

Aus dem Department für Nutztiere und öffentliches Gesundheitswesen in der  
Veterinärmedizin

der Veterinärmedizinischen Universität Wien

(Departmentsprecher: Univ.-Prof. Dr. med. vet. Michael HESS)

Abteilung für Hygiene und Technologie von Lebensmitteln

(Leiterin: Univ.-Prof. Dr. med. vet. Karin Schwaiger)

**Übertragung von Bakterien beim Kontakt des Fells (Winterhaarkleid) von Rehen mit  
Fleischoberflächen**

**DIPLOMARBEIT**

Veterinärmedizinische Universität Wien

Vorgelegt von

Marie-Lena Schandor

Wien, im April 2021

**Betreuer:**

Ao.Univ.-Prof. Dr.med.vet. Peter Paulsen Dipl.ECVPH

Abteilung für Hygiene und Technologie von Lebensmitteln, Institut für  
Lebensmittelsicherheit, Lebensmitteltechnologie und öffentliches Gesundheitswesen in der  
Veterinärmedizin, Veterinärmedizinische Universität Wien

**GutachterIn:**

Univ. Doz. Dr. Armin Deutz

## **Danksagung**

Hiermit möchte ich mich bei all jenen Personen bedanken, die mich während der Ausarbeitung meiner Diplomarbeit unterstützt haben.

Ein großer Dank gilt meinem Betreuer Herrn Dr. Peter Paulsen. Durch sein Wissen, die Anregungen und Tipps fühlte ich mich sehr wohl und konnte jederzeit bei Fragen auf ihn zurückgreifen.

Auch bei den Mitarbeitern/innen der „Abteilung für Hygiene und Technologie von Lebensmitteln, Institut für Lebensmittelsicherheit, Lebensmitteltechnologie und öffentliches Gesundheitswesen in der Veterinärmedizin“ möchte ich meinen Dank aussprechen. Ohne deren Hilfe, wäre der praktische Teil der Arbeit nicht so schnell abgeschlossen gewesen.

Ein besonderer Dank gilt meiner Familie und Freunden, die mich durch das Studium begleitet haben, mich motiviert haben und auch bei der Korrektur der Diplomarbeit zur Hand waren.

Letztendlich möchte ich noch meinen Waidkameraden danken, die mir netterweise beim Sammeln der Rehfelle geholfen haben.

Vielen Dank an alle!

## **Inhalt**

1. Einleitung und Fragestellung.....	1
1.1 Das Fell als Quelle von Mikroorganismen .....	3
1.2 Hygienische Relevanz des Enthäutens beim Wildwiederkäuer .....	3
1.3 Aufbau des Winterhaarkleids bei Rehen.....	4
1.4 Fragestellung .....	5
2. Material und Methoden.....	6
2.1 Felle .....	6
2.2 Herstellung des Inokulums.....	6
2.3 Inokulation der Rehelle über Agarkontaktverfahren und semiquantitative Beprobung mittels Agar-Abklatschmethode.....	7
2.4 Inokulation der Rehelle durch direktes Aufbringen der <i>E. coli</i> Suspension und simulierte Kontamination der Messerklingen beim Enthäuten.....	9
3. Ergebnisse .....	10
3.1 Semiquantitative Keimzahlbestimmung auf kontaminiertem Rehfell mittels Agar-Abklatschmethode .....	10
3.2 Inokulation der Rehelle durch direktes Aufbringen der <i>E. coli</i> Suspension und simulierte Kontamination des Messers beim Enthäuten.....	13
4. Diskussion.....	15
4.1 Versuchsdesign.....	15
4.2 Übertragung von <i>E. coli</i> vom kontaminierten Fell auf RODAC-Platten (als Fleischsurrogat).....	16
4.3 Bedeutung des Fells als mögliche Kontaminationsquelle beim Enthäuten .....	17
4.4 Bedeutung für die Wildfleischhygiene .....	18
5. Zusammenfassung.....	20
6. Summary .....	21
7. Abkürzungsverzeichnis.....	23
8. Literaturverzeichnis.....	24
9. Abbildungs-/Tabellenverzeichnis .....	28

## 1. Einleitung und Fragestellung

Unserer evolutionären Geschichte zufolge galt der Mensch vorerst nur als Sammler, der sich von unterschiedlichsten Pflanzen ernährte. Vor circa 1,5 Millionen Jahren begann der Fleischkonsum sich zu etablieren. Da aus dieser Zeit keine Funde von zur Jagd auf Tiere geeigneten Waffen vorliegen und es auch sonst keine Hinweise darauf gibt, wird vermutet, dass sich die damalige Bevölkerung vorerst auf die Suche nach Kadavern von Tieren, welche von größeren Fleischfressern gerissen worden waren, begeben hat. Voraussetzung dafür war jedoch, dass nicht ein anderer Aasfresser, wie bestimmte Vögel, oder ein Allesfresser ihnen zuvorgekommen war. Mit dem Anbeginn der aktiven Bejagung von Tieren ändert sich das Leben der Menschen gravierend. Die Verwendung des Feuers schuf neue Möglichkeiten der Verarbeitung, Zubereitung und Konservierung des Fleisches und der Fleischverzehr stieg an. Eine Studie kam zu der Erkenntnis, dass die humane Intelligenz nicht nur durch die über den Fleischverzehr verbesserte Nährstoffversorgung, sondern auch durch die kognitive Fähigkeit das Fleisch sinnvoll zu teilen, geprägt wurde (Smil 2002).

Die Art der Fleischgewinnung sowie die Rückverfolgbarkeit der Herkunft eines Stück Fleisches ist in der heutigen Gesellschaft ein Wunsch vieler Konsumenten. Qualität vor Quantität lautet die Devise, was viele Menschen dazu bewegt, weniger Fleisch zu verzehren und Fleisch zu bevorzugen, das auf eine umweltfreundlichere sowie tierschonende Methode der Fleischproduktion gewonnen wird (Hoogland et al. 2005).

Gesunde und sichere Produkte zählen immer häufiger zu den Prioritäten der Konsumgesellschaft, weshalb die Nachfrage nach diesen Lebensmitteln steigt. Voraussetzungen wie ein hoher Nährwert, Frische, Zartheit sowie Geschmack werden immer wichtiger. Durch den Wunsch nach einem gesunden und ausgeglichenen Lifestyle legen Konsumenten deutlich mehr Wert auf die Herkunft und Qualität ihrer Lebensmittel. Jüngere Generationen nehmen mehr sogenanntes „weißes Fleisch“ wie Geflügel- und Schweinefleisch zu sich als „rotes Fleisch“. Auch beim Geschlechtervergleich gibt es Unterschiede, da Frauen weniger Rindfleisch und Wild verzehren (Hoffman und Wiklund 2006).

Obwohl das Wildbret hinsichtlich der diätologischen Aspekte durchaus viel Zuspruch bekommt, zählt es in Österreich eher zu den weniger genutzten Proteinquellen. Der durchschnittliche Konsum von Wildfleisch als Lebensmittel liegt laut zwei unterschiedlichen Literaturangaben bei 0,5 kg pro Person (Paulsen 2007) beziehungsweise 0,7 kg pro Jahr (Valencak und Gamsjäger 2014). Durch den hohen Proteinanteil und den geringen Fettanteil gilt Wildfleisch als besonders gesundes Nahrungsmittel. Bei den Wildwiederkäuern ist durch die herbivore Ernährung der Anteil an mehrfach ungesättigten Fettsäuren, sowie auch an Omega3-Fettsäuren, im Wildfleisch hoch, was das Interesse einiger Konsumenten fördert. Auch der Wert an Spurenelementen, wie Eisen, Zink und Selen ist höher als in manch anderen Fleischsorten. Durch das Übertragungsrisiko mancher Zoonosen und Krankheiten, ist es jedoch zu empfehlen, Wildfleisch vor dem Verzehr vollständig durchzugaren und nicht „zartrosa“ zu verzehren (Paulsen 2007).

Das Reh als sogenanntes Schalenwild (= Wildhuftier) ist eine der am häufigsten vorkommenden jagdbaren Wildtierarten Österreichs. Es ist in allen neun Bundesländern beheimatet und auch nach den Landesgesetzen bejagbar. Auf Grund der gesetzlich festgelegten Schusszeiten ist frisches Wildfleisch von Rehen ab April bis Ende Dezember am Markt verfügbar. Im Jagdjahr 2019/2020 wurden in ganz Österreich gesamt knapp 278.000 Tiere erlegt (Tab. 1; Statistik Austria 2021).

