

Open Access

Berl Münch Tierärztl Wochenschr 128,
117–121 (2015)
DOI 10.2376/0005-9366-128-117

© 2015 Schlütersche
Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG
ISSN 0005-9366

Korrespondenzadresse:
ute.messelhaeusser@lgl.bayern.de

Eingegangen: 13.10.2014
Angenommen: 05.12.2014

Online first: 31.12.2014
[http://vetline.de/open-access/
158/3216/](http://vetline.de/open-access/158/3216/)

Zusammenfassung

Summary

U.S. Copyright Clearance Center
Code Statement:
0005-9366/2015/12803-117 \$ 15.00/0

Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit, Dienststellen
Erlangen und Oberschleißheim, Germany

Kultureller Nachweis thermophiler *Campylobacter* spp. in Lebensmitteln – Möglichkeiten und Grenzen der Diagnostik im Rahmen der amtlichen Überwachung

*Cultural detection of thermotolerant Campylobacter spp.
in food – potentials and limitations of diagnostic tools in
the context of official food control*

Ute Messelhäuser, Diana Thäringen, Christiane Fella, Hermann Schreiner,
Ulrich Busch, Christiane Höller

Thermophile *Campylobacter* spp. zählen zu den wichtigsten lebensmittelübertragenen Infektionserregern in Deutschland. Somit besteht auch im Bereich der Lebensmittelmikrobiologie die Notwendigkeit für schnelle und routinetaugliche Nachweisverfahren. Ein zuverlässiger, kultureller, qualitativer, aber auch quantitativer Nachweis thermophiler *Campylobacter* spp. stellt allerdings nach wie vor, zumindest bei einigen Lebensmittelmatrizes, eine diagnostische Herausforderung dar, insbesondere da bei Untersuchungen im Rahmen der amtlichen Lebensmittelüberwachung für einen aussagekräftigen Befund ein kultureller Erregernachweis erfolgen muss. Am Bayerischen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL) wurden deshalb in den vergangenen Jahren neben dem derzeit aktuell gültigen Standardnachweisverfahren ISO 10272:2006 unterschiedliche kulturelle Nachweise in Kombination mit entsprechenden molekularen und immunologischen Screeningverfahren auf ihre Tauglichkeit in der Routinediagnostik an unterschiedlichen Lebensmittelmatrizes tierischen und pflanzlichen Ursprungs getestet. Die Ergebnisse dieser Vergleichsuntersuchungen zeigen, dass keine der getesteten Selektivanreicherungen bei natürlich kontaminierten Proben einen vollständig zufriedenstellenden, ausschließlich kulturbasierten Nachweis thermophiler *Campylobacter* spp. bei allen getesteten Lebensmittelmatrizes erlaubt. Die Kombination des kulturellen Nachweises mit einem entsprechenden Screeningverfahren für einen schnellen und zuverlässigen, kulturbasierten Nachweis ist daher nach der derzeit vorliegenden Datenlage zu empfehlen. Dabei muss man sich aber bewusst sein, dass die Sensitivität der molekularen und immunologischen Screeningverfahren in der Regel so hoch liegt, dass bei einem Teil der im Screening positiven Proben, in Abhängigkeit von Matrix und Prozessierungsgrad des Lebensmittels, keine Isolierung des Erregers möglich ist.

Schlüsselwörter: Thermophile *Campylobacter* spp., kultureller Nachweis, Anreicherungsmedium

Thermotolerant *Campylobacter* spp. rank among the most important foodborne pathogens in Germany. Therefore a necessity for rapid and routinely useable detection methods exists also in the area of food microbiology. A reliable, cultural qualitative, but also quantitative detection of thermotolerant *Campylobacter* spp. pose a challenge, at least concerning special food matrices, especially because in the context of official food control the cultural detection of thermotolerant *Campylobacter* spp. is needed. This was the reason, why different cultural detection methods, beside the standard procedure of ISO 10272:2006, in combination with molecular and immunological screening methods were tested at the Bavarian Health and Food Safety Authority (LGL) during the last years for the use in routine diagnostic using different food matrices of animal and plant origin. The results of the comparative studies showed clearly that no enrichment broth tested gave completely satisfactory results for an only culture-based detection of thermotolerant *Campylobacter* spp. Considering the currently available data

the combination with a screening method is therefore recommended for a rapid and reliable detection. But in this case the user should take into account that the sensitivity of such molecular and immunological methods is normally so high that in some cases, depending on the food matrix and processing step, the isolation of the pathogen would not be possible in samples, which were positive in the screening methods.

