

V. Thurm<sup>1</sup> · R. Stark<sup>2</sup> · D. Mäde<sup>2</sup> · S. Fanghähnel<sup>3</sup> · W. Berger<sup>4</sup> · H. Knobloch<sup>5</sup> · D. Lange<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Robert Koch-Institut, Bereich Wernigerode

<sup>2</sup>Veterinär- und Lebensmitteluntersuchungsamt Sachsen-Anhalt, Halle

<sup>3</sup>Hygiene-Institut Sachsen-Anhalt, Halle

<sup>4</sup>Gesundheitsamt Dessau

<sup>5</sup>Veterinär- und Lebensmittelüberwachungsamt, Zerbst-Anhalt

## Rohmilch als Ursache lebensmittelbedingter Campylobacter-Infektionen

### Erneuter Ausbruch nach Rohmilch-Verzehr in Sachsen-Anhalt

#### Zusammenfassung

Campylobacter (C.)-Infektionen des Menschen, vorwiegend durch C. jejuni und C. coli, nehmen gegenwärtig – mit steigendem Anteil – nach den Salmonellen den 2. Platz unter den bakteriell bedingten Durchfallerkrankungen in Deutschland ein. Insbesondere bei Gruppen-erkrankungen durch C. jejuni wird in zunehmendem Maße der Verzehr kontaminierter Rohmilch als Ursache ermittelt. Im April 2000 erkrankten in Sachsen-Anhalt erneut 28 Kinder und drei Betreuer bei einem Erlebnisausflug auf einen Bauernhof nach dem Verzehr von Rohmilch an Campylobacteriose. Der durch Befragung der Erkrankten in "klassischer" Weise ermittelte epidemiologische Zusammenhang zwischen den Erkrankungen und dem Rohmilch-Verzehr konnte durch mikrobiologische und molekularbiologische Untersuchungen bestätigt werden. Anhand der klonalen Identität der von den Milchkühen, aus der Rohmilch und von den Durchfallpatienten isolierten C. jejuni-Stämme, ließ sich die Infektkette verifizieren. Die Untersuchungsergebnisse unterstreichen den hohen Aussagewert laborgestützter infektionsepidemiologischer Untersuchungen. Sie zeigen aber auch die Notwendigkeit gezielter epidemiologischer Überwachung der Campylobacteriosen, weiterer Ursachenforschung zu deren Prävention und verstärkter Aufklärung über die gesundheitlichen Risiken des Rohmilchverzehr. Letzteres betrifft Campylobacter- und EHEC-Infektionen gleichermaßen.

#### Schlüsselwörter

Campylobacter · Rohmilch · Lebensmittelinfektion · Durchfallerkrankungen

**T**hermophile Spezies der Gattung Campylobacter (C.), insbesondere C. jejuni und C. coli, gehören weltweit zu den häufigsten Erregern lebensmittelbedingter Durchfallerkrankungen. Sie sind wie die enterohämorrhagischen Escherichia coli (EHEC) auch [1] als emerging pathogens zu betrachten. In einer Reihe von Ländern wie Großbritannien, den Niederlanden, Dänemark oder den USA haben Campylobacter die bislang in der Erregerstatistik führenden Salmonellen von ihrem ersten Platz verdrängt. Das trifft für das 1. Quartal 2000 auch in Deutschland für die Bundesländer Nordrhein-Westfalen, Sachsen, das Saarland sowie Hamburg, Bremen und Berlin zu [2]. Im Jahresdurchschnitt 1999 rangierten die C.-Spezies in Deutschland nach den Salmonellen auf dem zweiten Platz (Abb. 1).

Als Hauptreservoir der Erreger gelten wildlebende Vögel sowie verschiedene Nutztiere (Geflügel, Rinder und Schweine), aber auch Haustiere im engeren Sinn (vorwiegend junge Hunde und Katzen). Von diesen Reservoiren wird der Erreger nach bisherigem Erkenntnisstand vorwiegend über unzureichend erhitzte (z. B. Geflügelfleisch) [3, 4] oder roh verzehrte Lebensmittel (z. B. rohe Milch) übertragen [5, 6, 7, 8, 9], gelegentlich auch über kontaminiertes Oberflächenwasser (z. B. Badeseen) [3, 7, 10], bei Haustieren durch direkten Kontakt mit den Tieren oder ihren Exkrementen [10]. Kontaktinfektionen von Mensch zu Mensch spielen nur bei Kleinkindern eine Rolle [11]. Daher ist die Campylobacteriose weitgehend als

Lebensmittelinfektion zoonotischen Charakters einzuordnen [6].