Tab.1 Anzahl der im Jagdjahr 2019/2020 in Österreich erlegten Rehe, nach Bundesländern (Statistik Austria 2021)

Bundesland	Erlegte Tiere, n =
Burgenland	15.594
Kärnten	22.705
Niederösterreich	77.607
Oberösterreich	78.384
Salzburg	13.548
Steiermark	50.204
Tirol	14.569
Vorarlberg	5.330
Wien	371

### **1.1 Das Fell als Quelle von Mikroorganismen**

Sobald Tiere auf einem Schlachtbetrieb ankommen, werden sie innerhalb von 24 Stunden nach Ankunft einer Schlacht tieruntersuchung unterzogen. Hierbei wird ebenfalls überprüft, in welchem Zustand die Körperoberfläche, sowie das Haarkleid des Rindes ist. Es muss sichergestellt werden, dass das Risiko einer Kontamination des Fleisches durch ein unsauberes Äußeres größtenteils reduziert ist (Durchführungsverordnung (EU) 2019/627 der Kommission).

Bei der heutigen Methode des Entweidens bei geschlachteten Rindern ist eine Übertragung von Mikroorganismen des Gastrointestinaltraktes auf das Muskelfleisch eher selten, jedoch besteht weiterhin die Möglichkeit der Verschmutzung von Fleischoberflächen beim Enthäuten. Beim Enthäuten des Rindes werden zuerst Schnitte ventral in der Mittellinie und entlang der Extremitäten gesetzt, also in Bereichen, die bei Schlachtrindern häufig sichtbar verschmutzt sind (Karhan et al. 2020).

Die Qualität des Fleisches in Bezug auf den Kontaminationsgrad mit unterschiedlichen Keimen ist daher auch davon abhängig, wie sehr das Haarkleid sowie die Haut des Schlachttieres verschmutzt sind. Bei einem sowohl makroskopisch als auch mikroskopisch kontaminiertem Fell lässt sich daraus schließen, dass im Zuge dessen auch das Fleisch mitbetroffen ist, weswegen die Sauberkeit des Tieres eine wichtige Rolle spielt. Beim Enthäuten können sowohl pathogene Stämme wie auch verderbserregende Bakterien, wie zum Beispiel *Escherichia coli*, vom Fell auf das Endprodukt, nämlich das Fleisch, übertragen werden (Blagojevic et al. 2005).

### **1.2 Hygienische Relevanz des Enthäutens beim Wildwiederkäuer**

Bei den Wildwiederkäuern kann nach der Haltungsform das „frei lebende Wild“ (VO (EG) Nr. 853/2004) vom „Farmwild“ unterschieden werden. Die Farmwildhaltung ist eine Form der landwirtschaftlichen Tierhaltung, bei der die Schlachtung weitgehend wie beim Rind erfolgt. Bei der Betäubung und Entblutung können sich etwas abweichende Arbeitsabläufe ergeben (BMSGK 2013), es erfolgt aber immer der Hautabzug vor dem Eviscerieren. Im Gegensatz dazu erfolgt bei Wildhuftieren, die nach EU-Recht (VO (EG) Nr. 853/2004) in

Verkehr gebracht werden, zuerst die Evisceration und der Tierkörper wird bis zur Wildbearbeitungsbetrieb erfolgenden Zerlegung „in der Decke“ gelagert. Zwischen der Erstversorgung (Evisceration) und dem Wildbearbeitungsbetrieb sind noch 1 oder 2 Kühlräume zwischengeschaltet (Paulsen et al. 2015), was zusammen mit den nötigen Transporten zu Änderungen der Umgebungstemperatur und der Luftfeuchtigkeit führen kann, und damit zur Kondensation der Luftfeuchtigkeit am Fell. Das Gebot der Entfernung der Haut, ohne dass das darunterliegende Fleisch verschmutzt wird, findet sich für die zugelassenen Wildbearbeitungsbetriebe explizit in der VO (EG) Nr. 853/2004, für „Direktvermarkter“ bzw. Lebensmitteleinzelhändler wird dies implizit in den entsprechenden Verordnungen gefordert (BGBl. II, Nr.108/2006; BGBl. II, Nr.92/2006).

Auch das z.T. übliche „Auswaschen“ oder Abwaschen der ausgeweideten, aber noch nicht enthäuteten Tierkörper (Mirceta et al. 2017) kann Feuchtigkeit auf das Fell bringen. Da Wasser essentiell für die Vermehrung von Mikroorganismen ist (Bauer und Smulders 2015), fördern feuchte Tierkörperoberflächen das Bakterienwachstum.

Bei der Herrichtung von Tierkörpern für den privaten, häuslichen Gebrauch ist in manchen Regionen auch die Abfolge Enthäuten – Ausweiden üblich (Laaksonen und Paulsen 2015).

### **1.3 Aufbau des Winterhaarkleids bei Rehen**

Das Reh (*Capreolus capreolus*) zählt zu den kleinsten Hirschartigen in Europa und ist durch seine Anpassungsfähigkeit in den unterschiedlichsten Lebensräumen beheimatet. Aufgrund der hohen Dichte an Tieren ist es außerdem der wohl bekannteste Vertreter der Wildpaarhufer. Bei der Verwertung der erlegten Rehe steht die Nutzung des Fleisches im Vordergrund; Fell- und Ledererzeugung erfolgen selten, was mit der zarten und fragilen Struktur von Haut und Haaren zu tun hat (Kulak und Wajdzik 2006).

Das Winterhaarkleid von Rehen unterscheidet sich wesentlich vom Sommerhaarkleid. Ersteres ist dichter, da die Haare wegen einer breiteren Markschiebt dicker sind; damit hat das Winterfell gute Isolationseigenschaften (Johnson und Hornby 1975). Eine in Polen durchgeführte Studie ergab, dass Winterhaare am Rumpf und Hals etwa 7 mm länger und fast 0,1 mm dicker sind als Sommerhaare, wobei diese Unterschiede je nach Körperregion

verschieden, stark ausgeprägt sein können (Kulak und Wajdzik 2006). Die durchschnittliche Länge der Winterhaare variierte je nach Körperstelle von 12-52 mm. An der Innenseite der Ohrmuschel waren die Haare mit 6 mm am kürzesten, die durchschnittliche Dicke der Winterhaare war je nach Region im Bereich 46–236 µm. Kulak und Wajdzik (2006) zeigten, dass die Haare an den Extremitäten eine dickere Rinden- und eine dünnere Markschiicht als die Haare am Rumpf haben, und dass daher die Haare an den Extremitäten zwar schlechter isolieren, aber widerstandsfähiger sind und nicht so leicht abbrechen als jene am Rumpf.

Über die Rolle der Haare als mögliche Kontaminationsquelle beim Enthäuten von Rehen findet sich aber wenig Literatur. Beschrieben werden aber die Tierartenidentifizierung am Rehhaar (Galan et al. 2005), die Steroidbestimmung im Rehhaar als nicht invasive Methode zur Beobachtung des Reproduktionszyklus (Ventrella et al. 2018) und Erkrankungen mit Haarausfall („Haarseuche“: Herzog et al. 1983; Trichophytie: Volmer et al. 1990). Eine über die Suchmaschine „google“ im Internet durchgeführte Suche nach den Begriffen „Rehhaar“, „Rehfell“, „roe deer hair“ ergab, dass die mechanischen Eigenschaften des Rehhaares offensichtlich überwiegend im Zusammenhang mit dem Fliegenfischen erörtert werden.

