989; GRIMES und WYRICH, 1991; VANROMPAY et al., 1993). Die Mortalitätsrate liegt meist zwischen 5 bis 30 % (ANDERSEN und VANROMPAY, 2003). Der Krankheitsverlauf bei einer Infektion mit anderen, weniger virulenten Chlamydien-Serovaren (z.B. B und E) ist weniger dramatisch (ANDERSEN, 2000; ANDERSEN und VANROMPAY, 2003). Ausbrüche in Putenbeständen mit geringer Mortalität (< 5 %) und wenig bis keinen Erkrankungen beim Personal lassen meist auf eine Infektion mit dem Tauben-Serovar (Serovar B) schließen (ANDERSEN et al., 1989). VANROMPAY et al. (1994) infizierten experimentell 4 Gruppen à 20 SPF-Puten mit verschiedenen *Chlamydophila psittaci*-Serovaren. *Chlamydophila psittaci*-Serovar 84/55 isoliert aus Sittichen (Serovar A), Serovar 92/1293 isoliert aus Puten (Serovar D), das Texas-Puten-Serovar (Serovar D) und Serovar 89/1326 (Serovar B) wurden den Tieren via Aerosol verabreicht. Alle Serovare waren pathogen für SPF-Puten (Konjunktivitis, Sinusitis, Rhinitis, Keratitis, Pneumonie, Luftsackentzündung, Perikarditis, Hepatosplenomegalie, Enteritis, Veränderungen an Nieren, Ovarien, Hoden). Die Läsionen waren beim Serovar A am ausgeprägtesten, gefolgt von Serovar D. Geringere pathologische Veränderungen verursachte das Serovar B.

Als Differentialdiagnosen kommen bei der Pute eine ganze Reihe von infektiösen Erkrankungen in Betracht. Infektionen mit Pasteurellen, Bordetellen, Newcastle-Disease- und Influenza-A-Viren sowie Reo- und Adenoviren sind auszuschließen. Aber auch ein Vitamin-A-Mangel, Vergiftungen und Ammoniakreizungen können zu Krankheitssymptomen führen (KRAUSS und SCHMEER, 1992).

2.3.2.1.3.2 Verlaufsformen und Symptome der Chlamydiose bei Masthühnern

Die Krankheitssymptome einer *Chlamydophila psittaci*-Infektion bei Masthühnern sind unspezifisch. Es kann zu Nasenausfluss, Keratokonjunktivitis mit Erblindung, Inkoordination, Seitenlage, Zittern, Gewichtsabnahme sowie erhöhten Mortalitätsraten kommen (STORZ et al., 1963; HILBRICH, 1978; BARR et al., 1986). SUWA et al. (1990) infizierten experimentell zwölf jeweils einen Tag alte Masthühner mit einem aus Puten isolierten *Chlamydophila psittaci*-Stamm. Es wurden akute septikämische Krankheitsverläufe bei Applikation des Erregers in Luftsack und Trachea beobachtet. Die Tiere magerten ab, zeigten Schnabelatmung und viele starben. Bei oesophagealer Injektion wurden keine Läsionen beobachtet (SUWA et al., 1990).

Differentialdiagnosen bei Masthühnern werden in der Literatur nicht aufgeführt. Es wird nur über Differentialdiagnosen bei Geflügel berichtet. Hier kommen Infektionen mit Pasteurellen, Bordetellen sowie Reo- und Adenoviren in Betracht. Auch ein Vitamin-A-Mangel, Vergiftungen und Ammoniakreizungen können zu den entsprechenden Krankheitssymptomen führen (KRAUSS und SCHMEER, 1992).

2.3.2.1.3.3 Verlaufsformen und Symptome der Chlamydiose bei Legehühnern

Die Krankheitssymptome bei Legehühnern sind ebenfalls unspezifisch. Es wurden eine beidseitige Blepharokonjunktivitis mit teilweise komplett zugeschwellenen Augen und intermittierende Atemnot beobachtet (MALKINSON et al., 1987; ARZEY und ARZEY, 1990). Differentialdiagnosen speziell bei Legehühnern werden in der Literatur nicht erwähnt (siehe 2.3.2.1.3.2).

2.3.2.1.4 Makroskopische Veränderungen

Das Ausmaß der pathologischen Veränderungen ist abhängig von der Schwere und Dauer der Erkrankung. Die Beteiligung von Sekundärkeimen kann zur Verschlimmerung der Veränderungen führen (KRAUSS und SCHMEER, 1992).

2.3.2.1.4.1 Makroskopische Veränderungen bei Puten

Puten können klinisch vollkommen unauffällig sein und gesund erscheinen, in der Sektion aber dennoch typische Organveränderungen zeigen (ANDERSEN et al., 1997). Es können fibrinöse Exsudationen auf serösen Häuten (Milz, Perikard, Leberserosa, Peritoneum, Epikard) und eine Verdickung und Trübung der Luftsäcke festgestellt werden (GRATZL und KÖHLER, 1968). Eine nicht eitrig Myokarditis, diffuse Pneumonien, Lungenödeme, Blutungen und Adhäsionen vor allem am Epikard sind keine Seltenheit. Die Leber ist geschwollen, weist Nekroseherde und häufig eine grünliche Farbe auf. Die Milz kann vergrößert und brüchig sein sowie feine Nekroseherde aufweisen. Auch kommt eine katarrhalische Enteritis und Nierenschwellung häufig vor. Die Ovarien sind meist atrophisch manchmal sogar nekrotisch. Bei weiblichen Tieren befindet sich in der Bauchhöhle häufig eine wässrige, braune Flüssigkeit, die von rupturierten Eifollikeln herrührt. Bei männlichen Tieren sind die Hoden atrophisch (HILBRICH, 1978; KRAUSS und SCHMEER, 1992). Aufgrund der makroskopischen Veränderungen kann jedoch nur eine Verdachtsdiagnose gestellt werden.

2.3.2.1.4.2 Makroskopische Veränderungen bei Masthühnern

Bei Masthühnern können keine typischen Sektionsbefunde festgestellt werden. Makroskopische Veränderungen sind z.B. Abmagerung, Tracheitis, Konjunktivitis, Luftsackentzündungen, Meningoencephalitis, Perikarditis, Perihepatitis, Hepatomegalie und Splenomegalie (GRATZL und KÖHLER, 1968; BARR et al., 1986; SUWA et al., 1990; ANDERSEN et al., 1997).

2.3.2.1.4.3 Makroskopische Veränderungen bei Legehühnern

Bei Legehühnern können ebenfalls keine typischen Sektionsbefunde festgestellt werden. ARZEY und ARZEY (1990) beschreiben Tracheitis, Perikarditis, Perihepatitis und Splenomegalie bei Legehühnern.

2.3.2.1.5 Histopathologische Veränderungen beim Geflügel

Die histopathologischen Veränderungen bei einer Infektion mit *Chlamydophila psittaci* gleichen sich bei Wirtschaftsgeflügel, Psittaziden und anderen Vögeln weitgehend (KRAUSS und SCHMEER, 1992). Typisch sind für die Chlamydiose des Geflügels entzündliche Veränderungen, Proliferationen und Nekrosen im Respirationstrakt (Tracheitis, Rhinitis, Luftsack- und Lungenentzündung), der Leber (Hepatitis), Milz (Splinitis), Herz (Myo- und Perikarditis), Darm (Enteritis) sowie in den Geschlechtsorganen (Oophoritis, Orchitis). In der Lunge kommt es zu Verdichtungen, Kongestionen, Hämorrhagien und Ödemen durch fokale zelluläre Infiltrationen. Ansammlungen von Histozyten finden sich in den interalveolären Septen, der Lamina propria größerer Bronchiolen sowie in den veränderten Schleimhäuten der Nase und Luftsäcken wo auch Rundzellen anzutreffen sind. In der Leber sind die Kupfferschen Sternzellen vergrößert und enthalten Hämosiderin. Die Leberzellen sind teilweise fettig degeneriert. Auch können in der Leber Petechien und eosinophile Nekrosen mit oder ohne zelluläre Infiltrationen auftreten. Eine Splenomegalie entsteht durch Kongestion, Ansammlung von lymphoiden Zellen und der Proliferation des lymphoretikulären Gewebes. Das Pankreas kann stecknadelkopfgroße Nekroseherde ohne zelluläre Reaktion aufweisen. Im Interstitium der Nieren können Infiltrationen mit Rundzellen vorhanden sein.

2.3.2.1.5.1 Histopathologische Veränderungen bei Puten

Bei Puten wird häufig eine nicht eitrig Tracheitis sowie eine von den Primärbronchien ausgehende „epitheloide“ Pneumonie angetroffen. Fibrin und Histozyten finden sich in den Bronchioli und Parabronchien. Im Stroma und Parenchym können Zellnekrosen und Blutungen vorkommen. Am Übergang von intaktem zu nekrotischem Lungengewebe kommen häufig mehrkernige Riesenzellen vor. In der aufgelockerten Lamina propria der Luftsäcke liegen zahlreiche Histo- und Lymphozyten. Die Oberfläche des Epikards kann von einem körnigen eosinophilen Detritus bedeckt sein. Im Epikard können sich zahlreiche Infiltrate mit Fibroblasten, Lymphozyten, Makrophagen und Heterophilen befinden. Eine Hepatitis mit verstreuten nekrotischen Zellen bis hin zu Nekroseherden ist oft zu beobachten. Bei jungen Tieren sind die Sinusoide häufig mit Histozyten,

Lymphozyten und Pseudoeosinophilen infiltriert. Die Kupfferschen Sternzellen enthalten viele Zelltrümmer und Hämosiderin. Bei älteren Puten kann es zur Entstehung von Granulomen in der Leber kommen. Die Milz ist bei den meisten Puten betroffen. Hier kann es zu Nekrosen, Schwund der Lymphozyten, Infiltration mit Heterophilen sowie Hämosiderinspeicherung kommen. Die Nieren können ebenfalls degenerativ und entzündlich verändert sein. Bei den männlichen Puten kann es zu Orchitis und Epididymitis mit Epithelnekrosen und Desquamation der Tubuli seminiferi kommen (GRATZL und KÖHLER, 1965).

2.3.2.1.5.2 Histopathologische Veränderungen bei Masthühnern

Bei experimentell infizierten Masthühnern konnten Proliferationen der Gallengänge, Retikulose und eine periportale Infiltration mit mononukleären Riesenzellen der Leber festgestellt werden (KRAUSS und SCHMEER, 1992). Bei zwölf jeweils einen Tag alten experimentell infizierten Masthühnern konnten eine fibrinopurulente Luftsackentzündung, Pneumonie und Bronchitis, multiple fibrinöse Serositis der Leber- und Milzkapsel, des Peri- und Epikardium und Mesenteriums, eine fokale Endoarteritis der Aorta, Lebernekrosen sowie eine Aktivierung der retikuloendothelialen Milzzellen festgestellt werden (SUWA et al. 1990).

2.3.2.1.5.3 Histopathologische Veränderungen bei Legehühnern

In der Literatur sind typische histopathologische Veränderungen bei Legehühnern nicht erwähnt.

2.3.2.1.6 Therapie der Chlamydiose beim Wirtschaftsgeflügel

Um einen Behandlungserfolg zu erzielen müssen wirksame Therapeutika, welche einen ausreichend hohen und ausreichend langen Blut- und Organspiegel erreichen, eingesetzt werden. Tetracycline (Chlortetracyclin, Oxytetracyclin), Chloramphenicol, Erythromycin und Chinolone (Enrofloxacin [Baytril®]) haben sich bisher bewährt. Der Therapiezeitraum muss lang genug sein. Zusätzlich zur eigentlichen Behandlung sind hygienische Maßnahmen im Bestand durchzuführen (GERBERMANN und

JANECZEK, 1991). Eine klinisch manifeste Ornithose in Putenbeständen kann mit Chlor- oder Oxytetracyclin in einer Dosierung von 200 bis 1000g/Tonne Futter behandelt werden. Dieses Medizinalfutter wird über zwei bis drei Wochen verabreicht. Es können Chelatbildner beigemischt werden, um den Calciumgehalt zu reduzieren. Auch die Zugabe von Vitamin K und anderen Vitaminen ist sinnvoll (KRAUSS und SCHMEER, 1992; ROLLE und MAYR, 1993; ANDERSEN et al., 1997). Bei Einzeltierbehandlung kann Doxycyclin (Vibravenös®) in einer Dosierung von 75 bis 100 mg/kg KM i.m. verabreicht werden. Es muss darauf geachtet werden, dass die angegebene Wartezeit bis zur Schlachtung der Tiere eingehalten wird, um Arzneimittelrückstände im Fleisch zu vermeiden. ANDERSEN et al. (1997) geben an, dass die Therapie der Chlamydiose bei Puten auch bei anderem Geflügel, z.B. bei Hühnern, angewendet werden kann. Therapievorschlüsse speziell für Hühner konnten in der Literatur nicht gefunden werden.

2.3.2.1.7 Metaphylaxe (Impfung) beim Geflügel

Eine kommerziell erhältliche Vakzine (Lebendvakzine, inaktivierte Vakzine), die eine lang anhaltende protektive Immunität gegen *Chlamydophila psittaci* garantiert, steht zur Zeit noch nicht zur Verfügung (ANDERSEN et al., 1997; ANDERSEN und VANROMPAY, 2003). Anforderungen an einen kommerziellen Impfstoff, wie gute Wirksamkeit, Verträglichkeit und Anwenderfreundlichkeit (leicht zu applizieren) konnten bisher leider noch nicht erfüllt werden.

Versuche an Puten zeigten jedoch, dass bei richtiger Wahl des Antigens, des Impfintervalls sowie der Applikationsart ein partieller Schutz gegenüber Belastungsinfektionen erreicht werden kann. Bei den Impfversuchen konnten klinische Symptome und Organläsionen verhindert werden (KRAUSS und SCHMEER, 1992). VANROMPAY et al. (1999, 2001) testeten eine Plasmid-DNA-Vakzine gegen das Major Outer Membrane Protein (MOMP) des aviären *Chlamydophila psittaci*-Serovar A (Isolat 84/55). Die Plasmid-DNA-Vakzine wurde auf ihre Fähigkeit, Immunreaktionen im Tier hervorzurufen und gleichzeitig einen Schutz gegen das betreffende *Chlamydophila psittaci*-Serovar aufzubauen, getestet. Hierzu wurde die pcDNA1/MOMP-Vakzine bei einer Gruppe SPF-Puten (10 Tiere) mittels einer intramuskulären Injektion (parenterale Infektion) sowie über die Verabreichung von

Nasentropfen (intranasale Infektion) in Kombination geimpft. Eine andere Gruppe SPF-Puten (5 Tiere) erhielt das pcDNA1/MOMP über DNA-ummantelte Partikel (gene gun-based), welche unter die Haut (abdominal) appliziert wurden und dort den Wirkstoff freisetzen. Die „gene gun-based“ Immunisierung sowie die kombinierte intramuskulär-intranasale-DNA-Applikation führten zur vermehrten Freisetzung von T-Helfer-Zellen und B-Gedächtniszellen. Durch die pcDNA1/MOMP-Verabreichung kam es zur verstärkten Entstehung von IgG- und IgM-Antikörpern, welche zur Erreger-Abwehr führen. Nach einer Belastungsinfektion (Kontaktinfektion mit einer sehr hohen Infektionsdosis von *Chlamydophila psittaci*-Serovar A) hatten aber nur 5 von 15 geimpften Puten einen um das vierfache erhöhten IgG-Serumspiegel. Im Gegensatz hierzu waren in allen geimpften Puten T-Gedächtniszellen nachzuweisen und die Lymphozyten im peripheren Blut waren signifikant erhöht. Beide Impfmethode führten zu einer starken Lymphozyten-Proliferation. Die mit pcDNA1/MOMP immunisierten SPF-Puten (gene gun-based Immunisierung und kombinierte intramuskulär-intranasale-DNA Applikation) besaßen alle einen guten Impfschutz. Schwere klinische Symptome, Läsionen sowie starke Erregerausscheidung traten nach Kontaktinfektion mit dem Erreger nicht mehr auf (VANROMPAY et al., 1999, 2001).

In einer Folgestudie testeten VANROMPAY et al. (2001a) verschiedene Kombinationen von Applikationsformen der Plasmid-DNA-Vakzine. Es wurde die Verabreichung von pcDNA1::MOMP A über Aerosol oder Spray, intramuskuläre Injektion, intranasale Applikation sowie die schon zuvor angewendete kombinierte intramuskulär-intranasale-DNA-Applikationsform angewandt. Zusätzlich wurde der Effekt von Puten-Interferon-Gamma (tIFN- γ) in Kombination mit pcDNA1::MOMP A mittels intramuskulärer Immunisierung getestet (pCleo::tIFN- γ). Bei den Puten wurde der beste Impfschutz mittels der kombinierten intramuskulär-intranasalen, der rein intramuskulären sowie der Aerosol-Applikation erreicht. Schwere klinische Symptome und Läsionen (Depression, Anorexie, Konjunktivitis, Rhinitis, Dyspnoe, Diarrhoe, Sinusitis, Pneumonie, Perikarditis, Luftsackentzündung, Hepatosplenomegalie) waren nicht nur bei den ungeimpften Kontrolltieren, sondern auch bei 80 % der Puten zu beobachten, welche mit der Kombination von pcDNA1::MOMP A und pCleo::tIFN- γ immunisiert wurden. 60 % der Puten, welche intranasal vakziniert wurden, zeigten ebenfalls schwere klinische Symptome und Läsionen. Die Anwendung einer Plasmid-DNA-Vakzine gegen das MOMP führt bei Kontakt mit *Chlamydophila psittaci* zur

Verhinderung von schweren klinischen Symptomen und Läsionen. Eine Kombination der Plasmid-DNA-Vakzine mit tIFN- γ führt jedoch zu einer starken Schwächung der Immunitätslage (down-Regulation), wodurch es zu schweren Krankheitserscheinungen kommen kann (VANROMPAY et al., 2001a).

2.3.2.2 Sonstige Chlamydien-Spezies beim Wirtschaftsgeflügel

Chlamydophila pneumoniae, *Chlamydophila pecorum* und *Chlamydia trachomatis* spielen beim Geflügel keine bedeutende Rolle. Geflügel fungiert hier jedoch als Vektor.

2.3.3 Chlamydien als Zoonoseerreger

2.3.3.1 *Chlamydophila psittaci* als Zoonoseerreger

2.3.3.1.1 Häufigkeit, Vorkommen und Verbreitung von *Chlamydophila psittaci* bei beruflich exponierten Personengruppen (Schlachtereipersonal)

„Zoonosen sind sämtliche Krankheiten und/oder sämtliche Infektionen, die auf natürlichem Wege zwischen Tier und Mensch übertragen werden“ (Zoonoserichtlinie 92/117/EWG).

Das Risiko einer *Chlamydophila psittaci*-Infektion ist für Mitarbeiter von Geflügelfarmen und Geflügelschlachtereien, Beschäftigte in der Landwirtschaft und Lebensmittelindustrie, Geflügelzüchter, Geflügelhalter, Mitarbeiter in Eierproduktionsbetrieben, Personen, die Geflügelfedern verarbeiten, Angestellte in Vogelhandlungen und Tiergärten, Hobbyzüchter und Tierärzte, die direkt mit den Tieren in Kontakt kommen, besonders hoch (GRATZL und KÖHLER, 1968; STELZNER et al., 1972; SCHACHTER et al., 1980; KRAUSS und WEBER, 1986; GRIMES and WYRICK, 1991; BECKER et al., 1992; FISCHER, 1992; HAFEZ und STING, 1992, 1994; SELBITZ, 1992; ANDERSEN et al., 1997; KRAUSS et al., 1997; ANONYM, 2000; ANDERSEN und VANROMPAY, 2003). Chlamydieninfektionen beim Wirtschaftsgeflügel und die damit verbundene Gefahr der Erregerübertragung auf Mitarbeiter von Geflügelfarmen und Geflügelschlachtereien ist bekannt und mehrfach beschrieben worden (IRONS et al., 1951; GRABER und POMERY, 1958; DUFREE et al., 1975;

HEDBERG et al., 1989; KRAUSS, 1992; ANDERSEN, 2000). Arbeiter in Geflügelschlachthöfen sind einer sehr hohen Konzentration von infektiösen Aerosolen, kontaminiertem Federstaub und Kot ausgesetzt (LEACHMAN und YOW, 1958; GLASS et al., 1975).

IRONS et al. (1951) beobachteten in einer Putenschlachtereie in Texas im Oktober und November 1948 eine Ornithose-Epidemie bei 22 von 78 beschäftigten Personen. Ein hoher Prozentsatz der erkrankten Mitarbeiter entfernte Federn und Kiele nach dem Wachsbad. Als Infektionsquelle vermutete man klinisch inapparent infizierte Puten, wobei der verursachende Bestand nicht ausfindig gemacht werden konnte.

Im Jahre 1954 erkrankten 190 Arbeiter von Putenschlachtereien in Texas an einer Ornithose-ähnlichen Erkrankung. Die Diagnose wurde gestellt, wenn mittels KBR der AK-Titer signifikant erhöht war. Dies traf in 143 Fällen zu. Die meisten erkrankten Mitarbeiter waren mit dem Aufhängen und Ausweiden der Tiere beschäftigt. Die Herkunft der infizierten Putenbestände konnte nicht lückenlos ermittelt werden, im selben Jahr gelangen jedoch in zwölf Putenfarmen *Chlamydophila psittaci*-Nachweise (IRONS et al., 1956). In den USA wurde 1954 in 563 Fällen eine *Chlamydophila psittaci*-Infektion beim Menschen festgestellt. Davon hatten 200 Personen (35,5 %) mit Puten und 33 (5,9 %) mit Hühnern Kontakt (ANDREWS, 1957).

Nach der Schlachtung einer Putenherde in zwei Schlachthöfen erkrankten im September 1956 in Houston 20 von 41 Mitarbeitern einer Schlachtereie an Ornithose. Im zweiten Schlachtbetrieb erkrankten 11 von 40 Mitarbeitern. Es konnten jedoch nur bei 24 erkrankten Personen mittels KBR positive Chlamydien-Antikörper Titer festgestellt werden. Aus einigen Puten mit Krankheitssymptomen konnte *Chlamydophila psittaci* isoliert werden (LEACHMAN und YOW, 1958).

GRABER und POMEROY (1958) untersuchten von Juli 1955 bis Juni 1957 insgesamt 124 Putenbestände in Wisconsin serologisch auf Chlamydien-Antikörper. 18,4 % der Proben wurden als *Chlamydophila* sp.-positiv, 25 % als *Chlamydophila* sp.-verdächtig eingestuft. Parallel zu dieser Studie wurden von August bis Dezember 1956 insgesamt 248 Arbeiter aus Putenschlachtereien in Wisconsin und Minnesota unter Aufsicht gestellt. 17 Personen erkrankten an respiratorischen fieberhaften Infektionen. Bei 10 Personen wurde eine Ornithose festgestellt. Die meisten erkrankten Personen waren mit dem Schlachten und Rupfen der Tiere beschäftigt.

Eine Frau, die in einer Geflügelschlachtereie mit Ausweiden der Tiere beschäftigt war, erkrankte im Jahre 1956 in Connecticut an Ornithose. Daraufhin wurden 34 der 40 Mitarbeiter des Schlachthofes untersucht. Fünf Arbeiter, die in der selben Abteilung wie die erkrankte Frau arbeiteten, hatten ebenfalls positive *Chlamydophila* sp.-Titer. Als Infektionsquelle wurden Hühnerbestände in der Umgebung vermutet, hier gelang jedoch kein Erregernachweis (RINDGE et al., 1959).

Im Jahre 1961 trat in Yoakum (Texas) eine Ornithose-Epidemie in einer Putenschlachtereie auf. Es erkrankten insgesamt 20 Personen. Der größte Prozentsatz der betroffenen Mitarbeiter war mit dem Aufhängen und Ausweiden (Säubern von Leber und Muskelmagen) der Tiere beschäftigt. Als Infektionsquelle kamen zwei Putenherden (4.000 und 1.000 Tiere) mit klinischer Symptomatik in Frage. Aus beiden Herden konnte *Chlamydophila psittaci* isoliert werden (DICKERSON, 1962).

Im Jahre 1960 erkrankten neun Geflügelrupperinnen (Hühner) aus Anhalt (Deutschland) an Ornithose. Bei der Untersuchung der umliegenden Hühner- und Putenbestände konnten positive Reagenten gefunden werden (OTTO, 1961). MEYER (1965) erstellte eine Übersicht über Chlamydieninfektionen (1931 bis 1963) beim Menschen, die auf Kontakt mit Geflügel zurückzuführen sind (Tab. 11).

STRAUSS (1967) untersuchte in einer Studie von 1949 bis 1960 insgesamt 1072 Ornithose-Patienten aus der Tschechoslowakei (CSFR) mit dem Ergebnis, dass 79 % auf Geflügelfarmen bzw. in der Geflügelindustrie arbeiteten. Weitere 17 % hielten eigenes Geflügel. Insgesamt 54 % der Infektionen ließen sich auf Enten, 29 % auf Gänse, 10 % auf Hühner, 4 % auf Puten und die restlichen 3 % auf sonstiges Geflügel zurückführen.

Im Jahre 1974 erkrankten 114 von 1.000 Arbeitern in 7 Putenschlachtbetrieben in Texas (5), Missouri (1) und Nebraska (1) an Fieber, Herzschmerzen und Pneumonie. Mittels KBR konnte bei 41 (36 %) Personen ein gruppenspezifisches *Chlamydophila* sp.-Antigen nachgewiesen werden. Die meisten erkrankten Mitarbeiter waren mit dem Schlachten und Ausweiden der Tiere beschäftigt. Infektionsquelle waren verschiedene Putenherden in Texas (DUFREE et al., 1975).

ANDERSON et al. (1978) beschrieben einen Fall, bei dem im Juni 1976 in Nebraska 28 Arbeiter einer Putenschlachtereie an einer ornithose-ähnlichen Erkrankung litten. Bei 22 Patienten konnte ein gruppenspezifisches *Chlamydophila* sp.-Antigen nachgewiesen werden. Die erkrankten Arbeiter waren in Bereichen mit hoher Aerosolbelastung wie

Einhängen, Töten, Eviszeration, Verpackung und anderen beschäftigt. Alle bis auf einen Mitarbeiter hatten am 14. und 15. Juni 1978 Dienst. Zu diesem Zeitpunkt wurde eine verdächtige Putenherde aus Texas, in der einige Tiere an Luftsackentzündung litten, geschlachtet.

In einem Putenschlachthof in Ohio trat im Juli 1981 eine Ornithose-Epidemie auf. Es erkrankten 27 von ca. 80 Mitarbeitern. Die meisten erkrankten Personen waren mit dem Schlachten und Ausweiden der Tiere beschäftigt. Als Infektionsquelle konnte jedoch kein bestimmter Putenbestand gefunden werden (KIM et al., 1982).

In Minnesota wurde im Sommer 1986 bei 10 Putenherden *Chlamydophila psittaci* isoliert. Hierbei kam es zur Erregerübertragung auf 172 Arbeiter, die an Ornithose erkrankten. Die betroffenen Personen hatten Kontakt zu den Puten. Die meisten arbeiteten in der Eviszerationslinie der Geflügelschlachtereier (NEWMAN et al., 1989).

HEDBERG et al. (1989) berichteten über humane Ornithosefälle in drei Putenschlachthöfen, zwei Federverarbeitungsbetrieben, einer Putenfarm und einem Fleischverarbeitungsbetrieb in Minnesota im Jahre 1986. Von allen krankheitsverdächtigen Personen wurden Blutproben entnommen und diese mittels KBR untersucht. Von 186 krankheitsverdächtigen Mitarbeitern litten mit Sicherheit 122 an Ornithose. Die meisten erkrankten Personen waren mit dem Aufhängen und Ausnehmen der Tiere beschäftigt. Zur Ermittlung der Infektionsquelle wurden 350 Putenherden untersucht, wobei 13 Bestände infiziert waren. Unter den erkrankten Mitarbeitern waren einige ausschließlich mit der Weiterverarbeitung der ausgeweideten Tierkörper betraut. Sie kamen weder mit infektiösen Viscera, Faeces noch verseuchter Luft (infektiösem Staub) in Kontakt. Erklärungsversuche der Autoren waren, dass die Tierkörper mit Kot verunreinigt sein könnten. Als infektiöses Material könnten aber auch Knochen, im Körper verbliebene Organe (Nieren) oder die Bursa in Frage kommen. Zur Erregerübertragung könnte es auch durch die Luft während des Vorgangs der Knochenentfernung oder durch direkte Kontakte gekommen sein.

RHYNE et al. (1990) beschreiben einen Ornithose-Ausbruch im Jahre 1989 bei 38 von 608 Beschäftigten einer Putenschlachtereier in North Carolina. Es erkrankten 30 Mitarbeiter aus dem Bereich Eviszeration, 2 Einhänger, ein Mitarbeiter der mit LKW waschen und Abfallcontainer entleeren betraut war, 2 USDA-Inspektoren, ein Mitarbeiter aus dem Bereich Kühlung und zwei Mitarbeiter aus dem Bereich Zerlegen und Entbeinen.

Weiterhin wurden in einer Geflügelschlachtereier (Hühner, Puten, Enten, Gänse) von März 1997 bis Juni 1998 15 Fälle von Ornithose bei Mitarbeitern (zwei davon tödlich) gemeldet. Es erkrankten meist kurz im Betrieb anwesende oder beschäftigte Mitarbeiter (bis zu 5 Monate). Die betroffenen Personen waren in unterschiedlichsten Betriebsbereichen beschäftigt. Es erkrankten 5 Geflügeltransporteure (LKW Fahrer), 2 Schlosser (KFZ-Reparatur), 2 Einhängler, 2 Staplerfahrer (Kühlhaus), 2 Aufsichtsbeamte, 2 Mitarbeiter aus den Bereichen Schlachtung (Schlachtband) und Verpackung und 1 Mitarbeiter ungeklärter Funktion. Also vor allem Personen, die dem Kot und Staub der Tiere ausgesetzt waren. Enten, Gänse und Hühner wurden auf Chlamydien untersucht und bei allen der Erreger nachgewiesen. Die untersuchten Tiere und Herden, denen diese entstammten, wiesen keinerlei klinische Krankheitsanzeichen auf, sie waren optisch vollkommen gesund (MANKE et al., 2000). Bei der serologischen Untersuchung von 147 Schlachthofmitarbeitern in Österreich waren 6 Mitarbeiter serologisch *Chlamydomphila psittaci*-positiv (DEUTZ et al., 2001).

Tabelle 11: Übersicht über Chlamydieninfektionen beim Menschen (1931 bis 1963), die auf Kontakt mit Geflügel zurückzuführen sind (MEYER, 1967).

Tierart	Chlamydieninfektionen beim Menschen	Chlamydieninfektionen beim Menschen (%)
Puten	756	14
Enten	1251	23
Tauben	680	12,5
Hühner	285	5,3
Seevögel	192	3,6
Sonstige Vögel	2226	41,5
insgesamt	5390	100

In Deutschland werden jährlich durchschnittlich 100 bis 200 Ornithose-Erkrankungen beim Menschen gemeldet, die Anzahl ist relativ gleichbleibend auf niedrigem Niveau (GERBERMANN, 1999). Nur ca. 50 % der menschlichen Ornithose-Erkrankungen gehen auf Psittaziden zurück, die anderen Fälle haben ihren Ursprung bei anderen

Vögeln bzw. sogar anderen Tierarten (GERBERMANN, 1999). Die Abbildung 3 enthält die Zahl der Erkrankungen, Todesfälle sind hier nicht aufgeführt. Es ist jedoch zu beachten, dass nicht alle Fälle erkannt und gemeldet werden, da die klinischen Symptome einer *Chlamydophila psittaci*-Infektion häufig einem grippalen Infekt ähneln und daher auch mit einem solchen verwechselt werden können. Es ist mit einer hohen Dunkelziffer zu rechnen (SELBITZ, 1992; SÜSS et al., 1996). Bei Auftreten von unklarem Fieber und anamnestisch bekanntem Kontakt der Betroffenen zu Vögeln/Geflügel sollte immer an eine *Chlamydophila psittaci*-Infektion gedacht und entsprechende Untersuchungen eingeleitet werden (ANONYM, 2001).

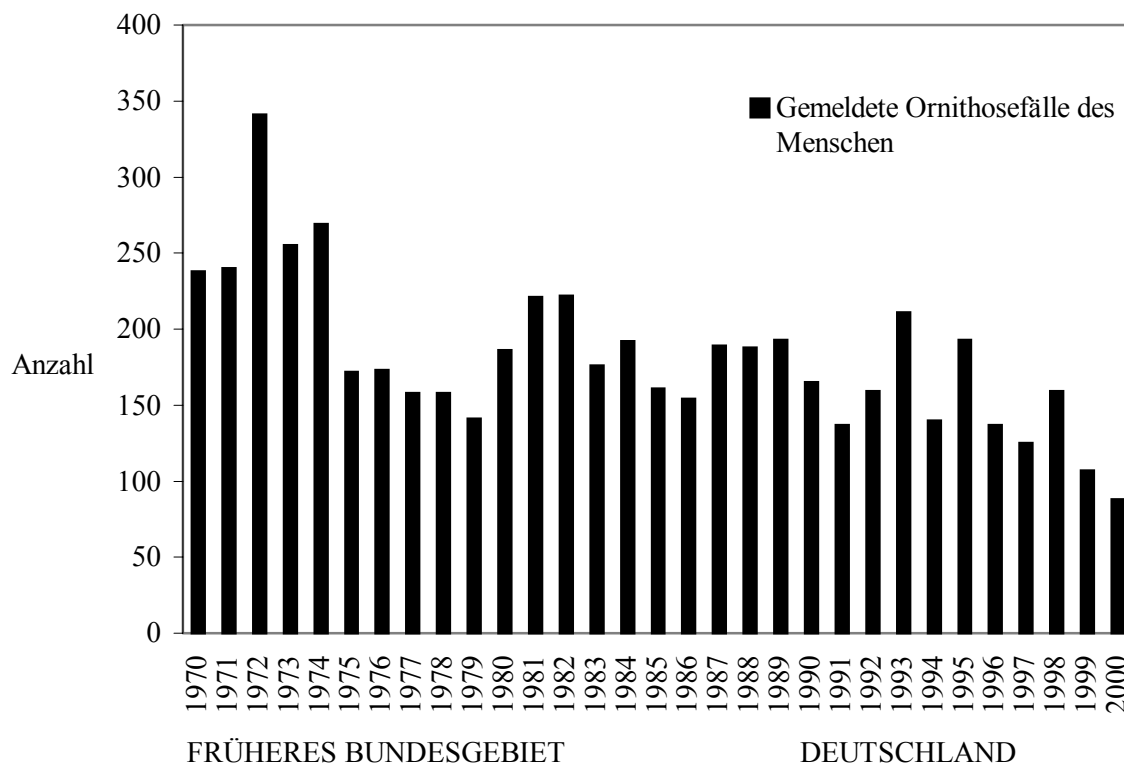


Abbildung 3: Anzahl Ornithosefälle 1968 bis 2000

(Quelle: Statistisches Bundesamt VIII A Gesundheitswesen)

2.3.3.1.2 Infektionswege des Menschen mit *Chlamydophila psittaci*

Die Infektionswege sind bei Mensch und Vogel sehr ähnlich (siehe 2.3.2.1.2.2). Chlamydien können vor allem von Vögeln (Pute, Huhn, Gans, Ente, Taube, Wildvögel...) aber auch von Säugetieren (Hunde, Katzen, Schafe, Ziegen, Kühe...) auf

den Menschen übertragen werden. „Aviäre Stämme von *Chlamydophila psittaci* weisen eine höhere Humanpathogenität auf als Stämme aus anderen Tierarten“ (SACHSE, 2002). Infektionen des Menschen erfolgen meist aerogen, durch Inhalation von erregerrhaltigem Staub oder Aerosolen, der aus Federn, eingetrocknetem Auswurf oder Kot der Tiere entsteht (SALISCH et al., 1996; ANDERSEN et al., 1997; ANDERSEN und VANROMPAY, 2003). Eine Übertragung ist aber auch durch direkten Kontakt mit kontaminiertem Kot, Federn, sonstigen Abfällen, staubigen Transportbehältern oder durch staubendes Futter möglich (BECKER et al., 1992). In seltenen Fällen ist eine Ansteckung von Mensch zu Mensch (ANONYM, 2001) sowie durch infizierte blutsaugende Parasiten (z.B. Läuse, Zecken) möglich (BECKER et al., 1992).

2.3.3.1.3 Verlauf der Ornithose beim Menschen

Das klinische Erscheinungsbild einer *Chlamydophila psittaci*-Infektion beim Menschen ist äußerst variabel und kann fast jedes Organ betreffen. Daher kann anhand der klinischen Symptomatik keinesfalls eine eindeutige Diagnose erfolgen. Die Inkubationszeit beträgt eine Woche bis vier Wochen. Häufig sind nur leichte Krankheitserscheinungen festzustellen, die als grippaler Infekt oder Influenza fehlgedeutet werden oder unbeachtet bleiben. Es kann aber auch zu schweren fieberhaften Allgemeinerkrankungen (Kopf- und Gliederschmerzen, Appetitlosigkeit, Brechreiz, Nasenbluten usw.) sowie atypischer Pneumonie, Herz-Kreislaufschwäche, Thrombosen, Konjunktivitis, Glomerulonephritis, Nierenversagen, Pankreatitis, Durchfälle, Herzklappenveränderungen, Herzmuskelschäden bis hin zu mentalen Störungen wie Apathie, Lethargie, Verwirrtheit, Halluzinationen, Erregungszustände, Schüttelfrost, Stupor und Koma kommen (JOHNSON, 1983; KRAUSS et al., 1986; BECKER et al., 1992; JEFFREY et al., 1992; SELBITZ, 1992; SALISCH et al., 1996; KRAUSS et al., 1997; SÜSS et al., 1996; ANDERSEN und VANROMPAY, 2003). Die Häufigkeit des Auftretens von Erkrankungssymptomen beim Menschen haben POTTER und KAUFMANN (1979) dargestellt (Tab. 12). Nach KRAUSS et al. (1986) kann auch ein Erythema nodosum auf eine *Chlamydophila psittaci*-Infektion hindeuten.

Als Differentialdiagnosen kommen u.a. Infektionen mit *Coxiella burnetii*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydophila pneumoniae*, *Legionella* spp. sowie Influenzaviren in Betracht (ANONYM, 2000). Das Fehlen eines charakteristischen Krankheitsbildes und

die Ähnlichkeit mit einem grippalen Infekt führen dazu, dass wahrscheinlich eine nicht unbeträchtliche Zahl an Chlamydiosen unerkannt bleibt. Dazu kommt noch, dass gezielte diagnostische Maßnahmen meist erst gar nicht eingeleitet werden. Daher ist die tatsächliche Zahl der humanen *Chlamydophila psittaci*-Infektionen wahrscheinlich höher als aus den offiziellen Statistiken hervorgeht.

Tabelle 12: Häufigkeit des Auftretens von Krankheitssymptomen bei menschlichen *Chlamydophila psittaci*-Infektionen (POTTER und KAUFMANN, 1979).

Symptome	Häufigkeit des Auftretens (%)
Fieber	78
Pneumonie	60
Husten	47
Schwäche und Erschöpfung	37
Schüttelfrost	36
Kopfschmerzen	36
Myalgien	25
Appetitlosigkeit	15
Übelkeit und Erbrechen	13
Diaphoresis	11

2.3.3.1.4 Therapie der Ornithose beim Menschen

Bei der Ornithosetherapie des Menschen sind Tetracycline (Chlortetracyclin, Doxycyclin), Clarithromycin, Azithromycin und Erythromycin die Mittel der Wahl (KAMENOV et al., 1994; ANDERSEN, 2000). Die meisten Patienten erhalten eine orale Therapie (2 x 100 mg/Tag Doxycyclin oder 4 x 500 mg/Tag Tetracyclin-Hydrochlorid). Als Initialtherapie bei schwer erkrankten Personen kann in einer Dosierung von 4,4 mg/kg Körpergewicht Doxycyclin intravenös (auf zwei Infusionen/Tag verteilt) verabreicht werden. Hierauf müssen die Symptome 48 bis 72 Stunden nach Verabreichung zurückgehen. Ist die Verabreichung von Tetracyclinen

kontraindiziert (Kinder unter 9 Jahre, schwangere Frauen), stellt eine Therapie mit Erythromycin (4 x 500 mg/Tag) eine gute Alternative dar (ESSIG und MARRE, 1997; ANONYM, 2000).

2.3.3.1.5 Metaphylaxe (Impfung) beim Menschen

Es existiert keine effiziente Vakzine gegen *Chlamydophila psittaci*-Infektionen beim Menschen auf dem Arzneimittelmarkt (BLANCHARD und MARBEY, 1994).

2.3.3.1.6 Rechtliche Bestimmungen zur Ornithose des Menschen

Die Ornithose des Menschen ist eine Infektion mit *Chlamydophila psittaci* und muss nach dem Gesetz zur Verhütung und Bekämpfung von Infektionskrankheiten beim Menschen (Infektionsschutz-Gesetz) gemeldet werden. Das Infektionsschutz-Gesetz (IfSG), welches das Bundesseuchengesetz ersetzt hat, unterscheidet nicht zwischen Anzeige- und Meldepflicht. Hier gibt es nur meldepflichtige Krankheiten nach § 6 IfSG und meldepflichtige Nachweise von Krankheitserregern nach § 7 IfSG. Eine Infektion des Menschen mit *Chlamydophila psittaci* fällt unter § 7 des IfSG, somit ist der Nachweis des Krankheitserregers meldepflichtig (IfSG, 2000). Tritt diese Erkrankung bei Risikogruppen, z.B. bei Beschäftigten in der Geflügelschlachtung auf, muss das zuständige Gesundheitsamt informiert werden (IfSG). Dieses klärt in Zusammenarbeit mit dem zuständigen Veterinäramt die Ursachen ab und leitet entsprechende Schutzmaßnahmen für die Beschäftigten sowie Maßnahmen zur Bekämpfung des Erregers ein (ANONYM, 2001).

2.3.4 Vorkommen und Verlaufsformen von *Chlamydophila pneumoniae*-Infektionen

Chlamydophila pneumoniae ist eine weltweit verbreitete Infektion des Respirationstraktes, die jedoch in Deutschland nicht meldepflichtig ist. Der Durchseuchungsgrad in der Bevölkerung ist hoch. Fast jeder Mensch dürfte einmal in seinem Leben eine Infektion mit *Chlamydophila pneumoniae* durchgemacht haben (ANONYM, 2001). Die Isolierung ist bisher beim Menschen, Pferd und Koalabären gelungen, wobei der Mensch als Erregerreservoir anzusehen ist. *Chlamydophila*

pneumoniae wird durch Speichelkontakt oder auf aerogenem Wege von Mensch zu Mensch übertragen. Das Krankheitsbild ist nicht eindeutig von einer *Chlamydomphila psittaci*-Infektion abgrenzbar. Am häufigsten kommen jedoch asymptomatische Infektionen, leichte Bronchitiden und atypische Pneumonien vor. Es kann aber auch zu akuten Pharyngitiden, Sinusitiden und in seltenen Fällen zur Myokarditis, Endokarditis, Meningoradikulitis sowie zu einer reaktiven Arthritis kommen. Auch ein Erythema nodosum kann auf eine *Chlamydomphila pneumoniae*-Infektion hindeuten (ANONYM, 2001). In letzter Zeit wird die Beteiligung des Erregers an der Arteriosklerose diskutiert (STILLE und JUST-NÜBLING, 1997). Auch über einen Zusammenhang zwischen Multipler Sklerose und einer *Chlamydomphila pneumoniae*-Infektion wird geredet, es existieren jedoch ledig Hinweise (HOHLFELD et al., 1999).

2.3.5 Vorkommen und Verlaufsformen von *Chlamydia trachomatis*-Infektionen

Chlamydia trachomatis ist ein humanpathogener Erreger, wobei auch die Maus diesen tragen kann. Eine Infektion mit *Chlamydia trachomatis* ist in Deutschland nicht meldepflichtig. Das Maus-Biovar ist ein Pneumonie-Erreger bei der Maus, es ruft Brochnopneumonien hervor (SELBITZ, 1992). Die *Chlamydia trachomatis*-Serovare A, B, Ba, und C verursachen das Trachom und eine akute bis chronische Kerato-Konjunktivitis. Das Trachom kommt in Europa wegen des hohen Hygienestandards nicht vor, ist jedoch in der dritten Welt weit verbreitet. Die Übertragung erfolgt durch Tröpfchen- oder Schmierinfektionen, z.B. durch ungewaschene Hände, verschmutzte, kontaminierte Handtücher, Fliegen oder Anhusten. Die Serovarietäten L1, L2 und L3 verursachen das Lymphogranuloma inguinale. Diese Erkrankung tritt in Afrika, Asien und Südamerika relativ häufig auf und wird durch sexuellen Kontakt übertragen. Die Serovare D bis K sind für eine Vielzahl von Erkrankungen verantwortlich. Bei der Frau kann es zu Endometritis, Zervizitis, Urethritis, Salphingitis, Periappendizitis sowie Perihepatitis kommen. Beim Mann kommen Urethritis, Deferentitis und Epididymitis vor. Bei beiden Geschlechtern kann eine Infektion zu Proktitis, Konjunktivitis und Morbus Reiter führen. Bei Neugeborenen können durch Infektionen im Geburtskanal Pneumonien und Konjunktivitiden entstehen (HOLLÄNDER et al., 1988).

2.3.6 Vorkommen und Verlaufsformen von *Chlamydophila pecorum*-Infektionen

FUKUSHI und HIRAI (1992) differenzierten *Chlamydophila pecorum*. Die Spezies ist bisher aus Rindern, Schafen, Ziegen, Schweinen und Koalas isoliert worden, beim Menschen kommt sie nicht vor (KDE & MEW, 2002). Das Serovar E58 ATCC VR628 wurde 1953 aus dem Gehirn eines Kalbes isoliert. Der Name "pecorum" wird aus dem lateinischen abgeleitet und bedeutet soviel wie Schaf- oder Viehherden. Das klinische Bild einer *Chlamydophila pecorum*-Infektion ist variabel. Eine Infektion mit dem Erreger verläuft in den meisten Fällen klinisch inapparent und bleibt unerkannt, es können aber auch zentralnervöse Störungen sowie Störungen des Respirations- oder Verdauungstraktes auftreten. Bei Koalabären führt eine Infektion mit *Chlamydophila pecorum* meist zu Reproduktionsstörungen, Infertilität und Erkrankungen des Urogenitaltraktes. Bei den anderen Tierarten kann es zu Aborten, Konjunktivitis, Encephalomyelitis, Enteritis, Pneumonie und Polyarthritiden kommen (KDE & MEW, 2002). Nach erfolgter Infektion können die Tiere den Erreger sehr lange ausscheiden (z.B. mit dem Kot) und so zur Weiterverbreitung beitragen (FUKUSHI et al., 1992).

2.4 Geflügelfleischerzeugung

2.4.1 Geflügelfleischverbrauch

Der Geflügelfleischverbrauch steigt seit einigen Jahren stetig an. Er übertraf schon 1996 den Verbrauch an Rind- und Kalbfleisch. Die Geflügelfleischerzeugung (gemäß Angaben der meldepflichtigen Geflügelschlachtereien Deutschlands) ist im Jahre 2002 gegenüber dem Vorjahr um 3,9 % auf insgesamt 855.000 Tonnen gestiegen. Hähnchenfleisch hat mit 421.700 Tonnen den größten Anteil. Gegenüber 2001 war hier ein Plus von 0,6 % zu verzeichnen. Bei deutschem Putenfleisch gab es einen starken Produktionszuwachs. Hier wurden 360.000 Tonnen, insgesamt 8,1 % mehr als im Vorjahr produziert. Die Erzeugung von Suppenhühnerfleisch sank 2002 um 4,1 % auf 34.100 Tonnen (RFL, 2003) (Tab. 13). Der durchschnittliche pro-Kopf-Verbrauch an Geflügelfleisch beträgt in Deutschland im Jahre 2002 insgesamt 17,9 kg/Jahr. Beim

errechneten EU-Mittel liegt der pro Kopf Verbrauch im Jahre 2001 schon bei 23,6 kg/Jahr (Abb. 4) (ZMP, 2003). Im Weltdurchschnitt ist der Geflügelfleischverbrauch von 1988 bis 1998 um 6 % gestiegen (FEHLHABER, 2001).

Tabelle 13: Fleischanfall in Geflügelschlachtereien in Deutschland (1000 t Schlachtgewicht) (Quelle: RFL, 4/2003).

Geflügelfleisch		darunter			Anteile an Geflügelfleisch insgesamt (%)		
Jahr	insgesamt	Jungmast-Hühner	Puten	Suppenhühner	Jungmast-Hühner	Puten	Suppenhühner
1991	510,0	306,6	142,5	36,9	60,1	27,9	7,2
1995	591,5	329,9	199,6	35,1	55,8	33,7	5,9
1996	597,5	324,1	210,2	35,3	54,2	35,2	5,9
1997	643,4	343,7	236,5	35,8	53,4	36,8	5,6
1998	681,4	364,6	249,1	36,6	53,5	36,6	5,4
1999	709,7	378,6	264,8	35,0	53,3	37,3	4,9
2000	762,9	406,4	289,2	34,1	53,3	37,9	4,5
2001	823,0	419,8	332,9	35,5	51,0	40,4	4,3
2002	855,0	421,7	360,0	34,1	49,3	42,1	4,0
+/- % geg. Vj.	+3,9	+0,6	+8,1	-4,1			

Geflügelfleischverbrauch in Deutschland und in der EU-15



in kg pro Kopf

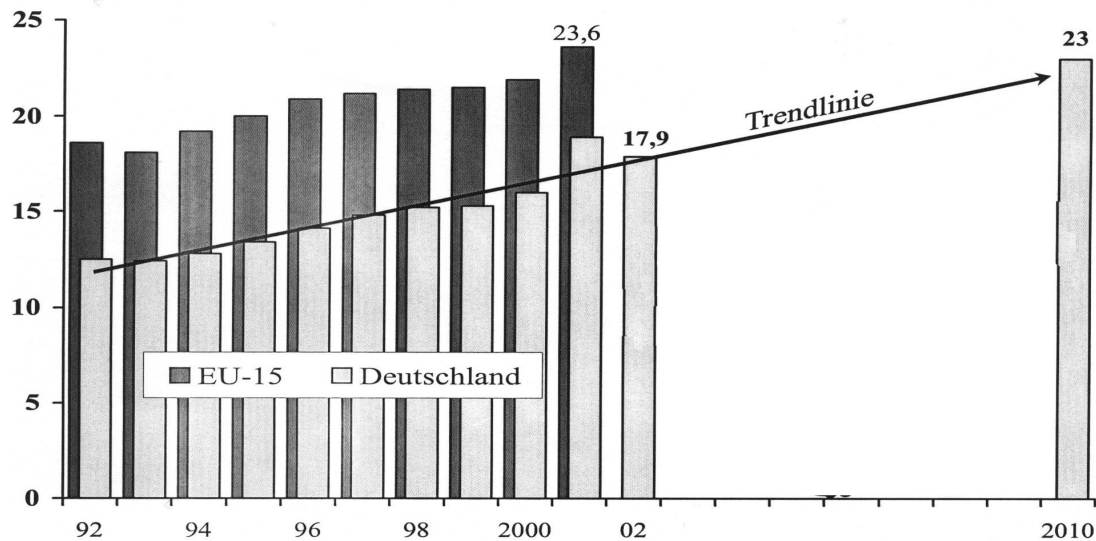


Abbildung 4: Geflügelfleischverbrauch in Deutschland und der EU

(Quelle: ZMP, 6/2003).

2.4.2 Rechtsvorschriften

Die Geflügelfleischhygiene-Richtlinie 92/116/EWG wurde 1992 verkündet und mit dem Geflügelfleischhygiene-Gesetz (GFIHG) vom 17. Juli 1996, zuletzt geändert am 6. August 2002, und der Geflügelfleischhygiene-Verordnung (GFIHV) vom 21. Dezember 2001, zuletzt geändert am 21. Februar 2003, in nationales Recht umgesetzt. Die für die Chlamydien-Bekämpfung und Eindämmung relevanten Abschnitte des GFIHG und der GFIHV sollen hier wegen der besonderen Bedeutung für die eigenen Untersuchungen im Detail beschrieben und erläutert werden.

Das Geflügelfleischhygiene-Gesetz ist in mehrere Abschnitte gegliedert. Abschnitt 1 „Allgemeine Bestimmungen“ erläutert den Anwendungsbereich (§ 1) und die Begriffsbestimmungen (§ 2). Abschnitt 2 regelt das „Inverkehrbringen von Geflügelfleisch“. Geflügelfleisch darf zum Verzehr für Menschen nur in Verkehr gebracht werden, wenn es nach § 3 die Anforderungen an das Inverkehrbringen erfüllt und es amtlich als tauglich oder tauglich nach Brauchbarmachung beurteilt wurde. § 4 erläutert die Maßnahmen im Erzeugerbetrieb. Geflügel darf vom Erzeugerbetrieb zur Schlachtung nur abgegeben werden, wenn es von einer Gesundheitsbescheinigung nach

§ 5, die vom amtlichen Tierarzt ausgestellt wird, begleitet ist. Die Schlachterlaubnis ist nach § 6 vom amtlichen Tierarzt nur dann zu erteilen, wenn kein Grund zur Beanstandung vorliegt. Andernfalls kann die Schlachtung verboten oder unter Anordnung bestimmter Sicherungsmaßnahmen erlaubt werden. Die Schlachterlaubnis erlischt, wenn das Geflügel nicht innerhalb von 24 Stunden nach Erteilung der Erlaubnis geschlachtet worden ist. § 7 regelt die Beurteilung des Geflügelfleisches, § 8 die Kennzeichnung, § 9 die Zulassung und Registrierung von Betrieben und § 10 die Ermächtigungen. Abschnitt 3 (§§ 11 bis 16) beschäftigt sich mit der „Einfuhr und Verbringen aus anderen Mitgliedstaaten, Ausfuhr“. Abschnitt 4 (§§ 17 bis 27) regelt die „Überwachung“, Abschnitt 5 (§§ 28 bis 31) die „Straf- und Bußgeldvorschriften“ und Abschnitt 6 (§§ 32 bis 34) die „Übergangs- und Schlussvorschriften“ (GFIHG, 1996).

Die Geflügelfleischhygiene-Verordnung beschreibt in § 1 Begriffsbestimmungen, in § 2 die zu führenden Nachweise im Erzeugerbetrieb und in § 3 die Anmeldung zur Schlachtgeflügel- und Geflügelfleischuntersuchung. Sie schreibt eine Schlachtgeflügeluntersuchung vor. Diese kann nach § 4 im Erzeugerbetrieb (nach Anlage 1 Kapitel II Nr. 1 bis 4) oder im Geflügelschlachtbetrieb (nach Anlage 1 Kapitel III Nr. 1.1, 2, 4) stattfinden. Ergibt sich im Erzeugerbetrieb kein Beanstandungsgrund (nach Anlage 1 Kapitel II Nr. 5 oder 6), wird die Gesundheitsbescheinigung mit einer Gültigkeit von max. 72 Stunden ausgestellt. § 5 „Schlachtverbot und Sicherungsmaßnahmen bei Sonderschlachtungen“ verbietet die Schlachtung nach § 6 Abs. 1 Satz 2 GFIHG, wenn sich bei der Schlachtgeflügeluntersuchung im Schlachtbetrieb ein Beanstandungsgrund nach Anlage 1 Kapitel II Nr. 5 (z.B. klinische Ornithose) ergibt. Das Geflügel ist unverzüglich sicherzustellen und so abzusondern, dass eine Keimverbreitung sowie eine Ansteckung anderen Schlachtgeflügels vermieden wird. Der amtliche Tierarzt kann auf Antrag des Verfügungsberechtigten die Tötung des Geflügels im Geflügelschlachtbetrieb nach Abschluss der Schlachtungen genehmigen, wenn Vorkehrungen getroffen werden, eine Keimverbreitung zu vermeiden. Die Einrichtungen müssen nach Tötung des Geflügels gereinigt und desinfiziert und die getöteten Tiere unverzüglich beschlagnahmt und beseitigt werden. Die Schlachtung ist ebenfalls zu verbieten, wenn sich ein Beanstandungsgrund nach Anlage 1 Kapitel II Nr. 6 ergibt. Bei fehlender Gesundheitsbescheinigung ist die Schlachtung bis zu deren Vorlage zu verschieben. Wird diese nicht vorgelegt, kann der amtliche Tierarzt die Schlachtung ausnahmsweise erlauben, wenn eine Untersuchung keinen Grund zu Beanstandung ergeben hat. Das

geschlachtete Geflügel unterliegt nach § 6 GFIHV der Geflügelfleischuntersuchung. Diese ist nach Anlage 1 Kapitel IV Nr. 1 bis 3 und 5 bis 7 durchzuführen. Die Tierkörper und die Nebenprodukte der Schlachtung (NPS) werden nach § 7 beurteilt und gekennzeichnet. Nach Anlage 1 Kapitel VI auch in Verbindung mit Anlage 6, sind Tierkörper und NPS als tauglich, tauglich nach Brauchbarmachung oder untauglich zu beurteilen und entsprechend zu kennzeichnen. Hat der amtliche Tierarzt bei der Geflügelfleischuntersuchung (§ 7 (3)) einen Beanstandungsgrund (nach Anlage 1 Kapitel VI Nr. 3.1, 3.2 oder 3.4), z.B. eine klinische Ornithose (nach Anlage 1 Kapitel VI Nr. 3.1), muss bei der zuständigen Behörde und dem Verfügungsberechtigten unverzüglich Mitteilung gemacht werden. § 8 legt besondere Anforderungen an das Inverkehrbringen fest. § 9 beschäftigt sich mit dem Gewinnen, Behandeln oder Zubereiten von Geflügelfleisch in zugelassenen Betrieben, § 10 mit Gewinnen, Behandeln oder Zubereiten von Geflügelfleisch in registrierten Betrieben und § 10a mit der Beförderung von Geflügelfleisch. § 11 legt die Zulassung von Betrieben, § 12 die Registrierung von Betrieben und § 13 die Überwachung und Probenahme fest. Betriebe, die Geflügelfleisch in zugelassenen Betrieben gewinnen und behandeln, müssen nach § 14 betriebseigene Kontrollen und Nachweise durchführen. Sie müssen mittels mikrobiologischer Stufenkontrollen Räume, Einrichtungsgegenstände, Arbeitsgeräte und erforderlichenfalls auch das Geflügelfleisch überwachen. Die Wirksamkeit der angewendeten Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen und das Tauchkühlverfahren müssen überwacht werden. Schlachtbetriebe müssen überprüfen, ob dem Schlachtgeflügel verbotene oder nicht zugelassene Stoffe verabreicht worden sind und ob Wartezeiten bei Medikamentengabe eingehalten wurden. Geflügelschlachtereien müssen Arbeits- und Betriebsabläufe überwachen. Sie müssen Geflügelfleischerzeugnisse- oder Zubereitungen durch betriebseigene Kontrollen überwachen. Die Betriebe müssen Nachweise über durchgeführte Maßnahmen und Kontrollergebnisse, Herkunft des Geflügelfleisches (unter Angabe des Lieferanten) und Abgabe des Geflügelfleisches (unter Angabe der Art und Menge, Kennzeichnung sowie des Empfängers) führen. Außerdem sind Aufzeichnungen über Herstellungsverfahren bei Geflügelfleischerzeugnissen- oder Zubereitungen, die Einhaltung der vorgeschriebenen Raumtemperaturen in Kühl- und Gefrierräumen und ergriffene Vorsorgemaßnahmen zu machen. § 15 beschäftigt sich mit Schlachtgeflügel und Geflügelfleisch aus anderen Mitgliedstaaten und anderen Vertragsstaaten des

Abkommens über den Europäischen Wirtschaftsraum. § 16 beschreibt die Einfuhrvoraussetzungen für Geflügelfleisch, § 17 Betriebe für die Einfuhr von Geflügelfleisch und Federwild, § 18 Verbote und Beschränkungen, § 19 Ausnahmen, § 20 Straftaten und § 21 Ordnungswidrigkeiten.

Die Anlage 1 ist in mehrere Kapitel gegliedert. Kapitel I listet die vom Erzeugerbetrieb zu führenden Nachweise auf. Hier müssen unter anderem Angaben über die Mortalität im Verlauf der Haltung sowie über tierärztliche Untersuchungen und Behandlungen gemacht werden.

Kapitel II erläutert die durchzuführende Schlachtgeflügeluntersuchung im Erzeugerbetrieb. Es müssen unter anderem alle Nachweise des Schlachtgeflügelhalters vorhanden sein. Die vorgeschriebene Untersuchung des Schlachtgeflügels muss bei ausreichender Beleuchtung stattfinden. Hierbei soll festgestellt werden, ob das Geflügel von einer auf den Mensch oder Tier übertragbaren Krankheit befallen ist oder ob Anzeichen vorhanden sind, die den Ausbruch einer solchen Krankheit befürchten lassen. Das Geflügel wird auf Störungen des Allgemeinbefindens überprüft sowie auf Anzeichen, die auf die Anwendung von Stoffen mit pharmakologischer Wirkung hindeuten. Ergeben sich bei der Untersuchung Zweifel an der Gesundheit der Tiere, sind weitergehende Prüfungen durchzuführen. Eine Gesundheitsbescheinigung darf nach Anlage 1 Kapitel II Nr. 5 nicht ausgestellt werden, wenn nach Nr. 5.1 Geflügelpest, Nr. 5.2 Newcastle-Krankheit, Nr. 5.3 klinische Ornithose oder nach Nr. 5.4 klinische Salmonellose festgestellt worden ist. Ferner ist eine Gesundheitsbescheinigung zu versagen, wenn Rückstände oder andere gesundheitsschädliche Stoffe festgestellt werden. Das gilt auch, wenn Stoffe mit pharmakologischer Wirkung bei Missachtung der Wartezeit oder nicht zugelassene Stoffe mit pharmakologischer Wirkung angewendet wurden.

Kapitel III befasst sich mit der Schlachtgeflügeluntersuchung im Schlachtbetrieb. Hier muss bei schon stattgefundenen Schlachtgeflügeluntersuchung im Erzeugerbetrieb die Gesundheitsbescheinigung, Nämlichkeit sowie evtl. entstandene Transportschäden überprüft werden.

Kapitel IV beschreibt die Geflügelfleischuntersuchung. Sie ist unmittelbar nach Schlachtung und Ausnehmen durchzuführen. Es müssen die Tierkörperoberfläche, Körperhöhle, Eingeweide, Kopf und Beine besichtigt und erforderlichenfalls durchtastet und angeschnitten werden. Kapitel V geht auf die Rückstandsuntersuchungen ein.

Kapitel VI beschreibt die Beurteilung des Geflügelfleisches. Als tauglich werden alle Tierkörper und Nebenprodukte der Schlachtung (NPS) beurteilt, die keinerlei Veränderungen aufweisen. Kurz vor der Schlachtung entstandene Verletzungen, örtlich begrenzte Missbildungen und sonstige Veränderungen, welche die Verzehrtauglichkeit des Geflügelfleisches nicht beeinträchtigen, sind ebenfalls als tauglich zu beurteilen. Als untauglich sind Tierkörper und NPS nach Anlage 1 Kapitel VI Nr. 3 zu beurteilen, wenn nach Nr. 3.1 Geflügelpest, Newcastle-Krankheit, klinische Ornithose oder Salmonellose und nach Nr. 3.2 andere auf den Menschen übertragbare Krankheiten festgestellt wurden. Weiterhin sind Tierkörper und NPS als untauglich zu beurteilen wenn septikämische Veränderungen (3.3), Rückstände (3.4), Veränderungen durch Giftstoffe (3.5), örtliche Veränderungen durch Toxine (3.6), Mykosen (3.7), Parasiten (3.8), Bauchwassersucht (3.9), Gelbsucht (3.10) sowie bösartige oder multiple Geschwülste (3.11) festgestellt wurden. Zur Untauglichkeit der Tierkörper und NPS führen auch multiple Abszesse oder Entzündungen (3.12), Kümmerer (3.13), natürlicher Tod, Schlachtung in der Agonie, mangelndes Ausbluten (3.14), umfangreiche Verletzungen und Blutungen (3.15), Farb-, Geruchs- oder Geschmacksabweichungen (3.16), Konsistenzabweichungen (3.17), Zersetzungs Vorgänge (3.18), Verunreinigungen oder Kontaminationen (3.19). Auf die Kennzeichnung des Geflügelfleisches wird in Kapitel VII eingegangen.

Anlage 2 Kapitel I beschreibt die Beschaffenheit und Ausstattung der Räume, in denen Geflügelfleisch gewonnen, zubereitet oder behandelt wird. Die Fußböden müssen wasserfest, leicht zu reinigen und zu desinfizieren sein. Die Wände müssen abwaschbar, die Decken hell und glatt, Türen und Fensterrahmen ebenfalls glatt und abwaschbar sein. Ausreichende Vorrichtungen zur Be- und Entlüftung müssen vorhanden sein, sodass die Kondenswasserbildung soweit wie möglich verhindert wird. In größtmöglicher Nähe zum Arbeitsplatz müssen geeignete (nicht von Hand zu bedienende) Handwaschbecken mit fließendem Wasser zur Reinigung und Desinfektion der Hände, sowie Einmalhandtücher vorhanden sein. Außerdem muss für Arbeitsgeräte (z.B. Messer) ein 82 °C heißes Becken installiert sein. Die Einrichtungsgegenstände und Arbeitsgeräte wie Tische, Schneideunterlagen, Behältnisse, Transportbänder und Sägen müssen aus korrosionsbeständigem, leicht zu reinigendem und desinfizierbarem Material bestehen. Vorrichtungen zum Schutz vor Nagetieren, Insekten und anderem Ungeziefer müssen vorhanden sein. Behältnisse, in denen Geflügelfleisch gelagert wird,

dürfen nicht direkt mit dem Fußboden oder Wänden in Kontakt kommen. Für untauglich beurteiltes oder sonstiges nicht für den menschlichen Verzehr bestimmtes Geflügelfleisch ist ein geeigneter wasserdichter, korrosionsbeständiger, verschleißbarer Behälter erforderlich. Eine hygienische Wasserableitung, ausreichende Waschgelegenheiten und Toiletten müssen vorhanden sein. Kapitel II legt allgemeine Hygieneanforderungen für Personal, Einrichtungsgegenstände und Arbeitsgeräte in Räumen in denen Geflügelfleisch gewonnen, zubereitet oder behandelt wird, fest. Das Personal sollte die Arbeitskleidung ständig sauber halten. Sie muss leicht waschbar, hell und sauber sein, ebenfalls die Schuhe und Kopfbedeckung. Sie darf nur ihrem Zweck entsprechend verwendet werden. Personen, die mit kranken Tieren oder infektiösem Geflügelfleisch in Kontakt kommen, müssen sofort Hände und Arme reinigen und desinfizieren, erforderlichenfalls ist die Kleidung zu wechseln. Räume, Einrichtungsgegenstände und Arbeitsgeräte müssen ständig sauber und in einwandfreiem Zustand gehalten werden. Sie sind vor ihrer Wiederverwendung, bei Verunreinigung, sofern erforderlich sowie am Ende jedes Arbeitstages gründlich zu reinigen und zu desinfizieren (GFIHV Anl. 2 Kap. II Nr. 2). Kühleinrichtungen sind nach jeder Räumung, Lagerräume, Pökel-, Reife- und Räucherräume bei Bedarf zu reinigen und desinfizieren. Tiere (außer das Schlachtgeflügel) sind von Betriebsräumen fern zu halten. Nagetiere, Insekten und anderes Ungeziefer sind zu bekämpfen. Die Käfige des Schlachtgeflügels müssen aus korrosionsfestem, leicht zu reinigendem und desinfizierbarem Material bestehen. Sie sind nach jeder Benutzung zu reinigen und zu desinfizieren. Behälter mit untauglichem Geflügelfleisch müssen bei Bedarf entleert und anschließend gereinigt und desinfiziert werden. Federn sind nach dem Rupfen unverzüglich aus dem Schlachtraum zu entfernen. Kapitel III beschreibt besondere Hygieneanforderungen für Geflügelschlachtbetriebe und das Schlachten. Es ist erforderlich, dass ausreichend große Räumlichkeiten für die einzelnen Produktionsschritte vorhanden sind. Das Schlachtgeflügel muss vollständig und so entbluten, dass keine anderen Bereiche außerhalb des Schlachtplatzes verunreinigt werden. Es muss sofort vollständig gerupft werden. Das Ausnehmen sollte unverzüglich und so durchgeführt werden, dass die Leibeshöhle und die Eingeweide untersucht werden können. Kapitel IV legt Verfahren bei Schlachtverboten und Sonderschlachtungen fest. Wenn Schlachtgeflügel, für welches ein Schlachtverbot besteht, im Schlachtbetrieb getötet wird und kein besonderer Raum zur Verfügung steht,

kann die Tötung im Schlachtraum erfolgen, wenn alle Maßnahmen getroffen sind um eine Keimverschleppung zu vermeiden. Die Tötung darf erst beginnen, wenn der normale Schlachtbetrieb komplett abgeschossen ist und die Tierkörper entfernt worden sind. Kapitel V beschreibt besondere Hygieneanforderungen für das Zerlegen von Geflügelfleisch, Kapitel VI besondere Hygieneanforderungen für das Zubereiten von Geflügelfleisch und Kapitel VII besondere Hygieneanforderungen für Federwild. Kapitel VIII beschäftigt sich mit besonderen Anforderungen an das Umhüllen und Verpacken von Geflügelfleisch, Kapitel IX mit Hygieneanforderungen an das Kühlen, Lagern und Befördern von Geflügelfleisch.

Die Anlage 3 führt die hygienischen Anforderungen an das Gewinnen, Zubereiten und Behandeln von Geflügelfleisch und an das Personal in zugelassenen Betrieben - betriebseigene Kontrollen in zugelassenen Betrieben - genauer auf. Kapitel I geht auf die hygienischen Anforderungen an das Gewinnen, Zubereiten und Behandeln von Geflügelfleisch an das Personal ein. Kapitel II legt betriebseigene Kontrollen fest. Zugelassene Betriebe müssen Geflügelfleischzubereitungen einmal wöchentlich auf Kolibakterien, Koagulase-positive Staphylokokken und Salmonellen untersuchen lassen. Chlamydien werden hier nicht erwähnt.

Die Anlage 4 geht auf Gesundheits- und Genusstauglichkeitsbescheinigungen, Anlage 5 auf Untersuchungen bei der Einfuhr von Geflügelfleisch und Anlage 6 auf Behandlungsverfahren zur Brauchbarmachung von Geflügelfleisch ein (GFIHV, 2001).

§ 1 des Infektionsschutz-Gesetzes beschreibt die Prävention bei der Bekämpfung übertragbarer Krankheiten. Somit ist auch das Infektionsschutz-Gesetz im weitesten Sinne involviert.

2.4.3 Geflügelhaltung

Die Anforderungen an die Geflügelhaltung sind im Laufe der Jahre immer komplexer geworden. Es sind ganz unterschiedliche Haltungsformen, je nach Nutzungsrichtung, im Einsatz.

Die Käfighaltung ist gewöhnlich bei Legehennen in Gebrauch, soll jedoch im Zuge der Hennenhaltungs-Verordnung im Geltungsbereich dieser Verordnung abgeschafft werden (FRIES, 2001).

Die Bodenhaltung, die auch doppelstöckig vorkommt, wird bei Mastgeflügel und anderen Nutzungsrichtungen außer Legehühnern angewandt. Masthähnchen werden, bei einer Herdengröße von 15.000 bis 40.000 Tieren, meist in Dunkelställen mit künstlicher Beleuchtung und Belüftung gehalten (FRIES, 2001).

Offenställe, wo die Tiere mehr am Umgebungsklima teilhaben können, sind seit einiger Zeit im Einsatz. Sogenannte „Louisiana-Ställe“ werden für Puten und Jungmasthühner gebaut. Bei Puten ist die Offenstallhaltung relativ weit verbreitet, jedoch muss zur Minderung der Schäden durch gegenseitiges Bepicken der Oberschnabel gestutzt werden (FRIES, 2001).

Volierenhaltungen müssen über mindestens zwei Ebenen verfügen (BRADE, 2000). Hier ist jedoch eine starke Staubentwicklung zu erwarten, was zur Gefährdung der Gesundheit der Mitarbeiter führen kann und in solchen Fällen zu Beanstandungen und Auflagen durch die Gewerbeaufsicht- und Gesundheitsämter führt. Außerdem ist die Verletzungsgefahr und Lärmentwicklung in Volierenhaltungen größer als in anderen Haltungssystemen (FRIES, 2001).

Die Freilandhaltung gibt es in unterschiedlichen Abstufungen (VO (EWG) 1538/91). Probleme könnten jedoch durch vermehrten Parasitenbefall und Übertragungen von Krankheitserregern z.B. durch Wildvögel und andere Tiere entstehen (FRIES, 2001). Außerdem dürfte es in unseren Breiten kaum möglich sein, dem Platzbedarf der Tiere gerecht zu werden.

2.4.4 Schlachtgeflügeltransport

Das Einfangen der Tiere findet meist während der Nacht im abgedunkelten Stall oder bei Blaulicht statt. Betriebe mit Mastgeflügel und Geflügelschlachtereien befinden sich meist in enger Nachbarschaft. Dadurch sind die Transportwege kurz und die Transportzeiten auf wenige Stunden begrenzt. Das Geflügel wird von den Arbeitern per Hand gefangen, in Transportkäfige verbracht und auf LKW's verladen. Bei Ankunft in der Schlachtereie muss meist aus betriebslogistischen Gründen mit einer Wartezeit gerechnet werden. Die Ventilation der Transportkäfige ist während der Transportphase (LKW in Bewegung) gegeben. Kommt es jedoch zu Wartezeiten, steigen die Temperaturen vor allem im Sommer im Inneren der Transportmodule an. Die Tiere werden stark gestresst und es kann zu Todesfällen kommen (FRIES, 2001).

2.4.5 Geflügelschlachtung (Schlachttechnologie)

Entladen der Käfige und Einhängen in das Schlachtband

Nach der Ankunft in der Schlachtereier werden die Käfige maschinell vom LKW abgeladen. Die Transportkisten werden auf ein Transportband geladen, welches die Tiere zum Einhängen führt. Das Einhängen findet manuell statt. Die Tiere werden vom Einhängpersonal gegriffen und in das Schlachtband eingehängt. Bei den viel schwereren Puten wird auf ein anderes System zurückgegriffen. Die Käfige sind auf den LKW's fest installiert und werden nach vorne geöffnet. Die Anhänger werden auf eine Entladerampe geschoben, welche hydraulisch verstellt werden kann. So können die zu entladenden Käfige der Höhe des Einhängbandes angepasst werden, was einen wesentlich niedrigeren Kraftaufwand für das Personal bedeutet (FRIES, 2001).

Schlachten

Schlachten ist das Töten von Schlachtgeflügel nach Betäubung unter Blutentzug. Nach dem Einhängen wird das Geflügel zur Betäubungseinrichtung gefahren. Die Tiere sollen ruhig hängen. Im Einhängeraum sollte aus diesem Grunde zur Beruhigung der Tiere eine schwache Beleuchtung in den Farben blau oder rot herrschen. In der Verordnung zum Schutz von Tieren im Zusammenhang mit der Schlachtung oder Tötung (Tierschutz-Schlachtverordnung) vom 3. März 1997, zuletzt geändert am 25. November 1999 sind die zulässigen Schlachtverfahren für Geflügel erläutert. Für Hausgeflügel außer Eintagsküken und nicht schlupffähige Küken sind als Betäubungs- und Tötungsverfahren Bolzenschuss, Kugelschuss, Elektrische Durchströmung, Kohlendioxidexposition (bei Puten sowie bei behördlich veranlassten Tötungen), Kopfschlag (bei Hausschlachtungen und Schlachtungen in Schlachtstätten, in denen nicht mehr als 100 Tiere geschlachtet werden, sowie zur Betäubung von Tieren, die im Wasserbad nicht betäubt wurden) und die Verabreichung eines Stoffes mit Betäubungseffekt zulässig. Die Betäubung wird in den meisten Fällen jedoch durch elektrischen Strom im Wasserbad (Elektrowasserbad) herbeigeführt. Hier muss innerhalb der ersten Sekunde eine gewisse Stromstärke erreicht werden, die eine bestimmte Zeit anhält (Tab. 14).

Tabelle 14: Stromstärke und Stromflusszeit bei der Geflügelbetäubung (TIERSCHUTZ-SCHLACHTVERORDNUNG, 1997).

Tierart	Stromstärke (Ampère)		Stromflusszeit (Sekunden)	
	Tötung mit Blutentzug	Tötung ohne Blutentzug	Tötung mit Blutentzug	Tötung ohne Blutentzug
Truthuhn	0,15	0,25	4	10
Ente, Gans	0,13	0,20	6	15
Haushuhn	0,12	0,16	4	10
Wachtel	0,06	0,10	4	10

Eine irreversible Bewusstlosigkeit ist das Ziel der Betäubung (FRIES, 2001). Durch eine CO₂-Begasung (Mehrphasen-CAS-System) kann ebenfalls eine Betäubung erfolgen, was sich als hervorragende Alternative zur elektrischen Betäubung im Wasserbad erwiesen hat (BARTON GADE et al., 2001). Hausgeflügel darf allerdings nur durch Kohlendioxid getötet werden, wenn in der Gasatmosphäre in welche die Tiere eingesetzt werden, eine Kohlendioxidkonzentration von mindestens 80 % herrscht, die aus einer Quelle hundertprozentigen Kohlendioxids erzeugt wird. Die Tiere verbleiben in dieser Atmosphäre bis zum Eintritt des Todes, mindestens jedoch zehn Minuten (TIERSCHUTZ-SCHLACHTVERORDNUNG, 1997). Anschließend passieren die betäubten Masthähnchen den Halsschlitzapparat (sog. „Töter“). Durch eine Führungsschiene wird der Hals an das rotierende Messer herangeführt, welches die Arteria carotis interna unmittelbar kaudal des Schädels eröffnen soll (FRIES, 2001). Bei Puten wird der Ausblutungsschnitt meist noch von Hand durchgeführt, auch hier soll die Arteria carotis interna durchtrennt werden.

Brühen

Nach der Ausblutung gelangen die Tiere (an Haken) in ein Brühbad. Dies besteht üblicherweise aus mehreren Brühkammern. Es wird mit heißem Wasser bei Temperaturen von 52 °C bis 58 °C gebrüht, sodass die Federn losgeweicht und das Rupfen erleichtert wird. Brühen bei 52 °C hat den Vorteil, dass die Epidermis intakt bleibt. Ein neueres System stellt das Brühen mit Wasserdampf dar, hier werden die Schlachttiere kontaktlos mit Wasserdampf gebrüht (FRIES, 2001; KÖNIG, 2002).

Rupfen

Nach dem Brühvorgang werden die Federn in der Rupfmaschine entfernt. Hier gibt es mehrphasige Rupfmaschinen (Vor- und Nachrupfer) um alle Federn zu entfernen. Üblicherweise sind rotierende Zylinder mit Gummifingern im Einsatz, die bei Bedarf gewechselt werden können (FRIES, 2001).

Sonstige Arbeitsschritte im schwarzen Bereich

Nach dem Rupfvorgang werden Kopf- und Luftröhre im „Kopf- und Luftröhrenzieher“ abgesetzt. Hierbei werden Kopf und Luftröhre so entfernt, dass der Kropf nicht eröffnet wird. Bei Puten bleibt der Kopf am Tierkörper und wird erst später abgesetzt. Im „Hälskneifer“ wird die Wirbelsäule gebrochen und von der Restwirbelsäule getrennt, sie bleibt jedoch in natürlichem Zusammenhang mit dem Schlachtkörper. Im Folgenden werden durch eine Ständersäge die Ständer im Tarsalgelenk abgetrennt. Anschließend wird der Tierkörper auf das Eviszerationsband umgehängt (FRIES, 2001).

Bratfertigband/Eviszerationsband

Der Schlachtkörper wird in der Bratfertiglinie von den Innereien befreit. Der „Kloakenschneider“ umschneidet die Kloake und verlagert das Rectum mit Bursa Fabricii aus dem Tierkörper heraus. Die Körperhöhle wird durch den Körperhöhlenschnitt geöffnet. Der „Ausnehmer“ verlagert das Organkonvolut außerhalb des Tierkörpers, wobei dieses in natürlichem Zusammenhang mit dem Tierkörper bleibt oder getrennt werden kann. Wichtig ist eine eindeutige Zuordnung von Tierkörper und Organen. Magen, Darm, Leber, Herz, Milz und Lungen werden als Gesamtkonvolut entnommen. Ovarien/Hoden, Nebennieren, Nieren und Lungenreste können im Tierkörper verbleiben. Ein „Vakuumsauger“ oder „Lungensauger“ saugt verbliebene Organteile und Überreste auf der inneren Dorsalseite ab. Die Häuse werden mittels „Halsentferner“ entfernt. Ein „Kropfkontrollgerät“ entfernt den Kropf, falls dieser noch vorhanden ist. Der „Halshautabschneider“ entfernt übrig gebliebene Halslappen, da diese als leicht verderblich gelten. Der „Innen-Außen-Wäscher“ wäscht den Tierkörper von innen und außen (FRIES, 2001).

