

1.6.1.9 Nachweis von *Clostridium perfringens*

Vorkommen und Bedeutung

Die Gattung *Clostridium* enthält mehrere humanpathogene Spezies, die Neurotoxine oder Enterotoxine bilden. Zu den neurotoxinbildenden Spezies zählt vor allem *Clostridium botulinum*. *Clostridium perfringens* und *Clostridium difficile* bilden Enterotoxine, die nach Aufnahme mit Lebensmitteln oder Trinkwasser den Darm kolonisieren und u. a. eine Lebensmittelvergiftung mit Durchfall und Erbrechen auslösen können.

Clostridien sind grampositive, sporenbildende und strikt anaerobe Stäbchen. Die Energiegewinnung erfolgt durch Buttersäuregärung von Polysacchariden und/oder die Fermentation von Aminosäuren. *C. perfringens* wird als kommensaler Darmbewohner auch in gesunden Individuen in hoher Keimzahl gefunden. Die Generationszeit beträgt unter optimalen Bedingungen (43 °C bis 45 °C) nur acht bis zwölf Minuten. Die Bildung von Endosporen ermöglicht eine weite Verbreitung in Lebensmitteln und in der Umwelt. Die Sporen sind hitzeresistent und werden durch Hitzebehandlung bei 100 °C nicht abgetötet.

Richt- und Warnwerte

Trinkwasser, Hackfleisch, Fleischzubereitungen, Rohwurst, Rohpökelfleisch, Koch- und Brühwurst, Köchelpökelfleisch, in der Packung pasteurisierte Produkte, geräucherte Fische, gekochte Fischerzeugnisse, Krebs- und Weichtiere, Eier und Eiprodukte (nicht verzehrfertig), pasteurisierte Milch und flüssige Milcherzeugnisse, Milchpulver, Butter, Käse, Speiseeis, genussfertige Suppen, rohe Teigwaren, Säuglingsnahrung, Patisseriewaren

Darstellung der Nachweismethode

L00.00-57 der ASU § 64 Methoden des LFGB

Der Nachweis von *Clostridium perfringens* in Lebens- oder Futtermitteln sowie für Umgebungsproben im Bereich der Herstellung und Behandlung von Lebensmitteln ist beschrieben mittels Sulfid-Cycloserin-Agar (**SC-Agar**), dessen ursprüngliche Bezeichnung „eigelfreier TSC-Agar“ lautete.

In der nachfolgenden Abbildung ist der schematische Nachweis mittels SC-Agar und die normativen Möglichkeiten zur Bestätigung verdächtiger Kolonien von *C. perfringens* dargestellt.

1.6.1.10 Nachweis und Zählung von *Listeria monocytogenes* und *Listeria* spp.

B. Fiedler

Vorkommen und Bedeutung

Die Gattung *Listeria* wurde benannt nach dem englischen Chirurgen Joseph Lister. Es sind zarte, kurze, meist kettenbildende grampositive, peritrich begeißelte Stäbchen. Sie liegen auch in „Palisaden-, V- oder Y-Form“ vor. Durch die Art der Begeißelung ist eine taumelnde oder „torkelnde“, langsame Bewegung erkennbar. Aus Kohlenhydraten wird Säure, aber kein Gas gebildet, Katalase ist vorhanden.

Listerien sind in der Natur weit verbreitet und kommen u. a. auf Geflügel, rohem Fleisch, in Silage und Kot vor. *Listeria monocytogenes* ist als Erreger der Listeriose bei Menschen und Tieren (Rind, Schaf, Geflügel, Nager, Fische) von großer Bedeutung. Listeriosen sind in mannigfaltiger Form verlaufende, invasive Infektionen, die vornehmlich bei Schwangeren, Neugeborenen, Kleinkindern und immungeschwächten Personen einen gefährlichen Verlauf zeigen. Sie führt u. a. zu Frühgeburten oder Aborten und bei Neugeborenen und immungeschwächten Personen auch zu Todesfällen. Bei Tieren kommt es zu septischen Allgemeininfektionen („Silofutterkrankheit“). Eine Übertragung von Tieren zum Menschen ist sehr selten. Alimentäre Infektionen, verursacht u. a. durch Weichkäse, Kraut- und Gemüsesalate, Fischprodukte oder Milchprodukte sind beschrieben.