#### **1.4 Fragestellung**

In dieser Arbeit sollte die Bedeutung des Fells (Winterhaarkleid) von Rehen bei der Übertragung von Bakterien untersucht und möglichst auch quantifiziert werden. In Anlehnung an bereits erarbeitete Versuchsdesigns (Pöllitzer 2020) wurde dabei das trockene Fell mit einer bakterienhaltigen festen Oberfläche oder einer Bakteriensuspension in Kontakt gebracht und dann die Abgabe der Mikroorganismen vom Fell auf ein Fleischsurrogat untersucht. Damit wurde eine in der Praxis der Versorgung des erlegten Wildes vorkommende Situation nachgestellt, dass nämlich Fellteile mit ausgeflossenem Darminhalt (entweder wegen eines Durchfallgeschehens oder durch unsachgemäßes Eviszerieren sowie im Falle eines Weichschusses, wo aufgrund eines falsch platzierten Schusses die Eingeweide durch das Geschoss eröffnet werden können) kontaminiert werden und dass beim nachfolgenden Transport der ausgeweideten Tierkörper oder auch später während der (feuchten oder trockenen) Kühllagerung bzw. später beim Enthäuten diese kontaminierten Fellteile Kontakt zu Fleischoberflächen haben. Es sollte auch das Ausmaß der Bakterienkontamination von

Messerklingen, mit denen kontaminiertes Fell beim Enthäuten durchgeschnitten wird, bestimmt werden.

## **2. Material und Methoden**

### **2.1 Felle**

Die verwendeten 17 Felle (Winterhaarkleid) wurden von JägerInnen zur Verfügung gestellt und mit der Fellseite nach innen zusammengelegt, dann vakuumverpackt und bis zur Verwendung tiefgekühlt gelagert (5-7 Monate). Vor der Verwendung wurden die Felle bei 2 °C über Nacht angetaut. Danach wurden ca. 7 x 7 cm große Stücke aus den ventralen Brust/Bauch- (n = 32) und Rückenpartien (n = 40) geschnitten (Abb. 1). Es wurden nur optisch saubere Fellteile verwendet, sodass sich die Probenzahl verringerte. Für die nachfolgenden Versuche wurden schließlich 69 Fellstücke zufällig den Experimenten zugeteilt. Je nach Versuchsreihe wurde dabei ein Fellstück als eine Probeneinheit verwendet oder es erfolgte eine Teilung in 3-4 Untereinheiten je Fellstück.



Abb.1: Für die Versuche verwendete Fellstücke

### **2.2 Herstellung des Inokulums**

Das Inokulum wurde aus Lyophilisaten von *E. coli* NTNC 9001 und ATCC 11303 (Liofilchem) hergestellt, von denen je ein Pellet in 9 ml gepuffertem Peptonwasser (Oxoid BM1104) über Nacht bei 37 °C bebrütet wurde. Ein Milliliter dieser Kultur wurde in 1 l

gepuffertes Peptonwasser verbracht und diese Suspension wurde dann über Nacht bei 37 °C bebrütet.

Von dieser Kultur wurden dezimale Verdünnungsreihen angelegt (Kochsalz-Peptonlösung; Oxoid CM733). Aus diesen Verdünnungsreihen wurde die Bakterienkonzentration bestimmt. Je 0,1 ml der Suspensionen wurden auf Coli-ID Agar (Biomerieux) pipettiert und mittels Drigalski-Spatel verstrichen. Die Nährböden wurden bei 37 °C für 24 h bebrütet und dann die typisch rosafarbenen Kolonien ausgezählt.

### **2.3 Inokulation der Rehfelle über Agarkontaktverfahren und semiquantitative Beprobung mittels Agar-Abklatschmethode**

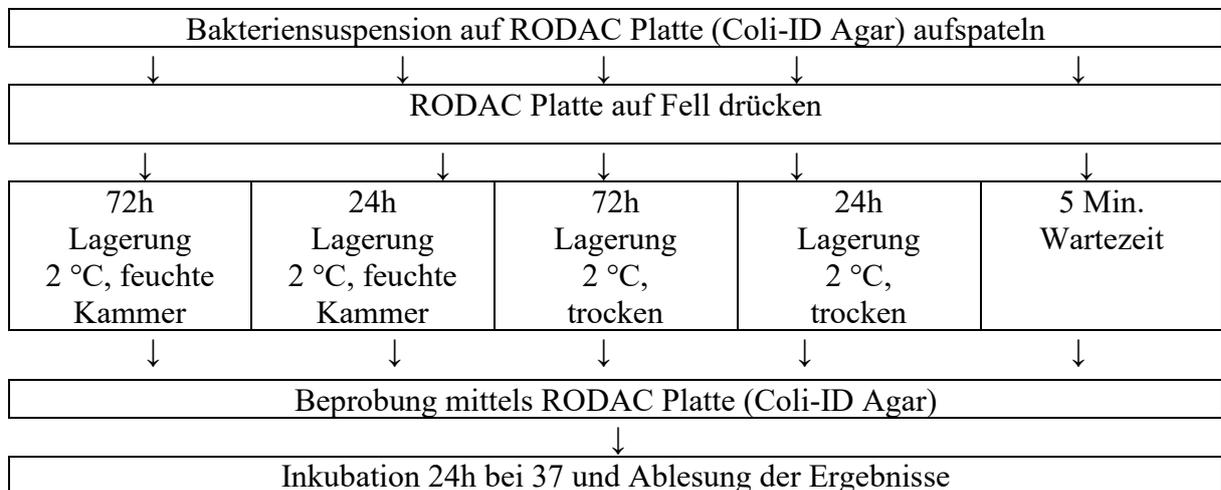
Von der Kultur und den dezimalen Verdünnungsreihen (bis  $10^{-7}$ ) wurden 0,1 ml auf VRBD-Replicate Organism Detection And Counting (RODAC) Agar aufpipettiert und mit einem Drigalski-Spatel verstrichen (Abb. 2). Die Platte wurde nun innerhalb von 5 Min. auf eine trockene Rehfellprobe gedrückt, um den Kontakt des Felles mit einer fäkal verschmutzten Oberfläche zu simulieren. Anpressdruck und -dauer waren reproduzierbar (Verwendung eines Count-Tact Applikators, Fa. BioMerieux). Dabei wurden je 7 x 7 cm großem Fellstück 3-4 Areale inokuliert. Die Rehfelle wurden entweder nach 5 Min. oder nach ein- bzw. dreitägiger Lagerung bei 2 °C mittels Agar-Abklatschverfahren (Coli-ID auf RODAC Platten) und Count-Tact Applikator beprobt, um die Kontamination einer Fleischoberfläche durch Kontakt mit kontaminiertem Fell zu simulieren, dabei stellte die RODAC Platte das Fleischsurrogat dar. Während der Lagerung für 1 Tag bzw. 3 Tage wurden die Felle entweder offen, unverpackt (1-2°C, 55% rH), oder in einer feuchten Kammer (dicht verschließbare Kunststoffkiste mit Wasserschale und Tablett zur Aufnahme der Probe und eingebautem Hygrometer; kondensierende Feuchtigkeit bzw. 100% rH) gelagert.

Je Beprobungstermin wurde ein eigenes Areal auf jedem Fellstück verwendet. Die Nährböden wurden 24h bei 37 °C bebrütet und dann die Koloniezahl je Agarplatte bestimmt.

Rasenwachstum wurde als „Rasen“, kein Wachstum mit <1 Kolonien/Platte bezeichnet; bei Nährböden mit zahlreichen, aber noch mit der Lupe separat erkennbaren Kolonien wurde bis zu einer Koloniezahl von 300 Kolonien je Platte gezählt, bei Ergebnissen über 300 wurde „Rasen“ bzw.  $>2,5 \log_{10}/20 \text{ cm}^2$  angegeben.

Es wurde zuerst je ein Versuch mit einem Fellstück je Beprobungstermin durchgeführt, und danach je 2 Versuche mit 3 Rehfellstücken je Termin (Tab. 2). Insgesamt wurden 24 Fellstücke verwendet. Bei 3 weiteren Fellstücken wurde die Zahl von nativ vorhandenen *E. coli* mittels Abklatschverfahren bestimmt (Kontrollen).

Abb. 2: Ablauf der Versuche mit Beimpfung der Rehfelle mittels Agarkontaktverfahren und semiquantitativer Beprobung der gelagerten Rehfelle mittels Agar-Abklatschmethode.



