

## 2. Literaturübersicht

### 2.1 *Bacillus cereus*

#### 2.1.1 Taxonomie

Die Taxonomie des Genus *Bacillus* ist aufgrund seiner Heterogenität in vielen Fällen umstritten. Die Vielfalt wird auch bei der Betrachtung der Guanin- und Cytosin-Gehalte der einzelnen Spezies, die zwischen 32 und 69 mol% liegen, deutlich. Im BERGEY's Manual of Determinative Bacteriology (HOLT et al., 1994) wird das ungewöhnlich heterogene Genus *Bacillus* den „Endosporenbildenden Gram-positiven Stäbchen und Kokken“ zugeordnet, wobei die Familie der *Bacillaceae* (SLEPECKY u. HEMPHILL, 1992) dort keine Berücksichtigung mehr findet. Bei insgesamt über 200 beschriebenen *Bacillus*-Spezies sind in der fünften Ausgabe des BERGEY's Manual of Systematic Bacteriology 146 Spezies im Genus *Bacillus* aufgeführt (SNEATH et al., 1996). Nach PREIST (1993) teilt sich das Genus *Bacillus* in sechs verschiedene Gruppen auf, wobei *Bacillus cereus* (*B. cereus*) der *Bacillus subtilis*-Gruppe zugerechnet wird. Zwischen vier Spezies dieser Gruppe, nämlich *B. cereus*, *B. thuringiensis*, *B. anthracis* und *B. mycooides*, besteht aufgrund der phänotypischen und genetischen Eigenschaften ein naher Verwandtschaftsgrad (CARLSON et al., 1994). ASH et al. (1991) unterteilen das Genus *Bacillus* in fünf verschiedene Gruppen und ordnet *B. cereus* zusammen mit *B. thuringiensis* und *B. mycooides* der *B. cereus*-Gruppe (Gruppe 1) zu.

#### 2.1.2 Vorkommen und Bedeutung von *Bacillus cereus* in Lebensmitteln

Vertreter des ubiquitär vorkommenden Genus *Bacillus* gehören aufgrund ihrer ausgeprägten proteolytischen Eigenschaften zu den wichtigsten Verursachern von Qualitätsminderung und Verderb bei Lebensmitteln. *B. cereus* ist mit einem vielseitigen und aktiven Enzymspektrum ausgestattet, wodurch er als Lebensmittelverderbniskeim eine große Rolle spielt. Vor allem in der Backwaren- und Milchindustrie kann er zu großen wirtschaftlichen Verlusten führen (BEUTLING u. BÖTTCHER, 1998). Daneben beansprucht die Spezies *B. cereus* wachsendes Interesse als Verursacher von lebensmittelassoziierten Erkrankungen. Bei *B. cereus* handelt es sich um ein Bakterium, das über den Erdboden, das Wasser und die Luft leicht Lebensmittel oder Bedarfsgegenstände kontaminieren kann.

*B. cereus* auf Küchengerätschaften und Oberflächen von Bedarfsgegenständen sowie in Lebensmitteln gilt als Problemkeim, der ein ernsthaftes Gesundheitsrisiko darstellen kann (ANDERSSON et al., 1995). Über die Häufigkeit lebensmittelbedingter Erkrankungen führen viele Länder Statistiken, die allerdings auf unterschiedlich strukturierten Meldesystemen beruhen (SINELL, 2002). Von 1973 bis 1987 lag die Prozentzahl der in den USA (BEAN u. GRIFFIN, 1990) und Kanada (TODD, 1992) dokumentierten Fälle lebensmittelbedingter Erkrankungen, die durch *B. cereus* hervorgerufen wurden, zwischen 1,8 und 6,9 %. Den

aktuellen CDC Surveillance Summaries für die USA von 1993-1997 (CDC, 2000) ist zu entnehmen, dass die Beteiligung von *B. cereus* an den Ausbrüchen lebensmittelbedingter Erkrankungen nur unter einem Prozent liegt. In Tabelle 1 sind die lebensmittelbedingten Ausbrüche in verschiedenen ausgewählten europäischen Ländern aus den Jahren 1993-1998 dargestellt, bei denen *B. cereus* als auslösendes Agens identifiziert wurde. Die Daten basieren auf dem 7. Report des "WHO Surveillance Programme for Control of Foodborne Infections and Intoxications in Europe" und variieren von Land zu Land erheblich (WHO, 2003).