Keywords: thermotolerant *Campylobacter* spp., culture-based detection, enrichment broth

Einleitung

Thermophile *Campylobacter* spp. und hier insbesondere *Campylobacter* (*C.*) *jejuni* und *C. coli*, zählen zu den wichtigsten lebensmittelübertragenen Infektionserregern in Europa. Im Jahr 2013 wurden dem Robert-Koch-Institut (RKI) 63 646 Erkrankungsfälle übermittelt (RKI, 2014), was einer Inzidenz von 77,77 Fällen/100 000 Einwohnern entspricht. Somit liegt die Campylobacteriose-Inzidenz ungefähr 3,4-mal höher als die im Jahr 2013 für *Salmonella*-Erkrankungen ermittelte Inzidenz (23,19 Erkrankungen/100 000 Einwohner). Ein ähnliches Bild ergibt sich für andere europäische Staaten, wie z. B. Großbritannien, wo im Jahr 2012 72 578 humane Campylobacteriose-, aber nur 8812 humane Salmonellose-Fälle erfasst wurden (EFSA und ECDC, 2014). Insgesamt verzeichnete das European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) für das Jahr 2012 europaweit 215 215 Erkrankungsfälle, die auf thermophile *Campylobacter* zurückzuführen waren (EFSA und ECDC, 2014). Auch wenn thermophile *Campylobacter* spp. inzwischen an der Spitze der lebensmittelassoziierten bakteriellen Infektionserreger stehen, heißt dies allerdings nicht, dass in den letzten Jahren ein nennenswerter Anstieg der Erkrankungszahlen zu beobachten war, vielmehr stagniert die Anzahl der Infektionen auf einem hohen Niveau. Ein wesentlicher Grund hierfür ist sicherlich darin zu sehen, dass bisher keine wirklich erfolgversprechenden Bekämpfungsstrategien für die Reduktion thermophiler *Campylobacter* spp. entlang der Lebensmittelkette, vornehmlich in den Geflügelbeständen, bestehen (u. a. Wagenaar et al., 2006; Lehner et al., 2014). Der Eintrag in die Lebensmittelkette, der nach dem derzeitigen Stand der Wissenschaft überwiegend aus dem Reservoir „Geflügel“ erfolgt, kann somit nicht reduziert bzw. minimiert werden, wie es für andere Zoonoseerreger, wie z. B. *Salmonella* spp., inzwischen erfolgreich praktiziert wird.

Ein weiterer Punkt, der einer erfolgreichen Bekämpfung thermophiler *Campylobacter* spp. auf den der Primärproduktion nachgeschalteten Stufen der Lebensmittelkette entgegensteht, ist sicherlich die Tatsache, dass ein zuverlässiger, kultureller, qualitativer, aber auch quantitativer Nachweis thermophiler *Campylobacter* spp. nach wie vor, zumindest bei einigen Lebensmittelmatrizes, eine diagnostische Herausforderung darstellt. Hier spielt insbesondere das in Abhängigkeit von den herrschenden Umweltbedingungen Auftreten sog. „viable but not culturable“ (VBNC)-Stadien eine Rolle (Kassem et al., 2013), die zwar mittels molekularbiologischer Verfahren, nicht aber klassisch kulturell nach-