Kühlung

Nach diesen Arbeitsvorgängen muss der Tierkörper der Kühlung zugeführt werden. Hierfür werden diese wieder umgehängt. Bei der Kühlung sind drei Varianten zu

unterscheiden, die Tauchkühlung im Gegenstrom, die Luftkühlung und die Luft-Sprühkühlung (SEIDLER, 1998; FRIES, 2001).

Zerlegung

Nach der Kühlung erfolgt je nach Betrieb die Zerlegung und Weiterverarbeitung der Schlachtkörper. Das Produkt wird anschließend verpackt und an die Kommissionierung und Versand weitergegeben.

Organbearbeitung

Die verwendbaren Organe (Leber, Herz, Muskelmagen) werden vom Organkonvolut abgetrennt, gewaschen und weiter verarbeitet. Der Organtransport erfolgt mit Hilfe von Transportwasser (FRIES, 2001).

Ein Fließdiagramm gibt einen Überblick über den Ablauf der Geflügelschlachtung (Abb. 5).

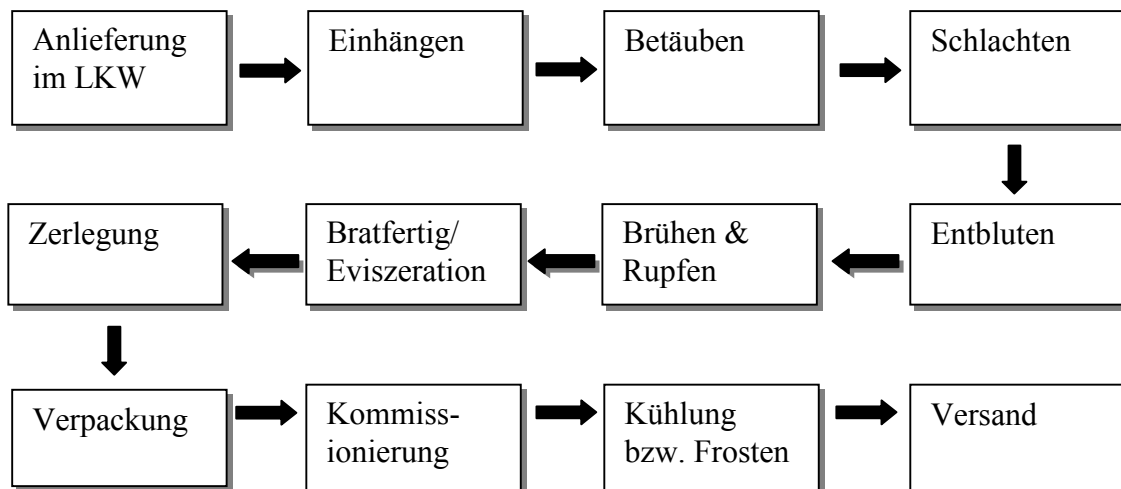


Abbildung 5: Fließschema Geflügelschlachtung.

2.4.6 Hygienisch kritische Punkte der Geflügelschlachtung

Geflügel

Endogene Kontaminationen der Tiere entstehen *intra vitam*, sie sind häufig Folgen von prämortalen Belastungen und Stress (Ausstallen, Be- und Entladen, Transport) oder aber Bakteriämien nach vorausgegangenen Infektionen (z.B. *Chlamydophila psittaci*). Durch Stress kann die Darmbarriere beeinträchtigt werden, wodurch es zu einer Translokation von Keimen in die Blutbahn und damit in Organe und Muskulatur kommen kann. Diese Vorgänge geschehen offenbar in kurzer Zeit, sodass die Tiere zum Zeitpunkt der Schlachtung klinisch und pathologisch-anatomisch unauffällig erscheinen (FRIES, 2001). Es sollte darauf geachtet werden, dass der Tiertransport möglichst stressfrei geschieht (stressfreies Einfangen der Tiere, keine Überbelegung der Transportkäfige, keine langen Wartezeiten im Schlachtbetrieb).

Transportkäfige

Obwohl die Tiere 8 bis 12 Stunden vor der Schlachtung nicht mehr gefüttert und eine Stunde vor der Verladung nicht mehr getränkt werden, sind die Transportkäfige nach dem Entladen stark mit Kot und Federn verschmutzt. Durch den Kotabsatz kommt es neben der starken Verschmutzung der Transportkäfige auch zu Verschmutzungen der Haut und Hautanhangsorgane sowie der Schlachtlinie. Daher sollten tiergerechte Transportbedingungen gewährleistet werden. Stark verschmutzte Tiere sollten zuletzt geschlachtet werden, was unter Praxisbedingungen jedoch kaum möglich und nur in der Theorie denkbar ist (SEIDLER, 1998). Die Käfige werden in einem speziellen, tunnelartigen mit Sprühdüsen ausgestatteten Käfigwäscher gereinigt und desinfiziert. Probleme ergeben sich jedoch bei den Überlaufkanten am Käfigboden, hier sammelt sich das Waschwasser und kann nicht vollständig ablaufen (FRIES, 2001). Eine neuere Entwicklung sind Tauchsysteme, wo Käfige komplett eingetaucht werden können. „Die Käfigwäscher sind jedoch noch ein hygienischer Schwachpunkt im Kreislauf zwischen der Herkunft, dem Transporter und dem Schlachtbetrieb“ (FRIES, 2001).

Transportfahrzeuge

Da die Oberflächen der LKW's nur schwer zu reinigen und zu desinfizieren sind, besteht die Gefahr der Keimverschleppung. Jede Schlachtereier muss daher über LKW-Waschplätze verfügen. Bei der Reinigung sollte vor allem auf die Wahl des

Reinigungsmittels und die Einwirkdauer geachtet werden. Vorhandener Schmutz sollte vor dem Aufbringen des Reinigungs- und Desinfektionsmittels gründlich entfernt werden, da dieser die Wirksamkeit negativ beeinflusst (FRIES, 2001).

Schlachten

Bei der Entblutung und der Nachtropfstrecke kann es zu Kreuzkontaminationen über das Entblutegerät/-messer (Puten) sowie zur Verunreinigung durch Tropfblut kommen. Zur Vorbeugung sollte eine Zwischenreinigung und -desinfektion dieser Anlagen in den Schlachtpausen durchgeführt werden (SEIDLER, 1998). Es sollte darauf geachtet werden, dass die Tiere nach dem Entblutungsschnitt vollständig entbluten bevor sie ins Brühbad getaucht werden. Ist dies nicht der Fall, gelangt zuviel Blut in das Brühbad. Das kann zu mikrobieller Verunreinigung führen. Eine ungenügende Betäubung kann des weiteren dazu führen, dass noch Atemversuche unternommen werden und dadurch Brühwasser aspiriert wird, was ebenfalls zu einer starken mikrobiellen Verunreinigung von Lungen und Luftsäcken führt (FRIES, 2001).

Brühen

Auf der Geflügelhaut haften aus dem Brühwasser stammende Keime. Es kann zu Kreuzkontaminationen zwischen unterschiedlichen Herkünften der Schlachttiere (Brühtank) kommen, daher sollte eine Zwischenreinigung des Brühbereiches nach jeder geschlachteten Herde in Betracht gezogen werden (SEIDLER, 1998).

Rupfen

Die Rupffinger können vorhandene Keime in den Tierkörper regelrecht einmassieren. Auch hier kann es zu Kreuzkontaminationen über die Rupffinger kommen. Sie sollten in regelmäßigen Abständen kontrolliert werden, da sich in entstehenden Defekten Keime absetzen. Eine Zwischenreinigung nach jeder geschlachteten Herde und eine tägliche Reinigung und Desinfektion sind notwendig (SEIDLER, 1998). Beim Rupfvorgang entstehen Aerosole, Federreste und Tierkontakte, die ebenfalls zu einer Kontamination führen können (FRIES, 2001).

Eviszeration/Bratfertig

Beim Herausnehmen des Darmpaketes kann es zu Verletzungen oder Zerreißen desselben kommen, welches zu einer Keimverschleppung führen kann (FRIES, 1994; SEIDLER, 1998). Auch die Geflügelhaut ist ein Keimträger. Das Heraussaugen von

Lungenresten und Nieren sowie das Abduschen der Tierkörper kann zur Kontamination führen (FRIES, 2001). Eine weitere Kontaminationsgefahr sind mangelhafte Zwischenreinigungen, ungenügende Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen sowie mangelnde Personalhygiene. Auch eine nicht durchgeführte Wartung der Anlagen kann Gefahren bergen (SEIDLER, 1998).

Kühlung

Bei Anwendung des Tauchkühlverfahrens ist die mikrobielle Kontamination der Tierkörper erheblich. Die Luft-Sprühkühlung ist mikrobiologisch besser, die Luftkühlung am besten zu bewerten (FRIES, 2001).

Zerlegung

Auch die Zerlegung stellt eine Kontaminationsquelle für Geflügelfleisch dar. Durch Zerlegungsvorgänge, manuelle Manipulation, Transportbänder, Maschinen, Sägen etc. kann es zur mikrobiellen Kontamination kommen (FRIES, 2001). Auch hier können ungenügende Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen, mangelnde Personalhygiene sowie nicht durchgeführte Anlagenwartungen Gefahren bergen (SEIDLER, 1998). Eine gute Übersicht über hygienisch kritische Punkte in der Geflügelschlachtung gibt die folgende Tabelle 15 wieder (SEIDLER, 1998).

Tabelle 15: Hygienisch kritische Punkte in der Geflügelschlachtung (nach SEIDLER, 1998).

Prozessstufe	Gefahren	Vorbeugung
Gesundheitsüberwachung der Tiere	Humanpathogene Erreger als Bestandskontamination	Kennzeichnung betroffener Tiere, ggf. besondere Auflagen bei der Schlachtung
Nüchterung der Schlachttiere	Gefährdung durch Darminhalt/Kot/Hautverschmutzungen	ca. 12 Stunden vor dem Transport keine Fütterung, jedoch Tränkung
Transport	Verschmutzung der Haut und ihrer Anhangsorgane mit Kot/pathogenen Keimen/Kreuzkontamination	Tiergerechte Transportbedingungen gewährleisten, verschmutzte Tiere zuletzt schlachten

Prozessstufe	Gefahren	Vorbeugung
Tierärztliche Lebenduntersuchung	Klinisch kranke, mit humanpathogenen Erregern infizierte, gestresste Tiere, Kontamination der Schlachtlinie	Kranke, mit pathogenen Erregern kontaminierte Tiere der Isolierschlachtung zuführen
Einhängestation und Zuführung zur Betäubung	Kreuzkontamination verschiedenen Tierchargen	Zwischenreinigung, ggf. Reinigung und Desinfektion
Entblutung und Nachtropfstrecke	Kreuzkontamination über Entblutegerät/-messer (Puten)	Reinigung und Desinfektion auch in den Schlachtpausen
Brühen	Kreuzkontamination von Herkunftschargen (Brühtank); bei Brühtemperatur < 60 °C Gefahr der Vermehrung und Ausbreitung pathogener Keime	Optimierung der Brühtechnik; Zwischenreinigung des Brühbereiches nach jeder Charge
Rupfen	Kreuzkontamination über Rupffinger	Zwischenreinigung nach jeder Herkunftscharge, tägliche Reinigung und Desinfektion
Übergabeband	Kreuzkontamination und Kontamination des Geflügelschlachtkörpers durch Blut und Kot	Nüchterung des Schlachtgeflügels, Übergabeband durchläuft Reinigung und Desinfektion > + 82 °C
Nackenhautschnitt, Kloakenschneider, Bauchdeckenschnitt, Entfernen der Halshaut	Kreuzkontamination durch mangelhafte Zwischenreinigung, tägliche Reinigung und Desinfektion	Einhaltung und Überwachung des Hygieneplanes
Eviszeration	Zerreißung der Wand des Magen-Darm-Kanals/ Kontamination des Geflügelschlachtkörpers mit Darminhalt	Wartung, Reinigung, Desinfektion, Zwischendesinfektion der Anlage

Prozessstufe	Gefahren	Vorbeugung
Amtliche Geflügel- fleischuntersuchung	Mängel bei der Beseitigung von pathologisch-anatomisch erkennbaren Gefahren unter Einbeziehung weiterer Untersuchungen	Verbesserung der Ausbildung/Schulung der Untersucher
Bearbeitung des Geflügelschlacht- körpers und der Organe	Kontamination durch mangelhafte Maschinen- und Personalhygiene	Hygieneschulung des Personals, Reinigung und Desinfektion
Kühlung der Geflügelschlacht- körper	Vermehrung der durch Kontamination auf die Fleischoberfläche verbrachten Keime	Einhaltung der gesetzlich vorgegebenen Kühl- technologie und Kühlbedingungen, Kühltemperatur < +4°C

2.4.7 Eintrag von Chlamydien in die Schlachtere

Chlamydien werden hauptsächlich durch die Schlachttiere selbst in den Schlachthof eingetragen. Aber auch nicht ausreichend gereinigte und desinfizierte Transportfahrzeuge und Käfige führen zur Einschleppung des Erregers (siehe 2.4.6 und 2.3.2.1.2.4). Die GFIHV (siehe 2.4.2) schreibt eine Schlachtgeflügeluntersuchung max. 72 Stunden vor der Schlachtung vor. Da hier jedoch nur klinisch erkrankte Tiere bemerkt werden, bietet diese Untersuchung keinen wirksamen Schutz gegen die Einschleppung des Erregers in die Schlachtere und damit gegen die Weiterverbreitung von *Chlamydophila psittaci*. Infizierte Wildvögel, Säugetiere (Hunde, Katzen) und Schädlinge (Ratten usw.) können ebenfalls für die Einschleppung des Erregers in die Schlachtere verantwortlich sein. Nach der GFIHV ist die Anwesenheit von Tieren, außer die des Schlachtgeflügels selbst, in der Schlachtere streng verboten. Außerdem ist eine Schädlingsbekämpfung durchzuführen.

2.4.8 Chlamydien-exponierte Betriebsbereiche

Mitarbeiter in Geflügelschlachtereien gehören zu den besonders gefährdeten Personengruppen (siehe 2.3.3.1.1). In der Literatur wurden Ornithose-Erkrankungen bei Personen beschrieben, die ganz unterschiedliche Funktionen in einer Schlachtereierfüllten. So erkrankten Mitarbeiter aus den Bereichen Einhängen, Töten, Eviszeration, Weiterverarbeitung der ausgeweideten Tierkörper, Verpackung, Geflügeltransporteure, Schlosser, Staplerfahrer und Aufsichtsbeamte (ANDERSON et al., 1978; HEDBERG et al., 1989; ANONYM, 1998; MANKE et al., 2000). Das Infektionsrisiko für Schlachthofpersonal ist jedoch in Betriebsbereichen, wo eine hohe Staub-, Kot- oder Aerosolbelastung herrscht, besonders hoch (ANDERSON et al., 1978). Hierzu zählen:

Betriebsbereich Einhängen/Schlachten

In diesem Bereich werden die Tiere vom LKW entladen und in die Schlachtkette eingehängt. Nach der Betäubung erfolgt das Schlachten manuell oder mittels Halsschnittautomat. Die Staubentwicklung in diesem Betriebsbereich ist enorm. Beim Einhängepersonal von Geflügelschlachtereien kommt es häufig zu Erkrankungsfällen (IRONS et al., 1956; GRABER und POMEROY, 1958; DICKERSON, 1962; DUFREE et al., 1975; KIM et al., 1982; HEDBERG et al., 1989; MANKE et al., 2000). Die Mitarbeiter sind Aerosolen sowie dem Kot und Staub der Tiere häufig schutzlos ausgesetzt. Die Infektion des Personals erfolgt meist aerogen, durch Inhalation von erregerrhaltigem Staub oder Aerosolen aus Federn oder Kot. In Betriebsbereichen mit hoher Staubbelastung sollte eine partikelfiltrierende Halbmaske der Klasse FFP 3 getragen werden. Diese gewährleistet ein hohes Maß an Sicherheit bezüglich der Inhalation von Mikroorganismen (KÄMPFER und WEIßENFELS, 1997).

Betriebsbereich Eviszeration/Bratfertig

In diesem Arbeitsbereich kommt es zu starker Aerosolbildung durch Spritzwasser, zudem können die Mitarbeiter mit erregerrhaltigem Organmaterial direkt in Kontakt kommen (Stichwort: Persönliche Hygiene). Bei Ornithose-Erkrankungen sind häufig Mitarbeiter des Eviszerationsbereiches betroffen (IRONS et al., 1956; RINDGE et al., 1959; DICKERSON, 1962; DUFREE et al., 1975; KIM et al., 1982; NEWMAN, 1989; HEDBERG et al., 1989).

Rupfen der Tiere von Hand

Diese Tätigkeit kann heute als historisch angesehen werden. Der entstehende Federstaub beim Trockenrupfen kann zur Infektion führen (GRATZL und KÖHLER, 1968; SELBITZ, 1992). In der älteren Literatur sind Ornithosen bei Mitarbeitern von Geflügelschlachtereien, die mit dem Rupfen der Tiere betraut waren, geschildert worden (IRONS et al., 1951; GRABER und POMEROY, 1958; OTTO, 1961).

2.4.9 Ziele und Durchsetzung von Hygiene in Geflügelschlachtereien

2.4.9.1 Ziele von Hygiene in Geflügelschlachtereien

Das Ziel der Durchsetzung von Hygiene in Geflügelschlachtereien ist der Schutz des Verbrauchers sowie des Schlachthofpersonals vor Krankheitserregern, Verunreinigungen, Arzneimittelrückständen und Verschmutzungen. Das Lebensmittel soll die Gesundheit nicht nachteilig beeinflussen. Ein ausgereiftes Eigenkontrollsystem mit entsprechender Dokumentation ist für die Bekämpfung von Krankheitserregern (z.B. Chlamydien) unentbehrlich. Nur so können evtl. vorhandene Schwachstellen, z.B. bei der Reinigung und Desinfektion, erkannt und beseitigt werden, was eine Erregerverbreitung und -Vermehrung verhindert. In der GFIHV (siehe 2.4.2) sind alle durchzuführenden Eigenkontrollen und ihre Dokumentationspflicht festgelegt. Um Hygiene leben zu können, muss eine konsequente Betriebsstruktur und -Organisation sowie ein ausgereiftes Betriebsmanagement vorhanden sein.

2.4.9.2 Durchsetzung von Hygiene in Geflügelschlachtereien

2.4.9.2.1 Betriebshygiene

In der GFIHV ist festgelegt, dass ein Schlachtraum mit abgesonderten Bereichen für das Betäuben, Entbluten, Brühen und Rupfen vorhanden sein muss. Ebenso müssen Räumlichkeiten für das Ausnehmen, Zurichten, Sortieren, Verpacken, Kühlen, Gefrieren sowie separate Plätze zum Abstellen der Reinigungsmittel und Geräte existieren. Ein verschließbarer Raum für untaugliches Geflügel, sowie ein gekühlter Raum für vorläufig beschlagnahmtes Geflügel muss ebenfalls vorhanden sein. Die

Beschaffenheit der Räumlichkeiten wie Raumhöhe, Licht, Klimatisierung (Luftkeimzahlen, Gerüche, relative Feuchte, Luftgeschwindigkeit, Temperaturen), Ventilation, Entnebelung (so wenig Dampfenstehung und Kondenswasser wie möglich) und Luftzug muss den Anforderungen der GFIHV entsprechen. Die Luftzirkulation sollte so geregelt werden, dass kein Luftzug und Staub vom „Unreinen“ in den „Reinen Bereich“ gelangt, um eine Keimverschleppung zu vermeiden. Die Oberflächen müssen glatt, leicht zu reinigen und zu desinfizieren sein. Es soll zu keinen Kreuzungen (Kreuzkontamination) im Produktionsfluss kommen. Geeignete Schutzvorrichtungen gegen Ungeziefer (Fliegengitter an den Fenstern) müssen vorhanden sein (FRIES, 2001). Geräte und Einrichtungsgegenstände müssen funktionstüchtig, ständig sauber, in einwandfreiem Zustand und leicht zu reinigen und zu desinfizieren sein (FRIES, 2001).

2.4.9.2.2 Betriebsmanagement/Hygienebeauftragter

Um Hygieneanforderungen einzuhalten, organisieren, dokumentieren, sichern und überprüfen zu können, ist die Ernennung eines Hygienebeauftragten sinnvoll (FRIES, 2001). Die Tabelle 16 gibt eine Übersicht über die Bereiche, die von Hygienebeauftragten bei der Betriebskontrolle berücksichtigt werden müssen.

Tabelle 16: Zu berücksichtigende Bereiche in der Hygienekontrolle (nach FRIES, 2001).

Bereich	Kontrolle
Räume	<ul style="list-style-type: none"> - Bauliche Anforderungen - Liste und Widmung der Räume (Rein-Unrein) - Belüftung und Klimatisierung - Hygieneinstallationen - Aktuelle Sauberkeit
Geräte	<ul style="list-style-type: none"> - Anzahl und Anordnung der Geräte - Vorgaben und Einsatz der Geräte (Nutzung, Handhabung, Wartung, Inspektion) - Aktuelle Sauberkeit

Bereich	Kontrolle
Personal	<ul style="list-style-type: none"> - Persönliche Faktoren - Gesundheitszustand - Erfolgte Gesundheitskontrollen - Fortbildung/Weiterbildung - Persönliches Verhalten im Betrieb - Schutzkleidung (Erhaltungszustand, Wechsel, Reinigung, Unterbringung) - Betriebsbedingte Faktoren (Arbeitsgänge pro Person, Verantwortlichkeiten)
Ablauf des Produktionsprozesses	<ul style="list-style-type: none"> - Vorliegen klarer Anweisungen - Technische Daten im Ablauf - Ausgewogenheit von Produkt, Raum, Gerät, Personal (Betriebskapazität)
Nachsorge/ Nebenlinien	<ul style="list-style-type: none"> - Abfall: Zwischenlagerung, Entsorgung - Geräte und Flächen: Reinigung und Desinfektion - Wartung/Inspektion/Instandsetzung (wer, wie, Frequenzen) - Pläne zur Reinigung und Desinfektion (Mittel, Zeitaufwand, Frequenzen, Nachsorge an den Geräten, Verantwortlichkeiten, Techniken)
Stoffe zur Bearbeitung	<ul style="list-style-type: none"> - Herkunft der Tiere, Anlieferer - Eingangskontrolle (ggf. nach vorliegenden Vereinbarungen) - Zeitpunkt der Anlieferung - Lagerungsbedingungen für das Erzeugnis

2.4.9.2.3 Hygiene des Personals

Die Einhaltung und Kontrolle der persönlichen Hygiene ist von großer Bedeutung. Es müssen die Grundregeln der persönlichen Hygiene eingehalten werden. Diese sind z.B. saubere und unlackierte Fingernägel, kein Schmuck, Einmalhandschuhe und Rauchverbot in allen Produktionsräumen. Es darf nicht gegessen oder Kaugummi

gekaut werden. Die Hände sind bei Bedarf, mehrmals täglich, sowie nach jeder Toilettenbenutzung zu reinigen und zu desinfizieren (FRIES, 2001). Dem Personal muss immer saubere Kleidung zur Verfügung stehen, welche nicht zweckentfremdet werden darf. Sie muss leicht waschbar, sauber und hell sein. Die Schutzkleidung besteht aus Kittel, Schürze, Kopfbedeckung, Handschuhen und Stiefel. Das Personal muss angehalten werden, diese täglich zu wechseln. Die Einhaltung der persönlichen Hygiene dient dem Schutz des Personals vor Zoonosen (Chlamydien) aber auch dem Produktschutz.

2.5 Reinigung und Desinfektion in Geflügelschlachtereien

2.5.1 Hygiene- oder Reinigungsplan

In der GFIHV sind die vom Betrieb durchzuführenden Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen und die dazugehörige Dokumentationspflicht beschrieben. Schlachtereien sollten über Reinigungs- und Desinfektionsmittelpäne verfügen. Es sollten mindestens folgende Punkte berücksichtigt sein und regelmäßig vom Hygienebeauftragten oder einer anderen ernannten Person überprüft werden (WEBER, 1996; SCHÜTT-ABRAHAM, 1997).

Reinigung und Desinfektion (Reinigungsplan)

- Verantwortlichkeit für die Durchführung der Reinigung und Desinfektion
- Auflistung, was gereinigt und desinfiziert werden muss und zu welchem Zeitpunkt dies zu geschehen hat (auch wo Ausrüstungsgegenstände wie Behälter, Arbeitsgeräte (Messer) oder Schürzen gereinigt werden)
- Benutzung eines geeigneten Mittels sowie Einhaltung der korrekten Konzentration, Anwendungszeit und Anwendungsdruck für Reinigungs- und Desinfektionsmittel
- Anwendung einer korrekten Reinigungsmethode
- optische Hygienekontrollen
- Mikrobiologische Erfolgsüberprüfung der Reinigung und Desinfektion (Probeentnahmepläne, Probeentnahmestellen, Probeentnahme, Untersuchungs-

bericht, Befunddarstellung). Dokumentationen über die Häufigkeit der mikrobiologischen Reinigungskontrollen

- Sicherheitsdatenblätter zu den verwendeten Chemikalien

Personalhygiene

Prozesskontrollen

Bekämpfung von Nagetieren, Schädlingen und Insekten

Verschmutzungen entstehen aus Produktionsrückständen. Sie können in Organische, wie z.B. Proteine (Fleisch, Fisch, Milch), Fette (tierisch und pflanzlich), Kohlenhydrate (Cellulose, Zucker, Stärke), Tannine und in Anorganische Verschmutzungen wie Calcium- und Magnesiumcarbonate sowie sulfate (Wasserhärte), Calciumphosphate und Eisenoxide (Rost) eingeteilt werden (WEBER, 1996).

2.5.2 Reinigung und Reinigungsmittel

„Reinigung ist die möglichst vollständige, langdauernde Trennung von mindestens zwei Substanzen, die physikalisch miteinander verbunden aneinander haften“ (BÖHM, 2002). Bei der Reinigung sollen Produktionsrückstände, Ablagerungen und sonstige Verunreinigungen entfernt werden, wodurch vorhandenen Mikroorganismen der Nährboden entzogen wird. Eine einwandfreie Reinigung ist die Voraussetzung für den Erfolg der anschließenden Desinfektion (WEBER, 1996; BÖHM, 2002). Die Reinigungswirkung hängt von Reinigungsmittel, Temperatur und Druck ab. Diese stellen die drei wichtigsten Faktoren der Reinigung dar. Es gibt viele Einflussfaktoren, die das Ergebnis der Reinigung beeinflussen können. So ist der Zustand der zu reinigenden Oberfläche und die Anlagenkonstruktion (Anlagenparameter) von Bedeutung. Eine Rolle spielen Anfangsschmutzmenge, Art und Zustand des Schmutzbelages und die Schmutzbelastung der Reinigungslösung (Systemparameter). Zu beachten sind Art und Konzentration des Reinigungsmittels, Temperatur und mechanischer Effekt (Betriebsparameter) (BÖHM, 2002).

2.5.2.1 Reinigungsmittel

„Reinigungsmittel müssen Eiweiße anquellen und ablösen, Fette emulgieren und partiell verseifen, Salzbildung verhüten, in Lösung gebrachte Verunreinigungen in Schwebelösung halten, anorganische Verunreinigungen dispergieren oder lösen, Oberflächen gut benetzen sowie nicht korrodierend und umweltfreundlich sein“ (MEYER, 1996). Die meisten kommerziell erhältlichen Reinigungsmittel sind Mischungen aus verschiedenen Chemikalien. Man unterscheidet saure, alkalische und neutrale Reinigungsmittel. Die Tabelle 17 gibt eine Übersicht über die Wirkungen der verschiedenen Reinigungskomponenten.

Saure Reinigungsmittel

Sie bestehen aus organischen und anorganischen Säuren. Organische Säuren sind z.B. Zitronensäure, Gluconsäure, Weinsäure und Sulfaminsäure. Als anorganische Säuren werden Salzsäure, Phosphorsäure, Salpetersäure oder Schwefelsäure eingesetzt. Durch die Säureanwendung werden Salze in eine lösliche Form überführt, welches aber korrosiv auf Metalle wirken kann (BÖHM, 2002). Anionische und nichtionische Tenside, Entschäumer und Korrosionsinhibitoren (hochmolekulare Alkohole, Aldehyde, Amine oder Amide, Sulfonsäuren usw.) können zusätzlich im Reinigungsmittel enthalten sein. Saure Reinigungsmittel sind vor allem zur Entfernung von schwerlöslichen Salzen und niedermolekularen Kohlenhydraten, welche einen Nährboden für Mikroorganismen bilden, geeignet (WEBER, 1996; BÖHM, 2002).

Alkalische Reinigungsmittel

Durch Lösen, Emulgieren, Suspendieren und Verseifen wird eine Reinigungswirkung hervorgerufen. Alkalische Reinigungsmittel enthalten Alkalien wie z.B. Natriumcarbonat (Soda), Natriumhydrogencarbonat, Natriumhydroxid, Ammoniumhydroxid und Silikate. Meist werden konfektionierte Reinigungsmittel angewendet. Diese können zusätzlich Neutralsalze (Natriumsulfat, Natriumchlorid usw.), Komplexbildner (EDTA, Natriumcitrat, Natriumgluconat usw.), oxidative Reinigungsverstärker, Korrosionsinhibitoren, Tenside, Schauminhibitoren und Lösevermittler enthalten. Sie wirken sehr gut gegen eiweißhaltigen Schmutz und niedermolekulare Kohlenhydrate. Aufgrund dieser Eigenschaften werden alkalische

Reinigungsmittel sehr oft in fleischverarbeitenden und -gewinnenden Betrieben eingesetzt (WEBER, 1996; BÖHM, 2002).

Neutrale Reinigungsmittel

Die Reinigungskraft der neutralen Reinigungsmittel ist geringer als die der sauren und alkalischen, sie sind jedoch flächenschonender (BONGART, 1988; OUZOUNIS et al., 1992). Sie stellen eine Mischung aus Tensiden (anionisch, kationisch, amphoter, nichtionisch) mit Buildersubstanzen und eiweißspaltenden Enzymen dar. Neutrale Reinigungsmittel finden ihren Einsatz in der manuellen Reinigung bei geringem Verschmutzungsgrad, bei der Reinigung von empfindlichen, glatten gering verschmutzten Oberflächen. Die Reinigungskraft ist geringer als die der sauren und alkalischen Reinigungsmittel (BONGART, 1988; OUZOUNIS et al., 1992; BÖHM, 2002)

Tabelle 17: Wirkung von Reinigungskomponenten gegenüber Schmutzbestandteilen (nach ROSSNER, Henkel-Ecolab, aus WEBER, 1996).

	Alkalien	Säuren	Oxidantien	Tenside	Komplex- bildner
Proteine	+++	+	*	+	*
Fette	+	-	+++	+++	+
Niedermolekulare Kohlenhydrate	+++	+++	0	0	0
Hochmolekulare Kohlenhydrate	+	+	*	*	0
Salze	-	+++	0	0	++

Legende: +++ sehr gut; ++ gut; + geeignet; * in speziellen Fällen nützlich; - ungeeignet; 0 nicht erforderlich

2.5.2.2 Reinigungsvorgang

Es muss zwischen Nass- und Trockenreinigung unterschieden werden, wobei hier nur auf die Nassreinigung eingegangen werden soll. Der Reinigungsvorgang besteht aus mehreren Arbeitsschritten (WEBER, 1996; BÖHM, 2002) (Tab.18).

Tabelle 18: Typische Arbeitsschritte bei Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen (WEBER, 1996; BÖHM, 2002).

1.	Vorbereiten des Raumes auf die Reinigungsmaßnahmen, d.h. entfernen des Produktes sowie der nicht benötigten Einrichtungsgegenstände und Geräte
2.	Sorgfältiges Vorspülen mit warmem Wasser (50 °C bis 60 °C) zur Entfernung des groben Schmutzes
3.	Anlösen und Quellen der Schmutzschicht mit warmem Wasser (50 °C bis 60 °C), mit oder ohne Anwendung von Reinigungsmitteln oder Reinigungshilfsstoffen
4.	Entfernung des zuvor aufgeweichten oder vorgeweichten Schmutzes mittels einer auf 60 °C bis 80 °C erwärmten Reinigungslösung oder kaltem Wasser. Hier kommen Spezialgeräte, z.B. Druck- oder Dampfgeräte, zum Einsatz
5.	Spülen mit warmem klarem Wasser zur Entfernung der Reinigungslösung und der Schmutzreste
6.	Kontrollieren auf optische Sauberkeit
7.	Durch Lufttrocknung, Heißlufttrocknung oder Erwärmung der gereinigten Flächen werden Wasserreste entfernt
8.	Desinfizieren (Festlegung des Desinfektionsmittels, Einhaltung der Konzentration)
9.	Nachspülen mit Trinkwasser (Entfernung von Desinfektionsmittelresten)

2.5.3 Desinfektion und Desinfektionsmittel

„Die Desinfektion ist die Inaktivierung aller pathogenen Keime und eines weiten Bereiches produktschädlicher Mikroorganismen auf ein Niveau, das den jeweiligen hygienischen Erfordernissen entspricht. Dabei darf das Lebensmittel nicht negativ beeinflusst werden“ (WEBER, 1996).

2.5.3.1 Physikalische Verfahren

Thermische Desinfektion

Die thermische Desinfektion stellt das zuverlässigste Verfahren zur Abtötung von Mikroorganismen dar. Es wird zwischen trockener und feuchter Hitze unterschieden. Voraussetzung ist jedoch eine Hitzeverträglichkeit des zu behandelnden Materials (BÖHM, 2002).

- **Feuchte Hitze**

Mit Heißwasser (mind. 82 °C) können kleinere Arbeitsgeräte (z.B. Messer) durch komplettes Eintauchen gut desinfiziert werden. Die Anwendung von Wasserdampf eignet sich gut zum Desinfizieren von Anlagen. Wasserdampf und heißes Wasser sind bei gleicher Temperatur wirksamer als trockene Hitze, da der Wärmeinhalt größer ist. Wichtig ist, dass die Hitze tatsächlich die Mikroorganismen erreicht, was eine gründliche Reinigung voraussetzt (BÖHM, 2002).

- **Trockene Hitze**

Da trockene Luft ein schlechter Wärmeleiter ist, müssen hier höhere Temperaturen als bei Anwendung der feuchten Hitze erreicht werden. Die am häufigsten angewendeten Verfahren sind Heißluft, Ausglühen oder Abflammen (BÖHM, 2002).

UV-Bestrahlung

Bei ultravioletter Strahlung handelt es sich um kurzwellige, elektromagnetische Strahlen mit einer Wellenlänge von 180 bis 400 nm. Die Strahlung wirkt im Bereich von 210 bis 310 nm Wellenlänge mikrobizid. Die Wirksamkeit ist von der Dauer, Intensität und Wellenlängenbereich abhängig. Eine UV-Bestrahlung wird meist zur Keimreduktion von Oberflächen, Flüssigkeiten oder Luft angewandt. Problematisch ist, dass schon geringe Schmutzmengen oder Schmutzpartikel die Mikroorganismen vor der eintreffenden Strahlung schützen. Die geringe Eindringtiefe der UV-Strahlen ist ebenfalls von Nachteil (BÖHM, 2002).

Ionisierende Strahlung

Zu den ionisierenden Strahlen gehören elektromagnetische Wellen und Korpuskular- oder Elektronenstrahlen. Ionisierende Strahlen werden in Deutschland zur Desinfektion nicht eingesetzt (BÖHM, 2002).

Ultraschallwellen

Beim Ultraschall handelt es sich um Hochfrequenzschallwellen, welche in Flüssigkeiten mechanische Schäden bei Mikroorganismen hervorrufen. Eine Ultraschallbehandlung wird jedoch eher für die Gewinnung von Zellbestandteilen als für Desinfektionszwecke angewandt (BÖHM, 2002).

2.5.3.2 Chemische Desinfektion

Es gibt eine Vielzahl von chemischen Desinfektionsmitteln auf dem Markt. Die Wirkung der Substanzen kann durch viele Faktoren beeinflusst werden. Die Auftragemechanik (Sprühdruck), die Oberflächenbeschaffenheit (sie sollte glatt sein und geringen Strömungswiderstand aufweisen), vorhandene Verschmutzungen, die Temperatur (höhere Temperaturen führen generell zur besseren Wirksamkeit der Desinfektionsmittel), die Einwirkzeit (sie sollte nicht unterschritten werden), der pH-Wert (jede Substanz hat ihr pH Optimum) sowie die Konzentration (die angegebenen Konzentrationen sollten eingehalten werden) der Desinfektionsmittel haben Einfluss auf ihre Wirkung. Auch die Art, Resistenz und Zahl der Mikroorganismen spielen eine Rolle. Bei fleischverarbeitenden Betrieben hat es sich durchgesetzt basische und saure Mittel im Wechsel anzuwenden (4 x basisch, 1 x sauer oder 3 x basisch, 2 x sauer). Folgende Reinigungs- und Desinfektionsmittel können eingesetzt werden:

Aktivchlorpräparate

Sie bilden unterchlorige Säure worauf ihre mikrobizide Wirkung beruht. Diese dringt in die Bakterienzelle ein und führt zu Oxidationen. Aktivchlorpräparate haben ein breites Wirtsspektrum (Bakterien, Pilze, Viren), ihre Wirkung sinkt jedoch sehr rasch bei alkalischem und steigt mit fallendem pH-Wert. Sie zeigen auch bei niedrigen Temperaturen noch gute Desinfektionswirkungen (BÖHM, 2002).

Sauerstoffabspalter (Peroxide)

Es existieren eine ganze Reihe von Sauerstoffabspaltern, die wichtigsten sind jedoch Wasserstoffperoxid und Peressigsäure.

- **Wasserstoffperoxid** schädigt Mikroorganismen durch seine oxidative Wirkung irreversibel und tötet sie ab. Das Präparat hat ein breites Wirtsspektrum, es wird oft in der pharmazeutischen Industrie angewendet. Das pH-Optimum liegt im sauren Bereich.
- **Peressigsäure** ist ein starkes Oxidationsmittel, welches zu oxidativen Schädigungen der Zellwand und im Zellinneren von Mikroorganismen führt. Peressigsäure hat ebenfalls ein breites Wirtsspektrum (Bakterien, Viren, Phagen, Sporen) und hat auch bei Temperaturen bis +2 °C eine gute desinfizierende Wirkung. Die optimale Wirkung liegt im pH-Bereich zwischen 2,5 bis 4 (BÖHM, 2002).

Quaternäre Ammoniumverbindungen (QAV)

Sie wirken auf die Zellmembran von Mikroorganismen und führen zur Porenbildung in derselben. Die Folge hiervon sind Störungen des Zellmilieus wodurch die quaternären Ammoniumverbindungen in die Zelle eindringen und zur Denaturierung von Proteinen führen können. Sie sind geruchsneutral, farblos, praktisch atoxisch, hautverträglich, chemisch beständig, oberflächenaktiv und gut benetzend. Sie sind begrenzt viruzid und sporozid und töten gram-negative Bakterien im Vergleich zu gram-positiven Bakterien erst bei höheren Konzentrationen bzw. längeren Einwirkzeiten ab. Sie sind in einem pH-Bereich von schwachsaure bis mittelalkalisch einsetzbar. Ab einem pH-Wert von < 3 fehlt die desinfizierende Wirkung gänzlich. Höhere Temperaturen führen auch hier zur Wirkungssteigerung (BÖHM, 2002).

Amphotere Verbindungen

Amphotere Verbindungen sind hochmolekulare Aminosäuren, die ähnlich wie QAV's wirken allerdings zusätzlich tuberkulozid sind (BÖHM, 2002).

Jodophore

Jodophore haben oxidative Eigenschaften und sind auch bei niedrigen Temperaturen bakterizid, viruzid, sporozid und fungizid. Sie sind in einem pH-Bereich von 2,5 bis 4,0

einsetzbar. Ab einem pH-Wert von 7,0 nimmt ihre Wirkung deutlich ab. Sie werden hauptsächlich in der Medizin benutzt (BÖHM, 2002).

Aldehyde

Aldehyde werden in Kombinationen wie Formaldehyd und Glutaraldehyd eingesetzt. Sie haben ein breites Wirkungsspektrum (Bakterien, Viren, Schimmelpilze, Hefen) und sind wirksam bei einem schwach sauren bis neutralen pH-Wert. Da sie zu starken sensorischen Beeinträchtigungen führen und im Verdacht stehen kanzerogen zu sein, finden sie im Lebensmittelbereich keinen Einsatz (BÖHM, 2002). In Langzeit-Tierversuchen zur Kanzerogenität von Formaldehyd kam es bei Ratten bei einer Verabreichung von sehr hohen Dosen zur Entstehung von Plattenepithelkarzinomen. Bei Mäusen stieg die Tumorraten geringfügig an wohingegen bei Hamstern keine Tumore beobachtet wurden. Epidemiologische Studien bei formaldehyd-exponierten Menschen ergaben jedoch keinen Hinweis auf eine erhöhte Gesamttumorraten oder auch eine Erhöhung der Entstehung von einzelnen Tumorarten. Bei der großen Verbreitung und langen Erfahrung mit Formaldehyd wäre zu erwarten, dass sich ein bedeutendes zusätzliches Krebsrisiko bei Exposition empirisch belegen ließe (LINDACKERS, 1998).

Alkohole

Alkohole wirken erst in höheren Konzentrationen als andere Desinfektionsmittel. Sie werden zur Desinfektion kleinerer Geräte und zur Handdesinfektion eingesetzt. Zur Anwendung kommen meist Ethanol, Propanol und Isopropanol. Alkohole wirken nur gegen vegetative Bakterien. Diese werden nach 30 bis 60 Sekunden abgetötet (BÖHM, 2002).

Laugen

Laugen wirken in erster Linie durch ihren hohen pH-Wert, der die Zellwand der Bakterien zerstört. Zum Einsatz kommen Natronlauge, welches die stärkste bekannte Lauge ist, oder Calciumhydroxid (BÖHM, 2002).

Säuren

Säuren werden nur selten zu Desinfektionszwecken eingesetzt. Es werden meist organische Säuren wie Phenyllessigsäure, Essigsäure, Ameisensäure oder Propionsäure eingesetzt (BÖHM, 2002).

2.5.4 Reinigungs- und Desinfektionsverfahren bei Chlamydien

Werden Chlamydien in einem Betrieb nachgewiesen, ist es notwendig, ausreichende Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen zur Bekämpfung und Beseitigung des Erregers durchzuführen. Hierbei sollte wegen der Gefahr der aerogenen Übertragung unbedingt ein Atemschutz (FFP 3-Halbmaske) vom Personal getragen werden (KÄMPFER und WEIßENFELS, 1997; HAFEZ und BÖHM, 2002). Die Tabelle 19 gibt eine Übersicht über die durchzuführenden Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen:

Tabelle 19: Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen nach Vorgaben der Richtlinie über anzeigepflichtige Tierseuchen (nach HAFEZ und BÖHM (2002) aus BML 1993).

Psittakose/Ornithose		
Maßnahme	Durchführung	Desinfektionsmittel
Entwesung	erforderlich (Arthropoden und Schadnager)	
Vorläufige Desinfektion	erforderlich	Formalin: 3 % - 2h (1,11 % Formaldehyd) Handelsdesinfektionsmittel siehe Schlussdesinfektion
Laufende Desinfektion	erforderlich	Peressigsäure: 0,15 % - 1h (1 % einer 15 %igen Gleichgewichtspersessigsäure) Handelsdesinfektionsmittel siehe Schlussdesinfektion

Psittakose/Ornithose		
Maßnahme	Durchführung	Desinfektionsmittel
Schluss- desinfektion	Flächendesinfektion nach Reinigung	Formalin: 3 % - 2h (1,11 % Formaldehyd) Peressigsäure: 0,15 % - 1h (1 % einer 15 %igen Gleichgewichtspersessigsäure) Handelsdesinfektionsmittel auf der Basis von Aldehyden aus der DVG-Liste Spalte 4a, die mit einer Einwirkzeit von 2 h oder weniger gelistet sind
	Festmist	Vogelkot, Futterreste und Einstreu sind in festen Plastiksäcken zu sammeln und zweckmäßig in einer Müllverbrennungsanlage zu verbrennen Aufschwemmen in 3 % Formalinlösung (1,11 % Formaldehyd, Einwirkzeit 4 Tage, dann vergraben)

2.6 Chlamydiennachweise

2.6.1 Mögliche Proben zur Chlamydiendiagnostik

Für die Chlamydiendiagnostik gibt es viele Möglichkeiten der Probeentnahme. Es kann zwischen Tierproben und sonstigen Proben unterschieden werden.

2.6.1.1 Tierproben für die Chlamydiendiagnostik

Die Probeentnahme kann am toten oder lebenden Tier erfolgen.

2.6.1.1.1 Chlamydiendiagnostik am toten Tier

Meist steht eine relativ große Auswahl an Probenmaterial zur Verfügung. Gut geeignet sind Gewebeproben oder Organabstriche von (veränderten) Organen, wie z.B. Luftsäcke, Lunge, Milz, Perikard, Herz, Leber, Peritoneum oder Niere. Nasen- und Konjunktivalsekret, Blut, Exsudat aus dem Herzbeutel, Bauchhöhle oder Luftsäcken sowie Abklatschpräparate von anderen Organen sind ebenso geeignet (GRATZL und KÖHLER, 1968; PAGE et al., 1984; GRIMES und WYRICK, 1991; KRAUSS und SCHMEER, 1992; ROLLE und MAYR, 1993; ANDERSEN, 1996, 2000). Bei Abstrichen oder Abklatschproben sollten immer Zellen (z.B. Epithel- und Entzündungszellen) vorhanden sein, um den Erreger in den Zellen (Zelleinschlüsse) nachweisen zu können (KRAUSS und SCHMEER, 1992). Die hyperämische interstitielle Mucosa oder auch Coloninhalt können ebenfalls zur Chlamydiendiagnostik herangezogen werden (ANDERSEN et al., 1989). Die Anfertigung histologischer Schnitte von Leber, Milz, Lunge, Herzbeutel und Luftsäcken ist auch möglich (GRATZL und KÖHLER, 1968).

2.6.1.1.2 Chlamydiendiagnostik am lebenden Tier

Beim lebenden Tier eignen sich heparinisierte Blutproben, Abstriche (Tupferproben) von Nase, Rachen, Kloake, Konjunktiven oder Nasen- und Konjunktivalsekret sowie Peritonealflüssigkeit bei Aszites zur Chlamydiendiagnostik (PAGE et al., 1984; GRIMES und WYRICK, 1991; ROLLE und MAYR, 1993; ANDERSEN, 1996, 2000). Bei akuten Infektionen sind Konjunktival- und Rachentupfer, später Kloakentupfer geeignet (GERBERMANN, 1999). Kotproben (ca. 2 bis 5 g/Vogel), vor allem Sammelkotproben sind nur bedingt geeignet, da mit Verkeimung gerechnet werden muss (KALETA, 1997; GERBERMANN, 1999). Bei Abstrichen und/oder Abklatschproben sollten ebenfalls immer Zellen (z.B. Epithel- und Entzündungszellen) vorhanden sein (KRAUSS und SCHMEER, 1992). ANDERSEN (1996) gelang bei 87 experimentell infizierten Puten in 93,1 % der Chlamydiennachweis mittels Rachentupfern, in 77,0 % mittels Kloakentupfer. In diesem Fall ist der Rachentupfer die zuverlässigere Probe. Das Untersuchungsmaterial sollte dem Infektionsstatus der Tiere entsprechen.

2.6.1.2 Sonstiges geeignetes Probenmaterial für die Chlamydiendiagnostik

Neben der Untersuchung von Tierproben besteht die Möglichkeit, die Umgebung der Tiere auf eine vorhandene Chlamydien-Kontamination zu untersuchen. So können Käfige, Gegenstände, Oberflächen oder Räumlichkeiten (Transportkäfige, Ställe, Transport-LKW, Schlachthofgerätschaften, Zerlegemaschinen, Bratfertigmaschinen usw.), mit denen lebende Tiere oder tierische Produkte in Berührung gekommen sind, beprobt werden. Die Beprobung kann durch Ausstreichen bzw. Ausrollen eines Tupfers auf Oberflächen erfolgen. Auch gibt es die Möglichkeit in der Umgebungsluft nach luftgetragenen Mikroorganismen zu suchen. Diese luftgetragenen Mikroorganismen (z.B. Chlamydien) liegen als Bioaerosol in der Umgebungsluft vor. Aerosole bestehen aus in der Luft oder anderen gasförmigen Umgebungen fein verteiltem und suspendiertem Material, dessen Zusammensetzung variiert (FLECK, 2002). „Der Begriff Bioaerosol beschreibt ein Aerosol, das Partikel biologischen Ursprungs oder Aktivität enthält, die lebende Dinge durch infektiöse, allergisierende, toxische, pharmakologische oder andere Wirkungen beeinflussen können“ (FLECK, 2002). Die Luft dient nur als Transportmedium für Mikroorganismen. Sie können als vereinzelte Zellen, Aggregate, feste Partikel (z.B. Staub) oder Aerosole gebunden in der Umgebungsluft vorliegen. Es stehen eine ganze Reihe von Verfahren zur Verfügung, mit deren Hilfe luftgetragene Mikroorganismen gesammelt werden können. „Ihnen liegen unterschiedliche physikalische Funktionsprinzipien zugrunde: Sedimentation, Impaktion, Impingement, Filtration, Zentrifugation, Elektropräzipitation und Abscheidung durch Temperaturdifferenz (Thermopräzipitation)“ (KÄMPFER und WEIBENFELS, 1997; FLECK, 2002).

2.6.2 Möglichkeiten des Transportes von Chlamydien-Probenmaterial

Beim Versand ganzer Tiere sollten diese möglichst frisch tot und gut gekühlt, jedoch nicht eingefroren sein. Bei Abstrichen oder Abklatschproben sollten immer Zellen vorhanden sein. Entnommene Tupferproben müssen in Röhrchen mit Transportmedium überführt werden, welches die Infektiosität des Erregers erhält und für Zellkulturen nicht toxisch sein darf. Es muss soviel Transportmedium in dem Röhrchen sein, dass der Tupfer bedeckt wird und nicht austrocknen kann. Die Proben müssen immer gekühlt

(4 °C) versandt werden. In der älteren Literatur wurde ein Einfrieren der Proben bei –70 °C bis zu ihrer Verarbeitung empfohlen (GORDON et al., 1969; DAROUGAR et al., 1971). Das Einfrieren mit anschließendem Auftauen kann jedoch zu Infektiositätsverlusten von über 80 % führen und ist daher für eine Anzucht in der Zellkultur nicht geeignet (REEVE et al., 1975; SCHNEIDER, 1986). Als Transportmedien können Hirn-Herz-Bouillon, Saccharose-Phosphat-Lösung und Succrose-Phosphat-Lösung mit jeweils 10 % fetalem Kälberserum (pH 7,2, 4 °C) verwendet werden. Aber auch andere Nährmedien wie MEM (Minimum Essential Medium Eagle) oder BME (Basal Medium Eagle's) mit einem Zusatz von 6 % FKS finden als Transportmedien Verwendung (BOVARNICK et al., 1950; GYLSTORFF und GRIMM, 1998). Den Lösungen werden Antibiotika und Antimykotika zugesetzt (100 µg/ml Vancomycin und Streptomycin, 50 µg/ml Nystatin und Gentamycin sowie Amphotericin B), um eine Kontamination mit Fremdkeimen zu vermeiden (ANDERSEN et al., 1989). McELNEA und GROSS (1999) verwendeten als Transportmedium für ihre entnommenen Konjunktival- und Kloakentupfer PBS (Phosphate Buffered Saline). Diesem wurden zur Keimverminderung 200 µg/ml Streptomycin, 100 µg/ml Vancomycin, 50 µg/ml Gentamycin und 2,5 µg/ml Amphotericin B beigefügt. SCHNEIDER (1986) untersuchte mehrere Transportmedien bezüglich einer guten Konservierung der Infektiosität von *Chlamydophila* sp. bei Temperaturen von über 0 °C. Die in Transportmedium (TM: Saccharose-Phosphat-Puffer mit 10 % fetalem Kälberserum) und Hirn-Herz-Bouillon (BHB) gelagerten Chlamydien wurden nach seinen Untersuchungen besser konserviert als die in MEM (Minimum Essential Medium Eagle) und PBS aufbewahrten Chlamydien.

2.6.3 Verfahren zum Chlamydiennachweis

Seit einiger Zeit existieren sensitive molekularbiologische Nachweismethoden, die es ermöglichen, *Chlamydophila psittaci* von *Chlamydophila pneumoniae*, *Chlamydophila pecorum* und *Chlamydia trachomatis* zu unterscheiden. Trotzdem ist der Chlamydiennachweis schwierig und bereitet weiterhin Probleme, nicht zuletzt weil der Erreger sich obligat intrazellulär vermehrt und daher nur in lebenden Zellen angezüchtet werden kann. Hierzu ist ein speziell ausgerüstetes Zellzuchtlabor sowie ausgebildetes Personal von Nöten (SACHSE, 2002). Da die Erregerausscheidung intermittierend

verläuft, gibt ein einmalig negativer Erregernachweis keine Aussage über den tatsächlichen Infektionsstatus des Tieres. Es wird nur bestätigt, dass eine Erregerausscheidung momentan nicht erfolgt. Eine Chlamydien-Trägerschaft kann jedoch nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden (VANROMPAY et al., 1995). Zur sicheren Diagnosestellung sollte daher bei der Einzeltierdiagnostik der Erreger- und Antikörpernachweis erfolgen (GERBERMANN, 1999). Bei der Herdendiagnostik ist dieses Verfahren mit Sicherheit zu aufwendig und teuer. Erfolgte eine antimikrobielle Therapie der Vögel 2 bis 3 Wochen vor der Untersuchung, kann dies zu falsch-negativen Ergebnissen führen. Kontaminierte Proben, ungeeignetes Transportmedium, zu lange Transportzeiten und Überhitzung der Proben können ebenfalls zu falsch-negativen Ergebnissen führen (VANROMPAY et al., 1995). Die Nachweisverfahren kann man in direkte und indirekte Verfahren einteilen (GERBERMANN, 1995).

2.6.3.1 Direkte Nachweismethoden

Mittels direkter Nachweisverfahren wird der Erreger bzw. das Antigen direkt nachgewiesen.

2.6.3.1.1 Spezialfärbungen

Es können Organ- und Schleimhautabstriche sowie Abklatschproben oder Proben nach erfolgter Erregeranzüchtung in der Zellkultur mittels Spezialfärbungen untersucht werden. Eine Anzüchtung von aviären Chlamydien kann in Buffalo-Green-Monkey-Kidney-Zellkulturen (BGM), HeLa-Zellen, McCoy-Zellen, Vero-Zellen, L929-Zellen, Hühnerembryofibroblasten, Mäusemilzzellen etc. erfolgen (AHRENS und WEINGARTEN, 1981; PAGE und GRIMES, 1984; VANROMPAY et al., 1991). In BGM-Zellen wurden jedoch sehr gute Ergebnisse bei der Anzüchtung von *Chlamydophila psittaci* erzielt (VANROMPAY et al., 1992, 1992a, 1992b, 1993). Die Zellkulturen werden auf Deckgläschen in Lochplatten angezüchtet. Nach dem Verimpfen der Probe und erfolgter Inkubation für ca. 3 Tage werden die Deckgläschen mittels Spezialfärbung gefärbt. Die angefertigten Abstriche oder zellbewachsenen Deckgläschen müssen vor der Färbung fixiert werden. Dies kann durch Lufttrocknung, Hitzefixierung (dreimal kurz durch die Flamme des Bunsenbrenners ziehen), Methanol,

Ethanol, Aceton, (GRIMES und WYRICK, 1991) nach ZENKER oder BOUIN erfolgen (KRAUSS und SCHMEER, 1992). Anschließend werden die Proben gefärbt. Es stehen unterschiedliche Spezialfärbungen nach GIEMSA (1904), CASTANJEDA (1930), MACCHIAVELLO (1937), STAMP (1950) oder GIMÉNEZ (1964) zur Verfügung, wobei die STAMP- und GIMÉNEZ-Färbungen am gebräuchlichsten sind (KRAUSS und SCHMEER, 1992; ROLLE und MAYR, 1993; VANROMPAY et al., 1995; GYLSTORFF und GRIMM, 1998). Auch Fluoreszenzfärbungen wie Acridinorange, Patentphosphin, 4,6-Diamidino-2-phenylindol (DAPI) und Bisbenzimid (Hoechst 33342) finden Verwendung (KRAUSS und SCHMEER, 1992). Der Vorteil dieser Spezialfärbungen ist, dass sie meist einfach durchzuführen sind und einen geringen Zeitaufwand erfordern. Der Nachteil ist, dass diese Methoden oft nur von geringer Spezifität und Sensitivität sind und hier lediglich eine genusspezifische Diagnose gestellt werden kann (TADAY, 1998).

2.6.3.1.2 Direkte Immunfluoreszenz

Hierbei können Organ- und Schleimhautabstriche sowie Abklatschproben oder Proben nach erfolgter Erregeranzüchtung in der Zellkultur zur Untersuchung kommen. Die angefertigten Abstriche oder zellbewachsenen Deckgläschen werden mit Aceton fixiert. Es stehen FITC-konjugierte monoklonale und polyklonale Antikörper zum Nachweis des Chlamydien-Antigens zur Verfügung, wobei meist monoklonale Antikörper verwendet werden. Dieser Test ist schnell anzuwenden und besitzt hohe Sensitivität und Spezifität (SATALOWICH et al., 1994). Der Chlamydiennachweis mittels Immunfluoreszenztest wird in der Literatur häufig beschrieben (PALMER et al., 1988; TIMMS et al., 1988; VANROMPAY et al., 1992, 1994b). TESSLER et al. (1979) befanden die Gegenfärbung mit Evansblau bei der Untersuchung von Luftsackabstrichen bei Puten mittels der Immunfluoreszenz als besonders gut geeignet. Bei Herzbeutelabstrichen erwies sich Naphthalin-Schwarz als besser kontrastierend. Dieses Testsystem wurde ursprünglich in der Humanmedizin zum Nachweis von *Chlamydia trachomatis* eingesetzt. Die Tests können jedoch auch für den Nachweis von Chlamydien bei Vögeln verwendet werden, wenn die verwendeten Antikörper gegen das genusspezifische Chlamydienantigen gerichtet sind (siehe 2.6.4.1).

2.6.3.1.3 Embryoniertes Hühnerei

FORTNER und PFAFFENBERG (1935) sowie BURNET und ROUNTREE (1935) gelang erstmals die Anzüchtung von *Chlamydophila psittaci* auf der Dottersackmembran eines embryonierten Hühnereis. Es werden 0,2 bis 0,5 ml/Embryo einer 20 %igen Probensuspension in den Dottersack eines 6 bis 7 Tage alten Hühnerembryos inokuliert (GRIMES et al., 1991). Die Innenseite der Chorioallantoismembran wird nach dem Absterben des Embryos bzw. nach 14 Tagen Bebrütung (wenn dieser nicht abstirbt) durch Anfärbung (siehe 2.6.3.1.1) auf den Erreger untersucht (ANDERSEN und TAPPE, 1989; KRAUSS und SCHMEER, 1992). Es können mehrere Blindpassagen notwendig werden.

2.6.3.1.4 Tierversuch

Früher war der Tierversuch in der Psittakosedidiagnostik vom Gesetzgeber vorgeschrieben. Heute ist dieser durch Zellkulturen ersetzt worden. Es wurden hauptsächlich 3 bis 4 Wochen alte Mäuse verwendet. Eine 20 %ige Probensuspension wurde intraperitoneal, intrazerebral oder intranasal inokuliert (GRIMES und WYRICK, 1991; SELBITZ, 1992). Als Versuchstiere können auch Meerschweinchen, Ratten, Affen, Hamster, Papageien, Reisvögel, Tauben und andere Versuchstiere verwendet werden (GRATZL und KÖHLER, 1968; STORZ, 1971). Der Einsatz von Tieren zur Chlamydiendiagnostik gilt heute als obsolet (ANDERSEN et al., 2000).

2.6.3.1.5 Antigen-ELISA

Der Enzyme-linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) dient zum Nachweis des Chlamydien-Antigens (VANROMPAY et al., 1994b; HAFEZ und STING, 1997). Es stehen kommerzielle Testkits zur Verfügung. Das Prinzip des Antigen-ELISA ist, dass markiertes und nicht markiertes Antigen um die Bindungsstelle einer begrenzten Menge spezifischer Antikörper konkurrieren. Vorteile dieses Verfahrens sind die einfache Handhabung und schnelle Untersuchung großer Probenzahlen durch die Automatisierung des Verfahrens. Der Antigen-ELISA kann jedoch wegen der diskontinuierlichen Erregerausscheidung der Vögel zu falsch-negativen Ergebnissen

führen (GERBERMANN und JANECEK, 1991). Weiterhin kann es durch Kreuzreaktionen mit Bakterien und Pilzen zu falsch-positiven Ergebnissen kommen (BOGNER et al., 1997).

2.6.3.1.6 Immunoassay

Die Firma Unipath brachte den Immunoassay für die Humanmedizin zum Direktnachweis von *Chlamydia trachomatis*-Antigen aus endozervikalen Abstrichen auf den Markt. Der Test kann jedoch auch in der Veterinärmedizin eingesetzt werden (FISCHER, 1992; GERBERMANN und BIENDL, 1992). Es sind nicht alle Proben wie z.B. Kloakentupfer, Organ- und Kotproben für diesen Test geeignet. Hier kann es zu falsch-positiven Ergebnissen kommen (FISCHER, 1992; GERBERMANN und BIENDL, 1992).

2.6.3.1.7 Elektronenmikroskop

Auch mittels Elektronenmikroskop kann der Chlamydiennachweis erfolgen. Die Anwendung eines Negativkontrastverfahrens wird empfohlen (POPOV und MARTINOV, 1982; KRAUSS und SCHMEER, 1992; SÜSS et al., 1996).

2.6.3.1.8 Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR)

Der Erregernachweis mittels Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) gewinnt immer mehr an Bedeutung (HEWINSON et al., 1991, 1997; KALTENBOECK et al., 1997; MESSMER et al., 1997; MORONEY et al., 1998; OLSEN et al., 1998; YOSHIDA et al., 1998; EVERETT et al., 1999, 1999a; McELNEA und GROSS, 1999). Hierzu werden zwei Primer (kurze Oligonukleotide), die jeweils komplementär homolog zu dem [+] -Strang des einen Endes und zu dem [-] -Strang des anderen Endes der zu amplifizierenden DNA-Region sind, benötigt. Die Darstellung des amplifizierten DNA-Abschnittes kann mittels Agarose-Gel-Elektrophorese erfolgen (siehe 2.6.4.2).

2.6.3.2 Indirekte Nachweismethoden

2.6.3.2.1 Komplementbindungsreaktion (KBR)

Hierbei handelt es sich um einen weit verbreiteten Test zum Nachweis von Antikörpern, der erstmalig von BEDSON (1935) für die Chlamydiendiagnostik verwendet wurde. Die Antikörper werden durch Komplementbindung an den Antigen-Antikörper-Komplex nachgewiesen, wodurch eine Hämolyse verhindert wird. Die Testauswertung erfolgt also anhand der Hämolysehemmung. Bei der direkten KBR handelt es sich um eine relativ sensitive Methode zum Nachweis von Chlamydien-Antikörpern (GRIMES und WYRICK, 1991). Es werden IgM- und IgG-Antikörper nachgewiesen, wobei diese nicht zu differenzieren sind. Die Interpretation des Ergebnisses kann Schwierigkeiten bereiten (VANROMPAY et al., 1995). Es kann zu falsch-negativen oder wenig aussagekräftigen Ergebnissen kommen (SATALOWICH et al., 1994). Außerdem sind relativ hohe Antikörper-Titer notwendig (VANROMPAY et al., 1995). Die relativ hohe Störanfälligkeit der KBR kann durch ungeschultes Personal noch verstärkt werden. Es ist wichtig, dass dieser Test mit äußerster Sorgfalt von geschultem Personal durchgeführt wird (KRAUSS und SCHMEER, 1992).

Das Prinzip der indirekten KBR basiert auf der Hemmung der Komplementbindung (KARRER et al., 1950). Dieser Test konnte sich jedoch nicht durchsetzen. Die modifizierte direkte KBR hat den Vorteil gegenüber der direkten KBR, dass sie sensitiver reagiert (SATALOWICH et al., 1994). Die direkte KBR eignet sich bei Tauben und Psittaziden, die modifizierte KBR bei Hühnern, Puten, Gänsen und Enten zur Routinediagnostik (KRAUSS und SCHMEER, 1992).

2.6.3.2.2 Hämagglutinationshemmtest (HAH)

Dieser Test ist einfach durchzuführen, es werden hämagglutinationshemmende Antikörper nachgewiesen (FUKUSHI et al., 1985).

2.6.3.2.3 Agargelpräzipitationstest (AGP)

Dieser Test ist schnell und einfach durchführbar, hat jedoch eine geringe Sensitivität und konnte sich daher nicht durchsetzen (HAFEZ und STING, 1992).

2.6.3.2.4 Latex-Agglutinations-Test

Der Latex-Agglutinations-Test ist einfach und schnell anzuwenden, ist jedoch nicht besonders sensitiv. Falsch-negative Ergebnisse sind möglich. Dieser Test eignet sich zur Untersuchung großer Probenzahlen (GRIMES et al., 1991; MOORE et al., 1991; HAFEZ und STING, 1992; SATALOWICH et al., 1994).

2.6.3.2.5 Antikörper-ELISA

Der Antikörper-ELISA weist Serumantikörper nach (SATALOWICH et al., 1994). Er dient somit vor allem der Diagnose von subklinischen persistierenden Infektionen (GERBERMANN und JANECEK, 1991). Die kommerziell erhältlichen ELISA-Testkits zeigen in ihrer Spezifität jedoch Unterschiede und Unsicherheiten. Es kann zu falsch-positiven Befunden als Folge von Kreuzreaktionen kommen (WITTENBRINK, 1991; HAFEZ und STING, 1994; RYLL et al., 1994b; VANROMPAY et al., 1995). RYLL et al. (1994b) schlagen vor, Ergebnisse zusätzlich mit einem *Chlamydomphila psittaci*-Antigennachweis abzusichern. Die Sensitivität ist relativ hoch, unter Verwendung von monoklonalen Antikörpern kann eine Differenzierung zwischen IgM und IgG erfolgen.

2.6.3.2.6 Indirekter Immunfluoreszenztest

Dieser Test wurde bisher in der Humanmedizin zur Chlamydiendiagnostik (*Chlamydia trachomatis*) eingesetzt und gilt als sensitives und spezifisches Verfahren. Mit dieser Methode werden IgG-, IgM- und IgA-Antikörper bestimmt.

2.6.4 Angewandte Nachweismethoden

2.6.4.1 Erregeranzüchtung in der BGM-Zellkultur mit anschließender direkter Immunfluoreszenz

Der direkte Immunfluoreszenztest (IFT) stellt ein sensitives und spezifisches Verfahren dar. Andere Färbemethoden wie z.B. Giménez, Giemsa oder Stamp wurden fast vollständig durch den IFT ersetzt. Zum Nachweis des genusspezifischen Chlamydien-Antigens stehen von mehreren Herstellern kommerzielle Testsysteme zur Verfügung. Die Firma Medac benutzt einen Fluorescein-Iso-Thio-Cyanat-(FITC) gebundenen, monoklonalen Antikörper. Alle Chlamydienarten besitzen ein gemeinsames, gattungsspezifisches Lipopolysaccharid (LPS), worauf auch das Testprinzip beruht. Der in dem Farbstoff enthaltene fluoreszenzmarkierte monoklonale Antikörper gegen *Chlamydomphila* sp. bindet spezifisch an das LPS-Antigen. Nachfolgende Waschvorgänge entfernen die überschüssigen Antikörper. Die Chlamydien sind dann apfelgrün fluoreszierend im Fluoreszenzmikroskop darstellbar. Heute sind meist monoklonale Antikörper in Gebrauch (ANDERSEN, 1991, 2000). Ein Vorteil der direkten Immunfluoreszenz ist, dass der Erreger nicht mehr vermehrungsfähig sein muss, da das Chlamydienantigen nachgewiesen wird. Außerdem ist der Test schnell durchzuführen. Nachteile dieser Methode sind die geringe Haltbarkeit der gefärbten Proben (Fluoreszenz lässt nach) und das zwingende Vorhandensein eines Fluoreszenzmikroskops (BERNDT, 2000). Außerdem können evtl. entstehende unspezifische Fluoreszenzen durch subjektive Fehlbewertungen zu falsch-positiven oder falsch-negativen Ergebnissen führen. Daher muss ein erfahrener Untersucher verfügbar sein. Ein Vorteil der Anzüchtung in Zellkulturen ist, dass bei geringer, aber vermehrungsfähiger Erregeranzahl diese vor der Färbung vermehrt werden können (UNKRIG, 1995). Durch die Anzüchtung des Erregers in der Zellkultur und evtl. erfolgter Passagierung, kann jedoch ein nicht mehr vermehrungsfähiger Erreger so weit verdünnt/reduziert werden, dass der Test nicht mehr positiv ausfällt (unter Nachweisgrenze). Die inokulierten Zellkulturen sind in gleichmäßigen Abständen z.B. am dritten oder am sechsten Tag zu färben, damit eine Regelmäßigkeit gegeben ist (SACHSE und HOTZEL, 2000).

Die Idee, Chlamydien in Zellkulturen (Mäusemilzen, Hühnerembryofibroblasten) heranzuzüchten, ist alt (BLAND und CANTI, 1935). Erste Erfolge ließen jedoch auf sich warten. Erst mit der Technik die Erregersuspension auf die Zellkultur „aufzuzentrifugieren“ wurden erste Erfolge erzielt (WEISS und DRESSLER, 1960; GORDON und QUAN, 1965). Je nach Autor wurde der Erreger mit 200 bis 3000 x g auf die Zellkultur „aufzentrifugiert“, wodurch bis zu 100-fach bessere Isolierungsergebnisse erzielt wurden (GORDON et al., 1960; WEISS und DRESSLER, 1960; MEISSLER, 1980; ARENS und WEINGARTEN, 1981; FINLAYSON et al., 1985). Durch die Zentrifugation wurde eine bessere Aufnahme des Erregers in die Wirtszellen erzielt.

Es gibt mehrere Theorien, worauf die erhöhte Aufnahme beruht. ALLAN und PEARCE (1979) vertraten die Ansicht, dass durch die während des Zentrifugierens auftretende Zentrifugalkraft die Konfiguration der Zellmembran und des Zytoskeletts verändert wird und die Membranrezeptoren durch die Sedimentation von intrazellulären Substanzen beeinflusst werden (ALLAN und PEARCE, 1979). Nach der Ansicht von WARD und MURRAY (1984) werden durch die Zentrifugation elektrostatische Barrieren überwunden, wodurch sich die Kontakte zwischen Elementarkörperchen und Zellmembran erhöhen. Durch die Bestrahlung von Zellen (McCoy, G-Stahlen) vor der Aussaat wurde erreicht, dass sich die Zellen bei ungestörter Kernteilung nicht mehr teilten, was zur Entstehung von multinukleären Riesenzellen führte. Hier konnten sich die Chlamydien sehr gut vermehren und Zelleinschlüsse waren deutlich sichtbar (GORDON und QUAN, 1965; GORDON et al., 1972). Die Bestrahlung der Zellen in Kombination mit dem Aufzentrifugieren (1000 bis 3000 x g) und einer Temperatur von 37 °C wurde zur Chlamydiendiagnostik eingesetzt (KRAUSS und SCHMEER, 1992).

Auch Zusätze von chemischen Substanzen wurden beschrieben und haben sich inzwischen durchgesetzt. Durch die Zugabe derselben wird die Nukleinsäure- und Proteinbiosynthese der eukaryontischen Wirtszellen gehemmt, was die Zellteilung zum Stillstand bringt. Dadurch steigt das Nährstoffangebot für die Chlamydien. Die Zellen können durch Hemmung der Zellteilung nicht weiterwachsen, dadurch wird ein „zu dick werden“ des Zellrasens vermieden (ALEXANDER, 1968, 1969; RIPA und MÅRDT, 1977; EVANS und TAYLOR-ROBINSON, 1979; UNKRIG, 1995). Als Substanzen werden Cytochalasin B (SOMPOLINSKY und RICHMOND, 1974; GREGORY et al., 1979), Cycloheximid (Actidion[®]) (ALEXANDER, 1968) oder

Ioddesoxyuridin (WENTWORTH und ALEXANDER, 1974) verwendet. Cycloheximid (Actidion[®]), ein Glutarimid-Antibiotikum, wird heute am häufigsten eingesetzt. Eine Behandlung der Zellen mit DEAE-Dextran soll durch eine Brückenbildung zwischen der negativ geladenen Membran und den Chlamydien zu einer besseren Adsorption führen (HARRISON, 1970). PAUL (1982) behandelte McCoy-Zellen mit Emitin, bevor er diese mit Chlamydien infizierte. Eine Behandlung der Zellen mit Glucocorticoiden, erhöht laut RØNSHOLT (1981) die Anzahl der Einschlüsse und die spontane Reinfektionen von Zellen.

Es gibt eine ganze Reihe von verschiedenartigen Zellkulturen, die sich für die Chlamydiendiagnostik eignen. Zur Routinediagnostik werden heute vor allem Zellen eingesetzt, die sich leicht vermehren lassen, wie z.B. permanente Standard-Zelllinien. Buffalo-Green-Monkey-Kidney-Zellen (BGM) (Nierenzellen der afrikanischen grünen Meerkatze) (MEISSLER, 1980; ARENS und WEINGARTEN, 1981) und BHK21-Zellen (Baby-Hamsterzelllinie) (BLYTH und TAVERNE, 1974) sind sehr empfänglich für Chlamydien. Weiterhin sind auch L-929-Zellen (Mäusefibroblasten) (PEREZ-MARTINEZ und STORZ, 1985), McCoy-Zellen und HeLa-Zellen (Humanes Zervixkarzinom) zur Chlamydienanzucht geeignet (MEISSLER, 1980; HUHN, 1991). Heute werden zur Chlamydiendiagnostik meist BGM- (VANROMPAY et al., 1992, 1992b, 1993; HENTSCHKE, 2000) oder McCoy-Zellen (*Chlamydia trachomatis*) verwendet. Dem Erhaltungsmedium werden 1 bis 2 µg Cycloheximid/ml Medium beigegeben. Die Proben werden bei einer Temperatur von 35 bis 37 °C „aufzentrifugiert“ (MEISSLER und KRAUS, 1980; ARENS und WEINGARTEN, 1981). Die permanenten Zellkulturen können auf Deckgläschen (Ø 12 mm) in zentrifugierbaren Röhrchen mit flachem Boden wachsen, hierauf wird als Nährmedium je Röhrchen 1 ml Minimum Essential Medium Eagle mit 5 % fetalem Kälberserum gegeben (KRAUSS und SCHMEER, 1992). Alternativ können Zellen jedoch auch auf Deckgläschen (Ø 12 mm) in 24-Lochplatten herangezüchtet werden. Diese Methode hat den Vorteil, dass 24 Proben in einem Arbeitsschritt zu bearbeiten sind. Ein Problem bei der Erregeranzüchtung in Zellkulturen stellt der Keimgehalt des Probenmaterials dar. Dem Transportmedium sowie dem Anzüchtungsmedium werden üblicherweise Antibiotika und Antimykotika zur Unterdrückung der Begleitkeimflora beigegeben. Die eingesetzten Antibiotika und Antimykotika dürfen die Vermehrung der Chlamydien nicht hemmen. Es können Streptomycin (1 mg/ml), Vancomycin (1 mg/ml), Kanamycin

(1 mg/ml), Gentamycin (200 µg/ml) und Amphotericin B (50 µg/ml) eingesetzt werden (ANDERSEN, 2000). Eine weitere Möglichkeit zur Beseitigung der Begleitkeimflora ist eine fraktionierten Zentrifugation (500 bis 2000 x g, 20 min) der Probe, die unter Umständen mehrmals wiederholt werden muss. Die Chlamydien bleiben hierbei in Suspension während die meisten Begleitbakterien sedimentieren (KRAUSS und SCHMEER, 1992). HENNING und STING (1999) beschreiben eine Filtrationsmethode zur Isolierung von Chlamydien. Da Chlamydien sehr kleine Erreger sind, kann die Filtrationsmethode gut eingesetzt werden. Die Zellen einer Zellkultur werden zwecks Freisetzung der Chlamydien lysiert. Dies kann durch Gefriertauen der Zellen oder durch Lyse mittels deionisierendem Wasser geschehen. Anschließend werden die Zelltrümmer mit Hilfe eines 5 µm Filters entfernt. Die entstandene Suspension wird nun durch einen 0,45 µm Filter gepresst um die Begleitkeimflora zu beseitigen und anschließend wieder auf Zellkulturen verimpft (HENNING und STING, 1999).

2.6.4.2 Polymerase-Ketten-Reaktion mit anschließender Restriktionsenzymanalyse

2.6.4.2.1 Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR)

Die Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) ist ein in vitro Verfahren zur Amplifikation (Vermehrung) von Nukleinsäurebereichen definierter Länge und Sequenz aus einem Gemisch von Nukleinsäure-Molekülen. Um dies zu erreichen, verwendet man DNA-Polymerasen, welche die Eigenschaft haben, einen Einzelstrang zu einem Doppelstrang aufpolymerisieren zu können, sofern ihnen Primer zur Verfügung stehen.

„Nach der Denaturierung der Doppelstränge durch Hitze in Einzelstränge können zwei chemisch synthetisierte Primer (Oligonukleotide), die im Überschuss zu den Nukleinsäuren, welche die zu amplifizierende Sequenz enthalten, zugegeben worden sind, reagieren. Es bilden sich Hybridmoleküle zwischen jeweils einem Strang der zu amplifizierenden DNA und dem zu diesem Strang passenden Oligonukleotid aus“ (IBELGAUFTS, 1993). An den Punkten, wo die Oligonukleotide sitzen, ist der Einzelstrang doppelsträngig. Dieser doppelsträngige Bereich ist der Startpunkt für die Polymerase. Die Polymerase führt nun dazu, dass der Einzelstrang durch Ansetzen der zuvor zugegebenen Nukleotide (dNTP's) zu einem Doppelstrang synthetisiert wird. Die

entstandenen Doppelstränge werden durch Hitzezufuhr wieder in Einzelstränge zerlegt und der Vorgang beginnt von neuem. Bei jeder Reaktionsfolge werden die Ausgangsstränge exponentiell vermehrt. Das PCR-Produkt (Amplikon) kann mittels Agarose-Gel-Elektrophorese aufgetrennt werden. Nach Färbung des Gels mit Ethidiumbromid werden die amplifizierten DNA-Fragmente als Banden im UV-Licht sichtbar (IBELGAUFTS, 1993; HEWINSON et al., 1991).

Die **Taq-Polymerase** katalysiert die DNA-Synthese, indem sie die anwesenden Nukleotide komplementär zum DNA-Einzelstrang einbaut, wodurch ein Doppelstrang entsteht. Sie ist eine hitzestabile Polymerase aus dem thermophilen Bakterium *Thermus aquaticus* (Taq-Polymerase). Dieser Mikroorganismus wurde aus einer heißen Quelle des Yellowstone Nationalparks isoliert (SAIKI et al., 1988; NEWTON und GRAHAM, 1997). Die Taq-Polymerase hat ihre optimale Reaktionstemperatur bei 72 °C (70 °C bis 80 °C) und ist für kurze Zeit auch bei Temperaturen von 97 °C aktiv (NEWTON und GRAHAM, 1997; OHL und FÖRSTER, 2000). Bei ihrer optimalen Reaktionstemperatur synthetisiert die Taq-Polymerase DNA mit einer Geschwindigkeit von 35 bis 100 Nukleotide pro Sekunde. Sie gehört zu den hochprozessiven DNA-Polymerasen (NEWTON und GRAHAM, 1997). Vor einiger Zeit standen nur Polymerasen aus *Escherichia coli* zur Verfügung. Diese waren nicht thermostabil und mussten bei jedem PCR-Zyklus zugegeben werden. Heute muss das Enzym nur am Anfang zugegeben werden und ist über alle Zyklen aktiv. Die DNA-Synthese verläuft in 5'-3'-Richtung.

Primer sind kurze einzelsträngige Desoxyribonukleotide, die jeweils komplementär homolog zu dem [+] -Strang des einen Endes und zu dem [-] -Strang des anderen Endes der zu amplifizierenden DNA-Region sind. Die Primer für die PCR werden heute größtenteils synthetisch hergestellt. Sie haben meist eine Länge zwischen 17 und 30 Basen (OHL und FÖRSTER, 2000). Die freie 3'-Hydroxylgruppe des Primers dient als Startstelle für die Polymerisierung des gesamten Einzelstrangs zum Doppelstrang.

Bei den **Desoxynukleosidtriphosphaten (dNTP's)** handelt es sich um Desoxyadenosintriphosphat (dATP), Desoxythymidintriphosphat (dTTP), Desoxyguanosintriphosphat (dGTP) und Desoxycytidintriphosphat (dCTP). Die dNTP's binden an die freie 3'-Hydroxylgruppe des Primers und bilden so einen Komplementärstrang zu dem Matrizenstrang.

