

1.6.1.1 Nachweis von *Bacillus cereus* (präsumtiv)

Vorkommen und Bedeutung *B. cereus*

Als sporenbildendes Bakterium ist *Bacillus cereus* weltweit verbreitet.

Bakteriensporen sind die widerstandsfähigsten Lebensformen, die wir auf der Erde kennen. Sie kommen überall vor, besonders auf dem Erdboden und im Staub. Damit können sie leicht übertragen werden. Durch Hitzebehandlung wird das vegetative Bakterium abgetötet, seine Sporen überleben. Normalerweise stellen Bakteriensporen im Lebensmittel für den Verbraucher kein Problem dar. Kommt es aber z. B. durch zu langsame Abkühlung eines bereits erhitzten Gerichtes (Pudding, Reis, Nudeln) oder durch mangelhafte Lagerbedingungen bei höheren Temperaturen zu einem Auskeimen der Sporen von *Bacillus cereus*, erfolgt eine massenhafte Vermehrung der vegetativen Zellen im Lebensmittel. Es werden Toxine gebildet und diese führen unter Umständen zu Vergiftungen oder Magen-Darm-Infektionen beim Verbraucher. Beim Nachweis von *Bacillus cereus* wird der Begriff „präsumtiv“ verwendet. *Bacillus cereus* ist von anderen nahe verwandten Arten wie *B. anthracis*, *B. thuringiensis*, *B. mycoides* oder *B. weihenstephanensis* nicht zu unterscheiden.

Richt- und Warnwerte in Lebensmitteln

Hackfleisch, Fleischzubereitungen, Roh- und Pökelwaren,
Fisch- und Fischerzeugnisse, Eier und Eiprodukte,
Milch- und Milchprodukte, Speiseeis, Patisseriewaren,
Getreideprodukte und Backwaren, Säuglings- und Kindernahrung,
Nudeln und andere Teigwaren,
Instant- und Convenience-Produkte.

Darstellung der Nachweismethode

L00.00-33 der ASU § 64 Methoden des LFGB

Als Kollektivnährmedium kann Schafsblut-Agar verwendet werden.

Selektiver ist jedoch Mannitol-Eigelb-Polymyxin-Agar (Mannitol-Egg Yolk Polymyxin-Agar), *Bacillus cereus* Selektivnährboden (MYP-Agar)

typische Zusammensetzung für 1 l Medium

1,0 g	Fleischextrakt
10,0 g	Casein, enzymatisch verdaut
10,0 g	D-Mannit
10,0 g	NaCl
0,025 g	Phenolrot
12 g	Agar

pH-Wert des fertigen Mediums: 7,1

Sterilisation: 15 min bei 121 °C

Zubereitung: Nach Abkühlung des Mediums auf ca. 45 °C, Zugabe von 100 ml Eigelbemulsion und 10⁵ IE Polymyxin-B-Sulfat

Inkubation

mindestens 18 bis 24 Stunden bei 30 bis 35 °C, aerob

Wirkungsweise

Mannitol kann von der mannitol-positiven Begleitflora als fermentierbare Kohlenstoffquelle verwertet werden. Die gebildeten Kolonien färben sich durch Säurebildung mittels Phenolrot gelblich. Die gramnegative Begleitflora wird durch Polymyxin inhibiert. *B. cereus* produziert Lecithinase und kann das Lecithin des

1.6.1.2 Nachweis von Enterokokken (*Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*)

Vorkommen und Bedeutung

Der Name der Gattung weist darauf hin, dass es sich um Darmbewohner handelt. Sie werden auch als intestinale Enterokokken bezeichnet und sind normalerweise saprophytisch bei Mensch und Tier. Sie sind grampositive, zu Ketten vereinigte, unbewegliche kugelförmige Organismen und zeichnen sich nicht nur durch Thermotoleranz, sondern auch durch Salztoleranz und pH-Unempfindlichkeit aus. Außerhalb ihres natürlichen Lebensraumes können sie als pathogene Organismen Entzündungen verschiedener Organe verursachen und auch zu unspezifischen Lebensmittelvergiftungen führen. Gefährdete Lebensmittel sind z. B. Fleisch und Gemüse. In 100 ml Trinkwasser, in 250 ml Trinkwasser für die Abfüllung in Behältnisse oder in 250 ml Mineralwasser dürfen Enterokokken nicht nachgewiesen werden. Sie dienen als Indikator für fäkale Verunreinigungen, speziell wenn die Kontamination bereits längere Zeit zurückliegt und weniger resistente Keime (z. B. *Escherichia coli* oder coliforme) bereits abgestorben sind.