L. monocytogenes wächst bei relativ niedrigen a_w -Werten, über ein pH-Spektrum von 5,0 bis 9,0 und vermehrt sich bei Kühlschranktemperaturen (4 °C) als auch bei 44 °C.

Richt- und Warnwerte

Hackfleisch, Fleischzubereitungen, Pökelwaren und Wurst, Fische, Krebs- und Weichtiere, pasteurisierte Milch, Milcherzeugnisse, Butter, Käse, Speiseeis, genussfertige Suppen, Teigwaren, Gewürze und Gewürzmischungen, diätetische Lebensmittel, Säuglingsnahrung, Patisseriewaren, Fertiggerichte, Feinkostsalate, Futtermittel

Darstellung der Nachweismethode

Der **Nachweis** von *Listeria monocytogenes* und *Listeria* spp. erfolgt nach dem Verfahrensschema der ASU § 64 Methode L00.00-32/1, Bild A.1, welches schematisiert in Abb. 1 dargestellt ist:

1.6.1.11 Nachweis von *Campylobacter* spp.

Vorkommen und Bedeutung

Campylobacter gehörte früher zur Gattung *Vibrio* und wird gegenwärtig der Familie *Campylobacteriaceae* zugeordnet. Es handelt sich um polar begeißelte, spiralförmige oder gebogene Stäbchen. Die Energiegewinnung erfolgt durch Assimilation von Aminosäuren und organischen Säuren. *Campylobacter* spp. sind mikroaerophil und wachsen weder anaerob noch in Gegenwart von mehr als 20 % Sauerstoff. Die 15 Spezies der Gattung sind obligate kommensale Bewohner der Mundhöhle oder des Intestinaltraktes warmblütiger Tiere. *C. jejuni* ist Verursacher der weltweit häufigsten bakteriellen Infektionen (Campylobacteriose) durch belastete Lebensmittel. 30 bis 50 % der Erkrankungen werden durch unzureichend erhitztes Hähnchenfleisch oder das Auftauwasser von TK-Geflügel verursacht. In der EU werden etwa 50 Fälle je 100.000 Personen gemeldet. Am häufigsten sind Kleinkinder betroffen. Die Infektionen sind in den Sommermonaten Juni bis August doppelt so häufig wie im Winter. Die Symptome sind gastrointestinale Infektionen, Durchfall und Fieber. Chronische Folgeerkrankung kann in seltenen Fällen eine Erkrankung des Nervensystems sein (Guillain-Barré Syndrom). *C. coli*, *C. fetus* und *C. lari* sind ebenfalls humanpathogen, treten aber wesentlich seltener auf als *C. jejuni*.

Richt- und Warnwerte in Lebensmitteln

Rohwurst, Rohpökelfleisch, ausgeeift, Kochpökelfleisch, Koch- und Brühwürste, gekochte Krebs- und Weichtiere, Milch- und Milcherzeugnisse, Käse, Speiseeis, verzehrfertige Suppen, Säuglingsnahrung, Patisseriewaren

Darstellung der Nachweismethode

L00.00-107/1 und L00.00-107/2 der ASU § 64 Methoden des LFGB

In Abhängigkeit von der Art der Probe und dem Zweck der Untersuchung können drei verschiedene Nachweisverfahren angewendet werden:

- Anreicherung bei Proben mit geringer Anzahl oder gestressten *Campylobacter* und geringer Begleitflora (**Bolton-Bouillon**), anschließende Ausplattierung auf mCCD-Agar und ein zweites Medium (z. B. *Campylobacter*-Agar nach Butzler, Skirrow oder Karmali).
- Anreicherung bei Proben mit geringer Anzahl von *Campylobacter* und starker Begleitflora (**Preston-Bouillon**) und anschließende Ausplattierung auf **mCCD-Agar**.
- Direktes Ausplattieren ohne Anreicherung, bei Proben mit hoher Anzahl von *Campylobacter* auf mCCD-Agar und **optional ein zweites Medium**, das ein anderes Wirkprinzip hat als mCCD-Agar, *Campylobacter*-Agar nach Butzler oder Skirrow, z. B. **Karmali-Agar**.
- Charakteristische oder verdächtige Kolonien werden zur Bestätigung auf einem nicht selektiven Blutmedium (z. B. **Columbia-Blut-Agar**) ausgestrichen.

Das Fließschema für alle Nachweisverfahren ist im Anhang A, Bild A.1 auf Seite 15 der ASU 64 § Methode L00.00-107/1 dargestellt.