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

(Leiter: O. Univ.-Prof. Dr. med. vet. Dr.h.c. Franciscus Smulders Dipl. ECVPH)

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

DIPLOMARBEIT

Veterinärmedizinische Universität Wien

Vorgelegt von

Sarah Pöllitzer

Wien, im Mai 2020

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

Gutachter:

Priv.-Doz. Dr.med.vet. Joachim Spargser Dipl. ECVM

Institut für Mikrobiologie, Veterinärmedizinische Universität Wien

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die mich bei der Diplomarbeit unterstützt, als auch motiviert haben.

Ganz besonderer Dank gilt Herrn Dr. Paulsen. Ohne ihn wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen. Er hat meine Arbeit und somit auch mich ausgiebig betreut, unterstützt und ist mit wertvollen Tipps zur Seite gestanden.

Des weiteren möchte ich mich bei den Mitarbeitern der „Abteilung für Hygiene und Technologie von Lebensmitteln, Institut für Lebensmittelsicherheit, Lebensmitteltechnologie und öffentliches Gesundheitswesen in der Veterinärmedizin“ bedanken. Sie haben mir insbesondere bei dem praktischen Teil meiner Arbeit geholfen.

Zum Abschluss spreche ich vor allem meiner Familie, meinem Freund und meinen Freunden und Freundinnen Dank aus. Sie haben mich während des gesamten Studiums unterstützt, motiviert, haben sich Zeit genommen, meine Arbeit gegenzulesen und Verbesserungsvorschläge eingebracht.

Vielen Dank euch allen!

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung und Fragestellung	1
1.2. Fleischgewinnung aus frei lebendem Schalenwild (Großwild)	3
1.3. Hygienische Bewertung des Fells von Schlachttieren	7
1.4. Hygienische Bewertung des Fells von Wildwiederkäuern	11
1.5. Fragestellung.....	14
2. Material und Methoden	15
2.1. Felle	15
2.2. Herstellung des Inokulums	15
2.3. Inokulation der Rehfelle über Agarkontaktverfahren und semiquantitative Beprobung mittels Agar-Abklatschmethode.....	15
2.4. Inokulation der Rehfelle über Agarkontaktverfahren und Keimzahlbestimmung.....	16
2.5. Inokulation der Rehfelle durch direktes Aufbringen der <i>E. coli</i> Suspension und semiquantitative Beprobung mittels Agar-Abklatschmethode	17
2.6. Inokulation der Rehfelle durch direktes Aufbringen der <i>E. coli</i> Suspension und simulierte Kontamination des Messers beim Enthäuten	18
3. Ergebnisse.....	20
3.1. Semiquantitative Keimzahlbestimmung auf kontaminiertem Rehfell mittels Agar-Abklatschmethode	20
3.2. Quantitative Keimzahlbestimmung auf kontaminiertem Rehfell	24
3.3. Inokulation der Rehfelle durch direktes Aufbringen der <i>E. coli</i> Suspension und semiquantitative Beprobung mittels Agar-Abklatschmethode	24
3.4. Inokulation der Rehfelle durch direktes Aufbringen der <i>E. coli</i> Suspension und simulierte Kontamination des Messers beim Enthäuten	25
4. Diskussion	27
4.1. Bedeutung der Verschmutzungen des Fells für die Schlacht- bzw. Fleischzerlegungshygiene ..	27

4.2. Kontamination von Rehfallen mit <i>E. coli</i> und Wiederfindung der Bakterien	28
4.3. Simulation der Kontamination von Rehfallen durch Kontakt mit einem festen Medium und der weiteren Kontamination von Fleischoberflächen beim Kontakt mit Rehfallen	28
4.4. Simulation der Kontamination von Rehfallen durch Aufbringen eines flüssigen Mediums und der Kontamination von Fleischoberflächen beim Kontakt mit Rehfallen	29
4.5. Simulation der Kontamination von Rehfallen durch Aufbringen eines flüssigen Mediums und der Kontamination von Messeroberflächen beim Durchschneiden von Rehfallen.....	30
4.6. Bedeutung der Ergebnisse für die Wildfleischhygiene.....	30
5. Zusammenfassung	32
6. Summary.....	33
7. Abkürzungsverzeichnis	34
8. Literaturverzeichnis.....	36
9. Abbildungs-/Tabellenverzeichnis.....	43

1. Einleitung und Fragestellung

Jäger und Sammler waren von der natürlichen Verfügbarkeit von Pflanzen und tierischen Nahrungsquellen abhängig. Mit der ersten Waldrodung zum Anbau von Pflanzen begannen die Menschen jedoch mit der Landwirtschaft. Diese Ereignisse fanden vor rund 12.000 Jahren statt. Im Laufe der Jahrhunderte entwickelte sich die Landwirtschaft weiter und wurde zunehmend intensiviert. Dies hatte Einfluss auf die Tierhaltung und den menschlichen Fleischkonsum. So hat sich der Fleischkonsum in Österreich von 1950–2010 verdreifacht. Dabei liegt der jährliche Verzehr von Wildfleisch als traditionellem Lebensmittel bei 0,7 Kilogramm (kg) pro Person (Valencak und Gamsjäger 2014) und bei 0,5 kg nach Wagner (Paulsen 2007).

Weltweit sorgen sich Verbraucher zunehmend um gesunde und sichere Lebensmittel, um einen ausgewogenen Lebensstil zu führen. Bei Fleisch und Fleischprodukten wird auf die Zusammensetzung und sensorische Eigenschaften (Zartheit, Saftigkeit, Geschmack) mehr Wert gelegt. Jüngere Konsumenten tendieren dazu, weniger rotes Fleisch und mehr Geflügel- und Schweinefleisch zu konsumieren. Insbesondere Frauen neigen dazu, weniger rotes Fleisch als Männer zu konsumieren. Es bestehen Bedenken bei Fleisch von Nutztieren hinsichtlich Tierhaltung, -transport und schließlich der Tötung zur Fleischgewinnung (Ecker und Brem 2020a, Ecker und Brem 2020b). Diese Bedenken gelten in geringerem Ausmaß für Wildfleisch (Hoffmann und Wiklund 2006). Sogar Menschen, die vegan oder streng vegetarisch leben, sind sich einig, dass Wildfleisch heute tatsächlich eine ethische Fleischquelle darstellt (Valencak und Gamsjäger 2014).

Fragt man Personen über mögliche gesundheitliche Vorteile von Wildfleisch, gaben 80 % an, dass Wildfleisch gesundheitliche Vorteile hat, indem es einen geringen Fett- und Cholesteringehalt aufweist. Zudem wurde als wichtiges Merkmal der Geschmack bei 14 % der Befragten angeführt. Während die drei wichtigsten negativen Merkmale der Preis, Geschmack und mangelnde Verfügbarkeit waren (Hoffmann und Wiklund 2006).

Wachsende gesundheitliche Probleme haben zudem zu einer erhöhten Nachfrage nach Produkten mit geringer Energiedichte und niedrigem Cholesteringehalt geführt, wobei der Schwerpunkt verstärkt auf der Verringerung des Verhältnisses von mehrfach ungesättigten Omega-6-Fettsäuren/Omega-3-Fettsäuren in der Nahrung liegt. Fette sind Triglyceride, d.h. sie bestehen aus Glycerinmolekülen, an denen je drei Fettsäuremoleküle gebunden sind. Fettsäuren können entsprechend ihrem Sättigungsgrad drei Hauptkategorien zugeordnet werden: gesättigte Fettsäuren, einfach ungesättigte Fettsäuren und mehrfach ungesättigte Fettsäuren. Die letzte Kategorie erhält in den letzten Jahren zunehmend größere Aufmerksamkeit von Ernährungswissenschaftlern, insbesondere im Hinblick auf die Omega-3- und die Omega-6-Fettsäuren. Mehrfach ungesättigte Fettsäuren sind für Säugetiere essentiell und müssen über die Nahrung aufgenommen werden. Im Gegensatz zu den ungesättigten Fettsäuren sollen gesättigte Fettsäuren vermieden bzw. reduziert werden, da sie die Gesundheit beeinträchtigen und zu Herz-Kreislauf-Erkrankungen, Übergewicht, Fettleibigkeit, Seh- und Gedächtnisstörungen und sogar zu einigen Arten von Krebs führen können. Omega-3-Fettsäuren sind „gute“ Fette, da sie entzündungshemmend und kardioprotektiv wirken. Im Gegensatz dazu haben Omega-6-Fettsäuren negative Eigenschaften, wie das Auslösen von entzündlichen Prozessen. Eine ausgewogene Ernährung mit Omega-3- und -6-Fettsäuren soll das Risiko einer koronaren Herzkrankheit senken, das Sehvermögen und das Gedächtnis verbessern und entzündliche Prozesse im Körper reduzieren. Gemäß den Ernährungsrichtlinien sollte nicht mehr als 15–30 % der gesamten Kalorienaufnahme über Nahrungsfette zugeführt werden, und gesättigte Fette sollten zu nicht mehr als 10 % zur Kalorienaufnahme beitragen. Der durchschnittliche Fettgehalt der meisten Wildarten wird mit weniger als 3 % (Rotwild 4,5 %) angegeben (Hoffman u. Wiklund 2006), wobei alle Wildarten einen geringen intramuskulären Fettanteil enthalten. Das Alter, Geschlecht und Region haben Auswirkungen auf die Fleischzusammensetzung, einschließlich des Fettsäureprofils. Insbesondere das Verhältnis von mehrfach ungesättigten Fettsäuren zu gesättigten Fettsäuren ist wichtiger als der Gesamtfettgehalt. So führt eine ernährungsbedingte Abnahme der gesättigten Fettsäuren zu einem niedrigerem Blut-Serum-Cholesterin, was letztlich zu einer Abnahme des Risikos einer kardiovaskulären Erkrankung führt (Hoffmann und Wiklund 2006).

Gemäß den Ernährungsempfehlungen sollte die Aufnahme von Omega-6- zu Omega-3-Fettsäuren durch den Menschen das Verhältnis fünf zu eins nicht überschreiten. In westlichen Gesellschaften ist dieses jedoch im Allgemeinen höher. Fleisch von frei lebendem oder gefarmtem Wild hat jedoch ein Omega-6- und Omega-3-Verhältnis niedriger als fünf zu eins. Es gab lediglich speziesspezifische Unterschiede im Gesamtgehalt an einfach ungesättigten Fettsäuren. So enthält *Cervus dama* ca. 5 % mehr (15 %) einfach ungesättigte Fettsäuren als Rotwild (10 %). Durch das richtige Verhältnis von Omega-Fettsäuren ist Wildfleisch ein hochwertiger Nährstoff für eine gesunde und ausgewogene Fettversorgung, der sogar eine Ernährung mit wenig Omega-3-Fettsäuren kompensieren kann (Valencak und Gamsjäger 2014).