Tab. 2: Übersicht zur Anzahl der Proben (exkl. Kontrollen)

Versuch	Beprobung nach 5 Minuten	Beprobung nach 24h, trockene Lagerung	Beprobung nach 72h, trockene Lagerung	Beprobung nach 24h, feuchte Lagerung	Beprobung nach 72h, feuchte Lagerung
1	1	1	1	-	-
2	1	-	-	1	1
3	3	3	3	-	-

4	3	-	-	3	3
---	---	---	---	---	---

#### **2.4 Inokulation der Rehelle durch direktes Aufbringen der *E. coli* Suspension und simulierte Kontamination der Messerklingen beim Enthäuten**

Die Kontamination des Felles durch bakterienhaltige Flüssigkeiten wurde wie von Pöllitzer (2020) beschrieben vorgenommen. Es wurde jeweils ein 7 x 7 cm großes Fellstück, mit der Haarseite nach unten, über ein 250 ml Becherglas (60 mm Durchmesser) gespannt und mit einem breiten Gummiring fixiert. Im Becherglas befanden sich 25 ml einer *E. coli* Suspension. Das Becherglas wurde umgedreht und 5 Min. so belassen, damit die Bakteriensuspension das Fell benetzen konnte. Dann wurde das Becherglas wieder mit der Bodenseite nach unten gestellt. Nach einer Abtropfzeit von 5 Min. wurde das Fell abgenommen, die überschüssige Bakteriensuspension abgegossen und die Haut mit der Fellseite nach unten über das Becherglas gelegt und mit Gummiringen fixiert (Becherglas und Fell bildeten eine feuchte Kammer) oder es wurde das Fellstück mit der Hautseite nach unten auf ein sterilisiertes Edelstahltablett gelegt („trockene“ Lagerung). In dieser Zusammenstellung wurden die Proben nun bei 2 °C für 3 Tage im Kühlraum gelagert. Danach wurde die Hautinnenseite mit 70%igem Ethanol abgewischt, 10 Min. bis zur Trocknung gewartet und dann ein sterilisiertes Messer mit einer Klingenslänge von 89 mm, 19 mm Breite und 2 mm Dicke, von der Hautseite kommend, durch das Fell gestoßen und wieder zurückgezogen. Damit wurde die bei der Enthäutung übliche Durchtrennung der Haut „von innen nach außen“ nachgestellt. Rechte und linke Seite der Messerklinge wurden dann auf einen RODAC Coli-ID Nährboden gedrückt (gesamt beprobte Fläche 20 cm<sup>2</sup>, bzw. 1/2 der Klingensoberfläche) und dieser bebrütet. Danach wurde ein RODAC Coli-ID Nährboden auf die Fellseite gedrückt. Bebrütung und Koloniezählung erfolgten wie unter Abschnitt 2.3. Es wurden jeweils 3 Replikate angefertigt. Als Kontrollen dienten 3 nicht mit *E. coli* beimpfte Fellstücke.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1 Semiquantitative Keimzahlbestimmung auf kontaminiertem Rehfell mittels Agar-Abklatschmethode

Die Ergebnisse der Beprobung der kontaminierten Rehfelle mittels Agar-Abklatschmethode sind in den Tab. 3-6 dargestellt. Bei den Untersuchungen mit je einer Fellprobe (Tab. 3,4) zeigte sich, dass mit zunehmender Lagerungsdauer die Anzahl der über Abklatschverfahren wiederfindbaren *E. coli* geringer wurde. Bei den trocken gelagerten Proben (Tab. 3) war dies deutlicher als bei den feucht gelagerten Proben (Tab. 4).

Bei den im Dreifachansatz durchgeführten Versuchen (Tab. 5,6) war ebenfalls eine Verringerung der über Agarkontaktverfahren wiederfindbaren *E. coli* nach Lagerung der inokulierten Felle zu beobachten.

Nach einer dreitägigen Lagerung waren bei den trocken gelagerten Fellen bei den beiden höchsten Kontaminationsstufen Medianwerte von 2,0 und 1,0  $\log_{10}$  *E. coli*/ 20 cm<sup>2</sup> nachweisbar, bei den niedrigeren Kontaminationsstufen waren die Medianwerte unter der Nachweisgrenze (Tab. 5).

Bei den feucht gelagerten Fellen waren nach dreitägiger Lagerung die Medianwerte für die beiden höchsten Kontaminationsstufen mit >2,5 und 2,3  $\log_{10}$  *E. coli*/ 20 cm<sup>2</sup> höher, in der nachfolgenden Verdünnungsstufe war der Medianwert 1,3  $\log_{10}$  *E. coli*/ 20 cm<sup>2</sup> (Tab. 6).

Aus diesen Ergebnissen kann vorsichtig abgeschätzt werden, dass auf dem feuchten Fell die Wiederfindung von *E. coli* um etwa den Faktor 10 besser war als auf dem trockenen Fell.

Bei den 3 nativen Fellstücken (Kontrollproben) konnten mittels Agarkontaktverfahren keine *E. coli* nachgewiesen werden.

Tab. 3: Ergebnisse der Beprobung der kontaminierten und trocken gelagerten Rehfelle mittels Agar-Abklatschmethode (n = 1), in log<sub>10</sub> Kbe/ 20 cm<sup>2</sup>

Verdünnungsstufe	Aufgebracht auf RODAC Platte	Keimzahl auf Fell nach 5 Min.	Keimzahl auf Fell nach 24 h, 2 °C	Keimzahl auf Fell nach 72 h, 2 °C
1	7,2	>2,5	2	1,8
2	6,2	2,5	<0	0,8
3	5,2	2,5	<0	0,5
4	4,2	2,2	<0	0,3
5	3,2	1,7	<0	0,3
6	2,2	0,7	<0	<0
7	1,2	<0	<0	0
8	0,2	<0	<0	<0

Rasenwachstum wurde als >2,5 angegeben; <0 bedeutet, dass auf der RODAC Platte keine *E. coli* wuchsen; 0, dass 1 Kolonie anwuchs. Dunkelgraue Felder weisen auf Ergebnisse über, hellgraue Felder auf Ergebnisse unter der Nachweisgrenze.

Tab. 4: Ergebnisse der Beprobung der kontaminierten und feucht gelagerten Rehfelle mittels Agar-Abklatschmethode (n = 1), in log<sub>10</sub> Kbe/ 20 cm<sup>2</sup>

Verdünnungsstufe	Aufgebracht auf RODAC Platte	Keimzahl auf Fell nach 5 Min.	Keimzahl auf Fell nach 24 h, 2 °C	Keimzahl auf Fell nach 72 h, 2 °C
1	7,2	>2,5	>2,5	2,5
2	6,2	2,5	2,4	1,4
3	5,2	2,5	1,2	1,0
4	4,2	2,3	<0	0,5
5	3,2	1,8	<0	0,7
6	2,2	1,3	<0	<0
7	1,2	1,0	<0	<0
8	0,2	0,3	<0	<0

Rasenwachstum wurde als >2,5 angegeben; <0 bedeutet, dass auf der RODAC Platte keine *E. coli* wuchsen. Dunkelgraue Felder weisen auf Ergebnisse über, hellgraue Felder auf Ergebnisse unter der Nachweisgrenze.

Tab. 5: Ergebnisse der Beprobung der kontaminierten und trocken gelagerten Rehfelle mittels Agar-Abklatschmethode (n = 3), in log<sub>10</sub> KbE/ 20 cm<sup>2</sup>

Aufgebracht auf RODAC Platte	Beprobung nach								
	5 Min.	5 Min.	5 Min.	24 h	24 h	24 h	72 h	72 h	72 h
7,2	>2,5	>2,5	>2,5	>2,5	>2,5	>2,5	1,5	2,3	2,0
6,2	>2,5	>2,5	>2,5	>2,5	>2,5	>2,5	0,9	1,3	1
5,2	>2,5	>2,5	>2,5	2,1	2,2	1,6	<0	<0	0,9
4,2	1,9	1,5	1,9	1,1	1,5	<0	<0	0	<0
3,2	0,5	1,0	1,0	0,3	0	<0	<0	<0	0
2,2	0	0,7	0,3	0,8	<0	<0	<0	<0	0
1,2	0	<0	0,30	<0	0	<0	<0	<0	<0
0,2	<0	0,3	<0	<0	<0	<0	<0	<0	<0

Rasenwachstum wurde als >2,5 angegeben; <0 bedeutet, dass auf der RODAC Platte keine *E. coli* wuchsen; 0, dass 1 Kolonie anwuchs. Dunkelgraue Felder weisen auf Ergebnisse über, hellgraue Felder auf Ergebnisse unter der Nachweisgrenze.