***“Die Campylobacteriose ist derzeit die zweithäufigste lebensmittelbedingte Durchfallerkrankung Deutschlands.”***

Dabei fördert die sogenannte “Öko-Welle”, der Trend zu naturbelassenen Lebensmitteln sowie zur Direktvermarktung landwirtschaftlicher Produkte, den Verzehr roher Lebensmittel und so die Aufnahme von Campylobacter-Bakterien als Infektionserreger. Neben Verbesserungen in der Diagnostik und im Meldesystem ist hierin zweifellos eine der Ursachen für die gegenwärtige Zunahme der lebensmittelbedingten Campylobacter-Infektionen in Deutschland zu sehen. Der Gesetzgeber hat diesem Trend Rechnung getragen und explizit jetzt Campylobacter spp. als erregerspezifische Meldekategorie in das neue Infektionsschutzgesetz aufgenommen.

Über Campylobacter-Erkrankungen durch Rohmilch ist mehrfach in den letzten Jahren auch in Deutschland berichtet worden [6, 12, 13, 14, 15, 16]. Dabei traten insbesondere Ausbrüche mit einer größeren Anzahl von Erkrankten in das gesundheitspolitische Interesse der Öffentlichkeit. Ursache war entweder der Direktverzehr kontaminierter Rohmilch oder aber deren Zumischung oder

---

Dr. habil. Volker Thurm  
Robert Koch-Institut, Bereich Wernigerode,  
Burgstraße 37, 38855 Wernigerode

V. Thurm · R. Stark · D. Mäde · S. Fanghähnel · W. Berger · H. Knobloch · D. Lange

## Raw milk as a source of foodborne *Campylobacter* infections

### Abstract

At present, human *Campylobacter* (*C.*) infections, primarily those caused by *C. jejuni* and *C. coli* comprise an increasing share among bacterial diarrhoeal diseases in Germany and range second to *Salmonella*. Particularly where groups of persons are involved in illnesses associated with *C. jejuni*, consumption of contaminated raw milk has been increasingly established as a cause. There has been another outbreak of campylobacteriosis in April 2000 when 28 children and 3 persons in charge of them fell ill after having visited a farm during an excursion where they consumed raw milk. The epidemiological association between the illnesses and the consumption of raw milk established by the "classical" method of conducting an inquiry among the patients could be confirmed by microbiological and molecular-biological analysis. The chain of infection could be established on the basis of clonal identity of the *C. jejuni* strains isolated from the dairy cows, the raw milk and the diarrhoea patients. The results underline the good evidence provided by epidemiological investigations into infections which are supported by laboratory data. However, they also demonstrate the need for a specific epidemiological surveillance of cases of campylobacteriosis, continued research into the causes for purposes of prevention and intensified education on the health risks associated with the consumption of raw milk. This refers equally to *Campylobacter* and EHEC infections.

### Keywords

*Campylobacter* · Raw milk · Food-borne infection · Diarrhoeal illnesses

## Leitthema: Lebensmittelsicherheit

Verarbeitung zu anderen Speisen wie Puddings, Quarkspeisen oder Desserts ohne ausreichende Erhitzung. Möglicherweise ist die Beschränkung dieser Berichte auf wissenschaftliche Zeitschriften und mangelnde anderweitige Öffentlichkeitsarbeit ein wesentlicher Grund für das nach wie vor bestehende Informationsdefizit. Dies betrifft sowohl den Stellenwert der Campylobacteriose innerhalb der Durchfallerkrankungen in Deutschland wie auch die Risiken des Verzehrs unerhitzter Milch, wie exemplarisch der nachfolgend beschriebene Ausbruch zeigt.