Des Weiteren sind Verbraucher zunehmend um die Umwelt besorgt und interessieren sich für Bio-Produkte, sowie für Produkte, die nach Methoden der natürlichen Produktion (Systeme mit geringerem Input) hergestellt werden und Ressourcen schonen (Hoffmann und Wiklund 2006). Die globale Rolle von Wildfleisch bei der Ernährungssicherung ist begrenzt, aber Wildfleisch kann regional Bedeutung als eine wichtige Einkommens- bzw. Proteinquelle aus naturnahen Bedingungen, die auch hohen ethischen Standards entspricht, haben. Die Nachfrage durch Gastronomie und Gourmets kann durch erlegtes Wild, aber auch durch Farmwild gedeckt werden, da Wildfleisch unabhängig vom Aufzuchtregime aus Sicht der menschlichen Ernährung von Vorteil ist (Valencak und Gamsjäger 2014) und offensichtlich die meisten Kriterien erfüllt, die von einem anspruchsvollen Verbraucher gefordert werden (Hoffmann und Wiklund 2006).

1.2. Fleischgewinnung aus frei lebendem Schalenwild (Großwild)

Die Art der Fleischgewinnung von frei lebendem Schalenwild (Wildwiederkäuer und Wildschweine) ist von der Schlachtung der Nutztiere sehr verschieden. Nach dem Erlegen erfolgt das Ausweiden, dann die Kühlung und erst vor der Zerlegung findet das Enthäuten statt (Paulsen et al. 2015).

Abb. 1: Vereinfachte Darstellung der Verarbeitungskette von Großwild (Schalenwild).

Wie in Abbildung 1 gezeigt, muss beim Erlegen von Großwild auf bestimmte Grundsätze geachtet werden:

- 1) Vor dem Erlegen muss der Erleger das Wild einer Lebendtieruntersuchung unterziehen
- 2) Nach dem Erlegen muss der Gastrointestinaltrakt (GIT) so bald als möglich, jedoch spätestens nach 3 h entfernt werden. Bei Bedarf muss das Tier entblutet werden.
- 3) Wird das Wildbret in Verkehr gebracht, so unterliegt es der Untersuchungspflicht durch eine kundige Person. Das Wildbret, inklusive Innereien, d. h. Herz, Lunge, Leber, Milz und Nieren, nicht aber der GIT, müssen so bald als möglich der kundigen Person vorgelegt und als gesundheitlich unbedenklich beurteilt werden.

Lag vor der Erlegung keine Verhaltenstörung vor und ist das Tier als gesundheitlich unbedenklich begutachtet, so gibt die kundige Person dem Wildkörper eine mit einer Nummer versehene Erklärung (Wildbretbescheinigung) bei.

Steht keine kundige Person zur Verfügung, so müssen der Kopf und die Eingeweide (außer GIT) dem Tierkörper beigefügt werden und es werden alle Teile tierärztlich untersucht.

Ist das Wildbret und deren Eingeweide für den Eigenbedarf gedacht, so ist eine Beurteilung durch eine kundige Person nicht notwendig.

„Inverkehrbringen“ ist dabei das Bereithalten von Lebensmitteln für Zwecke des Verkaufs, inbegriffen das Anbieten zum Verkauf oder jede weitere Form der Weitergabe, egal ob unentgeltlich oder entgeltlich (VO (EG) Nr 178/2002).

„Kundige Personen“ sind mittels Zusatzausbildung ausgebildete Jäger, die zur Beurteilung der Tauglichkeit des Wildbrets zum menschlichen Verzehr herangezogen werden können. Dient das Wildbret zum Eigengebrauch, so liegt keine Untersuchungspflicht vor (VO (EG) Nr 853/2004).

- 4) Hat die kundige Person das Fleisch als gesundheitlich unbedenklich freigegeben, so kann das Fleisch über den Weg des Wildbrethändlers oder der Direktvermarktung in Verkehr gebracht werden.

- 5) Nachdem das Wildbret begutachtet wurde, muss es auf eine Temperatur von höchstens +7 Grad Celsius (°C) gekühlt werden, essbare innere Organe auf unter +3 °C, das Fleisch darf jedoch nicht gefroren werden.
- 6) Eine Übereinanderlagerung während der Beförderung zum Wildbearbeitungsbetrieb muss vermieden werden.
- 7) Werden Großwild-Tierkörper in einem Wildbearbeitungsbetrieb zerlegt und entbeint, müssen sie einer Fleischuntersuchung durch einen amtlichen Tierarzt unterzogen werden (Paulsen 2007).

Die Anlieferung der Großwildtierkörper in gekühltem, ausgeweidetem, aber noch ungehäuteten Zustand wird im EU Hygienerecht ausdrücklich gefordert (VO (EG) Nr 853/2004). Die Zeit vom Erlegen bis zum Enthäuten kann dabei 1 Woche und mehr betragen (Paulsen et al. 2015, Herbsthofer 2019), während bei der Schlachtung von Rindern oder kleinen Wiederkäuern der Hautabzug vor dem Ausweiden und damit wenige Minuten (Min.) nach der Betäubung und Entblutung erfolgt (Prändl 1988). Bei der Wildbearbeitung für den Eigenbedarf oder bei der Weitergabe kleiner Mengen an Letztverbraucher wäre grundsätzlich auch eine Enthäutung vor dem Ausweiden möglich. Voraussetzung ist dabei, dass das Tier unverzüglich zum Ort transportiert werden kann, wo die Haut und der Gastrointestinaltrakt entfernt werden (Laaksonen und Paulsen 2015).

So wie bei Fleisch landwirtschaftlicher Nutztiere sind auch bei der Bejagung von freilebendem Wild und bei der Behandlung des Wildes nach dem Erlegen Hygieneregeln einzuhalten (Deutz 2000), damit eine Verwendung des Wildbrets für den Menschen als Nahrungsmittel in bestmöglicher Qualität möglich ist (Winkelmayer et al. 2005) und es ist eine erste Untersuchung des Wildes auf gesundheitlich bedenkliche Merkmale vorzunehmen (VO (EG) Nr 853/2004). Bei der Behandlung des erlegten Wildes kann es analog zur Schlachtung von Nutztieren beim Eviszerieren oder beim Enthäuten zu einer Kontamination von Fleischoberflächen kommen (Paulsen et al. 2015). In modernen Schlachthöfen tritt jedoch selten eine Kontamination durch Darminhalt auf das Fleisch auf, während eine Kontamination durch die Häute ein zentrales Thema ist (McEvoy et al. 2000, Blagojevic et al. 2012).

Grundsätzlich wird bei Wildwiederkäuern das Tier mittels Schuss in den vorderen Brustraum erlegt. Auch andere Bereiche wie Haupt (Kopf) oder Wirbelsäule sind möglich, allerdings besteht dabei die Gefahr eines Fehlschusses. Zudem ist bei anderen Methoden das vollständige Ausbluten nicht gewährleistet (Winkelmayer et al. 2013). Aufgrund der unmittelbaren Nähe von Herz, großen herznahen Gefäßen und Magendarmtrakt besteht die Gefahr, dass bei einem Treffer caudal der Brusthöhle Magen-Darminhalt in die Körperhöhlen austritt. Mit der Folge, dass das Wildbret mit Darminhalt kontaminiert ist und der Möglichkeit, dass das Wild durch den Fehlschuss nicht getötet wird und Schmerzen leidet. Aufgrund der vielen negativen Folgen sollen abdominale Schusswunden („Weichschüsse“) möglichst vermieden werden und der Schuss im cranialen *Cavum thoracis* angezielt werden (Paulsen et al. 2003, Winkelmayer et al. 2005).

Für die „Sauberkeit“ des Fells bedeutet das, dass peri- und postmortal eine Kontamination durch Weichschüsse, fehlerhaftes Ausweiden, den Transport und die Lagerung des Tierkörpers erfolgen kann. Dazu kommt *ante mortem* die Möglichkeit einer Verschmutzung des Perianalbereichs und der Hinterextremitäten bei Durchfall (Paulsen et al. 2015).

1.3. Hygienische Bewertung des Fells von Schlachttieren

Die Bedeutung der Haut bzw. des Fells für die Schlachthygiene ist ein seit Langem beforschtes Thema (Prändl 1988). Letztlich führte aber erst ein Rindfleisch-assoziiertes Krankheitsausbruch durch pathogene *Escherichia coli* (*E. coli*) in Schottland im Jahre 1996 zu konkreten Anforderungen an die Sauberkeit von Schlachtrindern und zur Erarbeitung von Auflagen bei der Schlachtung (Pennington 1998).

Die Bedeutung „sauberer“ Rinder für die Hygiene bei der Enthäutung und für die Mikroflora der enthäuteten Tierkörperoberflächen soll im Folgenden kurz dargestellt werden.

Mit Fäkalien verschmutzte Rinderfelle weisen eine hohe Bakteriendichte (aerobe mesophile Keimzahlen bis zu 7–9 log₁₀ koloniebildende Einheiten (kbE)/cm²) auf, umso wichtiger sind saubere Rinder am Schlachthof (Reid et al. 2002, Antic et al. 2010, Serraino et al. 2012) um die Übertragung von pathogenen Erregern von Häuten auf Lebensmittel zu vermeiden (Reid et al. 2002). Vor allem sind dabei durch das natürliche Liege-, Aufsteh- und

Kotabsatzverhalten (Lowman et al. 1997) die Unterbrust (Antic et al. 2010), das ventrale Abdomen, die Flankengegend bis Tarsalhöcker, die distalen Extremitäten bis Höhe Carpalgelenk/Tarsalgelenk und der distale Schwanzanteil von Verschmutzungen betroffen (Karhan et al. 2020).

An in Fell anhaftenden fäkalen Verschmutzungen können sich pathogene Bakterien, wie *E. coli* O157, *Campylobacter*, Salmonellen oder *Yersinia enterocolitica* befinden (Karhan et al. 2020). Die Krankheitserreger sind im Darm von Rindern angesiedelt und werden mit dem Kot ausgeschieden (Reid et al. 2002). Durch den Transport, den nachfolgendem Aufenthalt am Schlachthof und damit einhergehendem Stress, kommt es bei symptomlosen Trägertieren zu vermehrtem Kotabsatz und damit der Ausscheidung von pathogenen Keimen (McGrath und Patterson 1969, Vagsholm u. Smulders 2012).

Für die Enthäutung werden die Extremitäten am Tarsal- und Carpalgelenk abgesetzt und die Haut ventromedian eröffnet. Somit wird gerade an den Körperpartien mit dem höchsten Verschmutzungsrisiko ein Hautschnitt gesetzt (Prändl 1988). Es verwundert nicht, dass beim Enthäuten schmutziger Rinder die Oberflächenkeimzahlen von Hygieneindikator-Bakterien am enthäuteten Schlachtkörper höher sind (McEvoy et al. 2000, Blagojevic et al. 2012, Hauge et al. 2012a, Hauge et al. 2012b, Serraino et al. 2012), wobei kein strenger linearer Zusammenhang besteht (Antic et al. 2010). Umgekehrt ist ein "sauberes" Fell kein Garant dafür, dass es auch frei von pathogenen Bakterien ist (Reid et al. 2012).