Tab.1: Lebensmittelassoziierte, *B. cereus*-bedingte Krankheitsausbrüche in ausgewählten europäischen Ländern 1993-1998 (WHO, 2003)

<b>Foodborne disease outbreaks by causative agents</b>								
<i>Bacillus cereus</i>	Jahr						1993-1998	
	1993	1994	1995	1996	1997	1998	No.	%
Deutschland	4	2	0	3	1	0	<b>10</b>	<b>1,1</b>
Frankreich	3	4	2	2	1		<b>12</b>	<b>0,8</b>
Dänemark	3	1	3	3	0	3	<b>13</b>	<b>2,7</b>
Finnland	0	3	6	3	7	3	<b>22</b>	<b>13,8</b>
Niederlande	keine Angaben						<b>59</b>	<b>2,3</b>
Norwegen	5	1	7	5	7	5	<b>30</b>	<b>18,2</b>
Portugal	1	0	1	0	2	3	<b>7</b>	<b>3,5</b>
Spanien	0	1	5	4	5	4	<b>19</b>	<b>0,3</b>
Schweden	keine Angaben		11	7	5	2	<b>25</b>	<b>4,8</b>
Schweiz	1	0	0	1	0	0	<b>2</b>	<b>1,3</b>
England, Wales,	2	6	8	4	6	0	<b>26</b>	<b>2,0</b>
Schottland	keine Angaben			0	0	1	<b>1</b>	<b>2,3</b>

Im Ernährungsbericht der Deutschen Gesellschaft für Ernährung (DGE, 2000) für die Jahre 1993-1997 wird die Inzidenz von lebensmittelbedingten Erkrankungen, bei denen *B. cereus* als Erreger isoliert wurde, mit 1,5% (10 der 673 Fälle) angegeben.

In Taiwan (PAN et al., 1997), Japan (SHINAGAWA, 1993; MINISTRY OF HEALTH AND WELFARE JAPAN, 1998) und Thailand (GASALUK et al., 1996) werden dahingegen enterotoxische *B. cereus*-Stämme mit nahezu einem Drittel aller erfassten lebensmittelbedingten Gruppenerkrankungen in Verbindung gebracht. PAN et al. (1997) zählen *B. cereus* neben *Staphylococcus aureus* und *Vibrio parahaemolyticus* zu den drei wichtigsten bakteriellen Pathogenen im Zusammenhang mit Ausbrüchen lebensmittelbedingter Erkrankungen in Taiwan.

Im Bereich der Bundeswehr routinemäßig durchgeführte epidemiologische Untersuchungen bei gehäuft auftretenden gastrointestinalen Symptomatiken liefern wertvolle Daten über die Prävalenz *B. cereus*-bedingter Erkrankungen. Hier dominierte *B. cereus* bei weiterhin deutlich steigender Bedeutung in den Jahren 1994-1997 als Verursacher von 43 % der Einzelfälle und 52 % der Ausbrüche lebensmittelbedingter Erkrankungen in der Gemeinschaftsverpflegung (KLEER et al., 2001).

Toxinbildende *B. cereus*-Stämme können beim Mensch sowohl das diarrhoeische Syndrom als auch eine emetische Erkrankungsform auslösen (TURNBULL et al., 1979a, 1979b; KRAMER u. GILBERT, 1989; OLM u. SCHEIBNER, 1993; LUND u. GRANUM, 1997; GRANUM, 1997). Die Inkubationszeit bei der durch Enterotoxine ausgelösten diarrhoeischen Form liegt nach GRANUM (1997) bei 8 bis 16 Stunden. Es kommt zu Abdominalkrämpfen, wässrigem Durchfall und gelegentlich zu Übelkeit. Das emetische Toxin kann Übelkeit und Erbrechen bei einer sehr kurzen Inkubationszeit von 0,5 bis 5 Stunden auslösen (KRAMER und GILBERT, 1989; GRANUM, 1997).

Vor allem bei „cooked and chilled food“, welches Gemüse enthält, ist eine große Vielfalt der bakteriellen Mikroflora beschrieben, die auch pathogene Spezies wie *B. cereus* enthält. Während der Lagerung derartiger Halbfertigprodukte besteht das Risiko einer Keimvermehrung (CHOMA et al., 2000a).

Die folgende Tabelle (Tab. 2) bietet einen Überblick, über das in der Literatur beschriebene Vorkommen von *B. cereus* in Lebensmitteln.