gewiesen werden können (Josefsen et al., 2010). Hierbei sind u. a. Wassergehalt, pH-Wert und Salzgehalt der jeweiligen Lebensmittelmatrix von Bedeutung (Jackson et al., 2009). VBNC-Stadien führen wahrscheinlich zu einer im Vergleich zum Vorkommen wesentlich geringeren Detektionsrate im Rahmen der amtlichen Überwachungstätigkeit, da hier nach wie vor die Isolierung des Erregers für eine lebensmittelrechtliche Bewertung des Befundes benötigt wird. Deshalb ist es gerade für Untersuchungen im Rahmen der amtlichen Lebensmittelüberwachung entscheidend, durch den Einsatz optimierter Anreicherungs- sowie entsprechender Screeningverfahren den kulturellen Nachweis soweit zu verbessern, dass zumindest eine hinreichende Korrelation zwischen molekularbiologischen und kulturbasierten Ergebnissen erreicht werden kann. Vor diesem Hintergrund wurden am Bayerischen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL) in den vergangenen Jahren neben dem derzeit aktuell gültigen Standardnachweisverfahren ISO 10272:2006 unterschiedliche kulturelle Nachweisverfahren in Kombination mit entsprechenden molekularen und immunologischen Screeningverfahren auf ihre Tauglichkeit in der Routinediagnostik an unterschiedlichen Lebensmittelmatrizes tierischen und pflanzlichen Ursprungs getestet.

Material und Methoden

Material

Bei den für die vergleichenden Untersuchungen eingesetzten Lebensmitteln handelte es sich im Wesentlichen um Lebensmittel tierischen Ursprungs aber auch Lebensmittel pflanzlichen Ursprungs wurden bei der Probenauswahl berücksichtigt (Abb. 1). Die Lebensmit-

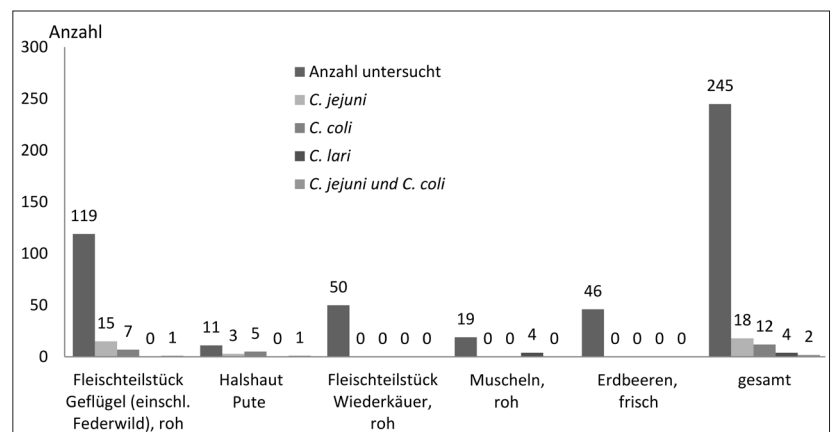


ABBILDUNG 1: Überblick über die bei den Vergleichsuntersuchungen verwendeten Lebensmittelmatrizes und isolierten thermophilen *Campylobacter* spp.