Ein **PCR-Zyklus** besteht aus drei Hauptreaktionsschritten: Denaturierung, Annealing und Elongation. Die Ausgangssubstanzen (DNA, dNTP, Primer, Polymerase, MgCl₂, Puffer) werden in ein PCR-Tube gegeben, wo sie während der Reaktionen verbleiben. Bei den meisten PCR's werden ca. 20 bis 30 Zyklen durchgeführt, die 1 bis 5 min dauern. Werden zu viele Zyklen durchgeführt, steigt die Anzahl unerwünschter Artefakte an ohne das mehr Ziel-DNA gebildet wird (NEWTON und GRAHAM, 1997). Die genaue Temperatur, Zyklenanzahl und Inkubationszeit ist jedoch von der zu vermehrenden DNA abhängig.

2.6.4.2.1.1 Reaktionsschritte

1. **Vollständige Denaturierung** der DNA. Hierbei werden bei einer Temperatur von 93 °C bis 96 °C die Doppelstränge in Einzelstränge getrennt.
2. **Annealing** der Primer an homologe Bereiche der Template-DNA. Durch das Abkühlen auf Temperaturen zwischen 50 °C bis 60 °C können sich die Primer an ihre komplementären DNA-Abschnitte anlagern.
3. **Elongation** (Primerextension) im Temperaturoptimum der Polymerase (72 °C) durch Nukleotidveresterung. Hierbei lagern sich an die Primer (in Anwesenheit der Taq-Polymerase) Desoxyribonukleotide an, wodurch neue Doppelstränge entstehen. Bei dieser Temperatur synthetisiert die Taq-Polymerase DNA mit einer Geschwindigkeit von 35 bis 100 Nukleotiden pro Sekunde (NEWTON und GRAHAM, 1997; SIEMERS, 1999).

2.6.4.2.1.2 Mastermix

Zur Herstellung des Mastermixes sollte ein gesonderter, DNA-freier Raum, zur Verfügung stehen. Der Mastermix setzt sich aus folgenden Komponenten zusammen:

- Desoxyribonukleotide (dNTP's): Es werden vier dNTP's zu gleichen Anteilen eingesetzt: dATP, dTTP, dGTP und dCTP.
- Primer: Es werden mindestens 2 Primer eingesetzt. Sie sollten eine Länge zwischen 17 bis 30 Nukleotide haben (MBI FERMENTAS, 2000; OHL und FÖRSTER, 2000).

- PCR-Puffer: Ist die $MgCl_2$ -Konzentration des Puffers nicht ausreichend, muss noch $MgCl_2$ zugegeben werden.
- $MgCl_2$: Mg_2^+ -Ionen bilden mit dNTP's, den Primern und der Template-DNA Komplexe. Die optimale $MgCl_2$ -Konzentration muss für jede PCR herausgefunden werden. Zu wenig Mg_2^+ -Ionen führen zu einer niedrigen Zahl an PCR Produkten, zu viele Mg_2^+ -Ionen führen zu unspezifischen Produkten. Die $MgCl_2$ -Konzentration sollte zwischen 1 bis 4 mM betragen (NEWTON und GRAHAM, 1997; MBI FERMENTAS, 2000).
- Taq-Polymerase: Es sollten 2 bis 3U Taq-Polymerase je 100 μ l Reaktionsansatz zugegeben werden (MBI FERMENTAS, 2000).
- Ziel-DNA (Template-DNA): Es sollte nicht mehr als 0,1 bis 1 μ g genomische DNA bei einem Ansatz von 100 μ l beigefügt werden, da sich sonst die Anzahl der unspezifischen Produkte erhöht (MBI FERMENTAS, 2000).

2.6.4.2.1.3 PCR in der Chlamydiendiagnostik

Die Zahl der Veröffentlichungen über Nachweise von Chlamydien mittels PCR steigt stetig an (HEWINSON et al., 1991, 1997; KALTENBOECK et al., 1991, 1992, 1997; MESSMER et al., 1997; MORONEY et al., 1998; OLSEN et al., 1998; YOSHIDA et al., 1998; EVERETT et al., 1999, 1999a; McELNEA and CROSS, 1999). YOSHIDA et al. (1998) entwickelten eine Kombination von PCR und Restriktionsenzymanalyse. Hierbei wird mittels PCR zuerst ein genusspezifischer *ompI*-Genabschnitt amplifiziert. Es entsteht ein Amplifikat in der Größe von 245 bis 259 Basenpaaren (bp). Dieses wird mit den Restriktionsenzymen Alu I und Pvu II verdaut. Das Restriktionsmuster, welches beim Verdau der Amplifikate mit den Restriktionsenzymen entsteht, gibt Aufschluss über die Spezies (YOSHIDA et al., 1998).

Chlamydiennachweise können durch Detektion des *ompI*-Genlokus (früher *ompA*) (KALTENBOECK et al., 1997; HEWINSON et al., 1997; OLSEN et al., 1998; YOSHIDA et al., 1998), des *ompB*-Gens (McELNEA and CROSS, 1999), der 16S-rRNA (MESSMER et al., 1997; MORONEY et al., 1998) sowie den 16S- und 23S-rRNA-Genen (EVERETT et al., 1999, 1999a) geführt werden. EVERETT und ANDERSON (1997) fanden heraus, dass die Spacerregion zwischen den 16S- und 23S-

rRNA-Genen eine ausreichend hohe Diversität zwischen den Spezies besitzt, um sich für die Chlamydiendiagnostik zu eignen (EVERETT und ANDERSEN, 1997; SACHSE und HOTZEL, 2000).

2.6.4.2.2 Restriktionsenzymanalyse (REA)

Restriktionsenzyme sind bakterielle Enzyme und gehören zur Gruppe der Endonukleasen. Sie spalten Doppelstrang-Desoxyribonukleinsäuren durch Hydrolyse der Phosphodiester-Bindungen (IBELGAUFTS, 1993).

Es werden drei Klassen von Restriktionsenzymen unterschieden. Die Typ II-Restriktionsenzyme werden meistens in der Molekularbiologie benutzt. Sie spalten im Gegensatz zu den Enzymen vom Typ I oder III die DNA spezifisch innerhalb der Erkennungssequenz. Die Typ II-Restriktionsenzyme benötigen für diesen Vorgang lediglich Mg^{2+} -Ionen als Cofaktoren und kein energiereiches ATP. Bei ihnen sind die DNA-Bindungsstelle und Schnittstelle identisch. Die Erkennungssequenzen sind meist kurze Tetra-, Penta- oder Hexanukleotid-Sequenzen. „Bei der Spaltung von DNA durch Typ II-Enzyme entstehen entweder glatte DNA-Enden oder einander komplementäre, 5'- bzw. 3'-überhängende Enden“ (IBELGAUFTS, 1993). Die durch die Spaltung entstandenen Fragmente werden als Restriktionsfragmente bezeichnet. Die Effizienz der Restriktionsspaltung ist von den Reaktionsbedingungen abhängig. Für jedes Restriktionsenzym gibt es optimale Reaktionspuffer und Inkubationstemperaturen. Die Inkubation findet meist im Wasserbad statt.

Da in der Zwischenzeit eine große Anzahl unterschiedlicher Restriktionsendonukleasen auf dem Markt sind, hat man sich auf eine einheitliche Nomenklatur geeinigt. Jedes Enzym bekommt einen bestimmten Buchstabencode, der sich aus der Bakterienspezies ableitet, aus der dieses Enzym isoliert wurde. So z.B. wurde Eco RI aus *Escherichia coli* isoliert.

Ein typischer Reaktionsansatz kann sich folgendermaßen zusammensetzen:

1. 5-8 μ l PCR-Produkt (DNA-Lösung)
2. 1 μ l 10-fach konzentrierter Reaktionspuffer
3. 0,8 - 1 μ l Restriktionsenzym (5 U/ μ l)
4. 3,0 – 0,2 μ l Aqua bidest.

Die Restriktionsenzymanalyse kann im Anschluss an eine PCR mit der amplifizierten DNA durchgeführt werden. Hierbei werden die Amplifikate in vitro mit Hilfe von spezifischen Restriktionsenzymen in definierte DNA-Bruchstücke zerlegt, die anschließend in der Agarose-Gel-Elektrophorese aufgetrennt und dargestellt werden können. Die Durchführung der Restriktionsenzymanalyse kann zur Speziesdifferenzierung der positiven PCR-Produkte dienen.

2.7 Methodenvergleiche

Die PCR ist ein sehr sensibles und schnelles Verfahren. McELNEA und GROSS (1999) verglichen in einer Studie die Sensitivität von Zellkulturen (Färbung: Giménez) mit der PCR. Als permanente Zellkulturlinie wurden BGM-Zellen verwendet. Die angewendete PCR detektierte das *ompB*-Gen. Die Primer Sequenzen waren 5'CAAACATCATCAGACGAG3' und 5'CTTCTTTAAGAGGTTTTACCC3'. Die Sensitivität der Zellkulturmethode, gemessen an der PCR, betrug 68 %. Mit der PCR waren mehr Chlamydiennachweise möglich. Alle in der Zellkultur positiven Proben, waren dies ebenfalls in der PCR. Keine der Proben war in der Zellkultur positiv und mittels PCR negativ. McELNEA und GROSS (1999) kamen zu der Schlussfolgerung, dass die PCR eine sensitivere Methode als die Zellkultur darstellt. UNKRIG (1993) verglich die BGM-Zellkultur und die direkte Immunfluoreszenz miteinander. Bei der Zellkulturmethode wurden BGM-Zellen verwendet und diese nach Giménez gefärbt. UNKRIG (1993) kam zu folgenden Ergebnissen:

In der Zellkultur waren 14,17 % der Puten- und 21,67 % der Hühnerproben *Chlamydomphila* sp.-positiv. Mittels direkter Immunfluoreszenz waren 13,33 % der Putenproben, 28,33 % der Hühnerproben und mittels erweiterter Immunfluoreszenz 17,50 % der Puten- und 33,33 % der Hühnerproben *Chlamydomphila* sp.-positiv. Somit ist deutlich sichtbar, dass die erweiterte Immunfluoreszenz die meisten positiven Ergebnisse erbrachte.

VANROMPAY et al. (1992) verglichen die Sensitivität und Spezifität von verschiedenen Chlamydien-Nachweismethoden miteinander. Sie verglichen die modifizierte Giménez-Färbung mit der direkten Immunfluoreszenz. Auch wurde die Sensitivität von embryonierten Hühnereiern (6 Tage alt), BGM-Zellen, McCoy-Zellen

und Vero-Zellen für die Chlamydien-Isolation verglichen. Die direkte Immunfluoreszenz reagierte spezifischer als die modifizierte Giménez-Färbung. Die Übereinstimmung der Ergebnisse betrug 80 %. Für die Anzucht und Isolierung von Chlamydien waren BGM-Zellen am sensitivsten, gefolgt vom embryonierten Hühneri, den Vero-Zellen und den McCoy-Zellen. Ein entscheidender Nachteil aller Zellkulturmethoden ist der hohe Arbeitsaufwand und die langen Untersuchungszeiten. Die Zellkulturen sind außerdem anfällig für Kontaminationen durch Bakterien und Pilze. PETER und GRAEDE (2000) verglichen die Spezifität eines Chlamydien-Antigen-ELISA mit der Anzucht des Erregers in der BGM-Zellkultur und der PCR bei unterschiedlichen Tierarten (Rind, Schwein, Schaf, Geflügel). Beim Geflügel reagierte der Antigen-ELISA bei 19 Proben positiv, mittels BGM-Zellkulturmethode waren nur 12 Proben positiv. Mittels PCR gelang der Chlamydiennachweis bei 14 Proben.

3 Material und Methoden

3.1 Material

3.1.1 Untersuchungsmaterial

Das Untersuchungsmaterial bestand aus Tupferproben (sterile Wattestäbe aus Holz mit großem Watte-Kopf) von Oberflächen, Arbeitsgeräten und Gegenständen aus unterschiedlichen Bereichen von Geflügelschlachtereien, mit dem das Betriebspersonal und die Tierkörper direkt und/oder indirekt in Kontakt kamen. Zusätzlich wurden Organproben, welche ausschließlich Milzen darstellten, entnommen. Zur Untersuchung kamen insgesamt 590 Tupfer- und 84 Milzproben.

3.1.2 Herkunft des Untersuchungsmaterials

Bei den untersuchten Proben handelte es sich um Tupfer- und Organproben aus vier EU-zugelassenen Geflügelschlachtereien, wobei es sich um zwei Masthähnchen- und zwei Putenschlachthöfe handelte.

Die Hähnchen (Broiler) -schlachtereie 1 (HS 1) lag freistehend außerhalb einer Ortschaft in Norddeutschland. Die Schlachtereie war direkt an eine Broilermästerei angegliedert, sodass lange Transportwege des Geflügels entfielen. Die Schlachtkapazität betrug ca. 80.000 Tiere/Tag. Es wurde an 5 Tagen/Woche geschlachtet. Eine Weiterverarbeitung (Zerlegung, Veredelung) erfolgte direkt nach der Schlachtung im selben Hause. Es waren ca. 142 Mitarbeiter unterschiedlicher Nationalitäten beschäftigt. Die Mitarbeiterzahl war konstant und deren Fluktuation niedrig. Das Schlachtgeflügel war ausschließlich deutscher Herkunft. Alle angelieferten Tiere waren von einer Gesundheitsbescheinigung begleitet. Die Mäster waren vertraglich an die Schlachtereie gebunden, daher wechselten diese selten.

Die Hähnchen (Broiler) -schlachterei 2 (HS 2) lag freistehend in einem Industriegebiet in Norddeutschland. Die Schlachtkapazität betrug ca. 240.000 Tiere/Tag. Es wurde an 5 Tagen/Woche geschlachtet. Eine Weiterverarbeitung (Zerlegung, Veredelung) erfolgte direkt nach der Schlachtung im selben Hause. Es waren 350 Mitarbeiter unterschiedlicher Nationalitäten beschäftigt. Die durchschnittliche Beschäftigungsdauer betrug ca. ein Jahr. Das Schlachtgeflügel war ausschließlich deutscher Herkunft. Alle angelieferten Tiere waren von einer Gesundheitsbescheinigung begleitet. Die Mäster waren vertraglich an die Schlachtere

Die Putenschlachterei 1 (PS 1) lag freistehend am Rande eines Industriegebietes in Norddeutschland. Die Schlachtkapazität betrug ca. 20.000 Tiere/Tag. Es wurde an 5 Tagen/Woche geschlachtet. Eine Weiterverarbeitung (Zerlegung, Veredelung) erfolgte direkt nach der Schlachtung im selben Hause. Es waren 350 Mitarbeiter unterschiedlichster Nationalitäten beschäftigt. Die Mitarbeiterzahl war konstant und deren Fluktuation niedrig. Die Herkunft des Schlachtgeflügels war zu 98 % aus Deutschland und zu 2 % aus den Niederlanden. Alle angelieferten Tiere waren von einer Gesundheitsbescheinigung begleitet. Die Schlachtung erfolgte nicht getrennt nach der Herkunft (Deutschland/Niederlande). Die Mäster waren vertraglich an die Schlachtere

Die Putenschlachterei 2 (PS 2) lag freistehend außerhalb einer Ortschaft in Norddeutschland. Die Schlachtkapazität betrug ca. 27.000 Tiere/Tag. Es wurde an 5 Tagen/Woche geschlachtet. In diesem Betrieb erfolgte nur die Schlachtung. Die Zerlegung erfolgte in anderen Betrieben. Es waren ca. 100 Mitarbeiter unterschiedlicher Nationalitäten beschäftigt. Die Mitarbeiterzahl war konstant und deren Fluktuation niedrig. Die Herkunft des Schlachtgeflügels war zu 80 % aus Deutschland und zu 20 % aus anderen europäischen Mitgliedsstaaten. Alle angelieferten Tiere waren von einer Gesundheitsbescheinigung begleitet. Die Schlachtung erfolgte nicht getrennt nach der Herkunft (Deutschland/sonstige europäische Mitgliedsstaaten). Da es sich bei diesem Betrieb um eine Lohnschlachte

3.1.3 Anzahl der Besuche zur Probeentnahme

Je Schlachtereie wurden 3 Probeentnahmen durchgeführt. Diese fanden an folgenden Terminen statt:

1. Probeentnahme: 21.03.01 bis 22.03.01
2. Probeentnahme: 17.05.01 bis 18.05.01
3. Probeentnahme: 19.11.01 bis 20.11.01

Die genaue Herkunft (Farmen) der Schlachttiere zum Zeitpunkt der Probeentnahmen war unbekannt.

3.1.4 Probeentnahmeorte

Es wurden Tupferproben von Oberflächen, Arbeitsgeräten, Gegenständen, Wänden, Decken, Trägern, Durchgängen usw. entnommen. Die Entnahme erfolgte lt. Untersuchungsauftrag der BGFA Berufsgenossenschaftliches Forschungsinstitut für Arbeitsmedizin an der Ruhr-Universität Bochum in 5 unterschiedlichen Betriebsbereichen, wobei je Bereich mehrere Proben entnommen wurden. Die Probeentnahme fand während der Produktion (in der Mitte des Arbeitstages) statt. Folgende Betriebsbereiche wurden lt. Untersuchungsauftrag beprobt:

1. Ort des Einhängens
2. Ort des Entblutens
3. Zerlegungsbereich
4. Verpackungsbereich
5. Büroräume

In diesen Betriebsbereichen wurden i.d.R. jeweils vier Tupferproben (je Betriebsbereich) von Oberflächen, Gegenständen, Arbeitsgeräten usw. und vier Tupferproben (je Betriebsbereich) von Wänden, Decken, Trägern und Durchgängen entnommen. Zusätzlich wurden noch weitere Orte (z.B. Bratfertig, Arbeitsgeräte) sowie Organe beprobt. Die genauen Probeentnahmeorte in den vier Schlachtereien werden in den Tabellen 20 bis 23 beschrieben.

Tabelle 20: Hähnchen (Broiler) -schlachtereie 1 (HS 1)

Hier wurden dreimalig an nachfolgend genau beschriebenen Stellen die Proben entnommen.

1. Pr.	2. u. 3. Pr.	Betriebsbereich	Probeentnahmeort (Durchführung der Probeentnahme)
2A	1A	Verpackungsbereich	Kalibrierfach Tierkörper (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen, Gewebswasser aufnehmen)
2B	1B	Verpackungsbereich	Kalibrierfach Tierkörper (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen, Gewebswasser aufnehmen)
2C	1C	Verpackungsbereich	Abwurfach Schenkel (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen, Gewebswasser aufnehmen)
2D	1D	Verpackungsbereich	Abwurfach Schenkel (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen, Gewebswasser aufnehmen)
4A	2A	Verpackungsbereich	Rollband zum Transport der E1 Kästen (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)
4B	2B	Verpackungsbereich	Rollband zum Transport der E1 Kästen (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)
4C	2C	Verpackungsbereich	Abwurfach Schenkel, Schutzblech über Kopfhöhe (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)
4D	2D	Verpackungsbereich	Abwurfach Schenkel, Schutzblech über Kopfhöhe (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)
1A	3A	Zerlegungsbereich	Brustkalibrierung, Transportband (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)
1B	3B	Zerlegungsbereich	Brustkalibrierung, Transportband (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)
1C	3C	Zerlegungsbereich	Filetierung, Schneidebrett 21.5 (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)
1D	3D	Zerlegungsbereich	Filetierung, Schneidebrett 21.3 (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)
3A	4A	Zerlegungsbereich	Brustkalibrierung, Decke (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Kondenswasser aufnehmen)
3B	4B	Zerlegungsbereich	Brustkalibrierung, Decke (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Kondenswasser aufnehmen)
3C	4C	Zerlegungsbereich	Filetraum, Decke (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Kondenswasser aufnehmen)
3D	4D	Zerlegungsbereich	Filetraum, Decke (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Kondenswasser aufnehmen)
5A	5A	Ort des Einhängens/Annahme	Haken zum Einhängen der Tiere (Tupfer anfeuchten und Haken betupfern, Federn und Staub aufnehmen)

1. Pr.	2. u. 3. Pr.	Betriebsbereich	Probeentnahmeort (Durchführung der Probeentnahme)
5B	5B	Ort des Einhängens/Annahme	Haken zum Einhängen der Tiere (Tupfer anfeuchten und Haken betupfern, Federn und Staub aufnehmen)
5C	5C	Ort des Einhängens/Annahme	Haken zum Einhängen der Tiere (Tupfer anfeuchten und Haken betupfern, Federn und Staub aufnehmen)
5D	5D	Ort des Einhängens/Annahme	Haken zum Einhängen der Tiere (Tupfer anfeuchten und Haken betupfern, Federn und Staub aufnehmen)
6A	6A	Ort des Einhängens/Annahme	Abluftrohr (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen, staubige Flächen mit Federresten)
6B	6B	Ort des Einhängens/Annahme	Ansaugöffnung (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen, staubige Flächen mit Federresten)
6C	6C	Ort des Einhängens/Annahme	Abluftrohr (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen, staubige Flächen mit Federresten)
6D	6D	Ort des Einhängens/Annahme	Abluftrohr (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen, staubige Flächen mit Federresten)
7A	7A	Ort des Entblutens (Blutwanne)	trockenen Tupfer direkt in die Blutwanne eintauchen
7B	7B	Ort des Entblutens (Blutwanne)	trockenen Tupfer direkt in die Blutwanne eintauchen
7C	7C	Ort des Entblutens (Blutwanne)	trockenen Tupfer direkt in die Blutwanne eintauchen
7D	7D	Ort des Entblutens (Blutwanne)	trockenen Tupfer direkt in die Blutwanne eintauchen
8A	8A	Ort des Entblutens (Umgebung Blutwanne)	Rohr/Rinne über der Blutwanne (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)
8B	8B	Ort des Entblutens (Umgebung Blutwanne)	Seitenträger direkt neben der Blutwanne (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)
8C	8C	Ort des Entblutens (Umgebung Blutwanne)	Seitenträger direkt neben der Blutwanne (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)
8D	8D	Ort des Entblutens (Rupfmaschine)	Außenfläche Rupfmaschine (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)
9A	9A	Büroräume (Produktionsbüro)	Türrahmen (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)
9B	9B	Büroräume (Produktionsbüro)	Zentralrechner (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)
9C	9C	Büroräume (Produktionsbüro)	Büroschrank (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)
9D	9D	Büroräume (Produktionsbüro)	Bildschirm (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)
Zusätzlich entnommene Proben in der Hähnenschlachtereier 1:			

1. Pr.	2. u. 3. Pr.	Betriebsbereich	Probeentnahmeort (Durchführung der Probeentnahme)
10A	10A	Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)
10B	10B	Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)
10C	10C	Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)
10D	10D	Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)
10E	10E	Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)
10F	10F	Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)
10G	10G	Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)
	11A	Transportkäfige	Transportkäfige mit Tieren (Tupfer anfeuchten und zwischen den Gitterstäben ausrollen)
	11B	Transportkäfige	Transportkäfige mit Tieren (Tupfer anfeuchten und zwischen den Gitterstäben ausrollen)
	12A	Konfiskate (Sonstige)	Außenseite der Tonne (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)
	12B	Konfiskate (Sonstige)	Außenseite der Tonne (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)
	13A	Kloakenschneider (Bratfertig/ Eviszerationsbereich)	Oberfläche der Maschine (Gewebswasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)
	13B	Kloakenschneider (Bratfertig/ Eviszerationsbereich)	Oberfläche der Maschine (Gewebswasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)
	14A	Lebersepariersystem (Bratfertig/ Eviszerationsbereich)	Transportband der Maschine (Gewebswasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)
	14B	Lebersepariersystem (Bratfertig/ Eviszerationsbereich)	Transportband der Maschine (Gewebswasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)
	15A	Innereientrennung (Bratfertig/ Eviszerationsbereich)	Transportschnecke der Maschine (Gewebswasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf der Schnecke ausrollen)
	15B	Innereientrennung (Bratfertig/ Eviszerationsbereich)	Transportschnecke der Maschine (Gewebswasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf der Schnecke ausrollen)

1. Pr.	2. u. 3. Pr.	Betriebsbereich	Probeentnahmeort (Durchführung der Probeentnahme)
	16A	Innereienwäscher Leber (Bratfertig/ Eviszerationsbereich)	trockenen Tupfer in die Flüssigkeit eintauchen
	16B	Innereienwäscher Leber (Bratfertig/ Eviszerationsbereich)	trockenen Tupfer in die Flüssigkeit eintauchen
	17A	Lungensauger (Bratfertig/ Eviszerationsbereich)	Oberfläche der Maschine (Gewebswasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)
	17B	Lungensauger (Bratfertig/ Eviszerationsbereich)	Oberfläche der Maschine (Gewebswasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)
	18A	Kunststofftürgriffe (Sonstige)	Tür vom Verpackungsraum (weißer Bereich) zum Bratfertigungsraum (schwarzer Bereich), Weißer Bereich (Tupfer anfeuchten und auf Türgriff ausrollen)
	18B	Kunststofftürgriffe (Sonstige)	Tür vom Verpackungsraum (weißer Bereich) zum Bratfertigungsraum (schwarzer Bereich), Schwarzer Bereich (Tupfer anfeuchten und auf Türgriff ausrollen)
	19A	Gummihandschuhe (Abteilung: Filetierung) (Arbeitsgeräte)	trockenen Tupfer auf Handfläche, besonders zwischen Daumen und Zeigefinger, ausrollen
	19B	Gummihandschuhe (Abteilung: Filetierung) (Arbeitsgeräte)	trockenen Tupfer auf Handfläche, besonders zwischen Daumen und Zeigefinger, ausrollen
	20A	Messer (Abteilung: Filetierung) (Arbeitsgeräte)	trockenen Tupfer am Übergang Griff/Schneide ausrollen
	20B	Messer (Abteilung: Filetierung) (Arbeitsgeräte)	trockenen Tupfer am Übergang Griff/Schneide ausrollen
	21A	Kunststoffschürzen (Abteilung: Bratfertig) (Arbeitsgeräte)	Schürzen in der Benutzung (trockenen Tupfer auf Schürze ausrollen)
	21B	Kunststoffschürzen (Abteilung: Bratfertig) (Arbeitsgeräte)	Schürzen in der Benutzung (trockenen Tupfer auf Schürze ausrollen)

Tabelle 21: Hähnchen (Broiler) -schlachtereier 2

Hier wurden dreimalig an nachfolgend genau beschriebenen Stellen die Proben entnommen.

1. Pr.	2. u. 3. Pr.	Betriebsbereich	Probeentnahmeort (Durchführung der Probeentnahme)
1A	1A	Verpackungsbereich	Arbeitsfläche Verpackung Tierkörper (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen, Gewebswasser aufnehmen)
1B	1B	Verpackungsbereich	Arbeitsfläche Verpackung Tierkörper (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen, Gewebswasser aufnehmen)
1C	1C	Verpackungsbereich	Arbeitsfläche Verpackung Tierkörper (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen, Gewebswasser aufnehmen)
1D	1D	Verpackungsbereich	Arbeitsfläche Verpackung Tierkörper (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen, Gewebswasser aufnehmen)
2A	2A	Verpackungsbereich	Außenfläche Abwurffach Schenkel (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen, Gewebswasser aufnehmen)
2B	2B	Verpackungsbereich	Außenfläche Abwurffach Schenkel (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen, Gewebswasser aufnehmen)
2C	2C	Verpackungsbereich	Transporthaken zur Beförderung der Verpackungskisten (Tupfer anfeuchten und Haken betupfern)
2D	2D	Verpackungsbereich	Transporthaken Tierkörper (Tupfer anfeuchten und Haken betupfern)
3A	3A	Zerlegungsbereich	Decke bzw. oberer Durchgangsrahmen Tür 1, Zerlegung Arbeitsfläche Brust (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Kondenswasser aufnehmen)
3B	3B	Zerlegungsbereich	Decke bzw. oberer Durchgangsrahmen Tür 1, Zerlegung Arbeitsfläche Brust (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Kondenswasser aufnehmen)
3C	3C	Zerlegungsbereich	Decke bzw. oberer Durchgangsrahmen Tür 2, Zerlegung (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Kondenswasser aufnehmen)
3D	3D	Zerlegungsbereich	Decke bzw. oberer Durchgangsrahmen Tür 2, Zerlegung (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Kondenswasser aufnehmen)
4A	4A	Zerlegungsbereich	Arbeitsfläche Brust (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Gewebswasser aufnehmen)
4B	4B	Zerlegungsbereich	Arbeitsfläche Schenkel (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Gewebswasser aufnehmen)

1. Pr.	2. u. 3. Pr.	Betriebsbereich	Probeentnahmeort (Durchführung der Probeentnahme)
4C	4C	Zerlegungsbereich	Arbeitsfläche Flügel II (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Gewebswasser aufnehmen)
4D	4D	Zerlegungsbereich	Arbeitsfläche Flügel I (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Gewebswasser aufnehmen)
5A	5A	Ort des Entblutens (Umgebung Blutwanne)	gekachelte Wand neben der Blutwanne (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Kondenswasser aufnehmen)
5D	5D	Ort des Entblutens (Umgebung Blutwanne)	gekachelte Wand neben der Blutwanne (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Kondenswasser aufnehmen)
5B	5B	Ort des Entblutens (Rupfmaschine)	Oberfläche der Maschine (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, nasse Flächen, gut wenn Federreste vorhanden sind)
5C	5C	Ort des Entblutens (Rupfmaschine)	Oberfläche der Maschine (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, nasse Flächen, gut wenn Federreste vorhanden sind)
6A	6A	Ort des Entblutens (Blutwanne)	trockenen Tupfer direkt in die Blutwanne eintauchen
6B	6B	Ort des Entblutens (Blutwanne)	trockenen Tupfer direkt in die Blutwanne eintauchen
6B	6B	Ort des Entblutens (Blutwanne)	trockenen Tupfer direkt in die Blutwanne eintauchen
6C	6C	Ort des Entblutens (Blutwanne)	trockenen Tupfer direkt in die Blutwanne eintauchen
7A	7A	Ort des Einhängens/Annahme	Entlüftungsschacht (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen, staubige Flächen mit Federresten)
7B	7B	Ort des Einhängens/Annahme	Entlüftungsschacht (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen, staubige Flächen mit Federresten)
7C	7C	Ort des Einhängens/Annahme	Seitenträger Haken (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen, staubige Flächen mit Federresten)
7D	7D	Ort des Einhängens/Annahme	Seitenträger Haken (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen, staubige Flächen mit Federresten)
8A	8A	Ort des Einhängens/Annahme	Haken zum Einhängen der Tiere (Tupfer anfeuchten und Haken betupfern, Federn und Staub aufnehmen)
8B	8B	Ort des Einhängens/Annahme	Haken zum Einhängen der Tiere (Tupfer anfeuchten und Haken betupfern, Federn und Staub aufnehmen)
8C	8C	Ort des Einhängens/Annahme	Haken zum Einhängen der Tiere (Tupfer anfeuchten und Haken betupfern, Federn und Staub aufnehmen)

1. Pr.	2. u. 3. Pr.	Betriebsbereich	Probeentnahmeort (Durchführung der Probeentnahme)
8D	8D	Ort des Einhängens/Annahme	Haken zum Einhängen der Tiere (Tupfer anfeuchten und Haken betupfern, Federn und Staub aufnehmen)
9A	9A	Büroräume (Produktionsbüro)	Schrank (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)
9B	9B	Büroräume (Produktionsbüro)	Zentralrechner (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)
9C	9C	Büroräume (Produktionsbüro)	Bildschirm (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)
9D	9D	Büroräume (Produktionsbüro)	Schaltpult (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)
Zusätzlich entnommene Proben in der Hähnchenschlachtereier 2:			
10A	10A	Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)
10B	10B	Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)
10C	10C	Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)
10D	10D	Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)
10E	10E	Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)
10F	10F	Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)
10G	10G	Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)
	11A	Transportkäfige	Transportkäfige mit Tieren (Tupfer anfeuchten und zwischen den Gitterstäben ausrollen)
	11B	Transportkäfige	Transportkäfige mit Tieren (Tupfer anfeuchten und zwischen den Gitterstäben ausrollen)
	12A	Konfiskate (Sonstige)	Außenseite der Tonne (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)
	12B	Konfiskate (Sonstige)	Außenseite der Tonne (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)
	13A	Innereienausnehmer (Bratfertig/ Eviszerationsbereich)	Oberfläche der Maschine (Gewebswasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)

1. Pr.	2. u. 3. Pr.	Betriebsbereich	Probeentnahmeort (Durchführung der Probeentnahme)
	13B	Innereienausnehmer (Bratfertig/ Eviszerationsbereich)	Oberfläche der Maschine (Gewebswasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)
	14A	Lebersepariersystem (Bratfertig/ Eviszerationsbereich)	Transportband der Maschine (Gewebswasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)
	14B	Lebersepariersystem (Bratfertig/ Eviszerationsbereich)	Transportband der Maschine (Gewebswasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)
	15A	Innereientrennung (Bratfertig/ Eviszerationsbereich)	Transportschnecke der Maschine (Gewebswasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf der Schnecke ausrollen)
	15B	Innereientrennung (Bratfertig/ Eviszerationsbereich)	Transportschnecke der Maschine (Gewebswasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf der Schnecke ausrollen)
	16A	Sterilisationsbecken (Sonstige)	trockenen Tupfer ins Becken eintauchen
	16B	Sterilisationsbecken (Sonstige)	Oberfläche des Beckens (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)
	17A	Lungensauger (Bratfertig/ Eviszerationsbereich)	Oberfläche der Maschine (Gewebswasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)
	17B	Lungensauger (Bratfertig/ Eviszerationsbereich)	Oberfläche der Maschine (Gewebswasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)
	18A	Kunststofftürgriffe (Sonstige)	Eingang Produktionsbüro (auf Produktionsseite) (Tupfer anfeuchten und auf Türgriff ausrollen)
	18B	Kunststofftürgriffe (Sonstige)	Eingang Produktionsbüro (auf Büroseite) (Tupfer anfeuchten und auf Türgriff ausrollen)
	19A	Kettenhandschuhe (Abteilung: Bratfertig) (Arbeitsgeräte)	trockenen Tupfer auf Handfläche, besonders zwischen Daumen und Zeigefinger, ausrollen
	19B	Kettenhandschuhe (Abteilung: Bratfertig) (Arbeitsgeräte)	trockenen Tupfer auf Handfläche, besonders zwischen Daumen und Zeigefinger, ausrollen
	20A	Messer (Abteilung: Bratfertig) (Arbeitsgeräte)	trockenen Tupfer am Übergang Griff/Schneide ausrollen
	20B	Messer (Abteilung: Bratfertig) (Arbeitsgeräte)	trockenen Tupfer am Übergang Griff/Schneide ausrollen
	21A	Kunststoffschürzen (Abteilung: Einhängen) (Arbeitsgeräte)	Schürzen in Benutzung (trockenen Tupfer auf Schürze ausrollen)
	21B	Kunststoffschürzen (Abteilung: Einhängen) (Arbeitsgeräte)	Schürzen in Benutzung (trockenen Tupfer auf Schürze ausrollen)

Tabelle 22: Putenschlachtereier 1 (PS 1)

Hier wurden dreimalig an nachfolgend genau beschriebenen Stellen die Proben entnommen.

1. Pr.	2. u. 3. Pr.	Betriebsbereich	Probeentnahmeort (Durchführung der Probeentnahme)
1A	1A	Verpackungsbereich (Verpackungsraum)	Auflagefläche Waage (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)
1B	1B	Verpackungsbereich (Verpackungsraum)	Auflagefläche Waage (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)
1C	1C	Verpackungsbereich (Verpackungsraum)	Arbeitsfläche (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)
1D	1D	Verpackungsbereich (Verpackungsraum)	Arbeitsfläche (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)
2A	2A	Verpackungsbereich (Kommissionierung Fleischveredelung)	Auflagefläche Waage (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)
2B	2B	Verpackungsbereich (Kommissionierung Fleischveredelung)	Arbeitsfläche (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)
2C	2C	Verpackungsbereich (Kommissionierung Fleischveredelung)	Durchgangsrahmen Tür (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Kondenswasser aufnehmen)
2D	2D	Verpackungsbereich (Kommissionierung Fleischveredelung)	Durchgangsrahmen Tür (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Kondenswasser aufnehmen)
3A	3A	Zerlegungsbereich	Arbeitsfläche Tierkörper (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Gewebswasser aufnehmen)
3B	3B	Zerlegungsbereich	Arbeitsfläche Flügel (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Gewebswasser aufnehmen)
3C	3C	Zerlegungsbereich	Arbeitsfläche Oberkeule (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Gewebswasser aufnehmen)
3D	3D	Zerlegungsbereich	Arbeitsfläche Brust (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Gewebswasser aufnehmen)
4A	4A	Zerlegungsbereich	Gestelle Rollband E1 Kisten (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)
4B	4B	Zerlegungsbereich	Gestelle Rollband E1 Kisten (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)
4C	4C	Zerlegungsbereich	Förderbäume (Transporthaken) Teilstücke (Tupfer anfeuchten und Haken betupfern)
4D	4D	Zerlegungsbereich	gekachelte Wand direkt neben den Förderbäumen (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Kondenswasser aufnehmen)
5A	5A	Ort des Entblutens (Blutwanne)	trockenen Tupfer direkt in die Blutwanne eintauchen

1. Pr.	2. u. 3. Pr.	Betriebsbereich	Probeentnahmeort (Durchführung der Probeentnahme)
5B	5B	Ort des Entblutens (Blutwanne)	trockenen Tupfer direkt in die Blutwanne eintauchen
5C	5C	Ort des Entblutens (Blutwanne)	trockenen Tupfer direkt in die Blutwanne eintauchen
5D	5D	Ort des Entblutens (Blutwanne)	trockenen Tupfer direkt in die Blutwanne eintauchen
6A	6A	Ort des Entblutens (Umgebung Blutwanne)	Seitenwand Blutwanne (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)
6B	6B	Ort des Entblutens (Umgebung Blutwanne)	Seitenwand Blutwanne (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)
6C	6C	Ort des Entblutens (Umgebung Blutwanne)	untere Wand Blutwanne (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)
6D	6D	Ort des Entblutens (Umgebung Blutwanne)	untere Wand Blutwanne (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)
7A	7A	Ort des Einhängens (Haken vor der Ständer- Säge)	Haken zum Einhängen der Tiere (Die Haken vor der Ständer-Säge waren mit Wasser abgespült. Ein anderer Ort war jedoch nicht zugänglich) (Tupfer anfeuchten und Haken betupfern)
7B	7B	Ort des Einhängens (Haken vor der Ständer- Säge)	Haken zum Einhängen der Tiere (Die Haken vor der Ständer-Säge waren mit Wasser abgespült. Ein anderer Ort war jedoch nicht zugänglich) (Tupfer anfeuchten und Haken betupfern)
7C	7C	Ort des Einhängens (Haken vor der Ständer- Säge)	Haken zum Einhängen der Tiere (Die Haken vor der Ständer-Säge waren mit Wasser abgespült. Ein anderer Ort war jedoch nicht zugänglich) (Tupfer anfeuchten und Haken betupfern)
7D	7D	Ort des Einhängens (Haken vor der Ständer- Säge)	Haken zum Einhängen der Tiere (Die Haken vor der Ständer-Säge waren mit Wasser abgespült. Ein anderer Ort war jedoch nicht zugänglich) (Tupfer anfeuchten und Haken betupfern)
8A	8A	Entfederungsanlage/ Rupfmaschine (Brühen & Rupfen)	Oberfläche der Maschine (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, nasse Flächen, gut wenn Federreste vorhanden sind)
8B	8B	Entfederungsanlage/ Rupfmaschine (Brühen & Rupfen)	Oberfläche der Maschine (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, nasse Flächen, gut wenn Federreste vorhanden sind)
8C	8C	Entfederungsanlage/ Rupfmaschine (Brühen & Rupfen)	Oberfläche der Maschine (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, nasse Flächen, gut wenn Federreste vorhanden sind)
8D	8D	Entfederungsanlage/ Rupfmaschine (Brühen & Rupfen)	Oberfläche der Maschine (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, nasse Flächen, gut wenn Federreste vorhanden sind)
9A	9A	Büroräume (Produktionsbüro unten)	Magnettafel (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)
9B	9B	Büroräume (Produktionsbüro unten)	Fensterrahmen (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)
9C	9C	Büroräume (Produktionsbüro oben)	Magnettafel (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)

1. Pr.	2. u. 3. Pr.	Betriebsbereich	Probeentnahmeort (Durchführung der Probeentnahme)
9D	9D	Bürräume (Produktionsbüro oben)	Fensterrahmen (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)
Zusätzlich entnommene Proben in der Putenschlachtereier 1:			
10A	10A	Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)
10B	10B	Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)
10C	10C	Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)
10D	10D	Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)
10E	10E	Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)
10F	10F	Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)
10G	10G	Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)
	11A	Transportkäfige	Transportkäfige mit Tieren (Tupfer anfeuchten und zwischen den Gitterstäben ausrollen)
	11B	Transportkäfige	Transportkäfige mit Tieren (Tupfer anfeuchten und zwischen den Gitterstäben ausrollen)
	12A	Konfiskate (Sonstige)	Außenseite der Tonne (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)
	12B	Konfiskate (Sonstige)	Außenseite der Tonne (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)
	13A	Kloakenschneider (Bratfertig/ Eviszerationsbereich)	Oberfläche der Maschine (Gewebswasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)
	13B	Kloakenschneider (Bratfertig/ Eviszerationsbereich)	Oberfläche der Maschine (Gewebswasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)
	14A (3. Pr.)	Bauchhöhlenschneider (Bratfertig/ Eviszerationsbereich)	Oberfläche der Maschine (Gewebswasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)
	14B (3. Pr.)	Bauchhöhlenschneider (Bratfertig/ Eviszerationsbereich)	Oberfläche der Maschine (Gewebswasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)

1. Pr.	2. u. 3. Pr.	Betriebsbereich	Probeentnahmeort (Durchführung der Probeentnahme)
	15A	Lungensauger (Bratfertig/ Eviszerationsbereich)	Oberfläche der Maschine (Gewebswasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)
	15B	Lungensauger (Bratfertig/ Eviszerationsbereich)	Oberfläche der Maschine (Gewebswasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)
	16A	Leberwäscher (Bratfertig/ Eviszerationsbereich)	trockenen Tupfer in die Flüssigkeit eintauchen
	16B	Leberwäscher (Bratfertig/ Eviszerationsbereich)	Transportband der Maschine (Gewebswasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)
	17A	Kunststofftürgriffe (Sonstige)	Produktionsbüro unten (Produktionsseite) (Tupfer anfeuchten und auf Türgriff ausrollen)
	17B	Kunststofftürgriffe (Sonstige)	Produktionsbüro unten (Büroseite) (Tupfer anfeuchten und auf Türgriff ausrollen)
	18A	Kettenhandschuhe (Abteilung: Zerlegung) (Arbeitsgeräte)	trockenen Tupfer auf Handfläche, besonders zwischen Daumen und Zeigefinger, ausrollen
	18B	Kettenhandschuhe (Abteilung: Zerlegung) (Arbeitsgeräte)	trockenen Tupfer auf Handfläche, besonders zwischen Daumen und Zeigefinger, ausrollen
	19A	Messer (Abteilung: Zerlegung) (Arbeitsgeräte)	trockenen Tupfer am Übergang Griff/Schneide ausrollen
	19B	Messer (Abteilung: Zerlegung) (Arbeitsgeräte)	trockenen Tupfer am Übergang Griff/Schneide ausrollen
	20A	Kunststoffschürzen (Abteilung: Zerlegung) (Arbeitsgeräte)	Schürzen in der Benutzung (trockenen Tupfer auf Schürze ausrollen)
	20B	Kunststoffschürzen (Abteilung: Zerlegung) (Arbeitsgeräte)	Schürzen in der Benutzung (trockenen Tupfer auf Schürze ausrollen)

Tabelle 23: Putenschlachtereie 2 (PS 2)

Hier wurden dreimalig an nachfolgend genau beschriebenen Stellen die Proben entnommen. Da in diesem Betrieb ausschließlich die Schlachtung erfolgte, konnte die Probeentnahme am „Ort der Zerlegung“ und „Ort der Verpackung“ nicht erfolgen. Hierfür wurden Ersatzproben entnommen.

1. Pr.	2. u. 3. Pr.	Betriebsbereich	Probeentnahmeort (Durchführung der Probeentnahme)
1A	1A	Ausnehmer (Bratfertig/ Eviszerationsbereich)	Tür 1 oberer Durchgangsrahmen (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Kondenswasser aufnehmen)
1B	1B	Ausnehmer (Bratfertig/ Eviszerationsbereich)	Tür 1 oberer Durchgangsrahmen (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Kondenswasser aufnehmen)
1C	1C	Ausnehmer (Bratfertig/ Eviszerationsbereich)	Tür 2 oberer Durchgangsrahmen (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Kondenswasser aufnehmen)
1D	1D	Ausnehmer (Bratfertig/ Eviszerationsbereich)	Tür 2 oberer Durchgangsrahmen (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Kondenswasser aufnehmen)
3A	2A	Ausnehmer/ Transportband (Bratfertig/ Eviszerationsbereich)	Transportband (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Gewebwasser aufnehmen)
3B	2B	Ausnehmer/ Transportband (Bratfertig/ Eviszerationsbereich)	Transportband (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Gewebwasser aufnehmen)
3C	2C	Ausnehmer/ Transportband (Bratfertig/ Eviszerationsbereich)	Transportband (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Gewebwasser aufnehmen)
3D	2D	Ausnehmer/ Transportband (Bratfertig/ Eviszerationsbereich)	Transportband (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Gewebwasser aufnehmen)
2A	3A	Lungensauger (Bratfertig/ Eviszerationsbereich)	Oberfläche der Maschine (Gewebwasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)
2B	3B	Lungensauger (Bratfertig/ Eviszerationsbereich)	Oberfläche der Maschine (Gewebwasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)
2C	3C	Lungensauger (Bratfertig/ Eviszerationsbereich)	Oberfläche der Maschine (Gewebwasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)
2D	3D	Lungensauger (Bratfertig/ Eviszerationsbereich)	Oberfläche der Maschine (Gewebwasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)

1. Pr.	2. u. 3. Pr.	Betriebsbereich	Probeentnahmeort (Durchführung der Probeentnahme)
4A	4A	Umhängerraum/ Transportband (Umhängerraum)	Transportband (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Gewebswasser aufnehmen)
4B	4B	Umhängerraum/ Transportband (Umhängerraum)	Transportband (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Gewebswasser aufnehmen)
4C	4C	Umhängerraum/ Transportband (Umhängerraum)	Transportband (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Gewebswasser aufnehmen)
4D	4D	Umhängerraum/ Transportband (Umhängerraum)	Transportband (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Gewebswasser aufnehmen)
7A	5A	Ort des Entblutens (Blutwanne)	trockenen Tupfer direkt in die Blutwanne eintauchen
7B	5B	Ort des Entblutens (Blutwanne)	trockenen Tupfer direkt in die Blutwanne eintauchen
7C	5C	Ort des Entblutens (Blutwanne)	trockenen Tupfer direkt in die Blutwanne eintauchen
7D	5D	Ort des Entblutens (Blutwanne)	trockenen Tupfer direkt in die Blutwanne eintauchen
8A	6A	Ort des Entblutens (Umgebung Blutwanne)	Tür direkt neben der Blutwanne (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Kondenswasser aufnehmen)
8B	6B	Ort des Entblutens (Umgebung Blutwanne)	Tür direkt neben der Blutwanne (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Kondenswasser aufnehmen)
8C	6C	Ort des Entblutens (Rupfmaschine)	Wand direkt neben der Rupfmaschine (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Kondenswasser aufnehmen)
8D	6D	Ort des Entblutens (Rupfmaschine)	Wand direkt neben der Rupfmaschine (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Kondenswasser aufnehmen)
6A	7A	Rupfmaschine (Brühen & Rupfen)	Oberfläche der Maschine (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, nasse Flächen, gut wenn Federreste vorhanden sind)
6B	7B	Rupfmaschine (Brühen & Rupfen)	Oberfläche der Maschine (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, nasse Flächen, gut wenn Federreste vorhanden sind)
6C	7C	Rupfmaschine (Brühen & Rupfen)	Oberfläche der Maschine (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, nasse Flächen, gut wenn Federreste vorhanden sind)
6D	7D	Rupfmaschine (Brühen & Rupfen)	Oberfläche der Maschine (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, nasse Flächen, gut wenn Federreste vorhanden sind)
5A	8A	Ort des Einhängens/Annahme	Haken zum Einhängen der Tiere (Tupfer anfeuchten und Haken betupfern, Federn und Staub aufnehmen)

1. Pr.	2. u. 3. Pr.	Betriebsbereich	Probeentnahmeort (Durchführung der Probeentnahme)
5B	8B	Ort des Einhängens/Annahme	Haken zum Einhängen der Tiere (Tupfer anfeuchten und Haken betupfern, Federn und Staub aufnehmen)
5C	8C	Ort des Einhängens/Annahme	Haken zum Einhängen der Tiere (Tupfer anfeuchten und Haken betupfern, Federn und Staub aufnehmen)
5D	8D	Ort des Einhängens/Annahme	Haken zum Einhängen der Tiere (Tupfer anfeuchten und Haken betupfern, Federn und Staub aufnehmen)
9A	9A	Büroräume (Produktionsbüro im Erdgeschoss)	Schrank 1 direkt an der Tür (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)
9B	9B	Büroräume (Produktionsbüro im Erdgeschoss)	Schrank 2 (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)
9C	9C	Büroräume (Produktionsbüro im Erdgeschoss)	Schlüsselschrank (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)
9D	9D	Büroräume (Produktionsbüro im Erdgeschoss)	Computer (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)
Zusätzlich entnommene Proben in der Putenschlachtereier 2:			
10A	10A	Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)
10B	10B	Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)
10C	10C	Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)
10D	10D	Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)
10E	10E	Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)
10F	10F	Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)
10G	10G	Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)
	11A	Transportkäfige	Transportkäfige mit Tieren (Tupfer anfeuchten und zwischen den Gitterstäben ausrollen)

1. Pr.	2. u. 3. Pr.	Betriebsbereich	Probeentnahmeort (Durchführung der Probeentnahme)
	11B	Transportkäfige	Transportkäfige mit Tieren (Tupfer anfeuchten und zwischen den Gitterstäben ausrollen)
	12A	Konfiskate (Sonstige)	Außenseite der Tonne (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)
	12B	Konfiskate (Sonstige)	Außenseite der Tonne (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)
	13A	Kettenhandschuhe (Abteilung: Bratfertig) (Arbeitsgeräte)	trockenen Tupfer auf Handfläche, besonders zwischen Daumen und Zeigefinger, ausrollen
	13B	Kettenhandschuhe (Abteilung: Bratfertig) (Arbeitsgeräte)	trockenen Tupfer auf Handfläche, besonders zwischen Daumen und Zeigefinger, ausrollen
	14A	Lebersepariersystem (Bratfertig/ Eviszerationsbereich)	Transportband der Maschine (Gewebswasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)
	14B	Lebersepariersystem (Bratfertig/ Eviszerationsbereich)	Transportband der Maschine (Gewebswasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)
	15A	Semi-automatische Innereien Trennung (Bratfertig/ Eviszerationsbereich)	trockenen Tupfer in die Flüssigkeit eintauchen
	15B	Semi-automatische Innereien Trennung (Bratfertig/ Eviszerationsbereich)	trockenen Tupfer in die Flüssigkeit eintauchen
	16A	Messer (Abteilung: Bratfertig) (Arbeitsgeräte)	trockenen Tupfer am Übergang Griff/Schneide ausrollen
	16B	Messer (Abteilung: Bratfertig) (Arbeitsgeräte)	trockenen Tupfer am Übergang Griff/Schneide ausrollen
	17A	Kunststofftürgriffe (Sonstige)	Eingang Produktion (Produktionsseite) (Tupfer anfeuchten und auf Türgriff ausrollen)
	17B	Kunststofftürgriffe (Sonstige)	Eingang Produktion (Außenseite) (Tupfer anfeuchten und auf Türgriff ausrollen)
	18A	Kunststoffschürzen (Abteilung: Bratfertig) (Arbeitsgeräte)	Schürzen in Benutzung (trockenen Tupfer auf Schürze ausrollen)
	18B	Kunststoffschürzen (Abteilung: Bratfertig) (Arbeitsgeräte)	Schürzen in Benutzung (trockenen Tupfer auf Schürze ausrollen)

3.1.5 Materialien und Medien zur Probeentnahme und Transport

3.1.5.1 Materialien zur Probeentnahme und zum Transport

- Sterile Holzstäbe (Ø 1,5 cm) mit großem Watte-Kopf (MEDKA, Berlin)
- Transportröhrchen 50 ml (Greiner, Nürtingen) mit 8 ml Transportmedium (MEM mit Zusätzen) gefüllt
- Styroporkisten
- Kühlaggregate (Kühlakkus)
- Einmalhandschuhe

3.1.5.2 Medien zur Probeentnahme und zum Transport

- Transportmedium
 - Minimum Essential Medium Eagle (MEM) (Herstellung siehe 3.1.7.1) mit 10 % fetalem Kälberserum (FKS) (Seromed, Biochrom KG, Berlin)
 - 0,05 g Streptomycin, 0,05 g Vancomycin, 0,25 ml Nystatin, 8 ml Amphotericin B je 500 ml MEM (Hersteller siehe 3.1.7.1)
- Befeuchtungsmedium zur Tupferprobenentnahme auf trockenen Flächen
(gemäß Vorschrift der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG)
 - 1,0 g Pepton (Casein, tryptisch verdaut) (Merck, Darmstadt)
 - 8,5 g Natriumchlorid (NaCl)
 - 30,0 g Polyoxyethylensorbitanmonooleat (Tween 80[®]) (zur Inaktivierung etwaiger Desinfektionsmittelrückstände) (Roth, Karlsruhe)
 - 3,0 g Lecithin > 97,5 % aus Sojabohnen (Roth, Karlsruhe)
 - 1000 ml Aqua dest.

Die einzelnen Bestandteile werden in A. dest. gelöst. Der pH-Wert ist so einzustellen, dass er nach dem Sterilisieren bei pH 7,0 +/- 0,1 liegt. Das Befeuchtungsmedium ist dunkel bei 0 °C bis 5 °C aufzubewahren (max. 1 Monat).

3.1.6 Verwendete Zellkulturen

3.1.6.1 Buffalo-Green-Monkey-Kidney-(BGM-) Zellen

Die Anzüchtung und Vermehrung der Chlamydien wurde in der Buffalo-Green-Monkey-Kidney-Zellkultur (BGM-Zellen) durchgeführt. Hierbei handelt es sich um eine permanente Zelllinie aus Nierenzellen der afrikanischen grünen Meerkatze. Die Zellen stammen ursprünglich aus dem Institut für Hygiene und Infektionskrankheiten der Tiere (Prof. Dr. Dr. Baljer), Abteilung Zoonosen, der Justus-Liebig-Universität Gießen und werden seit 1987 in der Klinik für Vögel, Reptilien, Amphibien und Fische der Justus-Liebig-Universität Gießen weiterkultiviert. Die Anzucht der BGM-Zellen erfolgte in 250 ml Zellkulturflaschen (Greiner, Nürtingen). Als Medium wurde Minimum Essential Medium Eagle (MEM) mit Zusatz von 5 % fetalem Kälberserum (FKS) verwendet. Die Zellen wurden im 37 °C Brutschrank (Nunc, Wiesbaden-Biebrich) angezüchtet. Ein Mediumwechsel bzw. eine Vermehrung wurde alle 2 bis 3 Tage durchgeführt.

3.1.7 Benötigte Materialien, Medien und Reagenzien

3.1.7.1 BGM-Zellkultur

- **Minimum Essential Medium Eagle (MEM) (500 ml)**

42,5 ml 10 x MEM (Seromed, Biochrom KG, Berlin)

250 ml Tryptose-Phosphat-Bouillon (TPB) (Difco, Michigan, USA)

Stammlösung: 29,5 g/l TPB-Pulver in H₂O

6 ml Hydroxyethyl-piperazin-ethansulfonsäure (Hepes Puffer, 1M) (Serva, Heidelberg)

5 ml L-Glutamin

5 ml Gentamycinsulfat (663 U/mg, Seromed, Biochrom, Berlin)

8 ml Amphotericin B (Seromed, Biochrom KG, Berlin)

Gelöst in Aqua dest. und mit 5 N NaOH (Merck, Darmstadt) auf pH 7,5 eingestellt.

- **Dulbecco`s Phosphate Buffer (DPB)**

8,00 g/l	(0,1370 M)	NaCl (Merck, Darmstadt)
0,40 g/l	(0,0054 M)	KCl (Merck, Darmstadt)
1,15 g/l	(0,0072 M)	Na ₂ HPO ₄ (Merck, Darmstadt)
0,20 g/l	(0,0015 M)	KH ₂ PO ₄ (Merck, Darmstadt)

Gelöst in Aqua dest. und sterilfiltriert.

- **TE-Puffer**

0,97 g/l	(10mM)	Tris-HCl
0,37 mg/l	(1mM)	EDTA-Na ₂

Gelöst in Aqua dest. und mit 5 N HCl auf pH 7,4 eingestellt.

- **Trypsin-Versen-Lösung (TV)**

3,5 g/l		Trypsin (1:250, Difco, Michigan, USA)
0,2 g/l	(0,001M)	EDTA Na ₂ (Serva, Heidelberg)
1,0 g/l	(0,051 M)	D (+)-Glucose-Monohydrat
0,5 ml/l	(0,1 %ig)	Phenolrotlösung (1 g/l) (Merck, Darmstadt)

Gelöst in DPB und mit 1 M NaOH auf pH 7,5 eingestellt.

- **Hepes-Puffer**

283,3g	(1M)	Hepes-Puffer (Serva, Heidelberg)
--------	------	----------------------------------

Gelöst in 1000 ml Aqua bidest. und mit 1 M NaOH auf pH 8,0 eingestellt.

- **Tryptose-Phosphat-Brühe**

29,5 g		TPB-Pulver (Difco, Michigan, USA)
--------	--	-----------------------------------

Gelöst in 1000 ml Aqua bidest. autoklaviert und bei 4 °C lagern.

- Fetales Kälberserum Mykoplasmen geprüft (Seromed, Biochrom KG, Berlin)

- Vancomycin CP, Lilly[®] 500 (Lilly Deutschland GmbH, Gießen)

- Streptomycin „Grünenthal“ 1,0 g (Grünenthal, Aachen)

- Candio-Hermal (Nystatin, Hermal, Heidelberg)

- Amphotericin B 250 mg/ml (Seromed, Biochrom KG, Berlin)

- 250 ml Zellkulturflaschen mit Schraubkappe (Greiner, Nürtingen)

- Falcon[®]-Gewebekulturplatten (Becton Dickinson, New Jersey) mit 24 Kavernen (24-er Lochplatten)
- Sterile runde Deckgläschen (Ø 12 mm) (Menzel, Gläser)

3.1.7.2 Direkte Immunfluoreszenz (IFT)

- **Chlamydia-Antigen-VET-IFT[®] der Firma Medac**

Hierbei handelt es sich um einen kommerziell erhältlichen Immunfluoreszenztest zum Direktnachweis von Chlamydien in Tierproben. Jede Packung enthält Nachweisreagenz für 50 Nachweise. Mitgeliefert werden:

- Nachweisreagenz:

Ein Fläschchen mit 1,25 ml an Fluoreszin-Iso-Thio-Cyanat (FITC) gebundenen, gereinigten monoklonalen Antikörper (Maus) in Pufferlösung, pH 7,4 mit Proteinstabilisatoren, 0,1 % (g/v) Natriumazid und Evans Blau (0,005 %) als Gegenfärbung.

- Einbettmedium:

Ein Fläschchen mit 2,5 ml Einbettmedium (verhindert das Ausbleichen der Fluoreszenz durch einen in Glycerin gelösten Inhibitor).

- Positivkontrolle:

Ein ungefärbter Objektträger, der im Zuge der Bearbeitung mitgefärbt wird und fixierte Elementar- und Retikularkörperchen von *Chlamydophila psittaci* enthält.

- **Zusätzlich benötigte Materialien**

- **Phosphate Buffered Saline (PBS) zum Waschen**

8,09 g/l	(138 mM)	NaCl
0,20 g/l	(2,6 mM)	KCl
1,12 g/l	(8,2 mM)	KH ₂ PO ₄
0,10 g/l	(9,0 mM)	CaCl ₂
0,10 g/l	(0,5 mM)	MgCl ₂ x 6 H ₂ O

Gelöst in Aqua dest. und mit 5 N HCl auf pH 7,0 eingestellt.

- Aqua dest. zum Waschen
- Aceton zur Probenfixierung
- Acetonbeständiger Objektträger mit Testfeld und einem Durchmesser von 0,6 bis 0,8 cm
- Objektträger (ca. 76 x 26 mm / 3 x 1 inch) (Knittel Gläser)
- Runde Deckgläschen (Ø 12 mm) (Menzel Gläser)
- 25 µl Mikropipette zum Auftragen des Farbstoffes
- 25 µl Pipettenspitzen (sterile)
- Feuchte Kammer (37 °C Brutschrank, Heraeus)
- Waschkammer für Objektträger
- Immersionsöl für die Fluoreszenzmikroskopie
- Fluoreszenzmikroskop Dialux 20, Firma Leitz mit 490 nm Erregerfilter, 520nm Sperrfilter und 600-facher Vergrößerung
- Objektiv: NPL Fluotar 50/1.30 Oil *160/0,17 Fluoreszenz

3.1.7.3 Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR)

- **QIAamp DNA Blood Mini Kit[®]** (250) (Qiagen, Hilden)
Zur Aufbereitung (DNA-Isolierung) der Tupferproben für die PCR.

- **DNeasy[™] Tissue Kit[®]** (250) (Qiagen, Hilden)
Zur Aufbereitung (DNA-Isolierung) der Milzen für die PCR.

- **PCR- Primer** (MWG-Biotech AG, München)
Genusspezifische Primer zum Nachweis von Chlamydien:
CM1: 5`-CAG GAT ATC TTG TCT GGC TT-3`
CM2: 5`-CAA GGA TCG CAA GGA TCT CC-3`

- **Primerkonzentration** lt. Hersteller (MWG-Biotech AG, München)

CM 1 Konzentration: 94 pmol/ μ l

(1ml Lösungsvolumen)

Lösungsvolumen

für 100 μ M: 936 μ l

Molmasse : 6114 g/mol

T_m (Hybridisierungstemperatur): 55,3 °C

Stammlösung: Zugabe von 936 μ l TE-Puffer (100 μ M)

Gebrauchslösung: Die Stammlösung wurde 1:10 mit TE-Puffer verdünnt:

CM 1: 10 μ l

TE-Puffer: 90 μ l

Gesamt: 100 μ l Gebrauchslösung (10 μ M)

CM 2 Konzentration: 47 pmol/ μ l

(1ml Lösungsvolumen)

Lösungsvolumen

für 100 μ M: 470 μ l

Molmasse: 6111 g/mol

T_m (Hybridisierungstemperatur): 59,4 °C

Stammlösung: Zugabe von 470 μ l TE-Puffer (10 μ M).

Gebrauchslösung: Die Stammlösung wurde 1:10 mit TE-Puffer verdünnt:

CM 2: 10 μ l

TE-Puffer: 90 μ l

Gesamt: 100 μ l Gebrauchslösung (10 μ M)

- **Polymerase**

Taq DNA-Polymerase (MBI Fermentas Molecular Biology, St. Leon-Rot)

Konzentration: 5 U/ μ l

Mitgeliefert wurden: 3,0 ml 10 x PCR Buffer

3,0 ml 10 x PCR Buffer mit $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

3,0 ml 25 mM MgCl_2

0,25 ml mg/ml BSA

- **Nukleotide** (MBI Fermentas Molecular Biology, St. Leon-Rot)
10 mM dNTP Mix (1ml)
Zusammensetzung: 1,0 ml des dNTP Mix besteht aus jeweils 10 μ mol von
dATP, dCTP, dGTP, dTTP in 10mM wässriger Lösung

- **Größenstandard** (MBI Fermentas Molecular Biology, St. Leon-Rot)
Gene Ruler™ 100 bp DNA Ladder
Konzentration: 0,5 mg DNA/ml
Mitgeliefert wurden: 1 ml 6x Loading Dye Solution
Zusammensetzung: 0,09 % bromophenol blue
0,09 % xylene cyanol FF
60 % glycerol
60 mM EDTA

- **TE-Puffer** (Puffer zur Herstellung der Stamm/Gebrauchslösung der Primer)
0,97 g/l (10 mM) Tris-HCl
0,37 mg/l (1 mM) EDTA Na₂
Gelöst in Aqua dest. und mit 5 N HCl auf pH 7,4 eingestellt.

- **Ethidiumbromidlösung**
10 g/l Ethidiumbromid (Roth, Karlsruhe)

- **TAE-Puffer** (10-fach) (Elektrophoresepuffer)
48,8 g (400 mM) TRIS
32,8 g (400 mM) Na-Acetat
7,44 g (20 mM) EDTA
Gelöst in 1000 ml Aqua bidest. und auf pH 8,3 eingestellt.

- **Agarose-Gel**
3,0 g Agarose (Agarose NEEO Ultra-Qualität, Rotigarose®,
Roth, Karlsruhe)
150 ml TAE 1-fach
10 μ l/150 ml TAE Ethidiumbromidlösung

- **Sonstige Materialien für die PCR**
 - Aqua dest.
 - Gestopfte Pipettenspitzen (10 µl, 100 µl, 1000 µl) (Biozym Diagnostik, Hess. Oldendorf)
 - PCR Tubes 0,5 ml (Biozym Diagnostik, Hess. Oldendorf)

3.1.7.4 Restriktionsenzymanalyse (REA)

- **Restriktionsenzyme**
 - **Alu I** (MBI Fermentas Molecular Biology, St. Leon-Roth)
Konzentration: 10 U/µl
Puffer Y/Tango: 33 mM Tris-acetate
10 mM magnesium acetate
66 mM potassium acetate
0,1 mg/ml BSA
 - **Pvu II** (MBI Fermentas Molecular Biology, St. Leon-Roth)
Konzentration: 10 U/µl
Puffer G⁺: 10 mM Tris-HCL (pH 7,5)
10 mM MgCl₂
50 mM NaCl
0,1 mg/ml BSA
- Aqua dest.
- Ethanol 96 %ig

3.1.7.5 Geräte

- Autoklav (Systec GmbH, Wettenberg)
- Brutschrank (Nunc, Wiesbaden-Biebrich)
- Canon EOS 10-Spiegelreflexkamera (Objektiv Canon 100 mm Macro EF 1:2,8; Orange-Rot-Filter; Blende 5,6)
- Clean bench (Nunc, Wiesbaden-Biebrich)

- Elektrophoresekammer (Erwin von Keutz, Reiskirchen)
- Feinwaage (P 160 N) (Mettler)
- Film (Schwarz/Weiß-Pan-100-Kleinbildfilm)
- Fluoreszenzmikroskop (Leitz, Wetzlar)
- Heizblock (Renner, Darmstadt)
- Magnetrührer (Heidolph)
- Mikrowelle (Alaska)
- pH-Meter (Knick)
- Pipetten (Abimed, Langenfeld)
- Rüttler (Janke + Kunkel IKA Labortechnik, Staufen i. Br.)
- Stromquelle (Unipack 250, 250 Voltages Power Supply, UniEquip)
- Tischzentrifuge (Hettich, Tuttlingen)
- Thermocycler (Biozym Diagnostik GmbH, Hess. Oldendorf)
- Ultraschallgerät (Branson sonifier B-15) / (Branson Sonic Power, Danbury, CO, USA)
- UV-Illuminator (254 nm Wellenlänge, UV-Bestrahlungsfläche 200 x 350 mm, Novodirekt)
- Wasserbad (Köttermann, Uetze-Hänigsen)

3.1.7.6 Computerprogramme

- Microsoft Word me
- Microsoft Excel
- Microsoft Power Point

3.2 Methoden

3.2.1 Befragung der Hygienebeauftragten der vier Schlachtereien

Die Hygienebeauftragten der vier Geflügelschlachtereien wurden am 19.11.2001 (Hähnchen- und Putenschlachtereier 1) und 20.11.2001 (Hähnchen- und Putenschlachtereier 2) mittels eines selbst entworfenen Fragebogens befragt, um den Hygienestatus der Betriebe zu ermitteln. Der Fragebogen gliederte sich in einen Allgemeinen und Speziellen Teil, wobei der letztere in Fragen zur Betriebs- und Personalhygiene unterteilt war (siehe 4.4).

3.2.2 Technik der Probeentnahme

Die Probeentnahme erfolgte nach dem modifizierten amtlichen Untersuchungsverfahren nach § 35 Lebensmittel- und Bedarfsgegenständegesetz (LMBG). Die einzige Modifikation bestand darin, dass auf die Verwendung einer Schablone verzichtet und der Watteträger ohne Schablone mäanderförmig ausgerollt wurde. Die Länge der Ausrollstrecke war immer ungefähr gleich lang (ca. 90 cm). Auf den Arbeitsflächen, Oberflächen, Arbeitsgeräten usw., worauf ein Ausrollen des Watteträgers möglich war, wurde dies mäanderförmig durchgeführt. Bei anderen Probeentnahmeorten, wie z.B. Blutwanne oder Lebersepariersystem, wurde der Watteträger in die Flüssigkeit eingetaucht. Die Milzen wurden per Hand (durch Einmalhandschuhe geschützt) von den übrigen Innereien abgetrennt. Nachfolgend wird die Probeentnahme nach § 35 LMBG beschrieben.

3.2.2.1 Technik der Probeentnahme auf feuchten Oberflächen (Abb. 6)

Der Watteträger wurde auf der feuchten Oberfläche mäanderförmig ausgerollt und anschließend in ein Transportröhrchen mit 8 ml Transportmedium überführt.

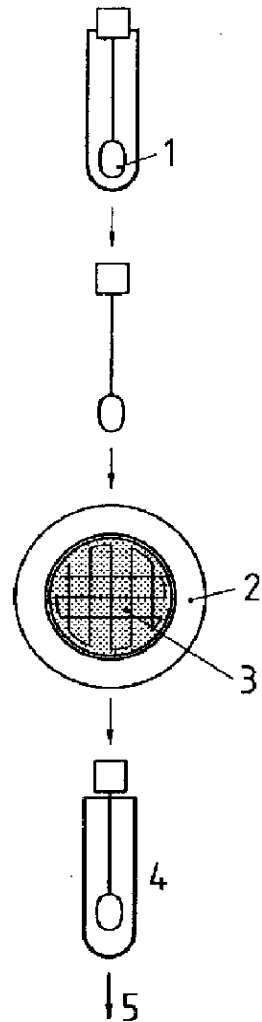
3.2.2.2 Technik der Probeentnahme auf trockenen Oberflächen (Abb. 6)

Der Watteträger wurde kurz in ein Befeuchtungsmedium eingetaucht, am Rand leicht abgestreift und mäanderförmig auf der trockenen Oberfläche ausgerollt. Anschließend wurde er in ein Transportröhrchen mit 8 ml Transportmedium überführt.

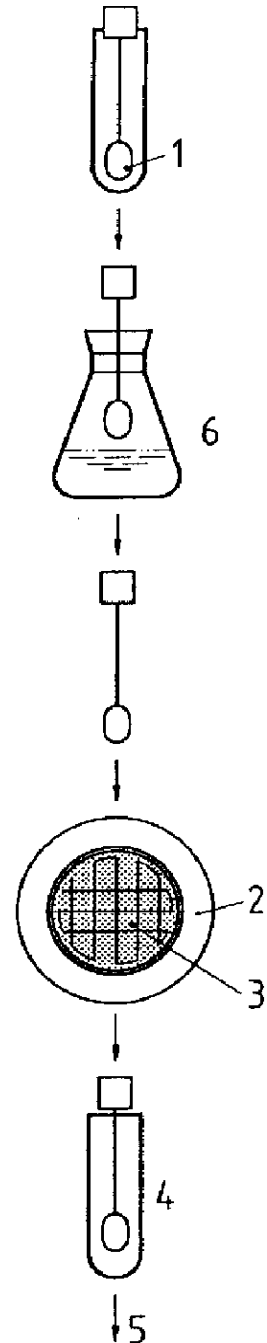
3.2.2.3 Technik der Organprobenentnahme

Die Milzen wurden mit „einmalhandschuhgeschützten“ Händen aus den Tierkörpern entnommen und in ein Transportröhrchen mit 8 ml Transportmedium überführt. Zwischen jeder Milzprobenentnahme wurde ca. 2 bis 3 Minuten gewartet.

Tupferprobenentnahme auf feuchten Oberflächen



Tupferprobenentnahme auf trockenen Oberflächen



- 1 Watteträger
- 2 Schablone (nicht verwendet)
- 3 mäanderförmige Probenahme
- 4 Transport bei 0 °C bis 4 °C
- 5 Weiterverarbeitung im Labor
- 6 Vorratsgefäß mit Befeuchtungsmedium

Abbildung 6: Tupferprobenentnahme auf trockenen und feuchten Oberflächen nach dem amtlichen Untersuchungsverfahren des § 35 LMBG.

3.2.2.4. Dauer der Probeentnahme

Die Dauer der Probeentnahme betrug je Schlachtereier mindestens zwei Stunden. An einem Arbeitstag wurden daher nur zwei Geflügelschlachtereien beprobt.

3.2.3 Transport der Proben

Die Tupfer- bzw. Organproben wurden nach ihrer Entnahme in gekühlte (4 °C) Transportröhrchen mit 8 ml Transportmedium (siehe 3.1.5.2) überführt. Der komplette Tupfer bzw. das Organ musste mit Medium bedeckt sein, um eine Austrocknung der Probe zu verhindern. Nach der Bestückung der Probenröhrchen wurden diese sofort in Styroporkisten mit Kühllakus überführt und bei max. 4 °C transportiert. Der Transport bis zum Bestimmungsort (Klinik für Vögel, Reptilien, Amphibien und Fische der JLU Gießen) erfolgte im privateigenen KFZ.

3.2.4 Lagerung der Proben

Die Proben wurden nach der Ankunft in der Klinik für Vögel, Reptilien, Amphibien und Fische der JLU Gießen bis zu ihrer Bearbeitung im Kühlhaus bei 4 °C gelagert.

3.2.5 Aufbereitung des Probenmaterials

Sofort nach der Ankunft in der Klinik für Vögel, Reptilien, Amphibien und Fische der JLU Gießen wurde mit der Probenaufbereitung begonnen. Der Bearbeitungsbeginn der letzten Proben war max. 5 Tage nach ihrer Entnahme in der Schlachtereier.

3.2.5.1 Aufbereitung der Tupferproben

Die Tupfer wurden im Transportröhrchen für 10 bis 15 sec. mit Ultraschall (Branson sonifier B-15 von Branson Sonic Power, Danbury, CO, USA) (Einstellung des Gerätes: Microtip Limit Output Control: 5, duty cycle: 40 %, Puls) bearbeitet, sodass Gewebe oder Flüssigkeiten vom Tupfer in das Medium übergangen. Anschließend wurde der Tupfer steril aus dem Röhrchen entnommen und vernichtet (autoklaviert).

3.2.5.2 Aufbereitung der Organproben

Die Milzen wurden mittels einer sterilen Schere in möglichst kleine Stücke zerteilt. Bei Putenmilzen wurde wegen des großen Volumens nur die Hälfte der Milz verwendet. Danach erfolgte eine Homogenisierung mittels Ultraschall (Branson sonifier B-15 von Branson Sonic Power, Danbury, CO, USA) (Einstellung des Gerätes: Microtip Limit Output Control: 5, duty cycle: 40 %, Puls) für 10 bis 15 sec.

Die weitere Aufbereitung zum Verimpfen auf Buffalo-Green-Monkey-Kidney-(BGM) Zellen erfolgte für Organ- und Tupferproben gleichermaßen:

Nach dem Ultraschallen wurden die Röhrchen in der Zentrifuge (Hettich, Tuttlingen) 10 min. bei 2500 U/min (ca. 950 x g) zentrifugiert. Vom zentrifugierten Röhrcheninhalt wurden 0,5 cm unterhalb der Oberkante des Mediums 0,1 ml Probe entnommen und auf BGM-Zellkulturen verimpft. Die weitere Probenaufbereitung zur Durchführung einer PCR wird in Punkt 3.2.7.2.1 beschrieben.

3.2.6 Buffalo-Green-Monkey-Kidney-(BGM-) Zellen

3.2.6.1 Subkultivieren von BGM-Zellen

Zum Subkultivieren von BGM-Zellen wurde zunächst das Erhaltungsmedium einer ca. 3 Tage alten Ausgangskultur in ein Becherglas abgegossen. Anschließend wurden 5 ml einer 37 °C warmen sterilen Trypsin-Versen-Lösung auf die Zellen pipettiert, um diese durch Schwenken ca. 10 sec. lang zu waschen. Nach Abgießen der Lösung wurden erneut 3 ml der auf 37 °C erwärmten Trypsin-Versen-Lösung zugegeben. Es erfolgte eine Inkubation für ca. 5 bis 10 min bei 37 °C. Nach Ablösung der Zellen, welches gut sichtbar sein musste, wurden diese mit MEM, dem 5 % FKS beigesetzt wurde, resuspendiert. Nach 3-maliger Resuspendierung wurde die Zellkulturflasche bis zur 75 ml Marke mit Medium (MEM) aufgefüllt. Diese Menge (75 ml) wurde anschließend zu gleichen Anteilen (je 25 ml) in 3 neue Zellkulturflaschen überführt und im Brutschrank bei 37 °C aufbewahrt.

3.2.6.2 Herstellung von Zellkulturen in 24-Loch-Platten

Die 24-Lochplatten wurden zur Bereitstellung von Nachweiskulturen genutzt, d.h. hier wurden die Proben aufgebracht. Zur Verwendung kamen Multiwell-Zellkulturplatten (Falcon[®]) mit Flachboden und 24 Vertiefungen, in die sterile, runde Deckgläschen (Ø 12 mm, Menzel Gläser) eingelegt wurden. Es wurde immer ein Doppelansatz hergestellt. Hierfür wurde jede Probe in zwei Vertiefungen verimpft. Eine Platte wurde nur mit BGM-Zellen, die andere mit Deckgläschen und BGM-Zellen bestückt, sodass immer doppelt soviel Vertiefungen wie Proben vorhanden waren. Nach Beschriftung und Einlegen der Deckgläschen wurde in jede Vertiefung 1 ml der hergestellten Zellsuspension (siehe 3.2.5.1) gegeben. Die so hergestellten 24-Lochplatten wurden für 24 bis 48 Stunden im Brutschrank bei 37 °C inkubiert. Anschließend wurden sie unter dem Mikroskop beurteilt. War ein dichter Zellrasen gewachsen, konnten sie mit dem Untersuchungsmaterial infiziert werden.

3.2.6.3 Beimpfen der Zellkultur

Das Nährmedium wurde aus den mit BGM-Zellen bewachsenen 24-Lochplatten vor dem Verimpfen der Proben steril abgesaugt. Die Probenröhrchen wurden nach dem Ultraschallen 10 min. bei 2500 U/min (ca. 950 x g) zentrifugiert. Vom zentrifugierten Röhrcheninhalt wurden 0,5 cm unterhalb der Oberkante des Mediums 0,1 ml Probe abgesaugt und auf die Zellkulturen verimpft. Die infizierten Platten wurden 1h bei 2000 U/min (ca. 620 x g) zentrifugiert und anschließend 2 h im Brutschrank bei 37 °C inkubiert. Nach dieser Zeit wurde pro Loch 1 ml Erhaltungsmedium zugegeben (MEM, 2 % FKS und 2 µg/ml Cycloheximid [Actidion[®]]) (UNKRIG, 1995). Anschließend wurden die Proben 3 Tage bei 37 °C inkubiert. Es erfolgte mindestens eine Passage vor Durchführung des Immunfluoreszenztests (IFT). Bei Verkeimung erfolgte eine Filtration (0,45 µm) der Proben.

3.2.6.4 Passagierung der Proben

Nach 3-tägiger Bebrütung bei 37 °C erfolgte die Passagierung. Mittels einer Pipette wurden die infizierten Zellen vom Plattenboden abgekratzt. Hierbei kam es zur

Zerstörung der Zellen, sodass auf eine weitere Ultraschallbehandlung verzichtet werden konnte. Die so entstandene Zellsuspension wurde in ein steriles Glasröhrchen überführt. Nach dem Zentrifugieren (Hettich) für 10 min. bei 2500 U/min (ca. 950 x g) wurden 0,5 cm unterhalb der Oberkante des Röhrcheninhaltes 0,1 ml Probe entnommen und wiederum auf 24 h zuvor hergestellte BGM-Zellkultur-Platten verimpft. Auch hier wurde ein Doppelansatz hergestellt. So entsteht eine Platte für den IFT und eine Kopie, die als Ersatz dient. Die Verimpfung erfolgte wie in Punkt 3.2.6.3 beschrieben mit dem Unterschied, dass jede Probe in zwei Vertiefungen verimpft wurde.