### Epidemiologische Ermittlungen

Die Ermittlungen wurden hinsichtlich der Erkrankungen, Begleitumstände und verzehrten Speisen vom örtlich zuständigen Gesundheitsamt Dessau, hinsichtlich der verdächtigten Rohmilch, der übrigen Lebensmittel und der Milchviehbestände vom örtlich zuständigen Lebensmittel- und Veterinärüberwachungsamt Zerbst-Anhalt durchgeführt, das auch Proben entnahm. Dabei ergab sich folgendes:

Zwischen dem 4. bis 14. April 2000 nahmen drei sechste Klassen einer Sekundarschule aus einer größeren Stadt in Sachsen-Anhalt in zwei Durchgängen (4.–7. bzw. 11.–14. April) an einem jeweils dreitägigen Lehr- und Erlebnisausflug auf einen sogenannten Jugendbauernhof der betreffenden Gegend teil. Dabei wurde als ein besonderes Ereignis durch 42 der 62 Klassenfahrtsteilnehmer unabgekochte Milch (Rohmilch) "frisch gemolken" verkostet. Die verzehrten Mengen waren sehr unterschiedlich und lagen zwischen "nur gekostet" bis zu drei

Bechern. Von den 42 Teilnehmern an den Verkostungen (38 Kinder im Alter von elf bis 14 Jahren und vier Betreuer) erkrankten in der Folge 31 Personen (28 Kinder und drei Betreuer im Alter von 34 bis 44 Jahren) an Durchfällen, z. T. mit Übelkeit, Erbrechen, Bauchkrämpfen und Fieber. Durch die beim Gesundheitsamt eingegangenen Meldungen der von den Erkrankten aufgesuchten Ärzte wurde offenkundig, dass es sich um einen örtlich und zeitlich eingrenzenden Ausbruch an Gastroenteritis handelt.

**"31 Personen erkrankten nach dem Verzehr nicht abgekochter, frisch gemolkener Rohmilch an Gastroenteritis."**

Vier Kinder mussten zeitweilig hospitalisiert werden. Die Inkubationszeit betrug ein bis fünf Tage, in den meisten Fällen zwei bis drei Tage (Abb. 2). Die zum Teil heftigen Beschwerden klangen nach einigen Tagen ab. Komplikationen oder Nachfolgeerkrankungen wurden bisher nicht beobachtet. Von den 20 Teilnehmern, die keine Rohmilch verzehrt hatten, erkrankte dagegen niemand. Aus den Ermittlungsergebnissen ergibt sich eine gewisse Beziehung zwischen der Schwere der Erkrankung und der verzehrten Rohmilchmenge.

### Mikrobiologische und molekularbiologische Untersuchungen

#### Nachweis und Isolierung von *Campylobacter* spp. aus Stuhlproben

Von einem Teil der Erkrankten wurden durch die behandelnden Ärzte Stuhlpro-

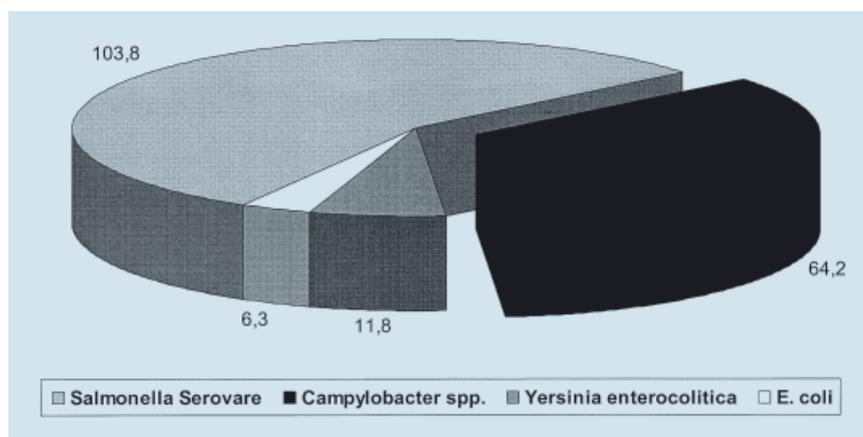


Abb. 1 ▲ Enteritis infectiosa 1999 in Deutschland – die wichtigsten bakteriellen Erreger