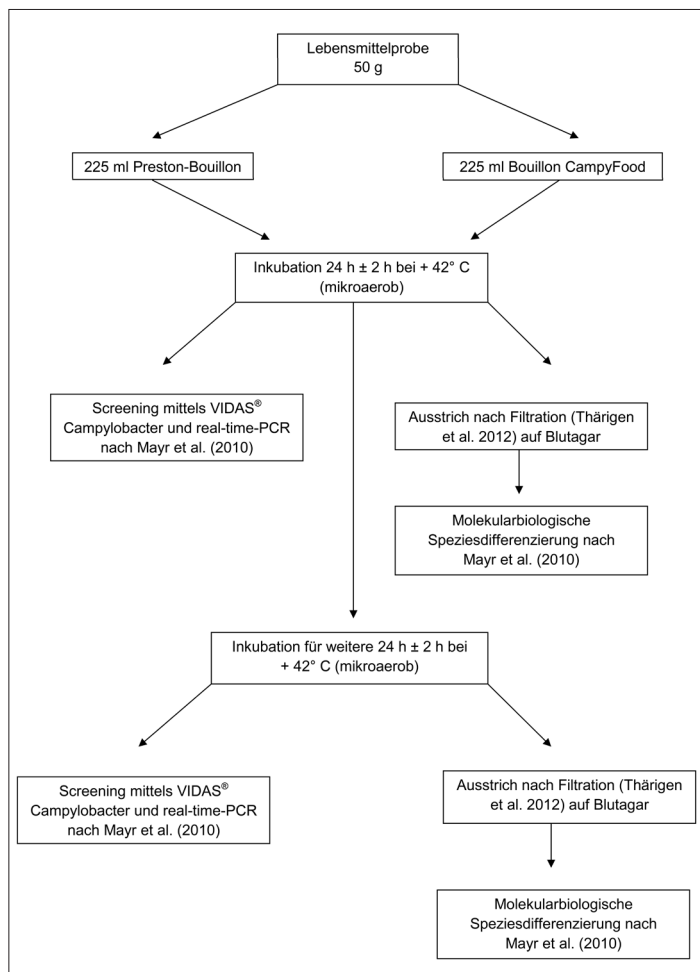


ABBILDUNG 2: Überblick über den verwendeten Untersuchungsgang.

telproben wurden im Rahmen der amtlichen Probenplananforderungen überwiegend im Groß- und Einzelhandel, ausnahmsweise auch direkt am Schlachthof (Geflügelhalshaut) entnommen. Die Auswahl der Lebensmittelgruppen erfolgte unter Berücksichtigung der in der Routinediagnostik im Rahmen der amtlichen Lebensmittelüberwachung für die Untersuchung thermophiler *Campylobacter* spp. relevanten Matrices, sodass der Schwerpunkt auf der Untersuchung roher Fleischstücke unterschiedlicher Haus- und Wildgeflügelspezies lag. Allerdings wurden auch andere Matrices, wie rohe Fleischstücke von Haus- und Wildwiederkäuern und Meerestiere bei der Probenauswahl berücksichtigt.

Methoden

Zwei unterschiedliche flüssige *Campylobacter*-Selektivmedien, Preston-Bouillon (Oxoid, Wesel, Deutschland) und CampyFood Bouillon (CFB), ein blutfreies ready-to-use-Medium (Biomerieux, Nürtingen, Deutschland), wurden an insgesamt 245 Proben in parallelen Kulturanätzen getestet. Neben dem kulturellen Nachweis bei teilweise unterschiedlichen Inkubationszeiten (24 Stunden und 48 Stunden) wurden auch Untersuchungen mittels molekularer und immunologischer Untersuchungsverfahren durchgeführt. Für den molekularbiologischen Nachweis kam eine Multiplex-real-time-PCR zum simultanen Nachweis und zur Differenzierung von *Campylobacter* (*C.*) *jejuni*, *C. coli* und *C. lari* nach

Mayr et al. (2010) zum Einsatz, für das immunologische Screening wurde ein vollautomatisierter enzyme-linked fluorescence assay (ELFA), der VIDAS® *Campylobacter* (Biomerieux) eingesetzt. Der vollständige verwendete Untersuchungsgang ist in Abbildung 2 dargestellt.