3.2.6.5 Filtration der Proben

Bei Verkeimung der Proben trotz Passagierung erfolgte eine Filtration derselben mit Millipore Membranfiltern, die einen mittleren Porendurchmesser von 0,45 µm hatten. Hierfür wurde die vom Plattenboden abgekratzte resuspendierte Zellsuspension durch Membranfiltern filtriert und anschließend erneut auf BGM-Zellen verimpft. Die Verimpfung erfolgte wie in Punkt 3.2.6.3 beschrieben mit dem Unterschied, dass jede Probe in zwei Vertiefungen verimpft wurde.

3.2.7 Angewandte Nachweismethoden

3.2.7.1 Direkter Immunfluoreszenztest (IFT)

3.2.7.1.1 Testprinzip

Für den Chlamydiennachweis mittels direkter Immunfluoreszenz wurde der Chlamydia-Antigen-VET-IFT[®] der Firma Medac verwendet. Hierbei handelt es sich um einen Immunfluoreszenztest zum Direktnachweis von Chlamydien in Tierproben. Die Firma Medac benutzt einen Fluorescein-Iso-Thio-Cyanat-(FITC) gebundenen, monoklonalen Antikörper. Das Testprinzip beruht darauf, dass alle Chlamydienarten ein gemeinsames, gattungsspezifisches Lipopolysaccharid (LPS) besitzen. Das Verfahren ist eine Direktfärbung der zuvor acetonfixierten Proben. Der in dem Farbstoff enthaltene fluoreszenzmarkierte monoklonale Antikörper bindet spezifisch an das LPS-Antigen. Nachfolgend durchgeführte Waschvorgänge entfernen die überschüssigen Antikörper.

Die Chlamydien sind dann apfelgrün fluoreszierend im Fluoreszenzmikroskop darstellbar.

3.2.7.1.2 Durchführung des Tests

Nach dreitägiger Inkubation (37 °C) der mit den passagierten bzw. filtrierten Proben infizierten BGM-Zellen erfolgte die Färbung der zellbewachsenen Deckgläschen in den 24-Lochplatten. Die Durchführung des Tests erfolgte streng nach der Herstelleranleitung. Als erster Bearbeitungsschritt wurde das Erhaltungsmedium mittels einer Pipette aus den Vertiefungen abgesaugt. Die so freigelegten Deckgläschen mussten gut abtrocknen. Es durften keine Flüssigkeitsreste mehr vorhanden sein. Zur Fixierung der Zellen wurden 3 bis 4 Tropfen Aceton je Deckgläschen aufgebracht, auch dieses musste vollständig eintrocknen. Als nächster Bearbeitungsschritt wurde je Vertiefung genau 25 µl FITC-Konjugat zu den trockenen, fixierten Proben zugegeben. Danach erfolgte eine Inkubation für 30 min. bei 37 °C in einer feuchten, dunklen Kammer (Brutschrank). Anschließend wurden die Deckgläschen in den Vertiefungen mit 1 ml PBS eine Minute lang gewaschen (geschwenkt). Die PBS wurde abgesaugt, jeweils 1 ml Aqua dest. in die Vertiefungen gegeben und die Deckgläschen wieder eine Minute gewaschen. Nach Absaugen des Aqua dest. wurden die Deckgläschen mit Hilfe einer Pinzette und Kanüle aus den Vertiefungen entfernt und zum Trocknen auf Zellstoff ausgelegt. Anschließend wurde 1 Tropfen Einbettungsmedium auf die Objektträger gegeben und darauf die Deckgläschen unter Vermeidung von Luftblasen vorsichtig festgedrückt. Die fertigen Objektträger waren nun mehrere Wochen im Dunkeln bei 4 °C haltbar. Die Proben wurden mit Immersionsöl unter dem Fluoreszenzmikroskop bei 600-facher Vergrößerung untersucht.

3.2.7.1.3 Auswertung des Tests

In den positiven Proben mussten (lt. Hersteller) mindestens fünf apfelgrün fluoreszierende Chlamydienkörperchen (Retikular- und/oder Elementarkörperchen) (Reduktion falsch positiver Ergebnisse) zu sehen sein. Die extrazellulären Elementarkörperchen (0,3 µm), die am häufigsten vorkamen, fluoreszierten leuchtend apfelgrün vor einem Hintergrund mit rötlich-braun gegengefärbten Zellen. Die

Retikularkörperchen stellten sich größer (0,5 bis 1,5 µm) dar, besaßen ein dunkles Zentrum umgeben von einem ringförmig fluoreszierenden Hof, oder verhielten sich genau wie die Elementarkörperchen. Die im Testkit mitgelieferte Positiv-Kontrolle diente als Referenz für Morphologie, Größe und Fluoreszenz und wurde immer mitgefärbt. Trat bei der Färbung der Positiv-Kontrolle nicht die typische Färbung und Morphologie auf, wurde der Test als ungültig beurteilt, verworfen und wiederholt. Bei der mikroskopischen Beurteilung wurde das gesamte Deckgläschen mäanderförmig durchgemustert, um möglichst alle Bereiche in das Gesichtsfeld zu bekommen.

3.2.7.1.4 Kreuzreaktionen

Der Chlamydia-Antigen-VET IFT[®] wurde vom Hersteller auf Kreuzreaktionen getestet und für folgende Organismen als negativ beurteilt:

- *Staphylococcus epidermidis*
- *Staphylococcus aureus*
- Beta-hämolisierende Streptokokken der Gruppe A
- *Streptococcus pneumoniae*
- *Haemophilus influenzae*
- *Haemophilus parainfluenzae*
- *Escherichia coli*
- *Klebsiella pneumoniae*
- *Proteus mirabilis*
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Bacteroides fragilis*
- Viridans-Streptokokken
- *Candida albicans*
- *Mycoplasma pneumoniae*

3.2.7.2 Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR)

3.2.7.2.1 DNA-Isolierung (Probenaufbereitung)

3.2.7.2.1.1 Tupferproben

Für die DNA-Isolierung aus Tupferproben wurde das QIAamp DNA Blood Mini Kit[®] der Firma Qiagen verwendet. Es wurden für den direkten IFT und die PCR die selben Proben herangezogen. Aus den Röhrchen mit den Originalproben (Tupfer) wurden nach Ultraschallbehandlung jeweils 4 ml Probenflüssigkeit entnommen und in ein neues steriles Röhrchen überführt. Die gefüllten Röhrchen wurden bei 10.000 U/min 15 min zentrifugiert. Der Überstand wurde abgesaugt und das Pellet in 200 µl PBS resuspendiert. Die weitere DNA-Isolierung wurde nach der Anleitung des QIAamp DNA Blood Mini Kit[®] der Firma Qiagen durchgeführt.

DNA-Isolierung aus Tupferproben (Abb. 7):

In einen Eppendorf Cup (1,5 ml) wurden 20 µl Proteinase K (von Qiagen mitgeliefert), 200 µl Probe (in 200 µl PBS resuspendiert) und 200 µl AL-Puffer (von Qiagen mitgeliefert) gegeben. Der AL-Puffer enthielt nicht-ionische Detergenzien. Er und die Proteinase K waren notwendig, um Zellen aber auch Chlamydien zu lysieren, damit die Chlamydien-DNA freigesetzt werden konnte. Nach dem Vortexen (5 sec.) wurde die Probe für 10 min. bei 56 °C inkubiert, danach kurz anzentrifugiert und 200 µl Ethanol (96 %ig) zugegeben. Die Suspension wurde gemischt (Rüttler für 15 sec.) und in eine vom Hersteller mitgelieferte Säule (2 ml collection tube) mit Filter pipettiert. Hierbei durfte der Rand des Tubes nicht berührt werden. Die DNA bindet an diesen Filter. Das Röhrchen wurde 1 min. bei 8.000 U/min. (6.000 x g) zentrifugiert und der Filter anschließend in ein neues Röhrchen eingesetzt. Nachfolgend wurde 2-malig ein Waschvorgang mit Waschpuffern vorgenommen. Auf den Filter wurden 500 µl Puffer AW 1 (von Qiagen mitgeliefert) gegeben und die Probe 1 min. bei 8.000 U/min (6.000 x g) zentrifugiert. Danach wurde der Filter in ein neues Röhrchen überführt, 500 µl Puffer AW 2 (von Qiagen mitgeliefert) zugegeben und 3 min. bei 14.000 U/min (20.000 x g) zentrifugiert. Anschließend wurde der Filter wieder in ein neues Röhrchen

überführt und noch einmal 3 min. bei 14.000 U/min (20.000 x g) zentrifugiert. Der Filter wurde nun in einen neuen beschrifteten Eppendorf Cup (1,5 ml) überführt. Auf diesen wurde 200 µl AE-Puffer (von Qiagen mitgeliefert) pipettiert und 5 min. bei Raumtemperatur inkubiert. Hiermit erfolgte die DNA-Elution. Nach der Inkubationszeit wurde die Probe ein letztes Mal bei 8.000 U/min (6.000 x g) für 1 min. zentrifugiert, wodurch die gelöste DNA vom Filter in den Puffer überging. Die DNA war nach diesem Arbeitsschritt fertig präpariert und wurde nach ausreichender Kennzeichnung bei -20°C eingefroren.

3.2.7.2.1.2 Organproben (Milzen)

Für die DNA-Isolierung aus Milzproben wurde das DNeasy™ Tissue Kit® der Firma Qiagen verwendet. Es wurden für den direkten IFT und die PCR die selben Proben herangezogen. Aus den Röhrchen mit den Originalproben (Milzen) wurden ca. 20 mg des Organs entnommen und in ein neues steriles Röhrchen überführt. Die weitere DNA-Isolierung wurde nach der Anleitung des DNeasy™ Tissue Kit® der Firma Qiagen durchgeführt.

DNA-Isolierung aus Organproben (Milz):

Das Gewebe (Milz) wurde soweit wie möglich zerkleinert und hiervon 10 mg in einen Eppendorf Cup (1,5 ml) überführt. Es wurden 20 µl Proteinase K (von Qiagen mitgeliefert) und 180 µl ATL-Puffer (von Qiagen mitgeliefert) zugegeben, 5 sec. gerüttelt und anschließend bei 55 °C inkubiert, bis das Gewebe vollständig lysiert war (3 bis 13 h). Nach vollständiger Auflösung des Gewebes wurde der Eppendorf Cup kurz anzentrifugiert, 200 µl AL-Puffer (von Qiagen mitgeliefert) zugegeben, gerüttelt und 10 min. bei 70 °C inkubiert. Anschließend wurden die Proben kurz anzentrifugiert, 200 µl Ethanol (96 %ig) zugegeben und weiter vorgegangen wie in Punkt 3.2.7.2.1.1 beschrieben (zweimaliges Waschen mit Waschpuffern und Eluieren mit AE-Puffer).

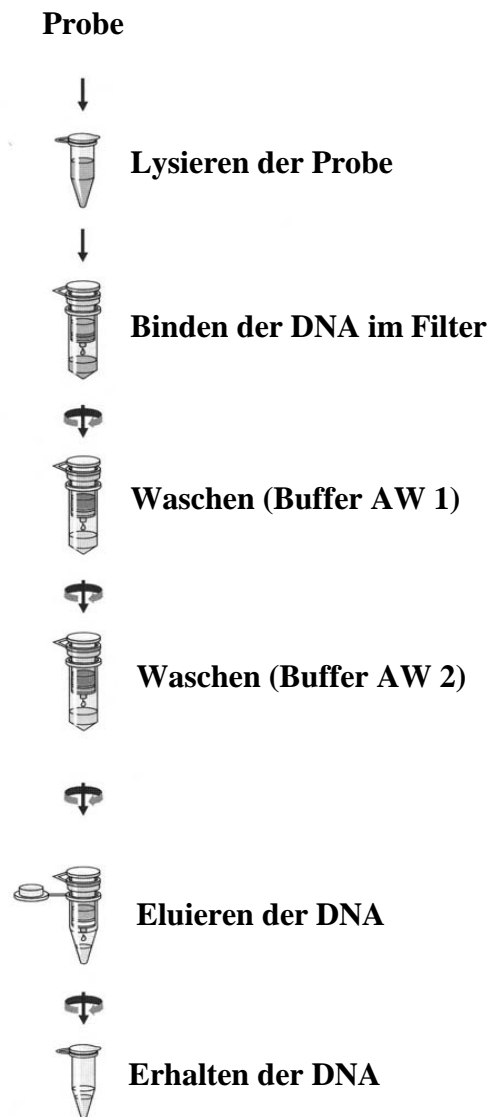


Abbildung 7: DNA-Isolierung mittels QIAamp DNA Blood Mini Kit[®] der Firma Qiagen.

3.2.7.2.2 Prinzip der Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR)

Die Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) wird zur Amplifikation von definierten DNA-Bereichen benutzt. Das Grundprinzip der PCR ist die Duplikation einer bekannten DNA-Sequenz. Hierzu werden zwei Primer (Oligonukleotide), die jeweils komplementär homolog zu dem [+] -Strang des einen Endes und dem [-] -Strang des anderen Endes der zu amplifizierenden DNA-Region sind, benötigt. Die angewandte genusspezifische PCR diente der Amplifikation des *omp1*-Gens von *Chlamydomophila* sp..

3.2.7.2.3 Mastermix-Herstellung

Die Herstellung des Mastermix fand in einem eigens dafür eingerichteten Raum statt. Das Volumen für einen Reaktionsansatz betrug 50 μl . Dieser wurde, um einen vorzeitigen Reaktionsbeginn zu vermeiden, bis zum Einsetzen in den Thermocycler immer auf Eis gelagert. Die PCR-Reaktionsgemische (50 μl) setzten sich folgendermaßen zusammen und wurden in der angegebenen Reihenfolge pipettiert:

1.	28,91 μl	A. bidest.
2.	5 μl	10-fach Puffer
3.	3,34 μl	MgCl ₂ (25 mM)
4.	2,50 μl	dNTP`s (16 mM)
5.	2,50 μl	Primer 1 (CM1) (10 μM)
6.	2,50 μl	Primer 2 (CM2) (10 μM)
7.	0,25 μl	Polymerase (5 U/ μl)
<hr/>		
Gesamt:	45 μl	
8.	5 μl	DNA

Reaktionsansatz: 50 μl

In den meisten Fällen wurde eine Menge ausreichend für 11 Reaktionsansätze hergestellt, die anschließend in 11 PCR-Tubes aufgeteilt wurde (Tab. 24 und Tab. 25). In ein PCR-Tube wurden 45 μl Mastermix und 5 μl DNA-Probe gegeben. Das Gemisch wurde gerüttelt und anschließend anzentrifugiert, um die verschiedenen Komponenten zu vereinigen. Die Herstellung der Reaktionsgemische wurde auf Eis vorgenommen, um einen vorzeitigen Reaktionsstart zu verhindern. Eine Überschichtung der Gemische mit Mineralöl war nicht notwendig, da ein Thermocycler (Biozym Diagnostik GmbH, Hess. Oldendorf) mit geheiztem Deckel verwendet wurde. Die Reaktionsgemische wurden sofort nach der Herstellung in den Cycler eingesetzt und dieser nach der Vorwärmphase gestartet.

Tabelle 24: Angewendetes PCR-Protokoll für eine und 11 Reaktionen.**Ansatz (µl):** 50**Anzahl Reaktionen:** 11

Substanz	1 Reaktion (µl)	Molare Endkonzentration		11 Reaktionen (µl)
10-fach Puffer	5,00	1x		55
MgCl ₂	3,34	1,67	mM	36,74
dNTP's	2,50	800	µM	27,5
Polymerase	0,25	1,25	U	2,75
Primer 1	2,50	0,5	µM	27,5
Primer 2	2,50	0,5	µM	27,5
A. bidest.	28,91			318,01
Gesamt	45			495
pro Ansatz	45			45
DNA	5			5

Tabelle 25: Konzentrationen der angewendeten Stammlösungen.

Substanz	Konzentration
n x Puffer	10
MgCl ₂ (mM)	25
dNTPs (mM)	16
Polymerase (U/µl)	5
Primer 1 (µM)	10
Primer 2 (µM)	10

3.2.7.2.4 Zyklusbedingungen

Nachdem die Proben in den Thermocycler eingesetzt wurden, konnte dieser gestartet werden (Tab. 26).

Tabelle 26: Reaktionsschritte im Thermocycler.

1.	94 °C für 3 min.	Vollständige Denaturierung der DNA (Initiale Denaturierung)
2.	94 °C für 20 sec.	Trennung der Doppelstränge der Matrizen DNA (Denaturierung)
	55 °C für 20 sec.	Annealing der Primer an homologe Bereiche der Template-DNA (Annealing)
	72 °C für 30sec.	Primerextension im Temperaturoptimum der Polymerase (72 °C) durch Nukleotidveresterung (Chain Elongation)
	dieser Zyklus (2.) wurde 35 mal wiederholt (amplified)	
3.	danach 4 °C Endlos	Phase zur Beendigung aller begonnenen Polymerisationen

3.2.7.2.5 Mitzuführende Kontrollen

Bei jeder PCR wurde mindestens jeweils eine Positiv- und Negativ-Kontrolle mitgeführt, um festzustellen, ob die PCR Aussagekraft hat (Positiv-Kontrolle) oder ob es Verunreinigungen gab (Negativ-Kontrolle). Als Negativ-Kontrolle wurde statt der DNA-Probe 5 µl Aqua bidest. eingesetzt. Als Positiv-Kontrolle wurden 5 µl inaktivierte *Chlamydophila psittaci* eingesetzt, welche aus dem Institut für Hygiene und Infektionskrankheiten der Tiere der Justus-Liebig-Universität Gießen stammten.

3.2.7.2.6 Vorsichtsmaßnahmen zur Verhinderung von Kontaminationen

Um eine Verunreinigung des PCR-Ansatzes zu verhindern, wurden für jeden der nachfolgend beschriebenen Arbeitsschritte unterschiedliche Räumlichkeiten ausgewählt. Die Räume waren komplett ausgestattet, sodass Zentrifugen, Pipettierhilfen usw. ausschließlich für die PCR angewendet wurden.

- Raum für DNA-Isolierung aus den Originalproben
- Raum für Mastermix-Herstellung (nur mit speziellem Kittel zu betreten)
- Raum, in dem die zu untersuchende DNA dem Reaktionsgemisch zugeben wurde
- Raum für den Thermocycler

Als zusätzliche Maßnahmen wurden nur Gamma-autoklavierte RNase- und DNase freie PCR-Tubes, sowie gestopfte Pipettenspitzen bei sämtlichen Pipettiervorgängen verwendet. Für die DNA-Isolierung und Mastermixherstellung wurden unterschiedliche Pipetten verwendet. Außerdem wurde ein ständiger Handschuhwechsel durchgeführt.

3.2.7.2.7 Nachweis der PCR-Produkte mittels Agarose-Gel-Elektrophorese

Die Darstellung des Spaltnusters erfolgte mittels Agarose-Gel-Elektrophorese. Hierzu wurden 3,0 g Agarose und 150 ml TAE-Puffer (2 %iges Agarosegel) in einem Erlenmeyerkolben vermischt und in der Mikrowelle aufgekocht, bis die Flüssigkeit klar und blasenfrei war. Anschließend wurde die Flüssigkeit so lange auf dem Magnetrührer gerührt, bis sie handwarm war. Nachfolgend wurde Ethidiumbromid (10 µl/150 ml TAE) zugegeben und das Gel in eine Flachbettapparatur mit eingelegtem PVC-Kamm zur Erzeugung der Probetaschen gegossen. Nach dem Aushärten wurde der PVC-Kamm entfernt und die Gel-Matrix in eine Elektrophoresekammer, die mit 1 x TAE-Puffer gefüllt war, eingesetzt. Die Probetaschen wurden mit den darzustellenden Proben bestückt. Hierzu wurden 10 µl des Amplifikats (PCR-Produkt) mit 2 µl Stopmix (Auftragepuffer) versetzt, kurz anzentrifugiert und in die Taschen eingefüllt. Bei jedem Gel lief ein Standard-DNA-Marker (Base pair ladder), eine Positiv-Kontrolle und eine Negativ-Kontrolle mit. Die Auftrennung der DNA erfolgte bei einer konstanten Spannung von 100 Volt für 90 min. Durch das zuvor zugegebene Ethidiumbromid war eine Betrachtung des entstandenen Spaltnusters unter UV-Licht (UV-Illuminator, 254 nm Wellenlänge, UV-Bestrahlungsfläche 200 x 350 mm, Novodirekt) möglich. Die Dokumentation des Ergebnisses erfolgte mittels Fotografie des Gels mit einer Canon EOS 10-Spiegelreflexkamera. Eine Probe wurde als *Chlamydophila* sp.-positiv bewertet, wenn eine Bande in der entsprechenden Größe (Amplifikat 245 bis 259 Basenpaare) sichtbar wurde und diese mit der Positiv-Kontrolle übereinstimmte. Die

Bande der *Chlamydophila psittaci*-positiv-Kontrolle musste eine Größe von 259 Basenpaaren (bp) haben (siehe 4.2.1).

3.2.7.2.8 Sensitivität der PCR

Um die Sensitivität der PCR zu bestimmen, wurde mittels eines Photometers die Chlamydien-Konzentration in einer Chlamydien-Stammsuspension gemessen. Hierzu wurde die Suspension mit TE-Puffer 1:4 verdünnt und die Extinktionswerte bei den Wellenlängen λ 320 und λ 260 ermittelt. Die Chlamydien-Stammsuspension enthielt inaktivierte *Chlamydophila psittaci*, die als Positiv-Kontrolle in der PCR eingesetzt wurden. Diese stammten aus dem Institut für Hygiene- und Infektionskrankheiten der Tiere der Justus-Liebig-Universität Gießen. Nachdem der *Chlamydophila psittaci*-Gehalt der Stammsuspension ermittelt war, wurde eine Verdünnungsreihe angelegt, um die Nachweisgrenze der PCR zu bestimmen (Tab. 27). Die hergestellten Verdünnungen wurden mittels des QIAamp DNA Blood Mini Kit[®] der Firma Qiagen aufbereitet (DNA isoliert). Von jeder Verdünnungsstufe wurde das Probenvolumen von 5 μ l entnommen und in die PCR eingesetzt. Die Nachweisgrenze der PCR lag dort, wo noch eine DNA-Bande im Agarosegel sichtbar war (siehe 4.2.2).

$$C_{\text{CHL}} = (E_{260} - E_{320}) * 50 * F$$

E Extinktionswerte

$$C_{\text{CHL}} = (0,0634 - 0,0570) * 50 * 4$$

F Verdünnungsfaktor

$$C_{\text{CHL}} = 1,28 \text{ ng}/\mu\text{l}$$

Mit der Größe des Chlamydiengenoms ($1,6 * 10^6$ Bp), dem Molgewicht eines Bp (660 g/mol) und der Avogadroschen Zahl ($6,023 * 10^{23}$ Moleküle/mol) errechnete sich hieraus die Anzahl der Moleküle zu:

1,28 ng entsprechen $7,3 * 10^5$ Molekülen Chlamydien-DNA

Tabelle 27: Verdünnungsreihe zur Berechnung der Nachweisgrenze der PCR.

Probenvolumen: 5 μ l
Konzentration in 1 μ l: $7,3 * 10^5$ Moleküle Chlamydien-DNA
Konzentration in 5 μ l: $5 * 7,3 * 10^5$ Moleküle Chlamydien-DNA ergibt
 $3,65 * 10^6$ Moleküle Chlamydien-DNA/PCR-Ansatz

Nr.	Verdünnung	PCR	Moleküle Chlamydien-DNA/PCR-Ansatz	Anzahl Chlamydien
V0		positiv	$3,65 * 10^6$	
V1	10 μ l V0 + 90 μ l TE	positiv	$3,65 * 10^5$	
V2	10 μ l V1 + 90 μ l TE	positiv	$3,65 * 10^4$	
V3	10 μ l V2 + 90 μ l TE	positiv	$3,65 * 10^3$	
V4	10 μ l V3 + 90 μ l TE	positiv	$3,65 * 10^2$	
V5	10 μ l V4 + 90 μ l TE	positiv	$3,65 * 10^1$	$36,5 \approx 37$
V6	10 μ l V5 + 90 μ l TE	negativ	$3,65 * 10^0$	$3,65 \approx 4$

3.2.7.3 Restriktionsenzymanalyse (REA)

3.2.7.3.1 Prinzip der Restriktionsenzymanalyse

Restriktionsenzyme sind bakterielle Enzyme und gehören zur Gruppe der Endonukleasen. Sie spalten Doppelstrang-Desoxyribonukleinsäuren durch Hydrolyse der Phosphodiester-Bindung. Die durch die Spaltung entstandenen Fragmente werden als Restriktionsfragmente bezeichnet.

3.2.7.3.2 Durchführung der Restriktionsenzymanalyse

Die Restriktionsenzymanalyse diente zur Speziesdifferenzierung der *Chlamydomonas* sp.-positiven Amplifikate. Bei einem Chlamydiennachweis mittels der genusspezifischen PCR (Amplifikat in der Größe von 245 bis 259 bp) wurde eine enzymatische Verdauung des Amplifikats durchgeführt. Hierfür waren die

Restriktionsendonucleasen Alu I und Pvu II notwendig. Ein typischer Reaktionsansatz mit einem Volumen von 10 µl setzte sich folgendermaßen zusammen:

Restriktionsendonuclease Alu I

- 8 µl Amplifikat
(positives PCR-Produkt)
- 1 µl Alu I (10 U/µl)
- 1 µl 10 x Reaktionspuffer
(Buffer Y⁺/TangoTM)

Restriktionsendonuclease Pvu II

- 8 µl Amplifikat
(positives PCR-Produkt)
- 1 µl Pvu II (10 U/µl)
- 1 µl 10 x Reaktionspuffer
(Buffer G⁺)

Der Reaktionsansatz wurde zwei Stunden bei 37 °C inkubiert.

3.2.7.3.3 Nachweis der Fragmente mittels Agarose-Gel-Elektrophorese

Nach Ablauf der zweistündigen Inkubationszeit wurden die Proben aus dem Wasserbad entnommen und je Probe 2 µl Stop-Mix zugegeben. Die Darstellung der Spaltprodukte erfolgte ebenfalls mit der Agarose-Gel-Elektrophorese. Bei jedem Gel lief ein Standard-DNA-Marker (Base pair ladder), eine Positiv-Kontrolle und eine Negativ-Kontrolle mit. Nach dem Einfüllen der Proben in die Taschen wurde eine konstante Spannung von 100 Volt für 90 min. angelegt. Die Darstellung des Spaltmuster erfolgte unter UV-Licht (siehe 3.2.7.2.7). Das Restriktionsmuster, welches beim Verdau der Amplifikate mit den Restriktionsenzymen entstand, gab Aufschluss über die Spezies (*Chlamydophila psittaci* Alu I: 190, 69 bp; Pvu II: 189, 70 bp) (siehe 4.2.3).

4 Ergebnisse

4.1 Chlamydiennachweis mittels direkter Immunfluoreszenz nach Erregeranzüchtung in der BGM-Zellkultur

4.1.1 Direkter Immunfluoreszenztest (IFT)

Die Färbung der infizierten BGM-Zellen erfolgte mittels Chlamydia-Antigen-VET-IFT[®] der Firma Medac nach mitgelieferter Anleitung. Die Untersuchung fand mit dem Fluoreszenzmikroskop bei 600-facher Vergrößerung statt.

Eine Probe wurde als **positiv** beurteilt, wenn mindestens fünf apfelgrün fluoreszierende Chlamydienkörperchen (Retikular- und/oder Elementarkörperchen) zu sehen waren. Wurden nur ein bis zwei gesichtet, erfolgte eine erneute Passagierung der Probe, was zur Vermehrung der Chlamydien führte. Die extrazellulären Elementarkörperchen (0,3 µm), die am häufigsten vorkamen, fluoreszierten leuchtend apfelgrün vor einem Hintergrund mit rötlich-braun gegengefärbten Zellen. Die Retikularkörperchen stellten sich größer (0,5 bis 1,5 µm) dar, besaßen ein dunkles Zentrum umgeben von einem ringförmig fluoreszierenden Hof oder verhielten sich genauso wie die Elementarkörperchen.

Bei **negativ** beurteilten Proben waren keine typisch apfelgrün fluoreszierenden Chlamydienkörperchen nachweisbar, es waren jedoch BGM-Zellen mit der charakteristisch rötlich-braunen Färbung und Größe zu erkennen.

Als **nicht auswertbar** wurden Proben beurteilt, die trotz Passagierung und Filtration immer wieder verkeimten bzw. toxische Reaktionen der BGM-Zellen hervorriefen.

4.1.2 Hähnchen (Broiler) -schlachterei 1

In der Hähnchenschlachterei 1 wurden 152 Tupferproben und 21 Milzen entnommen und mittels eines direkten IFT auf *Chlamydomphila* sp. getestet. Bei der ersten Probeentnahme wurden 43, bei der zweiten und dritten jeweils 65 Proben entnommen. Der *Chlamydomphila* sp.-Nachweis gelang bei 8 % der entnommenen Proben, wobei bei der ersten Probeentnahme 5 %, bei der zweiten 11 % und bei der dritten 6 % der Proben *Chlamydomphila* sp.-positiv reagierten (Tab. 28, Abb. 8).

Tabelle 28: Nachweishäufigkeit (%/n) *Chlamydomphila* sp. je Probeentnahme und im Vergleich zur Gesamtprobenanzahl mittels IFT.

HS 1 / IFT	1. Pr.		2. Pr.		3. Pr.		1. bis 3. Pr.	
	%	n	%	n	%	n	%	n
<i>Chlamydomphila</i> sp.	5	2	11	7	6	4	8	13
nicht auswertbar *B	12	5	25	16	11	7	16	28
negativ	84	36	65	42	83	54	76	132
Gesamt	100	43	100	65	100	65	100	173

*B: Keimgehalt; Zellen toxisch verändert

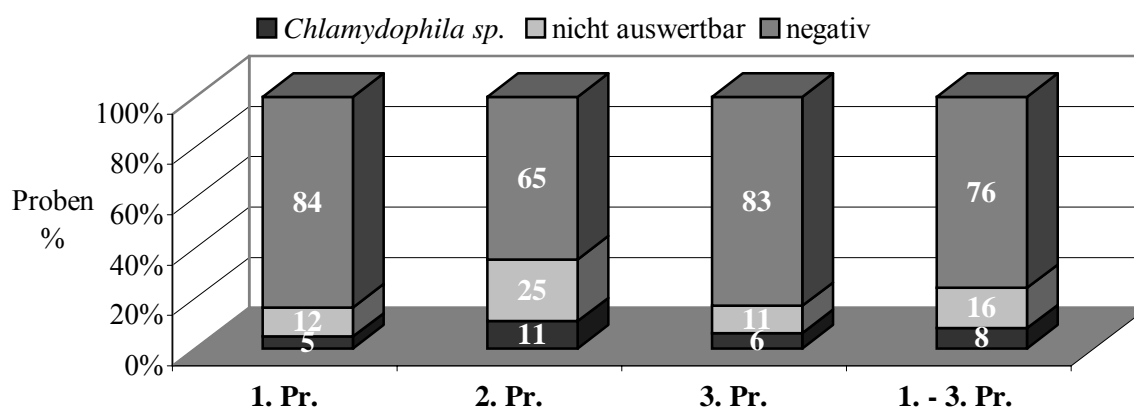


Abbildung 8: Nachweishäufigkeit (%) *Chlamydomphila* sp. HS 1 mittels IFT

In der Hähnchenschlachterei 1 gelangen *Chlamydomphila* sp.-Nachweise in den Betriebsbereichen Einhängen, Entbluten, Eviszation, Zerlegung sowie bei den Arbeitsgeräten. Im Verpackungsbereich, Produktionsbüro, bei den Transportkäfigen, im Bereich Sonstige (Konfiskate, Kunststoffgriffe) sowie bei den Milzen waren alle Proben negativ (Tab. 29, Abb. 9).

Tabelle 29: Nachweis Häufigkeit (%/n) *Chlamydomphila* sp. je Betriebsbereich mittels IFT (alle Probeentnahmen zusammengefasst).

HS 1 / IFT	Einhängen		Entbluten		Evis- zation *2		Zerlegung		Ver- packung		Büro		Milz		Käfige		Sonstige *1		Arbeits- geräte *3		
	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	
Proben (%/n)																					
<i>Chlamydomphila</i> sp.	13	3	17	4	5	1	17	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	1	
nicht auswertbar *B	13	3	17	4	10	2	4	1	8	2	0	0	0	57	12	0	0	4	0	0	
negativ	75	18	67	16	85	17	79	19	92	22	100	12	43	9	100	4	50	4	92	11	
Gesamt	100	24	100	24	100	20	100	24	100	24	100	12	100	21	100	4	100	8	100	12	

*B: Keimgehalt; Zellen toxisch verändert

*1: Sonstige: Kunststoffgriffe, Konfiskate

*2: Eviszationsbereich: Kloakenschneider, Lebersepariersystem, Innereintrennung, Leberwäscher, Lungensauger

*3: Arbeitsgeräte: Gummihandschuhe, Messer, Kunststoffschürzen

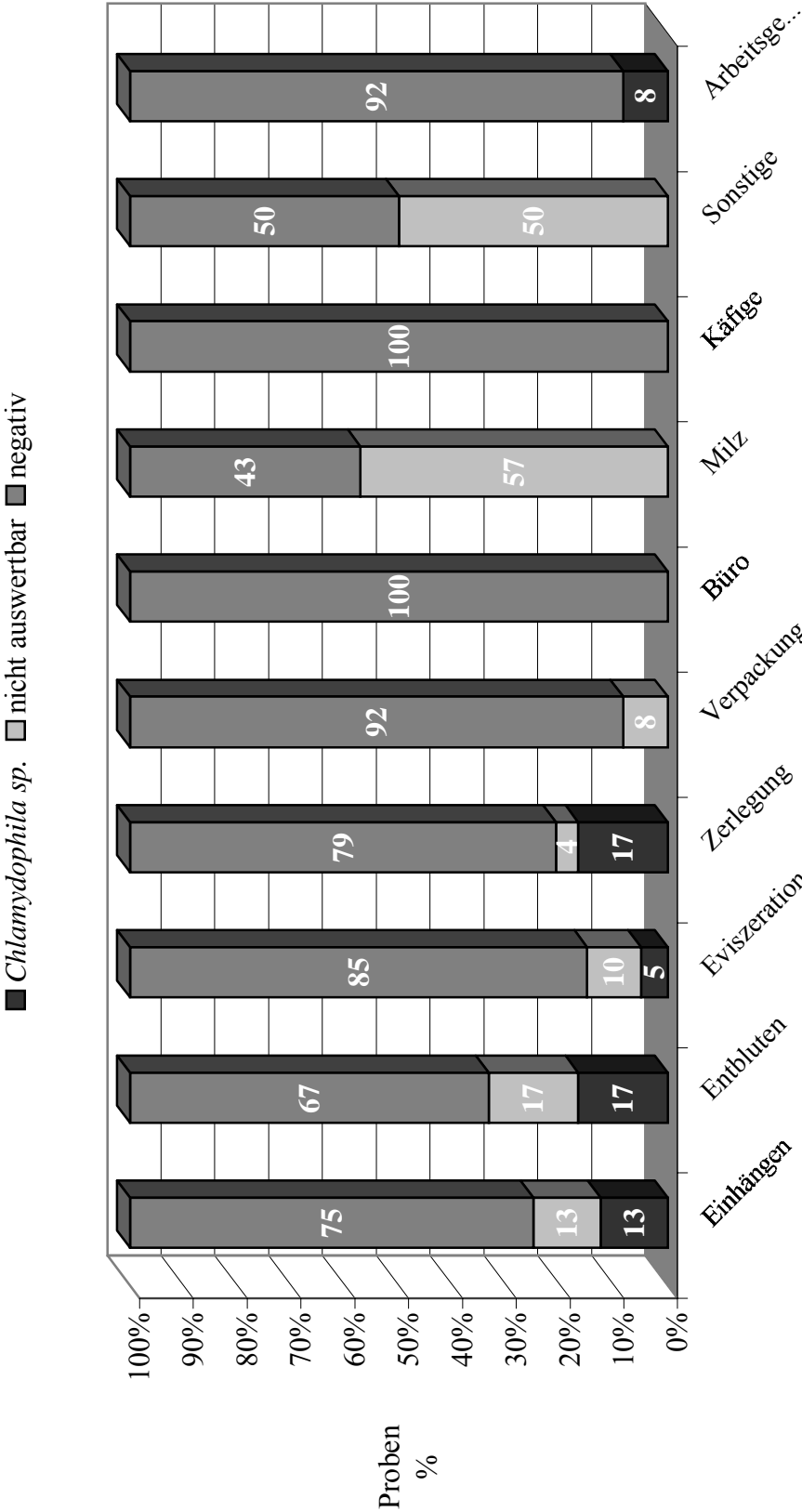


Abbildung 9: Nachweisfrequenz (%) *Chlamydomphila* sp. je Betriebsbereich mittels IFT in der HS 1

4.1.3 Hähnchen (Broiler) -schlachtere i 2

In der Hähnchenschlachtere i 2 wurden 152 Tupferproben und 21 Milzen entnommen und mittels eines direkten IFT auf *Chlamydoiphila* sp. untersucht. Bei der ersten Probeentnahme wurden 43, bei der zweiten und dritten jeweils 65 Proben entnommen. Der *Chlamydoiphila* sp.-Nachweis gelang bei 10 % der entnommenen Proben, wobei bei der ersten Probeentnahme 7 %, bei der zweiten 17 % und bei der dritten 6 % der Proben *Chlamydoiphila* sp.-positiv reagierten (Tab. 30, Abb. 10).

Tabelle 30: Nachweishäufigkeit (%/n) *Chlamydoiphila* sp. je Probeentnahme und im Vergleich zur Gesamtprobenanzahl mittels IFT.

HS 2 / IFT	1. Pr.		2. Pr.		3. Pr.		1. bis 3. Pr.	
Proben (%/n)	%	n	%	n	%	n	%	n
<i>Chlamydoiphila</i> sp.	7	3	17	11	6	4	10	18
nicht auswertbar *B	12	5	17	11	15	10	15	26
negativ	81	35	66	43	78	51	75	129
Gesamt	100	43	100	65	100	65	100	173

*B: Keimgehalt; Zellen toxisch verändert

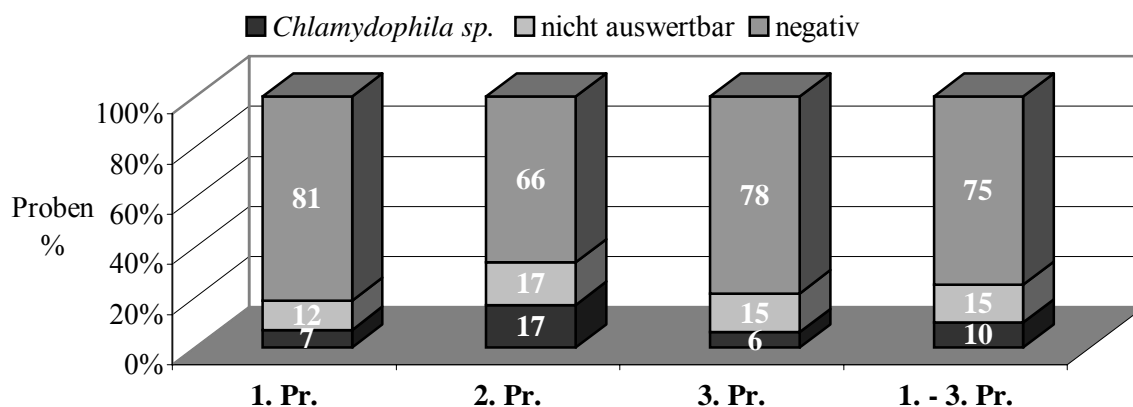


Abbildung 10: Nachweishäufigkeit (%) *Chlamydoiphila* sp. HS 2 mittels IFT

In der Hähnchenschlachtere i 2 gelangen *Chlamydoiphila* sp.-Nachweise in den Betriebsbereichen Einhängen, Entbluten, Eviszeration, Zerlegung, Verpackung, Arbeitsgeräte sowie bei den Milzen. Lediglich in den Produktionsbüros, bei den Transportkäfigen und im Bereich Sonstige (Konfiskate, Kunststofftürgriffe, Sterilisationsbecken) waren alle Proben negativ (Tab. 31, Abb. 11).

Tabelle 31: Nachweis Häufigkeit (%/n) *Chlamydomphila sp.* je Betriebsbereich mittels IFT (alle Probeentnahmen zusammengefasst).

HS 2 / IFT	Einhängen		Entbluten		Eviszeration *2		Zerlegung		Verpackung		Büro		Milz		Käfige		Sonstige *1		Arbeitsgeräte *3				
	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%			
Probeentnahme	1.-3.		1.-3.		1.-3.		1.-3.		1.-3.		1.-3.		1.-3.		1.-3.		1.-3.		1.-3.				
Proben (%/n)																							
<i>Chlamydomphila sp.</i>		13		4		19		3		17		4		5		1		0		0		8	
nicht auswertbar *B	13		17		6		1		4		1		0		62		13		0		33		4
negativ	75		79		75		12		79		19		19		33		7		100		67		8
Gesamt	100		100		100		16		100		24		24		100		21		100		100		12

*B: Keimgehalt; Zellen toxisch verändert

*1: Sonstige: Kunststoffgriffe, Konfiskate, Sterilisationsbecken

*2: Eviszerationsbereich: Innereienausnehmer, Lebersepariersystem, Innereientrennung, Lungensauger

*3: Arbeitsgeräte: Kettenhandschuhe, Messer, Kunststoffschürzen

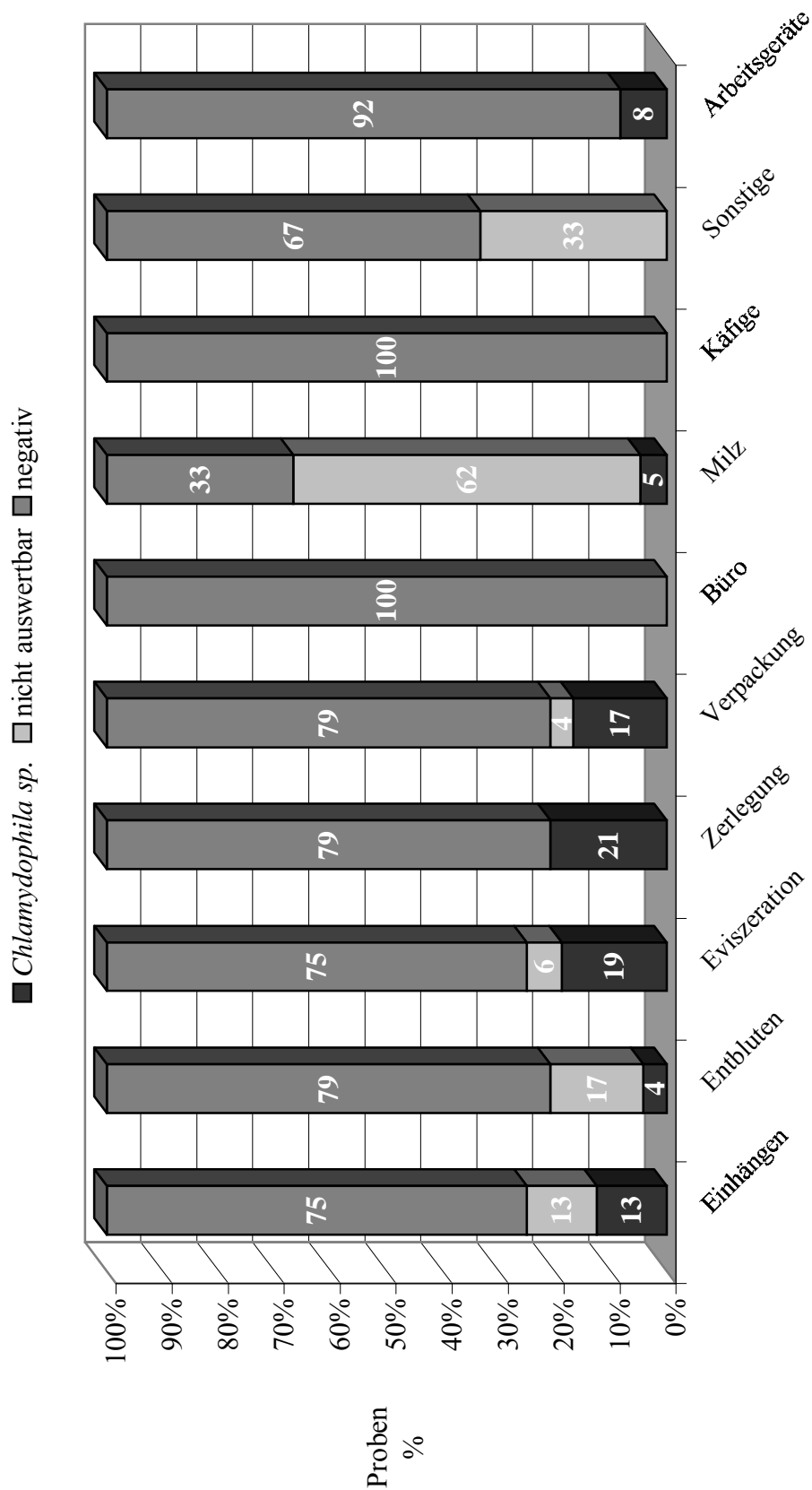


Abbildung 11: Nachweisshäufigkeit (%) *Chlamydomytila* sp. je Betriebsbereich mittels IFT in der HS 2

4.1.4 Putenschlachtereier 1

In der Putenschlachtereier 1 wurden 146 Tupferproben und 21 Milzen entnommen und mittels des direkten IFT auf *Chlamydoiphila* sp. untersucht. Bei der ersten Probeentnahme wurden 43, bei der zweiten 63 und der dritten 61 Proben entnommen. Der *Chlamydoiphila* sp.-Nachweis gelang bei 9 % der entnommenen Proben, wobei bei der ersten Probeentnahme 7 %, bei der zweiten 10 % und bei der dritten ebenfalls 10 % der Proben *Chlamydoiphila* sp.-positiv reagierten (Tab. 32, Abb. 12).

Tabelle 32: Nachweishäufigkeit (%/n) *Chlamydoiphila* sp. je Probeentnahme und im Vergleich zur Gesamtprobenanzahl mittels IFT.

PS 1 / IFT	1. Pr.		2. Pr.		3. Pr.		1. bis 3. Pr.	
	%	n	%	n	%	n	%	n
<i>Chlamydoiphila</i> sp.	7	3	10	6	10	6	9	15
nicht auswertbar *B	9	4	24	15	7	4	14	23
negativ	84	36	67	42	84	51	77	129
Gesamt	100	43	100	63	100	61	100	167

*B: Keimgehalt; Zellen toxisch verändert

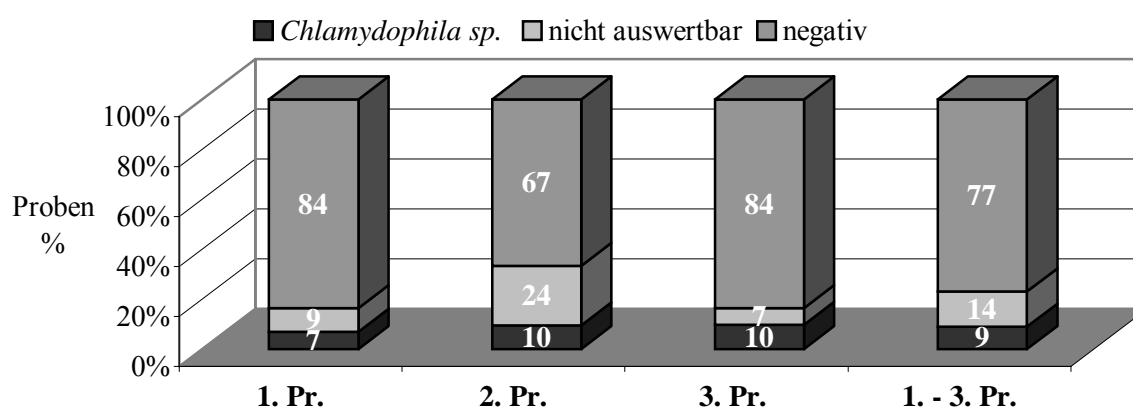


Abbildung 12: Nachweishäufigkeit (%) *Chlamydoiphila* sp. PS 1 mittels IFT

In der Putenschlachtereier 1 gelangen *Chlamydoiphila* sp.-Nachweise in den Betriebsbereichen Einhängen, Entbluten, Eviszeration, Zerlegung, Verpackung, Produktionsbüros sowie bei den Transportkäfigen. In den Bereichen Brühen & Rupfen, Sonstige (Kunststofftürgriffe, Konfiskate), Arbeitsgeräte sowie bei den Milzen waren alle Proben negativ (Tab. 33, Abb. 13).

Tabelle 33: Nachweis Häufigkeit (%/n) *Chlamydomphila* sp. je Betriebsbereich mittels IFT (alle Probeentnahmen zusammengefasst).

PS1 / IFT	Einhängen		Entbluten		Brühen & Rupfen		Eviszeration *2		Zerlegung		Verpackung		Büro		Milz		Käfige		Sonstige *1		Arbeitsgeräte *3	
	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%
Probeentnahme	1.-3.		1.-3.		1.-3.		1.-3.		1.-3.		1.-3.		1.-3.		1.-3.		1.-3.		1.-3.		1.-3.	
Proben (%/n)																						
<i>Chlamydomphila</i> sp.	8	1	4	1	0	0	7	1	17	4	25	6	8	1	0	0	25	1	0	0	0	0
nicht auswertbar *B	0	0	21	5	0	0	7	1	8	2	8	2	0	0	0	43	9	25	1	38	3	0
negativ	92	11	75	18	100	12	86	12	75	18	67	16	92	11	57	12	50	2	63	5	100	12
Gesamt	100	12	100	24	100	12	100	14	100	24	100	24	100	12	100	21	100	4	100	8	100	12

*B: Keimgehalt; Zellen toxisch verändert

*1: Sonstige: Kunststofffüßgriffe, Konfiskate

*2: Eviszerationsbereich: Kloakenschneider, Bauchhöhlenschneider, Lungensauger, Leberwäscher

*3: Arbeitsgeräte: Kettenhandschuhe, Messer, Kunststoffschürzen

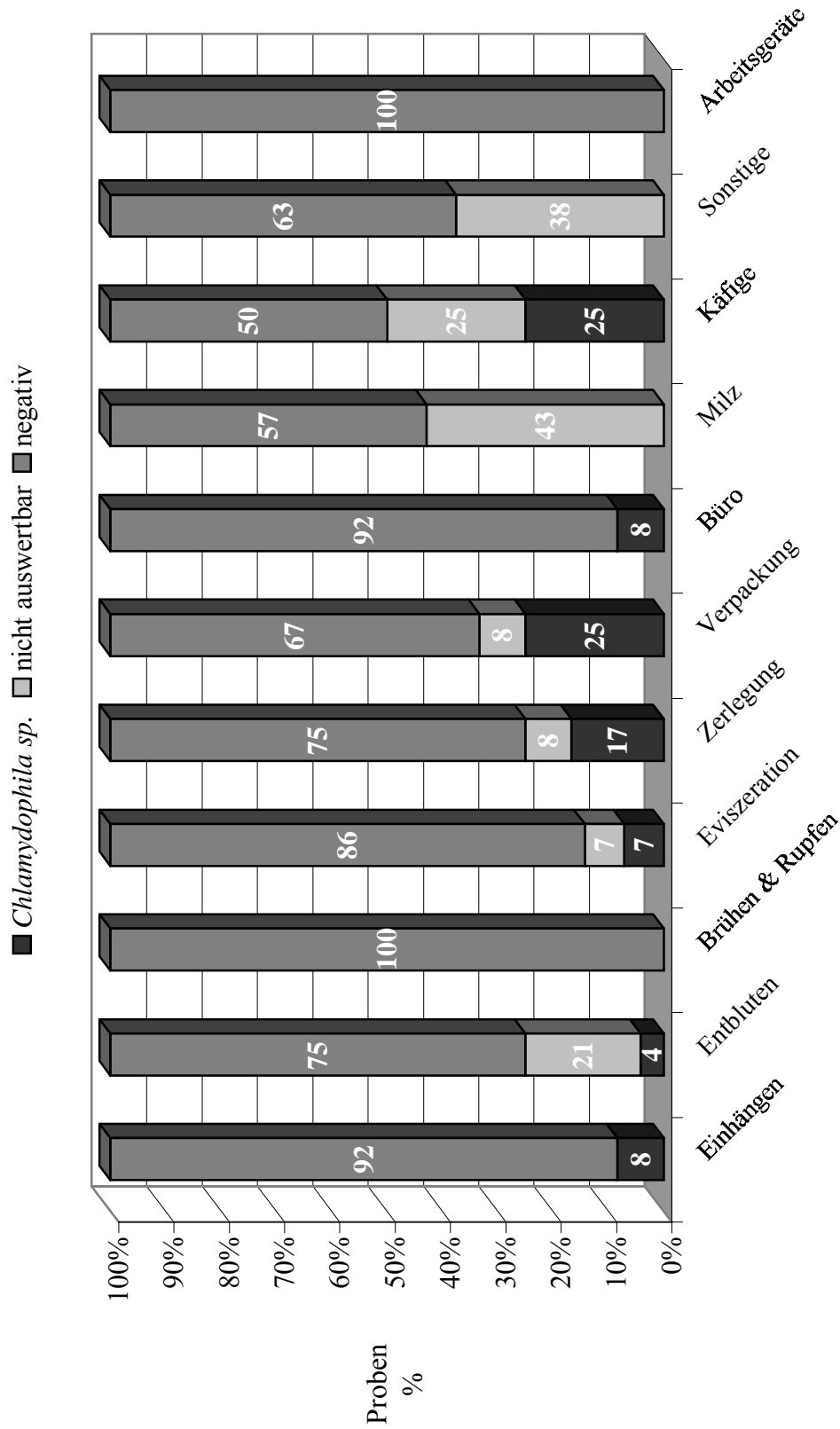


Abbildung 13: Nachweisshäufigkeit (%) *Chlamydomytila* sp. je Betriebsbereich mittels IFT in der PS 1

4.1.5 Putenschlachtereier 2

In der Putenschlachtereier 2 wurden 140 Tupferproben und 21 Milzen entnommen und mittels eines direkten IFT auf *Chlamydomphila* sp. untersucht. Bei der ersten Probeentnahme wurden 43, bei der zweiten und dritten jeweils 59 Proben entnommen. Der *Chlamydomphila* sp.-Nachweis gelang bei 17 % der entnommenen Proben, wobei bei der ersten Probeentnahme 21 %, bei der zweiten 22 % und bei der dritten ebenfalls 8 % der Proben *Chlamydomphila* sp.-positiv reagierten (Tab. 34, Abb. 14).

Tabelle 34: Nachweishäufigkeit (%/n) *Chlamydomphila* sp. je Probeentnahme und im Vergleich zur Gesamtprobenanzahl mittels IFT.

PS 2 / IFT	1. Pr.		2. Pr.		3. Pr.		1. bis 3. Pr.	
	%	n	%	n	%	n	%	n
<i>Chlamydomphila</i> sp.	21	9	22	13	8	5	17	27
nicht auswertbar *B	23	10	24	14	20	12	22	36
negativ	56	24	54	32	71	42	61	98
Gesamt	100	43	100	59	100	59	100	161

*B: Keimgehalt; Zellen toxisch verändert

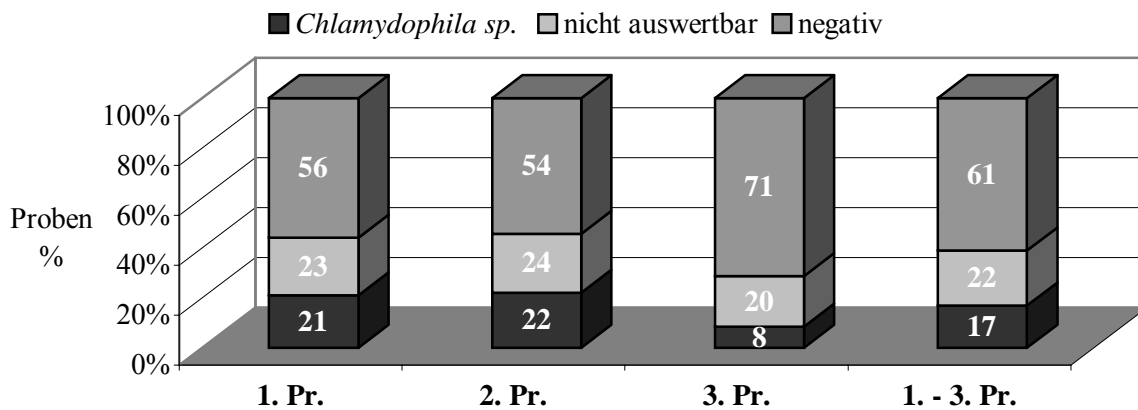


Abbildung 14: Nachweishäufigkeit (%) *Chlamydomphila* sp. PS 2 mittels IFT

In der Putenschlachtereier 2 gelangen *Chlamydomphila* sp.-Nachweise in den Betriebsbereichen Einhängen, Entbluten, Eviszation, Umhängerraum und Arbeitsgeräte. In den Bereichen Brühen & Rupfen, Produktionsbüros, Transportkäfige, Sonstige (Kunststofftürgriffe, Konfiskate) sowie bei den Milzen waren alle Proben negativ (Tab. 35, Abb. 15).

Tabelle 35: Nachweis Häufigkeit (%/n) *Chlamydothila* sp. je Betriebsbereich mittels IFT (alle Probeentnahmen zusammengefasst).

PS 2 / IFT	Einhängen		Entbluten		Brühen & Rupfen		Eviszeration *2		Umhängeraum		Büro		Milz		Käfige		Sonstige *1		Arbeitsgeräte *3		
	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	
Proben (%/n)																					
<i>Chlamydothila</i> sp.	33	4	8	2	0	0	32	14	25	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	33	4
nicht auswertbar *B	17	2	42	10	8	1	14	6	0	0	0	0	57	12	25	1	50	4	0	0	0
negativ	50	8	50	12	92	11	55	24	75	9	100	12	43	9	75	3	50	4	67	8	8
Gesamt	100	12	100	24	100	12	100	44	100	12	100	12	100	21	100	4	100	8	100	12	12

*B: Keimgehalt; Zellen toxisch verändert

*1: Sonstige: Kunststoffgriffe, Konfiskate

*2: Eviszerationsbereich: Ausnehmer, Lungensauger, Lebersepariersystem, Semi-automatische Innereientrennung

*3: Arbeitsgeräte: Kettenhandschuhe, Messer, Kunststoffschürzen

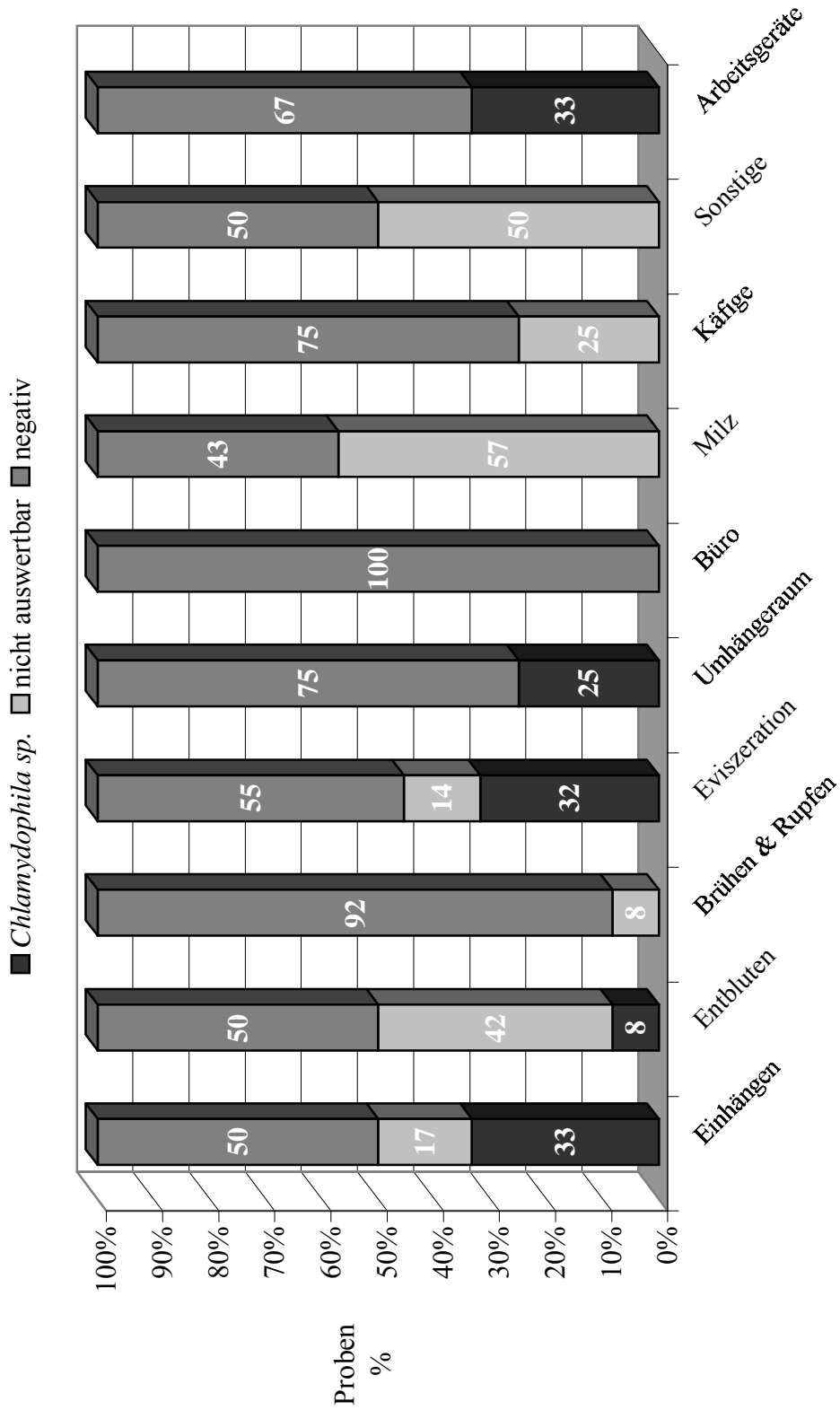


Abbildung 15: Nachweis Häufigkeit (%) *Chlamydomyphila sp.* je Betriebsbereich mittels IFT in der PS 2

4.1.6 Vergleiche zwischen den vier Schlachtereien

In der Putenschlachterei 2 gelangen mittels IFT mit 17 % die meisten *Chlamydomphila* sp.-Nachweise. An zweiter Stelle mit 10 % *Chlamydomphila* sp.-Nachweisen ist die Hähnchenschlachterei 2 zu nennen, gefolgt von der Putenschlachterei 1 mit 9 % und der Hähnchenschlachterei 1 mit 8 % *Chlamydomphila* sp.-Nachweisen (Tab. 36, Abb. 16).

Tabelle 36: Nachweishäufigkeit (%/n) *Chlamydomphila* sp. je Schlachterei mittels IFT (alle Probeentnahmen zusammengefasst).

IFT	HS 1		HS 2		PS 1		PS 2	
	%	n	%	n	%	n	%	n
Proben (%/n)								
<i>Chlamydomphila</i> sp.	8	13	10	18	9	15	17	27
nicht auswertbar *B	16	28	15	26	14	23	22	36
negativ	76	132	75	129	77	129	61	98
Gesamt	100	173	100	173	100	167	100	161

*B : Keimgehalt; Zellen toxisch verändert

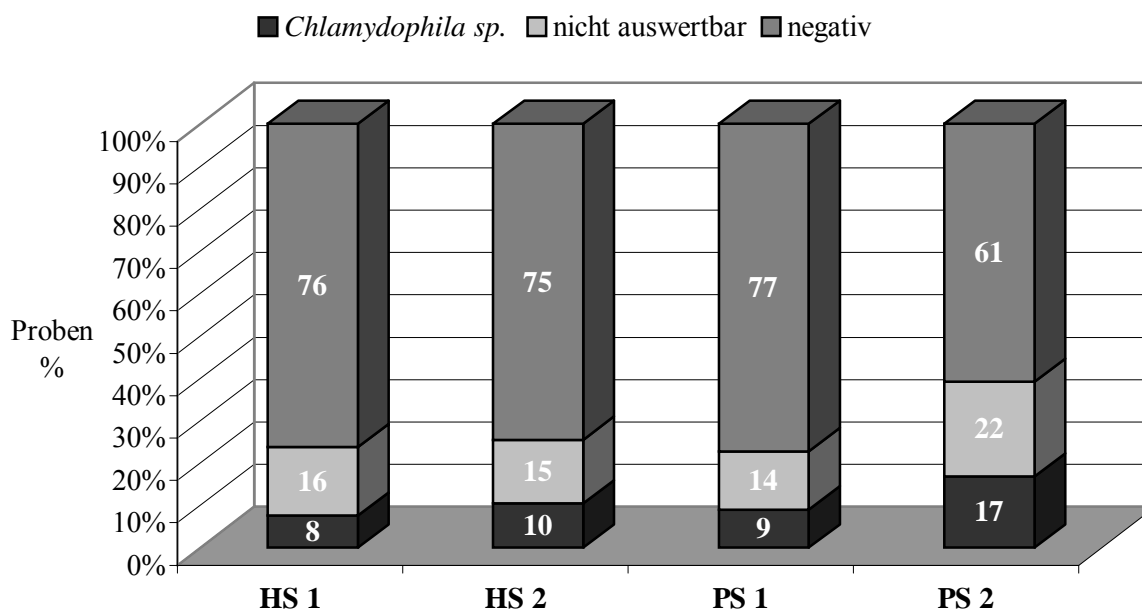


Abbildung 16: Nachweishäufigkeit (%) *Chlamydomphila* sp. mittels IFT je Schlachterei

4.1.7 Vergleiche zwischen ähnlichen Betriebsbereichen

Die Abteilung Brühen & Rupfen wurde nur bei den Putenschlachtereien (PS 1, PS 2), der Umhängeraum nur bei der Putenschlachtereier 2 beprobt. Da in der Putenschlachtereier 2 ausschließlich die Schlachtung der Tiere erfolgte, existierten die Bereiche Zerlegung und Verpackung nicht. Alle übrigen aufgeführten Betriebsbereiche wurden bei allen vier Schlachtereien beprobt.

Mittels des direkten Immunfluoreszenztests gelang der Nachweis von *Chlamydophila* sp. in allen Betriebsbereichen außer in den Gebieten Brühen & Rupfen und Sonstige (Kunststoffgriffe, Konfiskate, Sterilisationsbecken [HS 2]). Die höchste Nachweisrate war im Eviszerationsbereich (20 %/n=19) zu verzeichnen. Aber auch in den Bereichen Zerlegung, Einhängen, Verpackung, Arbeitsgeräte (Kettenhandschuhe, Gummihandschuhe [HS 1], Messer, Kunststoffschürzen), Entbluten, Transportkäfige, Produktionsbüros, Umhängeraum sowie bei Milzen waren Chlamydiennachweise möglich.

Die Anzahl an nicht auswertbaren Proben war beim IFT höher als bei der PCR. Bei den Milzen (55 %/n=46) und im Bereich Sonstige (42 %/n=15) war die Anzahl an nicht auswertbaren Proben besonders hoch. Das Problem der Verkeimung sowie toxische Reaktionen der BGM-Zellen waren allgegenwärtig, was sich in der hohen Zahl an nicht auswertbaren Proben äußerte (Tab. 37, Abb. 17).

Tabelle 37: Nachweis Häufigkeit (%/n) *Chlamydothila* sp. je Betriebsbereich mittels IFT (alle Probeentnahmen und Schlachtereien zusammengefasst).

IFT	Einhängen		Entbluten		Brühen & Rupfen		Eviszeration		Umhängeraum		Zerlegung		Verpackung		Büro		Milz		Käfige		Sonstige		Arbeitsgeräte	
	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n
Schlachtereie	HS 1/2; PS 1/2	HS 1/2; PS 1/2	HS 1/2; PS 1/2	HS 1/2; PS 1/2	HS 1/2; PS 1/2	PS 2	HS 1/2; PS 1/2	HS 1/2; PS 1/2	HS 1/2; PS 1/2	HS 1/2; PS 1/2	HS 1/2; PS 1/2	HS 1/2; PS 1/2	HS 1/2; PS 1/2	HS 1/2; PS 1/2	HS 1/2; PS 1/2	HS 1/2; PS 1/2	HS 1/2; PS 1/2	HS 1/2; PS 1/2	HS 1/2; PS 1/2	HS 1/2; PS 1/2	HS 1/2; PS 1/2	HS 1/2; PS 1/2	HS 1/2; PS 1/2	HS 1/2; PS 1/2
Proben (%/n)																								
<i>Chlamydothila</i> sp.	15	11	8	8	0	3	18	13	14	10	2	1	1	6	1	1	1	6	1	0	0	13	6	
nicht auswertbar *B	11	8	24	23	4	1	11	10	0	0	4	3	7	5	0	0	55	46	13	2	42	15	0	0
negativ	74	53	68	65	96	23	69	65	75	9	78	56	79	57	98	47	44	37	81	13	58	21	88	42
Gesamt	100	72	100	96	100	24	100	94	100	12	100	72	100	72	100	48	100	84	100	16	100	36	100	48

*B: Keimgehalt; Zellen toxisch verändert

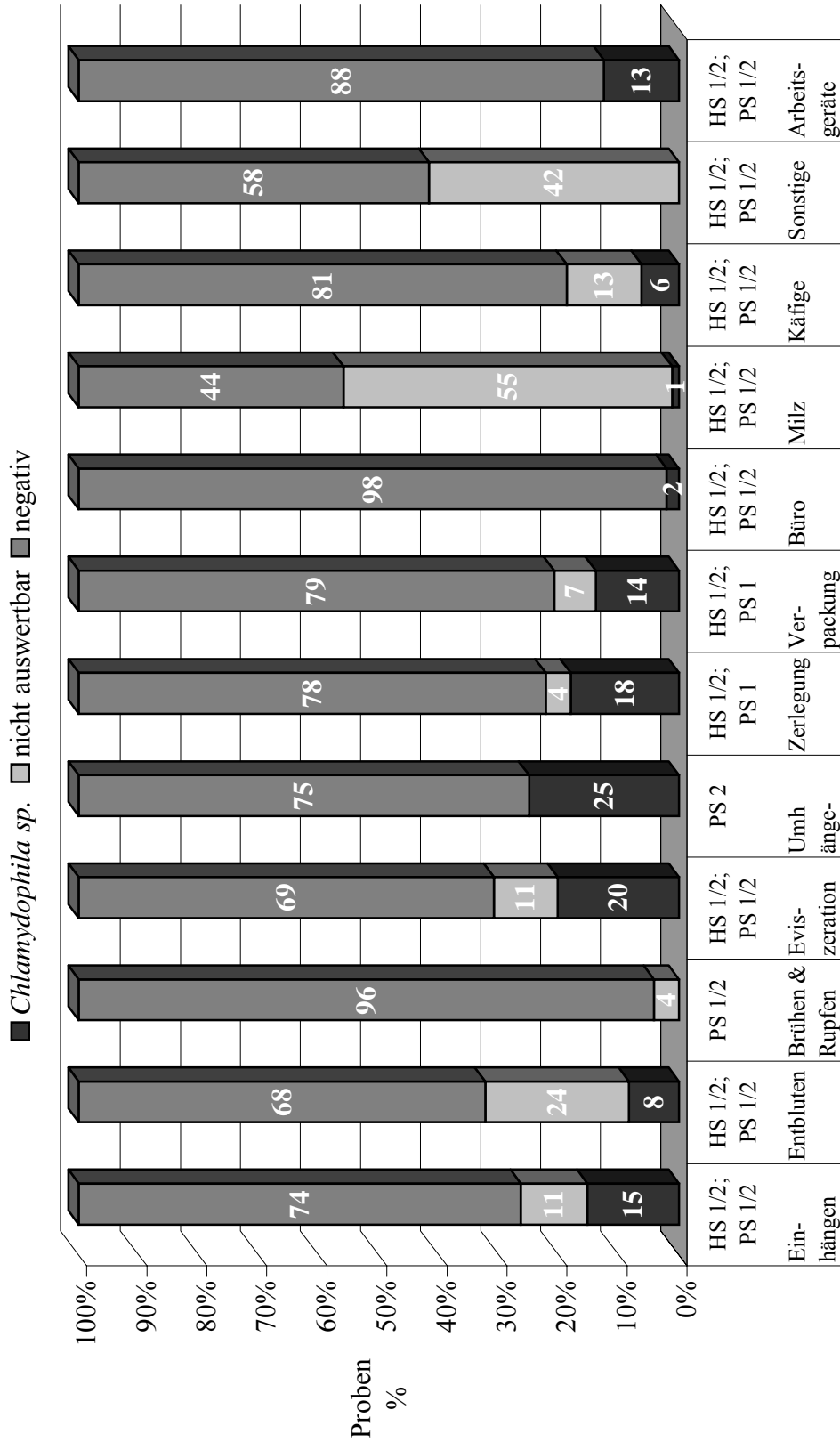


Abbildung 17: Nachweis Häufigkeit (%) *Chlamydoxiphila* sp. mittels IFT je Betriebsbereich

4.2 Chlamydiennachweis mittels Polymerase-Ketten-Reaktion mit anschließender Restriktionsenzymanalyse

Für die Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) wurden die selben Proben wie für den direkten Immunfluoreszenztest herangezogen und auf *Chlamydomphila psittaci* untersucht.

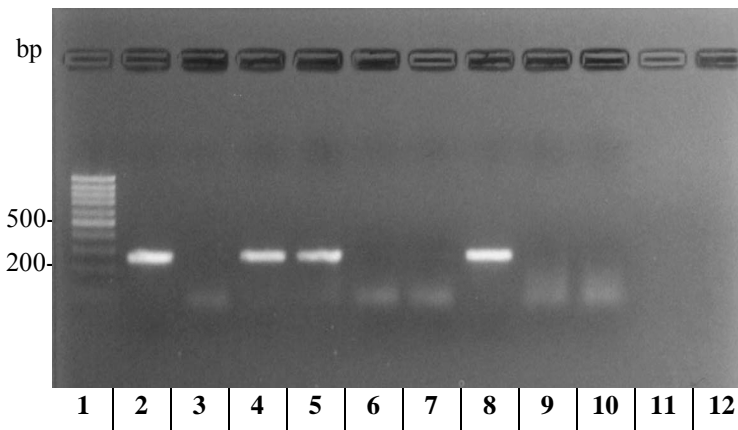
4.2.1 Chlamydiennachweis mittels PCR

Nach der DNA-Extraktion mit dem QIAamp DNA Blood Mini Kit[®] (Tupferproben) oder dem DNeasy[™] Tissue Kit[®] (Organproben) wurde eine genuspezifische PCR (YOSHIDA et al., 1998) durchgeführt (siehe 3.2.7.2). Als Positiv-Kontrolle wurden 5 µl inaktivierte *Chlamydomphila psittaci* eingesetzt, welche aus dem Institut für Hygiene und Infektionskrankheiten der Tiere der Justus-Liebig-Universität Gießen stammten. Als Negativ-Kontrolle wurde statt der DNA-Probe 5 µl Aqua bidest. eingesetzt. Die unter 3.2.7.2.6 beschriebenen Arbeitsbedingungen wurden streng eingehalten um eine Kontamination mit Fremd-DNA zu vermeiden. Je Reaktionsansatz (50 µl) wurden 28,91 µl A. bidest., 5 µl 10-fach Puffer, 3,34 µl MgCl₂ (1,67 mM), 2,50 µl dNTP's (800 µM), 2,50 µl Primer 1 (0,5 µM), 2,50 µl Primer 2 (0,5 µM), 0,25 µl Polymerase (1,25 U) und 5 µl DNA-Probe eingesetzt (siehe 3.2.7.2.3). Das Reaktionsgemisch wurde sofort nach der Herstellung in den Thermocycler eingesetzt und dieser nach der Vorwärmphase gestartet. Die Darstellung des Spaltmusters erfolgte mittels Agarose-Gel-Elektrophorese. Durch den Standard-DNA-Marker ließ sich die Größe der PCR-Amplifikate ermitteln.

Als *Chlamydomphila sp.-positiv* konnte eine Probe bewertet werden, wenn unter UV-Licht eine Bande in der entsprechenden Größe (245 bis 259 Basenpaare) sichtbar wurde und diese mit der Positiv-Kontrolle übereinstimmte. Die Bande der *Chlamydomphila psittaci*-positiv-Kontrolle musste eine Größe von 259 Basenpaaren (bp) haben (Tab. 38, Abb. 18). Als **negativ** wurde eine Probe bewertet, wenn keine DNA-Bande sichtbar war. **Nicht auswertbar** war Schmier im Gel. Hier wurde eine Wiederholung der PCR durchgeführt, ergab diese dasselbe Ergebnis, wurde die Probe als nicht auswertbar beurteilt.

Tabelle 38: Größe PCR-Amplifikate.

Spezies	PCR-Amplifikat
<i>Chlamydophila psittaci</i>	259 Basenpaare
<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	258 Basenpaare
<i>Chlamydia trachomatis</i>	245 Basenpaare

**Abbildung 18:** Nachweis *Chlamydophila* sp. mittels PCR.

Spur 1: 100 bp Ladder

Spur 2: Positiv-Kontrolle

Spur 3: Negativ-Kontrolle

Spur 4: *Chlamydophila* sp.-positiv

Spur 5: *Chlamydophila* sp.-positiv

Spur 6: *Chlamydophila* sp.-negativ

Spur 7: *Chlamydophila* sp.-negativ

Spur 8: *Chlamydophila* sp.-positiv

Spur 9: *Chlamydophila* sp.-negativ

Spur 10: *Chlamydophila* sp.-negativ

Spur 11: leere Spur

Spur 12: leere Spur

4.2.2 Sensitivität der PCR

Zur Ermittlung der Sensitivität der PCR wurde eine Verdünnungsreihe mit einer inaktivierten *Chlamydophila psittaci*-Suspension hergestellt (siehe 3.2.7.2.8). Von jeder Verdünnungsstufe wurden 5 µl in die PCR eingesetzt um die Nachweisgrenze zu ermitteln. Bei einer Anzahl von 36,5 Molekülen Chlamydien-DNA/Reaktionsansatz war noch eine Bande in der entsprechenden Größe visualisierbar. Bei der nächst höheren Verdünnungsstufe war keine Bande mehr in der entsprechenden Größe sichtbar. Die

Nachweisgrenze der angewendeten PCR lag somit bei ca. 37 Molekülen Chlamydien-DNA/Reaktionsansatz (Tab. 39, Abb. 19).

Tabelle 39: Nachweisgrenze der angewendeten PCR.

Nr.	Verdünnung	Moleküle Chlamydien-DNA/PCR-Ansatz	Chlamydien	Ergebnis PCR
V0		$3,65 * 10^6$		positiv
V1	10 µl V0 + 90 µl TE	$3,65 * 10^5$		positiv
V2	10 µl V1 + 90 µl TE	$3,65 * 10^4$		positiv
V3	10 µl V2 + 90 µl TE	$3,65 * 10^3$		positiv
V4	10 µl V3 + 90 µl TE	$3,65 * 10^2$		positiv
V5	10 µl V4 + 90 µl TE	$3,65 * 10^1$	$36,5 \approx 37$	positiv
V6	10 µl V5 + 90 µl TE	$3,65 * 10^0$	$3,65 \approx 4$	negativ

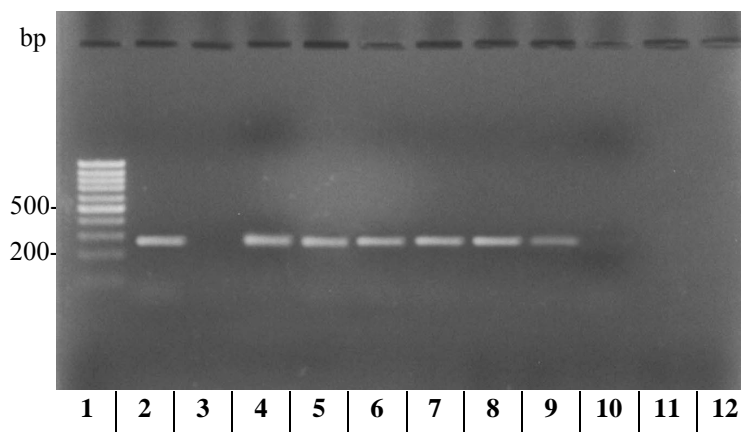


Abbildung 19: Verdünnungsreihe *Chlamydia psittaci*.

Spur 1: 100 bp Ladder

Spur 2: Positiv-Kontrolle

Spur 3: Negativ-Kontrolle

Spur 4: V0 / *Chlamydia* sp.-positiv

Spur 5: V1 / *Chlamydia* sp.-positiv

Spur 6: V2 / *Chlamydia* sp.-positiv

Spur 7: V3 / *Chlamydia* sp.-positiv

Spur 8: V4 / *Chlamydia* sp.-positiv

Spur 9: V5 / *Chlamydia* sp.-positiv

Spur 10: V6 / *Chlamydia* sp.-negativ

Spur 11: leere Spur

Spur 12: leere Spur

4.2.3 *Chlamydophila psittaci*-Nachweis mittels Restriktionsenzymanalyse

Beim Nachweis von *Chlamydophila* sp. mittels der genusspezifischen PCR, erfolgte eine enzymatische Verdauung des PCR-Amplifikats mit den Restriktionsenzymen Alu I und Pvu II, was zur Speziesdifferenzierung diente (siehe 3.2.7.3). Die Darstellung des Spaltmusters erfolgte mittels Agarose-Gel-Elektrophorese. Die zuvor in der PCR eingesetzte Positiv- und Negativ-Kontrolle diente bei der Restriktionsenzymanalyse ebenfalls als Positiv- und Negativ-Kontrolle. Das Restriktionsmuster, welches beim Verdau der Amplifikate mit den Restriktionsenzymen Alu I und Pvu II entstand, gab Aufschluss über die Spezies (siehe Tab. 40, Abb. 20).