ben entnommen und in zwei medizinisch-diagnostischen Privatlaboratorien sowie im Hygieneinstitut Sachsen-Anhalt, Standort Halle, mikrobiologisch untersucht. Die Isolierung thermophiler *Campylobacter*-Spezies aus dem Stuhl erfolgte dort durch Direktausstrich auf *Campylobacter*-Selektivmedium nach Karmali und anschließende Inkubation für 48 h bei 42°C. Verdächtige Kolonien wurden nach den DGHM-Empfehlungen von Kist [18] weiter diagnostiziert und dann subkultiviert.

### Nachweis und Isolierung von *Campylobacter* spp. aus Lebensmitteln, Rohmilch und Kotproben

Während der Ermittlungen auf dem Bauernhof konnten vom zuständigen Veterinär- und Lebensmittelüberwachungsamt zwar Rückstellproben aus der Gemeinschaftsverpflegung der Schulklassen, jedoch keine Reste der wirklich von den Erkrankten verzehrten Rohmilch mehr sichergestellt werden. Daher wurden als Verfolgspuren sowohl Rohmilch- als auch Kotproben in dem betreffenden Milchviehbestand gezogen und im Landesveterinär- und Lebensmitteluntersuchungsamt in Halle mikrobiologisch untersucht. Dort erfolgte auch die Feintypisierung der Isolate.

Milchproben wurden von 20 Milchkühen nach Reinigung des Euters entnommen und sofort nach der Entnahme verschlossen. Die bakteriologische Untersuchung der Proben wurde innerhalb von fünf Stunden eingeleitet. Dazu wurden 10 ml Milch in 90 ml *Campylobacter*-Selektivanreicherungsmedium nach Preston verbracht und 44 bis 48 Stunden bei 42°C inkubiert. Die angereicherten Milchproben wurden parallel auf *Campylobacter*-Selektivmedien nach Karmali und nach Preston ausgestrichen und 48 Stunden bei 42°C inkubiert. Lebensmittelproben wurden in gleicher Weise kulturell sowie molekularbiologisch mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) [19] untersucht.

Von den selben Tieren wurden Kotstümpfer entnommen. Diese wurden direkt auf die genannten *Campylobacter*-Selektivmedien ausgestrichen und gleichfalls 48 Stunden bei 42°C inkubiert. Verdächtige Kolonien wurden jeweils mittels PCR auf Vorliegen von thermophilen *C.* spp. geprüft und dann subkultiviert.

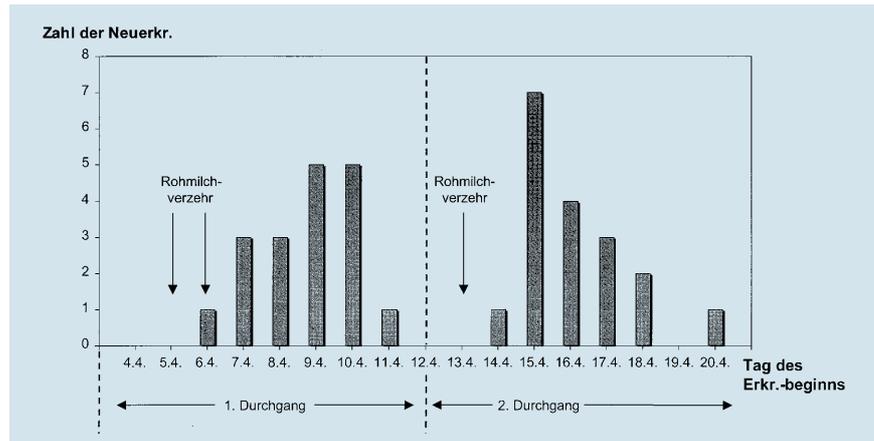


Abb. 2 ▲ *Campylobacter*-Erkrankungen nach Rohmilchverzehr auf einem Jugendbauernhof im April 2000

### Feintypisierung der *Campylobacter*-Isolate

Die Feintypisierung der *C. jejuni*-Isolate erfolgte durch Infrequent Restriction Site-PCR (IRS-PCR) nach Mazurek [20], modifiziert nach Riffard [21] und Mäde [22]. Der Vergleich der untersuchten *C. jejuni*-Stämme erfolgte nach der Größe der entstandenen Amplifikate im Bereich von 50 bis 500 bp und Zuordnung zu entsprechenden Clustern.