Tab. 6: Ergebnisse der Beprobung der kontaminierten und feucht gelagerten Rehfelle mittels Agar-Abklatschmethode (n = 3), in log<sub>10</sub> KbE/ 20 cm<sup>2</sup>

Aufgebracht auf RODAC Platte	Beprobung nach								
	5 Min.	5 Min.	5 Min.	24 h	24 h	24 h	72 h	72 h	72 h
7,2	>2,5	>2,5	>2,5	>2,5	>2,5	>2,5	>2,5	>2,5	>2,5
6,2	>2,5	>2,5	>2,5	>2,5	2,1	2,2	2,3	2,3	2,3
5,2	>2,5	>2,5	>2,5	>2,5	1,6	1,7	1,3	1,0	1,5
4,2	1,9	1,5	1,9	2,3	0,5	0,3	0	<0	0,9
3,2	0,5	1,0	1,0	1	0	0,3	<0	<0	0,3
2,2	0	0,7	0,3	0,7	0,3	0,5	<0	<0	<0
1,2	0	<0	0,3	0	0	0	<0	<0	<0
0,2	<0	0,3	<0	0	0	<0	<0	<0	<0

Rasenwachstum wurde als >2,5 angegeben; <0 bedeutet, dass auf der RODAC Platte keine *E. coli* wuchsen; 0, dass 1 Kolonie anwuchs. Dunkelgraue Felder weisen auf Ergebnisse über, hellgraue Felder auf Ergebnisse unter der Nachweisgrenze.

### **3.2 Inokulation der Rehfelle durch direktes Aufbringen der *E. coli* Suspension und simulierte Kontamination des Messers beim Enthäuten**

Für diesen Versuch wurden Kontaminationslösungen mit *E. coli* Konzentrationen von  $1,74 \times 10^6$  KbE/ml bis  $1,74 \times 10^4$  KbE/ml verwendet. Von dem Fellstück wurden durchschnittlich 2,2 ml Flüssigkeit aufgenommen. Daraus ergab sich unter Berücksichtigung der Querschnittsfläche des verwendeten Becherglases ( $28 \text{ cm}^2$ ) eine geschätzte Kontamination von ca. 137.000 bis 1.370 KbE/cm<sup>2</sup> bzw. 5,1 bis 3,1 log<sub>10</sub>KbE/cm<sup>2</sup> Fell ( $6,4-4,4 \text{ log}_{10} \text{ KbE}/20 \text{ cm}^2$  Fell, d.h. der von der RODAC Platte beprobaren Fläche). Die Ergebnisse der Beprobung der Felle und der Messerklingen, mit denen Haut und Fell durchtrennt worden waren, sind in Tabelle 6 zusammengestellt. Anders als bei der Kontamination des Fells durch eine auf RODAC Platten befindliche *E. coli* Kultur (Tab. 3-6) war nach dreitägiger Lagerung der mit einer Flüssigkultur kontaminierten Felle sowohl nach trockener als nach feuchter Lagerung fast immer ein Rasenwachstum von *E. coli* nachweisbar (Tab. 7 oben). Bei der Beprobung der Messerklinge ergaben sich aber für durch trocken gelagerte Felle gestoßene Messerklingen um ca. 1-2 log-Stufen niedrigere Werte als für durch feucht gelagerte Felle gestoßene Klingen (Tab. 7 unten). Dass bei den Messerklingen, aber nicht bei den Fellen ein deutlicher Unterschied zwischen feuchter und trockener Lagerung gefunden wurde, kann mit der (niedrigen) oberen Nachweisgrenze des verwendeten Agarkontaktverfahrens zu tun haben. Bei den 3 nativen Fellstücken (Kontrollproben) konnten mittels Agarkontaktverfahren keine *E. coli* nachgewiesen werden.

Tab. 7: Ergebnisse der Beprobung der kontaminierten 3 Tage gelagerten Rehfelle und von Messerklingen, mit denen Haut und Fell durchtrennt worden waren. Agar-Abklatschmethode, Ergebnisse in  $\log_{10}\text{KbE}/20\text{ cm}^2$

Inokulum (pro 20 cm <sup>2</sup> )	Lagerung 72 h, 2 °C, trocken			Lagerung 72 h, 2 °C, feucht		
	6,4	5,4	4,4	6,4	5,4	4,4
Haut	>2,5	>2,5	1,4	>2,5	>2,5	>2,5
Haut	>2,5	>2,5	1,5	>2,5	>2,5	>2,5
Haut	>2,5	>2,5	1,7	>2,5	>2,5	>2,5
Messer	<0	1,1	0,3	>2,5	>2,5	1,6
Messer	1,8	<0	<0	2,3	>2,5	1,6
Messer	1,5	<0	<0	>2,5	2,1	0,9

Rasenwachstum wurde als >2,5 angegeben; <0 bedeutet, dass auf der RODAC Platte keine *E. coli* wuchsen. Dunkelgraue Felder weisen auf Ergebnisse über, hellgraue Felder auf Ergebnisse unter der Nachweisgrenze.

## 4. Diskussion

### 4.1 Versuchsdesign

Für die Versuche wurde *E. coli* als mesophile Hygieneindikatorkeim gewählt, dessen Nachweis auf Lebensmitteln eine fäkale Kontamination anzeigt (Bauer u. Smulders 2015). Das Bakterium ist mesophil, d.h. es ist bei den vorgeschriebenen Kühltemperaturen (so, dass die Fleischtemperatur nicht mehr als 7 °C beträgt; VO (EG) Nr. 853/2004) keine Vermehrung zu erwarten (Weber 2010).

Eine Kontamination des Fells wurde sowohl durch Kontakt mit festen bakterienhaltigen Medien als auch durch Aufbringen einer bakterienhaltigen Suspension vorgenommen. Bei letzterer wurde das Becherglas mit dem aufgespannten Fell etwas bewegt, damit die Flüssigkeit auch guten Kontakt mit den Haaren hatte, da das Rehfell an sich einen Schutz gegen das Eindringen von Wasser zwischen den Haaren bietet (Feder und Arias 1992), z.T. auch weil die Haare durch Sekret aus den Talgdrüsen gefettet werden (Salomon et al. 2008).

Die Beprobung erfolge über ein nicht-destruktives Verfahren (Agar-Abklatsch). Es ist dabei zu erwarten, dass nicht alle an der Oberfläche vorhandenen Bakterien damit erfasst werden, während bei einer destruktiven Probenahme, die die vorhandenen Bakterien im Prinzip großteils oder zur Gänze in Suspension gebracht werden können, die Wiederfindung sicher höher wäre. Dies wurde für das nicht-destruktive Tupfverfahren im Vergleich mit destruktiver Probenahme an Tierkörpern nachgewiesen (Palumbo et al. 1999; Pearce u. Bolton 2005). Allerdings werden offensichtlich auch bei destruktiver Probenahme von Fellen und Mazeration in Knetmischgeräten (Stomacher) doch nicht alle Mikroorganismen in Suspension gebracht (Pöllitzer 2020). Für die Fragestellung der vorliegenden Arbeit ist dies aber von untergeordneter Bedeutung, da ja gerade die Abgabe von Bakterien durch Kontakt zweier Oberflächen untersucht werden soll. Bei der Interpretation der Ergebnisse ist lediglich zu beachten, dass der „Nicht-Nachweis“ von Bakterien über Agarkontaktverfahren nicht automatisch bedeutet, dass keine vermehrungsfähigen Bakterien vorhanden waren, sondern ev. fest an Haare gebunden und/oder in tieferen Schichten des Haarkleids gelegen sein könnten. Insofern ist nicht nur die Simulation des Kontakts Felloberfläche mit Fleischoberfläche (Agarplatte als Surrogat), wie sie beim Enthäuten auftreten kann, sondern auch die Durchtrennung der Haut von innen nach außen ein relevantes Szenario, wobei hier

primär die Messerklinge verschmutzt würde, von der eine Übertragung von Bakterien auf Fleisch möglich ist (sofern keine Zwischendesinfektion erfolgt), d.h. es sind zwei Kontakte erforderlich: Fell → Messerklinge → Fleischoberfläche. Aus Studien zu Kontaminationsereignissen beim Umgang mit Lebensmittel ist bekannt, dass der über Oberflächenkontakte übertragbare Bakterienanteil (Transferrate) sehr variabel sein kann, von deutlich unter 1% bis zu zweistelligen Prozentzahlen (d.h. dass die Zahl der übertragenen Bakterien um  $>2$  bis ca.  $1 \log_{10}$  Stufe niedriger ist als auf der Oberfläche vorhanden sind (Paulsen et al. 2009).