Die Übertragung von Verunreinigungen von der Hautoberfläche auf den Schlachtkörper ist aufgrund der Art des Hautentfernungsprozesses schwer vermeidbar. Eine Kontamination kann durch direkten Kontakt zwischen der Haut und dem enthäuteten Tierkörper oder durch indirekte Übertragung auftreten (McEvoy et al. 2000) d. h. durch Übertragung von Händen, der Kleidung, dem Werkzeug, der Ausrüstung der Arbeiter, die zuvor Kontakt mit der Haut hatten oder durch den Luftweg (McEvoy et al. 2000, Antic et al. 2010, Blagojevic et al. 2011, Loncaric et al. 2009). Die Verwendung sauberer Handschuhe, steriler Messer und Stähle durch die Mitarbeiter beim Entfernen der Haut führte zu einer signifikanten Verringerung der Keimzahl (McEvoy et al. 2000). Die Kontamination des Schlachtkörpers mit Bakterien ist wahrscheinlich größer, wenn die Tiere nass sind und wird somit stark durch den Nass-

/Trockenzustand der Haut zum Zeitpunkt der Schlachtung beeinflusst (Gill 2004). Blagojevic et al. (2011) beschreibt das Verhältnis zwischen Schlachtkörper- und Hautmikroflora als Indikator für die Hygiene an Schlachthöfen.

Kotverschmutzungen bei Rindern sind die Folge der Aufstallungsart (Einstreu, Bodenbeschaffenheit) und von Mängeln in der Tiergesundheit (Diarrhoe) im Herkunftsbetrieb. So haben die Menge und Qualität der Einstreu und eine hohe Luftfeuchtigkeit einen deutlichen Einfluss auf die Sauberkeit von Rindern (Hauge et al. 2012b, Ruud et al. 2010). Die saubersten Tiere waren bei 10 – 15 °C zu finden. Betrug die Innentemperatur über 15° Celsius oder stieg die Luftfeuchtigkeit um 10 % an, nahm die Verschmutzung der Oberschenkel mit zunehmender Temperatur zu. In Milchviehherden mit ruhigen Tieren sind diese auch tendenziell sauberer (Ruud et al. 2010).

In einigen europäischen Ländern, wie Deutschland, Großbritannien, Irland (Brecheisen 2014, Eggert-Satzinger 2017), Schweden (KCf 2003), Norwegen (Animalia undatiert), Finnland (Brecheisen 2014) und Belgien (Houins 2006a; Houins 2006b) wurde der Sauberkeitsgrad von Schlachtrindern mit verschiedenen Systemen erfasst (FSA 2002, Brecheisen 2014, Eggert-Satzinger 2017) und dokumentiert (Tab. 1, 2). Für jede Verschmutzungsstufe sind Maßnahmen beschrieben. Ziel der verschiedenen Systeme ist, die Einbringung fäkal verschmutzter Schlachttiere, die Kontamination von Fleisch mit fäkalem Material und damit das Risiko von Infektionen durch Lebensmittel zu verringern. Diese Konzepte beziehen auch den Primärproduzenten durch Informationsmaterial zu Maßnahmen der Vorbeugung mit ein und erklären die wirtschaftlichen Nachteile (FSA undatiert, FSA 2007, Wockner und Jewell 2019).

Blagojevic et al. (2012) geht in einer Studie darauf ein, dass in der Praxis die visuelle Einteilung in zwei Hauptkategorien, anstatt der in Großbritannien üblichen fünf Kategorien, sinnvoll wäre, da es keine Unterschiede in der mikrobiellen Belastung der Schlachtkörper zwischen den Kategorien eins, zwei, drei im Vergleich zu den Kategorien vier, fünf gibt (Blagojevic et al. 2012). In Österreich gibt es bisher nichts Vergleichbares. Für stark verschmutzte Schlachttiere besteht in Österreich allerdings ein vorübergehendes Schlachtverbot, bis die Tiere gereinigt wurden (BMG 2016).

Tab. 1: Beurteilungsschema für die Sauberkeit von Schlachtrindern in Großbritannien und Irland (aus: Karhan et al. 2020).

Klasse	Beschreibung			Großbritannien (FSA, 2002)	IRLAND (MCCLEERY et al., 2002; FSAI, undatiert)
	Feuchtigkeit	Kot oder anderer Schmutz	Stroh/Einstreu	Besondere Maßnahmen vor/bei der Schlachtung	
1	Trocken	kein	sehr geringe Mengen, lose anhaftend	keine	keine
2	Trocken-feucht	<u>geringgradig</u>	geringe Mengen, lose anhaftend	keine	keine
3	Trocken-feucht	deutlich	deutliche Auflagerungen	Schlachtung trockener Tiere möglich; sonst nur aus Tierschutz- oder Seuchengründen	Bei trockenen Tieren keine Maßnahmen; sonst Schlachttechnik anpassen: langsamere Bandgeschwindigkeit, mehr Platz zwischen Schlachtkörpern, Scheren der Tier vor der Schlachtung
4	Trocken-feucht	hochgradig, in Klumpen	deutliche Auflagerungen	Schlachtung nur aus Tierschutz- oder Seuchengründen	Schlachttechnik anpassen: langsamere Bandgeschwindigkeit, mehr Platz zwischen Schlachtkörpern, Scheren der Tiere vor der Schlachtung
5	Nass	<u>Höchstgradig</u> , in Klumpen	deutliche Auflagerungen	Keine Zulassung zur Schlachtung	Tiere scheren oder zum Herkunftsbetrieb rückstellen

Tab. 2: Beurteilungsschemata für die Sauberkeit von Schlachtrindern in anderen europäischen Staaten (aus Karhan et al. 2020).

Land	Anzahl Klassen	Besondere Klasse(n)	Maßnahmen	bei Anmerkung	Literatur
Belgien	3 (1-3)	2, 3		Stärke und Verbreitung der Verschmutzung werden berücksichtigt; bei der Betrachtung des Tiere von der Seite und von hinten 2 Grenzlinien, über die die Verschmutzung nicht reichen darf	HOUINS (2006)
Deutschland	2		Bei nicht sauberen Tieren Verringerung der Bandgeschwindigkeit	Beurteilt werden ventraler Rumpf, Gliedmaßen, Flanken, Nacken, Analbereich; saubere Tiere haben trockenes Fell und keine zusammenhängenden, umfangreichen Verschmutzungen an den genannten Körperregionen	BMEL (2019)
Finnland	2 (1, 2)	2		Schlachtung sorgfältig, getrennt von sauberen Tieren, Preisabzug	BRECHEISEN (2014)
Norwegen	3 (0-2)	1, 2: Preisabzüge; Kat. 2 nicht für Rohprodukte		Bewertung durch Schätzung des Prozentsatzes der trocken-verschmutzten Flächen; feuchte Verschmutzungen bedingen Herabstufung; Beurteilung erst am hängenden Tierkörper vor Enthäutung	ANIMALIA (undatiert)
Schweden	4 (0-3)	1-3: Preisabzüge; Kat. 2: Bandgeschwindigkeit verringern; Kat. 3: wie 2, zusätzlich: Schlachtung am Ende des Tages, mikrobiologische Untersuchungen			KCF (2008)

Verschmutzte Rinder erfordern einen angepassten Schlachtprozess. Möglichkeiten sind das zeitlich getrennte Schlachten (Blagojevic et al. 2011, Brecheisen 2014), die Säuberung der Tiere oder auch die Tötung und Entsorgung stark verschmutzter Rinder. Letztere Maßnahme (bzw. deren Androhung) wird als Grund des Erfolges des britischen Meat Hygiene Service (MHS)-Schemas angesehen (FSA 2002, Eggert-Satzinger 2017), wird aber von Brecheisen (2014) aus Gründen des Tierschutzes abgelehnt.

Scheren stellt beim lebenden Tier keine Alternative dar, da es für das Personal gefährlich ist (Lowman et al. 1997, McCleery et al. 2008) und durch Stress bei den Tieren zu einem erhöhten End-pH-Wert des Fleisches kommt (McCleery et al. 2008). Im Gegensatz dazu kann das Scheren der Areale des Hautschnittes zwischen dem Entblutungsschnitt und dem Enthäuten eine Alternative darstellen (Hauge et al. 2012a).

Die dargelegten Maßnahmen haben letztlich das Ziel, dass nur "saubere" Schlachtrinder angeliefert werden, was nicht nur der Verbesserung der Guten-Hygiene-Praxis am Schlachthof dient (VO (EG) Nr. 852/2004, VO (EG) Nr. 853/2004, Blagojevic et al. 2012), sondern auch dem Tierwohl (Eggert-Satzinger 2017).

1.4. Hygienische Bewertung des Fells von Wildwiederkäuern

Beim Wildwiederkäuer gibt es keine Hinweise, dass frei lebendes Wild ähnliche Verschmutzungen aufweisen würde, wie oben bei Schlachtrindern geschildert. Das schließt aber nicht aus, dass nicht sichtbare, rein bakterielle Kontaminationen vorliegen können bzw. dass das Fell durch Erlegung und Ausweiden kontaminiert werden kann (Paulsen u. Schopf 2016).

Für die Produktionskette Wild gibt es zahlreiche Studien, die die optische Sauberkeit von Fleischoberflächen mit der Höhe der mikrobiellen Kontamination in Zusammenhang bringen (Deutz et al. 2003, Paulsen et al 2003, Paulsen und Schopf 2016) und so wie beim Rind (McEvoy et al. 2000, Blagojevic et al. 2012, Hauge et al. 2012a, Hauge et al. 2012b, Serraino et al. 2012) oder Schaf (Hadley et al. 1997, Biss and Hathaway 1996) sind sichtbare Verschmutzungen des Fells mit höheren Oberflächenkeimzahlen am Fleisch assoziiert.

Die Bedeutung des Fells als Überträger von Mikroorganismen beim Hautabzug auf Fleischoberflächen ist beim Rehwild aber kaum untersucht. Das Fell weist aber jedenfalls durch die Haare eine große Oberfläche auf bzw. können zwischen den Haaren Flüssigkeiten oder Partikel festgehalten werden, was für die hier zu untersuchenden Kontaminationsvorgänge von Bedeutung ist.

Der Sikahirsch (*Cervus nippon*) hat 710 Haare/cm² am Widerrist und 350 Haare/cm² an der Brust (Sokolov 1982). Das chinesische Wasserreh (*Hydropotes inermis*) hat 920 Haare/cm² im Winter, 395 Haare/cm² im November und 164 Haare/cm² im Sommer (Juli) (Jo et al. 2018).