### Ergebnisse

In vier der untersuchten Stuhlproben gelang es, *C. jejuni* – jeweils als einzigen Erreger – nachzuweisen und zu isolieren. Andere bekannte Erreger bakterieller oder viraler Darminfektionen wurden nicht gefunden. Die Untersuchung der Rückstellproben auf *C. jejuni* und andere Durchfallerreger verlief erwartungsgemäß negativ und gab damit keinen Hinweis auf eine anderweitige Ursache der

Erkrankungen. Dagegen konnte aus zwei Rohmilch- und aus vier Kotproben jeweils *C. jejuni* isoliert werden. In der anschließenden molekularbiologischen Feintypisierung zeigte sich einerseits die Einheitlichkeit der untersuchten *C. jejuni*-Isolate von den Erkrankten (Ausbruchsstämme) untereinander. Andererseits ließ sich eindeutig eine klonale Identität der Ausbruchsstämme mit einem Teil der Rohmilch- bzw. Rinderkotisolate nachweisen (Abb. 3). Die übrigen Isolate vom Rind gehörten anderen Klonen an. Während einer dieser Stämme ein völlig anderes Bandenmuster zeigte, ergab sich bei den übrigen Rinderstämmen eine enge klonale Beziehung zu den Ausbruchsstämmen.

### Auswertung und Diskussion der Ergebnisse

Die Ergebnisse der epidemiologischen Ermittlungen zeigen einen eindeutigen Zusammenhang zwischen den *Campy-*

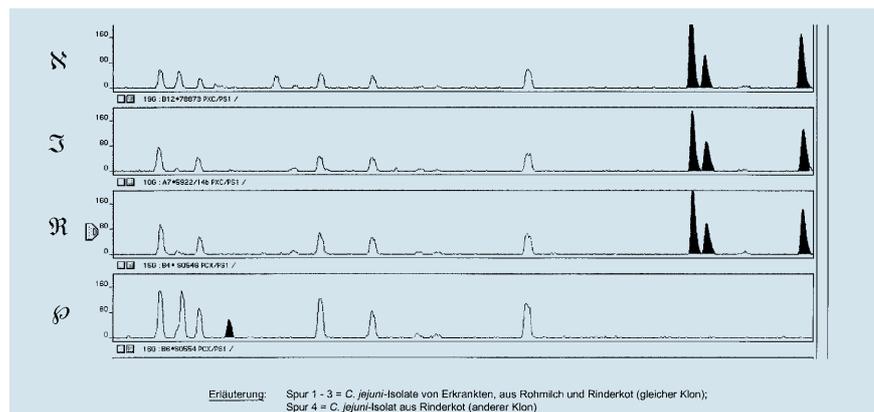


Abb. 3 ▲ Vergleich der *C. jejuni*-Isolate mittels IRS-PCR und Auswertung auf einen DNA-Sequencer

lobacter-Erkrankungen und dem Rohmilchverzehr durch die betroffenen Personen. Dass nicht alle der an der Verkostung beteiligten Kinder und Betreuer erkrankten (attack rate 74 %), ist als Einfluss der individuellen körperlichen Disposition und der jeweils aufgenommenen Keimzahl an *C. jejuni*-Bakterien zu werten. Darauf weist auch eine beobachtete Abhängigkeit der Erkrankungsschwere von der verzehrten Rohmilchmenge und damit der *C. jejuni*-Keimzahl hin. Das Ergebnis der "klassischen" Ursachenermittlung wird durch die Ergebnisse der mikrobiologischen und molekularbiologischen Untersuchungen überzeugend bestätigt. Mittels der modernen Labormethoden der Infektions-epidemiologie war es auch im vorliegenden Fall möglich, über die klonale Identität der *Campylobacter*-Isolate die Infektkette von den mit *C. jejuni* besiedelten Kühen über die Rohmilch als verzehrtem Lebensmittel bis zu den Erkrankten zu verifizieren.