Die Überlegungen zur „Wiederfindung“ von Bakterien mittels Agarkontaktverfahren gelten sinngemäß auch für die Kontamination des Fells mit der bakterienhaltigen Agaroberfläche (Pöllitzer 2020). Für die vorliegende Arbeit hat das keine unmittelbare Bedeutung, da keine Transferraten berechnet wurden, sondern der zeitliche Verlauf der „Wiederfindung“ von Bakterien mittels Agarkontaktverfahren untersucht wurde.

Für die Bewertung der Ergebnisse ist von Bedeutung, dass aus den Kontrollproben *E. coli* mittels Agarkontaktverfahren nicht nachgewiesen werden konnte. Das wurde auch von Pöllitzer (2020) für das Sommerhaarkleid von Rehen berichtet.

#### **4.2 Übertragung von *E. coli* vom kontaminierten Fell auf RODAC-Platten (als Fleischsurrogat)**

Bei diesem Versuch wurden die Fellteile zuerst über ein Agarkontaktverfahren kontaminiert. Während die Bakteriendichte auf der Agarplatte bekannt war, wurde die tatsächlich auf das Fell übertragene Bakterienzahl nicht ermittelt. Die Kontamination erfolgte mit verschiedenen Bakteriendichten (in dezimalen Verdünnungsstufen von  $7,2 \log_{10}$  Kbe/20 cm<sup>2</sup> absteigend) und bei niedrigeren Bakteriendichten waren auch von den Rehfellen niedrige Bakterienzahlen mittels RODAC Abklatschplatten rückgewinnbar. Da auf den RODAC Platten ab etwa 300 Kolonien / Platte ein Rasenwachstum vorlag, war bei hohen initialen Kontaminationsstufen anfänglich (5 min. nach Kontamination des Fells) auf den RODAC Platten auch Rasenwachstum nachweisbar, etwa ab initialen Keimzahlen von  $4,2-3,2 \log_{10}$  Kbe/20 cm<sup>2</sup> waren auf den RODAC Platten um 100 Kolonien (bzw.  $2 \log_{10}$  Kbe/20 cm<sup>2</sup>) nachweisbar.

Das bedeutet, dass in diesen Kontaminationsbereichen etwa  $1/10^{2,2}$  bis  $1/10^{1,2}$  (bzw. 0,64 oder 6,4 %) der Bakterien effektiv übertragen (d.h. von der das Fell kontaminierenden Oberfläche auf die durch das Fell kontaminierende Fläche) wurde. Eine ähnliche Größenordnung wurde auch von Pöllitzer (2020) für das Sommerhaarkleid von Rehen berichtet.

Nach der dreitägigen Lagerung war die auf feucht gelagerten Fellen durch Beprobung mit RODAC Agarplatten ermittelten Zahl an *E. coli* immer höher als bei den trocken gelagerten Fellen. Auch bei Versuchen mit dem Sommerhaarkleid wurde diese Beobachtung gemacht (Pöllitzer 2020). Das ist insofern nicht unerwartet, da bei Schlachttieren bekannt ist, dass nasse Felle beim Enthäuten ein höheres Risiko für die mikrobielle Kontamination der freigelegten Fleischoberflächen haben als trockene Felle (Antic et al. 2010). Das Verhältnis der Keimzahlen am Fell zu jenen an den Fleischoberflächen wurde auch als Indikator für die hygienische Arbeitsweise von Schlachtbetrieben diskutiert (Blagojevic et al. 2011, 2012).

Zu beachten ist, dass die Kontamination der Rehfelle mit *E. coli* keine sichtbaren oder geruchlichen Veränderungen am Fell bewirkte.

#### **4.3 Bedeutung des Fells als mögliche Kontaminationsquelle beim Enthäuten**

Wenn die Kontamination von Rehfellen durch Aufbringen eines flüssigen Mediums simuliert wird, ist die Kontamination des Fells anders als bei der Kontamination durch Kontakt mit einer Agarplatte zwar genau berechenbar, es ist aber davon auszugehen, dass das Fell in der gesamten Tiefe bzw. entlang der gesamten Haarlänge kontaminiert werden kann. Bei einer Beprobung mittels RODAC Platten wäre daher eine geringere Zahl wiederfindbarer Bakterien zu erwarten. Die initiale Kontaminationsstärke war zwar abgestuft (4,4-5,4-6,4  $\log_{10}$  KbE/20  $\text{cm}^2$ ), aber es war in den Kontaminationsstufen 5,4 und 6,4  $\log_{10}$  KbE/20  $\text{cm}^2$  nach dreitägiger Lagerung (feucht oder trocken) immer Rasenwachstum nachweisbar, sodass nicht abgeschätzt werden kann, welcher Prozentsatz an Bakterien übertragen wurde. Bei der Kontaminationsstufe 4,4  $\log_{10}$  KbE/20  $\text{cm}^2$  war nach feuchter Lagerung immer (3/3), nach trockener Lagerung in 2 von 3 Proben Rasenwachstum nachweisbar. Wenn eine Messerklinge durch die Hautseite in das Fell gestoßen wurde, um das Durchtrennen der Haut beim Enthäuten zu simulieren, waren die Keimzahlen auf der Messerklinge niedriger als auf dem

Fell. Es handelt sich dabei aber um den schon oben beschriebenen zweistufigen Kontaminationsvorgang Fell→Messerklinge→Fleischoberfläche (RODAC Platte als Fleischsurrogat). Die in zählbaren Größenordnungen erhaltenen Ergebnisse wiesen eine gewisse Streuung auf, sodass die effektive Übertragung etwa im Bereich  $1/10^4$  (0,01 %) nach trockener und  $1/10^3$  (0,1 %) nach feuchter Lagerung lag. Diese Übertragungsrate mutet niedrig an, aber es wurde hier nur ein Stich vorgenommen und nicht ein längerer Schnitt geführt, entlang dessen Kanten die Kontamination der Klinge wohl größer gewesen wäre.

#### 4.4 Bedeutung für die Wildfleischhygiene

Erlegtes Großwild wird ausgeweidet und dann unenthäutet gekühlt gelagert und in den Wildbearbeitungsbetrieb verbracht (VO (EG) Nr. 853/2004). Vom Erlegen bis zum Einlangen im Wildbearbeitungsbetrieb bzw. in dessen Kühlhaus vergehen durchschnittlich 6-8 Tage (Paulsen et al. 2015, Staubmann 2017, Herbsthofer 2019). Während dieser Zeit kann das Fell der Wildtierkörper durch Kontakt mit anderen Oberflächen kontaminiert werden oder wenn das Fell Kontakt zu Fleischoberflächen anderer Wildtierkörper hat, können diese kontaminiert werden. Dies kann bei zu enger Lagerung während des Transports oder im Kühlraum geschehen. Es ist daher ein Übereinanderlegen der Tierkörper beim Transport verboten (VO (EG) Nr. 853/2004) und die Bearbeitung des Tierkörpers und Fleisches hat so zu erfolgen, dass eine Kontamination des Fleisches so weit wie möglich vermieden wird (VO (EG) Nr. 853/2004).

Wie schon in einer Arbeit über kontaminierte Felle von Rehen im Sommerhaarkleid (Pöllitzer 2020) ergab sich auch in dieser Studie bei Winterfellen von Rehen, dass mit *E. coli* kontaminierte Felle über direkten Kontakt mit Fleisch oder indirekt beim Enthäuten via Messerklinge als Kontaminationsquelle für Muskelfleisch von Wild Bedeutung haben können. Beim Durchschneiden von kontaminierten Fellen führt auch die hygienisch korrekte Schnittführung (d.h. die Haut von der Fleischseite nach außen zu durchtrennen) zu einer Kontamination der Messerklinge, was eine regelmäßige Desinfektion der Messer nötig macht. Es zeigt sich auch wie in der Arbeit von Pöllitzer, dass feuchte Felloberflächen weitaus kritischer zu beurteilen sind als trockene. Dieser Umstand ist bei der Schlachthygiene von

landwirtschaftlichen Nutztieren bekannt (Antic et al. 2010), muss aber auch in der Wildfleischhygiene berücksichtigt werden.