Das Haar besteht aus drei Schichten, der Markschiebt, der Rindenschicht und dem äußeren Oberhäutchen. Beim Rotwild ist die Markschiebt stark lufthaltig. Aufgrund dessen ist ein guter Wärmeschutz gewährleistet, andererseits wird das Haar dadurch spröde und kann leichter brechen.

Jede Haartasche hat zusätzlich eine Talgdrüse, dadurch wird das Haar geschmeidig und wasserabstoßend gemacht (Salomon et al. 2008). Die längsten Haare sitzen an der Körperoberseite, dadurch läuft Wasser an den Haaren die an Dachziegeln entlang nach unten und die Haut wird dabei nicht nass (Feder und Arias 1992).

Das Fell von europäischen Cerviden, wie *Capreolus capreolus* (Reh), *Cervus elaphus* (Rothirsch), *Cervus dama* (Damhirsch), besteht zum größten Teil aus Grannenhaaren und wenigen Wollhaaren. Dabei besteht ein ovales, abgeplattetes Grannenhaar aus einer kleinen Wurzel, einem halsartigen Haarschaft, der sich schnell verbreitert, und einer geraden und fein ausgezogenen Spitze. Je nach Lokalisation haben Grannenhaare eine Länge von ca. 14–56 mm, wobei die durchschnittliche Länge bei ca. 30 mm liegt. Die Haardicke beträgt an der dicksten Stelle zwischen 140 und 236 Mikrometer (µm). Wollhaare haben je nach Lokalisation eine Länge von ca. 9–36 mm, die durchschnittliche Länge beträgt ca. 16 mm und die Haardicke beträgt an der dicksten Stelle zwischen 19–106 µm (Feder und Arias 1992).

Das Fell des Rindes besteht je nach Lokalisation nach Bianca et al. (1974) aus 897 – 1303 Haaren/(Zentimeter)cm², nach Salomon et al. (2008) aus 1000 Haaren/cm². Je nach

Lokalisation liegt die durchschnittliche Länge zwischen 11,9–16,8 mm. Die Haardicke beträgt 13,1–20,7 μm (Tab. 3, Bianca et al. 1974).

Tab. 3: Mittelwerte und Standardabweichungen von 6 Körperstellen (Bianca et al. 1974).

Region	Anzahl Haare/cm ²	Gewicht 1000 Haare (mg)	Haarlänge (mm)	Haardicke (μm)
Widerrist	897 $\pm$ 252	51,7 $\pm$ 39,2	16,8 $\pm$ 6,9	47,8 $\pm$ 7,9
Brust	1219 $\pm$ 303	21,0 $\pm$ 6,0	16,5 $\pm$ 4,9	35,5 $\pm$ 4,3
Schulter	1303 $\pm$ 260	16,3 $\pm$ 7,0	11,9 $\pm$ 2,2	38,0 $\pm$ 5,7
Bauch	940 $\pm$ 179	28,7 $\pm$ 8,0	14,9 $\pm$ 4,2	38,8 $\pm$ 3,8
Kruppe	928 $\pm$ 172	34,3 $\pm$ 10,8	14,7 $\pm$ 3,9	39,8 $\pm$ 5,6

Das Fell hat sowohl beim Wildwiederkäuer und beim Rind mit mehreren 100–1000 Haaren/cm² eine große Oberfläche, an der eine mikrobielle Kontamination stattfinden kann. Umgekehrt kann das Fell auch als Bakterienquelle fungieren.

Es gibt viele Studien über den Zusammenhang der visuellen Sauberkeit von Tierfell mit dem mikrobiologischen Status von Schlachtkörpern, allerdings wenige zur tatsächlichen Beziehung zwischen visueller Sauberkeit und dem mikrobiologischen Status der Haut selbst. Sogar saubere Häute können eine relativ hohe Anzahl von Bakterien tragen, einschließlich Krankheitserregern (Antic et al. 2010).

Nach Antic et al. (2010) soll die Mikroflora des Rinderfells nicht nur in Bezug auf die „horizontale“ Verteilung, sondern auch in Bezug auf die „vertikale“ Verteilung, d. h. die bakterielle Verteilung entlang der Haarspitze bis zur Wurzel berücksichtigt werden. Zudem gibt es Studien, die darauf hinweisen, dass Rassen mit typischerweise längeren Haaren ein höheres Kontaminationspotential aufweisen. Antic et al. (2010) konnte allerdings keine signifikanten Unterschiede zwischen der oberen und unteren Schicht des Haarkleides bei visuell sauberen Rinderhäuten im Bezug auf den mikrobiologischen Status feststellen.

1.5. Fragestellung

Ziel dieser Arbeit war, die Rolle des Fells (Sommerhaarkleid) von Rehen bei der Übertragung von Bakterien zu untersuchen. Es wurde dabei sowohl der Kontakt des trockenen Fells mit einem bakterienhaltigen festen Medium, als auch mit einer Bakteriensuspension simuliert und die Abgabe der Mikroorganismen vom Fell auf die Fleischoberfläche bzw. ein Fleischsurrogat studiert, um eine Einschätzung der Übertragungsraten von Bakterien zu ermöglichen. Der Einfluss der Lagerdauer der Wildtierkörper im Fell („in der Decke“) auf die Übertragung bzw. Wiederfindung der Bakterien wurde ebenfalls untersucht.

2. Material und Methoden

2.1. Felle

Die verwendeten Felle (Sommerhaarkleid) wurden von JägerInnen vakuumverpackt in tiefgekühlter Form zur Verfügung gestellt. Vor der Verwendung wurden die Felle bei 2 °C über Nacht angetaut und aus ventralen Brust/Bauch- und Flankenpartien ca. 8 x 8 cm große Stücke geschnitten. Es wurden nur optisch saubere Fellteile verwendet.

2.2. Herstellung des Inokulums

Zur Herstellung des Inokulums wurden Lyophilisate von *E. coli* NTNC 9001 und ATCC 11303 (Liofilchem, Roseto degli Abruzzi, I) in 9 Milliliter (ml) gepuffertem Peptonwasser (Oxoid BM1104) über Nacht bei 37 °C bebrütet. 1 ml dieser Kultur wurde in 1 l gepuffertes Peptonwasser überimpft und diese Kultur wurde über Nacht bei 37 °C bebrütet. Von dieser Kultur wurden dezimale Verdünnungsreihen in Kochsalz-Peptonlösung (Oxoid CM733; Oxoid, Basingstoke, UK) angelegt und einerseits direkt für die nachfolgenden Versuche verwendet und andererseits die Bakterienkonzentration bestimmt. Je 0,1 ml dieser Suspensionen wurden auf Coli-ID Agar (Biomérieux, Marcy l'Etoile, F) und Violettröt-Galle-Glucose Agar/Violett-Red-Bile-Dextrose-Agar (VRBD)-Agar für *Enterobacteriaceae* (Merck 110275) aufgetropft und mittels Spatel verstrichen. Die Nährböden wurden bei 37 °C für 24 Stunden (h) bebrütet und dann die typisch rosafarbenen (Coli ID) bzw. roten Kolonien (VRBD) ausgezählt.

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

Von der Bakterienkultur wurden 0,1 ml auf VRBD- Replicate Organism Detection And Counting (RODAC) Agar aufpipettiert und mit einem Glasspatel verstrichen (Abb. 2). Die Platte wurde nun innerhalb von 5 Min. auf ein trockenes Rehfell gedrückt (Simulation des Kontakts des Felles mit einer fäkal verschmutzten Oberfläche). Pressdruck und –dauer waren durch Verwendung eines Count-Tact Applikators (BioMérieux) standardisiert. Die Rehfelle

wurden nach 5 Min. bzw. nach 24-stündiger oder 7-tägiger Lagerung bei 2 °C mittels Agar-Abklatschverfahren (Plate Count Agar (PCA Agar) auf RODAC Platten) und Count-Tact Applikator beprobt (Simulation der Kontamination einer Fleischoberfläche durch Kontakt mit kontaminiertem Fell). Die Nährböden wurden 24h bei 37 °C bebrütet und dann die Koloniezahl je Agarplatte bestimmt. Rasenwachstum wurde mit 333 Kolonien/Platte, kein Wachstum mit 0,9 Kolonien/Platte umcodiert.

Abb. 2: Agarkontaktverfahren und semiquantitative Beprobung mittels Agar-Abklatschmethode.

2.4. Inokulation der Rehelle über Agarkontaktverfahren und Keimzahlbestimmung

Von der Bakterienkultur wurden 0,1 ml auf VRBD-RODAC Agar aufpipettiert und mit einem Glasspatel verstrichen (Abb. 3). Die Platte wurde nun innerhalb von 5 Min. auf ein trockenes Rehfell gedrückt (Simulation des Kontakts des Felles mit einer fäkal verschmutzten Oberfläche). Pressdruck und -dauer waren durch Verwendung eines Count-Tact Applikators (BioMerieux, Marcy l'Etoile, F) standardisiert. Die Rehelle wurden nach 5 Min. bzw. nach 24-stündiger Lagerung bei 2 °C beprobt. Dabei wurde das gesamte Hautstück mit 240 ml Kochsalz-Peptonlösung in einem 400 ml Stomachersack mit Filtereinsatz verbracht (1 ml Suspension entsprechen 0,1 cm² kontaminierter Felloberfläche) und im Stomacher (InterScience, St. Nom, F) 180 Sec. (Sekunden) mazeriert. Aus der Verdünnung wurde als nächster Schritt eine dezimale Verdünnungsreihe, in mit je 9 ml Kochsalz-Peptonlösung

gefüllten Reagenzgläsern hergestellt, die bis zur Verdünnung 10^{-4} reichte. Je 0,1 ml dieser Suspensionen wurde auf VRBD-Agar für *Enterobacteriaceae* aufgetropft und mittels Spatel verstrichen. Die Nährböden wurden bei 37 °C für 24 Stunden bebrütet und dann die typischen Kolonien ausgezählt.

Abb. 3: Agarkontaktverfahren und Keimzahlbestimmung.

2.5. Inokulation der Rehelle durch direktes Aufbringen der *E. coli* Suspension und semiquantitative Beprobung mittels Agar-Abklatschmethode

Um eine Kontamination des Fells durch bakterienhaltige Flüssigkeiten zu simulieren, wurde jeweils ein 8 x 8 cm großes Fellstück, mit der Haarseite nach unten, über ein 250 ml Becherglas (60 Millimeter (mm) Durchmesser) gezogen und mit einem breiten Gummiring fixiert. Im Becherglas befanden sich 25 ml einer *E. coli* Suspension. Das Becherglas wurde, wie in Abb. 4 dargestellt, umgedreht und 5 Min. so belassen, dass die Bakteriensuspension in das Fell eindringen konnte. Danach wurde das Becherglas wieder mit der Bodenseite nach unten gestellt und 5 Min. zum Abtropfen gewartet. Als nächstes wurde das Fell abgenommen, auf eine sterile Unterlage platziert und mittels RODAC – VRBD Platte beprobt. Parallel wurden auch Proben angefertigt, die vor und nach der Kontamination gewogen wurden, um die Flüssigkeitsaufnahme und damit die Kontamination pro cm^2 Fell errechnen zu können.