Tab.2: Vorkommen von *B. cereus* in Lebensmitteln

<b>Vorkommen von <i>B. cereus</i> in Lebensmitteln</b>	
Lebensmittel	Referenz
Säuglingsnahrung	BECKER et al. (1984,1994) ROWAN et al. (1997, 2001)
Trockenmilchprodukte	SCHMITT et al. (1976) HOLMES et al. (1981) KRAMER u. GILBERT (1989) BECKER et al. (1994) KIM et al. (2000)
Milch und Molkereiprodukte	KRAMER u. GILBERT (1989)
Pasteurisierte Milchprodukte	WONG et al. (1988) VAN NETTEN et al. (1990) CHRISTIANSSON (1989, 1993) LARSEN u. JØRGENSEN (1997) TE GIFFEL et al. (1997) LIN et al. (1997)
UHT- Milch	MOSTERT et al. (1979)
Käse	VAN NETTEN et al. (1990)
Soßen, Pudding	VAN NETTEN et al. (1990) RIPABELLI et al. (2000)
Reis und Reisgerichte	TAYLOR u. GILBERT (1975) KRAMER u. GILBERT (1989) VAN NETTEN et al. (1990) DOBRNIEWSKI (1993) RIPABELLI et al. (2000) MICHINO u. OTSUKI (2000)
Salate, Gemüse und Gemüsezubereitungen	KRAMER u. GILBERT (1989) VAN NETTEN et al. (1990) RUSUL u. YAACOB (1995) RIPABELLI et al. (2000)
Vegetarische Lebensmittelprodukte	FANG et al. (1999)
Sprossen und Keimlinge	PORTNOY et al. (1976) HARMON et al. (1987) TAORMINA et al.(1999)
Kartoffelbrei	TAYLOR u. GILBERT (1975) DOBRNIEWSKI (1993)
Nudeln	VAN NETTEN et al. (1990) RUSUL u. YAACOB (1995)
Fleischprodukte, Fleischbällchen	TAYLOR u. GILBERT (1975) KRAMER u. GILBERT (1989) DOBRNIEWSKI (1993)
Fischkroketten (Tiefkühlkost)	KRAMER u. GILBERT (1989)
Marinaden	FELDHUSEN (1999)
Gewürze	KRAMER u. GILBERT (1989) VAN NETTEN et al. (1990) RUSUL u. YAACOB (1995) GIACCONE et al. (1996)

### 2.1.3 Produktionstechnisch bedingte Ursachen der Keimvermehrung

Die Hauptfaktoren während der Produktion und Distribution von Lebensmitteln, die das Auskeimen und die Vermehrung von *B. cereus*-Sporen begünstigen und zum Auslösen von *B. cereus*-bedingten Erkrankungen beitragen, sind nach KRAMER und GILBERT (1989) die unzureichende Erhitzung der Produkte, die Lagerung der Produkte bei nicht geeigneten Temperaturen, eine größere Zeitspanne zwischen der Zubereitung der Lebensmittel und der Ausgabe bzw. dem Verzehr sowie die Kontamination von verzehrsfertigen Lebensmitteln durch Flächen und Küchengerätschaften.

Die Fähigkeit von *B. cereus* Sporen zu bilden, birgt vorallem in Großküchen ein hohes Risiko, wenn kein konsequentes Temperaturregime eingehalten wird. Sporen können Erhitzungsprozesse überleben und werden zum Auskeimen angeregt, während die kompetitive Keimflora abgetötet wird. Massenerkrankungen resultieren nach BEUTLING und BÖTTCHER (1998) dann zumeist aus küchentechnischen Fehlern, wie z.B. langfristiges Warmhalten bzw. Aufbewahren oder verzögertes Auskühlen von zubereiteten Speisen. Dies belegt auch eine 1998 durchgeführte Studie der US-Gesundheitsbehörden. Als Hauptursachen für lebensmittelbedingte Erkrankungen wurden zu 29% eine zu frühe Speisenzubereitung, zu 27 % mangelhafte Heißhaltung und zu 25 % unzureichendes Aufwärmen genannt (BACH, 1999), wie aus Abbildung 1 ersichtlich ist.