Ergebnisse

Insgesamt erwiesen sich von den 245 untersuchten Proben nach einer Inkubationszeit von 24 h ± 2 h sieben Proben (2,9 %) und nach einer Inkubationszeit von 48 h ± 2 h 36 Proben (14,7 %) mit mindestens einer der beiden eingesetzten kulturellen Nachweisverfahren als *Campylobacter*-positiv. Mittels des eingesetzten kommerziellen ELFA-Systems wurden nach einer Inkubationszeit von 24 h ± 2 h acht Proben (3,3 %) und nach einer Inkubationszeit von 48 h ± 2 h 44 (18,0 %) Proben als positiv detektiert. Mittels des eingesetzten real-time-PCR-Systems nach Mayr et al. (2010), ergaben sich erwartungsgemäß die höchsten Nachweisraten, insgesamt erwiesen sich 41 Proben (16,7 %) nach 24 h ± 2 h und 64 Proben (26,1 %) nach 48 h ± 2 h als positiv. Eine völlige Übereinstimmung der Ergebnisse aller eingesetzten Untersuchungsverfahren (molekularbiologische und immunologische Screeningverfahren sowie der ausschließlich kulturelle Nachweis mittels der beiden verwendeten Anreicherungsmedien) konnte nur bei 154 Proben (63 %) erzielt werden. Dabei ergaben sich mit der Bouillon CampyFood bessere Ergebnisse als bei der Verwendung von Preston-Bouillon (Abb. 3). Allerdings wurden auch bei Verwendung der Bouillon CampyFood nur 72 % der insgesamt mit beiden kulturellen Verfahren als positiv detektierten Proben als positiv erkannt.

Im Hinblick auf eine evtl. Verkürzung der Inkubationszeit von 48 h ± 2 h auf 24 h ± 2 h wurde bei der Auswertung die Matrixabhängigkeit der kulturell positiven Ergebnisse überprüft, um Hinweise zu erhalten, ob bei bestimmten, erwartungsgemäß höher kontaminierten Matrices, wie z. B. Geflügelfleisch, eine Inkubationszeit von 24 h ± 2 h ausreichend sein könnte. Die Ergebnisse sind in Abbildung 4 dargestellt. Allerdings zeigte eine nur 24-stündige Inkubationszeit bei keiner der Matrices eine so hohe Sensitivität, dass sie für die Erzielung zuverlässiger Untersuchungsergebnisse in der Routinediagnostik eingesetzt werden kann.

Diskussion

Die oben beschriebenen Ergebnisse zeigen sehr deutlich einen Teil der Schwierigkeiten auf, mit denen man sich derzeit beim Nachweis thermophiler *Campylobacter* spp. in der Routinediagnostik arrangieren muss. Bisher existiert kein selektives Flüssigmedium, das einen vollständig zufriedenstellenden, ausschließlich kulturbasierten qualitativen Nachweis thermophiler *Campylobacter* spp. bei allen getesteten Lebensmittelmatrices erlaubt. Dabei ist bei diesem Erreger auch ein deutlicher Unterschied bei den Nachweisraten, die unter Verwendung von künstlich und natürlich kontaminiertem Probenmaterial erzielt werden, feststellbar. Im vorliegenden Fall wurden beide selektive Anreicherungsbouillons mit künstlich kontaminiertem Probenmaterial getestet (Daten nicht gezeigt) und erwiesen sich bis zu einem Keimgehalt zwischen 1 und 10 KbE/25 g als ausreichend sensitiv.

Ähnliche Erkenntnisse wie beim oben beschriebenen Vergleich zwischen Preston- und CampyFood Bouillon ergeben sich auch beim Vergleich anderer selektiver Anreicherungsbouillons wie z. B. Bolton-Bouillon und Preston-Bouillon (Thäringen et al., 2012). In dieser Studie erwies sich Preston-Bouillon als besseres Anreicherungsmedium, die Rate der kulturell positiven Proben in Bezug auf die untersuchte Gesamtprobenzahl lag bei der Verwendung von Preston-Bouillon bei 24,1 %, bei der Verwendung von Bolton-Bouillon bei 22,2 %. Hierbei muss allerdings berücksichtigt werden, dass im Wesentlichen Lebensmittel mit natürlicherweise hoher Begleitflora (rohes Geflügelfleisch) untersucht wurden. Für derartige Lebensmittel sieht auch der Neuentwurf der ISO 10272 die Verwendung von Preston-Bouillon vor, Bolton-Bouillon soll nur bei Lebensmitteln Verwendung finden, die, beispielsweise aufgrund einer entsprechenden Prozessierung, eine geringe Begleitflora aufweisen. Allerdings konnten auch in der beschriebenen Studie von Thäringen et al. (2012) in der Routinediagnostik unter Verwendung natürlich kontaminierter Proben mit Preston-Bouillon nicht alle als kulturell positiv identifizierten Proben detektiert werden. Dies gelang nur bei 74 % aller kulturell positiven Proben. Die in der vorliegenden Studie getroffenen Feststellungen decken sich auch mit den Erkenntnissen anderer Autoren (u. a. Ugarte-Ruiz et al., 2012). Zusätzlich konnte in einer Studie auch ein Einfluss der verwendeten Kulturmedien auf die Diversität der *Campylobacter*-Isolate ermittelt werden (Ugarte-Ruiz et al., 2013).