***"Die Ergebnisse der Feintypisierung von Campylobacter-Isolaten der Erkrankten und aus dem Tierbestand bestätigen den epidemiologischen Verdacht, dass bakteriell kontaminierte Rohmilch die Erkrankungsursache war."***

Auch wenn Reste vom Verzehr des angeschuldigten Lebensmittels Rohmilch – wie häufig bei Ursachenermittlungen – nicht mehr direkt vorhanden waren, konnte über die Rohmilch-Verfolgungsproben und Kotproben dieser Infektketten-Nachweis geführt werden. Dazu ist anzumerken, dass nach bisherigem wissenschaftlichen Kenntnisstand infolge der großen klonalen Vielfalt von *C. jejuni* häufig mehrere Klone in einem Rinderbestand vorhanden sind, von denen bei Ausbrüchen in der Regel nur ein Stamm als eigentliches infektiöses Agens in Erscheinung tritt. Das wurde bei früheren eigenen Untersuchungen [6] bestätigt und war auch in dem hier untersuchten Rinderbestand der Fall. Daraus leitet sich für zukünftige Ursachenermittlungen die Schlussfolgerung ab, stets eine größere Anzahl von Rohmilch- und Kotproben zu entnehmen.

## Schlussfolgerungen

Die sogenannte Ökowelle und der Trend zur Direktvermarktung landwirtschaftlicher Produkte haben zu der weitverbreiteten Ansicht geführt, dass rohe Milch und daraus hergestellte Produkte "von gesunden Kühen" besonders gesund seien. Die erneuten Gruppenerkrankungen zeigen, dass diese irrierte Ansicht ungeachtet zahlreicher Publikationen durch das RKI, das BgVV und andere Institutionen nach wie vor besteht. Offensichtlich ist zu wenig bekannt, dass sowohl *Campylobacter*- wie auch *EHEC*-Bakterien zur normalen Darmflora zahlreicher Tierarten, insbesondere auch von Rindern, gehören. Von dort können die Bakterien selbst bei Beachtung einer einwandfreien Stall- und Melkhygiene (z. B. in Vorzugsmilchbetrieben) in die Rohmilch gelangen, die auf diese Bakterienarten routinemäßig nicht untersucht wird. Dabei sind auch parenterale Infektionswege nicht ausgeschlossen.

Die mit dem Gesundheitsschutz und dem Verkehr mit Lebensmitteln befassten Institutionen sollten dem offensichtlichen Aufklärungsdefizit durch gezielte Öffentlichkeitsarbeit begegnen und die hier bestehenden Risiken, die entsprechenden Vorschriften und mögliche Präventivmaßnahmen bekannt machen. Der Verordnungsgeber hat in Anerkennung der neuen wissenschaftlichen Erkenntnisse die Milchverordnung 1997 dahingehend ergänzt, dass neben der bereits bestehenden Hinweispflicht nach § 8 auf das "Abkochen vor Verzehr" bei individueller Rohmilchabgabe "ab Hof" in der Gemeinschaftsverpflegung Rohmilch nur noch nach ausreichender Erhitzung ausgegeben und verwendet werden darf (§ 18 Milch-VO). Bei der Erhitzung insbesondere größerer Milchmengen in der Gemeinschaftsküche können sich jedoch küchentechnische Probleme und damit neue Risiken ergeben, wie eine Gruppenerkrankung von 186 Kindergartenkindern durch unzureichend erhitzte und zu Quarkspeise verarbeitete Rohmilch 1997 in Sachsen-Anhalt zeigte [6]. Daher besteht der sicherste Weg zur Prävention durch Milch übertragbarer Lebensmittelinfektionen in der Verwendung molke-reimäßig pasteurisierter Milch. Das gilt für Erkrankungen durch *Campylobacter* – wie auch *EHEC*-Bakterien gleichermaßen.