Tabelle 40: Schnittstellen der Restriktionsenzyme Alu I und Pvu II.

Spezies	PCR-Amplifikat	Schnittstellen Alu I	Schnittstellen Pvu II
<i>Chlamydophila psittaci</i>	259 Basenpaare	190, 69 Basenpaaren	189, 70 Basenpaaren
<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	258 Basenpaare	199, 59 Basenpaaren	keine Schnittstellen
<i>Chlamydia trachomatis</i>	245 Basenpaare	90, 89, 66 Basenpaaren	keine Schnittstellen
<i>Chlamydophila pecorum</i>	nicht dokumentiert	keine Schnittstellen	keine Schnittstellen

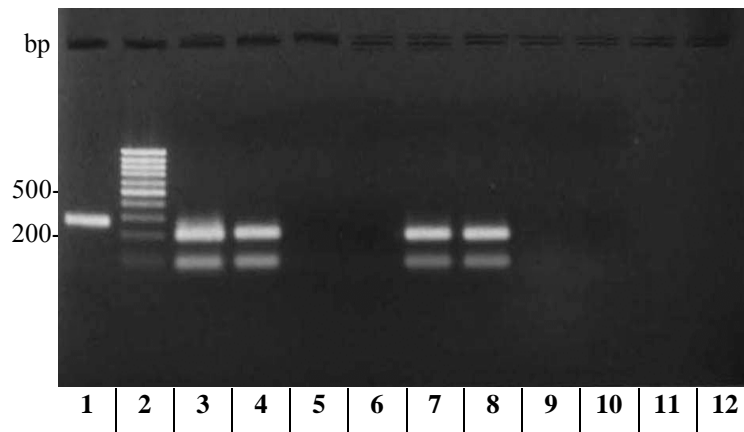


Abbildung 20: Nachweis *Chlamydomophila psittaci* mittels Restriktionsenzymanalyse.

Spur 1: Positiv-Kontrolle

Spur 2: 100 bp Ladder

Spur 3: *Chlamydomophila psittaci* (Alu I) (2 Banden)

Spur 4: *Chlamydomophila psittaci* (Pvu II) (2 Banden)

Spur 5: leere Spur

Spur 6: leere Spur

Spur 7: *Chlamydomophila psittaci* (Alu I) (2 Banden)

Spur 8: *Chlamydomophila psittaci* (Pvu II) (2 Banden)

Spur 9: Negativ-Kontrolle

Spur 10: leere Spur

Spur 11: leere Spur

Spur 12: leere Spur

4.2.4 Hähnchen (Broiler) -schlachterei 1

Der *Chlamydomphila psittaci*-Nachweis gelang in der Hähnchenschlachterei 1 mittels PCR bei 17 % der entnommenen Proben, wobei bei der ersten Probeentnahme 12 %, bei der zweiten 22 % und bei der dritten 17 % (n=11) der Proben *Chlamydomphila psittaci*-positiv reagierten (Tab. 41, Abb. 21).

Tabelle 41: Nachweishäufigkeit (%/n) *Chlamydomphila psittaci* je Probeentnahme und im Vergleich zur Gesamtprobenanzahl mittels PCR.

HS 1 / PCR	1. Pr.		2. Pr.		3. Pr.		1. bis 3. Pr.	
	%	n	%	n	%	n	%	n
<i>Chlamydomphila psittaci</i>	12	5	22	14	17	11	17	30
nicht auswertbar *A	16	7	9	6	6	4	10	17
negativ	72	31	69	45	77	50	73	126
Gesamt	100	43	100	65	100	65	100	173

*A : Schmier im Gel

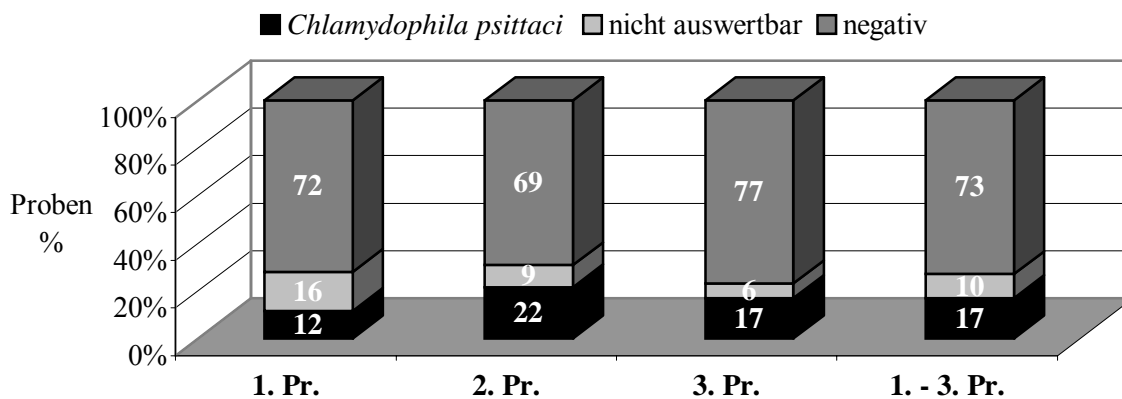


Abbildung 21: Nachweishäufigkeit (%) *Chlamydomphila psittaci* HS 1 mittels PCR

In der Hähnchenschlachterei 1 gelangen *Chlamydomphila psittaci*-Nachweise in den Betriebsbereichen Einhängen, Entbluten, Eviszeration (Bratfertig), Zerlegung, Verpackung, Arbeitsgeräte sowie bei den Milzen. In den Produktionsbüros, den Transportkäfigen sowie im Bereich Sonstige (Konfiskate, Kunststoffgriffe) waren alle Proben negativ (Tab. 42, Abb. 22).

Tabelle 42: Nachweis Häufigkeit (%/n) *Chlamydomphila psittaci* je Betriebsbereich mittels PCR (alle Probeentnahmen zusammengefasst).

HS 1 / PCR	Einhängen		Entbluten		Eviszeration *2		Zerlegung		Verpackung		Büro		Milz		Käfige		Sonstige*1		Arbeitsgeräte *3		
	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	
Proben (%/n)																					
<i>Chlamydomphila psittaci</i>	25	6	29	7	10	2	25	6	13	3	0	0	10	2	0	0	0	0	0	33	4
nicht auswertbar *A	4	1	17	4	10	2	8	2	4	1	0	0	33	7	0	0	0	0	0	0	0
negativ	71	17	54	13	80	16	67	16	83	20	100	12	57	12	100	4	100	8	67	8	8
Gesamt	100	24	100	24	100	20	100	24	100	24	100	12	100	21	100	4	100	8	100	12	12

*A: Schmier im Gel

*1: Sonstige: Kunststoffgriffe, Konfiskate

*2: Eviszerationsbereich: Kloakenschneider, Lebersepariersystem, Innereintrennung, Leberwäscher, Lungensauger

*3: Arbeitsgeräte: Gummihandschuhe, Messer, Kunststoffschürzen

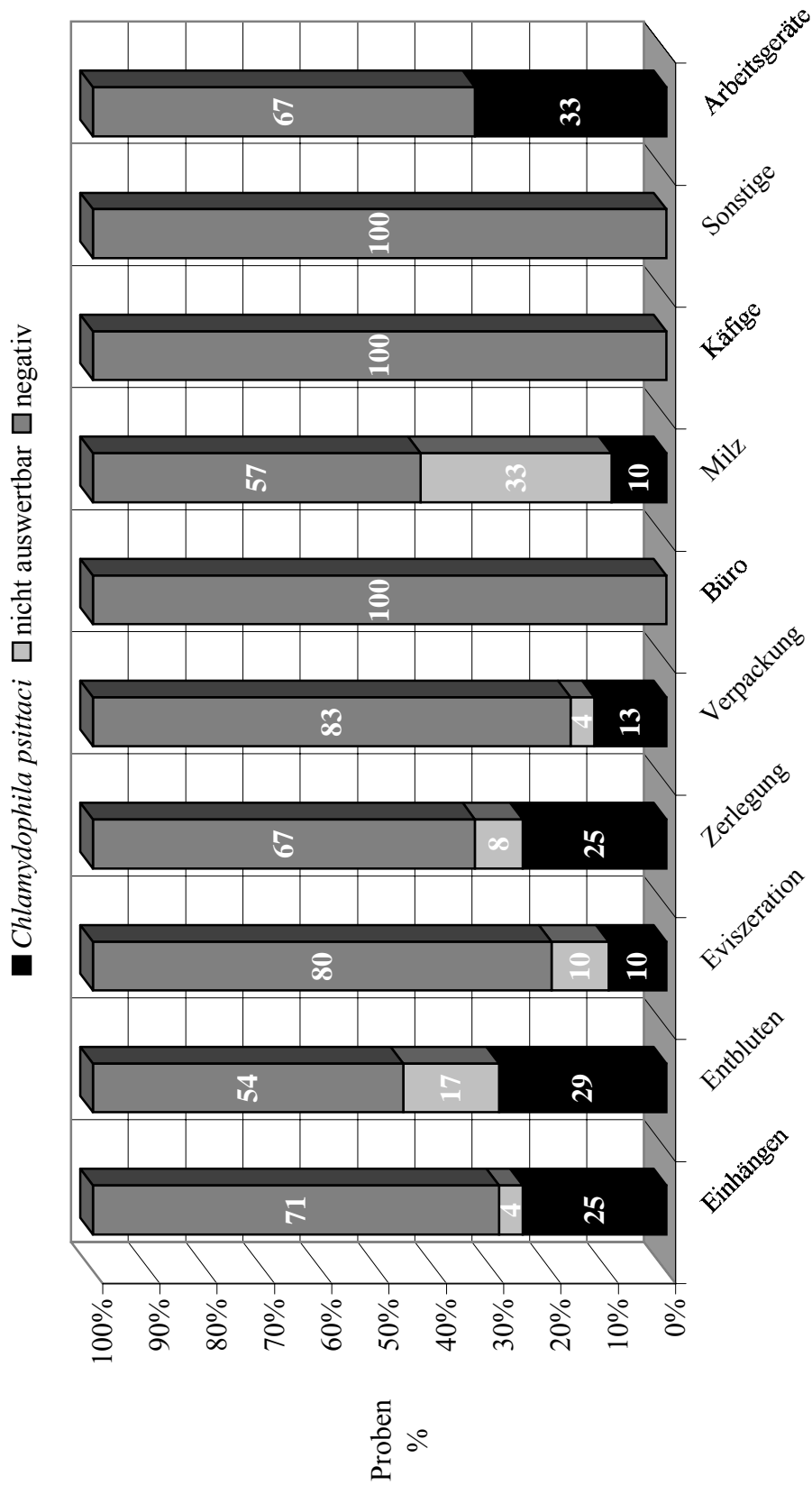


Abbildung 22: Nachweis Häufigkeit (%) *Chlamydomphila psittaci* je Betriebsbereich mittels PCR in der HS 1

4.2.5 Hähnchen (Broiler) -schlachterei 2

Der *Chlamydomphila psittaci*-Nachweis gelang in der Hähnchenschlachterei 2 mittels PCR bei 21 % der entnommenen Proben, wobei bei der ersten Probeentnahme 9 %, bei der zweiten 32 % und bei der dritten 17 % der Proben *Chlamydomphila psittaci*-positiv reagierten (Tab. 43, Abb. 23).

Tabelle 43: Nachweishäufigkeit (%/n) *Chlamydomphila psittaci* je Probeentnahme und im Vergleich zur Gesamtprobenanzahl mittels PCR.

HS 2 / PCR	1. Pr.		2. Pr.		3. Pr.		1. bis 3. Pr.	
	%	n	%	n	%	n	%	n
<i>Chlamydomphila psittaci</i>	9	4	32	21	17	11	21	36
nicht auswertbar *A	9	4	6	4	9	6	8	14
negativ	81	35	62	40	74	48	71	123
Gesamt	100	43	100	65	100	65	100	173

*A : Schmier im Gel

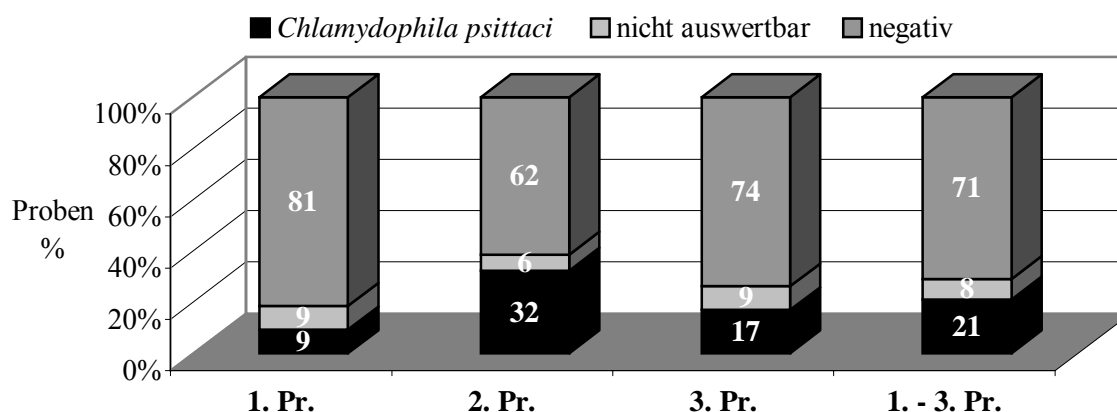


Abbildung 23: Nachweishäufigkeit (%) *Chlamydomphila psittaci* HS 2 mittels PCR

In der Hähnchenschlachterei 2 gelangen *Chlamydomphila psittaci*-Nachweise in den Betriebsbereichen Einhängen, Entbluten, Eviszeration, Zerlegung, Verpackung, Transportkäfige, Arbeitsgeräte sowie bei den Milzen. Lediglich in den Bereichen Produktionsbüros und Sonstige (Konfiskate, Kunststoffgriffe, Sterilisationsbecken) waren alle Proben negativ (Tab. 44, Abb. 24).

Tabelle 44: Nachweis Häufigkeit (%/n) *Chlamydomphila psittaci* je Betriebsbereich mittels PCR (alle Probeentnahmen zusammengefasst).

HS 2 / PCR	Einhängen		Entbluten		Eviszeration *2		Zerlegung		Verpackung		Büro		Milz		Käfige		Sonstige*1		Arbeitsgeräte *3			
	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%		
Proben (%/n)	29	7	13	3	5	31	5	21	5	42	10	0	0	10	2	25	1	0	0	25	3	
<i>Chlamydomphila psittaci</i>	8	2	17	4	0	0	8	2	8	2	0	0	0	19	4	0	0	0	0	0	0	
nicht auswertbar *A	63	15	71	17	69	11	71	17	50	12	100	12	100	71	15	75	3	100	12	75	9	
negativ	100	24	100	24	100	16	100	24	100	24	100	12	100	21	100	4	100	12	100	12	100	
Gesamt																						

*A: Schmier im Gel

*1: Sonstige: Kunststoffgriffe, Konfiskate, Sterilisationsbecken

*2: Eviszerationsbereich: Innereienausnehmer, Lebersepariersystem, Innereientrennung, Lungensauger

*3: Arbeitsgeräte: Kettenhandschuhe, Messer, Kunststoffschürzen

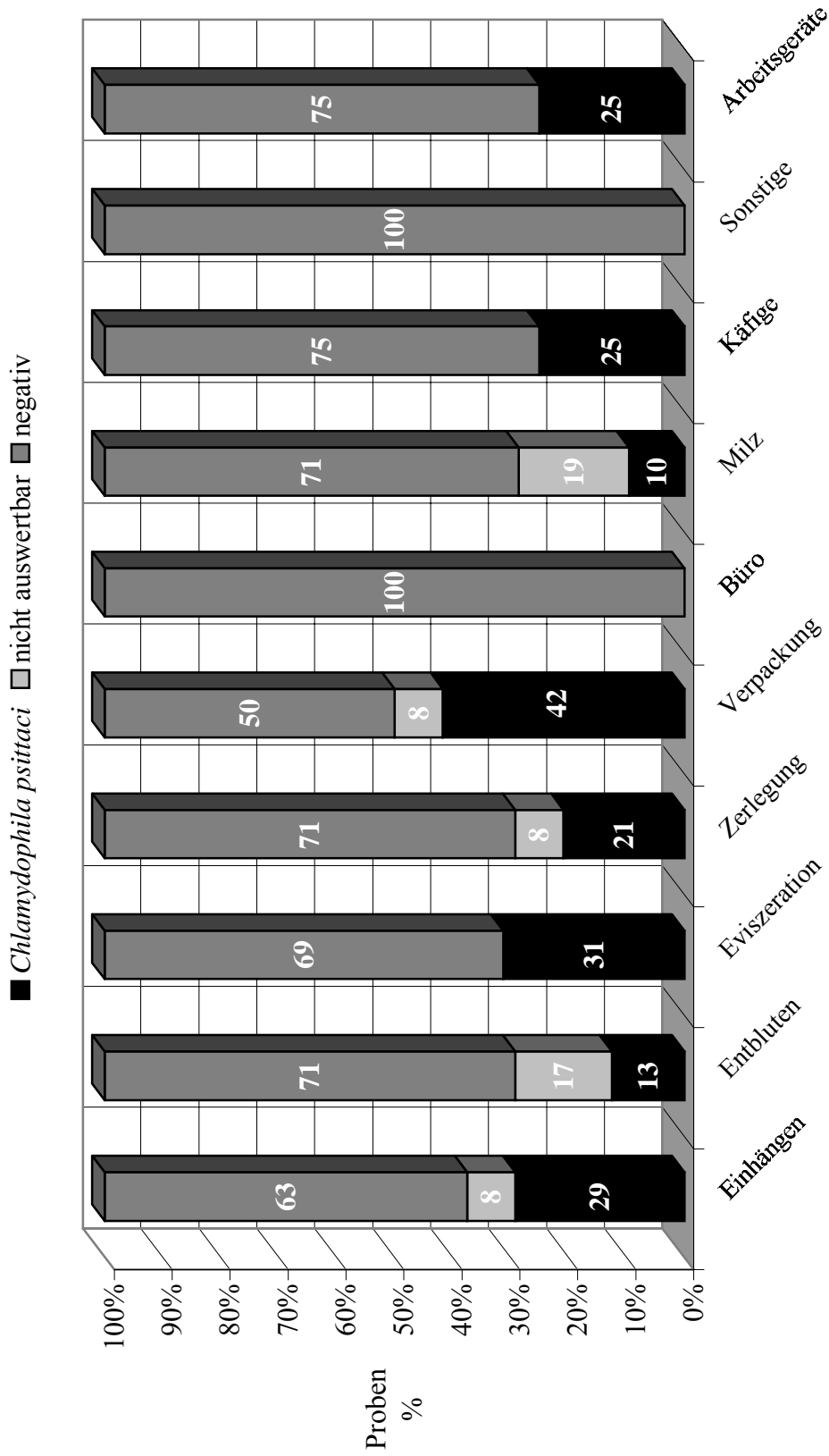


Abbildung 24: Nachweis Häufigkeit (%) *Chlamydothyla psittaci* je Betriebsbereich mittels PCR in der HS 2

4.2.6 Putenschlachtereier 1

Der *Chlamydomphila psittaci*-Nachweis gelang in der Putenschlachtereier 1 mittels PCR bei 29 % der entnommenen Proben, wobei bei der ersten Probeentnahme 14 %, bei der zweiten 37 % und bei der dritten 33 % der Proben *Chlamydomphila psittaci*-positiv reagierten (Tab. 45, Abb. 25).

Tabelle 45 Nachweishäufigkeit (%/n) *Chlamydomphila psittaci* je Probeentnahme und im Vergleich zur Gesamtprobenanzahl mittels PCR.

PS 1 / PCR	1. Pr.		2. Pr.		3. Pr.		1. bis 3. Pr.	
	%	n	%	n	%	n	%	n
<i>Chlamydomphila psittaci</i>	14	6	37	23	33	20	29	49
nicht auswertbar *A	7	3	5	3	2	1	4	7
negativ	79	34	59	37	66	40	66	111
Gesamt	100	43	100	63	100	61	100	167

*A: Schmier im Gel

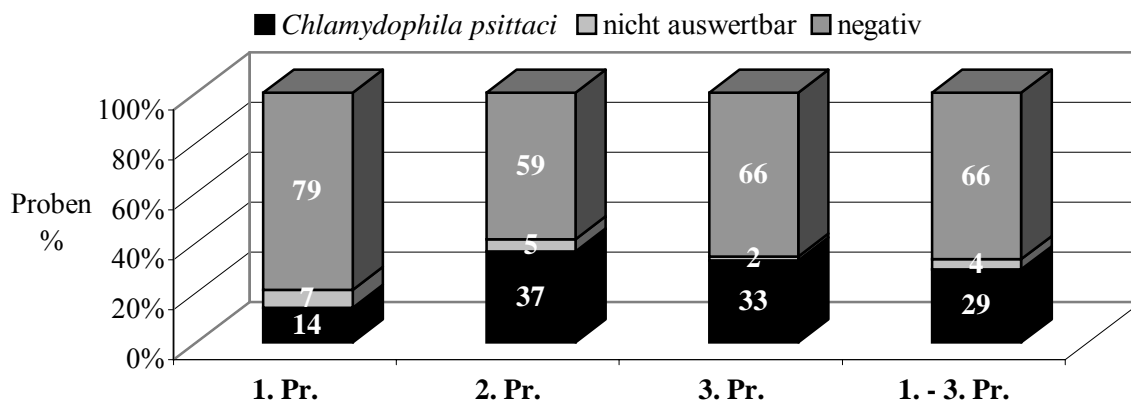


Abbildung 25: Nachweishäufigkeit (%) *Chlamydomphila psittaci* PS 1 mittels PCR

In der Putenschlachtereier 1 gelangen *Chlamydomphila psittaci*-Nachweise in den Betriebsbereichen Einhängen, Entbluten, Brühen & Rupfen, Eviszeration, Zerlegung, Verpackung, Produktionsbüros, Transportkäfige, Arbeitsgeräte sowie bei den Milzen. Lediglich im Bereich Sonstige (Kunststofftürgriffe, Konfiskate) waren alle Proben negativ (Tab. 46, Abb. 26).

Tabelle 46: Nachweis Häufigkeit (%/n) *Chlamydomphila psittaci* je Betriebsbereich mittels PCR (alle Probeentnahmen zusammengefasst).

PS1 / PCR	Einhängen		Entbluten		Brühen & Rupfen		Eviszeration *2		Zerlegung		Verpackung		Büro		Milz		Käfige		Sonstige *1		Arbeitsgeräte *3	
	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n
Probeentnahme	1.-3.		1.-3.		1.-3.		1.-3.		1.-3.		1.-3.		1.-3.		1.-3.		1.-3.		1.-3.		1.-3.	
Proben (%/n)																						
<i>Chlamydomphila psittaci</i>	8	1	21	5	33	4	64	9	46	11	50	12	17	2	5	1	75	3	0	0	8	1
nicht auswertbar *A	0	0	4	1	0	0	7	1	4	1	4	1	0	0	14	3	0	0	0	0	0	0
negativ	92	11	75	18	67	8	29	4	50	12	46	11	83	10	81	17	25	1	100	8	92	11
Gesamt	100	12	100	24	100	12	100	14	100	24	100	24	100	12	100	21	100	4	100	8	100	12

*A: Schmier im Gel

*1: Sonstige: Kunststoffgriffe, Konfiskate

*2: Eviszerationsbereich: Kloakenschneider, Bauchhöhlenschneider, Lungensauger, Leberwäscher

*3: Arbeitsgeräte: Kettenhandschuhe, Messer, Kunststoffschürzen

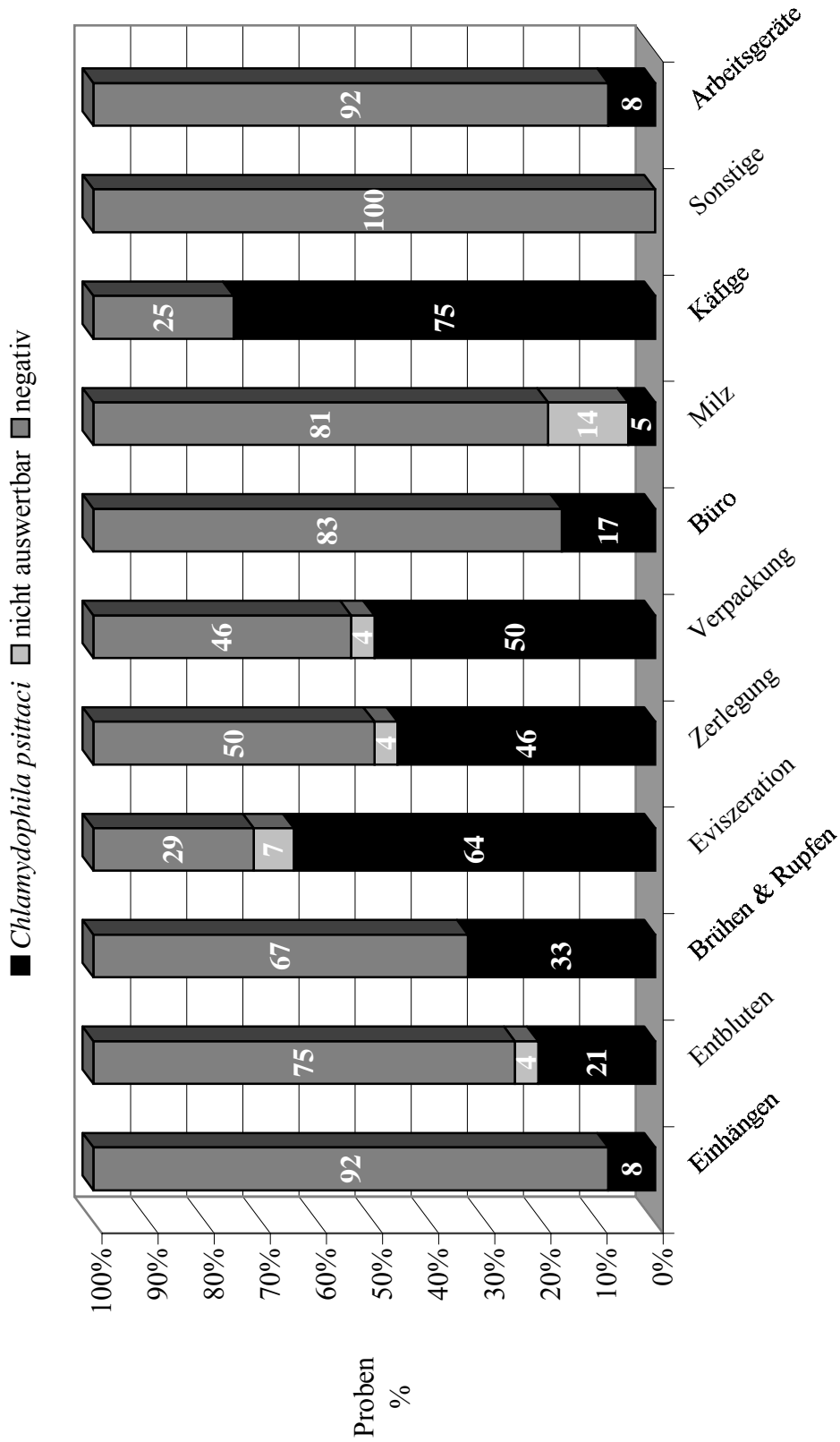


Abbildung 26: Nachweis Häufigkeit (%) *Chlamydomphila psittaci* je Betriebsbereich mittels PCR in der PS I

4.2.7 Putenschlachtereier 2

Der *Chlamydomphila psittaci*-Nachweis gelang in der Putenschlachtereier 2 mittels PCR bei 41 % der entnommenen Proben, wobei bei der ersten Probeentnahme 60 %, bei der zweiten 39 % und bei der dritten 29 % der Proben *Chlamydomphila psittaci*-positiv reagierten (Tab. 47, Abb. 27).

Tabelle 47: Nachweishäufigkeit (%/n) *Chlamydomphila psittaci* je Probeentnahme und im Vergleich zur Gesamtprobenanzahl mittels PCR.

PS 2 / PCR	1. Pr.		2. Pr.		3. Pr.		1. bis 3. Pr.	
	%	n	%	n	%	n	%	n
<i>Chlamydomphila psittaci</i>	60	26	39	23	29	17	41	66
nicht auswertbar *A	5	2	2	1	5	3	4	6
negativ	35	15	59	35	66	39	55	89
Gesamt	100	43	100	59	100	59	100	161

*A: Schmier im Gel

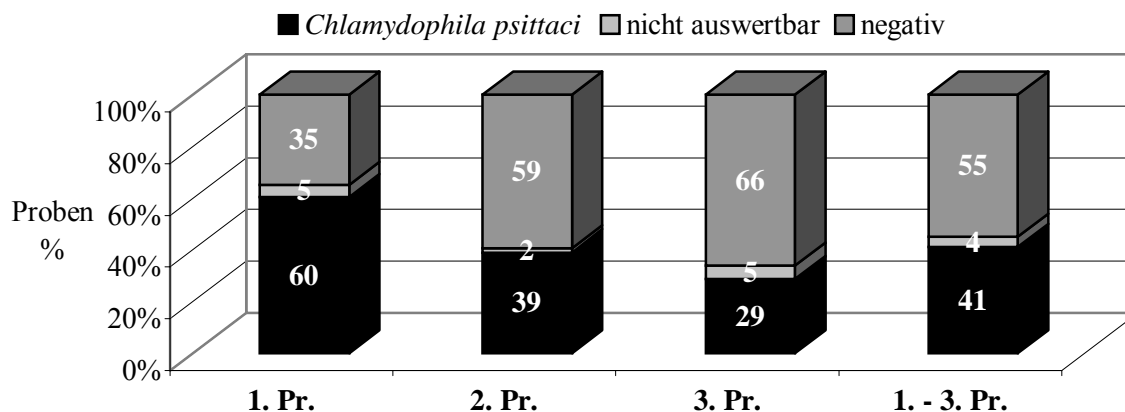


Abbildung 27: Nachweishäufigkeit (%) *Chlamydomphila psittaci* PS 2 mittels PCR

In der Putenschlachtereier 2 gelangen *Chlamydomphila psittaci*-Nachweise in den Betriebsbereichen Einhängen, Entbluten, Brühen & Rupfen, Eviszeration, Umhängerraum, Produktionsbüros, Transportkäfige, Sonstige (Türgriffe, Konfiskate), Arbeitsgeräte sowie bei den Milzen. Somit waren in allen beprobten Betriebsbereichen *Chlamydomphila psittaci* nachweisbar (Tab. 48, Abb. 28).

Tabelle 48: Nachweis Häufigkeit (%/n) *Chlamydothila psittaci* je Betriebsbereich mittels PCR (alle Probeentnahmen zusammengefasst).

PS 2 / PCR	Einhängen		Entbluten		Brühen & Rupfen		Eviszeration *2		Umhängeraum		Büro		Milz		Käfige		Sonstige *1		Arbeitsgeräte *3	
	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%	1.-3.	%
Proben (%/n)	1.-3.		1.-3.		1.-3.		1.-3.		1.-3.		1.-3.		1.-3.		1.-3.		1.-3.		1.-3.	
<i>Chlamydothila psittaci</i>	58	7	38	9	25	3	61	27	50	6	17	2	19	4	50	2	13	1	42	5
nicht auswertbar *A	0	0	4	1	0	0	5	2	0	0	0	0	10	2	25	1	0	0	0	0
negativ	42	5	58	14	75	9	34	15	50	6	83	10	71	15	25	1	88	7	58	7
Gesamt	100	12	100	24	100	12	100	44	100	12	100	12	100	21	100	4	100	8	100	12

*A: Schmier im Gel

*1: Eviszerationsbereich: Ausnehmer, Lungensauger, Lebersepariersystem, Semi-automatische Innereitrennung

*2: Sonstige: Kunststofffüßgriffe, Konfiskate

*3: Arbeitsgeräte: Kettenhandschuhe, Messer, Kunststoffschürzen

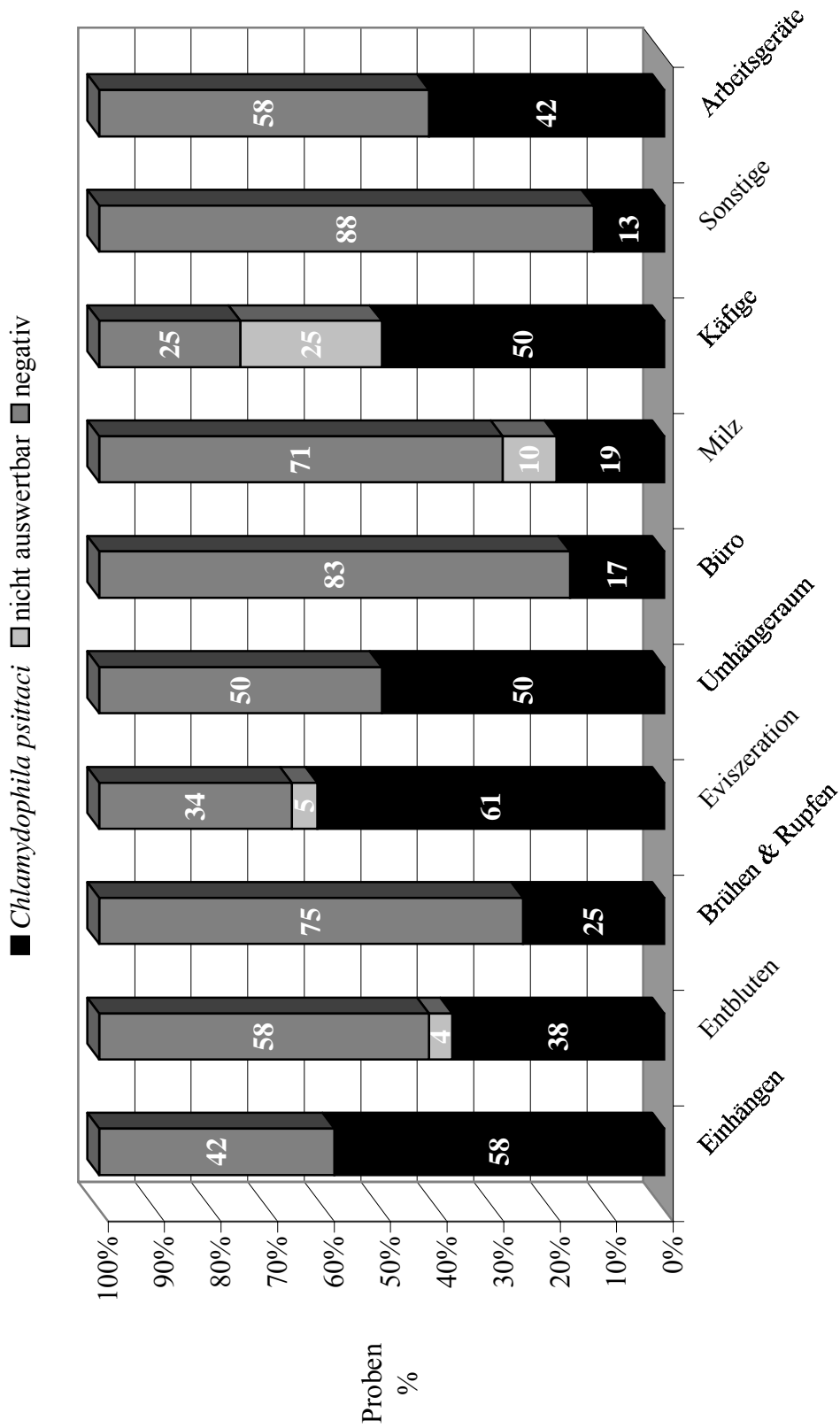


Abbildung 28: Nachweis Häufigkeit (%) *Chlamydophila psittaci* je Betriebsbereich mittels PCR in der PS 2

4.2.8 Vergleiche zwischen den vier Schlachtereien

Mittels PCR gelangen in der Putenschlachtereie 2 mit 41 % die meisten *Chlamydomphila psittaci*-Nachweise. An zweiter Stelle mit 29 % *Chlamydomphila psittaci*-Nachweisen ist die Putenschlachtereie 1 zu nennen, gefolgt von der Hähnchenschlachtereie 2 mit 21 % und der Hähnchenschlachtereie 1 mit 17 % *Chlamydomphila psittaci*-Nachweisen (Tab. 49, Abb. 29).

Tabelle 49: Nachweishäufigkeit *Chlamydomphila psittaci* je Schlachtereie mittels PCR (Alle Probeentnahmen zusammengefasst).

PCR	HS 1		HS 2		PS 1		PS 2	
	%	n	%	n	%	n	%	n
<i>Chlamydomphila psittaci</i>	17	30	21	36	29	49	41	66
nicht auswertbar *A	10	17	8	14	4	7	4	6
negativ	73	126	71	123	66	111	55	89
Gesamt	100	173	100	173	100	167	100	161

*A: Schmier im Gel

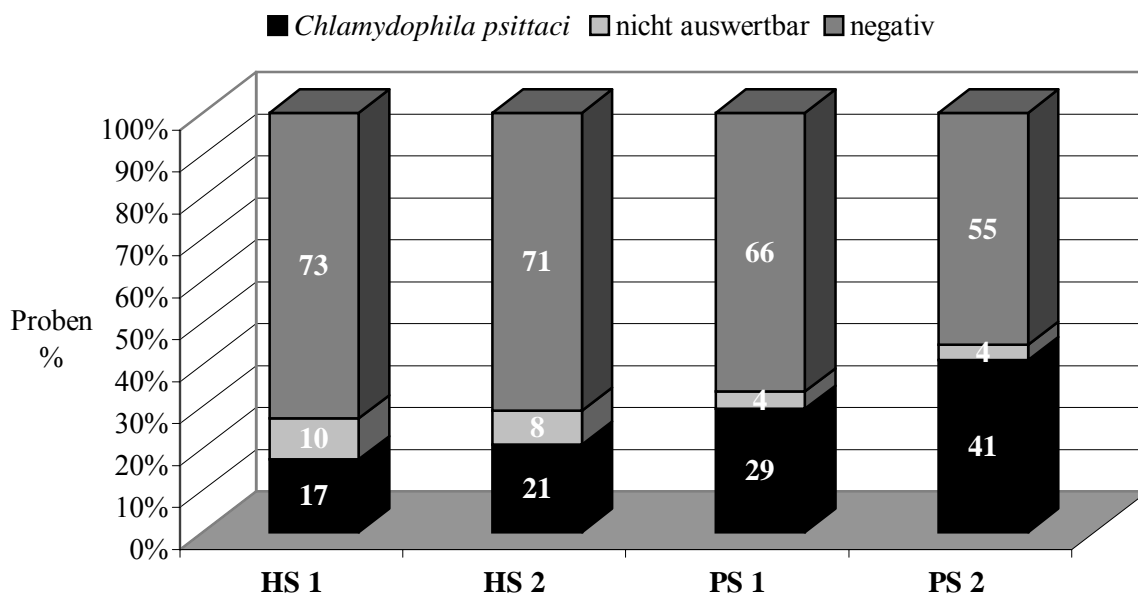


Abbildung 29: Nachweishäufigkeit (%) *Chlamydomphila psittaci* mittels PCR je Schlachtereie

4.2.9 Vergleiche zwischen ähnlichen Betriebsbereichen

Die Abteilung Brühen & Rupfen wurde nur bei den Putenschlachtereien (PS 1, PS 2), der Umhängeraum nur bei der Putenschlachtereier 2 beprobt. In der Putenschlachtereier 2 existierten die Bereiche Zerlegung und Verpackung nicht (siehe 4.1.7).

Mittels PCR und Restriktionsenzymanalyse gelang der *Chlamydophila psittaci*-Nachweis in allen beprobten Betriebsbereichen. Die höchste Nachweisrate war im Eviszerationsbereich (46 %/n=43) zu verzeichnen. Aber auch bei den Transportkäfigen, sowie in den Bereichen Verpackung, Zerlegung, Einhängen, Arbeitsgeräte (Kettenhandschuhe, Gummihandschuhe [HS 1], Messer, Kunststoffschürzen), Entbluten, Produktionsbüros, Sonstige (Kunststofftürgriffe, Konfiskate, Sterilisationsbecken [HS 2]) sowie bei Milzen wurde *Chlamydophila psittaci* nachgewiesen. Bei den Milzen war der Anteil nicht auswertbarer Proben mit 19 % (n=16) relativ hoch. Hier kam es häufiger zu unklaren Banden bzw. Schmier im Gel. Die PCR wurde wiederholt und bei identischem Ergebnis die Probe als nicht auswertbar beurteilt (Tab. 50, Abb. 30).

Tabelle 50: Nachweis Häufigkeit *Chlamydomphila psittaci* je Betriebsbereich mittels PCR (alle Probeentnahmen und Schlachtereien zusammengefasst).

PCR	Ein- hängen	Ent- bluten	Brühen & Rupfen	Evis- zeration	Um- hänge- raum	Zer- legung	Ver- packung	Büro	Milz	Käfige	Sonstige	Arbeits- geräte	
												%	n
Schlachtereie	HS 1/2; PS 1/2	HS 1/2; PS 1/2	PS 1/2	HS 1/2; PS 1/2	PS 2	HS 1/2; PS 1	HS 1/2; PS 1	HS 1/2; PS 1/2	HS 1/2; PS 1/2	HS 1/2; PS 1/2	HS 1/2; PS 1/2	HS 1/2; PS 1/2	HS 1/2; PS 1/2
Proben (%/n)	% n	% n	% n	% n	% n	% n	% n	% n	% n	% n	% n	% n	% n
<i>Chlamydomphila psittaci</i>	29 21	25 24	29 7	46 43	50 6	31 22	35 25	8 4	11 9	38 6	3 1	27 13	
nicht auswertbar *A	4 3	10 10	0 0	5 5	0 0	7 5	6 4	0 0	19 16	6 1	0 0	0 0	0 0
negativ	67 48	65 62	71 17	49 46	50 6	63 45	60 43	92 44	70 59	56 9	97 35	73 35	
Gesamt	100 72	100 96	100 24	100 94	100 12	100 72	100 72	100 48	100 84	100 16	100 36	100 48	

*A: Schmier im Gel

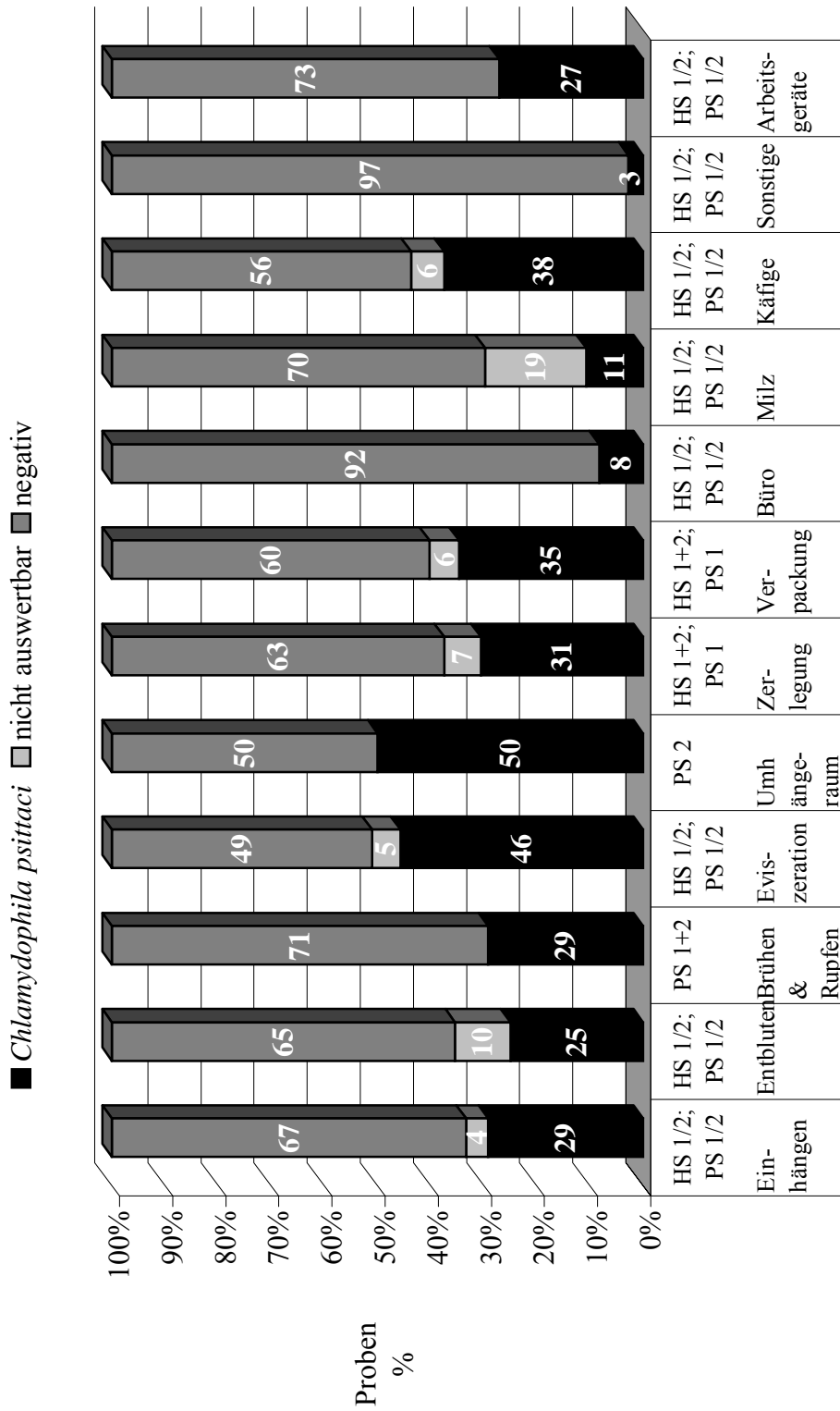


Abbildung 30: Nachweis Häufigkeit (%) *Chlamydomphila psittaci* mittels PCR je Betriebsbereich

4.3 Vergleich der beiden Nachweismethoden

4.3.1 Methodenvergleich je Schlachtereier

4.3.1.1 Hähnchen (Broiler) -schlachtereier 1

In der Hähnchen (Broiler) -schlachtereier 1 waren Chlamydien mit beiden Nachweismethoden in den Bereichen Einhängen, Entbluten, Eviszeration, Zerlegung sowie bei den Arbeitsgeräten (Messer, Gummihandschuhe, Kunststoffschürzen) zu finden. Im Bereich Verpackung sowie bei den Milzen gelang dies nur mittels PCR. In den Produktionsbüros, bei den Transportkäfigen, und im Bereich Sonstige (Kunststoffgriffe, Konfiskate) gelang kein Chlamydiennachweis (Tab. 51, Abb. 31).

Tabelle 51: Nachweis Häufigkeit Chlamydien (%) in der Hähnchenschlachtereierei 1 mittels PCR und IFT (alle Probeentnahmen zusammengefasst).

HS 1	Häufigkeit des Nachweises in % in den Lokalisationen																						
	Einhängen		Entbluten		Eviszeration *2		Zerlegung		Verpackung		Büro		Milz		Käfige		Sonstige *1		Arbeitsgeräte *3				
	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT			
<i>Chlamydoxiphila psittaci</i>	25		29		10		25		13		0		10		0		0		0		33		
<i>Chlamydoxiphila sp.</i>		13		17		5		17		0		0		0		0		0		0		8	
nicht auswertbar *4	4	13	17	17	10	10	8	4	4	8	0	0	33	57	0	0	0	0	0	50	0	0	0
negativ	71	75	54	67	80	85	67	79	83	92	100	100	57	43	100	100	100	100	50	67	92		
Gesamt	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

*1: Sonstige: Kunststoffgriffe, Konfiskate

*2: Eviszerationsbereich: Kloakenschneider, Lebersepariersystem, Innereintrennung, Leberwäscher, Lungensauger

*3: Arbeitsgeräte: Gummihandschuhe, Messer, Kunststoffschürzen

*4: PCR: Schmier im Gel; IFT: Keimgehalt; Zellen toxisch

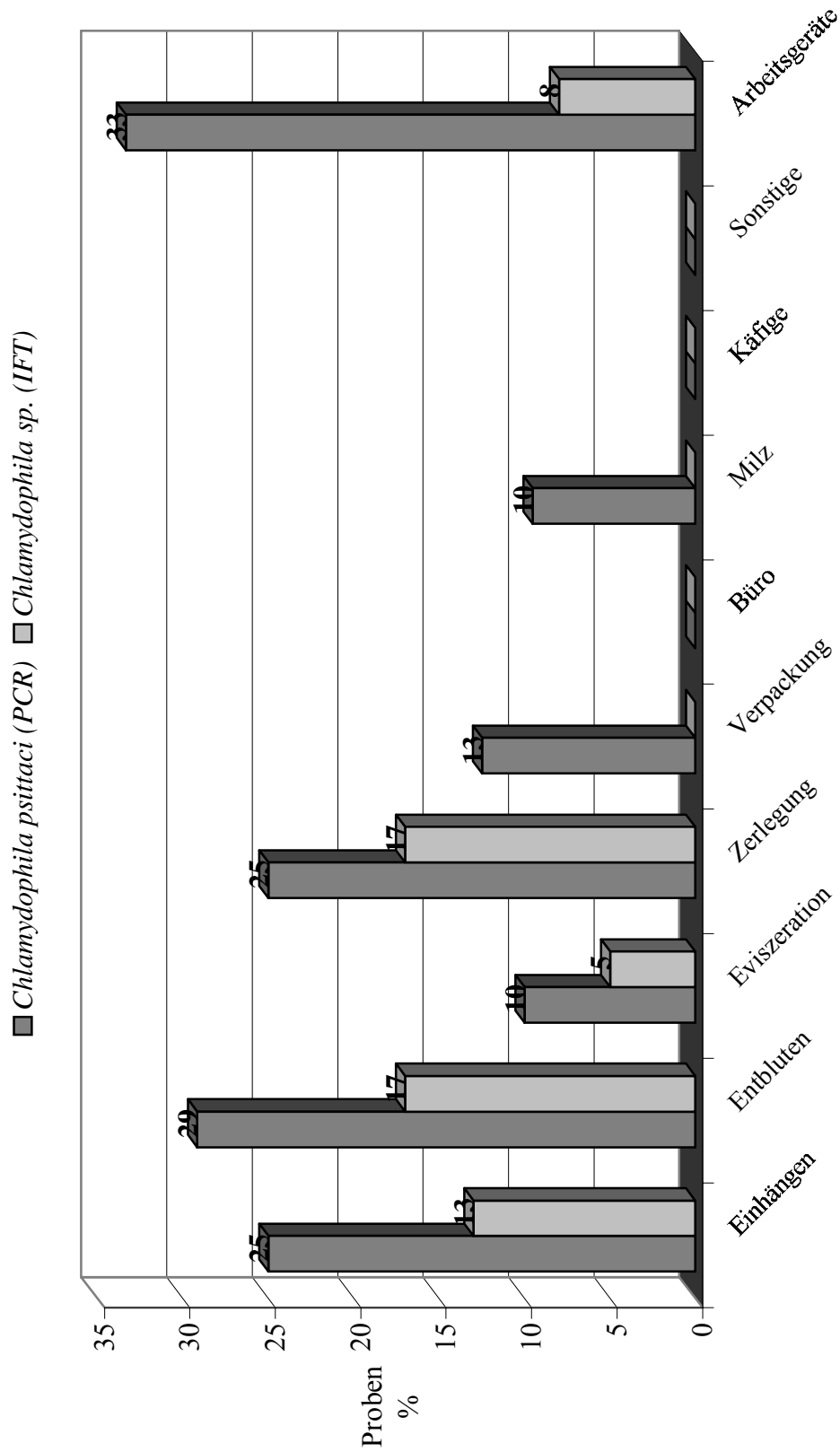


Abbildung 31: Nachweisfrequenz (%) *Chlamydoxiphila psittaci* je Betriebsbereich (HS 1)

4.3.1.2 Hähnchen (Broiler) -schlachtereie 2

In der Hähnchen (Broiler) -schlachtereie 2 waren Chlamydien mit beiden Nachweismethoden in den Bereichen Einhängen, Entbluten, Eviszeration, Zerlegung, Verpackung, Arbeitsgeräten (Messer, Kettenhandschuhe, Kunststoffschürzen) sowie bei den Milzen zu finden. Bei den Transportkäfigen gelang dies nur mittels PCR. In den Produktionsbüros sowie im Bereich Sonstige (Kunststofftürgriffe, Konfiskate, Sterilisationsbecken) gelang kein Chlamydiennachweis (Tab. 52, Abb. 32).

Tabelle 52: Nachweis Häufigkeit Chlamydien (%) in der Hähnchenschlachtereierei 2 mittels PCR und IFT (alle Probeentnahmen zusammengefasst).

HS 2	Häufigkeit des Nachweises in % in den Lokalisationen																				
	Ein-hängen		Ent-bluten		Evis-zeration *2		Zerlegung		Ver-packung		Büro		Milz		Käfige		Sonstige*1		Arbeits-geräte *3		
	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT	
<i>Chlamydoiphila psittaci</i>	29		13		31		21		42		0		10		25		0		25		
<i>Chlamydoiphila sp.</i>		13		4		19		21		17		0		5		0		0		8	
nicht auswertbar *4	8	13	17	17	0	6	8	0	8	4	0	0	19	62	0	0	0	33	0	0	
negativ	63	75	71	79	69	75	71	79	50	79	100	100	71	33	75	100	100	67	75	92	
Gesamt	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

*1: Sonstiges: Kunststofffürgriffe, Konfiskate, Sterilisationsbecken

*2: Eviszerationsbereich: Innereienausnehmer, Lebersepariersystem, Innereientrennung, Lungensauger

*3: Arbeitsgeräte: Kettenhandschuhe, Messer, Kunststoffschürzen

*4: PCR: Schmier im Gel; IFT: Keimgehalt; Zellen toxisch

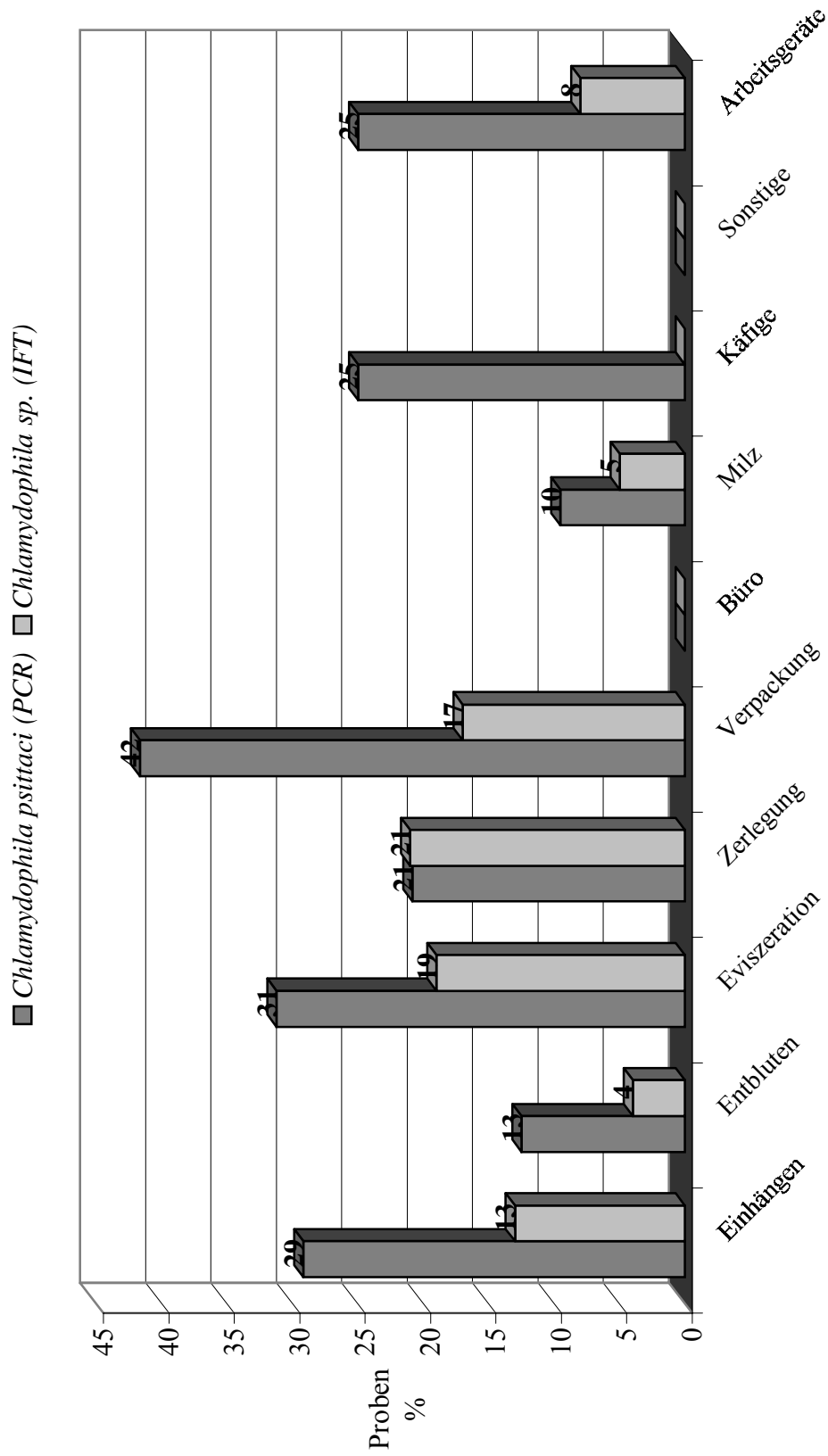


Abbildung 32: Nachweis Häufigkeit (%) *Chlamydomyphila psittaci* je Betriebsbereich in der HS2

4.3.1.3 Putenschlachtereier 1

In der Putenschlachtereier 1 waren Chlamydien mit beiden Nachweismethoden in den Bereichen Einhängen, Entbluten, Eviszeration, Zerlegung, Verpackung, Produktionsbüros sowie bei den Transportkäfigen zu finden. In den Bereichen Brühen & Rupfen, Arbeitsgeräte (Messer, Kettenhandschuhe, Kunststoffschürzen) sowie bei den Milzen gelang dies nur mittels PCR. Im Bereich Sonstige (Kunststofftürgriffe, Konfiskate) gelang kein Chlamydiennachweis (Tab. 53, Abb. 33).

Tabelle 53: Nachweis Häufigkeit Chlamydien (%) in der Putenschlachtereierei 1 mittels PCR und IFT (alle Probeentnahmen zusammengefasst).

PS 1	Häufigkeit des Nachweises in % in den Lokalisationen																					
	Einhängen		Entbluten		Brühen & Rupfen		Eviszeration *2		Zerlegung		Verpackung		Büro		Milz		Käfige		Sonstige *1		Arbeitsgeräte *3	
	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT
<i>Chlamydophila psittaci</i>	8		21		33		64		46		50		17		5		75		0		8	
<i>Chlamydophila sp.</i>		8		4		0	7		17		25		8		0		25		0		0	
nicht auswertbar *4	0	0	4	21	0	0	7	4	8	4	8	0	0	0	14	43	0	25	0	38	0	0
negativ	92	92	75	75	67	100	29	86	50	75	46	67	83	92	81	57	25	50	100	63	92	100
Gesamt	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

*1: Sonstige: Kunststoffgriffe, Konfiskate

*2: Eviszerationsbereich: Kloakenschneider, Bauchhöhlenschneider, Lungensauger, Leberwäscher

*3: Arbeitsgeräte: Kettenhandschuhe, Messer, Kunststoffschürzen

*4: PCR: Schmier im Gel; IFT: Keimgehalt; Zellen toxisch

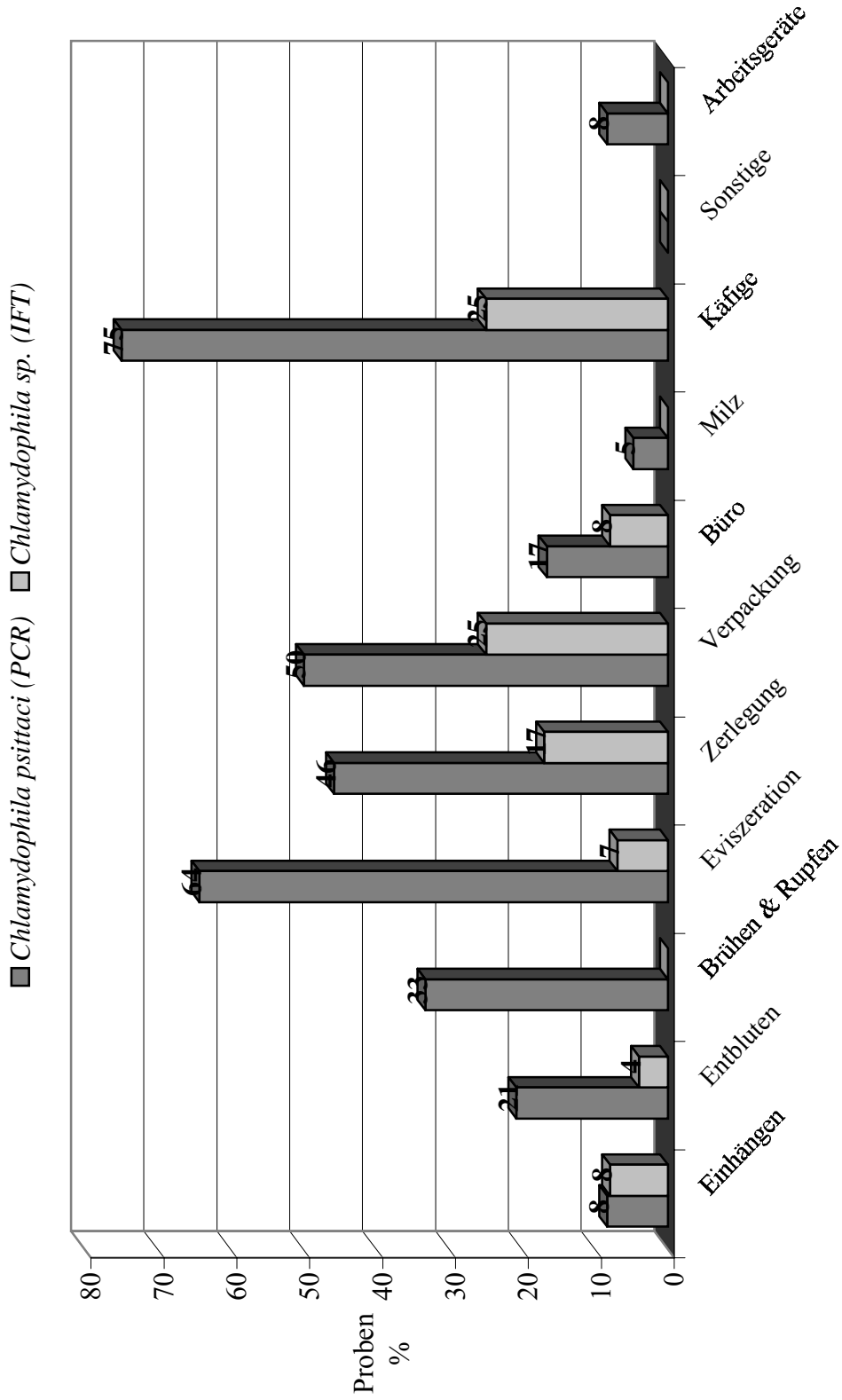


Abbildung 33: Nachweishäufigkeit (%) *Chlamydoxiphila psittaci* je Betriebsbereich (PS 1)

4.3.1.4 Putenschlachtereier 2

In der Putenschlachtereier 2 waren Chlamydien mit beiden Nachweismethoden in den Bereichen Einhängen, Entbluten, Eviszeration, Umhängeraum sowie bei den Arbeitsgeräten (Messer, Kettenhandschuhe, Kunststoffschürzen) zu finden. In den Bereichen Brühen & Rupfen, Produktionsbüros, Transportkäfige, Sonstige (Kunststofftürgriffe, Konfiskate) sowie bei den Milzen gelang dies nur mittels PCR (Tab. 54, Abb. 34).

Tabelle 54: Nachweis Häufigkeit Chlamydien (%) in der Putenschlachtereier 2 mittels PCR und IFT (alle Probeentnahmen zusammengefasst).

PS 2	Häufigkeit des Nachweises in % in den Lokalisationen																			
	Ein-hängen		Ent-bluten		Brühen & Rupfen		Evis-zeration *1		Umhänge-raum		Büro		Milz		Käfige		Sonstige *2		Arbeits-geräte *3	
	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT
<i>Chlamydophila psittaci</i>	58		38		25		61		50		17		19		50		13		42	
<i>Chlamydophila sp.</i>		33		8		0	32		25		0	0	0	0	0		0		33	
nicht auswertbar *4	0	17	4	42	0	8	5	14	0	0	0	0	10	57	25	25	0	50	0	0
negativ	42	50	58	50	75	92	34	55	50	75	83	100	71	43	25	75	88	50	58	67
Gesamt	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

*1: Eviszerationsbereich: Ausnehmer, Lungensauger, Lebersepariersystem, Semi-automatische Innereientrennung

*2: Sonstige: Kunststoffgriffe, Konfiskate

*3: Arbeitsgeräte: Kettenhandschuhe, Messer, Kunststoffschürzen

*4: PCR: Schmier im Gel; IFT: Keimgehalt; Zellen toxisch

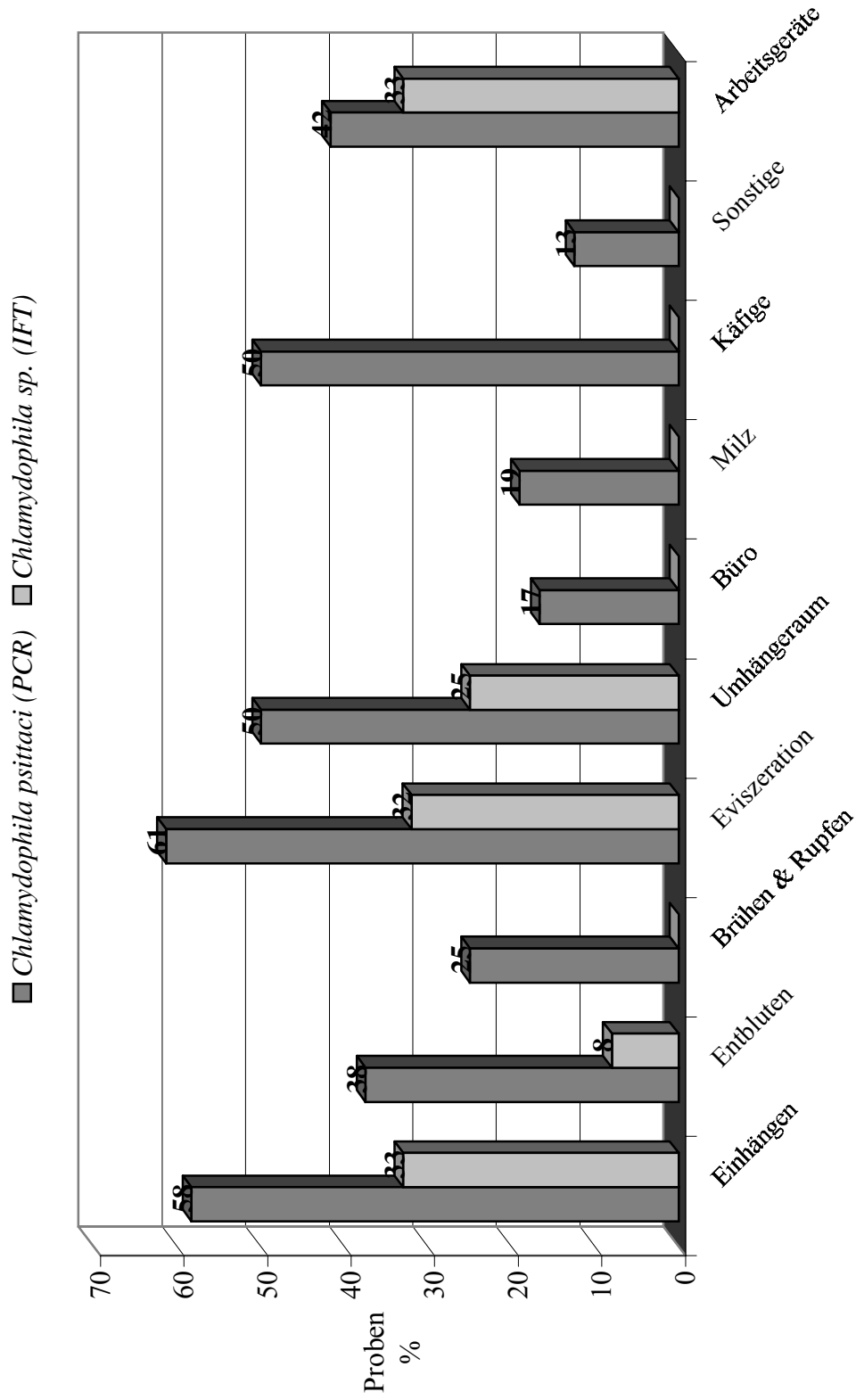


Abbildung 34: Nachweisfrequenz (%) *Chlamydomyophila psittaci* je Betriebsbereich (PS 2)

4.3.2 Methodenvergleich je Betriebsbereich

Mittels des direkten Immunfluoreszenztests (IFT) gelang der Chlamydiennachweis (alle Schlachtereien zusammen gefasst) in allen beprobten Betriebsbereichen außer in den Gebieten Brühen & Rupfen und Sonstige (Kunststofftürgriffe, Konfiskate, Sterilisationsbecken [HS 2]). Mittels PCR waren *Chlamydophila psittaci* in allen beprobten Bereichen nachweisbar. Die höchste Nachweisrate war mittels IFT und PCR im Eviszerationsbereich (PCR 46 %; IFT 20 %) und die niedrigste im Bereich Sonstige (Kunststofftürgriffe, Konfiskate, Sterilisationsbecken [HS 2]) (PCR 3 %; IFT 0 %) zu verzeichnen. Auffallend war, dass bei den Milzen mittels PCR und IFT nur relativ wenige *Chlamydophila psittaci*-Nachweise möglich waren (Tab. 55, Abb. 35).

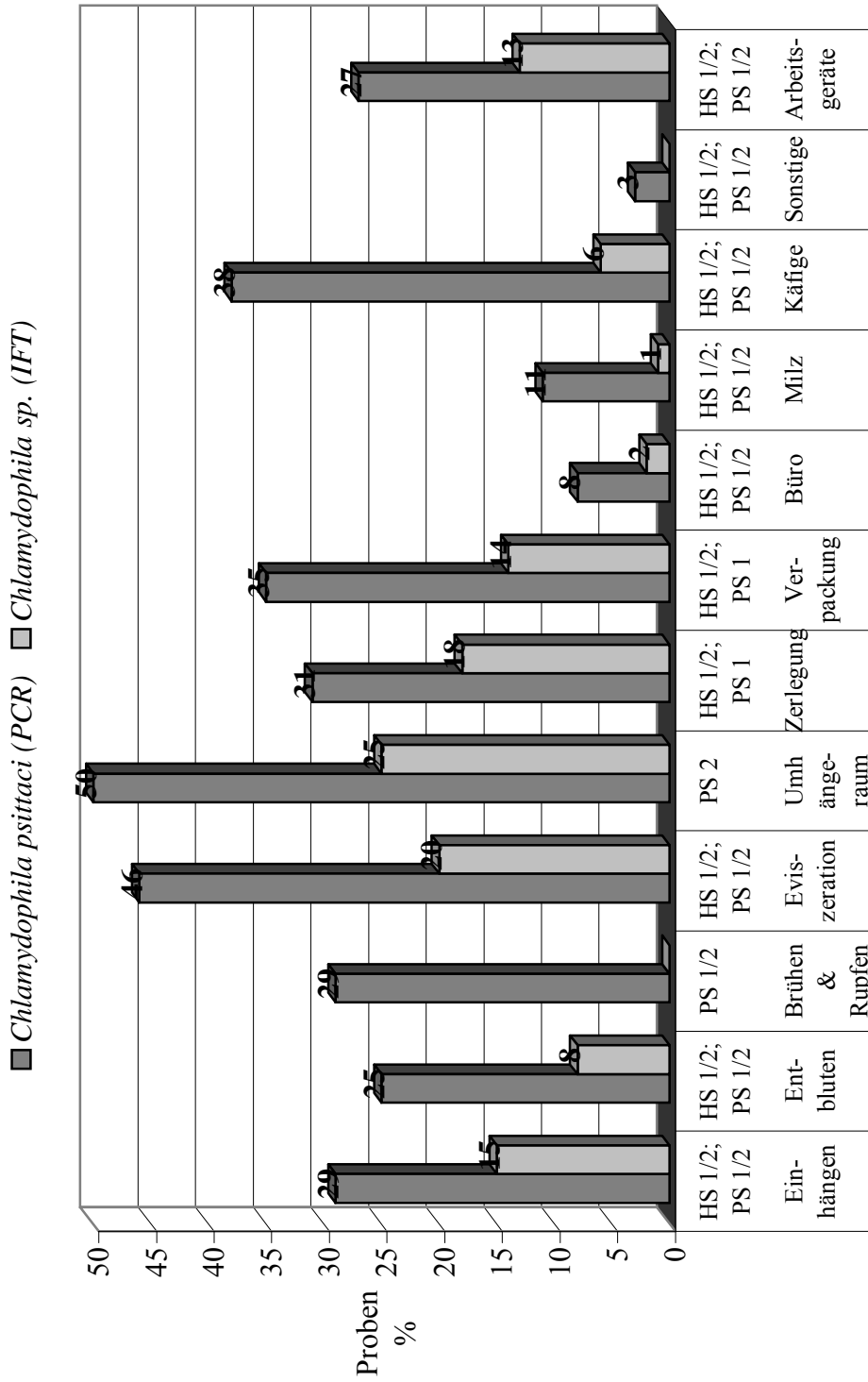


Abbildung 35: Nachweis Häufigkeit (%) *Chlamydia psittaci* je Betriebsbereich (alle SH)

4.3.3 Gegenüberstellung der vier Schlachtereien

Die Nachweise (%/n) von *Chlamydomphila psittaci* (PCR) bzw. *Chlamydomphila* sp. (IFT) je Schlachtereie werden in den Tabellen 56 und 57 gegenübergestellt. Es lässt sich erkennen, dass mittels PCR eine größere Anzahl an *Chlamydomphila psittaci*-Nachweisen gelungen ist. Der Anteil an nicht auswertbaren Proben war mittels des IFT höher als bei der PCR. In der Abbildung 36 stellen sich die Chlamydiennachweise fast treppenartig dar, wobei in der Putenschlachtereie 2 die meisten Chlamydiennachweise gelungen sind, gefolgt von der Putenschlachtereie 1, Hähnchenschlachtereie 2 und Hähnchenschlachtereie 1 (Tab. 56, Tab. 57, Abb. 36).

Tabelle 56: Nachweise (%/n) *Chlamydomphila* sp. (IFT) alle Probeentnahmen zusammengefasst.

IFT	HS 1		HS 2		PS 1		PS 2	
	%	n	%	n	%	n	%	n
Proben (%/n)								
<i>Chlamydomphila</i> sp.	8	13	10	18	9	15	17	27
nicht auswertbar *B	16	28	15	26	14	23	22	36
negativ	76	132	75	129	77	129	61	98
Gesamt	100	173	100	173	100	167	100	161

*B: Keimgehalt; Zellen toxisch

Tabelle 57: Nachweise (%/n) *Chlamydomphila psittaci* (PCR) alle Probeentnahmen zusammengefasst.

PCR	HS 1		HS 2		PS 1		PS 2	
	%	n	%	n	%	n	%	n
Proben (%/n)								
<i>Chlamydomphila psittaci</i>	17	30	21	36	29	49	41	66
nicht auswertbar *A	10	17	8	14	4	7	4	6
negativ	73	126	71	123	66	111	55	89
Gesamt	100	173	100	173	100	167	100	61

*A: Schmier im Gel

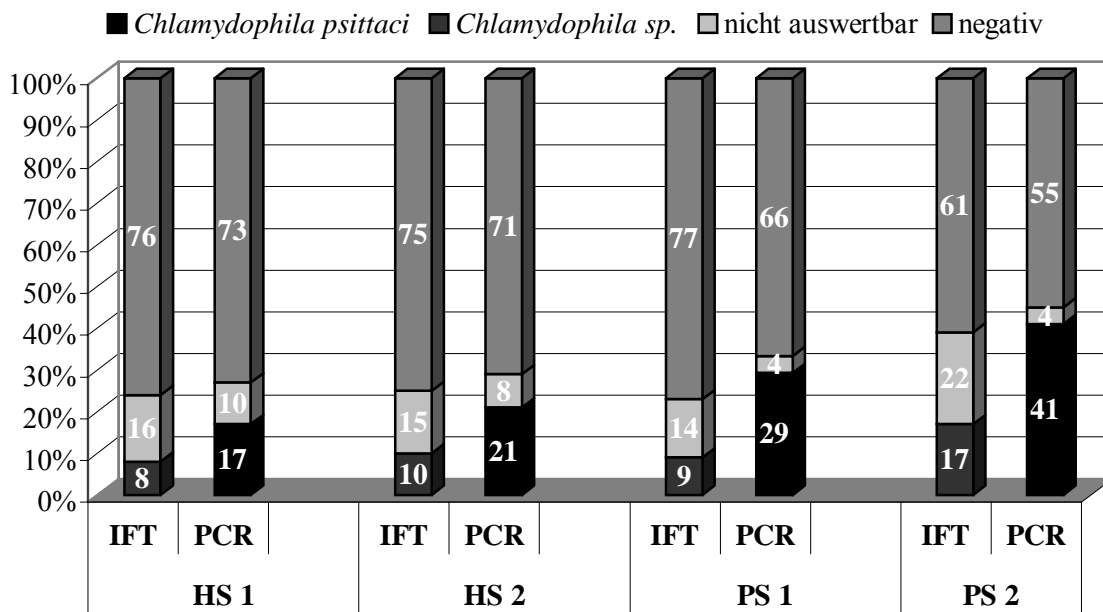


Abbildung 36: Nachweishäufigkeit (%) *Chlamydophila* sp. je Nachweismethode und Schlachtereier

4.3.4 Methodenvergleich mit der Gesamtprobenanzahl

Mittels PCR gelangen bei 27 % aller Proben *Chlamydophila psittaci*-Nachweise, mittels IFT bei 11 % (Tab. 58, Abb. 37). Es sollte berücksichtigt werden, dass bei der Anwendung des direkten Immunfluoreszenztests alle Proben zuvor mindestens einmal passagiert wurden. Hierdurch konnten nicht mehr vermehrungsfähige Chlamydien soweit verdünnt werden, dass sie nicht mehr nachzuweisen waren.

Tabelle 58: Nachweishäufigkeit *Chlamydophila psittaci* (PCR) und *Chlamydophila* sp. (IFT) im Vergleich zur Gesamtprobenzahl.

Schlachtereien Gesamt	PCR		IFT	
	%	n	%	n
Proben (%/n)				
<i>Chlamydophila psittaci</i>	27	181		
<i>Chlamydophila</i> sp. (IFT)			11	73
nicht auswertbar *4	7	44	17	113
negativ	67	449	72	488
Gesamtprobenzahl	100	674	100	674

*4: PCR: Schmier im Gel; IFT: Keimgehalt; Zellen toxisch

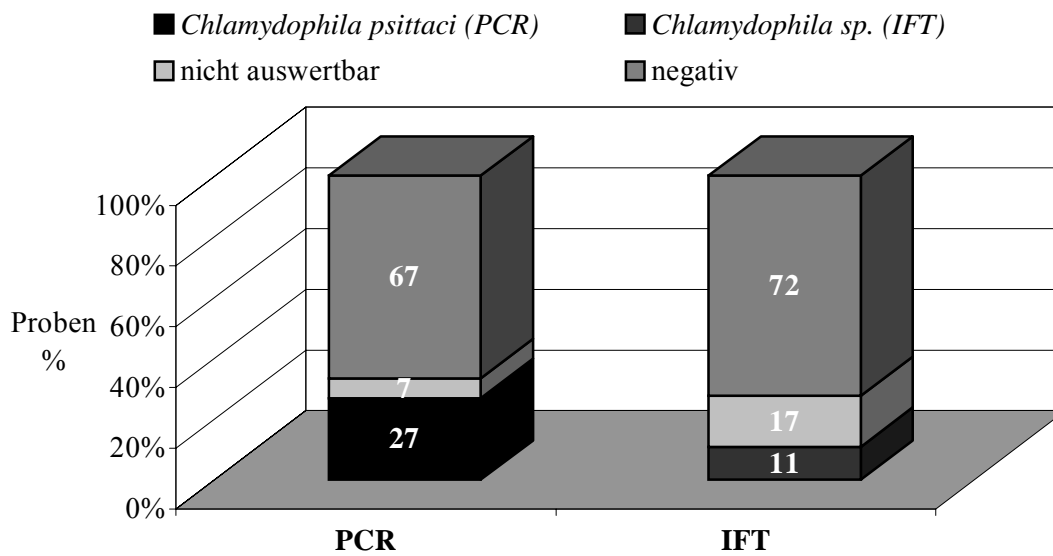


Abbildung 37: Nachweishäufigkeit (%) *Chlamydophila psittaci* je Nachweismethode

4.4 Auswertung des Fragebogens

Die Hygienebeauftragten der vier Geflügelschlachtereien wurden zur Hygienesituation des Betriebes mittels eines Fragebogens befragt. Eine Einschätzung und Bewertung der Antworten soll an dieser Stelle nicht erfolgen. Die Befragung ergab folgende Ergebnisse:

Allgemeiner Teil des Fragebogens

1. Wie viele Mitarbeiter sind in der Schlachtereie beschäftigt?

HS 1: Es sind 142 Mitarbeiter beschäftigt.