Kontamination des Fells durch Flüssigkeit

Fell kontaminiert das Fleischsurrogat (RODAC)

Abb. 4: Aufbringen der *E. coli* Suspension und semiquantitative Beprobung mittels Agar-Abklatschmethode.

2.6. Inokulation der Rehelle durch direktes Aufbringen der *E. coli* Suspension und simulierte Kontamination des Messers beim Enthäuten

Die Rehelle wurden wie unter 2.5. kontaminiert. Die Proben wurden aber im Zusammenhang mit den Bechergläsern belassen (Abb. 5). Nach der Abtropfzeit von fünf Min. wurde die Hautinnenseite mit Ethanol gereinigt und im Anschluss ein sterilisiertes Messer mit einer Klingenlänge von 89 mm, 19 mm Breite und 2 mm Dicke, von der Hautseite kommend, durch das Fell gestoßen und wieder zurückgezogen, um die Hautdurchtrennung bei der Enthäutung nachzustellen. Rechte und linke Seite der Messerklinge wurden dann auf einen RODAC VRBD Nährboden gedrückt (gesamt beprobte Fläche 20 cm², das entsprach unter Berücksichtigung der Klingenform 2/3 der Klingenoberfläche) und dieser bebrütet. Bebrütung und Koloniezählung erfolgten wie unter 2.3.

Kontamination des Fells durch Flüssigkeit

Fell kontaminiert Messer, Messer wird beprobt

Abb. 5: Aufbringen der *E. coli* Suspension und simulierte Kontamination des Messers beim Enthäuten.

Danach wurden die Felle entfernt, die Bakteriensuspension abgegossen und dann wieder die Felle aufgezogen, mit Gummiringen fixiert und zwei Tage im Kühlraum bei 2 °C gelagert. Die Felle wurden nun wieder mit einem sterilisierten Messer durchstoichen und die Klinge entsprechend beprobt. Danach wurden die Gummiringe entfernt und das Fellstück lose über das Becherglas gelegt, um eine Trocknung zu ermöglichen. Nach 24-stündiger Lagerung bei 2 °C wurden die Fellstücke wieder mit einem sterilisierten Messer durchstoichen und die Klinge entsprechend beprobt. Nach weiteren sechs Tagen wurden mittels Agar-Abklatschverfahren (VRBD Agar auf RODAC Platten) die kontaminierten Felle beprobt, die RODAC Platten für 24 Stunden bei 37 °C bebrütet und mittels Kovacs-Indolreagenz (Merck 109293) kontrolliert, ob die Kolonien tatsächlich *E. coli* waren. Es wurden jeweils 3–4 Replikate angefertigt. Als Kontrollen dienten 3–4 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 Abb. 6 und 7 dargestellt.

Abb. 6: Ergebnisse der Beprobung der kontaminierten Rehfelle (7, 5 und 4 log₁₀kbE/cm²) mittels Agar-Abklatschmethode, in log₁₀kbE/cm².

Abb. 7: Ergebnisse der Beprobung der kontaminierten Rehfelle (3 und $2 \log_{10}\text{kbE}/\text{cm}^2$) mittels Agar-Abklatschmethode, in $\log_{10}\text{kbE}/\text{cm}^2$.

Bei den mit Suspensionen von 4 , 5 und $7 \log_{10}\text{kbE } E.coli/\text{cm}^2$ kontaminierten Fellen sind für die Beprobung nach 5 Min. etwa $2,5 \log_{10}\text{kbE } E.coli/\text{cm}^2$ angegeben (Abb. 6). Dies liegt aber daran, dass nach 5 min. bei 5 und $7 \log_{10}\text{kbE } E.coli/\text{cm}^2$ Inokulationsniveau immer Rasenwachstum zu beobachten war (Abb. 8–9 links), was für die Darstellung in der Abbildung 6 mit „333 Kolonien“ ($2,5 \log_{10}$) codiert wurde; die tatsächlichen Werte können also höher sein. Bei der Stufe $4 \log_{10}\text{kbE } E.coli/\text{cm}^2$ war nur eine RODAC Platte auszählbar (Abb.10 links).

Der Vergleich der Inokulumwerte mit jenen nach 5 Min. war zur Bestimmung der Transferrate von Bakterien auf das Fell gedacht, also z. B. wenn fäkal kontaminiertes Gewebe Kontakt mit dem Fell hat. Da bei der Beprobung nach 5 Min. bei den Stufen 4 , 5 und $7 \log_{10}\text{kbE } E.coli/\text{cm}^2$ praktisch immer ein Rasenwachstum vorlag, konnte die Transferrate nicht abgeschätzt werden.

Abb. 8: Semiquantitative Keimzahlbestimmung einer Suspension von $7 \log_{10} \text{kbE } E. coli / \text{cm}^2$ auf kontaminiertem Rehfell mittels Agar-Abklatschmethode nach 5 Min. und 24 Stunden.

Abb. 9: Semiquantitative Keimzahlbestimmung einer Suspension von $5 \log_{10} \text{kbE } E. coli / \text{cm}^2$ auf kontaminiertem Rehfell mittels Agar-Abklatschmethode nach 5 Min. und 24 Stunden.

Abb. 10: Semiquantitative Keimzahlbestimmung einer Suspension von $4 \log_{10} \text{kbE } E. coli / \text{cm}^2$ auf kontaminiertem Rehfell mittels Agar-Abklatschmethode nach 5 Min. und 24 Stunden.

Der Vergleich der Ergebnisse nach 5 Min. mit jenen nach 24-stündiger Lagerung ist durch das Rasenwachstum nach 5 Min. ebenfalls mit Unsicherheiten behaftet; es kann aber aus den Werten für 5 und $4 \log_{10} \text{kbE} / \text{cm}^2$ geschlossen werden, dass es während der 24-stündigen Lagerung zu einer Verringerung der mittels Abklatsch nachweisbaren Bakterienzahlen um zumindest $2,4 \log_{10}$ Stufen kam. Inokula von $2-4 \log_{10} \text{kbE} / \text{cm}^2$ waren auf dem Fleischsurrogat schon bei der Beprobung 5 Minuten nach der Inokulation um 1,9; 1,9 und 1,6 $\log_{10}$ Einheiten geringere Bakterienzahlen nachweisbar (Abb. 7). Da diese Versuche den Kontakt von verschmutzten Fellen mit Fleisch simulieren sollten, kommt den ermittelten Reduktionen Bedeutung zu.

Um nun einerseits den Bakterientransfer während der Kontamination des Fells und andererseits die Kontamination anderer Oberflächen durch das Fell besser bewerten zu können, wurden die Versuche mit quantitativen Verfahren wiederholt.

3.2. Quantitative Keimzahlbestimmung auf kontaminiertem Rehfell

Die Untersuchung der beiden Kontrollproben (nicht-inokuliertes Rehfell) ergab <100 kbE Enterobacteriaceen/ cm^2 und <10 kbE *E. coli*/ cm^2 . Bei den sechs inokulierten Proben (0,1 ml einer Suspension mit $8 \log_{10}$ kbE/ml) wurden nach 5 Min., dargestellt in Abb. 11, ca. $5 \log_{10}$ kbE *E. coli*/ cm^2 nachgewiesen. Das entspricht einer Wiederfindung bzw. Transferrate von 1,4 %. Die Ergebnisse nach 24-stündiger Lagerung unterschieden sich aber von den Werten nach 5 Min. nicht (Abb. 11). Bei einem Inokulum von $5 \log_{10}$ kbE *E. coli*/ cm^2 waren nach 5 Min. 2,82 und nach 24 Stunden 1,92 $\log_{10}$ kbE *E. coli*/ cm^2 nachweisbar. In diesem Fall war die Wiederfindung 0,7 %. In dieser Kontaminationsstufe wurde aber nur ein Versuch durchgeführt.

Abb. 11: Ergebnisse der Beprobung der kontaminierten Rehfelle (Inokulum $7 \log_{10}$ kbE/ cm^2), quantitative Untersuchung, in $\log_{10}$ kbE/ cm^2 (n=6).

3.3. Inokulation der Rehfelle durch direktes Aufbringen der *E. coli* Suspension und semiquantitative Beprobung mittels Agar-Abklatschmethode

Die verwendete Kontaminationslösung wies eine *E. coli* Konzentration von 10^4 kbE/ml auf. Von der Lösung wurden durchschnittlich $2,7 \pm 1,7$ ml Flüssigkeit aufgenommen. Daraus ergab sich eine errechnete Kontamination von 938 kbE bzw. $2,97 \log_{10}$ kbE/ cm^2 Fell. Bei der

Beprobung 5 Min. nach Inokulation (n=2) ergab sich auf RODAC-VRBD Agar ein Rasenwachstum. Bei der Beprobung von zwei anderen Fellen nach 24-stündiger Lagerung bei 2 °C waren 3 bzw. 16 Kolonien/20 cm² Agarabklatschfläche nachweisbar.

3.4. 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 $2,67 \times 10^6$ kbE/ml bis $2,67 \times 10^1$ kbE/ml verwendet. Von der Lösung wurden durchschnittlich $2,7 \pm 1,7$ ml Flüssigkeit aufgenommen. Daraus ergab sich unter Berücksichtigung der Querschnittsfläche des verwendeten Becherglases eine geschätzte Kontamination von ca. 250000 bis $2,5 \text{ kbE/cm}^2$ bzw. 5,4 bis $0,4 \log_{10}\text{kbE/cm}^2$ Fell. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 zusammengestellt. Beim Vergleich der errechneten Kontamination/cm² mit der Zahl der von den Messerklingen über Abklatsch wiederfindbaren *E. coli*, zeigte sich, dass bei der Beprobung des noch feuchten Fells offensichtlich ein Großteil der Bakterien auf die Messerflächen gelangt (Tab. 4). Wenn die kontaminierten Felle mehrere Tage gelagert worden waren und dann mit dem Messer durchstochen wurden, waren mittels Abklatsch keine *E. coli* nachweisbar. Bei einer Kontamination von $5,4 \log_{10}/\text{cm}^2$ auf dem Fell war sowohl unmittelbar nach der Kontamination, als auch nach 48-stündiger Lagerung ein Rasenwachstum auf dem RODAC-VRBD Agar nachweisbar, nach weiteren 24 Std. waren die Koloniezahlen allerdings im zählbaren Bereich. Ab einer Kontamination von ca. 250 *E. coli/cm*² Rehfell gelangten bei vor 72 Stunden kontaminierten Fellen noch immer *E. coli* auf die Messerklinge.

Tab. 4: *E. coli* Koloniezahlen auf 20 cm² Messerfläche nach Durchstechen von mit *E. coli* kontaminiertem Rehfell.