Deutlich wird aus den oben dargestellten Ergebnissen allerdings, dass eine Verkürzung der Inkubationszeit von 48 h auf 24 h nur bei wenigen Proben angezeigt ist. Hier ließ sich im vorliegenden Fall auch keine Abhängigkeit von der jeweils untersuchten Lebensmittelmatrix erkennen, sodass für die Routinediagnostik in jedem Fall, unabhängig von der jeweils verwendeten Anreicherungsbouillon bei Verwendung eines ausschließlich kulturellen Nachweises auf eine verkürzte Inkubationszeit von nur 24 h verzichtet werden sollte. Eine Verkürzung der Inkubationszeit ist im Regelfall nur dann möglich und sinnvoll, wenn zusätzlich ein entsprechend sensitives Screeningverfahren, wie z. B. real-time-PCR, verwendet wird und anschließend eine als positiv erkannte Kultur für die Gewinnung eines Isolates noch einmal für weitere 24 h inkubiert wird.

Die Ergebnisse der vorliegenden Vergleichsuntersuchung zeigen des Weiteren, dass beim Nachweis thermophiler *Campylobacter* spp. die molekularbiologischen Ergebnisse noch wesentlich stärker von den kulturell erzielten Nachweisen abweichen, als man dies von anderen, leichter kultivierbaren Erregern, wie z. B. *Salmonella* spp. kennt (u. a. Malorny et al., 2004). Ähnlich diskrepante Ergebnisse erhält man im Lebensmittelbereich beispielsweise beim Vergleich molekularbiologisch und kulturell positiver Proben beim Nachweis von *Yersinia enterocolitica* (Messelhäuser et al., 2011; Mäde et al., 2008) oder STEC/VTEC (Busch et al., 2007). Auch wenn

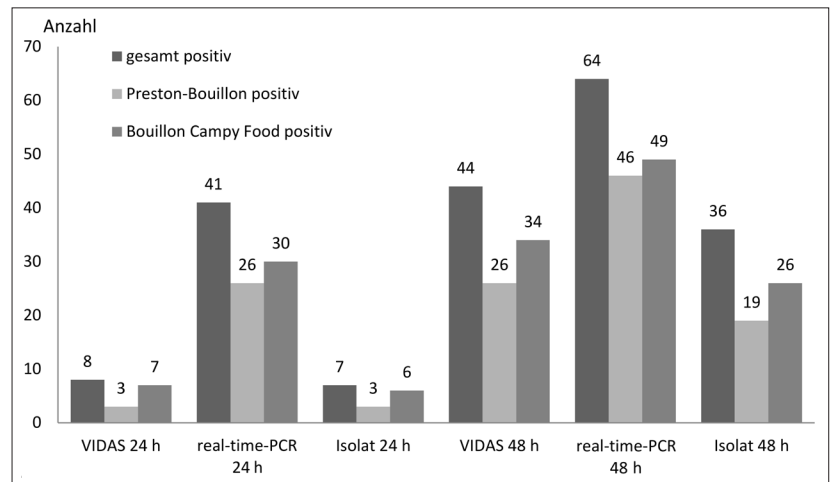


ABBILDUNG 3: Verteilung der positiven Ergebnisse auf die einzelnen Nachweisverfahren.