HS 2: Es sind 350 Mitarbeiter beschäftigt.

PS 1: Es sind 350 Mitarbeiter beschäftigt.

PS 2: Es sind ca. 100 Mitarbeiter beschäftigt.

2. Erfolgt eine Weiterverarbeitung der Schlachtkörper in der Schlachtereier?

HS 1: Die Schlachtkörper werden bis zum Endprodukt weiterverarbeitet.

HS 2: Die Schlachtkörper werden bis zum Endprodukt weiterverarbeitet.

PS 1: Die Schlachtkörper werden bis zum Endprodukt weiterverarbeitet.

PS 2: Es erfolgt keine Weiterverarbeitung. Die PS 2 ist ein reiner Schlachtbetrieb.

3. Welcher Herkunft ist das Schlachtgeflügel?

HS 1: Das Schlachtgeflügel ist ausschließlich deutscher Herkunft.

HS 2: Das Schlachtgeflügel ist ausschließlich deutscher Herkunft.

PS 1: Die Herkunft des Schlachtgeflügels ist zu 98 % aus Deutschland und zu 2 % aus den Niederlanden.

PS 2: Die Herkunft des Schlachtgeflügels ist zu 80 % aus Deutschland und zu 20 % aus anderen europäischen Mitgliedsstaaten.

4. Haben die Schlachtereien einen festen, vertraglich gebundenen Lieferantenstamm? Wenn nicht, wechseln die Lieferanten häufiger?

HS 1: Die Mäster/Lieferanten sind vertraglich gebunden und wechseln sehr selten.

HS 2: Die Mäster/Lieferanten sind vertraglich gebunden und wechseln sehr selten.

PS 1: Die Mäster/Lieferanten sind vertraglich gebunden und wechseln sehr selten.

PS 2: Die PS 2 ist eine reine Lohnschlachtereier, die Mäster/Lieferanten sind nicht vertraglich gebunden und wechseln oft.

5. Sind die angelieferten Tiere gesundheitsüberwacht? Wird beim Mäster eine Gesundheitsbescheinigung ausgestellt?

HS 1: Die angelieferten Tiere sind alle gesundheitsüberwacht, beim Mäster wird ein Gesundheitszeugnis ausgestellt.

HS 2: Die angelieferten Tiere sind alle gesundheitsüberwacht, beim Mäster wird ein Gesundheitszeugnis ausgestellt.

PS 1: Die angelieferten Tiere sind alle gesundheitsüberwacht, beim Mäster wird ein Gesundheitszeugnis ausgestellt.

PS 2: Die angelieferten Tiere sind alle gesundheitsüberwacht, beim Mäster wird ein Gesundheitszeugnis ausgestellt.

6. Werden die Tiere auf dem LKW vor dem Abladen bzw. Einhängen mit Wasser angefeuchtet?

HS 1: Die Tiere werden vor dem Einhängen nicht mit Wasser angefeuchtet.

HS 2: Die Tiere werden vor dem Einhängen nicht mit Wasser angefeuchtet.

PS 1: Die Tiere werden vor dem Einhängen nicht mit Wasser angefeuchtet.

PS 2: Die Tiere werden vor dem Einhängen ggf. im Hochsommer mit Wasser angefeuchtet, ansonsten nicht.

Spezieller Teil: I. Betriebshygiene

Reinigung und Desinfektion

7. Von welchen Personen wird der Betrieb gereinigt?

HS 1: Der Betrieb wird von einer Fremdfirma (Reinigungsfachfirma) gereinigt.

HS 2: Der Betrieb wird von Betriebsangehörigen, welche nur für die Reinigung beschäftigt sind, gereinigt.

PS 1: Der Betrieb wird von einer Fremdfirma (Reinigungsfachfirma) gereinigt. Die Zwischenreinigung sowie die Reinigung der Kühlhäuser und Kistenwäsche wird durch betriebseigenes Personal durchgeführt.

PS 2: Der Betrieb wird von einer Fremdfirma (Reinigungsfachfirma) gereinigt.

8. Wird das Reinigungspersonal geschult und dies regelmäßig aufgefrischt?

HS 1: Das Reinigungspersonal wird regelmäßig geschult.

HS 2: Das Reinigungspersonal wird regelmäßig geschult.

PS 1: Das Reinigungspersonal wird einmal jährlich geschult.

PS 2: Das Reinigungspersonal wird zweimal jährlich geschult.

9. Gibt es Arbeitsanweisungen für die Reinigung der Betriebsbereiche, Arbeitsgeräte und Maschinen? Werden die Maschinen vor der Reinigung zerlegt?

HS 1: Es existieren Arbeitsanweisungen für die Reinigung. Alle Maschinen und Geräte werden vor der Reinigung zerlegt.

HS 2: Es existieren Arbeitsanweisungen für die Reinigung. Alle Maschinen und Geräte werden vor der Reinigung zerlegt.

PS 1: Es existieren Arbeitsanweisungen für die Reinigung. Alle Maschinen und Geräte werden vor der Reinigung zerlegt.

PS 2: Es existieren Arbeitsanweisungen für die Reinigung. Alle Maschinen und Geräte werden vor der Reinigung zerlegt.

10. In welchem Betriebsbereich (Schwarz/Weiß) wird bei der täglichen Reinigung und Desinfektion begonnen?

HS 1: Es wird in allen Bereichen gleichzeitig mit der Reinigung begonnen (mehrere Mitarbeiter).

HS 2: Es wird mit der Reinigung im Schwarzen Betriebsbereich begonnen und diese im Weißen Bereich beendet.

PS 1: Es wird in allen Bereichen gleichzeitig mit Reinigung begonnen (eine Person/Bereich).

PS 2: Es wird in allen Bereichen gleichzeitig mit der Reinigung begonnen. Eine Person reinigt den Bereich Einhängen, eine andere den restlichen Schwarzen Bereich, eine dritte die Abteilung Bratfertig.

11. Wird die korrekte Dosierung der Reinigungsmittel überprüft?

HS 1: Der Vorarbeiter der Reinigungsfirma kontrolliert die Dosierung der Reinigungsmittel.

HS 2: Die Dosierung der Reinigungsmittel wird nicht kontrolliert.

PS 1: Die Reinigungsfirma kontrolliert die Dosierung der Reinigungsmittel.

PS 2: Es wird ein tägliches Protokoll über die Dosierung angefertigt. Zweimal jährlich kontrolliert eine Fremdfirma die Dosierung der Reinigungsmittel.

12. Wie oft werden die folgenden Produktionsbereiche (Fußboden, Decke, Maschinen/Einrichtungsgegenstände/Gerätschaften) gereinigt?

- Annahme/Einhängen
- Entbluten
- Brühen und Rupfen

HS 1: Die genannten Produktionsbereiche werden einmal täglich gereinigt (Decken alle 4 bis 6 Wochen).

HS 2: Die genannten Produktionsbereiche werden einmal täglich gereinigt, Transporthaken werden mit Wasser abgespült (Decken alle 4 bis 6 Wochen).

PS 1: Die genannten Produktionsbereiche werden einmal täglich gereinigt (Decken alle 3 bis 4 Wochen).

PS 2: Die genannten Produktionsbereiche werden einmal täglich gereinigt, in den Pausen wird zwischengereinigt.

- Eviszeration (Ausnehmer/Kloakenbohren/Lungensauger usw.)

HS 1: Dieser Produktionsbereich wird einmal täglich gereinigt (Decken alle 4 bis 6 Wochen).

HS 2: Dieser Produktionsbereich wird einmal täglich gereinigt, Transporthaken werden mit Wasser abgespült (Decken vierteljährlich).

PS 1: Dieser Produktionsbereich wird einmal täglich gereinigt (Decken alle 3 bis 4 Wochen).

PS 2: Dieser Produktionsbereich wird einmal täglich gereinigt, es erfolgt eine Zwischenspülung der Anlagen mit Wasser.

- Zerlegung

HS 1: Dieser Produktionsbereich wird einmal täglich gereinigt (Decken alle 4 bis 6 Wochen).

HS 2: Dieser Produktionsbereich wird einmal täglich gereinigt (Decken vierteljährlich).

PS 1: Dieser Produktionsbereich wird einmal täglich gereinigt (Decken alle 8 Wochen).

PS 2: Dieser Betriebsbereich ist nicht vorhanden (nur Schlachtung).

- Verpackung

HS 1: Dieser Produktionsbereich wird einmal täglich gereinigt (Decken alle 4 bis 6 Wochen).

HS 2: Dieser Produktionsbereich wird einmal täglich gereinigt (Decken vierteljährlich).

PS 1: Dieser Produktionsbereich wird einmal täglich gereinigt (Decken alle 6 Monate).

PS 2: Dieser Betriebsbereich ist nicht vorhanden (nur Schlachtung).

- Produktionsbüro

HS 1: Die Produktionsbüros werden einmal täglich gereinigt.

HS 2: Die Produktionsbüros werden einmal täglich gereinigt.

PS 1: Die Produktionsbüros werden einmal täglich gereinigt (Decken nie).

PS 2: Die Produktionsbüros werden einmal täglich gereinigt.

- Sonstige Gegenstände (Türgriffe, Kettenhandschuhe, Schürzen, Messer)

HS 1: Die Türgriffe/Türen im gesamten Betriebsbereich werden bei der täglichen Reinigung mitgereinigt. Kettenhandschuhe werden nicht verwendet. Die Messer werden während der Produktionszeit in Sterilisationsbecken abgelegt und in jeder Arbeitspause sowie bei der täglichen Endreinigung gereinigt und desinfiziert. In der Annahme werden die Schürzen in jeder Pause sowie nach der Betriebszeit gereinigt und desinfiziert. Die Kunststoffschürzen werden in einem Desinfektionsbad gewaschen. Im restlichen Betriebsbereich werden Einwegschrzen verwendet.

HS 2: Die Reinigungsfrequenz der Türgriffe/Türen ist nicht bekannt. Es wird keine Zwischendesinfektion vorgenommen. Die Kettenhandschuhe werden von Hand gereinigt, die Schürzen in einer Schürzenwaschanlage am Ende des Arbeitstages. Die Messer werden in jeder Pause in einer Messerwaschanlage gereinigt (3 x täglich).

PS 1: Die Türgriffe/Türen im gesamten Betriebsbereich werden bei der täglichen Reinigung mitgereinigt. Die Kettenhandschuhe und Schürzen werden in der Hygieneschleuse und am Arbeitsplatz in jeder Arbeitspause sowie am Ende

des Arbeitstages gereinigt. Eine Schürzenwaschmaschine existiert nicht. Die Messer werden im Messerschleifraum in jeder Arbeitspause sowie am Ende des Arbeitstages gereinigt.

PS 2: Die Reinigungsfrequenz der Türgriffe/Türen ist nicht bekannt. Die Kettenhandschuhe und Messer werden in einer Waschmaschine in den Arbeitspausen sowie am Ende des Arbeitstages gereinigt. Die Schürzen werden manuell gesäubert und am Abend in ein Desinfektionsbad eingelegt.

13. Mit welchen Reinigungsmitteln werden die Betriebsbereiche gereinigt?

- Annahme/Einhängen
- Entbluten
- Brühen und Rupfen
- Eviszeration (Ausnehmer/Kloakenbohren/Lungensauger usw.)

HS 1: Die genannten Produktionsbereiche werden dreimal basisch und zweimal sauer immer im Wechsel gereinigt (keine genaueren Angaben).

HS 2: Keine Angaben.

PS 1: Die genannten Produktionsbereiche werden viermal basisch und einmal sauer immer im Wechsel gereinigt (keine genaueren Angaben).

PS 2: Die genannten Produktionsbereiche werden viermal basisch und einmal sauer immer im Wechsel gereinigt (keine genaueren Angaben).

- Veredelung/Zerlegung
- Kommissionierung/Verpackung

HS 1: Die genannten Produktionsbereiche werden dreimal basisch und zweimal sauer immer im Wechsel gereinigt (keine genaueren Angaben).

HS 2: Keine Angaben.

PS 1: Die genannten Produktionsbereiche werden viermal basisch und einmal sauer immer im Wechsel gereinigt (keine genaueren Angaben).

PS 2: Keine Angaben.

- Produktionsbüros

HS 1: Die Produktionsbüros werden mit Putzmitteln gereinigt.

HS 2: Keine Angaben.

PS 1: Keine Angaben.

PS 2: Keine Angaben.

- Sonstige Gegenstände (Türgriffe, Kettenhandschuhe, Schürzen, Messer)

HS 1: Die Schürzen und Messer werden mit einem Reinigungsmittel auf Chlorbasis gereinigt und desinfiziert.

HS 2: Keine Angaben.

PS 1: Die Messer werden mit einem Reinigungsmittel auf Jodbasis, Schürzen und Kettenhandschuhe mit einem Reinigungsmittel auf Chlorbasis gereinigt und desinfiziert.

PS 2: Die Messer, Kettenhandschuhe und Schürzen werden mit einem Reinigungsmittel auf Chlorbasis der Firma Biotec[®] gereinigt und desinfiziert.

14. Werden Arbeitsgeräte (z.B. Messer) zweckentfremdet?

HS 1: Die Arbeitsgeräte werden nicht zweckentfremdet.

HS 2: Die Arbeitsgeräte werden nicht zweckentfremdet.

PS 1: Die Arbeitsgeräte werden nicht zweckentfremdet.

PS 2: Die Arbeitsgeräte werden nicht zweckentfremdet.

15. Wird die Einwirkzeit der Reinigungsmittel eingehalten und dies überprüft?

HS 1: Die Einwirkzeit der Reinigungsmittel wird eingehalten, dies wird mittels Abklatschproben überprüft.

HS 2: Die Einwirkzeit der Reinigungsmittel wird eingehalten, eine Überprüfung findet jedoch nicht statt.

PS 1: Die Einwirkzeit der Reinigungsmittel wird eingehalten, eine Überprüfung findet statt (keine näheren Angaben).

PS 2: Die Einwirkzeit der Reinigungsmittel wird eingehalten, eine Überprüfung findet nicht statt.

16. Wird regelmäßig eine Reinigungskontrolle durchgeführt (optisch und mikrobiologisch)?

HS 1: Die optische Reinigungskontrolle wird täglich durchgeführt, die mikrobiologische Reinigungskontrolle einmal monatlich.

HS 2: Die optische Reinigungskontrolle wird täglich durchgeführt, die mikrobiologische Reinigungskontrolle einmal wöchentlich.

PS 1: Die optische Reinigungskontrolle wird täglich durchgeführt, die mikrobiologische Reinigungskontrolle einmal wöchentlich.

PS 2: Die optische Reinigungskontrolle wird täglich durchgeführt, die mikrobiologische Reinigungskontrolle zweimal monatlich.

17. Wird die mikrobiologische Reinigungskontrolle in regelmäßigen Abständen von einer Fremdfirma durchgeführt? Welche Keime werden hierbei angezüchtet?

HS 1: Einmal monatlich wird die mikrobiologische Reinigungskontrolle von einer Fremdfirma durchgeführt. Hierbei werden Salmonellen, *E. coli*, Enterobakterien und die Gesamtkeimzahl bestimmt.

HS 2: Einmal jährlich wird die mikrobiologische Reinigungskontrolle vom Veterinäramt durchgeführt. Hierbei werden Salmonellen, *E. coli*, Staphylokokken und die Gesamtkeimzahl bestimmt.

PS 1: Einmal wöchentlich wird die mikrobiologische Reinigungskontrolle vom Veterinäramt durchgeführt. Hierbei werden Salmonellen, *E. coli*, Enterobakterien, Gesamtkeimzahl, Hefen und Schimmelpilze bestimmt.

PS 2: Einmal monatlich wird die mikrobiologische Reinigungskontrolle von einer Fremdfirma durchgeführt. Hierbei werden *E. coli*, Gesamtkeimzahl, Hefen und Schimmelpilze bestimmt.

18. Gibt es „mikrobiologische Problembereiche“?

HS 1: Es gibt keine mikrobiologischen Problembereiche.

HS 2: Die Kistenwäsche ist ein mikrobiologischer Problembereich.

PS 1: Die Transportbänder, der Ausnehmer, der Lungensauger sowie alle anderen Maschinen, die „ins Tier“ gehen, sind mikrobiologische Problembereiche.

PS 2: Die Rupfabteilung und Kesselanlage sind mikrobiologische Problembereiche.

Allgemeine Betriebshygiene

19. Gibt es im Betrieb Kältebrücken, wo es zur Kondenswasserbildung kommt?

HS 1: Es gibt Kältebrücken mit Kondenswasserbildung in der Verpackung und Kühlung.

HS 2: Es gibt Kältebrücken mit Kondenswasserbildung in der Verpackung und im Kühlhaus.

PS 1: Es gibt keine Kältebrücken mit Kondenswasserbildung.

PS 2: Es gibt Kältebrücken mit Kondenswasserbildung in der Umgebung des Umhängebandes.

20. Wird während der Produktion mit einem Hochdruckreiniger zwischengereinigt?

HS 1: Während der Produktion wird in allen Abteilungen mit einem Hochdruckreiniger zwischengereinigt.

HS 2: Es wird nicht mit einem Hochdruckreiniger zwischengereinigt.

PS 1: Im Bereich Schlachtung und in der Kistenwäsche wird während der Produktion mit einem Hochdruckreiniger zwischengereinigt.

PS 2: Es wird nicht mit einem Hochdruckreiniger zwischengereinigt.

21. Wird in Schichtarbeit gearbeitet? Wird bei Schichtwechsel eine Zwischenreinigung vorgenommen?

HS 1: Es wird nicht in Schichtarbeit gearbeitet.

HS 2: Es wird in Schichtarbeit gearbeitet. In der Abteilung Bratfertig wird bei Schichtwechsel der Fußboden abgespritzt, ansonsten findet keine Zwischenreinigung statt.

PS 1: Es wird in Schichtarbeit gearbeitet. Bei Schichtwechsel werden alle Arbeitsgeräte (Bretter usw.) komplett gewechselt. Eine Maschinenreinigung erfolgt nicht.

PS 2: Es wird nicht in Schichtarbeit gearbeitet.

22. Trocknen alle Arbeitsflächen/Oberflächen usw. vor erneuter Benutzung ab?

HS 1: Alle Arbeitsflächen/Oberflächen trocknen vor erneuter Benutzung ab.

HS 2: Alle Arbeitsflächen/Oberflächen trocknen vor erneuter Benutzung ab.

PS 1: Alle Oberflächen werden nach der Reinigung abgezogen, richtig Trocken werden die Arbeitsflächen/Oberflächen usw. durch die Schichtarbeit aber erst am Wochenende.

PS 2: Alle Arbeitsflächen/Oberflächen trocknen vor erneuter Benutzung ab.

23. Wie oft und mit welchen Gerätschaften werden die Gullis gereinigt?

HS 1: Die Gullis werden einmal täglich während der Betriebsreinigung mittels eines Hochdruckreinigers gesäubert.

HS 2: Die Gullis werden einmal täglich während der Betriebsreinigung mittels eines Hochdruckreinigers gesäubert. Alle 2 Wochen wird die Reinigung von einem Wasserbeauftragten durchgeführt.

PS 1: Die Gullis werden einmal täglich während der Betriebsreinigung mittels eines Hochdruckreinigers gesäubert.

PS 2: Die Gullis in der Bratfertigabteilung werden einmal täglich während der Betriebsreinigung mittels eines Hochdruckreinigers gesäubert. Die Gullis im „Scharzen Bereich“ werden nicht täglich gesäubert.

24. Aus welchem Material ist der Konfiskatbehälter und wo befindet sich dieser?
Wie oft wird er entleert?

HS 1: Der Konfiskatbehälter besteht aus V2A-Stahl und befindet sich in einem abschließbaren Raum. Er wird einmal täglich entleert.

HS 2: Der Konfiskatbehälter besteht aus V2A-Stahl und befindet sich im Annahmehbereich. Zur Entleerungsfrequenz werden keine Angaben gemacht.

PS 1: Der Konfiskatbehälter besteht aus V2A-Stahl und befindet sich im Annahmehbereich. Er wird 2 bis 3 mal täglich entleert.

PS 2: Der Konfiskatbehälter besteht aus V2A-Stahl und befindet sich im Annahmehbereich. Er wird zweimal täglich entleert.

Be- und Entlüftung

25. Ist die Be- und Entlüftung natürlich oder mechanisch? Weht ein mechanischer Luftstrom vom Unreinen (schwarz) in den Reinen (weiß) Bereich?

HS 1: Die Be- und Entlüftung wird mechanisch durch Ventilatoren sichergestellt. Es weht kein mechanischer Luftstrom vom Unreinen in den Reinen Bereich.

HS 2: Die Be- und Entlüftung wird mechanisch durch Ventilatoren sichergestellt. Es weht kein mechanischer Luftstrom vom Unreinen in den Reinen Bereich.

PS 1: Die Be- und Entlüftung wird mechanisch durch Ventilatoren sichergestellt. Es weht kein mechanischer Luftstrom vom Unreinen in den Reinen Bereich.

PS 2: Die Be- und Entlüftung wird mechanisch durch Ventilatoren sichergestellt. Es weht kein mechanischer Luftstrom vom Unreinen in den Reinen Bereich.

26. Wie und wie oft werden die Lüftungsfiler gereinigt?

HS 1: Die Lüftungsfiler werden bei Bedarf ausgetauscht.

HS 2: In der Annahme werden die Lüftungsfiler wöchentlich ausgetauscht, zu den anderen werden keine Angaben gemacht.

PS 1: Die Lüftungsfiler werden bei Bedarf ausgetauscht.

PS 2: Die Lüftungsfiler werden bei Bedarf (starker Verschmutzung) ausgetauscht.

II. Personalhygiene

27. Wo sind die Handwaschbecken installiert? Verfügen diese über einen Heiß- und Kaltwasseranschluss?

HS 1: Die Handwaschbecken verfügen über einen Heiß- und Kaltwasseranschluss und sind in größtmöglicher Nähe zum Arbeitsplatz installiert.

HS 2: Die Handwaschbecken verfügen über einen Heiß- und Kaltwasseranschluss und sind in größtmöglicher Nähe zum Arbeitsplatz installiert.

PS 1: Die Handwaschbecken verfügen über einen Heiß- und Kaltwasseranschluss und sind in größtmöglicher Nähe zum Arbeitsplatz installiert. Die Wassertemperatur wird durch eine Temperaturanzeige überprüft.

PS 2: Die Handwaschbecken verfügen über einen Heiß- und Kaltwasseranschluss und sind in größtmöglicher Nähe zum Arbeitsplatz installiert.

28. Gibt es Arbeitsanweisungen für das Hygieneverhalten des Personals? Wird das Personal vor Arbeitsbeginn darüber belehrt?

HS 1: Es gibt Arbeitsanweisungen für das Hygieneverhalten des Personals. Die Mitarbeiter werden vor Arbeitsbeginn belehrt.

HS 2: Es gibt Arbeitsanweisungen für das Hygieneverhalten des Personals. Die Mitarbeiter werden vor Arbeitsbeginn belehrt.

PS 1: Es gibt Arbeitsanweisungen für das Hygieneverhalten des Personals. Die Mitarbeiter werden vor Arbeitsbeginn belehrt.

PS 2: Es gibt Arbeitsanweisungen für das Hygieneverhalten des Personals. Die Mitarbeiter werden vor Arbeitsbeginn belehrt.

29. Werden in bestimmten Betriebsbereichen (z.B. Bereiche mit hoher Staubbelastung) Mund- und Nasenmasken von den Mitarbeitern getragen?

HS 1: In der Annahme/Einhängen werden von einigen Mitarbeitern Mund- und Nasenmasken getragen. Eine Belehrung über Infektionsgefahren erfolgte bei der Einstellung.

HS 2: In der Annahme/Einhängen werden von einigen Mitarbeitern Mund- und Nasenmasken getragen. Eine Belehrung über Infektionsgefahren erfolgte nicht.

PS 1: Es werden in keiner Abteilung Mund- und Nasenmasken von den Mitarbeitern getragen. Eine Belehrung der Einhängen über Infektionsgefahren erfolgte bei der Einstellung.

PS 2: Die Mitarbeiter in der Abteilung Einhängen sind dazu angehalten, Mund- und Nasenmasken zu tragen, dies wird jedoch nicht ausgeführt. In der Abteilung Einhängen weht ein Luftstrom von oben nach unten, dadurch kann kein Staub nach oben fliegen.

30. Wird die Arbeitskleidung gestellt, diese täglich gewechselt und bei 100 °C gewaschen?

HS 1: Die Arbeitskleidung wird gestellt, jeden Tag gewechselt und gewaschen.

HS 2: Die Arbeitskleidung wird gestellt, jeden Tag gewechselt und gewaschen.

PS 1: Die Arbeitskleidung wird gestellt, jeden Tag gewechselt und gewaschen.

PS 2: Die Arbeitskleidung wird gestellt, jeden Tag gewechselt und gewaschen.

31. Sind im Umkleideraum Straßen- und Arbeitskleidung getrennt untergebracht?

HS 1: Straßen- und Arbeitskleidung werden getrennt aufbewahrt.

HS 2: Straßen- und Arbeitskleidung werden getrennt aufbewahrt.

PS 1: Straßen- und Arbeitskleidung werden getrennt aufbewahrt.

PS 2: Straßen- und Arbeitskleidung werden getrennt aufbewahrt.

32. Besteht ein Personalwegeplan, indem die Mitarbeiter angewiesen werden, bestimmte Wege zu gehen?

HS 1: Es existiert ein Personalwegeplan.

HS 2: Es existiert ein Personalwegeplan.

PS 1: Es existiert ein Personalwegeplan mit Zwangsführung.

PS 2: Es existiert ein Personalwegeplan.

33. Wird regelmäßig eine Hygieneschulung durchgeführt, in der das individuelle Hygieneverständnis gefördert wird?

HS 1: Es wird regelmäßig eine Hygieneschulung durchgeführt, ein Zeitplan existiert nicht.

HS 2: Einmal jährlich wird eine Hygieneschulung des Personal durchgeführt.

PS 1: Einmal jährlich wird eine Hygieneschulung des Personal durchgeführt.

PS 2: Einmal jährlich wird eine Hygieneschulung des Personal durchgeführt.

34. Wird das Personal bei der Einarbeitung über Zoonosen belehrt?

HS 1: Das Personal wird auf das Ornithose-Risiko hingewiesen.

HS 2: Das Personal wird nicht über Zoonosen belehrt.

PS 1: Das Personal wird über Zoonosen belehrt.

PS 2: Das Personal wird nicht über Zoonosen belehrt.

35. Werden die Mitarbeiter vor Arbeitsantritt ärztlich untersucht?

HS 1: Alle Mitarbeiter werden vor Arbeitsantritt ärztlich untersucht.

HS 2: Alle Mitarbeiter werden vor Arbeitsantritt ärztlich untersucht.

PS 1: Die Mitarbeiter werden vor Arbeitsantritt nicht ärztlich untersucht.

PS 2: Alle Mitarbeiter werden vor Arbeitsantritt ärztlich untersucht.

5 Diskussion

5.1 Bewertung der angewendeten Nachweismethoden

Für den Chlamydiennachweis stehen eine Reihe von Methoden zur Verfügung. Es wird zwischen dem direkten Erreger- oder Antigennachweis mit und ohne Erregeranzüchtung und dem Antikörpernachweis unterschieden. In der vorliegenden Arbeit wurde zur Chlamydiendiagnostik die Erregeranzüchtung in BGM-Zellkulturen mit anschließender direkter Immunfluoreszenz sowie die Polymerase-Ketten-Reaktion mit Restriktionsenzymanalyse durchgeführt (siehe 2.6.4). Keine der erwähnten Methoden ist bisher von nationalen oder internationalen Gremien standardisiert und validiert worden.

5.1.1 Bewertung der Erregeranzüchtung in BGM-Zellkulturen mit anschließender direkter Immunfluoreszenz

In vier Geflügelschlachtereien (2 Hähnchen- und 2 Putenschlachtereien) wurden Milzen und Tupferproben von Arbeitsflächen, Oberflächen, Arbeitsgeräten usw. entnommen. Die Tupferproben und Organe (Milzen) wurden nach entsprechender Aufbereitung auf BGM-Zellkulturen verimpft und nach Passagierung sowie Bedarfsweiser Filtration mit dem Chlamydia-Antigen-VET-IFT[®] der Firma Medac gefärbt. Die Untersuchung erfolgte mittels eines Fluoreszenzmikroskops. Das Testprinzip der direkten Immunfluoreszenz beruht auf der Sichtbarmachung einer Bindung von fluoreszenzmarkierten monoklonalen Antikörpern an das gattungsspezifische Lipopolysaccharid. Diese Nachweismethode, sowie auch alle anderen färberischen Methoden dienen, entgegen zahlreicher Veröffentlichungen meist älteren Jahrgangs, lediglich zur genusspezifischen Diagnose (UNKRIG, 1995; TADAY, 1998; ANDERSEN, 2000).

Mit der direkten Immunfluoreszenz können Abklatschpräparate, Organabstriche usw. ohne vorherige Anzüchtung in Zellkulturen untersucht werden. Der Erreger muss bei diesem Test nicht mehr vermehrungsfähig sein (UNKRIG, 1995). Die Anzüchtung von Chlamydien in Zellkulturen (z.B. BGM, HeLa) mit anschließender direkter

Immunfluoreszenz ist eine sehr gute Ergänzung zur Färbung von Abklatschpräparaten und gilt als sehr sensitiv (UNKRIG, 1995; SIEMERS, 1999). Vitale Erreger werden in Zellkulturen vermehrt bevor die Immunfluoreszenz durchgeführt wird (siehe 3.1.7.2). Hierdurch können auch noch geringe Erregermengen nachgewiesen werden. Voraussetzung für eine Erregervermehrung ist jedoch das Vorhandensein von vermehrungsfähigen vitalen Chlamydien. Sind die Chlamydien tot oder nicht mehr vermehrungsfähig, kommt es durch die Anzüchtung in der Zellkultur zu einer Verdünnung, sodass ein Erregernachweis nicht mehr erfolgen kann, obwohl dieser in der zu untersuchenden Probe vorhanden war. Der Verdünnungseffekt wird durch Passagierung noch verstärkt. Es gibt eine ganze Reihe von Faktoren, die zum Verlust der Vermehrungsfähigkeit und Vitalität von Chlamydien führen können. Wird das Geflügel mit gegen Chlamydien wirksamen Antibiotika wie Tetracycline, Makrolid-Antibiotika, Chloramphenicol, Rifamycin oder Chinolonen vorbehandelt, führt dies zum Verlust der Infektiosität und somit der Vermehrungsfähigkeit des Erregers (SELBITZ, 1992; ROLLE und MAYR, 1993; ANDERSEN et al., 1997; THEURETZBACHER und SEEWALD, 1999). Aber auch zu lange Transportzeiten, wodurch es zur Eintrocknung der Proben kommen kann, ungeeignete Transportmedien, Beimengungen von Fremdpartikeln und Verschmutzungen (z.B. Kot, Sand, Futter) sowie Reinigungsmittelreste können zum Verlust der Vermehrungsfähigkeit von Chlamydien führen. Ist die Vermehrungsfähigkeit erhalten, gilt die Erregeranzüchtung in der Zellkultur mit anschließender Immunfluoreszenz als sensitive Methode (UNKRIG, 1995; SIEMERS, 1999; ANDERSEN und VANROMPAY, 2003).

Bei der Anzüchtung von Chlamydien in Zellkulturen ist die sterile Erhaltung derselben eine Grundvoraussetzung. Die zu verimpfenden Proben sollten möglichst gar nicht oder nur ganz gering mikrobiell kontaminiert sein, was in praxi jedoch kaum umzusetzen war. Die Geflügelschlachtereien wurden während der Produktionszeit (Schlachtung, Zerlegung, Verarbeitung) beprobt. Häufig war es nicht möglich, die Tupferproben steril zu entnehmen, obwohl schnell und sauber gearbeitet wurde. In vielen beprobten Betriebsbereichen, besonders in den Bereichen Annahme/Einhängen, Entbluten und Eviszeration, herrschte eine enorm hohe Luftfeuchtigkeit sowie Spritzwasser- und Kondenswasserbildung. Meist kam es schon bei der Entnahme des Watteträgers aus dem sterilen Vorratsgefäß zur mikrobiellen Kontamination desselben, was die spätere Anzüchtung in der BGM-Zellkultur erheblich erschwerte. Die Proben wurden sehr

sorgfältig aufbereitet, zentrifugiert und bei Bedarf filtriert, um eine Keimarmut zu erreichen. Da die Keimreduktion jedoch nicht in allen Fällen gelang, war ein relativ hoher Prozentsatz der Proben nicht auswertbar. Die BGM-Zellkulturen verkeimten immer wieder oder reagierten toxisch. Toxische Reaktionen der BGM-Zellen nach dem Verimpfen der Probensuspension könnten auf Reinigungs- und Desinfektionsmittelreste hindeuten, da diese toxisch für Zellen sein können. Sie inaktivieren Chlamydien und hemmen somit ihre Vermehrung.

Zahlreiche Milzen waren mit Bakterien und/oder Kotresten kontaminiert. Hierdurch kam es zur Verkeimung der BGM-Zellen, die trotz Passagierung und Filtration nicht zu verhindern war. Bei der Immunfluoreszenz der Milzproben kam es verstärkt zu unspezifischer Fluoreszenz, wobei keine Elementar- oder Retikularkörperchen erkannt werden konnten. Es kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass einige der nicht auswertbaren Proben den Erreger enthielten (siehe 5.2.5.9).

Ein Vorteil des IFT ist, dass der Test relativ leicht und schnell anzuwenden ist; das Ergebnis liegt schon nach ca. 1,5 Stunden vor. Nachteilig wirkt sich jedoch der lange Zeitraum für die Anzucht und Vermehrung des Erregers in der Zellkultur aus, was durchschnittlich eine Woche in Anspruch nimmt. Die Anzucht von *Chlamydochlamydia psittaci* in Zellkulturen ist außerdem relativ schwierig. Für die Auswertung des IFT ist geschultes Personal notwendig. Das mäanderförmige Durchmusterung und Beurteilen der Objektträger mit Hilfe des Fluoreszenzmikroskops nimmt relativ viel Zeit in Anspruch und stellt, besonders für die Augen des Untersuchungspersonals, eine Anstrengung dar. Die Auswertung dieses Tests ist bei großem Probenaufkommen sehr zeitaufwendig. Durch Artefakte und subjektive Einschätzungen kann es zu Fehlinterpretationen und somit zu falsch positiven Ergebnissen kommen.

Die Erregeranzucht in der BGM-Zellkultur mit anschließender direkter Immunfluoreszenz ist daher als Nachweismethode für die in dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen nicht uneingeschränkt zu empfehlen.

5.1.2 Bewertung der Amplifikation des *omp1*-Gens mittels Polymerase-Ketten-Reaktion

Die Tupferproben wurden mit dem QIAamp DNA Blood Mini Kit[®], die Milzproben mit dem DNeasy[™] Tissue Kit[®] der Firma Qiagen aufbereitet (DNA-Isolierung). Anschließend wurde eine genuspezifische PCR (YOSHIDA et al., 1998) durchgeführt. Bei einem *Chlamydomphila* sp.-positiven Amplifikat wurde eine enzymatische Verdauung mit den Restriktionsenzymen Alu I und Pvu II vorgenommen, was zur Speziesdifferenzierung diente. Die Auswertung der Proben erfolgte mittels Agarose-Gel-Elektrophorese.

Der Erregernachweis mittels Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) gewinnt immer mehr an Bedeutung (HEWINSON et al., 1991, 1997; KALTENBOECK et al., 1991, 1992, 1997; MESSMER et al., 1997; MORONEY et al., 1998; OLSEN et al., 1998; YOSHIDA et al., 1998; EVERETT et al., 1999, 1999a; McELNEA and CROSS, 1999). Es handelt sich hierbei um ein in vitro-Verfahren zur Amplifikation von Nukleinsäurebereichen definierter Länge und Sequenz aus einem Gemisch von Nukleinsäure-Molekülen. Mittels PCR sind auch nicht mehr vermehrungsfähige Erreger nachweisbar, da nur deren Nukleinsäure benötigt wird. Diese Methode erlaubt den spezies-spezifischen Nachweis bei Chlamydien. Das Testergebnis liegt nach ein bis zwei Tagen vor. Eine zeitaufwendige Anzüchtung des Erregers in der Zellkultur entfällt. Ein weiterer Vorteil dieser Methode ist, dass große Probenmengen leicht bewältigt werden können. Allerdings ist zur Durchführung einer PCR ein intensiv geschultes Fachpersonal erforderlich.

Als Nachteil ist der hohe technische und finanzielle Aufwand für Material und Laborausstattung anzusehen. Die PCR ist ein relativ störanfälliges Verfahren. So ist es erforderlich, bei jedem Ansatz mindestens jeweils eine Positiv- und Negativ-Kontrolle mitlaufen zu lassen, um zu überprüfen, ob Kontaminationen vorhanden sind (Negativ-Kontrolle) oder ob die Qualität des PCR-Ansatzes ausreichend ist (Positiv-Kontrolle). Außerdem gibt es eine Reihe von Substanzen wie z.B. DMSO, Eisen oder EDTA, die als Inhibitoren eine PCR-Reaktion stören können. Nach Aussage des Herstellers der Aufbereitungskits (Qiagen) sollen die hemmenden Substanzen herausgefiltert werden. Die Ursachen einer Reaktionsstörung sind jedoch nicht immer herauszufinden (SIEMERS, 1999).

Die entnommenen Proben eigneten sich für eine Untersuchung mittels PCR, nur bei den Milzen kam es zu einer erhöhten Anzahl an nicht auswertbaren Proben. Hier entstanden Probleme bei der Probenaufbereitung (DNA-Extraktion) (siehe 5.2.5.9). Letztendlich stellt die PCR aber eine moderne Nachweismethode dar und ist für die in dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen als geeignet anzusehen.

5.2 Bewertung der Ergebnisse

Um die gewonnenen Ergebnisse besser darstellen zu können, wurden die entnommenen Tupferproben bestimmten Betriebsbereichen zugeordnet. Es war nicht möglich, in jedem Betriebsbereich die gleiche Probenanzahl zu ziehen, so waren z.B. in Büroräumen oder bei Transportkäfigen weniger Proben als im Bereich Eviszeration zu entnehmen. Um die Ergebnisse aber dennoch vergleichbar zu machen, erfolgt die Darstellung in Prozent.

Mittels des direkten IFT waren bei 11 % aller untersuchten Proben *Chlamydophila* sp. nachzuweisen, 72 % waren negativ und 17 % der Proben nicht auswertbar. Mittels PCR waren bei 27 % aller untersuchten Proben *Chlamydophila psittaci* nachzuweisen, 67 % waren negativ und 7 % der Proben nicht auswertbar. Somit waren mittels PCR 16 % mehr Chlamydiennachweise möglich. Alle Proben, die in der BGM-Zellkultur mit anschließender Immunfluoreszenz *Chlamydophila* sp.-positiv waren, waren dies ebenfalls in der PCR mit anschließender Restriktionsenzymanalyse. Keine der Proben war mittels des IFT positiv und mittels PCR negativ.

Die gewonnenen Ergebnisse belegen, dass *Chlamydophila psittaci* in deutschen Masthähnchen- und Putenschlachtereien zu finden war. Die Nachweishäufigkeit von *Chlamydophila psittaci* war in Putenschlachtereien höher als in Hähnchenschlachtereien. Puten sind im Vergleich zu anderen Nutzgeflügelarten wie z.B. Hühner für Infektionen mit *Chlamydophila psittaci* besonders empfänglich, hier ist der Erreger weit verbreitet (ANDREWS, 1957; DUFREE et al., 1975; ANDERSON et al., 1978; HEDBERG et al., 1989; NEWMAN et al., 1989; HAFEZ und STING, 1992, 1994). Möchte man eine Rangfolge der Nachweishäufigkeit von *Chlamydophila psittaci* aus den beprobten Schlachtereien aufstellen, so steht an erster Stelle die Putenschlachtereier 2 (IFT: 17 % positiv; PCR: 41 % positiv), gefolgt von der Putenschlachtereier 1 (IFT: 9 %

positiv; PCR: 29 % positiv), gefolgt von der Hähnchenschlachtereier 2 (IFT: 10 % positiv; PCR: 21 % positiv) und der Hähnchenschlachtereier 1 (IFT: 8 % positiv; PCR: 17 % positiv).

Die zum Zeitpunkt der Probeentnahme geschlachteten Broiler und Puten waren klinisch vollkommen gesund. Die Geflügelfleischhygiene-Verordnung schreibt eine Schlachtgeflügeluntersuchung nach § 4 vor. Nur klinisch gesund erscheinendes Geflügel erhält die Schlachterlaubnis und darf der Schlachtung zugeführt werden. Ergibt sich bei der Schlachtgeflügeluntersuchung ein Beanstandungsgrund (Anlage 1 Kapitel II Nr. 5), wie z.B. eine klinische Ornithose beim Wirtschaftsgeflügel (Anlage 1 Kapitel II Nr. 5.3) besteht nach § 5 GFHV Schlachtverbot. Somit müssen klinisch gesund erscheinende Masthähnchen und Mastputen *Chlamydophila psittaci* ausgeschieden haben. Antikörper gegen *Chlamydophila psittaci* sind in klinisch unauffälligen Mastgeflügelherden (Puten und Hühner) häufig anzutreffen, da die Tiere in der Regel klinisch inapparent infiziert bleiben. Die Feststellung von Ornithose ist unter Praxisbedingungen kaum möglich, da keine pathognomonischen Symptome beim Geflügel existieren (BECKER et al., 1992; SELBITZ, 1992; KALETA et al., 1997). Die Diagnose Ornithose ist also ein Zufallsbefund bei der Schlachtgeflügeluntersuchung. Die aktuelle Gesetzeslage, die keinerlei systematische Untersuchung von Wirtschaftsgeflügelbeständen vorsieht, ist absolut ungenügend in Bezug auf die *Chlamydophila psittaci*-Prophylaxe und -Diagnostik.

5.2.1 Bewertung der Ergebnisse aus der Hähnchen (Broiler) -schlachtereier 1

Die Hähnchen (Broiler) -schlachtereier 1 war direkt an eine Broilermästerei angegliedert und lag freistehend außerhalb einer Ortschaft. Das Schlachtgeflügel war ausschließlich deutscher Herkunft. Es konnte kein Schädlingsbefall (Kakerlaken, Mäuse, Ratten etc.) festgestellt werden. Es wurden keine Wildvögel wie Sperlinge oder Tauben sowie deren Hinterlassenschaften in den Produktionsräumen gesichtet.

Mittels des direkten IFT waren 8 % *Chlamydophila* sp., mittels PCR 17 % *Chlamydophila psittaci*-Nachweise möglich. Somit gelangen mittels PCR 9 % mehr *Chlamydophila psittaci*-Nachweise, was zu einem daran liegen mag, dass die PCR die geeignetere Nachweismethode darstellt (siehe 5.1), zum anderen kam es durch widrige

Umwelteinflüsse häufiger zur bakteriellen Kontamination der Proben. Der Anteil an nicht auswertbaren Proben war beim IFT (16 %) höher als bei der PCR (10 %).

Die Ergebnisse der eigenen Untersuchungen belegen, dass *Chlamydomphila psittaci* in deutschen Broilerherden verbreitet ist. UNKRIG (1993) untersuchte bei klinisch gesund erscheinenden Hühnern jeweils 30 Kloakentupfer aus vier Herden. Der Chlamydiennachweis gelang mittels direkter Immunfluoreszenz bei 40 Hühnern. HAFEZ und STING (1997) testeten klinisch unauffällige Broilerherden zum Zeitpunkt der Schlachtung auf *Chlamydomphila psittaci*-Antigen und Antikörper. Die Kotproben aller 25 beprobten Herden waren *Chlamydomphila psittaci*-positiv, die Milzen alle negativ. Die Serologie ergab bei 16 von 25 untersuchten Herden positive Befunde. Auch CHAHOTA et al. (1997) wiesen bei 26 von 125 untersuchten klinisch gesunden Masthähnchen in einem Geflügelschlachthof *Chlamydomphila psittaci* nach. Diese Studien bestätigen die eigenen Untersuchungsergebnisse.

In der Annahme/Einhängen waren mittels IFT 13 % *Chlamydomphila* sp., mittels PCR 25 % *Chlamydomphila psittaci*-Nachweise möglich. In diesem Bereich war eine starke Staubentwicklung zu beobachten. Die Abluftrohre sowie alle anderen Oberflächen waren mit einer dicken Staubschicht behaftet. Die Tiere wurden vor dem Einhängen nicht mit Wasser angefeuchtet was die Staubentwicklung noch verstärkte (siehe 5.2.5.1).

Im Bereich Entbluten gelangen mittels IFT 17 % *Chlamydomphila* sp., mittels PCR 29 % *Chlamydomphila psittaci*-Nachweise. Hier war eine enorme Aerosol-, Kondens- und Spritzwasserbildung zu beobachten, die durch benachbarte Brüh- und Rupanlagen noch verstärkt wurde. Das Kondenswasser tropfte von Decken und Oberstrukturen (Metallträger, Rohre etc.) auf darunter befindliche Personen, Oberflächen oder Tierkörper herab (siehe 5.2.5.2).

Im Eviszerationsbereich waren mittels IFT 5 % *Chlamydomphila* sp., mittels PCR 10 % *Chlamydomphila psittaci*-Nachweise möglich. Auch in diesem Bereich war eine starke Aerosol-, Kondens- und Spritzwasserbildung zu beobachten, das von Decken und Oberstrukturen auf darunter befindliche Personen, Oberflächen oder Tierkörper herabtropfte. Im Gegensatz zu den Bereichen Annahme/Einhängen und Entbluten gelangen hier relativ wenige Chlamydiennachweise. Hierfür könnte die ständige Zwischenspülung der Anlagen mit Wasser, wodurch der Erreger weggespült werden

konnte, verantwortlich sein (siehe 5.2.5.5).

In der Zerlegung waren mittels IFT 17 % *Chlamydomphila* sp., mittels PCR 25 % *Chlamydomphila psittaci*-Nachweise möglich. Die Abteilung Zerlegung gehörte zum Reinen (Weißen) Bereich der Schlachtereier. In der Hähnchenschlachtereier 1 war dieser Bereich jedoch über eine „Abkürzung“ über den Hof unter Umgehung der Hygieneschleuse zu erreichen. Diese „Abkürzung“ wurde von den Mitarbeitern häufig genutzt, obwohl Personalwegepläne und Arbeitsanweisungen zum Hygieneverhalten des Personals existierten. So betrat das Schlacht- und Einhängpersonal ohne Reinigung und Desinfektion der Stiefel und Hände „schmutzig“ den Reinen Bereich, was eine Erklärung für die relativ hohe Chlamydien-Nachweisrate in diesem Bereich sein könnte (siehe 5.2.5.6).

Im Bereich Verpackung waren mittels PCR 13 % *Chlamydomphila psittaci*-Nachweise möglich, mittels IFT gelang kein Chlamydiennachweis. Die Verpackung war ebenso wie die Zerlegung über die „Abkürzung“ über den Hof unter Umgehung der Hygieneschleuse zu erreichen. In diesem Betriebsbereich gab es Kältebrücken wo es zur Kondenswasserbildung kam (siehe 5.2.5.7).

Die Reinigung und Desinfektion der genannten Betriebsbereiche (Annahme/Einhängen, Entbluten, Eviszeration, Zerlegung, Verpackung) wurde täglich (Decken alle 4 bis 6 Wochen) von einer Fremdfirma durchgeführt. Eine Schulung des Reinigungspersonals fand in regelmäßigen Abständen statt. Basische und Saure Reinigungsmittel wurden im Wechsel angewendet (3 x basisch, 2 x sauer) um einen Reinigungserfolg zu gewährleisten. Saure Reinigungsmittel bestehen aus organischen und anorganischen Säuren, welche mikrobizid wirken. Organische Säuren sind z.B. Zitronensäure, Gluconsäure, Weinsäure und Sulfaminsäure. Als anorganische Säuren werden Salzsäure, Phosphorsäure, Salpetersäure oder Schwefelsäure eingesetzt. Alkalische Reinigungsmittel haben ebenfalls, neben Reinigungseigenschaften wie Lösen, Emulgieren, Suspendieren und Verseifen eine mikrobizide Wirkung. Sie enthalten Alkalien wie Natriumcarbonat (Soda), Natriumhydrogencarbonat, Natriumhydroxid, Ammoniumhydroxid, Natronlauge und Silikate (BÖHM, 2002) (siehe 2.5.2.1).

In den Produktionsbüros und im Bereich Sonstige (Kunststofftürgriffe, Konfiskatbehälter) gelang mit beiden Nachweismethoden (IFT und PCR) kein Erregernachweis. Die Büros wurden einmal täglich mit Putzmittel gereinigt (Decken blieben hierbei unberücksichtigt) (siehe 5.2.5.8 und 5.2.5.11).

Bei den Milzen waren mittels PCR 10 % *Chlamydomphila psittaci*-Nachweise möglich, mittels IFT gelang kein Chlamydiennachweis. Die Auswertung der Milzproben stellt eine Einzeltierdiagnostik dar, somit waren nicht alle beprobten Schlachtkörper *Chlamydomphila psittaci*-positiv. Ein großer Teil der Milzproben wurde als nicht auswertbar (IFT: 57 %; PCR: 33 %) beurteilt. Es konnte nicht ermittelt werden, ob diese Tiere Erregerträger waren (siehe 5.2.5.9).

Bei den Transportkäfigen war mit beiden Nachweismethoden (IFT und PCR) kein Erreger zu isolieren. Die Broiler in den beprobten Käfigen waren somit keine Chlamydien-Ausscheider. Da *Chlamydomphila psittaci*-Nachweise jedoch in den unterschiedlichsten Betriebsbereichen, vor allem in den Bereichen Annahme/Einhängen und Entbluten, gelungen sind, müssen Broiler aus zuvor geschlachteten Chargen den Erreger ausgeschieden haben (siehe 5.2.5.10).

Bei den Arbeitsgeräten (Gummihandschuhe, Schürzen, Messer) waren mittels IFT 8 % *Chlamydomphila sp.*, mittels PCR 33 % *Chlamydomphila psittaci*-Nachweise möglich. Für Messer und Schürzen wurde ein Reinigungsmittel auf Chlorbasis verwendet. Präparate auf Chlorbasis haben ein breites Wirkspektrum (Bakterien, Viren, Pilze) und eine gute mikrobizide Wirkung (BÖHM, 2002). Die Messer wurden während der Produktionszeit in Sterilisationsbecken abgelegt und in jeder Arbeitspause sowie bei der täglichen Endreinigung gereinigt und desinfiziert. Die Schürzen des Personals aus der Annahme wurden in jeder Pause sowie nach der Betriebszeit gereinigt und desinfiziert. Im restlichen Betriebsbereich wurden Einwegschürzen verwendet (siehe 5.2.5.12).

Es existierten Arbeitsanweisungen für das Hygieneverhalten des Personals, die Durchführung der Reinigung und Desinfektion sowie Anwendung (Einwirkzeit) und Dosierung der Reinigungsmittel. Eine optische Reinigungskontrolle wurde täglich, die mikrobiologische einmal monatlich durchgeführt, wobei die Gesamtkeimzahl, *E. coli*, Salmonellen und Enterobakterien bestimmt wurden. Eine Untersuchung auf *Chlamydomphila psittaci* erfolgte nicht. Trotz der per Arbeitsanweisung durchgeführten

Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen gelangen relativ viele *Chlamydomphila psittaci*-Nachweise mittels PCR, besonders in den Bereichen Annahme/Einhängen, Entbluten, Zerlegung sowie bei den Arbeitsgeräten. Dies konnte auf eine hohe Prävalenz von *Chlamydomphila psittaci* bei den angelieferten Broilerherden hindeuten. Mangelhaft durchgeführte Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen sowie deren Kontrolle (optisch, mikrobiologisch) konnten jedoch als Ursache ebenfalls in Frage kommen. Während der Produktion wurden alle Abteilungen mit einem Hochdruckreiniger zwischengereinigt. Dieser Vorgang ist als problematisch anzusehen, da hierdurch Keime (evtl. Chlamydien), Schmutz und Staub aufgewirbelt, in Aerosolform gleichmäßig in den Räumlichkeiten verteilt, und vom Personal eingeatmet werden können.

Die Ergebnisse zeigen, dass *Chlamydomphila psittaci* in der Hähnchenschlachtereier 1 aus der Umgebung von und in klinisch gesunden Masthähnchen sowie von Gegenständen, mit denen die Tiere direkt und/oder indirekt in Kontakt kamen, zu isolieren war. Das Schlachtereipersonal konnte in fast allen Betriebsbereichen mit dem Erreger in Kontakt kommen. Das Risiko einer *Chlamydomphila psittaci*-Infektion bei Personen, die in der Hühnerzucht oder in Hähnchenschlachtereien beschäftigt sind, ist bekannt und in der Literatur mehrfach beschrieben worden (KARRER et al., 1950; RINDGE et al., 1959; OTTO, 1961; STRAUSS, 1967; MANKE et al., 2000).

5.2.2 Bewertung der Ergebnisse aus der Hähnchen (Broiler) -schlachtereier 2

Die Hähnchen (Broiler) -schlachtereier 2 lag freistehend in einem Industriegebiet. Das Schlachtgeflügel war ausschließlich deutscher Herkunft. Es konnte kein Schädlingsbefall (Kakerlaken, Mäuse, Ratten etc.) festgestellt werden. Es wurden keine Wildvögel wie Sperlinge oder Tauben sowie deren Hinterlassenschaften in den Produktionsräumen gesichtet.

Mittels des direkten IFT waren 10 % *Chlamydomphila* sp., mittels PCR 21 % *Chlamydomphila psittaci*-Nachweise möglich. Somit gelangen mittels PCR 11 % mehr *Chlamydomphila psittaci*-Nachweise (siehe 5.1). Der Anteil an nicht auswertbaren Proben war beim IFT (15 %) höher als bei der PCR (8 %). Die Anzahl der Chlamydiennachweise schwankte zwischen den Probenahmen. Hierfür konnten die wechselnde Probenzahl oder der unterschiedliche Durchseuchungsgrad der

Schlachtherden verantwortlich sein. Fand die Probeentnahme während der Schlachtung einer *Chlamydophila psittaci*-positiven Herde statt, ist es nachvollziehbar, dass hier die Nachweisraten erhöht sein konnten. Die Ergebnisse der eigenen Untersuchungen belegen, dass *Chlamydophila psittaci* in deutschen Broilerherden verbreitet ist (siehe 5.2.1).

In der Annahme/Einhängen waren mittels IFT 13 % *Chlamydophila* sp., mittels PCR 29 % *Chlamydophila psittaci*-Nachweise möglich. In diesem Bereich war eine starke Staubentwicklung zu beobachten. Die Belüftungsrohre und andere Oberflächen waren mit einer Staubschicht behaftet. Die Tiere wurden vor dem Einhängen nicht mit Wasser angefeuchtet was die Staubentwicklung noch verstärkte (siehe 5.2.5.1).

Im Bereich Entbluten gelangen mittels IFT 4 % *Chlamydophila* sp., mittels PCR 13 % *Chlamydophila psittaci*-Nachweise. Hier war eine enorme Aerosol-, Kondens- und Spritzwasserbildung zu beobachten, die durch benachbarte Brüh- und Rupfanlagen noch verstärkt wurde. Das Kondenswasser tropfte von Decken und Oberstrukturen auf darunter befindliche Personen, Oberflächen oder Tierkörper herab (siehe 5.2.5.2).

Im Eviszerationsbereich waren mittels IFT 19 % *Chlamydophila* sp., mittels PCR 31 % *Chlamydophila psittaci*-Nachweise möglich. Auch in diesem Bereich war eine starke Aerosol-, Kondens- und Spritzwasserbildung zu beobachten, das von Decken und Oberstrukturen auf darunter befindliche Personen, Oberflächen oder Tierkörper herabtropfte (siehe 5.2.5.5).

In der Zerlegung waren mittels IFT und PCR jeweils 21 % *Chlamydophila psittaci*-Nachweise möglich. In diesem Bereich war eine Kondenswasserbildung an Decken und Oberstrukturen zu beobachten (siehe 5.2.5.6).

Im Bereich Verpackung waren mittels IFT 17 % *Chlamydophila* sp., mittels PCR 42 % *Chlamydophila psittaci*-Nachweise möglich. In diesem Betriebsbereich gab es Kältebrücken wo es zur Kondenswasserbildung kam (siehe 5.2.5.7).

Die Reinigung und Desinfektion der genannten Betriebsbereiche (Annahme/Einhängen, Entbluten, Eviszeration, Zerlegung, Verpackung) wurde täglich (Decken alle 4 bis 6 Wochen) von Betriebsangehörigen, welche ausschließlich für die Reinigung beschäftigt waren, durchgeführt. Angaben über verwendete Reinigungsmittel wurden nicht

gemacht. Eine Schulung des Reinigungspersonals fand in regelmäßigen Abständen statt. Wird ein Betrieb von Betriebsangehörigen, welche nicht ausschließlich für die Reinigung beschäftigt sind, nach der Betriebszeit gereinigt, muss die Durchführung und der Erfolg der Reinigung äußerst kritisch betrachtet werden. Die Reinigungsmaßnahmen werden hier oft zu schnell und ungenau durchgeführt, da das Personal den Heimweg antreten möchte. So werden z.B. Einwirkzeiten nicht eingehalten oder Reinigungsintervalle verlängert. Das Reinigungspersonal der Hähnenschlächtereier 2 begann im Unreinen (Schwarzen) Bereich mit der täglichen Reinigung und setzte diese im Reinen (Weißen) Bereich fort. Diese Vorgehensweise muss kritisch betrachtet werden, da hierdurch Aerosole, Keime (z.B. Chlamydien) und sonstige Verschmutzungen vom Unreinen in den Reinen Bereich verschleppt werden können.

Bei den Milzen waren mittels IFT 5 % *Chlamydomphila* sp., mittels PCR 10 % *Chlamydomphila psittaci*-Nachweise möglich. Somit waren nur wenige der beprobten Schlachttiere Erreger-Ausscheider. Ein großer Teil der Milzproben wurde als nicht auswertbar (IFT: 62 %; PCR: 19 %) beurteilt. Es konnte nicht ermittelt werden ob diese Tiere Erregerträger waren (siehe 5.2.5.9).

In den Produktionsbüros und im Bereich Sonstige (Kunststofftürgriffe, Sterilisationsbecken, Konfiskatbehälter) gelang mit beiden Nachweismethoden kein Erregernachweis. Die Büros wurden einmal täglich mit Putzmittel gereinigt (Decken blieben hierbei unberücksichtigt) (siehe 5.2.5.8 und 5.2.5.11).

Bei den Transportkäfigen waren mittels PCR 25 % *Chlamydomphila psittaci*-Nachweise möglich, mittels IFT gelang kein Chlamydiennachweis. Einige Broiler in den beprobten Käfigen mussten somit *Chlamydomphila psittaci*-Ausscheider gewesen sein (siehe 5.2.5.10).

Bei den Arbeitsgeräten (Kettenhandschuhe, Schürzen, Messer) waren mittels IFT 8 % *Chlamydomphila* sp., mittels PCR 25 % *Chlamydomphila psittaci*-Nachweise möglich. Es wurden keine Angaben über angewendete Reinigungsmittel gemacht. Eine Zwischendesinfektion der Gerätschaften wurde nicht vorgenommen. Die Kettenhandschuhe wurden von Hand, Schürzen in einer Schürzenwaschanlage am Ende

des Arbeitstages und Messer in jeder Pause in einer Messerwaschanlage gereinigt (siehe 5.2.5.12).

Es existierten Arbeitsanweisungen für das Hygieneverhalten des Personals sowie für die Durchführung der Reinigung und Desinfektion. Die korrekte Anwendung (Einwirkzeit) und Dosierung der Reinigungsmittel wurde nicht kontrolliert, was kritisch zu betrachten ist. Eine optische Reinigungskontrolle wurde täglich, die mikrobiologische einmal wöchentlich durchgeführt, wobei die Gesamtkeimzahl, *E. coli*, Salmonellen und Staphylokokken bestimmt wurden. Eine Untersuchung auf *Chlamydophila psittaci* erfolgte nicht. Trotz der per Arbeitsanweisung durchgeführten Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen gelangen *Chlamydophila psittaci*-Nachweise in fast allen Betriebsbereichen (Annahme/Einhängen, Entbluten, Eviszeration, Zerlegung, Verpackung, Milz, Käfige, Arbeitsgeräte). Dies konnte auf eine hohe Prävalenz von *Chlamydophila psittaci* bei den angelieferten Broilerherden hindeuten. Mangelhaft durchgeführte Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen sowie deren Kontrolle (optisch, mikrobiologisch) konnten jedoch als Ursache ebenfalls in Frage kommen.

Die Ergebnisse zeigen, dass *Chlamydophila psittaci* in der Hähnchenschlachtereier 2 aus der Umgebung von und in klinisch gesunden Masthähnchen sowie von Gegenständen, mit denen die Tiere direkt und/oder indirekt in Kontakt kamen, zu isolieren war. Hierdurch besteht die Gefahr einer *Chlamydophila psittaci*-Infektion beim beschäftigten Personal, was in der Literatur mehrfach beschrieben wurde (KARRER et al., 1950; WARD et al., 1954; RINDGE et al., 1959; OTTO, 1961; STRAUSS, 1967; MANKE et al., 2000).

5.2.3 Bewertung der Ergebnisse aus der Putenschlachtereier 1

Die Putenschlachtereier 1 lag freistehend am Rande eines Industriegebietes. Die Herkunft des Schlachtgeflügels war zu 98 % aus Deutschland und zu 2 % aus den Niederlanden. Es konnte kein Schädlingsbefall (Kakerlaken, Mäuse, Ratten etc.) festgestellt werden. Es wurden keine Wildvögel wie Sperlinge oder Tauben in den Produktionsräumen gesichtet. In der Zerlegeabteilung wurde auf Metallträgern jedoch Vogelkot gefunden. Das Personal erklärte bei Befragung, dass sich häufiger Wildvögel wie Sperlinge und Tauben in die Produktionsräume „verirren“ und es sich schwierig gestalten würde, diese

wieder zu entfernen.

Mittels des direkten IFT waren 9 % *Chlamydophila* sp., mittels PCR 29 % *Chlamydophila psittaci*-Nachweise möglich. Somit gelangen mittels PCR 21 % mehr *Chlamydophila psittaci*-Nachweise (siehe 5.1). Der Anteil an nicht auswertbaren Proben war beim IFT (14 %) höher als bei der PCR (4 %).

Die Ergebnisse der eigenen Untersuchungen belegen, dass *Chlamydophila psittaci* in Mastputenherden verbreitet ist. UNKRIG (1993) untersuchte bei klinisch gesunden Mastputen 30 Kloakentupfer aus vier Herden. Der Chlamydiennachweis mittels erweiterter Immunfluoreszenz gelang bei 21 Puten. Auch HAFEZ und STING (1997) zeigten in einer Studie, dass *Chlamydophila psittaci* in Putenherden verbreitet ist. Klinisch unauffällige Mastputenherden wurden zum Zeitpunkt der Schlachtung auf *Chlamydophila psittaci*-Antigen und -Antikörper getestet. Bei den Putenkotproben der weiblichen Tiere waren 76,9 % *Chlamydophila* sp.-positiv, bei den männlichen Tieren 16,7 %. Die Putenmilzen waren bis auf drei Herden alle negativ. Die Serologie der Putenblutproben ergab bei allen Herden positive Befunde. VANROMPAY et al. (1997) untersuchten die Prävalenz von *Chlamydophila psittaci* in belgischen Mastputenherden mit dem Ergebnis, dass die Prävalenz in belgischen Putenbeständen als hoch anzusehen ist. FEZIA et al. (1999) untersuchten in Norditalien 229 Kloakentupfer von klinisch gesunden geschlachteten Mastputen. Die Prävalenz von *Chlamydophila psittaci* in den Putenherden betrug 82,5 %. Bei einer weiteren Untersuchung von italienischen Mastputen waren bei 74 von 252 getesteten Tieren *Chlamydophila* sp.-Antigennachweise möglich (BALDELLI et al., 2000). KEMPF et al. (2000) untersuchten Putenserren aus Geflügelschlachtereien in der Bretagne. Mittels eines ELISA's waren in 25 von 30 getesteten Herden ein oder mehrere Chlamydiennachweise möglich. Diese Studien bestätigen die eigenen Untersuchungsergebnisse.

In der Annahme/Einhängen waren mittels IFT und PCR jeweils 8 % *Chlamydophila psittaci*-Nachweise möglich. Die Beprobung der Einhänge-Haken konnte nur in gereinigtem, d.h. mit Wasser abgespülten Zustand erfolgen, da die verschmutzten Haken unzugänglich waren. Hiermit könnte sich die niedrige Nachweisrate erklären lassen. Im Einhängebereich war eine starke Staubentwicklung zu beobachten. Die Tiere wurden vor dem Einhängen nicht mit Wasser angefeuchtet was die Staubentwicklung noch verstärkte (siehe 5.2.5.1).

Im Bereich Entbluten gelangen mittels IFT 4 % *Chlamydophila* sp., mittels PCR 21 % *Chlamydophila psittaci*-Nachweise. Hier war eine enorme Aerosol-, Kondens- und Spritzwasserbildung zu beobachten, die durch benachbarte Brüh- und Rupfanlagen noch verstärkt wurde. Das Kondenswasser tropfte von Decken und Oberstrukturen auf darunter befindliche Personen, Oberflächen oder Tierkörper herab (siehe 5.2.5.2).

Im Bereich Brühen & Rupfen waren mittels PCR 33 % *Chlamydophila psittaci*-Nachweise möglich, mittels IFT gelang kein Chlamydiennachweis. Hier kam es zu einer enormen Aerosol-, Kondens- und Spritzwasserbildung (siehe 5.2.5.3).

Im Eviszerationsbereich waren mittels IFT 7 % *Chlamydophila* sp., mittels PCR 64 % *Chlamydophila psittaci*-Nachweise möglich. In diesem Bereich war ebenfalls eine starke Aerosol-, Kondens- und Spritzwasserbildung zu beobachten, das von Decken und Oberstrukturen auf darunter befindliche Personen, Oberflächen oder Tierkörper herabtropfen konnte. Die Maschinen im Eviszerationsbereich wie Lungensauger und Ausnehmer stellten nach Aussagen der Hygienebeauftragten „mikrobiologische Problembereiche“ dar (siehe 5.2.5.5).

In der Zerlegung waren mittels IFT 17 % *Chlamydophila* sp., mittels PCR 46 % *Chlamydophila psittaci*-Nachweise möglich. In diesem Bereich war eine Kondenswasserbildung an Decken und Oberstrukturen zu beobachten. Die Transportbänder im Zerlegungsbereich stellten nach Aussagen der Hygienebeauftragten „mikrobiologische Problembereiche“ dar (siehe 5.2.5.6). Als bedenklich war der Nachweis von Vogelkot auf Metallträgern in der Zerlegeabteilung zu bewerten. Wildvögel wie Sperlinge und Tauben sind oft mit *Chlamydophila psittaci* infiziert und spielen bei der Erregerver- und Einschleppung eine große Rolle (GRATZL und KÖHLER, 1968; GRIMES und WYRICK, 1991; KRAUSS und SCHMEER, 1992; GERLACH, 1993; KUMMERFELD, 1995). Der abgesetzte, eingetrocknete und erregerhaltige Kot konnte durch Luftbewegungen in den Räumlichkeiten verteilt und somit zur Kontamination des Geflügelfleisches und zu Infektionen des Personals führen.

Im Bereich Verpackung waren mittels IFT 25 % *Chlamydophila* sp., mittels PCR 50 % *Chlamydophila psittaci*-Nachweise möglich. In diesem Betriebsbereich kam es an Oberstrukturen zur Kondenswasserbildung (siehe 5.2.5.7).

Die Reinigung und Desinfektion der genannten Betriebsbereiche (Annahme/Einhängen, Entbluten, Brühen & Rupfen, Eviszeration, Zerlegung, Verpackung) wurde täglich (Decken alle 3 bis 12 Wochen) von einer Fremdfirma durchgeführt. Die Zwischenreinigung sowie die Reinigung der Kühlhäuser und Kistenwäsche wurde vom betriebseigenen Personal durchgeführt. Eine Schulung des Reinigungspersonals fand einmal jährlich statt. Basische und Saure Reinigungsmittel wurden im Wechsel angewendet (4 x basisch, 1 x sauer) um einen Reinigungserfolg zu gewährleisten.

In den Produktionsbüros waren mittels IFT 8 % *Chlamydophila* sp., mittels PCR 17 % *Chlamydophila psittaci*-Nachweise möglich. Die Büros wurden einmal täglich mit Putzmittel gereinigt (Decken blieben hierbei unberücksichtigt). Die *Chlamydophila psittaci*-Nachweise im Produktionsbüro gelangen in unmittelbarer Umgebung der Stechuhr, was auf eine unzureichende persönliche Hygiene der Mitarbeiter hindeuten kann (siehe 5.2.5.8).

Bei den Milzen waren mittels PCR 5 % *Chlamydophila psittaci*-Nachweise möglich, mittels IFT gelang kein Chlamydiennachweis. Somit waren nur wenige beprobte Schlachttiere *Chlamydophila psittaci*-Ausscheider. Ein großer Teil der Milzproben wurde als nicht auswertbar (IFT: 43 %; PCR: 14 %) beurteilt. Es konnte nicht ermittelt werden ob diese Tiere Erregerträger waren (siehe 5.2.5.9).

Bei den Transportkäfigen gelangen mittels IFT 25 % *Chlamydophila* sp., mittels PCR 75 % *Chlamydophila psittaci*-Nachweise, wobei nur 4 Tupferproben entnommen wurden. Einige Puten in den beprobten Transportkäfigen mussten somit *Chlamydophila psittaci*-Ausscheider gewesen sein (siehe 5.2.5.10).

Im Bereich Sonstige (Kunststofftürgriffe, Konfiskatbehälter) gelang mit beiden Nachweismethoden (IFT und PCR) kein Erregernachweis (siehe 5.2.5.11).

Bei den Arbeitsgeräten (Kettenhandschuhe, Schürzen, Messer) waren mittels PCR 8 % *Chlamydophila psittaci*-Nachweise möglich, mittels IFT gelang kein Chlamydiennachweis. Für die Messer wurde ein Reinigungsmittel auf Jodbasis verwendet. Jodophore haben oxidative Eigenschaften und sind auch bei niedrigen Temperaturen bakterizid, viruzid, sporozid und fungizid (BÖHM, 2002). Die Kettenhandschuhe und Schürzen wurden mit einem Reinigungsmittel auf Chlorbasis gereinigt. Diese wurden in der Hygieneschleuse und am Arbeitsplatz in jeder

Arbeitspause sowie am Ende des Arbeitstages gesäubert. Die Messer wurden im Messerschleifraum in jeder Arbeitspause sowie am Ende des Arbeitstages gereinigt (siehe 5.2.5.12).

Es existierten Arbeitsanweisungen für das Hygieneverhalten des Personals, die Durchführung der Reinigung und Desinfektion sowie Anwendung (Einwirkzeit) und Dosierung der Reinigungsmittel. Eine optische Reinigungskontrolle wurde täglich, die mikrobiologische einmal wöchentlich durchgeführt, wobei die Gesamtkeimzahl, *E. coli*, Salmonellen, Enterobakterien, Hefen und Schimmelpilze bestimmt wurde. Eine Untersuchung auf *Chlamydophila psittaci* erfolgte nicht. Trotz der per Arbeitsanweisung durchgeführten Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen gelangen in fast allen Betriebsbereichen (Annahme/Einhängen, Entbluten, Brühen & Rupfen, Eviszation, Zerlegung, Verpackung, Büro, Milz, Käfige, Arbeitsgeräte) *Chlamydophila psittaci*-Nachweise. Dies konnte auf unzureichend durchgeführte Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen sowie deren Kontrolle (optisch, mikrobiologisch) hindeuten. Die weite Verbreitung von *Chlamydophila psittaci* in wirtschaftlichen Putenbeständen (ANDREWS, 1957; DUFREE et al., 1975; ANDERSON et al., 1978; HEDBERG et al., 1989; NEWMAN et al., 1989; HAFEZ und STING, 1992, 1994) könnte ebenfalls eine Ursache für die hohen Nachweisraten sein.

Die Ergebnisse zeigen, dass *Chlamydophila psittaci* in der Putenschlachtereier 1 aus der Umgebung von und in klinisch gesunden Mastputen sowie von Gegenständen, mit denen die Tiere direkt und/oder indirekt in Kontakt kamen, zu isolieren war. Das Schlachtereipersonal konnte in fast allen Betriebsbereichen mit dem Erreger in Kontakt kommen. Das Risiko einer *Chlamydophila psittaci*-Infektion bei Personen, die in der Putenzucht oder in Putenschlachtereien beschäftigt sind, ist bekannt und in der Literatur mehrfach beschrieben worden (LEACHMAN und YOW, 1958; GRABER und POMEROY, 1958; DICKERSON, 1962; DUFREE et al., 1975; ANDERSON et al., 1978; KIM et al., 1982; NEWMAN et al., 1989; HEDBERG et al., 1989; RHYNE et al., 1990; MANKE et al., 2000).

5.2.4 Bewertung der Ergebnisse aus der Putenschlachtereier 2

Die Putenschlachtereier 2 lag freistehend außerhalb einer Ortschaft. Es handelte sich um eine reine Lohnschlachtereier ohne Zerlegung und Weiterverarbeitung. Die Herkunft des Schlachtgeflügels war zu 80 % aus Deutschland und zu 20 % aus anderen europäischen Mitgliedstaaten. Es konnte kein Schädlingsbefall (Kakerlaken, Mäuse, Ratten etc.) festgestellt werden. Es wurden keine Wildvögel wie Sperlinge oder Tauben sowie deren Hinterlassenschaften in den Produktionsräumen gesichtet.

Mittels des direkten IFT waren 17 % *Chlamydophila* sp., mittels PCR 41 % *Chlamydophila psittaci*-Nachweise möglich. Somit gelangen mittels PCR 27 % mehr *Chlamydophila psittaci*-Nachweise (siehe 5.1). Der Anteil an nicht auswertbaren Proben war beim IFT (22 %) höher als bei der PCR (4 %). Die Anzahl der Chlamydiennachweise schwankte zwischen den Probenahmen. Hierfür konnten die wechselnde Probenzahl oder der unterschiedliche Durchseuchungsgrad der Schlachtherden verantwortlich sein. Fand die Probeentnahme während der Schlachtung einer *Chlamydophila psittaci*-positiven Herde statt, ist es nachvollziehbar, dass hier die Nachweisraten erhöht sein konnten. Die Ergebnisse der eigenen Untersuchungen belegen, dass *Chlamydophila psittaci* in Mastputenherden verbreitet ist (siehe 5.2.3).

In der Annahme/Einhängen waren mittels IFT 33 % *Chlamydophila* sp., mittels PCR 58 % *Chlamydophila psittaci*-Nachweise möglich. In diesem Bereich war eine starke Staubentwicklung zu beobachten. Die Tiere wurden (außer im Hochsommer) vor dem Eihängen nicht mit Wasser angefeuchtet, was die Staubentwicklung noch verstärkte (siehe 5.2.5.1).

Im Bereich Entbluten gelangen mittels IFT 8 % *Chlamydophila* sp., mittels PCR 38 % *Chlamydophila psittaci*-Nachweise. Hier war eine enorme Aerosol-, Kondens- und Spritzwasserbildung zu beobachten, die durch benachbarte Brüh- und Rupfanlagen noch verstärkt wurde. Das Kondenswasser tropfte von Decken und Oberstrukturen auf darunter befindliche Personen, Oberflächen oder Tierkörper herab (siehe 5.2.5.2).

Im Bereich Brühen & Rupfen waren mittels PCR 25 % *Chlamydophila psittaci*-Nachweise möglich, mittels IFT gelang kein Chlamydiennachweis. Hier kam es zu einer enormen Aerosol-, Kondens- und Spritzwasserbildung. Die Rupfmaschinen stellten

nach Aussagen der Hygienebeauftragten „mikrobiologische Problembereiche“ dar (siehe 5.2.5.3).

Im Umhängeräum gelangen mittels IFT 25 % *Chlamydomphila* sp., mittels PCR waren 50 % *Chlamydomphila psittaci*-Nachweise möglich. Hier war eine Kondenswasserbildung an Decken und Oberstrukturen zu beobachten (siehe 5.2.5.4).

Im Eviszerationsbereich waren mittels IFT 32 % *Chlamydomphila* sp., mittels PCR 61 % *Chlamydomphila psittaci*-Nachweise möglich. In diesem Bereich war ebenfalls eine starke Aerosol-, Kondens- und Spritzwasserbildung zu beobachten. Das Kondenswasser tropfte von Decken und Oberstrukturen auf darunter befindliche Personen, Oberflächen oder Tierkörper herab (siehe 5.2.5.5).

Die Reinigung und Desinfektion der genannten Betriebsbereiche (Annahme/Einhängen, Entbluten, Brühen & Rupfen, Eviszeration, Umhängeräum) wurde täglich von einer Fremdfirma durchgeführt. Eine Schulung des Reinigungspersonals fand zweimal jährlich statt. Basische und Saure Reinigungsmittel wurden im Wechsel angewendet (4 x basisch, 1 x sauer) um einen Reinigungserfolg zu gewährleisten.

In den Produktionsbüros waren mittels IFT 33 % *Chlamydomphila* sp., mittels PCR 58 % *Chlamydomphila psittaci*-Nachweise möglich. Die Büros wurden einmal täglich mit Putzmittel gereinigt (Decken blieben hierbei unberücksichtigt). Die *Chlamydomphila psittaci*-Nachweise im Produktionsbüro deuteten auf eine mangelhafte persönliche Hygiene der Mitarbeiter hin (siehe 5.2.5.8).

Bei den Milzen gelangen mittels IFT 8 % *Chlamydomphila* sp., mittels PCR 38 % *Chlamydomphila psittaci*-Nachweise. Es waren somit nur einige beprobte Schlachtputen *Chlamydomphila psittaci*-Ausscheider. Ein großer Teil der Milzproben wurde als nicht auswertbar (IFT: 42 %; PCR: 4 %) beurteilt. Es konnte nicht ermittelt werden ob diese Tiere Erregerträger waren (siehe 5.2.5.9).

Bei den Transportkäfigen waren mittels PCR 25 % *Chlamydomphila psittaci*-Nachweise möglich, mittels IFT gelang kein Chlamydiennachweis. In den beprobten Käfigen waren wahrscheinlich nur einige Puten *Chlamydomphila psittaci*-Ausscheider. Da *Chlamydomphila psittaci* jedoch in der gesamten Schlachtereie nachzuweisen war,

mussten Puten aus zuvor geschlachteten Chargen den Erreger ausgeschieden haben (siehe 5.2.5.10).

Im Bereich Sonstige (Kunststofftürgriffe, Konfiskattonne) waren mittels IFT 32 % *Chlamydomphila* sp., mittels PCR 61 % *Chlamydomphila psittaci*-Nachweise möglich. Der *Chlamydomphila psittaci*-Nachweis an den Türgriffen sprach für eine unzureichende persönliche Hygiene, der Nachweis in der Konfiskattonne für die weite Verbreitung des Erregers im Schlachtbetrieb (siehe 5.2.5.11).

Bei den Arbeitsgeräten (Kettenhandschuhe, Schürzen, Messer) gelangen mittels IFT 25 % *Chlamydomphila* sp., mittels PCR 50 % *Chlamydomphila psittaci*-Nachweise. Für Messer, Kettenhandschuhe und Schürzen wurde ein Reinigungsmittel auf Chlorbasis verwendet. Die Kettenhandschuhe und Messer wurden in einer Waschmaschine in den Arbeitspausen sowie am Ende des Arbeitstages gereinigt. Die Schürzen wurden manuell gesäubert und nach der Betriebszeit in ein Desinfektionsbad eingelegt (siehe 5.2.5.12).