Errechnete <i>E. coli</i> Zahl in							
kbE/cm ² auf dem Fell→	0*	2,5	25	250	2500	25000	250000
Koloniezahlen auf 20 cm ²							
Messerfläche							
5 Min.	0	2	58	177	Rasen	Rasen	Rasen
5 Min.	0	2	58	166	Rasen	Rasen	Rasen
5 Min.	0	9	68	153	Rasen	Rasen	Rasen
48 h	0	0	0	6	5	106	Rasen
48 h	0	0	0	3	5	154	Rasen
48 h	0	0	0	70	Rasen	4	Rasen
48 h	0	0	0	6	120	38	Rasen
72 h	0	0	0	0	0	42	38
72 h	0	0	0	2	25	120	0
72 h	0	0	0	5	1	0	120

* Nicht inokulierte Kontrolle; Rasen = über Nachweisgrenze

Nachdem die Rehelle nach einer insgesamt neuntägigen Lagerung mittels Abklatschverfahren beprobt wurden, konnten nach Überschwemmen der RODAC Platten mit Kovacs-Reagenz bei den Kontaminationsstufen 5,4–2,4 log₁₀/cm² (250000–250 kbE/cm²) noch regelmäßig, bei der Stufe 1,4 log₁₀/cm² (25 kbE/cm²) nur vereinzelt *E. coli* nachgewiesen werden.

4. Diskussion

4.1. Bedeutung der Verschmutzungen des Fells für die Schlacht- bzw. Fleischzerlegungshygiene

Bei der Schlachtung von Nutztieren gilt die Anforderung, dass Schlachttiere sauber sein müssen (DURCHFÜHRUNGSVERORDNUNG (EU) 2019/627 DER KOMMISSION). Damit soll vermieden werden, dass es bei der Enthäutung zu einer sichtbaren oder nicht sichtbaren (rein mikrobiologischen) Verschmutzung der Fleischoberflächen des Tierkörpers kommt (Antic et al 2010; Blagojevic et al. 2012). Für die tatsächliche Übertragung von Verschmutzungen und auch Mikroorganismen ist aber nicht nur der Verschmutzungsgrad des Fells, sondern auch die Enthäutungstechnik wesentlich. Für Schlachttiere wird vorgeschrieben, dass die Außenhaut nicht mit dem Schlachtkörper in Berührung kommen darf und dass die mit der Außenseite der Häute und Felle in Berührung kommenden Arbeitskräfte und Geräte auf keinen Fall das Fleisch berühren dürfen (VO (EG) Nr. 853/2004, Anhang III, Abschnitt I, Kap. IV).

Erlegtes Großwild gelangt ausgeweidet, aber noch unenthäutet in den Wildbearbeitungsbetrieb (VO (EG) Nr. 853/2004, Anhang III, Abschnitt IV). Vom Erlegen bis zum Einlangen in den Wildbearbeitungsbetrieb und bis zur Enthäutung und Zerlegung können mehrere Wochen vergehen; als Medianwerte werden 6-8 Tage angegeben (Paulsen et al. 2015, Staubmann 2017, Herbsthofer 2019). Während dieser Zeit kann das Fell der Wildtierkörper einerseits als Quelle für Verschmutzungen fungieren, andererseits aber auch kontaminiert werden. Ein Übereinanderlegen der Tierkörper beim Transport ist verboten (VO (EG) Nr. 853/2004, Anhang III, Abschnitt IV, Kap. II, Z.6). Transporte und Verbringungen aus Kühlräumen in andere Kühlräume können zu einer Kondensation von Luftfeuchtigkeit an der Felloberfläche führen, was das Wachstum von Mikroorganismen fördern kann (Paulsen 2019). Für die Enthäutung der Wildtierkörper werden im EU Recht keine besonderen Vorgaben gemacht. Es gilt zwar, dass das Fleisch so bearbeitet werden muss, dass eine Kontamination verhindert oder so weit wie möglich unterbunden wird (VO (EG) Nr. 853/2004, Anhang III, Abschnitt I, Kap. V Z.2), aber die detaillierten Vorschriften für Schlachttiere gelten nicht (VO (EG) Nr. 853/2004, Anhang III, Abschnitt I, Kap. IV). In der

Praxis und auf Grund der anatomischen Ähnlichkeiten der Schlacht- und Wildtiere sind die hygienischen Vorkehrungen beim Enthäuten der Wildtierkörper die selben wie beim Nutztier. Damit stellt sich die Frage, welches Kontaminationsrisiko durch einen Kontakt des Fells oder eines beim Enthäuten verwendeten Messers mit den frisch freigelegten Fleischoberflächen besteht.

4.2. Kontamination von Rehfallen mit *E. coli* und Wiederfindung der Bakterien

Bei der Kontamination eines Rehfalls mit einer Flüssigkultur von *E. coli* konnten durch Mazerieren in einem Stomacher etwa 1% der aufgebrauchten Mikroorganismen (Kap. 2.4; 3.2) in Suspension gebracht und mit dem Koloniezählverfahren quantifiziert werden, wobei die Werte bei der Beprobung 5 Minuten und 24 Stunden nach der Kontamination (0,1 ml einer Suspension mit $8 \log_{10} \text{ kbE/cm}^2$) sich nur wenig unterschieden (Mittelwert 5,1 bzw. 4,9 $\log_{10} \text{ kbE/cm}^2$). Beim Inokulieren wurden die Haare bewegt, um ein Eindringen des Inokulums in tiefere Fellschicht zu ermöglichen und zu verhindern, dass das Inokulum oben abrinnt (Feder und Arias 1992). Da Haare durch die beigeordneten Talgdrüsen gefettet sind (Salomon et al. 2008), wäre eigentlich zu erwarten, dass die Bakterien nicht direkt an den Haaren binden und somit im Stomacher suspendiert werden können. Es wäre aber möglich, dass die für die Oberflächenkeimzahlbestimmung auf Fleisch *de facto* als Goldstandard verwendete Methode (destruktive Probenahme und Mazeration im Stomacher; Palumbo et al. 1999, Pearce und Bolton 2005) bei Fellen nicht so effizient ist. Umgekehrt kann erwartet werden, dass bei der Beprobung durch ein reines Kontaktverfahren, wie es die RODAC Platten darstellen, die Übertragung der Bakterien bestenfalls in der Größenordnung des destruktiven Verfahrens liegen kann und damit nicht über 1% betragen wird.

4.3. Simulation der Kontamination von Rehfallen durch Kontakt mit einem festen Medium und der weiteren Kontamination von Fleischoberflächen beim Kontakt mit Rehfallen

Bei der Simulation der Kontamination von Rehfallen durch Kontakt mit einem festen Medium und der weiteren Kontamination von Fleischoberflächen beim Kontakt mit Rehfallen (Kap.

2.3 und 3.1) sind zwei Kontakte zu berücksichtigen, nämlich jener des bakterienhaltigen Mediums mit dem Fell und jener des kontaminierten Fells mit dem Fleischsurrogat (RODAC Platte). Bei der Bewertung der Ergebnisse ist zu bedenken, dass das RODAC Verfahren semiquantitativ ist und dass ab mehreren Kolonien/ cm² RODAC Platte ein Rasenwachstum vorliegt (Baumgart 1986). Es mussten in den Kontaminationsversuchen daher jene Konzentrationen von Inokulum gewählt werden, die auf der RODAC Platte eine Auszählung ermöglichten. Bei Inokula von 2-4 log₁₀ kbE/cm² waren auf dem Fleischsurrogat um 1,9; 1,9 und 1,6 log₁₀ Einheiten geringere Bakterienzahlen nachweisbar (Kontakt mit frisch inokuliertem Rehfell). Bei vor 24 Stunden oder 7 Tagen kontaminiertem Rehfell waren die Reduktionen stärker. Die Verringerung der Bakterienfracht während einer Abfolge von Kontakten kontaminierter mit nicht kontaminierten Oberflächen ist hinsichtlich der Verbreitung von *Campylobacter* in der Küche detailliert untersucht worden (Paulsen et al. 2009) und es ergab sich, dass bei einem Kontakt etwa 0,5-15% der Bakterienfracht übertragen werden. Unter der Annahme, dass *E. coli* sich hinsichtlich dieser Übertragungen ähnlich verhält wie *Campylobacter*, ist die beobachtete "Keimzahlverringerung" von etwa 2 log₁₀ Stufen nicht verwunderlich.

4.4. Simulation der Kontamination von Rehfellen durch Aufbringen eines flüssigen Mediums und der Kontamination von Fleischoberflächen beim Kontakt mit Rehfellen

Bei der Simulation der Kontamination von Rehfellen durch Aufbringen eines flüssigen Mediums und der weiteren Kontamination von Fleischoberflächen beim Kontakt mit Rehfellen (Kap. 2.5 und 3.3) ist nur ein Kontakt zu berücksichtigen, nämlich jener des kontaminierten Fells mit dem Fleischsurrogat (RODAC Platte). Die Kontamination des Rehfells wurde über das aufgenommene Volumen des Inokulums ausgerechnet. Bei einem Kontakt 5 Minuten nach der Kontamination war das Fell noch nass, und es ist daher nicht verwunderlich, dass auf der RODAC Platte Rasenwachstum auftrat (Baumgart 1986). Welcher Prozentsatz an Bakterien übertragen wurde, kann daher nicht abgeschätzt werden. Bei dem Kontakt 24 Stunden nach Kontamination waren die Felle trocken bis feucht, und die ermittelten Keimzahlen von ca. 1 kbE/cm² deuten auf eine "Keimzahlverringerung" um ca. 2

log₁₀ Einheiten hin, bzw. eine Transferrate von 1%. Vergleichbare Ergebnisse wurden bei Versuchen mit Rinderfellen erhalten (Antic et al 2010; Blagojevic et al. 2012).

4.5. Simulation der Kontamination von Rehellen durch Aufbringen eines flüssigen Mediums und der Kontamination von Messeroberflächen beim Durchschneiden von Rehellen

Bei der Simulation der Kontamination von Rehellen durch Aufbringen eines flüssigen Mediums und der weiteren Kontamination von Messeroberflächen beim Durchschneiden von Rehellen (Kap. 2.6 und 3.4) ist nur ein Kontakt zu berücksichtigen, nämlich jener des kontaminierten Fells mit dem Fleischsurrogat (RODAC Platte). Ob auf der RODAC Platte tatsächlich *E. coli* anwachsen, war einerseits von der Kontaminationshöhe am Rehfell und andererseits der Dauer von der Kontamination des Rehells bis zum Durchstechen mit dem Messer (=Simulation des Enthäutens) abhängig. Wenn das Durchstechen 5 Minuten nach der Kontamination der Haut erfolgte (und diese noch feucht war), waren immer *E. coli* auf den Messerklingen nachweisbar, bei Inokula von 2,5 und 25 *E. coli* /cm² Fell waren beim Durchstechen nach 2 und 3 Tagen keine *E. coli* auf den Messerklingen nachweisbar. Beim Durchstechen nach neuntägiger Lagerung waren bei den Kontaminationsstufen ≥ 250 kbE/cm² noch regelmäßig, bei 25 kbE/cm² vereinzelt *E. coli* nachweisbar. Dieser Nachweis des Indikatorbakteriums an Messerklingen ist ein weiteres Argument für die regelmäßige Desinfektion der beim Hautabzug verwendeten Messer.