## Literatur

1. Tschäpe H (2000) Lebensmittelbedingte Infektionskrankheiten durch Bakterien. Bundesgesundheitsbl 43:758–769
2. Robert Koch-Institut (2000) Quartalsstatistik Enteritis infectiosa nach wichtigen Erregern. Epid Bull 24:193
3. Kapperud G, Skjerve E, Bean NH, Ostroff SM, Lassen J (1992) Risk factors for sporadic campylobacter infections: results of a case-control study in south-eastern Norway. J Clin Microbiol 30:3117–3121
4. Pressedienst des BgVV (1998) *Campylobacter jejuni* – als Erreger bakterieller Lebensmittelinfektionen vielfach unterschätzt. Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin, Berlin, 6/1998
5. Djuretic T, Wall PG, Nichols G (1997) General outbreaks of infectious intestinal diseases associated with milk and dairy products in England and Wales: 1992 to 1996. Commun Dis Rep 7:R41–R45
6. Thurm V et al. (1999) Infektionsepidemiologie lebensmittelbedingter *Campylobacter*-Infektionen: Untersuchung eines Ausbruchs in Sachsen-Anhalt mittels epidemiologischer, mikrobiologischer und molekularbiologischer Methoden. Bundesgesundheitsbl 42:206–211
7. Thurm V, Dinger E (1998) Lebensmittelbedingte *Campylobacter*-Infektionen – infektionsepidemiologische Aspekte der Ursachenermittlung, Überwachung und Prävention bei Ausbrüchen durch *C. jejuni*. Infektionsepid Forsch II:6–10
8. Wood RC (1992) *Campylobacter* enteritis outbreaks associated with drinking raw milk during youth activities. JAMA 268:3228–3230
9. Morgan D et al. (1994) An outbreak of *Campylobacter* infection associated with the consumption of unpasteurised milk at a large festival in England. Eur J Epidemiol 10:581–585
10. Adak GK, Cowden JM, Nicholas S, Evans HS (1995) The public health laboratory service national case-control study of primary indigenous sporadic cases of campylobacter infection. Epidemiol Infect 115:15–22
11. Robert Koch-Institut (1999) Ratgeber Infektionskrankheiten. Epid Bull 35:359–261
12. Thurm V, Teufel P, Dinger E, Bartelt E (1994) Gemeinschaftsverpflegung als Infektionsquelle eines *Campylobacter jejuni*-Ausbruchs in Sachsen. Jahresbericht des BgVV:99–100
13. Thurm V, Dinger E (1996) Rohmilch in der Gemeinschaftsverpflegung als Infektionsquelle eines *Campylobacter jejuni*-Ausbruchs in Niedersachsen. Jahresbericht des BgVV:120–121
14. Thurm V, Dinger E (1997) Rohmilch als Risikolebensmittel für Ausbrüche durch *Campylobacter jejuni*. Jahresbericht des BgVV:147–148
15. Robert Koch-Institut (1997) Zwei Gruppenerkrankungen durch *C. jejuni* nach dem Verzehr von Rohmilch. Epid Bull 50:353–357
16. Robert Koch-Institut (1999) Ein Ausbruch von *Campylobacter*-Enteritis in Nordrhein-Westfalen. Epid Bull 43:317–320
17. Robert Koch-Institut (2000) Zwei Gastroenteritis-Ausbrüche durch *C. jejuni* nach dem Genuss von Rohmilch. Epid Bull 18:143–145
18. Kist M (1991) Isolierung und Identifizierung von Bakterien der Gattungen *Campylobacter* und *Helicobacter*. Zentralbl Bakt 276:124–139
19. Mäde D, Stark R (2000) Nachweis thermophiler *Campylobacter* in Lebensmitteln durch Polymerase-Kettenreaktion. Arch Lebensmittelhyg 51:8–12
20. Mazurek GH, Reddy V, Marston BJ, Haas WH, Crawford JT (1996) DNA fingerprinting by infrequent-restriction-site amplifikation. J Clin Microbiol 34:2386–2390
21. Riffard S, Lo Presti F, Vandenesch F, Forey F, Reyrolle M, Etienne J (1998) Comparative analysis of infrequent-restriction-site PCR and pulsed-field gel electrophoresis for epidemiological typing of legionella pneumophila serogroup 1 strains. J Clin Microbiol 36:161–167
22. Mäde D (in Vorbereitung) Persönliche Mitteilung