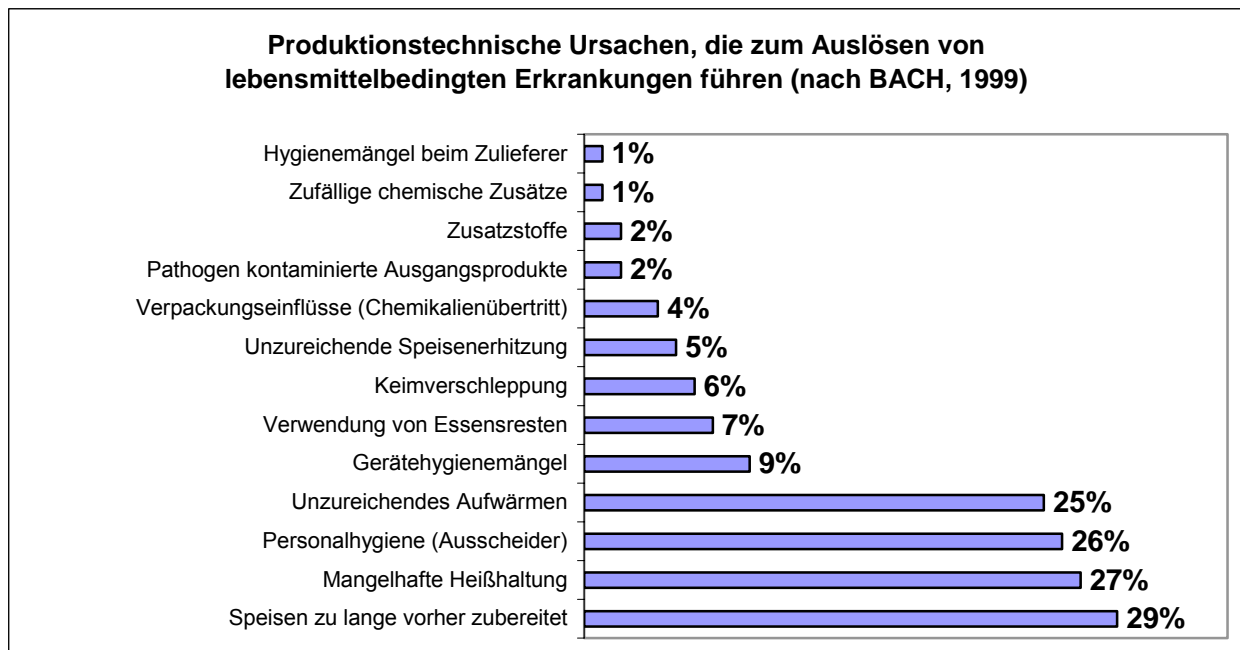


Abb.1: Produktionstechnische Ursachen, die zum Auslösen von Lebensmittelbedingten Erkrankungen führen (nach BACH, 1999)

#### **2.1.4 Human- und veterinärmedizinische Bedeutung von *Bacillus cereus***

Neben gastrointestinalen Symptomatiken werden beim Menschen vereinzelt schwere Verlaufsformen bzw. Komplikationen von *B. cereus*-bedingten Erkrankungen beschrieben, die in Einzelfällen bei immunsuppressiven Patienten auch tödlich verlaufen können (AKIYAMA et al., 1997; MARX et al., 1997; MILLER et al., 1997; VAN DER ZWET et al., 2000). Dabei handelt es sich um Bakteriämien, Septikämien, Endokarditiden, Meningitiden und Pneumonien (TURNBULL et al., 1979b; SLIMAN et al., 1987; MARLEY et al., 1995; MILLER et al., 1997) sowie Endophtalmitiden, postoperative Wundinfektionen, Hautinfektionen und andere invasive Infektionen (RICHARD et al., 1988; AKESSON et al., 1991; HSUEH et al., 1999; CALLEGAN et al., 1999).

Veterinärmedizinisch als Krankheitserreger bei Tieren ist *B. cereus* als auslösendes Agens einer Mastitis acuta gravis beim Rind bedeutsam, die von TERPLAN (1957) erstmalig in Deutschland beschrieben wurde. Die Infektion erfolgt entweder über kontaminierte Euterpräparate (EWALD et al., 1985; GEDEK, 1987; FABBI et al., 1989) oder infolge von infizierten Zitzentraumen. JONES und TURNBULL (1981) beschrieben 28 Fälle von Mastitiden in England, die durch *B. cereus* ausgelöst wurden. Dabei vermuteten sie eine alimentäre Infektion über kontaminiertes Futtergetreide aus Brauereien. Neben der Rindermastitis spielen *B. cereus*-Infektionen bzw.-Intoxikationen beim Tier eine untergeordnete Rolle. Beschrieben sind Aborte bei Rind (WOHLGEMUTH et al., 1972) und Schaf (MASON u. MUNDAY, 1968), Dermatitis bei Pferden (FRÖHLICH, 1991) sowie Vomitus und Diarrhoe bei alimentär infizierten Hunden (CHASTAIN u. HARRIS, 1974).