Es existierten Arbeitsanweisungen für das Hygieneverhalten des Personals, die Durchführung der Reinigung und Desinfektion sowie Anwendung (Einwirkzeit) und Dosierung der Reinigungsmittel. Eine optische Reinigungskontrolle wurde täglich, die mikrobiologische zweimal monatlich durchgeführt, wobei die Gesamtkeimzahl, *E. coli*, Hefen und Schimmelpilze bestimmt wurden. Eine Untersuchung auf *Chlamydomphila psittaci* erfolgte nicht. Trotz der per Arbeitsanweisung durchgeführten Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen waren in allen beprobten Betriebsbereichen *Chlamydomphila psittaci*-Nachweise möglich. Dies konnte auf unzureichend durchgeführte Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen sowie deren Kontrolle (optisch, mikrobiologisch) hindeuten. Die weite Verbreitung von *Chlamydomphila psittaci* in wirtschaftlichen Putenbeständen (ANDREWS, 1957; DUFREE et al., 1975; ANDERSON et al., 1978; HEDBERG et al., 1989; NEWMAN et al., 1989; HAFEZ und STING, 1992, 1994) könnte ebenfalls eine Ursache für die hohen Nachweisraten sein. Da es sich bei der Putenschlachtereier 2 um eine reine Lohnschlachtereier handelte, wechselten die Lieferanten (Mäster) sehr oft und die Tiere kamen aus den unterschiedlichsten Beständen. Es wurden auch Mastputen aus kleineren Haltungen geschlachtet, was ebenfalls eine Erklärung für die hohe Anzahl an Erregernachweisen sein könnte.

Die Ergebnisse zeigen, dass *Chlamydophila psittaci* in der Putenschlachtereier 2 aus der Umgebung von und in klinisch gesunden Mastputen sowie von Gegenständen, mit denen die Tiere direkt und/oder indirekt in Kontakt kamen, zu isolieren war. Es waren Erregernachweise in allen beprobten Betriebsbereichen möglich. Hierdurch besteht die Gefahr einer *Chlamydophila psittaci*-Infektion beim Schlachtereipersonal, was in der Literatur mehrfach beschrieben wurde (LEACHMAN und YOW, 1958; GRABER und POMEROY, 1958; DICKERSON, 1962; DUFREE et al., 1975; ANDERSON et al., 1978; KIM et al., 1982; NEWMAN et al., 1989; HEDBERG et al., 1989; RHYNE et al., 1990; MANKE et al., 2000).

5.2.5 Bewertung der Ergebnisse nach Betriebsbereichen

5.2.5.1 Annahme/Einhängen

Im Bereich Annahme/Einhängen waren mittels IFT 15 % der Proben *Chlamydophila* sp.-positiv, wovon jeweils 27 % auf die Hähnchenschlachtereier 1 und 2, 9 % auf die Putenschlachtereier 1 und 36 % auf die Putenschlachtereier 2 entfielen. Mittels PCR waren bei 29 % der Proben *Chlamydophila psittaci*-Nachweise möglich, wovon 29 % auf die Hähnchenschlachtereier 1, 33 % auf die Hähnchenschlachtereier 2, 5 % auf die Putenschlachtereier 1 und 33 % auf die Putenschlachtereier 2 entfielen. Es gelangen mittels PCR 14 % mehr *Chlamydophila psittaci*-Nachweise als mittels des IFT. Dies mag zum einen daran liegen, dass die PCR die geeignetere Nachweismethode darstellt (siehe 5.1), zum anderen kam es in diesem Bereich bei allen vier beprobten Schlachtereien verstärkt zu Staubbelastungen sowie Kot- und sonstigen Verschmutzungen (Sand, Einstreureste, Futter etc.). Mittels IFT waren 11 % der Proben nicht auswertbar, es kam wiederholt zur Verkeimung sowie zu toxischen Reaktionen der BGM-Zellen. Mittels PCR waren nur 4 % der Proben nicht auswertbar.

Infektionen mit *Chlamydophila psittaci* verlaufen beim Wirtschaftsgeflügel meist klinisch inapparent, wobei der Erreger in Stresssituationen (z.B. Ausstellen, Be- und Entladen, Transport) vermehrt ausgeschieden wird (BECKER et al., 1992; KRAUSS und SCHMEER, 1992; SELBITZ, 1992; KALETA et al., 1997). Durch Federschlagen und Flattern der Tiere beim Ausladen und Einhängen sowie durch sonstige Luftbewegungen (Ventilatoren, Zugluft etc.) werden Federstaub, Kot und sonstige

Ausscheidungen des Geflügels fein in der Umgebungsluft verteilt. Chlamydieninfektionen beim Einhängpersonal von Geflügelschlachtereien sind in der Literatur mehrfach beschrieben worden (DICKERSON, 1962; ANDERSON et al., 1978; HEDBERG et al., 1989; RHYNE et al., 1990; MANKE et al., 2000). Die Ergebnisse der eigenen Untersuchungen belegen, dass *Chlamydomphila psittaci* im Bereich Annahme/Einhängen in nicht unerheblicher Anzahl nachzuweisen war und somit eine Infektionsquelle für das beschäftigte Personal darstellte.

Nach eigenen Beobachtungen trugen nur sehr wenige Einhänger in den vier beprobten Schlachtereien Mund- und Nasenmasken. Nach Aussagen der Hygienebeauftragten wurde das Einhängpersonal der Hähnchenschlachtereie 1 und Putenschlachtereie 1 über Infektionsrisiken und Zoonosen belehrt, in der Hähnchenschlachtereie 2 und Putenschlachtereie 2 fand eine solche Belehrung nicht statt. Da aber in keiner der Schlachtereien ein konsequentes Tragen von Mund- und Nasenmasken beobachtet wurde, muss die Effektivität einer solchen Belehrung hinterfragt werden. Einen wirksamen Schutz gegen die Inhalation von *Chlamydomphila psittaci* stellen partikelfiltrierende Halbmasken der Klasse FFP 3 dar (KÄMPFER und WEIßENFELS, 1997), welche in staubbelasteten Bereichen getragen werden sollten. Eine Staubreduktion könnte durch Anfeuchten der Tiere auf dem Transportfahrzeug erreicht werden. Dies wurde wegen der Schmutzentstehung (außer im Hochsommer bei der Putenschlachtereie 2) jedoch nicht durchgeführt.

Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen sind sorgfältig durchzuführen, da Chlamydien in getrocknetem Kot 30 Tage, in Staub, Federn und Einstreu sogar bis zu 6 Monate infektiös bleiben können (GYLSTORFF und GRIMM, 1998). *Chlamydomphila psittaci* ist jedoch gut mit bakterizid wirkenden Desinfektionsmitteln zu bekämpfen (siehe 2.1.7.3).

5.2.5.2 Entbluten

Im Bereich Entbluten waren mittels IFT 8 % der Proben *Chlamydomphila* sp.-positiv, wovon jeweils 13 % auf die Hähnchenschlachtereie 2 und Putenschlachtereie 1, 50 % auf die Hähnchenschlachtereie 1 und 25 % auf die Putenschlachtereie 2 entfielen. Mittels PCR waren bei 25 % der Proben *Chlamydomphila psittaci*-Nachweise möglich, wovon 29 % auf die Hähnchenschlachtereie 1, 13 % auf die Hähnchenschlachtereie 2, 21 % auf die

Putenschlachtereie 1 und 38 % auf die Putenschlachtereie 2 entfielen. Es gelangen mittels PCR 17 % mehr *Chlamydophila psittaci*-Nachweise als mittels des IFT (siehe 5.1). Mittels IFT waren 24 % der Proben nicht auswertbar, es kam wiederholt zur Verkeimung sowie zu toxischen Reaktionen der BGM-Zellen. Mittels PCR waren nur 10 % der Proben nicht auswertbar.

Im Entblutebereich war eine enorme Aerosol-, Kondens- und Spritzwasserbildung zu beobachten, die durch benachbarte Brüh- und Rupfanlagen noch verstärkt wurde. Das entstehende Kondenswasser tropfte von Decken und Oberstrukturen auf darunter befindliche Personen, Oberflächen oder Tierkörper herab. In den Blutbecken war mit einer hohen Keimzahl zu rechnen, die durch Spritzwasser und Aerosolbildung noch erhöht werden konnte. Bei der Entblutung und Nachtropfstrecke konnte es zu Kreuzkontaminationen über das Entblutegerät/-messer sowie zur Verunreinigung außerhalb der Blutwanne durch Tropfblut kommen (SEIDLER, 1998).

Die Mitarbeiter waren infektiösen Aerosolen, Staub sowie dem Kot der Tiere ausgesetzt. Durch Inhalation von erregerehaltigem Staub und Aerosolen kann es zu Chlamydieninfektionen bei Mitarbeitern des Bereiches Schlachtung und Entbluten kommen, was in der Literatur mehrfach beschrieben wurde (IRONS et al., 1956; GRABER und POMEROY, 1958; DUFREE et al., 1975; ANDERSON et al., 1978; KIM et al., 1982; MANKE et al., 2000). Das Tragen einer FFP 3-Halbmaske zum Schutz vor *Chlamydophila psittaci* wäre in diesem Betriebsbereich ebenfalls sinnvoll. Die Ergebnisse der eigenen Untersuchungen belegen, dass *Chlamydophila psittaci* im Entblutebereich nachzuweisen war und somit eine Infektionsquelle für das beschäftigte Personal darstellte.

Im Bereich Entbluten herrschte eine hohe Luftfeuchtigkeit und Umgebungstemperatur. Eine 20 %ige Gewebesuspension mit infektiösen Chlamydien wird bei 37 °C nach 48 Stunden und bei 22 °C nach 12 Tagen inaktiviert (PAGE, 1959b). Chlamydien bleiben demzufolge in körperwarmem Blut mindestens 48 Stunden infektiös. Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen sowie deren Kontrolle sind sorgfältig durchzuführen.

5.2.5.3 Brühen & Rupfen

Der Bereich Brühen & Rupfen wurde nur bei den Putenschlachtereien (PS 1, PS 2) beprobt. Mittels PCR waren bei 29 % der Proben *Chlamydophila psittaci*-Nachweise möglich, wovon 57 % auf die Putenschlachtereie 1 und 43 % auf die Putenschlachtereie 2 entfielen. Mittels des IFT gelang kein Chlamydiennachweis. Mittels IFT waren 4 % der Proben nicht auswertbar, es kam wiederholt zur Verkeimung der BGM-Zellen. Durch die hohen Temperaturen in diesem Bereich (Brühtemperatur 52 °C bis 58 °C) (FRIES, 2001) wurden die Chlamydien inaktiviert, da diese gegen Hitze relativ empfindlich sind (SELBITZ, 1992). Eine verdünnte Gewebesuspension (20 %ig) mit infektiösen Chlamydien wird bei 56 °C nach 5 min. inaktiviert (PAGE, 1959b). Die inaktivierten, vermehrungsunfähigen Chlamydien sind, auch durch den Verdünnungseffekt nach Passagierung, nur noch schwer in der Zellkultur nachzuweisen. Da für die PCR aber nur Chlamydien-DNA benötigt wurde, gelang der Nachweis hier trotzdem. Beim Rupfvorgang entstehen Aerosole, Kondenswasser, Spritzwasser und Federreste, die eine Infektionsgefahr für den Menschen darstellen. Der Vorgang des Rupfens läuft jedoch meist vollautomatisiert in einem weitgehend geschlossenen System ab. In der älteren Literatur wurden Erkrankungsfälle von Geflügelrupfern geschildert, was heute jedoch als historisch angesehen werden kann (IRONS et al., 1951; GRABER und POMEROY, 1958; OTTO, 1961). Entstehende Aerosole und Federreste können jedoch durch Luftbewegungen in andere Unreine Bereiche übergehen.

5.2.5.4 Umhängeraum

Der Umhängeraum wurde nur bei der Putenschlachtereie 2 beprobt. Mittels IFT waren 25 % *Chlamydophila sp.*, mittels PCR 50 % *Chlamydophila psittaci*-Nachweise möglich. Mittels PCR gelangen 25 % mehr Erregernachweise als mittels IFT (siehe 5.1). In diesem Bereich war eine Kondenswasserbildung an Decken und Oberstrukturen zu beobachten, das auf Personen, Oberflächen oder Tierkörper herabtropfen konnte. *Chlamydophila psittaci* waren im Umhängeraum der Putenschlachtereie 2 nachzuweisen und stelle somit eine Infektionsquelle für die Mitarbeiter dar.

5.2.5.5 Eviszeration

In Bereich Eviszeration waren mittels IFT 20 % der Proben *Chlamydophila* sp.-positiv, wovon jeweils 5 % auf die Hähnchenschlachtereier 1 und Putenschlachtereier 1, 16 % auf die Hähnchenschlachtereier 2 und 74 % auf die Putenschlachtereier 2 entfielen. Mittels PCR waren bei 46 % der Proben *Chlamydophila psittaci*-Nachweise möglich, wovon 5 % auf die Hähnchenschlachtereier 1, 12 % auf die Hähnchenschlachtereier 2, 21 % auf die Putenschlachtereier 1 und 63 % auf die Putenschlachtereier 2 entfielen. Es gelangen mittels PCR 26 % mehr *Chlamydophila psittaci*-Nachweise als mittels des IFT. Durch widrige Umwelteinflüsse kam es in diesem Bereich häufiger zur bakteriellen Kontamination der Proben (siehe 5.1). Mittels IFT waren 11 % der Proben nicht auswertbar, es kam wiederholt zur Verkeimung der BGM-Zellen. Mittels PCR waren nur 5 % der Proben nicht auswertbar.

Beim Eviszerationsvorgang kann es zu Verletzungen oder Zerreißungen des Darmpaketes kommen (FRIES, 1994; SEIDLER, 1998). Durch das Heraussaugen der Lungenreste und der Nieren entsteht eine weitere Kontaminationsquelle. Im Eviszerationsbereich war eine starke Aerosol-, Kondens- und Spritzwasserbildung zu beobachten. Das entstehende Kondenswasser tropfte von Decken und Oberstrukturen auf darunter befindliche Personen, Oberflächen oder Tierkörper herab. Chlamydieninfektionen von Mitarbeitern des Eviszerationsbereiches sind mehrfach in der Literatur beschrieben worden (IRONS et al., 1956; RINDGE et al., 1959; DICKERSON, 1962; DUFREE et al., 1975; ANDERSON et al., 1978; KIM et al., 1982; NEWMAN et al., 1989; HEDBERG et al., 1989; RHYNE et al., 1990). Das Tragen einer FFP 3-Halbmaske zum Schutz vor *Chlamydophila psittaci* wäre in diesem Betriebsbereich sinnvoll. Die Ergebnisse der eigenen Untersuchungen belegen, dass *Chlamydophila psittaci* im Eviszerationsbereich in großer Zahl vorhanden war und somit eine Infektionsquelle für das beschäftigte Personal darstellte.

Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen sowie deren Kontrolle sind sorgfältig durchzuführen, da Chlamydien in Wasser bis zu 17 Tagen infektiös bleiben können (GYLSTORFF und GRIMM, 1998). Außerdem wird, wie erwähnt, eine 20 %ige Gewebesuspension mit infektiösen Chlamydien bei 37 °C nach 48 Stunden, bei 22 °C nach 12 Tagen und bei 4 °C erst nach 50 Tagen inaktiviert (PAGE, 1959b).

5.2.5.6 Zerlegung

In Zerlegungsbereich waren mittels IFT 18 % der Proben *Chlamydophila* sp.-positiv, wovon jeweils 31 % auf die Hähnchenschlachtereier 1 und Putenschlachtereier 1 und 38 % auf die Hähnchenschlachtereier 2 entfielen. Mittels PCR waren bei 31 % der Proben *Chlamydophila psittaci*-Nachweise möglich, wovon 27 % auf die Hähnchenschlachtereier 1, 23 % auf die Hähnchenschlachtereier 2 und 50 % auf die Putenschlachtereier 1 entfielen. Es gelangen mittels PCR 13 % mehr *Chlamydophila psittaci*-Nachweise als mittels des IFT (siehe 5.1). Mittels IFT waren 4 % der Proben nicht auswertbar. Es kam wiederholt zur Verkeimung der BGM-Zellen. Mittels PCR waren 7 % der Proben nicht auswertbar. Mangelhaft durchgeführte Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen, Kondenswasserbildung bei unzureichender Lüftung, ungenügende Personalhygiene sowie nicht durchgeführte Anlagenwartungen (Maschinen, Sägen, Transportbänder) können Gefahren bergen (SEIDLER, 1998; FRIES, 2001). Chlamydieninfektionen beim Zerlegepersonal von Geflügelschlachtereien sind in der Literatur beschrieben worden (HEDBERG et al., 1989; RHYNE et al., 1990). Die Ergebnisse der eigenen Untersuchungen belegen, dass *Chlamydophila psittaci* im Zerlegungsbereich vorhanden war und somit eine Infektionsquelle für das beschäftigte Personal darstellte.

Die Zerlegung ist ein gekühlter Bereich. Chlamydien (Elementarkörperchen) sind gegenüber Kälte und Austrocknung jedoch sehr widerstandsfähig (von SPROCKHOFF, 1980; NIKOLEIT, 1985; SCHOBRIES et al., 1987; GYLSTORFF und GRIMM, 1998). Bei Temperaturen von +4 bis +8 °C bleiben sie bis zu elf Wochen infektiös (STORZ und KRAUSS, 1985). Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen sowie deren Kontrolle sind sorgfältig durchzuführen. Es ist darauf zu achten, dass Fußböden und alle Gegenstände nach der Reinigung und Desinfektion gut abtrocknen können.

5.2.5.7 Verpackung

Im Verpackungsbereich waren mittels IFT 14 % der Proben *Chlamydophila* sp.-positiv, wovon 40 % auf die Hähnchenschlachtereier 2 und 60 % auf die Putenschlachtereier 1 entfielen. Mittels PCR waren bei 35 % der Proben *Chlamydophila psittaci*-Nachweise möglich, wovon 12 % auf die Hähnchenschlachtereier 1, 40 % auf die Hähnchenschlachtereier 2 und 48 % auf die Putenschlachtereier 1 entfielen. Es gelangen

mittels PCR 21 % mehr *Chlamydophila psittaci*-Nachweise als mittels IFT (siehe 5.1). Mittels IFT waren 7 % der Proben nicht auswertbar. Es kam wiederholt zur Verkeimung der BGM-Zellen. Mittels PCR waren 6 % der Proben nicht auswertbar.

In der Verpackung können unzureichend durchgeführte Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen, Kondenswasserbildung an Kältebrücken sowie mangelnde Personalhygiene Gefahren bergen (SEIDLER, 1998; FRIES, 2001).

Chlamydieninfektionen beim Verpackungspersonal von Geflügelschlachtereien wurden in der Literatur beschrieben (ANDERSON et al., 1978; HEDBERG et al., 1989; MANKE et al., 2000). Die Ergebnisse der eigenen Untersuchungen belegen, dass *Chlamydophila psittaci* im Verpackungsbereich vorhanden war und somit eine Infektionsquelle für das beschäftigte Personal darstellte.

Die Abteilung Verpackung ist ebenfalls ein gekühlter Bereich. Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen sowie deren Kontrolle sind sorgfältig durchzuführen, da Chlamydien bei Temperaturen von +4 bis +8 °C bis zu elf Wochen infektiös bleiben können (STORZ und KRAUSS, 1985).

5.2.5.8 Produktionsbüro

In den Produktionsbüros waren mittels IFT 2 % der Proben *Chlamydophila* sp.-positiv, wovon 100 % auf die Putenschlachtereie 1 entfielen. Mittels PCR waren bei 8 % der Proben *Chlamydophila psittaci*-Nachweise möglich, wovon 50 % auf die Putenschlachtereie 1 und 50 % auf die Putenschlachtereie 2 entfielen. Es gelangen mittels PCR 6 % mehr *Chlamydophila psittaci*-Nachweise als mittels IFT (siehe 5.1).

Da ausschließlich Betriebspersonal zu den Produktionsbüros Zugang hatte, deuteten die *Chlamydophila psittaci*-Nachweise auf eine mangelhafte persönliche Hygiene der Mitarbeiter hin. Es wurde in allen vier Geflügelschlachtereien regelmäßig eine Hygieneschulung des Betriebspersonals durchgeführt. In der verfügbaren Literatur wurde nicht ausdrücklich über Ornithose beim Büro-Personal von Geflügelschlachtereien referiert. Es wurde jedoch über Ornithose-Erkrankungen beim Aufsichtspersonal berichtet (RHYNE et al., 1990; MANKE et al., 2000). Die Ergebnisse der eigenen Untersuchungen belegen, dass *Chlamydophila psittaci* selbst in den Produktionsbüros nachzuweisen war.

5.2.5.9 Milzen

Bei den Milzen waren mittels IFT 1 % der Proben *Chlamydophila* sp.-positiv, wovon 100 % auf die Hähnchenschlachtereier 2 entfielen. Mittels PCR waren bei 11 % der Proben *Chlamydophila psittaci*-Nachweise möglich, wovon 22 % auf die Hähnchenschlachtereier 1, 22 % auf die Hähnchenschlachtereier 2, 11 % auf die Putenschlachtereier 1 und 44 % auf die Putenschlachtereier 2 entfielen. Es gelangen mittels PCR 10 % mehr *Chlamydophila psittaci*-Nachweise als mittels des IFT (siehe 5.1).

Zahlreiche Milzen waren stark bakteriell kontaminiert. Außerdem kam es in einigen Fällen bei der Entnahme aus dem Tierkörper, durch Darmzerreißen bei unzureichender Justierung der Anlagen, zu Kotverschmutzungen der Milzen. Mittels IFT waren 55 % der Proben nicht auswertbar. Es kam, trotz wiederholter Passagierung und Filtrierung der Proben, immer wieder zur Verkeimung der BGM-Zellen. Mittels PCR waren 19 % nicht auswertbar. Hier kam es zu Problemen bei der Probenaufbereitung (DNA-Isolierung) für die PCR. Es wurde genau nach der Anleitung des DNeasyTM Tissue Kits[®] der Firma Qiagen vorgegangen. Nachdem Misserfolge auftraten, wurde die Inkubationszeit bei 55 °C von 10 mg Gewebe, 180 µl Buffer ATL und 20 µl Proteinase K von 3 Stunden auf über 10 Stunden (über Nacht) erhöht. Trotzdem kam es zu unspezifischen Reaktionen oder Schmier im Gel.

Die Milz ist bei Chlamydien-Infektionen eines der typischerweise betroffenen Organe. In dieser Arbeit sind jedoch im Verhältnis zur Gesamtnachweisrate bei Milzen nur wenige *Chlamydophila psittaci*-Nachweise gelungen. Eine Erklärung hierfür könnte sein, dass meist nicht alle Tiere einer Schlachtgeflügelherde mit *Chlamydophila psittaci* infiziert sind. Die Milzentnahme stellt eine Einzeltierdiagnostik dar, während die Tupferprobenentnahme von Arbeitsflächen, Arbeitsgeräten, Blutwannen usw. einen Überblick über die gesamte Tagesproduktion, bei schlechter Reinigung sogar über die Produktion von mehreren Tagen gibt. HAFEZ et al. (1997) gelangen in einer Studie ebenfalls auffallend wenig Chlamydiennachweise bei Milzen von Puten und Hühnern. Hier wurde die Ursache in der Organaufbereitung gesucht. Bei entnommenen Kot- und Blutproben derselben Tiere gelangen sehr viele *Chlamydophila psittaci*-Nachweise (siehe 2.3.2.1.1). Gerade bei der Organbearbeitung kann eine mangelhafte persönliche Hygiene des Betriebspersonals (z.B. Händereinigung- und Desinfektion) Ursache für eine Infektion mit dem Erreger sein.

5.2.5.10 Transportkäfige

Bei den Transportkäfigen waren mittels IFT 6 % der Proben *Chlamydophila* sp.-positiv, wovon 100 % auf die Putenschlachtereier 1 entfielen. Mittels PCR waren bei 38 % der Proben *Chlamydophila psittaci*-Nachweise möglich, wovon 17 % auf die Hähnchenschlachtereier 2, 50 % auf die Putenschlachtereier 1 und 33 % auf die Putenschlachtereier 2 entfielen. Es gelangen mittels PCR 32 % mehr *Chlamydophila psittaci*-Nachweise als mittels des IFT. Die Transportkäfige waren bei der Ankunft des Geflügels in den vier Schlachtereien stark mit Kot und sonstigen Bestandteilen (Sand, Einstreu, Futterresten, Staub) verunreinigt (siehe 5.1). Mittels IFT waren 13 % der Proben nicht auswertbar. Es kam wiederholt zur Verkeimung sowie zu toxischen Reaktionen der BGM-Zellen. Mittels PCR waren 6 % der Proben nicht auswertbar.

Da die Transportfahrzeuge und -Käfige schwer zu reinigen sind, besteht die Gefahr der Erregerverschleppung in andere Betriebe, wenn nach dem Entladen der Tiere nicht ausreichend gereinigt und desinfiziert wird (FRIES, 2001). Eine Infektionsgefahr durch den entstehenden Kot- und Federstaub besteht vor allem für Geflügeltransporteure (LKW-Fahrer), Einhängler und Mitarbeiter, welche Käfige und LKW nach dem Entladen der Tiere reinigen (ANDREWS, 1957; DICKERSON, 1962; ANDERSON et al., 1978; HEDBERG et al., 1989; RHYNE et al., 1990; MANKE et al., 2000). Diese Personengruppen sollten daher eine FFP 3-Halbmaske tragen. Die Ergebnisse der eigenen Untersuchungen belegen, dass *Chlamydophila psittaci* in Transportkäfigen nachzuweisen war und somit eine Infektionsquelle für das Personal darstellte.

Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen sind bei den schwer zu reinigenden Transportkäfigen sorgfältig durchzuführen, da Chlamydien in getrocknetem Kot 30 Tage, in Staub, Federn und Einstreu sogar bis zu 6 Monate infektiös bleiben können (GYLSTORFF und GRIMM, 1998).

5.2.5.11 Sonstige

Im Bereich Sonstige (Konfiskate, Sterilisationsbecken [HS 2], Kunststoffgriffe) waren mittels PCR bei 3 % der Proben *Chlamydophila psittaci*-Nachweise möglich, wovon 100 % auf die Putenschlachtereier 2 entfielen. Mittels des IFT gelang kein Chlamydiennachweis. Der Keimgehalt der Konfiskattonnen war naturgemäß enorm. Es

kam trotz Passagierung und Filtration der Proben wiederholt zur Verkeimung sowie zu toxischen Reaktionen der BGM-Zellen (siehe 5.1). Mittels IFT waren 42 % der Proben nicht auswertbar. Eine Infektionsgefahr für das Personal von Geflügelschlachtereien konnte hier durch unzureichende persönliche Hygiene bestehen.

5.2.5.12 Arbeitsgeräte

Bei den Arbeitsgeräten (Messer, Kettenhandschuhe, Gummihandschuhe [HS 1], Schürzen) waren mittels IFT 13 % der Proben *Chlamydophila* sp.-positiv, wovon jeweils 17 % auf die Hähnchenschlachtereier 1 und Hähnchenschlachtereier 2 und 67 % auf die Putenschlachtereier 2 entfielen. Mittels PCR waren bei 27 % der Proben *Chlamydophila psittaci*-Nachweise möglich, wovon 31 % auf die Hähnchenschlachtereier 1, 23 % auf die Hähnchenschlachtereier 2, 8 % auf die Putenschlachtereier 1 und 38 % auf die Putenschlachtereier 2 entfielen. Es gelangen mittels PCR 14 % mehr *Chlamydophila psittaci*-Nachweise als mittels des IFT (siehe 5.1).

Die relativ hohe Anzahl an *Chlamydophila psittaci*-Nachweisen bei den Arbeitsgeräten konnten auf mangelhaft durchgeführte Zwischen- und Endreinigungen derselben hindeuten.

5.3 Analyse der Mängel bei der Durchführung von Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen

Mängel bei der Durchführung von Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen sowie bei der Einhaltung der persönlichen Hygiene des Schlachthofpersonals können unter anderem Ursache dafür sein, dass der Erreger in allen vier beprobten Schlachtereien (Hähnchen- und Putenschlachtereien) zu finden war. Die korrekte Durchführung und Kontrolle der Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen sowie die Einhaltung der persönlichen Hygiene sind sehr wichtige Punkte zum Schutz des Personals vor *Chlamydophila psittaci*-Infektionen.

Ein guter Anhaltspunkt, wo hygienische Mängel in Geflügelschlachtereien zu suchen und zu finden sind, liefert der Bericht über einen Inspektionsbesuch des Lebensmittel-

und Veterinärarnotes der Europäischen Kommission im Frühjahr 2000. Es wurden 13 Geflügelschlacht- und Zerlegebetriebe besichtigt.

Eine sehr häufige Beanstandung war der mögliche Zugang zu Reinen Bereichen durch Unreine Bereiche ohne Hygieneschleusen, wie es auch bei der Hähnchenschlachtereier 1 (Zugang über den Hof) der Fall war. Die Putenschlachtereier 1 hatte als einzige der vier beprobten Schlachtereieren eine Zwangswegeführung. Bei allen anderen Schlachtereieren waren „Abkürzungen“ beim Betreten des Reinen Bereiches unter Umgehung der Hygieneschleusen möglich.

Bei Putenschlachtbetrieben beanstandete die Europäische Kommission häufig die durchgehende Schlachtkette ohne Unterbrechung bis in den Eviszerationsbereich. Die Reinigung- und Desinfektion der Transportkäfige war vielfach unzureichend, wodurch anhaftender Kot in die Herkunftsbetriebe zurück verschleppt werden konnte, was Seuchenhygienisch als bedenklich zu beurteilen ist.

Auch im Bereich Schlachtung wurden hygienische Mängel vom Lebensmittel- und Veterinärarnotes der Europäischen Kommission festgestellt. Sehr häufig (in 10 Schlachtereieren) wurde die starke Spritzwasser- und Aerosolbildung bemängelt. Ebenso wurde eine starke Kondenswasserbildung an den Oberstrukturen festgestellt, hier tropfte das kontaminierte Kondenswasser wieder auf das Produkt zurück. Bei eigenen Untersuchungen konnte in den beprobten Schlachtereieren in bestimmten Betriebsbereichen ebenfalls eine starke Aerosol-, Kondens- und Spritzwasserbildung beobachtet werden (siehe 5.2 ff).

Die Schlachtanlage selbst muss so konstruiert sein, dass keine Kreuzkontamination erfolgen kann, dies war bei den Besuchen des Lebensmittel- und Veterinärarnotes der Europäischen Kommission nicht immer der Fall. Die Schlachtanlagen waren häufig unzureichend justiert. Die Ausnehmer waren z.B. so schlecht eingestellt, dass es zur ZerreiBung des Darmkonvolutes kam und somit zur fäkalen Kontamination der Schlachtkörper. Bei eigenen Untersuchungen kam es bei der Milzprobenentnahme in den vier Schlachtereieren zur fäkalen Kontamination derselben, was auf unzureichend justierte Schlachtanlagen hindeutete und die Untersuchungen der EU-Kommission bestätigte.

Mängel bei der Zwischenreinigung und Desinfektion wurden häufig gefunden. In einigen Zerlegebetrieben wurde zwischen zwei unmittelbar aufeinander folgenden Schichten weder Arbeitsflächen noch Arbeitsgeräte gereinigt. Bemängelt wurde

außerdem die teilweise unzureichende Händereinigung des Personals im Eviszerationsbereich, sowie das Einstecken dreckiger Messer in Steribecken. Auch fehlten in einigen Betrieben geeignete Einrichtungen zur Reinigungs- und Desinfektion der Hände (SCHÜTT-ABRAHAM, 2000).

SCHLEUTER (2000) untersuchte im Zeitraum von 4 Jahren die Wirksamkeit von Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen in niedersächsischen Geflügelschlacht- und Zerlegebetrieben mittels Nass-Trocken-Tupfern (Tab. 59, Tab. 60). Hierbei wurden insgesamt 1922 Tupferproben, bevorzugt von Oberflächen die mit Lebensmitteln in Kontakt kamen, entnommen. Es wurden Waschbecken, Sägen, Steribecken, Tische, Schneidbretter, Türen/Wände, Behälter, Rutschen/Bänder, Schürzen, Messer, Haken und Handschuhe beprobt. Die Proben wurden vor Arbeitsbeginn von gereinigten und desinfizierten trockenen Flächen entnommen und die Gesamtkeimzahl (KBE) ermittelt. Die Auswertung der Tupferproben ergab folgende Ergebnisse (SCHLEUTER, 2000):

Tabelle 59: Beurteilung der Reinigung und Desinfektion bei Betriebsbegehungen von Geflügelschlacht- und Zerlegebetrieben (SCHLEUTER, 2000).

Reinigung & Desinfektion	Betriebsbegehungen	
	n/%	
Reinigung und Desinfektion gut	26	35 %
Reinigung und Desinfektion mit Mängeln	27	36 %
Reinigung und Desinfektion unzureichend	22	29 %
Summe	75	100 %

Tabelle 60: Beurteilung der Reinigung und Desinfektion der beprobten Oberflächen von Geflügelschlacht- und Zerlegebetrieben (SCHLEUTER, 2000).

KBE/cm ²	Tupfer in %	Beurteilung der Reinigung und Desinfektion
10	44	gut
11-100	20	unvollständig
> 100	36	unzureichend

Die Ergebnisse waren bei Waschbecken, Sägen sowie bei den Steribecken überdurchschnittlich gut. Bei Tischen, Schneidbrettern, Tür/Wand, Behältern, Rutsche/Band waren durchschnittliche Ergebnisse zu verzeichnen. Schlecht waren die Ergebnisse bei Schürzen, Messern, Haken und den Arbeitshandschuhen (SCHLEUTER, 2000). Die Ergebnisse der eigenen Untersuchungen ergaben bei den beprobten Arbeitsgeräten (Schürzen, Messer, Kettenhandschuhe, Gummihandschuhe [HS 1]) eine relativ hohe Anzahl an *Chlamydophila psittaci*-Nachweisen (IFT: 13 % positiv; PCR: 27 % positiv). Bei den beprobten Schlachtereien (Hähnchen- und Putenschlachtereien) gab es offensichtlich Mängel bei der Reinigung und Desinfektion der Arbeitsgeräte.

5.4 Präventive Maßnahmen zum Schutz des Schlachtereipersonals vor *Chlamydophila psittaci*-Infektionen

Schon in der Geflügelmästerei sollte mit präventiven Maßnahmen zum Schutz vor *Chlamydophila psittaci*-Einschleppung begonnen werden, da Impfstoffe nur die Erkrankung, nicht jedoch eine Infektion mit dem Erreger verhindern. Das Betriebsmanagement ist zu optimieren. Der Neuzukauf von Tieren sollte nur aus nicht infizierten Beständen erfolgen. Der Kontakt von Wirtschaftsgeflügel zu Wildvögeln, Nagern sowie sonstigen Haustieren ist unbedingt zu vermeiden, da diese Tiere eine wichtige Infektionsquelle bzw. ein Erregerreservoir bilden (siehe 2.3.2.1.2.1 und 2.3.2.1.2.2) (ANDERSEN et al., 1997; ANDERSEN und VANROMPAY, 2003). Aus diesem Grunde ist die Haltung von Wirtschaftsgeflügel in geschlossenen Räumlichkeiten als positiv zu bewerten. Schlechte Haltungs- und Fütterungsbedingungen begünstigen horizontale Infektionen und den Ausbruch einer Ornithose (KRAUSS und SCHMEER, 1992), daher sind Haltungs- und Fütterungsbedingungen zu optimieren. Der Personenverkehr (Besucher, Betriebsführungen etc.) ist zu beschränken. Besucher sollten nur in betriebseigener Kleidung die Räumlichkeiten betreten dürfen (ANDERSEN et al., 1997; ANDERSEN und VANROMPAY, 2003). Alle in einer Geflügelschlachtereie beschäftigten Mitarbeiter sollten bei ihrer Einstellung über mögliche Infektionsrisiken und Zoonosen aufgeklärt werden. Denn nur wenn das Personal über das Risiko einer *Chlamydophila psittaci*-Infektion informiert ist, kann es sich auch dagegen schützen.

Die Belegschaft sollte über die Kardinalsymptome einer Ornithose zur Früherkennung der Erkrankung und über das Vorgehen bei Anzeichen eines Infekts belehrt werden (Mitteilung Hygienebeauftragter, Arbeitsverbot, schnellstmöglicher Arztbesuch, Hinweisen des Arztes auf Geflügelkontakte etc.) (ANONYM, 1998; LEDERER und MÜLLER, 1999; MANKE, 2000).

In der Hähnchenschlachtereier 1 und Putenschlachtereier 1 wurden die Mitarbeiter bei ihrer Einstellung auf mögliche Infektionsrisiken und Zoonosen hingewiesen. In der Hähnchenschlachtereier 2 und Putenschlachtereier 2 erfolgte eine solche Belehrung nicht. In der Hähnchenschlachtereier 1 und 2 sowie in der Putenschlachtereier 2 wurden die Mitarbeiter zusätzlich vor Arbeitsantritt ärztlich untersucht.

Arbeitshygiene (Händedesinfektion) und persönlichen Hygiene (Vermeiden von Hand-Mund-Kontakten) müssen konsequent eingehalten werden. Das Personal ist über diesen Themenkomplex zu belehren. Die Einhaltung der Hygienevorschriften ist vom Hygienebeauftragten (z.B. durch Abklatschproben der Hände) zu kontrollieren. So darf z.B. die Einnahme von Speisen und Getränken erst nach Ablegen der Schutzkleidung und gründlicher Handreinigung und -desinfektion erfolgen. Um unbewusste Hand-Mund- bzw. Hand-Nasen-Kontakte und somit Chlamydien-Infektionen zu vermeiden, sollte per Arbeitsanweisung in allen Betriebsbereichen das Tragen von Mund- und Nasenmasken vorgeschrieben sein. Das Personal sollte immer saubere Schutzkleidung mit Kopfbedeckung tragen welche nicht zweckentfremdet wird. Nach Beendigung der Arbeit sollte eine gründliche Körperreinigung erfolgen (ANONYM, 1998; LEDERER und MÜLLER, 1999; MANKE, 2000).

Bei den, in eigenen Untersuchungen, beprobten Geflügelschlachtereien existierten Arbeitsanweisungen zum Hygieneverhalten des Personals. Hygieneschulungen wurden in regelmäßigen Abständen wiederholt. Die Arbeitskleidung wurde vom Betrieb gestellt, täglich gewechselt und gewaschen.

Das Personal sollte in staubbelasteten Bereichen (Annahme/Einhängen) eine partikelfiltrierende Halbmaske der Klasse FFP 3 tragen, welche einen wirksamen Schutz gegen die Inhalation von *Chlamydophila psittaci* darstellt (KÄMPFER und WEIßENFELS, 1997). Staubbelastete Bereiche sollten als solche gekennzeichnet und nur von Befugten mit Schutzkleidung und Atemschutz betreten werden. Das Betreten derartiger Bereiche durch Nichtbefugte (ohne Schutzkleidung und Atemschutz) ist zu untersagen. In staubbelasteten Arbeitsbereichen kann der Einbau einer Absauganlage

die Staubbelastung verringern. Das Infektionsrisiko wird jedoch nicht sicher ausgeschlossen (ANONYM, 1998; LEDERER und MÜLLER, 1999; MANKE, 2000). Bei den, in eigenen Untersuchungen, beprobten Geflügelschlachtereien wurden nur von sehr wenigen Mitarbeitern Mund- und Nasenmasken getragen. Der Grossteil arbeitete freiwillig ohne Schutz.

Wichtig ist auch ein eindeutiges Definieren von „Schwarz-Weiß-Bereichen“ (Rein-Unrein-Bereichen). Das Personal sollte beim Wechsel der Bereiche einen Kleiderwechsel vornehmen. Eine Zwangswegeführung ist ebenfalls eine gute Möglichkeit zur Verhinderung von Kreuzkontaminationen. Die laufend durchzuführenden Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen sind sicherzustellen und zu kontrollieren (ANONYM, 1998; LEDERER und MÜLLER, 1999; MANKE, 2000).

6 Zusammenfassung

Infektionen mit *Chlamydophila psittaci* sind auch beim Wirtschaftsgeflügel (Hühner, Puten, Enten, Gänse, Tauben) relativ häufig zu finden. Zur Erregerübertragung auf Menschen kann es während der Betreuung der Tiere, aber auch bei der Schlachtung und Verarbeitung kommen. In den beprobten Geflügelschlachtereien wurden zum Zeitpunkt der Probeentnahme ausschließlich klinisch gesund erscheinende Broiler und Puten geschlachtet.

Ziel der eigenen Untersuchungen war es, Häufigkeit und Verteilung von *Chlamydophila psittaci* in Geflügelschlachtereien nachzuweisen. Deshalb wurden 12 Betriebsbereiche (Einhängen, Entbluten, Eviszeration, Zerlegung, Verpackung, Transportkäfige, Arbeitsgeräte (Kettenhandschuhe, Gummihandschuhe [HS 1], Messer, Kunststoffschürzen), Produktionsbüro, Sonstige [Türgriffe, Konfiskate, Sterilisationsbecken [HS 2]], Milzen, Brühen & Rupfen [PS 1, PS 2], Umhängerraum [PS 2]) von zwei Hähnchen- und zwei Putenschlachtereien im Zeitraum von März bis November 2001 auf das Vorkommen von *Chlamydophila psittaci* untersucht. Hierzu wurden insgesamt 590 Tupferproben und 84 Milzproben entnommen. Als Untersuchungsmethoden wurden der direkte Immunfluoreszenztest mit einem FITC-konjugierten monoklonalen Antikörper (Chlamydia-Antigen-VET-IFT[®], Medac) nach erfolgter Erregeranzüchtung in der Buffalo-Green-Monkey-Kidney-Zellkultur (BGM-Zellen) sowie eine genusspezifische Polymerase-Ketten-Reaktion mit anschließender Restriktionsenzymanalyse zur Speziesdifferenzierung angewandt.

Die Ergebnisse der eigenen Untersuchungen belegen, dass *Chlamydophila psittaci* in allen vier beprobten Geflügelschlachtereien nachzuweisen ist. Die Nachweishäufigkeit von *Chlamydophila psittaci* war bei den Putenschlachtereien (PS 1, PS 2) höher als bei den Hähnchenschlachtereien (HS 1, HS 2). Möchte man eine Rangfolge der Nachweishäufigkeit von *Chlamydophila psittaci* aufstellen, so steht an erster Stelle die Putenschlachtereie 2 (IFT: 17 % positiv; PCR: 41 % positiv), gefolgt von der Putenschlachtereie 1 (IFT: 9 % positiv; PCR: 29 % positiv), gefolgt von der Hähnchenschlachtereie 2 (IFT: 10 % positiv; PCR: 21 % positiv) und der Hähnchenschlachtereie 1 (IFT: 8 % positiv; PCR: 17 % positiv).

Chlamydophila psittaci war in allen beprobten Betriebsbereichen nachweisbar. Besonders betroffen waren die Bereiche Einhängen (IFT: 15 % positiv; PCR: 29 % positiv), Entbluten (IFT: 8 % positiv; PCR: 25 % positiv), Eviszeration (IFT: 20 % positiv; PCR: 46 % positiv), Zerlegung (IFT: 18 % positiv; PCR: 31 % positiv), Verpackung (IFT: 14 % positiv; PCR: 35 % positiv), Transportkäfige (IFT: 6 % positiv; PCR: 38 % positiv), Arbeitsgeräte (IFT: 13 % positiv; PCR: 27 % positiv) sowie bei den Putenschlachtereien die Bereiche Brühen & Rupfen (IFT: 0 % positiv; PCR: 29 % positiv) und der Umhängeraum bei der Putenschlachtereier 2 (IFT: 25 % positiv; PCR: 50 % positiv). Seltener gelangen *Chlamydophila psittaci*-Nachweise in den Bereichen Produktionsbüros (IFT: 2 % positiv; PCR: 8 % positiv), Sonstige (IFT: 0 % positiv; PCR: 3 % positiv), sowie bei den Milzen (IFT: 1 % positiv; PCR: 11 % positiv).

Mittels des direkten IFT waren bei 11 % aller untersuchten Proben *Chlamydophila sp.* nachzuweisen, 72 % waren negativ und 17 % der Proben nicht auswertbar da die BGM-Zellen wiederholt verkeimten oder toxisch reagierten. Mittels PCR waren bei 27 % aller untersuchten Proben *Chlamydophila psittaci* (259 Basenpaare) nachzuweisen, 67 % waren negativ und 7 % der Proben nicht auswertbar da immer wieder Schmier im Agarosegel auftrat. Somit waren mittels PCR 16 % mehr *Chlamydophila psittaci*-Nachweise möglich. Alle Proben die in der BGM-Zellkultur mit anschließender Immunfluoreszenz *Chlamydophila sp.*-positiv waren, waren dies ebenfalls in der PCR mit anschließender Restriktionsenzymanalyse. Keine der Proben war mittels des IFT positiv und mittels PCR negativ. Die Ergebnisse der eigenen Untersuchungen zeigen, dass die PCR mit anschließender Restriktionsenzymanalyse die geeignetere Nachweismethode für die in dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen darstellt.

Die Fragestellungen der eigenen Untersuchungen können somit wie folgt beantwortet werden:

- *Ist Chlamydophila psittaci in Hähnchen- und Putenschlachtereien vorhanden?*

Chlamydophila psittaci ist in Hähnchen- und Putenschlachtereien nachweisbar. In Putenschlachtereien sind die Nachweisraten etwas höher als in den Hähnchenschlachtereien.

- Welche Bereiche der Schlachtbetriebe sind von *Chlamydophila psittaci* betroffen und können somit mögliche Infektionsquellen für das dort beschäftigte Personal darstellen?

In allen beprobten Betriebsbereichen waren *Chlamydophila psittaci*-Nachweise möglich. Die Bereiche Annahme/Einhängen, Entbluten, Eviszation, Zerlegung, Verpackung, Transportkäfige, Arbeitsgeräte (Kettenhandschuhe, Gummihandschuhe [HS 1], Messer, Kunststoffschürzen) sowie bei den Putenschlachtereien (PS 1, PS 2) die Bereiche Brühen & Rupfen und der Umhängerraum (PS 2) waren häufig betroffen. Seltener gelangen *Chlamydophila psittaci*-Nachweise in den Bereichen Produktionsbüros, Sonstige (Kunststofftürgriffe, Konfiskate, Sterilisationsbecken [HS 2]), sowie bei den Milzen.

7 Summary

Detection of *Chlamydophila psittaci* in different areas of two chicken and two turkey abattoirs by isolation in Buffalo Green Monkey Kidney cell cultures plus subsequent direct immunofluorescence and by polymerase chain reaction followed by restriction enzyme analysis

Infections with *Chlamydophila psittaci* are quite often found in commercial poultry (chicken, turkeys, ducks, geese, doves). The spread of the causative organism from poultry to human beings may happen during the inspection of animals on the farms but also while slaughtering and processing. During the time period of the sample collection only chickens and turkeys have been slaughtered which appeared healthy from a clinical perspective.

Aims of the own investigation are to prove the prevalence and the allocation of *Chlamydophila psittaci* in a total of 12 specified locations of poultry abattoirs (coupling, bleeding, evisceration, dressing, wrappings, transport cages, working equipment, office, others [plastic door handles, confiscate, sterilisation basins [HS 2]], spleen, scalding and plucking [PS 1, PS 2], and transfer room [PS 2]). For that reason two chicken and two turkey abattoirs were investigated for *Chlamydophila psittaci* from March to November 2001. A total of 590 different swab samples as well as 84 spleen samples were collected and examined. As investigation methods served the isolation of the organism in Buffalo Green Monkey Kidney cell cultures (BGM cell cultures), followed by direct immunofluorescence using a FITC-conjugated monoclonal antibody (Chlamydia-Antigen-VET-IFT[®], Medac). A genus specific polymerase chain reaction followed by restriction enzyme analysis was used to determine the species.

The results of this study demonstrate that *Chlamydophila psittaci* was detectable in all four poultry abattoirs. The prevalence of *Chlamydophila psittaci* was higher in the turkey abattoirs (PS 1, PS 2) than in the chicken abattoirs (HS 1, HS 2). A ranking of frequencies of the rates of detection of *Chlamydophila psittaci* within the investigated four abattoirs places the turkey abattoir PS 2 on the first rank (IFT: 17 % positive; PCR:

41 % positive), followed by turkey abattoir PS 1 (IFT: 9 % positive; PCR: 29 % positive), the chicken abattoir HS 2 (IFT: 10 % positive; PCR: 21 % positive), and the chicken abattoir HS 1 (IFT: 8 % positive; PCR: 17 % positive).

Additionally, *Chlamydophila psittaci* was detectable at least once within all investigated areas. Especially the sectors coupling (IFT: 15 % positive; PCR: 29 % positive), bleeding (IFT: 8 % positive; PCR: 25 % positive), evisceration (IFT: 20 % positive; PCR: 46 % positive), dressing (IFT: 18 % positive; PCR: 31 % positive), wrappings (IFT: 14 % positive; PCR: 35 % positive), transport cages (IFT: 6 % positive; PCR: 38 % positive), working equipment (IFT: 13 % positive; PCR: 27 % positive) as well as within turkey abattoirs (PS 1, PS 2) the sections scalding and plucking (IFT 0 % positive; PCR 29 % positive) and transfer room within turkey abattoir PS 2 (IFT: 25 % positive; PCR: 50 % positive) were frequently positive. The evidence of the presence of *Chlamydophila psittaci* was less frequent in areas like office (IFT 2 % positive; PCR 8 % positive) and others (IFT 0 % positive; PCR 3 % positive) as well as in the spleens (IFT 1 % positive; PCR 11 % positive).

It was possible to detect by direct IFT *Chlamydophila* sp. in 11 % of all 590 investigated samples, 72 % were negative, and 17 % of the samples were not analysable due to contamination of BGM cell cultures by bacteria or due to toxic reactions of the inoculated cultures. Via PCR, it was possible to detect *Chlamydophila psittaci* (259 base pairs) within 27 % of all investigated samples, 67 % were negative and 7 % of the samples were not analysable due to smear in agarose gel. Thus, the PCR detected about 16 % more positives of *Chlamydophila psittaci* than the IFT. All samples which were positive for *Chlamydophila* sp. in BGM cell cultures followed by immunofluorescence, were also positive in the PCR followed by restriction enzyme analysis. None of the samples that were positive in the IFT were negative in the PCR. The results of the own investigations show that the PCR, followed by restriction enzyme analysis is an appropriate technique for the detection of the ornithosis agent in abattoirs and processing plants.

Consequently, the two questions of the own investigations are answered as follows:

- *Does Chlamydophila psittaci exist in chicken and turkey abattoirs?*

Chlamydophila psittaci are detectable in chicken and turkey abattoirs whereas the the percentage in turkey abattoirs is slightly higher than in chicken abattoirs.

- *Which areas of the abattoirs are affected with Chlamydophila psittaci and could be a potential source of infection for the staff members?*

Evidence for the presence of *Chlamydophila psittaci* was found within all investigated areas of the four abattoirs. Sections coupling, bleeding, evisceration, dressing, wrapping, transport cages, working equipment as well as the areas scalding and plucking with both turkey abattoirs (PS 1, PS 2) and the transfer room in turkey abattoir 2 had been frequently affected. The evidence of the presence of *Chlamydophila psittaci* was less frequent in areas like office and others (plastic door handles, confiscate, sterilisation basins [HS 2]) as well as in the spleens.

8 Literaturverzeichnis

Alexander, J.J. (1968):

Separation of protein synthesis in meningopneumonitis agent from that in L-cells by different susceptibility to cycloheximide.

Journal of Bacteriology, 95, 327-332.

Alexander, J.J. (1969):

Effect of infection with the meningopneumonitis agent on desoxyribonucleic acid and protein synthesis by its L-cell host.

Journal of Bacteriology, 97, 653-657.

Allan, I. & Pearce, J.H. (1979):

Modulation by centrifugation of cell susceptibility to chlamydia infection.

Journal of General Microbiology, 111, 87-92.

Andersen, A.A. & Tappe, J.P. (1989):

Chlamydiosis. In: A laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens. Published by "The American Association of Avian Pathologist". 3th

Edition. Eds. Purchase, H.G., Arp, L.H., Domermuth, C.H. & Pearson, J.E..

Dubuque, Iowa: Kendall/Hunt, S. 63-69.

Andersen, A.A. & Tappe, J.P. (1989a):

Genetic, immunologic and pathologic characterisation of avian chlamydial strains.

Journal of the American Veterinary Medical Association, 195, 1512-1516.

Andersen, A.A. (1991):

Comparison of avian *Chlamydia psittaci* isolates by restriktion endonuclease analysis and serovar-specific monoclonal antibodies.

Journal of Clinical Microbiology, 29, 244-249.

Andersen, A.A. (1991a):

Serotyping of *Chlamydia psittaci* isolates using serovar-specific monoclonal antibodies with the microimmunofluorescence test.

Journal of Clinical Microbiology, 29, 707-711.

Andersen, A.A. (1996):

Comparison of pharyngeal, fecal and cloacal samples for the isolation of *Chlamydia psittaci* from experimentally infected cockatiels and turkeys.

Journal of Veterinary Diagnostic Investigations, 8, 448-450.

Andersen, A.A. (1997):

Two new serovars of *Chlamydia psittaci* from North American birds.

Journal of Veterinary Diagnostic Investigations, 9, 159-164.

Andersen, A.A., Grimes, J.E. & Wyrick, P.B. (1997):

Chlamydiosis (Psittacosis, Ornithosis). In: Diseases of Poultry. 10th Edition. Eds. Calnek, B.W., Barnes, H.J., Beard, C.W., McDougald, L.R. & Saif, Y.M.. Ames: Iowa State University Press, S. 333-349.

Andersen, A.A. (1998):

Chlamydiosis. In: A laboratory manual for the isolation and identification of Avian Pathogens. 4th Edition. Eds. D.E. Swayne et al.. Kennett Aquare: American Association of Avian Pathologist, S. 81-88.

Andersen, A.A. (2000):

Avian Chlamydiosis. In: OIE Standards Commission (Ed.) Manual of standards for diagnostic tests and vaccines. 4th Edition. Paris: Office International des Epizooties, S. 679-690.

Andersen, A.A. & Vanrompay, D. (2003):

Avian Chlamydiosis (Psittacosis, Ornithosis). In: Diseases of Poultry. 11th Edition. Eds. Saif, Y.M., Barnes, H.J., Glisson, J.R., Fadly, A.M., McDougald, L.R. & Swayne, D.E.. Ames: Iowa State University Press, S. 863-879.

Anderson, DC., Stoesz, P.A. & Kaufmann, A.F. (1978):

Psittacosis outbreak in employees of a turkey-processing plant.
American Journal of Epidemiology, 107, 140-148.

Andral, B. & Louzis, C. (1982):

La rhinotrachéite de la dinde en Bretagne.
Bulletin Laboratoire Vétérinaire 7, 33-43.

Andrews, J.M. (1957):

The importance of Psittacosis in the United States.
Journal of the American Veterinary Association, 130, 109-115.

Anhalt, J.P., Sabath, L.D. & Barry, A.L. (1980):

Special tests: Bacterial activity, activity of antimicrobics in combination and detection of β -lactamase production. In: Manual of Clinical Microbiology. 3th Edition. Eds. Lennette, E.H.. American Society for Microbiology, Washington.

Anonym (1998):

Chlamydia psittaci/Ornithose ausgehend von einer Geflügelschlachtereier.
Robert Koch Institut, Epidemiologisches Bulletin, 29/98, 208-209.

Anonym (2000):

Compendium of measures to control *Chlamydia psittaci* infection among humans (Psittacosis) and pet birds (Avian Chlamydiosis). Editors:
American Veterinary Medical Association, Council State and Territorial Epidemiologists and Association of Avian Veterinarians.
Korrespondenzadresse: William B. Johnston, D.V.M. Alabama Department of Public Health, Division of Epidemiology, Suite 1310, P.O. Box 303017, Montgomery, AL 36130-3017, Internet: <http://www.cdc.gov/ncidod>

Anonym (2001):

Robert Koch Institut, Epidemiologisches Bulletin, 14/2001, 95-97.

Robert Koch Institut, Epidemiologisches Bulletin, 14/2001, 95-97.

Arens, M. & Weingarten, M. (1981):

Vergleichende Untersuchungen an Buffalo-Green-Monkey (BGM)-Zellen und Mäusen zur Isolierung von *Chlamydia psittaci* aus Kot und Organproben aus Vögeln. Zentralblatt für Veterinärmedizin, B 28, 301-309.

Arzey, G.G. & Arzey, K.E. (1990):

Chlamydiosis in layer chickens. Australian Veterinary Journal, 67, 461.

Ausführungshinweise zur Psittakose-Verordnung (1975):

Vom 16. Mai 1975, zuletzt geändert am 26. Oktober 1987.

Bader, J.P. & Morgan, H.R. (1958):

Latent viral infection of cells in tissue culture, VI. role of amino acids, glutamine, and glucose in psittacosis virus propagation in L-cells. Journal of Experimental Medicine, 108, 617-629.

Baldelli, R., di Francesco, A. & Martini, M. (2000):

Presenza di *Chlamydia psittaci* in allevamenti di tacchini da carne del centro italia. La Selezione Veterinaria, 2/2000, 85-90.

Barr, D.A., P.C. Scott, O'Rourke, M.D. & Coulter, R.J. (1986):

Isolation of *Chlamydia psittaci* from commercial broiler chickens. Australian Veterinary Journal, 63, 377.

Barton Gade, P., von Holleben, K. & von Wenzlawowicz, M. (2001):

Fakten sprechen für Gasbetäubung. Fleischwirtschaft, 12/2001, 26-29.

Beasley, J.N., Davis, D.E. & Grumbles, L.C. (1959):

Preliminary studies on the histopathology of experimental ornithosis in turkeys.
American Journal of Veterinary Research, 20, 341-349.

Beasley, J.N., Moore, R.W. & Watkins, J.R. (1961):

The histopathologic characteristics of diseases producing inflammation of the air sacs in turkeys – a comparative study of pleuropneumonia-like organisms and ornithosis in pure and mixed infections.
American Journal of Veterinary Research, 22, 85-92.

Becker, Y. (1978):

The Chlamydia: molecular biology of procaryotic obligate parasites of eucaryotes.
Microbiological Reviews, 42, 274-306.

Becker, W. & Menk, W. (1992):

Chlamydien-Infektion. In: Zoonosen-Fibel: Zwischen Tier und Mensch übertragbare Infektionskrankheiten. 3. Auflage. Hrsg. Becker, W. & Menk, W. Hoffmann Verlag, Berlin, S. 69-74.

Bedson, S.P. & Bland, J.O.W. (1932):

A morphological study of psittacosis virus with the description of a developmental cycle.
British Journal of Experimental Pathology, 13, 461-466.

Bedson, S.P. (1935):

The use of complement-fixation reaction in the diagnosis of human psittacosis.
The Lancet, 2, 1277-1280.

Berndt, A. (2000):

Mikroskopische Verfahren zum Nachweis von Chlamydien in Geweben und Zellkulturen. In: Workshop Chlamydiendiagnostik, Bekämpfung bakterieller Infektionen – eine ständige Aufgabe des gesundheitlichen Verbraucherschutzes.
BgVV, 12./13. September 2000.

Bevan, B.J. & Bracewell, C.D. (1986):

Chlamydiosis in birds in Great-Britain. 2. Isolation of *Chlamydia psittaci* from birds sampled between 1976 and 1984.

Journal of Hygiene (Cambridge), 96, 453-458.

Black, C.M., Johnson, J.E., Farshy, C.E., Brown, T.M. & Berdal, B.P. (1991):

Antigenetic variation among strains of *Chlamydia pneumoniae*.

Journal of Clinical Microbiology, 29, 1312-1316.

Blanchard, T.J. & Mabey, D.C.W. (1994):

Chlamydial infections.

British Journal of Clinical Practice, 48, 201-205.

Bland, J.O.W. & Canti, R.G. (1935):

The growth and development of psittacosis virus in tissue culture.

Journal of Pathology and Bacteriology, 40, 231-241.

Blyth W.A. & Taverne, J. (1974):

Cultivation of TRIC agents: a comparison between the use of BHK21 and irradiated McCoy cells.

Journal of Hygiene (Cambridge), 72, 121-128.

Bogner, K.-H., Annette Dünninger & E.F. Kaleta (1997):

Nachweis von Chlamydien bei Psittaziden aus Tupferproben mit verschiedenen Methoden. In: Avid-Mitteilungen, Anlagen 8 bis 10, II/1997, S. 1-7.

Böhm, R. (2002):

Grundlagen der Reinigung und Desinfektion. In: Reinigung und Desinfektion in der Nutztierhaltung und Veredelungswirtschaft. Hrsg. Strauch, D. & Böhm, R., Enke Verlag, Stuttgart, S. 19-61.

Bongart, F. (1988):

Prinzipien der Reinigung. In: Hygiene und Produktionssicherung im Lebensmittelbetrieb. Hrsg. Buckenhüskes, H.. Verband der Lebensmitteltechnologien e.V., Filderstadt 1988.

Bovarnick, M.R., Miller, J.C. & Snyder, J.C. (1950):

The influence of salts, amino acids, sugar and proteins on the stability of Rickettsiae. *Journal of Bacteriology*, 59, 509-522.

Bowie, W.R., Lee, C.K. & Alexander, E.R. (1978):

Prediction of efficacy of antimicrobial agents in treatment of infections due to *Chlamydia trachomatis*. *Journal of Infectious Diseases*, 138, 655-669.

Bowie, W.R. (1981):

In vitro activity of clindamycin against *Chlamydia trachomatis* (technical note). *Sexually Transmitted Diseases*, 8, 220-221.

Brand, C.J. (1989):

Chlamydial infections in free-living birds. *Journal of American Veterinary Medicinal Association*, 195, 1531-1535.

Brüning, H. (1982):

Untersuchungen zur Aerosolinfektion von Chlamydien.
Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades beim Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen.

Buri, H. (1964):

Zur Gesundheitsgefährdung des Menschen durch Tauben. *Der Landarzt*, 40, 1296-1300.

Burkhart, R.L. & Page, L.A. (1971):

Chlamydiosis (ornithosis-psittacosis). In: Infectious and parasitic diseases of wild birds. Eds. J.W. Davis, R.C. Anderson, L. Karstadt & D.O. Trainer. Ames: Iowa State University Press, S. 118-140.

Burnet, F.M. & Rountree, P.H. (1935)

Psittacosis in the developing egg.
Journal of Pathology and Bacteriology, 40, 471-481.

Butaye, P., Ducatelle, R., de Backer, P., Vermeersch, H., Remon, J.P. & Haesebrouck, F. (1997):

In vitro activities of doxycycline and enrofloxacin against *Chlamydia psittaci* strain from turkeys.
Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 41, 2800-2801.

Caldwell, H.J. & Schachter, J. (1982):

Antigenetic analysis of the major outer membran protein of chlamydia spp..
Infection and Immunity, 35, 1024-1031.

Campbell, L.A., Kuo, C.C. & Grayston, J.T. (1987):

Characterization of a new chlamydial agent, TWAR, as a unique organism by restriction endonuclease analysis and DNA-DNA hybridization.
Journal of Clinical Microbiology, 25, 1911-1916.

Castanjeda, M.R.C. (1930):

A new stain for Rickettsia bodies.
Journal of Infectious Diseases, 47, 416-417.

Chahota, R., Asrani, R.K. & Katoch, R.C. (1997):

Pathologic evidence of Chlamydiosis in domestic chickens and wild fauna in and around Palampur.
Indian Journal of Veterinary Pathology, 21, 52-54.

Coles, A.C. (1930):

Micro-organismus in chlamydiosis.

The Lancet, 1, 1011-1012.

Darougar, S., Kinnison, J.R. & Jones, B. R. (1971):

Simplified irradiated McCoy cell culture for isolation of Chlamydiae.

Trachoma and Related Disorders. Eds. Nichols, R.L.. Excerpta Medica, Amsterdam and New York, 63-70.

Deutz, A., Fuchs, K., Nowotny, N., Auer, H., Schuller, W., Kerbl, U., Aspöck, H. & Köfer, J. (2001):

Ergebnisse seroepidemiologischer Untersuchungen von Tierärzten, Landwirten und Schlachthofarbeitern auf Zoonosen. In: 42. Tagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft, Garmisch-Partenkirchen 25. bis 28. September 2001.

Dickerson, M.S. (1962):

Turkey ornithosis in man.

Texas State Journal of Medicine, 58, 916-920.

Dufree, P.T., Pullen, M.M., Currier, R.W. & Parker, R.L. (1975):

Human psittacosis associated with commercial processing of turkeys.

Journal of the American Veterinary Medical Association, 167, 804-808.

Eddie, B., Meyer, K.F., Lambrecht, F.L. & Furmann, D.P. (1962):

Isolation of ornithosis Bedsoniae from mites collected in turkey quarters and from chicken lice.

Journal of Infectious Diseases, 11, 231-237.

Essig, A. & Marre, R. (1997):

Diagnostik und Therapie von Chlamydieninfektionen.

Deutsche Medizinische Wochenschrift, 122, 971-975.

Evans, R.T. & Taylor-Robinson, D. (1979):

Comparison of various McCoy cell treatment procedures used for detection of *Chlamydia trachomatis*.

Journal of Clinical Microbiology, 10, 198-201.

Everett, K.D.E & Andersen, A.A. (1997):

The ribosomal intergenic spacer and domain I of the 23S rRNA gene are phylogenetic markers for *Chlamydia* spp..

International Journal of Systematic Bacteriology, 47, 461-473.

Everett, K.D.E., Bush, R.M. & Andersen, A.A. (1999):

Emended description of the order Chlamydiales, proposal of Parachlamydiaceae fam. nov. and Siamkaniaceae fam. nov., each containing one monotypic genus, revised taxonomy of the family Chlamydiaceae, including a new genus and five new species, and standards for the identification of organisms.

International Journal of Systematic Bacteriology, 49, 415-440.

Everett, K.D.E., Hornung, L.J. & Andersen, A.A. (1999a):

Rapid detection of the Chlamydiaceae and other families in the order Chlamydiales: three PCR tests.

Journal of Clinical Microbiology, 37, 575-580.

Fehlhaber, F. (2001):

Bedeutung des Geflügelfleisches. In: Praxis der Geflügelfleischuntersuchung. Hrsg. Fries, R., Bergmann, V. & Fehlhaber, F., Schlütersche, Hannover, S. 11-13.

Fezia, G., Lauzi, S. & Pisa, F.P. (1999):

Chlamydia psittaci in Tacchini: Ricerca Anti-genica da Tamponi Cloacali.

La Selezione Veterinaria, 8-9/99, 621-624.

Finlayson J., Buxton, D., Anderson, I.E. & Donald, K.M. (1985):

Direct immunoperoxidase method for demonstrating *Chlamydia psittaci* in tissue sections.

Journal of Clinical Pathology, 38, 712-714.

Fischer, B.C. (1992):

Chlamydia psittaci-Nachweis beim Vogel mittels Zellkultur, Immunfluoreszenz (Chlamydia direkt IF) und Immunoassay (Clearview Chlamydia).

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades beim Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen.

Fleck, S. (2002):

Biologische Effektivität und Reproduktionsfähigkeit von Mikroorganismen bei großvolumigen Luftkeimsammelgeräten mit unterschiedlichen Einwaschsystemen.

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades beim Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen.

Fortner, J. & Pfaffenberg, R. (1935):

Über das gehäufte Auftreten der Psittakose.

Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten der Tiere, 116, 397-416.

Fries, R. (1994):

Broiler – Technische Prozesskontrolle in der Fleischgewinnung.

Fleischwirtschaft, 74, 933-938.

Fries, R., (2001):

Geflügelfleischerzeugung. In: Praxis der Geflügelfleischuntersuchung. Hrsg. Fries, R., Bergmann, V. & Fehlhaber, F. Schlütersche, Hannover, S. 21-76.

Fritzsche, K. & Gerriets, E. (1962):

Ornithose und Psittakose. In: Lehrbuch der Geflügelkrankheiten, 2. Auflage. Paul Parey Verlag, Berlin und Hamburg, S. 192-206.

Fukushi, H., Ogawa, Y., Shimakura, S. & Hirai, K. (1985):

Chlamydial antibodies in domestic birds detected by indirekt hemagglutination tests.
Research Bulletin of the Faculty of Agriculture, Gifu University, 50, 271-277.

Fukushi, H. & Hirai, K. (1988):

Immunohistochemical diversity of the major outer membrane protein of avian and mammalian *Chlamydia psittaci*.
Journal of Clinical Microbiology, 26, 675-680.

Fukushi, H. & Hirai, K. (1989):

Genetic diversity of avian and mammalian *Chlamydia psittaci* strains and relation to host origin.
Journal of Bacteriology, 171, 2850-2855.

Fukushi, H. & Hirai, K. (1992):

Proposal of *Chlamydia pecorum* sp. nov. for Chlamydia strains derived from ruminants.
International Journal of Systematic Bacteriology, 42, 306-308.

Gale, Ch., Sanger, V.L. & Pomeroy, B.S. (1960):

The gross and microscopic pathology of an ornithosis virus of low virulence for turkeys.
American Journal of Veterinary Research, 21, 491-497.

Galo, A.J., Regalla, J.M. & Lage, M.C.D. (1982):

Turkey "syndrome 81" in Portugal – *Chlamydia psittaci* infection.
Repositário de trabalhos do Instituto Nacional de Veterinária, 5 (Portugal) 14, 13-22.

Geflügelfleischhygiene-Gesetz (GFIHG) (1996):

Vom 17. Juli 1996, zuletzt geändert am 6. August 2002.

Geflügelfleischhygiene-Richtlinie 92/116/EWG (1992):

Vom 17. Dezember 1992.

Geflügelfleischhygiene-Verordnung (GFIHV) (2001):

Vom 21. Dezember 2001, zuletzt geändert am 21. Februar 2003.

Gerbermann, H. & Janeczek, F. (1991):

Chlamydiose bei Vögeln: Gegenwärtige Situation und Alternativen der Diagnose und Bekämpfung.

Der praktische Tierarzt, 72, 521-528.

Gerbermann, H. & Biendl, A. (1992):

Chlamydia psittaci Antigennachweis bei Psittaciformes mit einem kommerziellen Latextest (Clearview Chlamydia).

VIII. DVG-Tagung über Vogelkrankheiten, München, 5./6. März, S. 33-49.

Gerbermann, H. (1995):

Bewertung diagnostischer Methoden im Rahmen der Psittakose/Ornithose Bekämpfung.

21. Kongress der DVG, Bad Nauheim, Teil 2. Gießen, S. 8-16.

Gerbermann, H. (1999):

Neue Aspekte zur Psittakose/Ornithose. In: Referatesammlung zum 56.

Fachgespräch über Geflügelkrankheiten. 6./7. Mai 1999, S. 65-82.

Gerlach, H. (1993):

The biology of *Chlamydia psittaci*. Chlamydiosis 2.

Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine, 2, 154-156.

Gerlach, H. (1994):

Chlamydia. In: Avian Medicine: Principles and Application. Eds. Ritchie, B.W.,

Harrison, G.J. & Harrison, L.R.. Florida: Wingers, S. 984-966.

Gesetz zur Verhütung und Bekämpfung von Infektionskrankheiten beim Menschen (Infektionsschutzgesetz - IfSG) (2000):

Vom 20. Juli 2000, zuletzt geändert am 6.8.2002.

Giemsa, G. (1904):

Eine Vereinfachung und Vervollkommnung meiner Methylenazur-Methylenblau-Eosin-Färbemethode zur Erzielung der Romanowsky-Nacht'schen Chromatin-Färbung.

Centralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten der Tiere, I. Abteilung, Originale, 37, 308-311.

Giménez, D.F. (1964):

Staining Rickettsiae in yolk sac cultures.

Stain Technology, 39, 135-140.

Glass, S.E., Grimes, J.E. Hall, C.F. & Moore, R.W. (1975):

Ornithosis in Texas Turkeys in 1974-1975. In: Proceedings of the 24th Western Poultry Disease Conference and 9th Poultry Health Symposium. 18.-20. March. University of California Davis, Cooperative Extension Service, S. 59-61.

Gordon, F.B., Quan, A.L., & Trimmer, R.W. (1960):

Morphologic observations on trachoma virus in cell cultures.

Science, 131, 733-734.

Gordon, F.B. & Quan, A.L. (1965):

Isolation of the trachoma agent in cell culture.

Proceeding of the Society for Experimental Biology and Medicine, 118, 355-359.

Gordon, F.B. & Quan, A.L. (1965a):

Occurrence of glycogen in inclusions of the psittacosis-lymphogranuloma-venerum-trachoma agents.

Journal of Infectious Diseases, 115, 186-198.

Gordon, F.B., Harper, I.A., Quan, A.L., Treharne, J.D., Dwyer, R.S.C. & Garland, J.A. (1969):

Detection of Chlamydia (Bedsonia) in certain infections of man. I. Laboratory procedures: Comparison of yolk sac and cell culture for detection and isolation. *Journal of Infectious Diseases*, 120, 451-462.

Gordon, F.B., Dressler, H.R., Quan, A.L., McQuilkin, W.T. & Thomas, J.I. (1972):

Effekt of irradiation on susceptibility of McCoy cell cultures to *Chlamydia trachomatis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 23, 123-129.

Gorovits, E.S., Timasheva, O.A., Chezova, A.E. & Voronia, Y. (1979):

Isolation of the ornithosis agent (*Chlamydia psittaci*) from gamasid mites (*Ornithonyssus sylviarum*). *Voprosy Virusologii*, 6, 654-657.

Graber, R.E., & Pomeroy, B.S. (1958):

Ornithosis (psittacosis): An epidemiological study of a Wisconsin human outbreak transmitted from turkeys. *American Journal of Public Health*, 48, 1469-1483.

Gratzl, E. & Köhler, H. (1968):

Ornithose, Psittakose. In: *Spezielle Pathologie und Therapie der Geflügelkrankheiten*. Hrsg. Gratzl, E. & H. Köhler, Enke Verlag Stuttgart, S. 364-384.

Grayston, J.T., Kuo, C.-C., Wang, S.-P. & Altmann, J. (1986):

A new *Chlamydia psittaci* strain, TWAR, isolated in acute respiratory tract infections. *The New England Journal of Medicine*, 315, 161-168.

Grayston, J.T., Kuo, C.-C., Campbell, L.A. & Wang, S.-P. (1989):

Chlamydia pneumoniae sp. nov. for *Chlamydia* sp. strain TWAR.

International Journal of Systematic Bacteriology, 39, 88-90.

Gregory, W.W., Bytne, G.I., Gardner, M. & Moulder, J.M. (1979):

Cytochalasin B does not inhibit ingestion of *Chlamydia psittaci* by mouse fibroblasts (L-cells) and mouse peritoneal macrophages.

Infection and Immunity, 25, 463-466.

Grimes, J.E. & Page, L.A. (1978):

Comparison of direct and modified direct complement-fixation and agar-gel precipitation methods in detecting chlamydial antibody in wild birds.

Avian Diseases, 22, 422-430.

Grimes, J.E. (1978):

Transmission of chlamydia from grackles to turkeys.

Avian Diseases, 22, 308-312.

Grimes, J.E., Owens, K.J. & Singer, J.R. (1979):

Experimental transmission of *Chlamydia psittaci* to turkeys from wild birds.

Avian Diseases, 24, 915-926.

Grimes, J.E. & Wyrick, P.B. (1991):

Chlamydiosis (Ornithosis). In: Diseases of Poultry. 9th Edition. Eds. Calnek, B.W., Barnes, H.J., Beard, C.W., Reid, W.M. & Yoder Jr., H.W.. Ames: Iowa State University Press, S. 311-325.

Gylstorff, I. & Grimm, I. (1998):

Chlamydiales. In: Vogelkrankheiten. 2. Auflage.

Ulmer Verlag, Stuttgart, S. 215-220.

Hackstadt, T. (1986):

Identification and properties of chlamydial polypeptides that bind eucaryotic cell surface components.

Journal of Bacteriology, 165, 13-20.

Hafez, H.M. & Sting, R. (1992):

Chlamydien-Infektionen bei Puten: Literaturübersicht und Auswertung eigener Untersuchungen.

Archiv für Geflügelkunde, 57, 16-21.

Hafez, H.M. & Sting, R. (1994):

Chlamydien-Infektionen beim Geflügel. In: Referatesammlung zum 46.

Fachgespräch über Geflügelkrankheiten, Hannover, 26./27. Mai 1994. S. 119-131.

Hafez, H.M. & Sting, R. (1997):

Über das Vorkommen von Chlamydien-Infektionen beim Mastgeflügel.

Tierärztliche Umschau, 52, 281-285.

Hafez, H.M. & Böhm, R. (2002):

Reinigung und Desinfektion in der Geflügelwirtschaft. In: Reinigung und Desinfektion in der Nutztierhaltung und Veredelungswirtschaft. Hrsg. Strauch, D. & R. Böhm, Enke Verlag, Stuttgart, S. 123-150.

Hahn, H. (1991):

Chlamydien. In: Medizinische Mikrobiologie. Hrsg. H. Hahn, D. Falke & P. Klein. Springer Verlag, Berlin, S. 490-496.

Harris, J.W. (1983):

Zoonotic human chlamydiosis of avian origin - a review with particular reference to epidemiology and control. Part I – Epidemiology.

World's Poultry Science Journal, 39, 5-23.

Harrison, M.J. (1970):

Enhancing effect of DEAE-dextran on inclusion counts for an ovine chlamydia (*Chlamydia psittaci*) in cell culture.

Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science, 48, 207-213.

Hedberg, K., White, K.E., Forfang, J.C., Korlath, J.A., Friendshuh, K.A.J.,**Hedberg, C.W., MacDonald, K.L. & Osterholm, M.T. (1989):**

An outbreak of psittacosis in Minnesota turkey industry workers: Implications for modes of transmission and control.

American Journal of Epidemiology, 130, 3, 569-577.

Henneberg, G. & Höppner, E. (1960):

Desinfektionsversuche an Viren.

Archiv für Hygiene und Bakteriologie, 144, 149-158.

Henning, K. (1985):

Antibiotikumempfindlichkeit und Resistenzbildung bei Chlamydien unter besonderer Berücksichtigung der Empfindlichkeit von *Chlamydia psittaci* gegen Doxycyclin.

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades beim Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen.

Henning, K. & Krauss, H. (1986):

Zur Methodik der Bestimmung der Antibiotikumempfindlichkeit von Chlamydien in vitro.

Journal Veterinary Medicine, B 33, 447-461.

Henning, K. & Krauss, H. (1986a):

Felduntersuchung zur Frage einer Resistenzbildung von *Chlamydia psittaci* gegen Tetrazykline.

Berliner und Münchner Tierärztliche Wochenschrift, 99, 381-382.

Henning, K & Sting, R. (1999):

Filtrationsmethode zur Isolierung von Chlamydien aus mikrobiell kontaminierten Probenmaterial.

Tierärztliche Umschau, 54, 274-277.

Hentschke, J. (2000):

Zellkulturnachweis von Chlamydien. In: Workshop Chlamydiendiagnostik, Bekämpfung bakterieller Infektionen – eine ständige Aufgabe des gesundheitlichen Verbraucherschutzes, BgVV, 12./13. September 2000.

Hewinson, R.G., Rankin, S.E.S, Bevan, B.J., Field, M.E. & Woodward, M.J.**(1991):**

Detection of *Chlamydia psittaci* from avian field samples using the PCR.

The Veterinary Record, 199, 129-130.

Hewinson, R.G., Griffiths, P.C., Bevan, B.J., Kirwan, S.E.S., Field, M.E.,**Woodward, M.E. & Dawson, M. (1997):**

Detection of *Chlamydia psittaci* DNA in avian clinical samples by polymerase chain reaction.

Veterinary Microbiology, 54, 155-166.

Hilbrich, P. (1978):

Ornithose – Psittakose – Miyagawanellose – Chlamydiosis. In: Krankheiten des Geflügels unter besonderer Berücksichtigung der Haltung und Fütterung. Hrsg. P. Hilbrich. Verlag Hermann Kuhn, Villingen-Schwenningen, S. 215-217.

Hohlfeld, R., Then Bergh, F. & Dose, T. (1999):

Chlamydien-Infektion – mögliche Ursache der MS?

DMSG: Deutsche Multiple Sklerose Gesellschaft, Stellungnahme des Ärztlichen Beirates der DMSG.

Internet: http://www.dmsg.de/Presse_News/Presse_AEB_Chlamy_0499.htm

Holland, S.M., Gayos, C.A. & Quinn, T.C. (1990):

Detection and differentiation of *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia psittaci* and *Chlamydia pneumoniae* by DNA amplification.

Journal of Infectious Diseases, 162, 984-987.

Holländer, R. & van Hülst, R. (1988):

Chlamydia trachomatis – Biologie und humanmedizinische Bedeutung.

Forum Mikrobiologie, 6/88, 243-248.

Holzinger, H.A.-M. (1996):

Nachweis von *Chlamydia* sp. bei klinisch gesunden, freilebenden Meisen.

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades beim Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen.

Huchzermeyer, F.G., Gerdes, G.H., Foggin, C.M., Huchzermeyer, K.D.A. & Limper, L.C. (1994):

Hepatitis in farmed hatching Nile crocodils (*Crocodilus niloticus*) due to chlamydial infection.

Journal of the South African Veterinary Association, 62, 27-29.

Huhn, A. (1991):

Untersuchung zur Optimierung der Anzucht und Antigenproduktion von *Chlamydia psittaci* in Zellkulturen.