Richt- und Warnwerte in Lebensmitteln

Trinkwasser, Mineralwasser

Darstellung der Nachweismethode L06.00-32, der ASU § 64 Methoden des LFGB

Der Nachweis und die Bestimmung von *Enterococcus faecalis* und *Enterococcus faecium* in Fleisch und Fleischerzeugnissen ist beschrieben mittels Citrat-Acid-Tween-Carbonat-Agar nach Reuter (**CATC-Agar**)

typische Zusammensetzung für 1 l Medium

15,0 g	Caseinpepton
5,0 g	Hefeextrakt
15,0 g	Natriumcitrat
5,0 g	Kaliumdihydrogenphosphat
1,0 g	Tween 80
2,0 g	Natriumcarbonat
0,4 g	Natriumazid
0,1 g	Triphenyltetrazoliumchlorid
12,0 g	Agar

pH-Wert des fertigen Mediums: 7,0

Sterilisation: 15 min bei 121 °C

Zubereitung: Nach Abkühlung des Mediums auf ca. 45 °C, Zugabe von Natriumcarbonat, Natriumazid und Triphenyltetrazoliumchlorid

Inkubation

24 Stunden bei 37 °C, aerob und 24 h Nachinkubation bei Raumtemperatur.

Wirkungsweise

Enterokokken reduzieren farbloses Triphenyltetrazoliumchlorid zu Formazan mit rötlicher Farbe. Natriumazid unterdrückt das Wachstum der Begleitflora.

1.6.1.3 Nachweis von *Escherichia coli*

Vorkommen und Bedeutung

Die nach dem Kinderarzt Theodor Escherich benannte Gattung *Escherichia* mit dem wichtigsten Spezies *Escherichia coli* wurde erstmalig aus dem Darm von Säuglingen isoliert. Er gilt als harmloser und sogar nützlicher Darmbewohner. Bei *E. coli* handelt es sich um gramnegative, bewegliche kurze Stäbchen. *E. coli* hat sowohl bei der Lebensmittel- und Trinkwasseruntersuchung als Indikator für fäkale Verunreinigungen, als auch als pathogener Leitkeim des Europäischen Arzneibuches eine herausragende Bedeutung. Es gibt serologisch differenzierbare (darm-) pathogene Stämme (z. B. EHEC, ETEC, EPEC u. a.). Sie können bereits Darminfektionen und schwere Erkrankungen verursachen, wenn weniger als 100 Keime vorhanden sind. Da sie säureresistent sind, können sie die Magenpassage unter Umständen überstehen. Infektionen führen beim Menschen zu Gastroenteritis, die sich z. B. im Fall von EHEC (Enterohämorrhagische *E. coli*) zu einem postinfektiösen hämolytisch-urämisches Syndrom weiterentwickeln und zu Nierenversagen und lebensbedrohlichen Zuständen führen können.

Richt- und Warnwerte in Lebensmitteln

Fleisch, Fleischerzeugnisse, Wurstwaren,
Fischwaren,
Käse, aufgeschlagene Sahne,
Säuglingsnahrung,
Speiseeis,
Backwaren, Patisseriewaren,
Teigwaren, Convenienceprodukte,
Trink- und Mineralwasser.

Darstellung der Nachweismethode

L00.00-132-2, der ASU § 64 Methoden des LFGB

Der Nachweis und die Bestimmung von β -Glucuronidase-positiven *Escherichia coli* wird beschrieben mittels Trypton-Galle-Glucuronid-Agar (**TBX-Agar**)

typische Zusammensetzung für 1 l Medium:

20,0 g	Casein, enzymatisch verdaut
1,5 g	Gallensalze Nr. 3
0,03 μ g	5-Brom-4-Chlor-3-Indol- β -D-Glucuronsäure (BCIG)
3,0 ml	Dimethylsulfoxid (DMSO)
12,0 g	Agar

pH-Wert des fertigen Mediums: 7,2

Sterilisation: 15 min bei 121 °C

Zubereitung: Herstellen von Platten oder Temperieren des Mediums auf 47 °C für das Plattengussverfahren

Inkubation

18 bis 24 Stunden bei 44 °C, aerob.

Wirkungsweise

Gallensalze sowie die Inkubation bei 44 °C unterdrücken die Begleitflora. Die β -Glucuronidase wird mittels BCIG nachgewiesen. Das Chromogen wird intrazellulär gespalten und die Kolonien färben sich blau, blaugrün oder türkis.

Koloniemorphologie

Kleine, deutlich blau gefärbte Kolonien