## 5. Zusammenfassung

Nach der Erlegung von freilebendem Großwild wird dieses evisceriert und der ausgeweidete Tierkörper im Fell in den Kühlraum verbracht und gelangt von dort ggf. über ein zugelassenes Kühlhaus in den Wildbearbeitungsbetrieb bzw. in dessen Kühlhaus. Temperaturwechsel, Kondensation von Feuchtigkeit und der Kontakt des Fells mit anderen Oberflächen sind zu vermeiden.

In dieser Arbeit wurde die Übertragung von Bakterien von Rehellen (Winterhaarkleid) auf Kontaktflächen untersucht. Es wurden dabei der Kontakt von mit *E. coli* kontaminierten Rehellen mit einem Fleischsurrogat (RODAC Agarkontakt Nährboden) und einer Messerklinge, die dann Kontakt mit Fleisch hat, modellhaft ausgewählt.

In den ersten Versuchsreihen wurden die Rehelle durch Kontakt mit einem bakterienhaltigen Nährboden (verschiedene Konzentrationen von *E. coli* NTNC 9001 und ATCC 11303) kontaminiert (= Kontakt des Fells mit einer kontaminierten Oberfläche) und unmittelbar danach bzw. nach ein- und dreitägiger Lagerung im Kühlraum (2 °C, 55 % rH oder 100 % rH-kondensierend) die Felle mit dem RODAC Agarkontakt Nährboden in Kontakt gebracht (= Kontakt des Fells mit Fleischsurrogat). Nach dreitägiger Lagerung bei 55 % rH war die Zahl der über Kontakt übertragenen Bakterien deutlich verringert, bei den feucht gelagerten Fellen war die Verringerung schwächer ausgeprägt.

Bei den folgenden Versuchsreihen wurde das Fell mit einer Bakteriensuspension inokuliert und nach dreitägiger Lagerung bei 2 °C (55 und 100 % rH) die Abgabe der Mikroorganismen vom Fell auf das Fleischsurrogat (RODAC) und eine Messerklinge und von dort auf das Fleischsurrogat studiert. Wenn mit  $4,4 \log_{10}$  KbE *E. coli* /20 cm<sup>2</sup> kontaminierte Felle nach dreitägiger feuchter Lagerung mit RODAC Agarkontakt Nährböden in Kontakt gebracht wurden, war nach feuchter Lagerung immer (3/3), nach trockener Lagerung in 2 von 3 Proben Rasenwachstum nachweisbar. Es wurde eine Messerklinge durch die Hautseite in das Fell gestoßen (= Durchtrennen der Haut beim Enthäuten), und dann die Klinge mit dem RODAC Nährboden in Kontakt gebracht (zweistufiger Kontaminationsvorgang Fell→Messer Klinge→Fleischoberfläche). Die effektive Übertragung betrug ca. 0,01 % nach trockener und 0,1 % nach feuchter Lagerung. Die Ergebnisse zeigen, dass der Luftfeuchtigkeit während der Lagerung von Großwild-Tierkörpern hygienische Bedeutung zukommt.

## 6. Summary

### **Transfer of bacteria from the skin (winter fleece) of roe deer to meat surfaces**

Hunted large wild game is eviscerated without delay and the eviscerated fur-on carcass is stored refrigerated and then transported to an approved game handling establishment or to its cooling room. Occasionally, a cooling room for collecting carcasses is interposed in this chain. In this period, changes in ambient temperature, humidity and contact of fur with other surfaces must be avoided.

In this thesis, the transfer of bacteria from fleece of roe deer (winter fur) to contact surfaces was studied. In particular, the contact of fur that had been contaminated with *E.coli* with a meat surrogate (RODAC agar plate) and a knife blade, which then had contact with meat (surrogate), was studied.

In the first series of experiments, roe fur was contaminated by contact with an agar plate containing different concentrations of *E. coli* (NTNC 9001 and ATCC 11303), to simulate the contact of the fur with a contaminated surface. Immediately after this contamination and after 1 or 3 days of storage at 2 °C, 55 % rH or 100 % rH (condensing humidity), furs were brought in contact with a RODAC agar plate to simulate contact of contaminated fur with a meat surface. Numbers of bacteria recovered on RODAC plates after 3 days storage at 55 % rH, numbers of bacteria recovered in RODAC agar was lower than when the fur had been sampled immediately or 1 day after its contamination. A less pronounced reduction was noted for the furs stored at 100 % rH.

In subsequent experiments, fur was contaminated with a suspension of *E. coli*. After 3 days storage (2 °C; 55 and 100 % rH), furs were brought in contact with RODAC plates (to simulate contact of fur with meat) and a knife blade was stabbed through the fur from the skin-side to the fur side and then the blade was sampled with a RODAC plate. When furs contaminated with 4.4 log CFU *E. coli* /20 cm<sup>2</sup> and stored for 3 days were sampled with RODAC, confluent growth was observed in all samples (3/3) stored at 100 % rH, and in 2/3 samples stored at 55 % rH. When the knife blade was tested with RODAC plates (two

surface-surface contamination events), the transfer of bacteria from skin via knife to meat surrogate was in the order of 0.01 % for furs stored at 55 % rH and 01 % for furs stored at 55 % rH. The results indicate that relative air humidity during storage of fur-on carcasses is relevant for game meat hygiene.

## 7. Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
cm	Zentimeter
ggf	gegebenenfalls
d. h.	das heißt
E. col	Escherichia coli
H	Stunde
KbE	koloniebildende Einheiten
Kg	Kilogramm
rH	relative Humidity/relative Luftfeuchtigkeit
Log	Dekadischer Logarithmus/Zehnerlogarithmus
Min.	Minuten
Mm	Millimeter
ml	Milliliter
PCA	Plate Count Agar
RODAC	Replicate Organism Detection And Counting
Tab.	Tabelle
VO EG	Verordnung der Europäischen Gemeinschaft
VRBD-Agar	Violet-Red-Bile-Dextrose-Agar
z.B.	zum Beispiel
µm	Mikrometer
+	plus/positiv
-	minus/negativ
X	mal
%	Prozent
°C	Grad Celsius

## 8. Literaturverzeichnis

- Antic D, Blagojevic B, Ducic M, Nastasijevic I, Mitrovic R, Buncic S. 2010. Distribution of microflora on cattle hides and its transmission to meat via direct contact. *Food Control*, 21: 105-1029
- Blagojevic B, Antic D Ducic M, Buncic S. 2012. Visual cleanliness scores of cattle at slaughter and microbial loads on the hides and the carcasses. *Veterinary Record*, 170: 563.
- Blagojevic B, Antic D Ducic M, Buncic S. 2011. Ratio between carcass-and skin-microflora as an abattoir process hygiene indicator. *Food Control*, 22: 186-190.
- Bauer A, Smulders FJM. [Hrsg.] 2015. Tierproduktion und veterinärmedizinische Lebensmittelhygiene: ein synoptisches Lehrbuch. 2.Aufl. Wageningen: Academic Publishers; 2015
- BMASKG. 2013. Leitlinie für eine gute Hygienepraxis und die Anwendung der Grundsätze des HACCP bei Schlachtung von Farmwild. Veröffentlicht mit Geschäftszahl: BMG-75210/0050-II/B/7/2009 vom 7.1.2010 Änderungen, Ergänzungen BMG-75210/0004-II/B/13/2013 vom 29.1.2013
- BMG. 2014. Österreichisches Lebensmittelbuch IV. Auflage Kapitel / A 2 / Hygiene, Leitlinie für eine gute Hygienepraxis und die Anwendung der Grundsätze des HACCP bei der Schlachtung und Zerlegung von Rindern, Schweinen, Schafen, Ziegen und Einhufern sowie bei der Herstellung von Fleischerzeugnissen. Veröffentlicht mit Geschäftszahl: BMG-75210/0002-II/B/13/2014 vom 25.2.2014
- F. Feder, P. Arias 1992 Vergleichende Untersuchungen an Haaren von Pudu pudu und europäischen Cerviden <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1439-0264.1992.tb00322.x>
- Hoogland, CT, De Boer J, .Boersema JJ. 2005. Transparency of the meat chain in the light of food culture and history. *Appetite*, 45(1): 15-23