4.6. Bedeutung der Ergebnisse für die Wildfleischhygiene

Mit Bakterien kontaminierte Felle (Sommerhaarkleid) von Rehen können durch Kontakt Fleischoberflächen kontaminieren. Das Fell kann zwar aufgebrachte Bakterien offensichtlich zurückhalten, bei der Verwendung von *E. coli* als Indikatorbakterium und von RODAC Platten als Fleischsurrogat ergaben sich für trockene Kontaminationen Übertragungsraten von etwa 1%, für noch feuchte Kontaminationen waren die Prozentsätze höher. Beim Durchschneiden von kontaminierten Fellen können auch bei hygienisch korrekter Schnittführung (die Haut von “innen”, d.h der Fleischseite, nach außen durchtrennen) *E. coli*

auf die Messerklinge gelangen, was eine regelmäßige Desinfektion der Messerklingen nötig macht.

5. Zusammenfassung

Die Bedeutung des Fells für die Schlachthygiene ist ein seit Langem beforschtes Thema. Der Verschmutzungsgrad des Fells und der damit einhergehenden Bakterienkonzentration korreliert mit der Keimzahl an der Oberfläche des Schlachtkörpers.

Die Bedeutung des Fells als Überträger von Mikroorganismen ist beim Rehwild kaum untersucht. Eine Kontamination des Fells mit fäkalen Bakterien kann während des Ausweidens, des Transport und der Lagerung erfolgen. Da nach der Erlegung die Tierkörper mehrere Tage bis zur Enthäutung und Zerlegung gelagert werden, kann es zu in diesem Zeitraum zur Kontamination anderer Oberflächen, bzw. beim Hautabzug auch von Fleischoberflächen erfolgen.

Ziel dieser Arbeit war, die Rolle des Fells (Sommerhaarkleid) bei der Übertragung von Bakterien zu untersuchen. Es wurde dabei sowohl der Kontakt des trockenen Fells mit einem bakterienhaltigen festen Medium, als auch mit einer Bakteriensuspension (zwei *E. coli* Isolate) simuliert und die Abgabe der Mikroorganismen vom Fell auf ein Fleischsurrogat (RODAC Agarplatte) und eine Messerklinge studiert, um eine Einschätzung der Übertragungsraten zu ermöglichen. Die Lagerung der Wildtierkörper im Fell („in der Decke“) wurde ebenfalls simuliert.

Bei der Beimpfung von Rehellen mit einer Flüssigkultur und anschließender Mazeration im Stomacher konnten etwa 1% der Bakterien kulturell nachgewiesen werden. Aus den Kontaminationsversuchen mit Agar-Kontaktverfahren (RODAC) ergab sich, dass bei der Abfolge: Kontakt von Rehfell mit bakterienhaltigem festem Medium – Kontakt des frisch kontaminierten Rehfalls mit dem Fleischsurrogat ca. 1% der *E. coli* übertragen wurden. Der Anteil der übertragenen *E. coli* sank mit der Dauer zwischen Kontamination des Fells und dem Kontakt mit dem Fleischsurrogat, was auch durch die Trocknung des Fells mitverursacht sein könnte. Wenn vor 9 Tagen kontaminierte (25-250000 kbE/cm²) Rehelle mit einem Messer durchstoßen wurden, waren *E. coli* auf der Messerklinge noch nachweisbar. Dies unterstreicht, dass auch visuell saubere und trockene Rehelle eine Kontaminationsquelle für Wildfleisch darstellen können und dass entsprechende Hygienevorkehrungen nötig sind.

6. Summary

Transfer of bacteria from the skin (summer fleece) of roe deer to meat surfaces

The significance of the skin for slaughter hygiene has been a long-since researched topic. The extent of contamination and associated bacterial load correlate with the number of bacteria on the surface of the carcass. The importance of the hide as a source of bacterial contaminants for meat surfaces has hardly been investigated in roe deer. The hide can be contaminated during evisceration, transport and storage of the carcass. Since carcasses are stored several days from killing to skinning, the hide can contaminate other contact surfaces, and also meat surfaces upon skinning.

It was the aim of this work to study the role of the hide/summer fleece of roe deer in transmission of bacteria to meat surfaces. The contact of dry fleece with solid and liquid media containing bacteria (two *E.coli* isolates) was simulated as well as the transfer from the contaminated fleece to a meat surrogate (RODAC agar plate) and to a knife blade (upon simulated skinning). These experiments were done to estimate the transfer rate of bacteria from fleece to meat. The influence of the storage of carcasses (skin-on) was also considered.

By destructive sampling and maceration (Stomacher), we could recover ca. 1% of *E. coli* from fleece contaminated by a liquid medium. For the sequence: fleece had been contaminated by contact with a solid medium (RODAC) – freshly contaminated fleece comes in contact with a meat surrogate, ca. 1 % of the *E. coli* load were actually transferred to the meat surrogate. This percentage declined with increasing time from contamination of the fleece to contact to the meat surrogate; drying of the fleece may have influenced these results. When fleece that had been contaminated 9 days before (25-250,000 cfu/cm²) was cut with a knife, *E. coli* were still transferred to the knife blade. The results demonstrate that even visually clean and dry summer fleece of roe deer can be a source of bacterial contamination of meat surfaces. It is thus important to implement appropriate hygiene precautions.

7. Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
cm	Zentimeter
d. h.	das heißt
<i>E. coli</i>	<i>Eschericia coli</i>
GIT	Gastrointestinaltrakt
H	Stunde
kbE	koloniebildende Einheiten
Kg	Kilogramm
Log	Dekadischer Logarithmus/Zehnerlogarithmus
MHS	Meat Hygiene Service (Großbritannien)
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	Violett-Red-Bile-Dextrose-Agar
z.B.	zum Beispiel
Mm	Mikrometer
+	plus/positiv
-	minus/negativ
X	mal
%	Prozent
°C	Grad Celsius

8. Literaturverzeichnis

- Animalia. Undatiert. Reine Dyr - en forutsetning for god dyrevelferd og trygg matproduksjon; <HTTPS://WWW.ANIMALIA.NO/CONTENTASSETS/54325F14A28B4F818B3619A098A56EFB/REINE-DYR-A4-NYE-TREKKSATSER.PDF> (Zugriff: 26.03.2020).
- Antic D, Blagojevic B, Ducic M, Nastasijevic I, Mitrovic R, Buncic S. 2010. Distributin of microflora on cattle hides and its transmission to meat via direct contact. *Food Control*, 21: 105-1029.
- Baumgart J. 1986. *Mikrobiologische Untersuchung von Lebensmittel*. Hamburg: Behr's-Verlag.
- Bianca W, Wegmann-Bosshardt H, Näf F. 1974. Untersuchung an Rinderhaaren. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 91: 217-231.
- Biss M, Hathaway S. 1996. Microbiological contamination of ovine carcasses associated with the presence of wool and faecal material. *Journal of Applied Bacteriology*, 81: 594-600.
- 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.
- 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.
- BMG. 2016. Durchführungserlass 1/Version 8 für die Durchführung der Schlachtier- und Fleischuntersuchung bei als Haustieren gehaltenen Huftieren, 1. 3. 2016. GZ BMG-74310/0036-II/B/12/2015.
- Brecheisen G. 2014. Auswirkung der Schlachtung unterschiedlich stark verschmutzter Rinder auf die mikrobiologische Belastung ihrer Schlachtkörper [Dissertation]. München: Tierärztliche Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität.

- Deutz A. 2000. Die 10 Gebote für die Wildbrethygiene, Wildbretvermarktung und Wildfleischqualität. <http://www.wildkammerfiefharrie.de/images/HygieneHinweise.pdf>. (Zugriff: 26.04.2020).
- Deutz A, Brinckmann J, Fuchs K, Arnold W, Smulders FJM, Deutz U. 2003. Beurteilungshilfe zur optisch-hygienischen Klassifizierung von Reh-, Rot- und Gamswild nach der Wildfleischverordnung. [Poster]. In: 44. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene der DVG, Garmisch-Partenkirchen. Gießen: 638-643.
- DURCHFÜHRUNGSVERORDNUNG (EU) 2019/627 DER KOMMISSION vom 15. März 2019 zur Festlegung einheitlicher praktischer Modalitäten für die Durchführung der amtlichen Kontrollen in Bezug auf für den menschlichen Verzehr bestimmte Erzeugnisse tierischen Ursprungs gemäß der Verordnung (EU) 2017/625 des Europäischen Parlaments und des Rates und zur Änderung der Verordnung (EG) Nr. 2074/2005 der Kommission in Bezug auf amtliche Kontrollen.
- Ecker K, Brem G. 2020a. Kulturelle Tabus zur alimentären Nutzung von Haustieren / 1. Mitteilung: Tabugeneese und Persistenz in den Weltreligionen. Wiener Tierärztliche Monatsschrift - Veterinary Medicine Austria, 107: 30–38.
- Ecker K, Brem G. 2020a. Kulturelle Tabus zur alimentären Nutzung von Haustieren / 2. Mitteilung: Persistenz religiöser Nahrungstabus in der studentischen Bevölkerung Österreichs. Wiener Tierärztliche Monatsschrift - Veterinary Medicine Austria, 107: 51–62.
- Eggert-Satzinger C. 2017. Kategorisierung von Schlachtrindern nach Verschmutzungsgraden analog der britischen „Clean Livestock Policy“ im Rahmen der amtlichen Schlachttieruntersuchung [Dissertation]. Leipzig: Veterinärmedizinische Fakultät der Universität Leipzig.
- Feder FH, Arias VP. 1992. Vergleichende Untersuchungen an Haaren von *Pudu pudu* und europäischen Cerviden. Anatomia Histologia Embryologia, 21: 76 – 81..