#### **2.1.5 Morphologie, Sporen, physiologische und biochemische Eigenschaften**

##### Morphologie:

Vegetative Keime der Spezies *B. cereus* sind Gram-positive Stäbchen von 3-7 µm Länge und 1-1,2 µm Breite. Aufgrund peritricher Begeißelung sind die Bakterien beweglich. Die Vermehrung kann aerob aber auch fakultativ anaerob erfolgen. *B. cereus* weist die Fähigkeit zur Sporenbildung auf (CLAUS u. BERKELEY, 1986; YAMADA et al., 1999; LINDBÄCK et al., 1999). Die Endospore liegt, ohne das Sporangium anschwellen zu lassen, zentral oder parazentral. Die Anordnung der Zellen in Ketten bedingt die sehr variable Kolonieform bei den einzelnen Stämmen. Die Kolonien haben eine stumpfe wachartige Oberfläche und einen unregelmäßigen Rand, der jedoch keine deutlichen Ausläufer hat.

##### *B. cereus*-Sporen:

Die Sporen sind unempfindlich gegenüber Hitze einwirkung wie sie beispielsweise bei Pasteurisation (60-80 °C) auftritt (WOOD u. WAITES, 1988; MOSSEL et al., 1995; ANDERSSON et al., 1995; GARCÍA-ARMESTO u. SUTHERLAND, 1997; LARSEN u.

JØRGENSEN, 1997; ROZIER u. CARLIER, 1997; GONZÁLES et al., 1999; GUINEBRETIERE et al., 2001). Darüber hinaus ist bei *B. cereus*-Stämmen eine Aktivierung der Sporen zur Auskeimung infolge einer Hitzebehandlung beschrieben (LAURENT et al., 1999). In einigen Fällen konnte *B. cereus* sogar aus UHT-Milch (MOSTERT et al., 1979) und Dosensuppen isoliert werden (MAZAS et al., 1995). Allerdings sind die Vermehrungskonditionen in Konserven auch für die Hitzeeinwirkungen überlebende *B. cereus*-Sporen im Hinblick auf pH-Wert, Wasseraktivität und Salzkonzentration nach LEGUERINEL et al. (2000) suboptimal. In Untersuchungen von FAILLE et al. (2001) wurden ebenfalls Sporen eines *B. cereus* CUETM 98/4 Stammes, der aus Milch isoliert wurde, als hochgradig resistent gegenüber Hitze einwirkung ( $D_{100} = 3.32$  min in Milch) beschrieben. In der Milchindustrie ist die Kontamination von Leitungssystemen mit *Cereus*-Sporen sowie unzureichende Temperaturen bei der Pasteurisation laut ANDERSSON et al. (1995) als ein stetig steigendes Risiko anzusehen. Aufgrund der hydrophoben Eigenschaften der Sporen (HUSMARK u. RÖNNER, 1990; RÖNNER et al., 1995) heften sich diese gut an Oberflächen an. Desweiteren zeigten anheftende *Cereus*-Sporen gegenüber Desinfektionsmitteln in Adhäsions- und Desinfektionsversuchen mit oxidativ wirksamen Desinfektionsmitteln eine hohe Resistenz (CHRISTIANSSON et al., 1999; FAILLE et al., 2001).