- Galan M, Baltzinger C, Hewison A, Cosson, JF. 2005. Distinguishing red and roe deer using DNA extracted from hair samples and the polymerase chain reaction (PCR) method. *Wildlife Society Bulletin*, 33: 204-211.
- Herbsthofer M. 2019. Untersuchung zu End-pH-Werten im Fleisch (Rückenmuskel) und zur visuell beurteilbaren Sauberkeit der Leibeshöhlen von erlegtem, ausgeweidetem Rehwild [Diplomarbeit]. Wien: Veterinärmedizinische Universität Wien
- Herzog A, Volmer K, Döll G. (1983): So-called "hair pestilence" in roes (*Capreolus capreolus* L.), a hair parakeratosis. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.* 96(1):17-23.
- Hoffman LC, Wiklund E. 2006. Game and venison – meat for the modern consumer. *Meat Sci*, 74: 197-208
- Johnson E, Hornby J. 1975. Seasonal changes of pelage in the roe deer *Capreolus capreolus* and its role in thermoregulation. *Journal of Natural History* 9(6), 619-628. doi: <https://doi.org/10.1080/00222937500770511>
- Mirceta J, Petrovic J, Malesevic M, Blagojevic B, Antic D. 2017. Assessment of microbial carcass contamination of hunted wild boars. *Eur J Wildl Res* (2017) 63: 37
- Karhan M, Troxler J, Paulsen P. 2020. Sauberkeit von Schlachtrindern – Ergebnisse einer Pilotstudie aus Österreich. *Wien Tierarztl Monat* 107(1-2): 40-48
- Kulak D, Wajdzik M. 2006. Morphological characteristics of hairs in the roe deer (*Capreolous capreolus* Linnaeus, 1758) from the Polish part of the Carpathian Mountains. *ELECTRONIC JOURNAL OF POLISH AGRICULTURAL UNIVERSITIES* 9, #20. <http://www.ejpau.media.pl/volume9/issue4/art-20.html>
- Laaksonen S, Paulsen P. 2015. *Hunting Hygiene*. Wageningen, Wageningen Academic Publishers, pp. 304. ISBN: 978-90-8686-249-8.
- Palumbo S, Klein P, Capra J, Eblen S, Miller A. 1999. Comparison of excision and swabbing sampling methods to determine the microbiologica quality of swine carcass surfaces. *Food Microbiology*, 16: 459-464

- Paulsen P. 2007. Wildbret-Direktvermarktung. [https://www.vetmeduni.ac.at/fileadmin/\\_migrated/content\\_uploads/2007\\_Wildbretdirektvermarktung\\_ger.pdf](https://www.vetmeduni.ac.at/fileadmin/_migrated/content_uploads/2007_Wildbretdirektvermarktung_ger.pdf). (Zugriff: 26.04.2020)
- Paulsen P, Hilbert F, Smulders FJM. 2009. A model to establish a "Performance Objective" (PO) for *Campylobacter* spp. in broiler carcasses at retail Arch. Lebensmittelhyg. **60**, 61-65.
- Paulsen P, Avagnina A, Smulders FJM. 2015. Pilot study on the time profile and corresponding temperatures of game meat in the approved game meat chain in Austria. *Journal of Food Safety and Food Quality* 2015; 66: 132-135
- Pearce R, Bolton D. 2005. Excision vs sponge swabbing – a comparison of methods for the microbiological sampling of beef, pork and lamb carcasses. *Journal of Applied Microbiology*, 98: 896–900
- Pöllitzer S. 2020 Übertragung von Bakterien beim Kontakt des Fells (Sommerhaarkleid) von Rehen mit Fleischoberflächen
- F. Salomon, H. Geyer, U. Gille 2008 Anatomie für die Tiermedizin S.633-640.
- Smil. 2002. Eating Meat: Evolution, Patterns, and Consequences. *POPULATION AND DEVELOPMENT REVIEW* 28(4):599–639.
- Statistik Austria [http://www.statistik.at/web\\_de/statistiken/index.html](http://www.statistik.at/web_de/statistiken/index.html)
- Staubmann M. 2017. pH-Werte im Rückenmuskel von Rot- und Schwarzwildtierkörper in einem Wildbearbeitungsbetrieb [Diplomarbeit]. Wien: Veterinärmedizinische Universität Wien
- Valencak T, Gamsjäger L. 2014. Lipids in tissues of wild game: overall excellent fatty acid composition, even better in tissues of free-ranging individuals. In: *Trends in game meat hygiene: From forest to fork*, Wageningen: Wageningen Academic Press, 335-344.
- Ventrella D, Elmi A, Barone F, Carnevali G, Govoni N, Bacci ML. 2018. Hair Testosterone and Cortisol Concentrations in Pre- and Post-Rut Roe Deer Bucks: Correlations with

Blood Levels and Testicular Morphometric Parameters. *Animals* 8, 113;  
doi:10.3390/ani8070113

VERORDNUNG (EG) NR. 852/2004 DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES  
RATES vom 29. April 2004 über Lebensmittelhygiene. ABl. L139/1 i.d.g.F.

VERORDNUNG (EG) NR. 853/2004 DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES  
RATES vom 29. April 2004 mit spezifischen Hygienevorschriften für Lebensmittel  
tierischen Ursprungs. ABl. L139/55 i.d.g.F.

VERORDNUNG DER BUNDESMINISTERIN FÜR GESUNDHEIT UND FRAUEN über  
die Direktvermarktung von Lebensmitteln (Lebensmittel-  
Direktvermarktungsverordnung) BGBl. II, Nr.108/2006 idgF

VERORDNUNG DER BUNDESMINISTERIN FÜR GESUNDHEIT UND FRAUEN über  
Lebensmittelhygieneanforderungen an Einzelhandelsunternehmen (Lebensmittel-  
Einzelhandelsverordnung) BGBl. II, Nr. 92/2006 idgF

Volmer K, Döll G, Dingeldein W, Herzog A. 1990. Hair alterations in trichophytosis of roe  
deer--a differential diagnosis for hair parakeratosis. *Case Reports Tierarztl Prax*  
18(1):21-23

Weber H. 2010. *Mikrobiologie der Lebensmittel: Band 1: Grundlagen*. Behr's Verlag,  
Hamburg

## 9. Abbildungs-/Tabellenverzeichnis

Abb.1: Für die Versuche verwendete Fellstücke.....	6
Abb. 2: Ablauf der Versuche mit Beimpfung der Rehfelle mittels Agarkontaktverfahren und semiquantitativer Beprobung der gelagerten Rehfelle mittels Agar-Abklatschmethode.....	8
Tab.1 Anzahl der im Jagdjahr 2019/2020 in Österreich erlegten Rehe, nach Bundesländern (Statistik Austria 2021).....	2
Tab. 2: Übersicht zur Anzahl der Proben (exkl. Kontrollen).....	8
Tab. 3: Ergebnisse der Beprobung der kontaminierten und trocken gelagerten Rehfelle mittels Agar-Abklatschmethode (n = 1), in $\log_{10}$ KbE/ 20 cm <sup>2</sup> .....	11
Tab. 4: Ergebnisse der Beprobung der kontaminierten und feucht gelagerten Rehfelle mittels Agar-Abklatschmethode (n = 1), in $\log_{10}$ KbE/ 20 cm <sup>2</sup> .....	11
Tab. 5: Ergebnisse der Beprobung der kontaminierten und trocken gelagerten Rehfelle mittels Agar-Abklatschmethode (n = 3), in $\log_{10}$ KbE/ 20 cm <sup>2</sup> .....	12
Tab. 6: Ergebnisse der Beprobung der kontaminierten und feucht gelagerten Rehfelle mittels Agar-Abklatschmethode (n = 3), in $\log_{10}$ KbE/ 20 cm <sup>2</sup> .....	12
Tab. 7: Ergebnisse der Beprobung der kontaminierten 3 Tage gelagerten Rehfelle und von Messerklingen, mit denen Haut und Fell durchtrennt worden waren. Agar-Abklatschmethode, Ergebnisse in $\log_{10}$ KbE/ 20 cm <sup>2</sup> .....	14