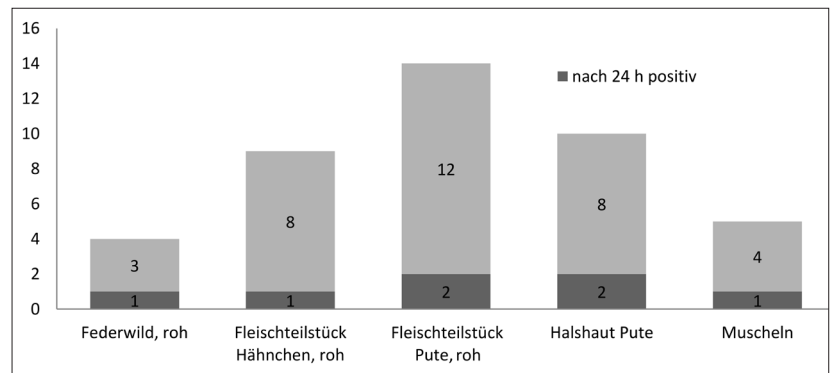


ABBILDUNG 4: Nach 24-stündiger Inkubation positive Proben, aufgeteilt nach Lebensmittelmatrizes im Vergleich zu den insgesamt bei jeder Matrix positiven Proben.

sich dies aus wissenschaftlicher Sicht sehr leicht erklären lässt (u. a. über die Ausprägung der bereits erwähnten VBNC-Stadien und die unterschiedlichen Sensitivitätsgrenzen der verschiedenen Methoden), stellen derartige Ergebnisse ein Problem im Rahmen der amtlichen Überwachung dar, da hier vor allem im Bereich der Lebensmittelmikrobiologie eine Probe nur dann als positiv gilt, wenn sich das Ergebnis einer Screeninguntersuchung durch die Isolierung des Erregers bestätigen lässt. Gelingt dies nicht, gilt der Erreger in der betreffenden Lebensmittelmatrix als nicht nachgewiesen. Ähnliche Schwierigkeiten ergeben sich beim Einsatz quantitativer Nachweisverfahren. Auch hier ist davon auszugehen, dass die kulturell detektierten *Campylobacter*-Keimzahlen, u. a. in Abhängigkeit von der in dem jeweiligen Lebensmittel vorhandenen Begleitflora, aber auch den evtl. in dem zu untersuchenden Lebensmittel vorhandenen VBNC-Stadien, oftmals erheblich von den molekularbiologisch detektierbaren Keimgehalten abweichen. Dies zeigt sich insbesondere seit es durch den Einsatz bestimmter Reagenzien wie Propidium-Monoazid zumindest annähernd möglich ist, auch bei der Verwendung molekularer Verfahren eine Differenzierung lebender und toter Zellen durchzuführen (u. a. Fittipaldi et al., 2012). Deshalb muss man sich beim Nachweis thermophiler *Campylobacter* spp. mittels kultureller Verfahren, beispielsweise bei Statuserhebungen, immer bewusst sein, dass man hier ggf. nur einen Teil der reell kontaminierten Proben erfasst.

Daher empfiehlt sich, auch im Rahmen der amtlichen Lebensmittelüberwachung, der Einsatz molekularbiologischer und/oder immunologischer Screeningverfahren nicht nur im Hinblick auf eine Reduzierung des Arbeitsaufwandes, der sich aufgrund eines größeren Anteils an negativen Proben am Untersuchungsgut ergibt, sondern auch um Hinweise auf evtl. vorhandene, kulturell nicht detektierbare Kontaminationen zu erhalten, auch wenn diese Befunde lebensmittelrechtlich nicht verwertet werden können.