- FSA – Food Standards Agency. 2002. Red Meat Safety and Clean Livestock. https://www.foodstandards.gov.scot/downloads/Red_meat_safety_and_clean_livestock.pdf. (Zugriff: 26.04.2020).
- FSA – Food Standard Agency. 2007. Clean Beef Cattle for slaughter - A guide for producers. <https://www.foodstandards.gov.scot/downloads/cleanbeefsaf1007.pdf>. (Zugriff: 26.04.2020).
- FSA – Food Standard Agency. Undatiert. Improving cattle cleanliness. <https://www.food.gov.uk/business-guidance/cleaner-cattle-and-sheep#clean-cattle-guidance> (Zugriff 20.03.2020).
- Gill C. 2004. Visible contamination on animals and carcasses and the microbiological condition of meat. *Journal of Food Protection*, 67: 413-419.
- Hadley P, Holder J, Hinton M. 1997. Effects of fleece soiling and skinning methods on the microbiology of sheep carcasses. *The Veterinary Record*, 140: 570-574.
- Hauge SJ, Nafstad O, Rotterud O-J, Nesbakken T. 2012a. The hygienic impact of categorisation of cattle by hide cleanliness in the abattoir. *Food Control*, 27: 100–107.
- Hauge SJ, Kielland C, Ringdal G, Skjerve E, Nafstad O. 2012b. Factors associated with cattle cleanliness on Norwegian dairy farms. *Journal of Dairy Science*, 95: 2485–2496.
- 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.
- Hoffman LC, Wiklund E. 2006. Game and venison – meat for the modern consumer. *Meat Science*, 74: 197-208.
- Houins G. 2006a. Guter Zustand des Fells für sicheres Fleisch. <https://docplayer.org/27066790-Guter-zustand-des-fells-fuer-sicheres-fleish.html> (Zugriff: 23.03.2020).

- Houins G. 2006b. Kategorien von Tieren. http://www.favv-afsca.be/themenbezogenenveroeffentlichungen/_documents/2007-02-12_Faltblatt.pdf. (Zugriff: 27.03.2020).
- Jo Y, Baccus J, Koprowski J. 2018. Mammals of Korea: a review of their taxonomy, distribution and conservation status. *Zootaxa*, 108 – 110.
- Karhan M, Troxler J, Paulsen P. 2020. Sauberkeit von Schlachtrindern – Ergebnisse einer Pilotstudie aus Österreich. *Wiener Tierärztliche Monatsschrift - Veterinary Medicine Austria*, 107: 40 – 48.
- KCF - Kött och Charkföretagen. 2008. Ny norm för bedömning av gödselörorenade slaktdjur. <http://www.jordbruksverket.se/download/18.595401461210ae2d589800032972/KCFnorm%2Bför%2Bbedömning%2Bav%2Bgödselörore>. (Zugriff: 25.03.2020).
- Laaksonen S, Paulsen P. 2015. *Hunting Hygiene*. Erste Auflage, Wageningen: Wageningen Academic Publishers.
- Loncaric D, Paulsen P, Tichy A, Smulders FJM, Upmann M. 2009. The microbiological effects of poor slaughter and processing hygiene in mutton production as determined by various marker organisms. *Wiener Tierärztliche Monatsschrift - Veterinary Medicine Austria*, 96: 135-144.
- Lowman BG, Synge B, Caldow G. 1997. SAC Technical Note T468, Producing clean slaughter cattle. Edinburgh.
- McCleery DR, Stirling JME, Mcivoir K, Patterson MF. 2008. Effect of *ante-* and *postmortem* hide clipping on the microbiological quality and safety and ultimate pH value of beef carcasses in an EC-approved abattoir. *Journal of Applied Microbiology*, 104: 1471–1479.
- McEvoy JM, Doherty AM, Finnerty M, Sheridan JJ, Mcguire L, Blair IS, Mcdowell DA, Harington D. 2000. The relationship between hide cleanliness and bacterial numbers on beef carcasses at a commercial abattoir:

<https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1046/j.1472-765x.2000.00739.x>. (Zugriff: 26.03.2020).

- McGrath JF, Patterson JT. 1969. Meat Hygiene: The pre-slaughter treatment of fatstock. *The Veterinary Record*, 85: 521–524.
- Palumbo S, Klein P, Capra J, Eblen S, Miller A. 1999. Comparison of excision and swabbing sampling methods to determine the microbiological 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. (Zugriff: 26.04.2020).
- Paulsen P. 2019. Wildbrethygiene - Überlegungen zu einer "best practice". In: Fortbildungstagung des Österreichischen Verbands der Amtstierärztinnen und Amtstierärzte (ÖVA); MAY 16-17, 2019; Bad Tatzmannsdorf, Austria: 74-81.-19.
- 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*, 66: 132-135.
- Paulsen P, Hilbert F, Smulders FJM. 2009. A model to establish a "Performance Objective" (PO) for *Campylobacter spp.* In broiler carcasses at retail, *Archiv für Lebensmittelhygiene*, 60: 61 – 65.
- Paulsen P, Hilbert F, Winkelmayr R, Mayerhofer S, Hofbauer P, Smulders F. 2003. Zur tierärztlichen Fleischuntersuchung von Wild, dargestellt an der Untersuchung von Rehen in Wildfleischbearbeitungsbetrieben. *Archiv für Lebensmittelhygiene*, 54: 97-152.
- Paulsen P, Schopf E. 2016. Wildbrethygiene bei Rehen - Lage der Schusswunden bei Rehen, Bewertung von Verschmutzungen und mikrobielle Belastung der Brust- und Bauchhöhle. *Rundschau für Fleischhygiene und Lebensmittelüberwachung*, 68: 431-433.

- 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.
- Pennington H. 1998. Factors involved in recent outbreaks of *Escherichia coli* O157:H7 in Scotland and recommendations for its control. *Journal of Food Safety*, 18: 383–391.
- Prändl O. 1988. Schlachten von Tieren, ausgenommen Geflügel. In: Prändl O, Fischer A, Schmidhofer T, Sinell HJ. (Hrsg.): *Fleisch. Technologie und Hygiene der Gewinnung und Verarbeitung*. Stuttgart: 28–147.
- Reid CA, Small A, Avery SM, Buncic S. 2002. Presence of food-borne pathogens on cattle hides. *Food Control*, 13: 411–415.
- Ruud LE, Boe KE, Osteras O. 2010. Risk factors for dirty dairy cows in Norwegian freestall systems. *Journal of Dairy Science*, 93: 5216–5224.
- Salomon F, Geyer H, Gille U, Hrsg. 2008. *Anatomie für die Tiermedizin*, zweite Auflage, Stuttgart: Enke-Verlag.
- Serraino A, Bardasi L, Rio R, Pizzamiglio V, Liuzzo G, Galletti G, Giacometti F, Merialdi G. 2012. Visual evaluation of cattle cleanliness and correlation to carcass microbial contamination during slaughtering. *Meat Science*, 90: 502–506.
- Sokolov VE. 1982. *Mammal skin*. Erste Auflage. London: University of California Press.
- Staubmann M. 2017. pH-Werte im Rückenmuskel von Rot- und Schwarzwildtierkörper in einem Wildbearbeitungsbetrieb [Diplomarbeit]. Wien: Veterinärmedizinische Universität Wien.
- Vagsholm I, Smulders FJM. 2012. Symptomless carriers and the rationale for targeted risk management strategies. *Wiener Tierärztliche Monatsschrift - Veterinary Medicine Austria*, 99: 272–277.
- 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.

VERORDNUNG (EG) Nr. 178/2002 DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES vom 28. Januar 2002 zur zur Festlegung der allgemeinen Grundsätze und Anforderungen des Lebensmittelrechts, zur Errichtung der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit und zur Festlegung von Verfahren zur Lebensmittelsicherheit. (ABl. L 31 vom 1.2.2002, S. 1).

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.

Winkelmayer R, Paulsen P, Lebersorger P, Zedka HF, Hrsg, 2013. Wildbret-Hygiene. Das Buch zur Guten Hygienepraxis bei Wild. Fünfte Auflage, Wien: Verlag der Zentralstelle Österreichischer Landesjagdverbände.

Winkelmayer R, Malleczek D, Paulsen P, Vodnansky M. 2005. Röntgenanatomische Untersuchungen beim Rehwild in Hinblick auf den optimalen Zielpunkt für den tierschutzgerechten und wildbrethygienisch einwandfreien Schuss. Wiener Tierärztliche Monatsschrift - Veterinary Medicine Austria, 92: 40-45.

Wockner K, Jewell M. 2019. Clean cattle manual. Meat & Livestock Australia. <https://www.mla.com.au/news-and-events/industry-news/clean-cattle-manual-released/>. (Zugriff: 25.03.2020).

9. Abbildungs-/Tabellenverzeichnis

Abb. 1: Vereinfachte Darstellung der Verarbeitungskette von Großwild (Schalenwild).....	4
Abb. 2: Agarkontaktverfahren und semiquantitative Beprobung mittels Agar-Abklatschmethode.	16
Abb. 3: Agarkontaktverfahren und Keimzahlbestimmung.....	17
Abb. 4: Aufbringen der <i>E. coli</i> Suspension und semiquantitative Beprobung mittels Agar- Abklatschmethode.	18
Abb. 5: Aufbringen der <i>E. coli</i> Suspension und simulierte Kontamination des Messers beim Enthäuten.	18
Abb. 6: Ergebnisse der Beprobung der kontaminierten Rehelle (7, 5 und 4 log ₁₀ kbE/cm ²) mittels Agar-Abklatschmethode, in log ₁₀ kbE/cm ²	20
Abb. 7: Ergebnisse der Beprobung der kontaminierten Rehelle (3 und 2 log ₁₀ kbE/cm ²) mittels Agar- Abklatschmethode, in log ₁₀ kbE/cm ²	21
Abb. 8: Semiquantitative Keimzahlbestimmung einer Suspension von 7 log ₁₀ kbE <i>E.coli</i> /cm ² auf kontaminiertem Rehfell mittels Agar-Abklatschmethode nach 5 Min. und 24 Stunden.....	22
Abb. 9: Semiquantitative Keimzahlbestimmung einer Suspension von 5 log ₁₀ kbE <i>E.coli</i> /cm ² auf kontaminiertem Rehfell mittels Agar-Abklatschmethode nach 5 Min. und 24 Stunden.....	22
Abb. 10: Semiquantitative Keimzahlbestimmung einer Suspension von 4 log ₁₀ kbE <i>E.coli</i> /cm ² auf kontaminiertem Rehfell mittels Agar-Abklatschmethode nach 5 Min. und 24 Stunden.....	23
Abb. 11: Ergebnisse der Beprobung der kontaminierten Rehelle (7 log ₁₀ kbE/cm ²), quantitative Untersuchung, in log ₁₀ kbE/cm ² (n=6).	24
Tab. 1: Beurteilungsschema für die Sauberkeit von Schlachtrindern in Großbritannien und Irland (aus: Karhan et al. 2020).....	10
Tab. 2: Beurteilungsschemata für die Sauberkeit von Schlachtrindern in anderen europäischen Staaten (aus Karhan et al. 2020).	10
Tab. 3: Mittelwerte und Standardabweichungen von 6 Körperstellen (Bianca et al. 1974).	13
Tab. 4: <i>E. coli</i> Koloniezahlen auf 20 cm ² Messerfläche nach Durchstechen von mit <i>E. coli</i> kontaminiertem Rehfell.....	26