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades beim Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen.

Ibelgaufts, H. (1993):

Gentechnologie von A-Z. 1. korrigierter Nachdruck, Studienausgabe.

VCH-Verlagsgesellschaft, Weinheim, S. 380-403.

Illner, F. (1962):

Zur Frage der Übertragung des Ornithosevirus durch das Ei.

Monatshefte für Veterinärmedizin, 17, 116-117.

Irons, J.V., Sullivan, T.D. & Rowen, J. (1951):

Outbreak of psittacosis (ornithosis) from working with turkeys or chickens.
American Journal of Public Health, 41, 931-937.

Irons, J.V., Mason, D. & White, R.F. (1956):

Psittacosis (ornithosis) in Texas.
Southern Medical Journal, 49, 1061-1064.

Jacobson, E.R., Gaskin, J.M. & Mansell, J. (1989):

Chlamydial infections in puff adders (*Bitis arietans*).
Journal of Zoo and Wildlife Medicine, 20, 364-369.

Jeffrey, R.F., More, I.A.R., Carrington, D., Brigge, J.D. & Junor, B.J.R. (1992):

Acute glomerulonephritis following infection with *Chlamydia psittaci*.
American Journal of Kidney Diseases, 3, 94-96.

Johnson, F.W.A. (1983):

Zoonoses in practice, Chlamydiosis.
The British Veterinary Journal, 139, 93-101.

Johnson, F.W.A. (1983a):

Characterisation of Chlamydial agents. In: Commission of the European Community, Agriculture: Some Diseases of Emerging Importance in Community Trade. Publ. EUR 8515 EN. Eds. Walton, J.R., White, E.G. & Hale, S.A., S. 100-117.

Johnson, F.W.A. & Spencer, W.N. (1983b):

Multiantibiotic resistance in *Chlamydia psittaci* from ducks.
The Veterinary Record, 112, 208.

Jones, R.B., Van Der Pol, B., Martin, D.H. & Shepard, M.K. (1990).

Partial characterization of *Chlamydia trachomatis* isolates resistant to multiple antibiotics.
Journal of Infectious Diseases, 162, 1309-1315.

Kaleta, E.F. (1997):

Aktuelle Fragen der Diagnose und Bekämpfung der Psittakose.

Tierärztliche Umschau, 52, 36-44.

Kaleta, E.F. & Taday, E.A. (2003):

Avian host range of *Chlamydophila* spp. based on isolation, antigen detection and serology.

Avian Pathology, 32, 435-462.

Kaltenboeck, B., Kousoulas, K.G. & Storz, J. (1991):

Detection and strain differentiation of *Chlamydia psittaci* mediated by two-step polymerase chain reaction.

Journal of Clinical Microbiology, 29, 1969-1975.

Kaltenboeck, B., Kousoulas, K.G. & Storz, J. (1992):

Two step polymerase chain reactions and restriction endonuclease analyses detect and differentiate ompA DNA of *Chlamydia* spp..

Journal of Clinical Microbiology, 30, 1098-1104.

Kaltenboeck, B., Kousoulas, K.G. & Storz, J. (1993):

Structures of and allelic diversity and relationships among the major outer membrane protein (ompA) genes of the four chlamydial species.

Journal of Bacteriology, 175, 487-502.

Kaltenboeck, B., Schmeer, N. & Schneider, R. (1997):

Evidence for numerous omp1 alleles of porcine *Chlamydia trachomatis* and novel chlamydial species obtained by PCR.

Journal of Clinical Microbiology, 35, 1835-1841.

Kamenov, G., Mitov, D., Dimitrov, D., Tassev, V., Alexandrov, E., Hristov, M. & Marinova, E. (1994):

An outbreak of psittacosis in a closed community.

Revue Internationale des Services de Santé des Forces Armées, International Review of the Armed Forces Medical Services, 70, 254-257.

Kämpfer, P. & Weißenfels, W.D. (1997):

Luftgetragene Mikroorganismen in Abfallbehandlungsanlagen.

Hrsg. Kämpfer, P. & Weißenfels, W.D.. Herausgegeben von der Fachgruppe Umweltmikrobiologie der Vereinigung für Allgemeine und Angewandte Mikrobiologie e.V..

Karrer, H., Eddie, B. & Schmid, R. (1950):

Barnyard fowl as a source of human ornithosis.

California Medicine, 73, 55-57.

KDE&MEW (2002):

The genus Chlamydophila.

www.chlamdiae.com

Kempf, I., Trap, D., Mahé, A., Hafez, M. Kermorgant, P. & Colin, P. (2000):

La chlamydie de la dinde en Bretagne: quelques résultats sérologiques.

Sciences et Techniques Avicoles, N 33, S. 29-32.

Kim, T.W., Morris-Harrison, R., Bear, G.T., Halpin, T.J., Shuler, J.M., Barrett, C.L., Martin, R.J., Francis, B.J., Freeman, J.I., Hines, M.P., Arnoldi, J.M & Davis, J.P. (1982):

Psittacosis associated with turkey processing – Ohio.

Morbidity and Mortality Weekly Report, 30, 52, 638-639.

Köhler, G. (1996):

Krankheiten der Reptilien und Amphibien.

Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart, S. 97.

König, H. (2002):

Geflügelfleisch: Verbraucheransprüche wandeln sich.
Fleischwirtschaft, 1/2002, 47-51.

Krauss, H. & Weber, A. (1986):

Chlamydiosen (*Chlamydia psittaci*). In: Zoonosen. Hrsg. Krauss, H. & A. Weber.
Deutscher Ärzteverlag, Köln, S. 28-29.

Krauss, H., & Schmeer, N. (1992):

Aviäre Chlamydiose. In: Krankheiten des Wirtschaftsgeflügels. Hrsg. G. Heider, G.
Monreal & J. Mészáros. Gustav Fischer Verlag Jena, Stuttgart. Band II., S. 277-308.

Krauss, H. (1992):

Durch Chlamydien und Rickettsien hervorgerufene Zoonosen. In: DVG-Bericht des
4. Hohenheimer Seminars: „Aktuelle Zoonosen“. Stuttgart-Hohenheim 16/17.09.92,
S. 65-69.

**Krauss, H., Weber, A., Enders, B., Schiefer, H.G., Slenczka; W. & Zahner, H.
(1997):**

Chlamydiosen (*Chlamydia psittaci* und *Chlamydia pecorum*). In: Zoonosen.
2. Auflage. Hrsg. Krauss, H., Weber, A., Enders, B., Schiefer, H.G., Slenczka; W. &
Zahner, H., Deutscher Ärzteverlag, Köln, S. 28-30.

Krebsz, P. (1995):

Die Erforschungsgeschichte der Ornithosen.
Marburger Schriften zur Medizingeschichte, Band 32, Verlag Peter Lang.

Kummerfeld, N. (1995):

Chlamydien. In: Krankheiten der Heimtiere: Tauben. 3. Auflage. Hrsg. Gabrisch, K.
& Zwart, P., Schlütersche, Hannover, S. 587-588.

Kuo, C.C., Wang, S.P. & Grayston, J.T. (1977):

Antimicrobial activity of several antibiotics and a sulfonamide against *Chlamydia trachomatis* organisms in cell culture.

Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 12, 80-83.

Leachman, R.D. & Yow, E.M. (1958):

The epidemiology of psittacosis and report of a turkey-borne outbreak.

American Medical Association, Archives of International Medicine, 102, 537-543.

Lebensmittel- und Bedarfsgegenständegesetz (LMBG):

Vom 8. Juni 1993 (BGBl. I S. 1169), zuletzt geändert durch Zweites Gesetz zur Änderung des LMBG vom 25.11.1994 (BGBl. I S 3538).

Lederer, P. & Müller, R. (1999):

Ornithose – Untersuchungen im Zusammenhang mit einem Ausbruch.

Gesundheitswesen, 61, 614-619.

Lee, C.K., Bowie, W.R. & Alexander, E.R. (1978):

In vitro assays of the efficacy of antimicrobial agents in controlling *Chlamydia trachomatis* propagation.

Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 13, 441-445.

Lehnert, Ch. (1962):

Zur Frage der Übertragung des Ornithosevirus über das Brutei bei Enten.

Berliner und Münchner Tierärztliche Wochenschrift, 75, 151-152.

Leibowitz, L. (1989):

Chlamydiosis: an newly reported serious disease of larval and postmetamorphic bay scallops (*Argopecten irradians*).

Journal of Fish Diseases, 12, 125-136.

Levinthal, W. (1930):

Die Ätiologie der Psittakosis.
Klinische Wochenschrift, 9, 654.

Lillie, R.D. (1930):

Psittacosis: Rickettsia-like inclusions in man and in experimental animals.
Public Health Report, 45, 173.

Lin, H.S. & Moulder J.W. (1966):

Pattern of response to sulfadiazine, D-cycloserin and D-alanine in members of the psittacosis group.
Journal of Infectious Diseases, 116, 372-376.

Linackers, M. (1998):

Bruteidesinfektion mit Formaldehyd.
Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades beim Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen.

Lindenstruth, H. (1992):

Feldversuch zur Wirksamkeits- und Verträglichkeitsprüfung von Baytril bei importierten Psittaziden im Rahmen der staatlichen Psittakoseprophylaxe und Therapie.
Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades beim Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen.

Machiavello, A.M. (1937):

Estudios sobre tifos exantimatico. II. Un nuevo método para tenir Rickettsia.
Revista Chilena Higiene, I, 101-106.

Malkinson, M., Machany, S., Aronovici, A., Davidiv, K. & Weismann, Y. (1987):

Mixed infection with *Chlamydia psittaci*, fowlpox virus and *Haemophilus gallinarum* in broiler breeder chicks.
The Veterinary Record, 120, 461-462.

Malottki von, K. (1995):

Nachweismethoden von *Chlamydia psittaci* in der Diagnostik und der epidemiologischen Zusammenhang aviärer und menschlicher Ornithosefälle – eine Literaturstudie -

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doctor Medicinae Veterinariae durch die Tierärztliche Hochschule Hannover.

Manke, H, Müller, R., Huke, M. & Lederer, P. (2000):

Ornithoseausbruch in einer Geflügelschlachtereier: Erkenntnisse für den Arbeitsschutz. Der Betriebsarzt, Arbeitsmedizin, Sozialmedizin, Umweltmedizin, 35, 3, 120-124.

Marre, R & Hahn, H. (2000):

Chlamydien. In: klinische Infektiologie. Urban und Fischer, Wien, S. 441-450.

MBI Fermentas (2000):

Protocol for PCR.

McClenaghan, M., Herring, A.J., Aitken, I.D. & Honeycombe, I.D. (1986):

Some comparative biochemical studies on *Chlamydia psittaci* strains of ovine and avian origin. In: Chlamydial diseases of ruminants. Eds. I.D. Aitken. Commission of the European Communities, S. 139-147.

McElnea, C.L. & Gross, G.M. (1999):

Methods of detection of *Chlamydia psittaci* in domesticated and wild birds. Australian Veterinary Journal, 77, 516-521.

Medac GmbH (1994):

Gebrauchsinformation zum Chlamydia-Antigen-VET-IFT.

Meissler, M. (1980):

Untersuchung zum Nachweis von Chlamydien in der Zellkultur.

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades beim Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen.

Meissler, M. & Krauss, H. (1980):

Zur Technik der Isolierung und Züchtung von Chlamydien in der Zellkultur.
Fortschritte in der Veterinärmedizin, 30, 224-230.

Messmer, T.O., Skelton, S.K., Moroney, J.F., Daugharty, H. & Fields, B.S. (1997):

Application of a nested, multiplex PCR to psittacosis outbreaks.
Journal of Clinical Microbiology, 35, 2043-2046.

Meyer, K.F. (1941):

Phagocytosis and immunity in psittacosis.
Schweizerische Medizinische Wochenschrift, 71, 436-438.

Meyer, K.F. (1952):

Ornithosis and psittacosis. In: Diseases of Poultry. 3th Edition. Eds. Biester, H.E & Schwarte, L.H.. Ames: Iowa State University Press, S. 569-618.

Meyer, K.F. & Eddie, B. (1953):

Latente Psittacoseinfektion bei Sittichen.
Zeitschrift für Infektionskrankheiten der Haustiere, 44, 237-242.

Meyer, K.F. (1967):

The host spectrum of Psittacosis-Lymphogranuloma venerum (PL) agents.
American Journal of Ophthalmology, 63, 1225-1246.

Milon, A., Geral, M., Pellerin, J.L., Thiese, I., & Lautie, L. (1983):

Enquete sur le portage et l'excretion de *Chlamydia psittaci* par les pigeons semi-domestiques (*Columbia livia*) de l'agglomeration Toulousaine.
Revista Médecine Vétérinaire, 134, 559-565.

Moore, F.M., McMillan, M.C., Maergaret, L. & Petrak, M.L. (1991):

Comparison of culture, peroxidase-antiperoxidase reaction and serum latex agglutination methods for diagnosis of chlamydiosis in pet birds.
Journal of American Veterinary Medical Association, 199, 71-73.

Morange, A. (1895):

De la psittacose, ou infection spéciale déterminée par des perruches.

Thèse, Academie de Paris.

Moroney, J.F., Guevara, R., Iverson, C., Chen, F.M., Skelton, S.K., Messmer, T.O., Plikaytis, B., Williams, P.O., Blake, P. & Butler, J.C. (1998):

Detection of chlamydiosis in a shipment of pet birds, leading to recognition of an outbreak of clinically mild psittacosis in humans.

Clinical Infectious Diseases, 26, 1425-1429.

Moulder, J.W. (1966):

The relation of the psittacosis group (chlamydiae) to bacteria and virus.

Annual Review of Microbiology, 20, 107-130.

Moulder, J.W. (1984):

Chlamydiales. In: Bergery's Manual of Systematic Bacteriology. Eds. N.R. Krieg & M.D. Baltimore. Baltimore/London: Williams & Wilkins, S. 729-739.

Mourad, A. (1980):

Relative resistance to erythromycin in *Chlamydia trachomatis*.

Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 18, 696-698.

Mutschmann, F. (1998a):

Nachweis von *Chlamydia psittaci*-Infektionen bei Amphibien mittels eines spezifischen Immunfluoreszenztests.

Berliner und Münchner Tierärztliche Wochenschrift, 111, 187-189.

Mutschmann, F. (1998b):

Erkrankungen der Amphibien.

Paul Parey Verlag, Berlin und Hamburg, S. 241-242.

Newcomer, C.E., Anver, M.R., Simmons, I.L., Wilcke, B.W. & Nace, G.W. (1982):
Spontaneous and experimental infections of *Xenopus laevis* with *Chlamydia psittaci*.
Laboratory Animal Science, 32, 680-686.

Newhall, W.J. & Jones, R.B. (1983):
Disulfide-linked oligomers of the major outer membrane protein of chlamydiae.
Journal of Bacteriology, 154, 998-1001.

Newman, J.A. (1989):
Chlamydia spp. infection in turkey flocks in Minnesota.
Journal of American Veterinary Medical Association, 195, 1528-1530.

Newton, C.R. & Graham, A. (1997):
PCR. In: Labor im Fokus. 2. Auflage. Spektrum, Akademischer Verlag Heidelberg,
Berlin, Oxford, S. 27-46.

Nicoleit, J. (1985):
Chlamydia. In: Kompendium der veterinärmedizinischen Bakteriologie. Hrsg.
Nicoleit, J., Paul Parey Verlag, Berlin und Hamburg, S. 247-254.

Nocard, E. (1893):
Publications du conseil d'hygiène publique et de salubrité du département de la
Seine, séance du mars, 1893, Chaix, Paris.

Ohl, L. & Förster, R. (2000):
Die Grundlagen der Polymerase Kettenreaktion. In: PCR-Methoden und
Anwendungen, 13./14.10.00 Justus-Liebig-Universität, Gießen, S. 1-12.

Olsen, B., Persson, K., & Broholm, K.A. (1998):
PCR detection of *Chlamydia psittaci* in faecal samples from passerine birds in
Sweden.
Epidemiology and Infection, 121, 481-484.

Otto, H. (1961):

Über Ornithosepneumonien bei Geflügelrupferinnen (Übertragung durch Hühner).
Zeitschrift für die gesamte Innere Medizin und ihre Grenzgebiete, 16, 377-385.

Ouzounis, D. & Rossner, D. (1992):

Reinigung in der Lebensmittelindustrie.
ZFL, 43, 588-599.

Page, L.A. (1959):

Experimental ornithosis in turkeys.
Avian Diseases, 3, 51-66.

Page, L.A. (1959b):

Thermal inactivation studies on a turkey ornithosis virus.
Avian Diseases, 3, 67-79.

Page L.A. (1960):

Ecologic considerations in turkey ornithosis.
American Journal of Veterinary Research, 21, 618-623.

Page, L.A. (1966):

Revision of the family Chlamydiaceae Rake (Rickettsiales): Unification of genus
Chlamydia Jones, Rake and Stearns 1945.
International Journal of Systematic Bacteriology, 16, 223-253.

Page, L.A. (1968):

Proposal for the recognition of two species in the genus Chlamydia Jones, Rake and
Stearns, 1945.
International Journal of Systematic Bacteriology, 18, 51-66.

Page, L.A. (1971):

Influence of temperature on the multiplication of chlamdiae in chicken embryos.
Trachoma and Related Disorders. Eds. Nichols, R.L.. Excerpta Medica, Amsterdam
and New York, 223, 40-51.

Page, L.A. (1974):

Chlamydiales. In: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 8th Edition. Eds.
R.E. Buchanan & N.E. Gibbons. The Williams & Wilkins Company, Baltimore, S.
914-928.

Page, L.A., Derieux, W.T. & Cutlip, R.C. (1975):

An epornitic of fatal Chlaymdiosis (Ornithosis) in South Carolina turkeys.
Journal of American Veterinary Medical Association, 166, 175-178.

Page, L.A. & Grimes, J.E. (1978):

Avian Chlamydiosis (Ornithosis). In: Diseases of Poultry. 7th Edition. Eds. Hofstad,
M.S., Calnek, B.W., Helmboldt, C.F., Reid, W.M. & Yoder Jr., H.W.. Ames: Iowa
State University Press, S. 337-366.

Page, L.A. & Grimes, J.E. (1984):

Avian Chlamydiosis (Ornithosis). In: Diseases of Poultry. 8th Edition. Eds. Hofstad,
M.S., Barnes, H.J., Calnek, B.W., Yoder W.M. & Yoder Jr., H.W.. Ames: Iowa State
University Press, S. 283-308.

Palmer, D.G., Forshaw, D. & Wyle, S.L. (1988):

Demonstration of *Chlamydia psittaci* in smears and paraffin tissue sections using a
fluoresceine isothiocyanat labelled monoclonal antibody.
Australian Veterinary Journal, 65, 98-99.

Paul, I.D. (1982):

The growth of chlamydia in McCoy cells treated with emetine.
Medical Laboratory Sciences, 39, 15-32.

Perez-Martinez, J.A. & Storz, J. (1985):

Bovine chlamydial abortion: serodiagnosis by modified complement-fixation and indirekt inclusion fluorescence tests and enzyme-linked immunosorbent assay.
American Journal of Veterinary Research, 47, 1501-1506.

Peter, W. & Graede, W. (2000):

Spezifität eines Chlamydien-Antigen-ELISA im Vergleich mit Zellkulturanzucht und PCR. In: Workshop Chlamydiendiagnostik, Bekämpfung bakterieller Infektionen – eine ständige Aufgabe des gesundheitlichen Verbraucherschutzes, BgVV, 12./13. September 2000.

Popov, G.V. & Martinov S.P. (1982):

Electron microscopy diagnostics of chlamydiae in animals, birds and man.
Doklady Bolgarskoi Akademii Nauk, 35, 561-564.

Potter, M.E. & Kaufmann, A.F. (1979):

Psittacosis in humans in United States, 1975-1977.
Journal of Infectious Diseases, 140, 131-134.

Pschyrembel (1994):

Klinisches Wörterbuch. 257. Auflage. Verlag Walter de Gruyter, Berlin, New York.

Qiagen (1999):

QIAamp DNA Blood Mini Kit[®] Handbook & Dneasy[™] Tissue Kit[®] Handbook.

RFL - Rundschau für Fleischhygiene und Lebensmittelüberwachung (2003):

Geflügelfleischerzeugung in Deutschland 2002 weiter gestiegen.
M & H Schaper, Alfeld, 04/2003, 78.

Rhyne, J.A., Hunter, L., States, C., Meriwether, R.A. & MacCormack, J.N. (1990):

Psittacosis in a turkey processing plant – North Carolina, 1989.
Morbidity and Mortality Weekly Report, 39, 467-469.

Ridgway, G.L., Owen, G.M. & Oriol, J.D. (1978):

The antimicrobial susceptibility of *Chlamydia trachomatis* in cell culture.
British Journal of Venereal Diseases, 54, 103-106.

Rindge, M.E, Jungherr, E.L. & Seruggs, J.H. (1959):

Serologic evidence of occupational psittacosis in poultry-plant workers.
New England Journal of Medicine, 260, 24, 1214-1218.

Ripa, K.T. & Mårdt, P.-A. (1977):

Cultivation of *Chlamydia trachomatis* in cycloheximide-treated McCoy cells.
Journal of Clinical Microbiology, 6, 328-331.

Ritter, J. (1879):

Beitrag zur Frage des Pneumotyphus.
Deutsches Archiv für klinische Medizin, 25, 53-96.

Roberts, J.P. & GRIMES, J.E. (1978):

Chlamydia shedding by four species of wild birds.
Avian Diseases, 22, 698-706.

Roensholt, L. (1981):

A modified isolation technique for *Chlamydia psittaci* in L-Cells treated with cycloheximide and glucocorticoid.
Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica, B 89, 13-23.

Rolle, M. und Mayr, A. (1993):

Chlamydia. In: Rolle/Mayr: Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre. 6. Auflage. Hrsg. Mayr, A., Gedek, B., Kaaden, O.-R. & Mahnel, H. Enke Verlag, Stuttgart, S. 679-690.

Ryll, M., Hinz, K.-H., Neumann, U. & Behr, K.-P. (1994):

Pilotstudie über das Vorkommen von *Chlamydia psittaci*-Infektionen in kommerziellen Putenherden Niedersachsens.

Deutsche Tierärztliche Wochenschrift, 101, 163-165.

Ryll, M., Hinz, K.-H. & Neumann, U. (1994b):

Untersuchungen zum Nachweis von Antikörpern gegen *Chlamydia psittaci* beim Wirtschaftsgeflügel mit Hilfe eines kommerziellen ELISA-Systems. In:

Referatesammlung zum 46. Fachgespräch über Geflügelkrankheiten, Hannover, 26./27. Mai 1994, S. 94-108.

Sachse, K. & Hotzel, H. (2000):

Molekulargenetische Grundlagen der Artendifferenzierung in der Familie Chlamydiaceae. In: Workshop Chlamydiendiagnostik, Bekämpfung bakterieller Infektionen – eine ständige Aufgabe des gesundheitlichen Verbraucherschutzes, BgVV, 12./13. September 2000.

Sachse, K. & Hotzel, H. (2000a):

Chlamydia und Chlamydophila.

Molekularbiologische Nachweismethoden ausgewählter Zoonoseerreger. Hrsg. K. Sachse & P. Gallien. BgVV Hefte, 02/2000, 29-40.

Sachse, K. (2002):

Tiergesundheitsjahresbericht 2000 (Stand: Februar 2002).

2. Jahrgang 2002 Bundesministerium für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft, S. 62-64.

Saiki, R.K., Gelfand, D.H., Stoffel, S., Scharf, S.J., Higuchi, R., Horn, G.T., Mullis, K.B. & Erlich, H.A. (1988):

Primer directed enzymatic amplification of DNA with thermostabile DNA polymerase.

Science, 239, 487-491.

Salisch, H., von Malottki, K., Ryll, M. & Hinz, K.-H. (1996):

Chlamydial infections of poultry and human health.

World's Poultry Science Journal, 52, 279-308.

Satalowich, F.T., Barrett, L., Sinclair, C., Smith, K.A. & Williams, L.P. (1994):

Kompendium of chlamydiosis (psittacosis) control.

Journal of American Veterinary Medical Association, 203, 1673-1680.

Schachter, J. & Caldwell, H.D. (1980):

Chlamydiae.

Annual Review of Microbiology, 34, 285-309.

Schiefer, H.G. & Krauss, H. (1982):

Zellbiologie der Chlamydien.

Labor-Medizin, 51, 51-53.

Schleuter, G. (2000):

Ergebnisse der Hygieneuntersuchungen gemäß der niedersächsischen Ausführungshinweise in Geflügelschlacht- und Zerlegebetrieben. In: Tierärztliche Überwachung der Geflügelfleischproduktion. BgVV Seminar Berlin, 29/30. November 2000, S. 116-132.

Schmatz, H.-D., Schmatz, S., Weber, A. & Sailer, J. (1977)

Seroepidemiologische Untersuchungen zum Vorkommen von Chlamydien bei Haus- und Wildtieren.

Berliner und Münchner Tierärztliche Wochenschrift, 90, 74-76.

Schneider, W. (1986):

Untersuchungen zur Beeinflussung der Tenazität von Chlamydien in "Konservierungsmedien" bei Temperaturen über und unter 0°C.

Inaugural- Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades beim Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen.

Schobries, H.D., Schulze, L., Rott, M. & Reetz, G. (1987):

Ornithose. In: Geflügelkrankheiten. Federführung: Schobries, H. D.
Karger Verlag, Basel, S. 119-120.

Scholz, S.R. (1978):

Die Verbreitung, Bedeutung und diagnostische Nachweisbarkeit von
Chlamydieninfektionen bei Tieren (mit Ausnahme der Vögel).
Veterinärmedizinische Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover, Germany.

Schütt-Abraham, I. (1997):

Reinigung und Desinfektion. In: Tierärztliche Überwachung betrieblicher
Eigenkontrollen und ihre Dokumentation. BgVV-Seminar Berlin. 11./12. November
1997, S. 67-84.

Schütt-Abraham, I. (2000):

Überwachung der betrieblichen Eigenkontrollen (GfLHV). In: Tierärztliche
Überwachung der Geflügelfleischproduktion. BgVV-Seminar Berlin.
29./30. November 2000, S. 92-110.

Schütt-Abraham, I. (2000a):

Beanstandungen der Schlacht- und Betriebshygiene. In: Tierärztliche Überwachung
der Geflügelfleischproduktion. BgVV-Seminar Berlin. 29./30. November 2000, S.
111-115.

Seidler, D. (1998):

Fleischgewinnung/Frischfleisch. In: Lebensmittelsicherheit HACCP in der Praxis.
Hrsg. H.-J. Sinell & H. Meyer. Behr's Verlag, Hamburg, S. 175-210.

Selbitz, H.J. (1992):

Chlamydiales. In: Lehrbuch der veterinärmedizinischen Bakteriologie, Fischer
Verlag, Jena, S. 251-256.

Shewen, P.E. (1980):

Chlamydial infection in animals: a review.
The Canadian Veterinary Journal, 21, 2-11.

Siemers, N.E. (1999):

Die nested PCR zur Diagnostik und Differenzierung von *Chlamydia psittaci* und *Chlamydia pneumoniae* in Untersuchungsmaterialien von Vögeln und Menschen.
Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades beim Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen.

Sompolsky, D. & Richmond, S.J. (1974):

Growth of *Chlamydia trachomatis* in McCoy cells treated with cytochlasin B.
Applied and Environmental Microbiology, 28, 912-914.

Spears, P. & Storz, J. (1979a):

Biotyping of *Chlamydia psittaci* based on inclusion morphology and response to diethylaminoethyl-dextran and cycloheximide.
Infection and Immunity, 24, 224-232.

Spears, P. & Storz, J. (1979b):

Chlamydia psittaci: growth characteristics and enumeration of serotypes 1 and 2 in cultured cells.
Journal of Infectious Diseases, 140, 959-967.

Sprockhoff von, H. (1980):

Zur Tenazität von Chlamydien und *Coxiella burnetti*.
Deutsche Tierärztliche Wochenschrift, 87, 273-275.

Stamp, J. T., McEwen, A.D., Watt, J.A.A. & Nisbet, D.I. (1950):

Enzootic abortion in ewes. I. Transmission of the disease.
The Veterinary Record, 62, 251-264.

Stelzner, A., Urbach, H., Müller, W., Weller, E. & Talaska, W. (1972):

Über eine verdeckte Ornithose-Epidemie im Bezirk Gera.

Deutsches Gesundheitswesen, 27, 763-768.

Stille, W. & Just-Nübling, G. (1997):

Ist die Arteriosklerose eine Infektionskrankheit durch *Chlamydia pneumoniae*?

Epidemiologisches Bulletin, 8/97, 51-52.

Storey, C.C., Lusher, M., Yates, P. & Richmond, S.J. (1993):

Evidence for *Chlamydia pneumoniae* of non-human origin.

Journal of General Microbiology, 139, 2621-2626.

Storz, J., Call, J.W. & Miner, M.L. (1963):

Meningo-encephalitis in young chickens resulting from infection with an ornithosis agent.

Avian Diseases, 7, 480-494.

Storz, J. (1971):

Chlamydia and Chlamydia-induced diseases. In: Charles C. Thomas-Publisher. Springfield, Illinois, S. 169-194.

Storz, J. & Page, L.A. (1971):

Taxonomy of Chlamydiae. Reasons for classifying organisms of the genus

Chlamydia, family Chlamydiaceae, in a separate order, Chlamydiales ord. nov.

International Journal of Systematic Bacteriology, 21, 332-334.

Storz, J., & Spears, P. (1977):

Chlamydiales: properties, cycle of development and effect on eucaryotic host cells.

Current Topics in Microbiology and Immunology, 76, 167-214.

Storz, J. & Krauss, H. (1985):

Chlamydia. In: Handbuch der bakteriellen Infektionen bei Tieren. Hrsg. H. Blobel & T. Schliesser. Gustav Fischer Verlag Stuttgart, New York, Band V. S. 447-531.

Strauss, J. (1967):

Microbiologic and epidemiologic aspects of duck ornithosis in Czechoslovakia.
American Journal of Ophthalmology, 63, 1246-1259.

Su, H., Watkins, N.G., Zhang, Y.-X. & Caldwell, H.D. (1990):

Chlamydia trachomatis-host cell interactions: role of the chlamydial major outer
membran protein as an adhesin.
Infection and Immunity, 58, 1017-1025.

**Süss, A., Reetz, J., Schulze, P., Kretschmar, M., Schirrmeister, W. & Süss, J.
(1996):**

Schwerer Verlauf einer Ornithose und ihre intensivmedizinische und diagnostische
Problematik – eine Kasuistik.
Anästhesiologie und Reanimation, 21, 97-102.

Suwa, T., Ando, S., Hashimoto, N. & Itakura, C. (1990):

Pathology of experimental chlamydiosis in chicks.
Nippon Juigaku Zasshi, 04/90, 52, 275-283.

Taday, E.M.A. (1998):

Organveränderungen und Erregernachweise nach Infektionen mit *Chlamydia* sp.
beim Vogel unter besonderer Berücksichtigung des aviären Wirtsspektrums.
Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades beim Fachbereich
Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen.

Tappe, J.P., Andersen, A.A., Cheville, N.F. (1989):

Respiratory and pericardial lesions in turkeys infected with avian or mammalian
strains of *Chlamydia psittaci*.
Veterinary Pathology, 26, 386-395.

Tessler, J., Stone, S.S. & Page, L.A. (1979):

Direct immunofluorescence tests with counterstains for detection of *Chlamydia psittaci* in infected avian tissues.

Canadian Journal of Comparative Medicine, 43, 217-222.

Theuretzbacher, U. & Seewald, M. (1999):

Chlamydien. In: Mikrobiologie im klinischen Alltag, S. 67-69.

Tierseuchengesetz (1995):

Vom 20. Dezember 1995, zuletzt geändert am 22. Dezember 1997.

Timms, P., Eaves, F.W., Rodwell, B.J. & Lavin, M.F. (1988):

Comparison of DNA-spot hybridization, cell culture and direkt immunofluorescence staining for the diagnosis of avian chlamydiae.

Veterinary Microbiology, 18, 15-25.

Treharne, J.D., Day, J., Yeo, C.K., Jones, B.R. & Squires, S. (1977):

Susceptibility of Chlamydiae to chemotherapeutic agents. In: Nongonococcal urethritis and related infections. Eds. Hobson, D. & Holmes, K.K.. American Society for Microbiology, Washington D.C..

Tribby, I.I.E., Friis, R.R. & Moulder, J.W. (1973):

Effect of chloramphenicol, rifampicin and nalidixic acid on *Chlamydia psittaci* growing in L-cells.

Journal of Infectious Diseases, 127, 155-163.

Unkrig, S. (1993):

Chlamydiendiagnostik mit Hilfe der BGM-Zellkultur und zwei Immunfluoreszenzmethoden bei Puten und Hühnern. In: Schriftreihe der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft, Tagungsbericht der Internationalen Fachtagung über Geflügelkrankheiten, Potsdam, 08/93, S. 249-258.

Unkrig, S. (1995):

Vergleichende Untersuchung über den Nachweis von *Chlamydia psittaci* bei Psittaziden, Tauben, Puten und Hühnern mittels BGM-Zellkultur (mit GIMÉNEZ-Färbung), direkter Immunfluoreszenz an Probenmaterial sowie nach Anzucht mit anschließender Immunfluoreszenz.

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades beim Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen.

Vanrompay, D. (1992):

Serotyping of European avian *Chlamydia psittaci* isolates using serovar-specific monoclonal antibodies in an mikroimmunofluorescence test.

Proceedings of the Sixth International Symposium World Association Veterinary Laboratory Diagnosticians, Lyon, France, 28.

Vanrompay, D., Ducatelle, R. & Haesebrouck, F. (1992a):

Diagnosis of avian chlamydiosis: Sensitivity of isolation in eggs and three different cell lines as compared to direkt identification.

Berichte der VIII. DVG-Tagung über Vogelkrankheiten, München, 5./6. März 1992, S. 69-74.

Vanrompay, D., Ducatelle, R. & Haesebrouck, F. (1992b):

Diagnosis of avian chlamydiosis: Specificity of the modified Giménez staining on smears and comparison of the sensitivity of isolation in eggs and three different cell cultures.

Journal of Veterinary Medicine, B 39, 105-112.

Vanrompay, D., Ducatelle, R., Haesebrouck, F. & Hendrickx, W. (1993):

Primary pathogenicity of an European isolate of *Chlamydia psittaci* from turkey poults.

Veterinary Microbiology, 38, 103-115.

- Vanrompay, D., Andersen, A.A., Ducatelle, R. & Haesebrouck, F. (1993a):**
Serotyping of European isolates of *Chlamydia psittaci* from poultry and birds.
Journal of Clinical Microbiology, 31, 134-137.
- Vanrompay, D., Ducatelle, R. & Haesebrouck, F. (1994):**
Pathogenicity of turkeys of *Chlamydia psittaci* strains belonging to the avian serovars A, B and D.
Avian Pathology, 23, 247-262.
- Vanrompay, D., de Meurichy, W., Ducatelle, R. & Haesebrouck, F. (1994a):**
Pneumonia in Moorish tortoises (*Testudo graeca*) associated with avian serovar A, *Chlamydia psittaci*.
The Veterinary Record, 135, 284-285.
- Vanrompay, D., van Nerom, A., Ducatelle, R. & Haesebrouck, F. (1994b):**
Evaluation of five immunoassays for detection of *Chlamydia psittaci* in cloacal and conjunktival specimens from turkeys.
Journal of Clinical Microbiology, 32, 1470-1474.
- Vanrompay, D., Ducatelle, R. & Haesebrouck, F. (1995):**
Pathology of experimental chlamydiosis in turkeys.
Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift, 64, 19-24.
- Vanrompay, D., Ducatelle, R. & Haesebrouck, F. (1995a):**
Chlamydia psittaci infections: a review with emphasis on avian chlamydiosis.
Veterinary Microbiology, 45, 93-119.
- Vanrompay, D., Butaye, P., van Nerom, A., Ducatelle, R. & Haesebrouck, F. (1997):**
The prevalence of *Chlamydia psittaci* infections in Belgian commercial turkey poults.
Veterinary Microbiology, 54, 85-93.

Vanrompay, D., Cox, E., Volckaert, G., & Goddeeris, B. (1999):

Turkeys are protected from infection with *Chlamydia psittaci* by plasmid DNA vaccination against the major outer membran protein.

Clinical Experimental Immunology, 118, 49-55.

Vanrompay, D., Vanlook, M., Cox, E., Goddeeris, B. & Volckaert, G. (2001):

Gene immunization for *Chlamydia psittaci*.

Verhandlungen Königlichen Akademie for Geneeskunde Belgium, 63, 177-188.

Vanrompay, D., Cox, E., Kaiser, P., Lawson, S., van Loock, M., Volckaert, G., & Goddeeris, B. (2001a):

Protection of turkeys against *Chlamydophila psittaci* challenge by parenteral and mucosal inoculations and the effect of turkey interferon- γ on genetic immunization.

Immunology, 103, 106-112.

Verordnung zum Schutz gegen die Psittakose und Ornithose (Psittakose-VO) (1991):

Vom 14. November 1991, zuletzt geändert am 14. Oktober 1999.

Verordnung über meldepflichtige Tierkrankheiten (2001):

Vom 11. April 2001.

Verordnung zum Schutz von Tieren im Zusammenhang mit der Schlachtung oder Tötung (Tierschutz-Schlacht-Verordnung) (1997):

Vom 3. März 1997, zuletzt geändert am 25. November 1999.

Wachendörfer, G. (1970):

Zur Epidemiologie, Chemoprophylaxe und Therapie der Psittakose.

Deutsche Tierärztliche Wochenschrift, 77, 382-385.

Wachendörfer, G. (1984):

Auftreten und Bekämpfung der Psittakose/Ornithose in der Bundesrepublik Deutschland.

Tierärztliche Praxis, 12, 455-467.

Wang, S.P., Kuo, C.C., Barnes, R.C., Stephens, R.S. & Grayston, J.T. (1985):

Immunotyping of *Chlamydia trachomatis* with monoclonal antibodies.

Journal of Infectious Diseases, 152, 791-800.

Ward, M.E. (1983):

Chlamydial classification, development and structure.

British Medical Bulletin, 39, 109-115.

Ward, M.E. & Murray, A. (1984):

Control mechanism governing the infectivity of *Chlamydia trachomatis* for HeLa cells: Mechanism of endocytosis.

Journal of General Microbiology, 130, 1765-1780.

Weber, H (1996):

Betriebshygiene und Qualitätssicherung. In: Mikrobiologie der Lebensmittel – Grundlagen-. 8. Auflage. Hrsg. G. Müller & H. Weber. Behr's Verlag, Hamburg, S. 407-516.

Wehr, J. & Beer, J. (1987):

Chlamydien-Infektionen. In: Infektionskrankheiten der Haustiere. Hrsg. J. Beer. Teil I. Fischer, Jena, S. 371-389.

Weiss, E. & Dressler, H.R. (1960):

Centrifugation of Rickettsiae and viruses into cells and its effect on infection.

Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 103, 691-695.

Wentworth, B.B. & Alexander, E.R. (1974):

Isolation of *Chlamydia trachomatis* by use of 5-iodo-2-desoxyuridine treated cells.
Applied and Environmental Microbiology, 27, 912-916.

Weyer, F. (1970):

Zur Frage der Rolle von Arthropoden als Reservoir des Psittacoseerregers.
Zeitschrift Tropenmedizin und Parasitenkunde, 21, 146-153.

Wilt, P.C., Kordova, N. & Wilt, J.C. (1972):

Preliminary characterization of a chlamydial agent isolated from embryonated snow
geese eggs in northern Canada.
Canadian Journal of Microbiology, 18, 1327-1332.

Winsor, D.K., Jr. & Grimes, J.E. (1988):

Relationship between infectivity and cytopathology for L-929 cells, membrane
proteins, and antigenicity of avian isolates of *Chlamydia psittaci*.
Avian Diseases, 32, 421-431.

Wittenbrink, M.M. (1991):

Nachweis von Antikörpern gegen Chlamydien beim Schwein mit Hilfe eines
Immunfluoreszenz- und eines Enzymimmuntests.
Berliner und Münchner Tierärztliche Wochenschrift, 104, 270-275.

Wittenbrink, M.M. Mrozek, M. & Bisping, W. (1993):

Isolation of *Chlamydia psittaci* from a chicken egg: evidence of egg transmission.
Zentralblatt für Veterinärmedizin, B 40, 451-452.

Wittenbrink, M.M. (1999):

Chlamydieninfektionen in der Veterinärmedizin.
VetMedLabor-Fortbildungsveranstaltungen „Zoonosen“ 10/99.

Wolff, M. (1883):

Eine weit verbreitete thierische Mycose.

Virchow's Archiv, 92, 252-285.

Wolke, R.E., Wyand, D.S. & Khairallah, L.H. (1970):

A light electron microscopic study of epitheliocystis disease in the gills of

Conneticut striped bass (*Morone saxatilis*) and white perch (*Morone americanus*).

Journal of Comparative Pathology, 80, 559-563.

Wyrick, P.B. & Richmond, S.J. (1989):

Biology of Chlamydiae.

Journal of the American Veterinary Medical Association, 195, 1507-1512.

Yoshida, H., Kishi, Y., Shiga, S. & Hagiwara, T. (1998):

Differentiation of chlamydia species by combined use of polymerase chain reaktion and restriction endonuclease analysis.

Microbiology and Immunology, 42, 411-414.

Yuan, J., Zhang, Y.-X., Manning, D.S. & Caldwell, H.D. (1990):

Multiple tandem promoters of the major outer membrane protein gene (*omp1*) of *Chlamydia psittaci*.

Infection and Immunology, 58, 2850-2855.

9 Anhang

Nachfolgend werden für jede Schlachtereier die Probeentnahmeorte mit zugeordneten Betriebsbereichen, die angewendeten Nachweismethoden und Untersuchungsergebnisse je entnommener Probe dargestellt. Je Schlachtereier wurden drei Probeentnahmen durchgeführt (Tab. 61 bis 64).

Tabelle 61: Ergebnisse der Untersuchungen auf *Chlamydophila psittaci* in der Hähnchenschlachtereier 1.

Hähnchenschlachtereier 1		1. Pr.		2. Pr.		3. Pr.	
Betriebsbereich	Probeentnahmeort (Durchführung der Probeentnahme)	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT
Verpackungsbereich	Kalibrierfach Tierkörper (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen, Gewebwasser aufnehmen)	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
Verpackungsbereich	Kalibrierfach Tierkörper (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen, Gewebwasser aufnehmen)	<i>Chl. psittaci</i>	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
Verpackungsbereich	Abwurfach Schenkel (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen, Gewebwasser aufnehmen)	neg.	neg.	neg.	neg.	n. a.	neg.
Verpackungsbereich	Abwurfach Schenkel (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen, Gewebwasser aufnehmen)	neg.	neg.	neg.	n. a.	neg.	neg.
Verpackungsbereich	Rollband zum Transport der E1 Kästen (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)	neg.	neg.	neg.	n. a.	neg.	neg.
Verpackungsbereich	Rollband zum Transport der E1 Kästen (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)	neg.	neg.	neg.	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	neg.
Verpackungsbereich	Abwurfach Schenkel, Schutzblech über Kopfhöhe (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
Verpackungsbereich	Abwurfach Schenkel, Schutzblech über Kopfhöhe (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)	<i>Chl. psittaci</i>	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.

Hähnenschlachtereier 1		1. Pr.		2. Pr.		3. Pr.	
Betriebsbereich	Probeentnahmeort (Durchführung der Probeentnahme)	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT
Zerlegungsbereich	Brustkalibrierung, Transportband (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)	neg.	neg.	neg.	n. a.	neg.	neg.
Zerlegungsbereich	Brustkalibrierung, Transportband (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
Zerlegungsbereich	Filetierung, Schneidebrett 21.5 (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)	<i>Chl. psittaci</i>	neg.	neg.	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.
Zerlegungsbereich	Filetierung, Schneidebrett 21.3 (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
Zerlegungsbereich	Brustkalibrierung, Decke (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Kondenswasser aufnehmen)	neg.	neg.	n. a.	neg.	n. a.	Chl. sp.
Zerlegungsbereich	Brustkalibrierung, Decke (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Kondenswasser aufnehmen)	<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.	neg.	neg.	neg.	neg.
Zerlegungsbereich	Filetraum, Decke (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Kondenswasser aufnehmen)	neg.	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.	<i>Chl. psittaci</i>	neg.
Zerlegungsbereich	Filetraum, Decke (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Kondenswasser aufnehmen)	neg.	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	neg.	neg.	neg.
Ort des Einhängens/Annahme	Haken zum Einhängen der Tiere (Tupfer anfeuchten und Haken betupfern, Federn und Staub aufnehmen)	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
Ort des Einhängens/Annahme	Haken zum Einhängen der Tiere (Tupfer anfeuchten und Haken betupfern, Federn und Staub aufnehmen)	neg.	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.	neg.	neg.
Ort des Einhängens/Annahme	Haken zum Einhängen der Tiere (Tupfer anfeuchten und Haken betupfern, Federn und Staub aufnehmen)	neg.	neg.	n. a.	n. a.	<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.
Ort des Einhängens/Annahme	Haken zum Einhängen der Tiere (Tupfer anfeuchten und Haken betupfern, Federn und Staub aufnehmen)	neg.	neg.	neg.	n. a.	<i>Chl. psittaci</i>	neg.

Hähnenschlachtereier 1		1. Pr.		2. Pr.		3. Pr.	
Betriebsbereich	Probeentnahmeort (Durchführung der Probeentnahme)	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT
Büroräume (Produktionsbüro)	Zentralrechner (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
Büroräume (Produktionsbüro)	Büroschrank (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
Büroräume (Produktionsbüro)	Bildschirm (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
Zusätzlich entnommene Proben in der Hähnenschlachtereier 1:							
Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)	neg.	neg.	neg.	n. a.	n. a.	n. a.
Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)	n. a.	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	neg.	neg.	n. a.
Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)	neg.	neg.	neg.	n. a.	neg.	n. a.
Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)	neg.	neg.	n. a.	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	n. a.
Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)	n. a.	n. a.	neg.	n. a.	neg.	neg.
Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)	n. a.	n. a.	neg.	n. a.	neg.	neg.
Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)	n. a.	n. a.	neg.	n. a.	neg.	neg.

Hähnenschlachtereier 1		1. Pr.		2. Pr.		3. Pr.	
Betriebsbereich	Probeentnahmeort (Durchführung der Probeentnahme)	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT
Transportkäfige	Transportkäfige mit Tieren (Tupfer anfeuchten und zwischen den Gitterstäben ausrollen)			neg.	neg.	neg.	neg.
Transportkäfige	Transportkäfige mit Tieren (Tupfer anfeuchten und zwischen den Gitterstäben ausrollen)			neg.	neg.	neg.	neg.
Konfiskate (Sonstige)	Außenseite der Tonne (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)			neg.	n. a.	neg.	n. a.
Konfiskate (Sonstige)	Außenseite der Tonne (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)			neg.	n. a.	neg.	n. a.
Kloakenschneider (Bratfertig/Eviszeration)	Oberfläche der Maschine (Gewebwasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)			neg.	neg.	neg.	neg.
Kloakenschneider (Bratfertig/Eviszeration)	Oberfläche der Maschine (Gewebwasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)			neg.	neg.	neg.	neg.
Lebersepariersystem (Bratfertig/Eviszeration)	Transportband der Maschine (Gewebwasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)			n. a.	neg.	neg.	neg.
Lebersepariersystem (Bratfertig/Eviszeration)	Transportband der Maschine (Gewebwasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)			<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.	neg.	neg.
Innereientrennung (Bratfertig/Eviszeration)	Transportschnecke der Maschine (Gewebwasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf der Schnecke ausrollen)			neg.	n. a.	neg.	neg.
Innereientrennung (Bratfertig/Eviszeration)	Transportschnecke der Maschine (Gewebwasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf der Schnecke ausrollen)			n. a.	neg.	neg.	neg.
Innereienwäscher Leber (Bratfertig/Eviszeration)	Trockenen Tupfer in die Flüssigkeit eintauchen			neg.	neg.	neg.	neg.
Innereienwäscher Leber (Bratfertig/Eviszeration)	Trockenen Tupfer in die Flüssigkeit eintauchen			neg.	neg.	neg.	neg.

Hähnenschlachtereie 1		1. Pr.		2. Pr.		3. Pr.	
Betriebsbereich	Probeentnahmeort (Durchführung der Probeentnahme)	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT
Lungensauger (Bratfertig/ Eviszeration)	Oberfläche der Maschine (Gewebswasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)			neg.	n. a.	neg.	neg.
Lungensauger (Bratfertig/ Eviszeration)	Oberfläche der Maschine (Gewebswasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)			<i>Chl. psittaci</i>	neg.	neg.	neg.
Kunststoff- türgriffe (Sonstige)	Tür vom Verpackungsraum (weißer Bereich) zum Bratfertigraum (schwarzer Bereich), Weißer Bereich (Tupfer anfeuchten und auf Türgriff ausrollen)			neg.	neg.	neg.	neg.
Kunststoff- türgriffe (Sonstige)	Tür vom Verpackungsraum (weißer Bereich) zum Bratfertigraum (schwarzer Bereich), Schwarzer Bereich (Tupfer anfeuchten und auf Türgriff ausrollen)			neg.	neg.	neg.	neg.
Gummihand- schuhe (Filetierung) (Arbeits- geräte)	trockenen Tupfer auf Handfläche, besonders zwischen Daumen und Zeigefinger, ausrollen			neg.	neg.	neg.	neg.
Gummihand- schuhe (Filetierung) (Arbeits- geräte)	trockenen Tupfer auf Handfläche, besonders zwischen Daumen und Zeigefinger, ausrollen			neg.	neg.	neg.	neg.
Messer (Filetierung) (Arbeits- geräte)	trockenen Tupfer am Übergang Griff/Schneide ausrollen			neg.	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	neg.
Messer (Filetierung) (Arbeits- geräte)	trockenen Tupfer am Übergang Griff/Schneide ausrollen			<i>Chl. psittaci</i>	neg.	neg.	neg.
Kunststoff- schürzen (Bratfertig) (Arbeits- geräte)	Schürzen in der Benutzung (trockenen Tupfer auf Schürze ausrollen)			<i>Chl. psittaci</i>	<i>Chl. psittaci</i>	<i>Chl. psittaci</i>	neg.
Kunststoff- schürzen (Bratfertig) (Arbeits- geräte)	Schürzen in der Benutzung (trockenen Tupfer auf Schürze ausrollen)			neg.	neg.	neg.	neg.

Tabelle 62: Ergebnisse der Untersuchungen auf *Chlamydophila psittaci* in der Hähnenschlachtereier 2.

Hähnenschlachtereier 2		1. Pr.		2. Pr.		3. Pr.	
Betriebsbereich	Probeentnahmeort (Durchführung der Probeentnahme)	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT
Verpackungsbereich	Arbeitsfläche Verpackung Tierkörper (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen, Gewebswasser aufnehmen)	neg.	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	neg.
Verpackungsbereich	Arbeitsfläche Verpackung Tierkörper (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen, Gewebswasser aufnehmen)	<i>Chl. psittaci</i>	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
Verpackungsbereich	Arbeitsfläche Verpackung Tierkörper (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen, Gewebswasser aufnehmen)	neg.	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	n. a.	<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.
Verpackungsbereich	Arbeitsfläche Verpackung Tierkörper (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen, Gewebswasser aufnehmen)	n. a.	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.	neg.	neg.
Verpackungsbereich	Außenfläche Abwurfbehälter Schenkel (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen, Gewebswasser aufnehmen)	<i>Chl. psittaci</i>	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
Verpackungsbereich	Außenfläche Abwurfbehälter Schenkel (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen, Gewebswasser aufnehmen)	neg.	neg.	neg.	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	neg.
Verpackungsbereich	Transporthaken zur Beförderung der Verpackungskisten (Tupfer anfeuchten und Haken betupfern)	neg.	neg.	neg.	neg.	n. a.	neg.
Verpackungsbereich	Transporthaken Tierkörper (Tupfer anfeuchten und Haken betupfern)	<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.	neg.	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.
Zerlegungsbereich	Decke bzw. oberer Durchgangsrahmen Tür 1, Zerlegung Arbeitsfläche Brust (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Kondenswasser aufnehmen)	neg.	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.	<i>Chl. psittaci</i>	neg.
Zerlegungsbereich	Decke bzw. oberer Durchgangsrahmen Tür 1, Zerlegung Arbeitsfläche Brust (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Kondenswasser aufnehmen)	neg.	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.	neg.	neg.

Hähnenschlachtereier 2		1. Pr.		2. Pr.		3. Pr.	
Betriebsbereich	Probeentnahmeort (Durchführung der Probeentnahme)	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT
Zerlegungsbereich	Decke bzw. oberer Durchgangsrahmen Tür 2, Zerlegung (trockenen Tupper auf Oberfläche ausrollen, Kondenswasser aufnehmen)	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
Zerlegungsbereich	Decke bzw. oberer Durchgangsrahmen Tür 2, Zerlegung (trockenen Tupper auf Oberfläche ausrollen, Kondenswasser aufnehmen)	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
Zerlegungsbereich	Arbeitsfläche Brust (trockenen Tupper auf Oberfläche ausrollen, Gewebwasser aufnehmen)	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
Zerlegungsbereich	Arbeitsfläche Schenkel (trockenen Tupper auf Oberfläche ausrollen, Gewebwasser aufnehmen)	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
Zerlegungsbereich	Arbeitsfläche Flügel II (trockenen Tupper auf Oberfläche ausrollen, Gewebwasser aufnehmen)	n. a.	Chl. sp.	<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.	n. a.	neg.
Zerlegungsbereich	Arbeitsfläche Flügel I (trockenen Tupper auf Oberfläche ausrollen, Gewebwasser aufnehmen)	neg.	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.	neg.	neg.
Ort des Entblutens (Umgebung Blutwanne)	gekachelte Wand neben der Blutwanne (trockenen Tupper auf Oberfläche ausrollen, Kondenswasser aufnehmen)	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
Ort des Entblutens (Umgebung Blutwanne)	gekachelte Wand neben der Blutwanne (trockenen Tupper auf Oberfläche ausrollen, Kondenswasser aufnehmen)	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
Ort des Entblutens (Rupfmaschine)	Oberfläche der Maschine (trockenen Tupper auf Oberfläche ausrollen, nasse Flächen, gut wenn Federreste vorhanden sind)	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
Ort des Entblutens (Rupfmaschine)	Oberfläche der Maschine (trockenen Tupper auf Oberfläche ausrollen, nasse Flächen, gut wenn Federreste vorhanden sind)	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
Ort des Entblutens (Blutwanne)	trockenen Tupper direkt in die Blutwanne eintauchen	n. a.	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.	n. a.	n. a.
Ort des Entblutens (Blutwanne)	trockenen Tupper direkt in die Blutwanne eintauchen	neg.	n. a.	n. a.	neg.	neg.	n. a.

Hähnenschlachtereie 2		1. Pr.		2. Pr.		3. Pr.	
Betriebsbereich	Probeentnahmeort (Durchführung der Probeentnahme)	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT
Büroräume (Produktionsbüro)	Schaltpult (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
Zusätzlich entnommene Proben in der Hähnenschlachtereie 2:							
Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)	neg.	n. a.	n. a.	neg.	n. a.	n. a.
Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)	neg.	n. a.	n. a.	neg.	neg.	n. a.
Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)	neg.	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.	neg.	n. a.
Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)	neg.	n. a.	n. a.	n. a.	neg.	n. a.
Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)	neg.	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	n. a.	neg.	n. a.
Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)	neg.	n. a.	neg.	n. a.	neg.	n. a.
Transportkäfige	Transportkäfige mit Tieren (Tupfer anfeuchten und zwischen den Gitterstäben ausrollen)			<i>Chl. psittaci</i>	neg.	neg.	neg.
Transportkäfige	Transportkäfige mit Tieren (Tupfer anfeuchten und zwischen den Gitterstäben ausrollen)			neg.	neg.	neg.	neg.

Hähnenschlachtereie 2		1. Pr.		2. Pr.		3. Pr.	
Betriebsbereich	Probeentnahmeort (Durchführung der Probeentnahme)	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT
Konfiskate (Sonstige)	Außenseite der Tonne (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)			neg.	n. a.	neg.	n. a.
Konfiskate (Sonstige)	Außenseite der Tonne (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)			neg.	n. a.	neg.	n. a.
Innereien- ausnehmer (Bratfertig/ Eviszeration)	Oberfläche der Maschine (Gewebswasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)			neg.	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.
Innereien- ausnehmer (Bratfertig/ Eviszeration)	Oberfläche der Maschine (Gewebswasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)			neg.	n. a.	neg.	neg.
Leberseparier- system (Bratfertig/ Eviszeration)	Transportband der Maschine (Gewebswasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)			neg.	neg.	neg.	neg.
Leberseparier- system (Bratfertig/ Eviszeration)	Transportband der Maschine (Gewebswasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)			<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.	<i>Chl. psittaci</i>	neg.
Innereien- trennung (Bratfertig/ Eviszeration)	Transportschnecke der Maschine (Gewebswasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf der Schnecke ausrollen)			neg.	neg.	neg.	neg.
Innereien- trennung (Bratfertig/ Eviszeration)	Transportschnecke der Maschine (Gewebswasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf der Schnecke ausrollen)			neg.	neg.	neg.	neg.
Sterilisations- becken (Sonstige)	Trockenen Tupfer ins Becken eintauchen			neg.	neg.	neg.	neg.
Sterilisations- becken (Sonstige)	Oberfläche des Beckens (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)			neg.	neg.	neg.	neg.
Lungen- sauger (Bratfertig/ Eviszeration)	Oberfläche der Maschine (Gewebswasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)			<i>Chl. psittaci</i>	neg.	neg.	neg.
Lungen- sauger (Bratfertig/ Eviszeration)	Oberfläche der Maschine (Gewebswasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)			<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.	neg.	neg.
Kunststoff- türgriffe (Sonstige)	Eingang Produktionsbüro (auf Produktionsseite) (Tupfer anfeuchten und auf Türgriff ausrollen)			neg.	neg.	neg.	neg.

Hähnenschlachtereier 2		1. Pr.		2. Pr.		3. Pr.	
Betriebsbereich	Probeentnahmeort (Durchführung der Probeentnahme)	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT
Kunststofftürgriffe (Sonstige)	Eingang Produktionsbüro (auf Büroseite) (Tupfer anfeuchten und auf Türgriff ausrollen)			neg.	neg.	neg.	neg.
Kettenhandschuhe (Bratfertig) (Arbeitsgeräte)	Trockenen Tupfer auf Handfläche, besonders zwischen Daumen und Zeigefinger, ausrollen			<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.	<i>Chl. psittaci</i>	neg.
Kettenhandschuhe (Bratfertig) (Arbeitsgeräte)	Trockenen Tupfer auf Handfläche, besonders zwischen Daumen und Zeigefinger, ausrollen			neg.	neg.	neg.	neg.
Messer (Bratfertig) (Arbeitsgeräte)	Trockenen Tupfer am Übergang Griff/Schneide ausrollen			neg.	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	neg.
Messer (Bratfertig) (Arbeitsgeräte)	Trockenen Tupfer am Übergang Griff/Schneide ausrollen			neg.	neg.	neg.	neg.
Kunststoffschürzen (Einhängen) (Arbeitsgeräte)	Schürzen in Benutzung (trockenen Tupfer auf Schürze ausrollen)			neg.	neg.	neg.	neg.
Kunststoffschürzen (Einhängen) (Arbeitsgeräte)	Schürzen in Benutzung (trockenen Tupfer auf Schürze ausrollen)			neg.	neg.	neg.	neg.

Tabelle 63: Ergebnisse der Untersuchungen auf *Chlamydophila psittaci* in der Putenschlachtereier 1.

Putenschlachtereier 1		1. Pr.		2. Pr.		3. Pr.	
Betriebsbereich	Probeentnahmeort (Durchführung der Probeentnahme)	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT
Verpackungsbereich (Verpackungsraum)	Auflagefläche Waage (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)	<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.	<i>Chl. psittaci</i>	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.
Verpackungsbereich (Verpackungsraum)	Auflagefläche Waage (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)	neg.	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.	<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.
Verpackungsbereich (Verpackungsraum)	Arbeitsfläche (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
Verpackungsbereich (Verpackungsraum)	Arbeitsfläche (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)	neg.	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	n. a.	<i>Chl. psittaci</i>	neg.
Verpackungsbereich (Kommissionierung)	Auflagefläche Waage (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)	<i>Chl. psittaci</i>	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	neg.
Verpackungsbereich (Kommissionierung)	Arbeitsfläche (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)	<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.	neg.	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.
Verpackungsbereich (Kommissionierung)	Durchgangsrahmen Tür (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Kondenswasser aufnehmen)	neg.	neg.	n. a.	neg.	neg.	neg.
Verpackungsbereich (Kommissionierung)	Durchgangsrahmen Tür (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Kondenswasser aufnehmen)	neg.	neg.	neg.	n. a.	neg.	neg.
Zerlegungsbereich	Arbeitsfläche Tierkörper (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Gewebswasser aufnehmen)	neg.	neg.	neg.	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	neg.
Zerlegungsbereich	Arbeitsfläche Flügel (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Gewebswasser aufnehmen)	neg.	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.	neg.	neg.
Zerlegungsbereich	Arbeitsfläche Oberkeule (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Gewebswasser aufnehmen)	neg.	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	neg.

Putenschlachtereier 1		1. Pr.		2. Pr.		3. Pr.	
Betriebsbereich	Probeentnahmeort (Durchführung der Probeentnahme)	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT
Ort des Einhängens (Haken vor der Ständer-Säge)	Haken zum Einhängen der Tiere (Die Haken vor der Ständer-Säge waren mit Wasser abgespült. Ein anderer Ort war jedoch nicht zugänglich) (Tupfer anfeuchten und Haken betupfern)	neg.	neg.	neg.	Chl. sp.	neg.	neg.
Ort des Einhängens (Haken vor der Ständer-Säge)	Haken zum Einhängen der Tiere (Die Haken vor der Ständer-Säge waren mit Wasser abgespült. Ein anderer Ort war jedoch nicht zugänglich) (Tupfer anfeuchten und Haken betupfern)	neg.	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	neg.	neg.	neg.
Ort des Einhängens (Haken vor der Ständer-Säge)	Haken zum Einhängen der Tiere (Die Haken vor der Ständer-Säge waren mit Wasser abgespült. Ein anderer Ort war jedoch nicht zugänglich) (Tupfer anfeuchten und Haken betupfern)	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
Ort des Einhängens (Haken vor der Ständer-Säge)	Haken zum Einhängen der Tiere (Die Haken vor der Ständer-Säge waren mit Wasser abgespült. Ein anderer Ort war jedoch nicht zugänglich) (Tupfer anfeuchten und Haken betupfern)	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
Entfederungsanlage/Rupfmaschine (Brühen & Rupfen)	Oberfläche der Maschine (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, nasse Flächen, gut wenn Federreste vorhanden sind)	neg.	neg.	neg.	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	neg.
Entfederungsanlage/Rupfmaschine (Brühen & Rupfen)	Oberfläche der Maschine (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, nasse Flächen, gut wenn Federreste vorhanden sind)	neg.	neg.	neg.	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	neg.
Entfederungsanlage/Rupfmaschine (Brühen & Rupfen)	Oberfläche der Maschine (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, nasse Flächen, gut wenn Federreste vorhanden sind)	neg.	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	neg.	neg.	neg.

Putenschlachtereie 1		1. Pr.		2. Pr.		3. Pr.	
Betriebsbereich	Probeentnahmeort (Durchführung der Probeentnahme)	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT
Entfederungsanlage/Rupfmaschine (Brühen & Rupfen)	Oberfläche der Maschine (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, nasse Flächen, gut wenn Federreste vorhanden sind)	neg.	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	neg.	neg.	neg.
Büroräume (Produktionsbüro unten)	Magnettafel (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
Büroräume (Produktionsbüro unten)	Fensterrahmen (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)	<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.	<i>Chl. psittaci</i>	neg.	neg.	neg.
Büroräume (Produktionsbüro oben)	Magnettafel (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
Büroräume (Produktionsbüro oben)	Fensterrahmen (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
Zusätzlich entnommene Proben in der Putenschlachtereie 1:							
Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)	n. a.	n. a.	neg.	neg.	neg.	neg.
Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)	neg.	n. a.	neg.	n. a.	neg.	neg.
Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)	neg.	neg.	neg.	n. a.	neg.	n. a.
Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)	n. a.	neg.	neg.	neg.	neg.	n. a.
Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	n. a.
Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)	neg.	neg.	neg.	n. a.	neg.	neg.

Putenschlachtereier 1		1. Pr.		2. Pr.		3. Pr.	
Betriebsbereich	Probeentnahmeort (Durchführung der Probeentnahme)	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT
Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)	n. a.	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	n. a.	neg.	neg.
Transportkäfige	Transportkäfige mit Tieren (Tupfer anfeuchten und zwischen den Gitterstäben ausrollen)			<i>Chl. psittaci</i>	n. a.	<i>Chl. psittaci</i>	neg.
Transportkäfige	Transportkäfige mit Tieren (Tupfer anfeuchten und zwischen den Gitterstäben ausrollen)			neg.	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.
Konfiskate (Sonstige)	Außenseite der Tonne (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)			neg.	n. a.	neg.	n. a.
Konfiskate (Sonstige)	Außenseite der Tonne (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)			neg.	n. a.	neg.	neg.
Kloakenscheider (Bratfertig/Eviszeration)	Oberfläche der Maschine (Gewebwasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)			<i>Chl. psittaci</i>	n. a.	<i>Chl. psittaci</i>	neg.
Kloakenscheider (Bratfertig/Eviszeration)	Oberfläche der Maschine (Gewebwasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)			neg.	neg.	neg.	neg.
Bauchhöhlenscheider (Bratfertig/Eviszeration)	Oberfläche der Maschine (Gewebwasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)			<i>Chl. psittaci</i>	neg.	Maschine nicht genutzt	Maschine nicht genutzt
Bauchhöhlenscheider (Bratfertig/Eviszeration)	Oberfläche der Maschine (Gewebwasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)			n. a.	neg.	Maschine nicht genutzt	Maschine nicht genutzt
Lungensauger (Bratfertig/Eviszeration)	Oberfläche der Maschine (Gewebwasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)			<i>Chl. psittaci</i>	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	neg.
Lungensauger (Bratfertig/Eviszeration)	Oberfläche der Maschine (Gewebwasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)			<i>Chl. psittaci</i>	<i>Chl. psittaci</i>	neg.	neg.
Leberwäscher (Bratfertig/Eviszeration)	Trockenen Tupfer in die Flüssigkeit eintauchen			<i>Chl. psittaci</i>	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	neg.
Leberwäscher (Bratfertig/Eviszeration)	Transportband der Maschine (Gewebwasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)			<i>Chl. psittaci</i>	neg.	neg.	neg.

Putenschlachtereier 1		1. Pr.		2. Pr.		3. Pr.	
Betriebsbereich	Probeentnahmeort (Durchführung der Probeentnahme)	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT
Kunststofftürgriffe (Sonstige)	Produktionsbüro unten (Produktionsseite) (Tupfer anfeuchten und auf Türgriff ausrollen)			neg.	neg.	neg.	neg.
Kunststofftürgriffe (Sonstige)	Produktionsbüro unten (Büroseite) (Tupfer anfeuchten und auf Türgriff ausrollen)			neg.	neg.	neg.	neg.
Kettenhandschuhe (Zerlegung) (Arbeitsgeräte)	Trockenen Tupfer auf Handfläche, besonders zwischen Daumen und Zeigefinger, ausrollen			neg.	neg.	neg.	neg.
Kettenhandschuhe (Zerlegung) (Arbeitsgeräte)	Trockenen Tupfer auf Handfläche, besonders zwischen Daumen und Zeigefinger, ausrollen			neg.	neg.	neg.	neg.
Messer (Zerlegung) (Arbeitsgeräte)	Trockenen Tupfer am Übergang Griff/Schneide ausrollen			neg.	neg.	neg.	neg.
Messer (Zerlegung) (Arbeitsgeräte)	Trockenen Tupfer am Übergang Griff/Schneide ausrollen			neg.	neg.	neg.	neg.
Kunststoffschürzen (Zerlegung) (Arbeitsgeräte)	Schürzen in der Benutzung (trockenen Tupfer auf Schürze ausrollen)			neg.	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	neg.
Kunststoffschürzen (Zerlegung) (Arbeitsgeräte)	Schürzen in der Benutzung (trockenen Tupfer auf Schürze ausrollen)			neg.	neg.	neg.	neg.

Tabelle 64: Ergebnisse der Untersuchungen auf *Chlamydophila psittaci* in der Putenschlachtereier 2. Die Putenschlachtereier 2 war ein reiner Schlachtbetrieb. Eine Zerlegung und Verpackung existierte nicht, daher wurden Ersatzproben im Umhängerraum entnommen.

Putenschlachtereier 2		1. Pr.		2. Pr.		3. Pr.	
Betriebsbereich	Probeentnahmeort (Durchführung der Probeentnahme)	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT
Ausnehmer (Bratfertig/ Eviszeration)	Tür 1 oberer Durchgangsrahmen (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Kondenswasser aufnehmen)	<i>Chl. psittaci</i>	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.	<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.
Ausnehmer (Bratfertig/ Eviszeration)	Tür 1 oberer Durchgangsrahmen (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Kondenswasser aufnehmen)	neg.	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	neg.	neg.	neg.
Ausnehmer (Bratfertig/ Eviszeration)	Tür 2 oberer Durchgangsrahmen (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Kondenswasser aufnehmen)	<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.	<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.	<i>Chl. psittaci</i>	neg.
Ausnehmer (Bratfertig/ Eviszeration)	Tür 2 oberer Durchgangsrahmen (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Kondenswasser aufnehmen)	<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.	<i>Chl. psittaci</i>	n. a.	neg.	neg.
Ausnehmer/ Transportband (Bratfertig/ Eviszeration)	Transportband (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Gewebwasser aufnehmen)	<i>Chl. psittaci</i>	neg.	neg.	n. a.	neg.	neg.
Ausnehmer/ Transportband (Bratfertig/ Eviszeration)	Transportband (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Gewebwasser aufnehmen)	<i>Chl. psittaci</i>	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	neg.	neg.	neg.
Ausnehmer/ Transportband (Bratfertig/ Eviszeration)	Transportband (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Gewebwasser aufnehmen)	<i>Chl. psittaci</i>	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.	<i>Chl. psittaci</i>	neg.
Ausnehmer/ Transportband (Bratfertig/ Eviszeration)	Transportband (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Gewebwasser aufnehmen)	<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.	neg.	neg.	neg.	n. a.
Lungensauger (Bratfertig/ Eviszeration)	Oberfläche der Maschine (Gewebwasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)	<i>Chl. psittaci</i>	neg.	neg.	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	neg.

Putenschlachtereier 2		1. Pr.		2. Pr.		3. Pr.	
Betriebsbereich	Probeentnahmeort (Durchführung der Probeentnahme)	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT
Lungensauger (Bratfertig/ Eviszeration)	Oberfläche der Maschine (Gewebswasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)	<i>Chl. psittaci</i>	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.	n. a.	Chl. sp.
Lungensauger (Bratfertig/ Eviszeration)	Oberfläche der Maschine (Gewebswasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)	<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.	n. a.	neg.	neg.	neg.
Lungensauger (Bratfertig/ Eviszeration)	Oberfläche der Maschine (Gewebswasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)	<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.	<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.	<i>Chl. psittaci</i>	neg.
Umhänge- raum/Trans- portband (Umhänge- raum)	Transportband (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Gewebwasser aufnehmen)	<i>Chl. psittaci</i>	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.	<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.
Umhänge- raum/Trans- portband (Umhänge- raum)	Transportband (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Gewebwasser aufnehmen)	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
Umhänge- raum/Trans- portband (Umhänge- raum)	Transportband (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Gewebwasser aufnehmen)	<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.	neg.	neg.	neg.	neg.
Umhänge- raum/Trans- portband (Umhänge- raum)	Transportband (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Gewebwasser aufnehmen)	<i>Chl. psittaci</i>	neg.	neg.	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	neg.
Ort des Entblutens (Blutwanne)	Trockenen Tupfer direkt in die Blutwanne eintauchen	n. a.	n. a.	<i>Chl. psittaci</i>	neg.	neg.	neg.
Ort des Entblutens (Blutwanne)	Trockenen Tupfer direkt in die Blutwanne eintauchen	<i>Chl. psittaci</i>	n. a.	neg.	n. a.	neg.	n. a.
Ort des Entblutens (Blutwanne)	Trockenen Tupfer direkt in die Blutwanne eintauchen	<i>Chl. psittaci</i>	n. a.	neg.	n. a.	neg.	neg.
Ort des Entblutens (Blutwanne)	Trockenen Tupfer direkt in die Blutwanne eintauchen	<i>Chl. psittaci</i>	n. a.	<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.	<i>Chl. psittaci</i>	n. a.
Ort des Entblutens (Umgebung Blutwanne)	Tür direkt neben der Blutwanne (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Kondenswasser aufnehmen)	<i>Chl. psittaci</i>	n. a.	neg.	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	neg.

Putenschlachtereier 2		1. Pr.		2. Pr.		3. Pr.	
Betriebsbereich	Probeentnahmeort (Durchführung der Probeentnahme)	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT
Ort des Entblutens (Umgebung Blutwanne)	Tür direkt neben der Blutwanne (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Kondenswasser aufnehmen)	<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.	neg.	neg.	neg.	neg.
Ort des Entblutens (Rupfmaschine)	Wand direkt neben der Rupfmaschine (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Kondenswasser aufnehmen)	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
Ort des Entblutens (Rupfmaschine)	Wand direkt neben der Rupfmaschine (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, Kondenswasser aufnehmen)	neg.	neg.	neg.	n. a.	neg.	neg.
Rupfmaschine (Brühen & Rupfen)	Oberfläche der Maschine (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, nasse Flächen, gut wenn Federreste vorhanden sind)	<i>Chl. psittaci</i>	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
Rupfmaschine (Brühen & Rupfen)	Oberfläche der Maschine (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, nasse Flächen, gut wenn Federreste vorhanden sind)	<i>Chl. psittaci</i>	neg.	neg.	n. a.	neg.	neg.
Rupfmaschine (Brühen & Rupfen)	Oberfläche der Maschine (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, nasse Flächen, gut wenn Federreste vorhanden sind)	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
Rupfmaschine (Brühen & Rupfen)	Oberfläche der Maschine (trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen, nasse Flächen, gut wenn Federreste vorhanden sind)	neg.	neg.	neg.	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	neg.
Ort des Einhängens/Annahme	Haken zum Einhängen der Tiere (Tupfer anfeuchten und Haken betupfern, Federn und Staub aufnehmen)	neg.	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	neg.	neg.	neg.
Ort des Einhängens/Annahme	Haken zum Einhängen der Tiere (Tupfer anfeuchten und Haken betupfern, Federn und Staub aufnehmen)	<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.	<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.	neg.	neg.
Ort des Einhängens/Annahme	Haken zum Einhängen der Tiere (Tupfer anfeuchten und Haken betupfern, Federn und Staub aufnehmen)	<i>Chl. psittaci</i>	Neg.	neg.	n. a.	<i>Chl. psittaci</i>	n. a.
Ort des Einhängens/Annahme	Haken zum Einhängen der Tiere (Tupfer anfeuchten und Haken betupfern, Federn und Staub aufnehmen)	<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.	<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.	neg.	neg.

Putenschlachtereier 2		1. Pr.		2. Pr.		3. Pr.	
Betriebsbereich	Probeentnahmeort (Durchführung der Probeentnahme)	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT
Büroräume (Produktionsbüro im Erdgeschoss)	Schrank 1 direkt an der Tür (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
Büroräume (Produktionsbüro im Erdgeschoss)	Schrank 2 (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
Büroräume (Produktionsbüro im Erdgeschoss)	Schlüsselschrank (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)	neg.	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	neg.	neg.	neg.
Büroräume (Produktionsbüro im Erdgeschoss)	Computer (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)	neg.	neg.	neg.	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	neg.
Zusätzlich entnommene Proben in der Putenschlachtereier 2:							
Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)	<i>Chl. psittaci</i>	n. a.	neg.	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	n. a.
Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)	neg.	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	neg.	neg.	neg.
Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)	<i>Chl. psittaci</i>	n. a.	neg.	n. a.	n. a.	neg.
Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)	neg.	neg.	neg.	n. a.	neg.	n. a.
Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)	neg.	n. a.	neg.	neg.	neg.	n. a.
Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)	neg.	n. a.	neg.	neg.	neg.	neg.

Putenschlachtereier 2		1. Pr.		2. Pr.		3. Pr.	
Betriebsbereich	Probeentnahmeort (Durchführung der Probeentnahme)	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT
Milz (Organe)	aus dem Schlachtkörper entnehmen, von den Innereien abtrennen (bis zur nächsten Milzentnahme ca. 2 bis 3 Minuten warten)	n. a.	n. a.	neg.	n. a.	neg.	n. a.
Transportkäfige	Transportkäfige mit Tieren (Tupfer anfeuchten und zwischen den Gitterstäben ausrollen)			neg.	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	neg.
Transportkäfige	Transportkäfige mit Tieren (Tupfer anfeuchten und zwischen den Gitterstäben ausrollen)			<i>Chl. psittaci</i>	n. a.	n. a.	neg.
Konfiskate (Sonstige)	Außenseite der Tonne (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)			neg.	n. a.	<i>Chl. psittaci</i>	n. a.
Konfiskate (Sonstige)	Außenseite der Tonne (Tupfer anfeuchten und auf Oberfläche ausrollen)			neg.	n. a.	neg.	n. a.
Kettenhandschuhe (Bratfertig) (Arbeitsgeräte)	Trockenen Tupfer auf Handfläche, besonders zwischen Daumen und Zeigefinger, ausrollen			<i>Chl. psittaci</i>	neg.	<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.
Kettenhandschuhe (Bratfertig) (Arbeitsgeräte)	Trockenen Tupfer auf Handfläche, besonders zwischen Daumen und Zeigefinger, ausrollen			<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.	neg.	neg.
Lebersepariersystem (Bratfertig/Eviszeration)	Transportband der Maschine (Gewebswasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)			<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.	<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.
Lebersepariersystem (Bratfertig/Eviszeration)	Transportband der Maschine (Gewebswasser aufnehmen, trockenen Tupfer auf Oberfläche ausrollen)			<i>Chl. psittaci</i>	neg.	neg.	n. a.
Semi-automatische Innereien Trennung (Bratfertig/Eviszeration)	Trockenen Tupfer in die Flüssigkeit eintauchen			neg.	neg.	neg.	neg.
Semi-automatische Innereien Trennung (Bratfertig/Eviszeration)	Trockenen Tupfer in die Flüssigkeit eintauchen			neg.	n. a.	neg.	n. a.

Putenschlachtereier 2		1. Pr.		2. Pr.		3. Pr.	
Betriebsbereich	Probeentnahmeort (Durchführung der Probeentnahme)	PCR	IFT	PCR	IFT	PCR	IFT
Messer (Bratfertig) (Arbeitsgeräte)	Trockenen Tupfer am Übergang Griff/Schneide ausrollen			<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.	neg.	neg.
Messer (Bratfertig) (Arbeitsgeräte)	Trockenen Tupfer am Übergang Griff/Schneide ausrollen			<i>Chl. psittaci</i>	Chl. sp.	neg.	neg.
Kunststoff- türgriffe (Sonstige)	Eingang Produktion (Produktionsseite) (Tupfer anfeuchten und auf Türgriff ausrollen)			neg.	neg.	neg.	neg.
Kunststoff- türgriffe (Sonstige)	Eingang Produktion (Außenseite) (Tupfer anfeuchten und auf Türgriff ausrollen)			neg.	neg.	neg.	neg.
Kunststoff- schürzen (Bratfertig)	Schürzen in Benutzung (trockenen Tupfer auf Schürze ausrollen)			neg.	neg.	neg.	neg.
Kunststoff- schürzen (Bratfertig)	Schürzen in Benutzung (trockenen Tupfer auf Schürze ausrollen)			neg.	neg.	neg.	neg.

Chl. psittaci = *Chlamydophila psittaci*

Chl. sp. = *Chlamydophila* sp.

neg. = negativ

n. a. = nicht auswertbar

10 Danksagung

Herrn Prof. Dr. E. F. Kaleta möchte ich hiermit ganz herzlich für die Überlassung des interessanten Themas, der wissenschaftlichen Betreuung sowie der Bereitstellung von Literatur danken. Mein besonderer Dank gilt seiner stets freundlichen, offenen und hilfsbereiten Art sowie der jederzeit gewährten Unterstützung bei der Korrektur des Manuskriptes.

Weiterhin möchte ich Herrn PD Dr. H. Willems für seine fachliche Unterstützung und die ständige Hilfsbereitschaft ganz herzlich danken.

Meinen Mitdotorandinnen Gudrun Vollrath, Brigitte Bönner und Sabine Jäger möchte ich für die Begleitung und tatkräftige Unterstützung bei der Probeentnahme danken.

Weiterhin danke ich meiner Schwester Kerstin ganz herzlich für ihre Hilfe und die Durchsicht des Manuskriptes. Meinen Eltern danke ich für ihre Unterstützung und Geduld beim Zustandekommen dieser Arbeit.