Conflict of interest

Es bestehen keine geschützten, finanziellen, beruflichen oder anderen persönlichen Interessen an einem Produkt, Service und/oder einer Firma, welche die in diesem Manuskript dargestellten Inhalte oder Meinungen beeinflussen könnten

Literatur

- Busch U, Huber I, Messelhäusser U, Hörmansdorfer S, Sing A (2007):** Nachweis Shigatoxin-bildender/Enterohämorrhagischer *Escherichia coli* (STEC/EHEC) mittels Real-Time PCR. J Verbr Lebensm 2: 144–148.
- EFSA und ECDC (2014):** The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Foodborne Outbreaks in 2012. EFSA J 12: 3547, 312 pp.
- Fittipaldi M, Nocker A, Codony F (2012):** Progress in understanding preferential detection of live cells using viability dyes in combination with DNA amplification. J Microbiol Methods 91: 276–289.
- Jackson DN, Davis B, Tirado SM, Duggal M, van Frankenhuyzen JK, Deaville D, Wijesinghe MA, Tessaro M, Trevors JT (2009):** Survival mechanisms and culturability of *Campylobacter jejuni* under stress conditions. Antonie Van Leeuwenhoek 96: 377–394.
- Josefsen MH, Löfström C, Hansen TB, Christensen LS, Olsen JE, Hoorfar J (2010):** Rapid quantification of viable *Campylobacter* bacteria on chicken carcasses, using real-time PCR and propidium monoazide treatment, as a tool for quantitative risk assessment. Appl Environ Microbiol 76: 5097–5104.
- Kassem II, Chandrashekhara K, Rajashekara G (2013):** Of energy and survival incognito: a relationship between viable but non-culturable cells formation and inorganic polyphosphate and formate metabolism in *Campylobacter jejuni*. Front Microbiol. 2013 Jul 9;4:183. doi: 10.3389/fmicb.2013.00183.
- Lehner Y, Reich F, Klein G (2014):** Influence of process parameter on *Campylobacter* spp. counts on poultry meat in a slaughterhouse environment. Curr Microbiol 69: 240–244.
- Mäde D, Reiting R, Strauch E, Ketteritzsch K, Wicke A (2008):** A real-time PCR for detection of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in food combined with an universal internal amplification control system. J Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit 3, 141–151.
- Malorny B, Paccassoni E, Fach P, Bunge C, Martin A, Helmuth R (2004):** Diagnostic real-time PCR for detection of *Salmonella* in food. Appl Environ Microbiol 70: 7046–7052.
- Mayr AM, Lick S, Bauer J, Thäringen D, Busch U, Huber I (2010):** Rapid detection and differentiation of *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, and *Campylobacter lari* in food, using multiplex real-time PCR. Food Prot 73: 241–250.
- Messelhäußer U, Kämpf P, Colditz J, Bauer H, Schreiner H, Höller C, Busch U (2011):** Qualitative and quantitative detection of human pathogenic *Yersinia enterocolitica* in different food matrices at retail level in Bavaria. Foodborne Pathog Dis 8: 39–44.
- RKI (2014):** SurvStat@RKI 2.0, <https://survstat.rki.de>, Abfragedatum: 11.10.2014.
- Thäringen D, Elmer-Englhard D, Messelhäußer U, Höller C (2012):** Preston-Bouillon, die beste Wahl für den Nachweis thermophiler *Campylobacter* spp. in der Routinediagnostik. RFL 9: 320–322.
- Ugarte-Ruiz M, Gómez-Barrero S, Porrero MC, Alvarez J, García M, Comerón MC, Wassenaar TM, Domínguez L (2012):** Evaluation of four protocols for the detection and isolation of thermophilic *Campylobacter* from different matrices. J Appl Microbiol 113: 200–208.
- Ugarte-Ruiz M, Wassenaar TM, Gómez-Barrero S, Porrero MC, Navarro-Gonzalez N, Domínguez L (2013):** The effect of different isolation protocols on detection and molecular characterization of *Campylobacter* from poultry. Lett Appl Microbiol 57: 427–435.
- Wagenaar JA, Mevius DJ, Havelaar AH (2006):** *Campylobacter* in primary animal production and control strategies to reduce the burden of human campylobacteriosis. Rev Sci Tech 25: 581–594.

Korrespondenzadresse:

Dr. Ute Messelhäußer
Bayerisches Landesamt für Gesundheit
und Lebensmittelsicherheit
Labor für Lebensmittelmikrobiologie
Veterinärstr. 2
85764 Oberschleißheim
ute.messelhaeusser@lgl.bayern.de