#### Physiologische und biochemische Eigenschaften:

Die Spezies *B. cereus* umfasst sowohl psychrophile Stämme, die im Wesentlichen aus Milch und Milchprodukten isoliert wurden (BUCK et al., 1992; DUFRENNE et al., 1995; TE GIFFEL et al., 1995; MAHAKARNCHANAKUL u. BEUCHAT, 1999), als auch mesophile Stämme. Bei psychrophilen Stämmen ist eine Vermehrung bei niedrigen Temperaturen (8-20°C) möglich, mesophile Stämme haben ihr Wachstumsoptimum bei mittleren Temperaturen (20-40°C). SCHULENBURG und BERGANN (2000) konstatierten eine extrem kurze Generationszeit von 0,39 Stunden eines *B. cereus* CCM 2343-Stammes bei 30°C in SPYE-Bouillon. Bis 47°C kommt es noch zu einer schnellen Vermehrung. Die obere Temperaturtoleranzgrenze bei *B. cereus*-Stämmen liegt nach FEHLHABER et al. (2000) bei 50 °C. Im Rahmen von Versuchen mit dem psychrotrophen *B. cereus*-Stamm TZ415 beobachteten CHOMA et al. (2000b) im Temperaturbereich von 5 °C bis 38 °C in Rich Medium (CLAUS u. BERKELEY, 1986) Vermehrung. FEHLHABER und KUNZE (1999) konnten in ihren Versuchen mit Isolaten aus Fleischerzeugnissen keine aeroben Sporenbildner mit psychrotrophen Eigenschaften nachweisen. Die untere Vermehrungsgrenze der Isolate erstreckte sich zwischen 5 °C und 7 °C. CARLIN et al. (1999) stellten allgemein fest, dass *B. cereus* nur unzureichend an Kältebedingungen angepasst ist und durch niedrige Lagerungstemperaturen vergleichsweise stärker beeinflusst wird als andere Bakterien.

Im Gegensatz dazu ist eine Vermehrung von *B. cereus* in Milch und Milchprodukten sogar bei 4 °C (VAN NETTEN et al., 1990; ANDERSEN BORGE et al., 2001) und 1 °C (COGHILL u. JUFFS, 1979) beschrieben. Untersuchungen von DUFRENNE et al. (1995) sowie FOEGEDING und BERRY (1997) deuten darauf hin, dass sich *B. cereus*-Stämme an niedrige Temperaturen adaptieren können, was die unterschiedlichen Angaben zur unteren Wachstumsgrenze erklären könnte. LINDSAY et al. (2000) führten Experimente mit Nährlösungen unterschiedlicher pH- Werte durch. Alle Isolate zeigten im pH- Bereich von 4,6 bis 9,6 bei 25 °C Vermehrung. Dies deckt sich mit den Ergebnissen von RAEVUORI und GENIGEORGIDIS (1975) sowie GARCIA-ARRIBAS und KRAMER (1990), die eine Vermehrung von *B. cereus*- Isolaten in einem weiten pH-Bereich zwischen 4,9 und 9,3 beobachten konnten. Des Weiteren wurde die Anheftung von *B. cereus*-Zellen aus Magermilch Medium bei unterschiedlichen pH- Werten an Edelstahloberflächen quantifiziert. Die höchste Anheftungsrate für *B. cereus* von 7,0 lg KbE/cm<sup>2</sup> wurde bei pH 7 ermittelt, gefolgt von den Raten bei pH 10 und pH 4 (LINDSAY et al., 2000).

*B. cereus*-Kulturen weisen durchweg eine starke hämolytische Aktivität auf, weshalb die Kolonien auf Columbia Blutagar von einer kompletten  $\beta$ -hämolytischen Zone umgeben sind. Durch das Lecithinase-Bildungsvermögen des Keims, kommt es bei eigelbhaltigen Nährböden zu einer opaken Trübungszone um die Kolonie, was ihn mit wenigen Ausnahmen von allen übrigen *Bacillus*-Spezies unterscheidet.

GILBERT und TAYLOR (1976) beschreiben, dass bei zwei *B. cereus*-bedingten Lebensmittelerkrankungen die verursachenden Stämme lediglich eine sehr schwache Hydrolyse von Lecithin zeigten. Die Problematik der Detektion und Identifizierung von lecithinase-negativen *B. cereus*-Stämmen wurde von HOLBROOK und ANDERSON (1980), VAN NETTEN und KRAMER (1995) sowie JENSON (2000) diskutiert. PIRTTIJÄRVI (2000) isolierte 31 *B. cereus*-Stämme aus industriell gefertigten Lebensmittelverpackungen, von denen acht Stämme lecithinase-negativ waren oder eine nur geringgradige Reaktion nach längerer Inkubationszeit zeigten. Diese waren jedoch in der Lage, Enterotoxine zu bilden. Eine Auflistung der wichtigsten morphologischen, physiologischen und biochemischen Eigenschaften von *B. cereus* ist der Tabelle 3 zu entnehmen.



Tab.3: Eigenschaften zur Identifizierung und weiteren Charakterisierung von *B. cereus*

<b>Morphologische, physiologische und biochemische Eigenschaften von <i>B. cereus</i></b>		
<b>Parameter</b>	<b>Eigenschaft</b>	<b>Referenz</b>
Zellform	Stäbchen	
Endospore	zentral-parazentral, oval	
Sporenauskeimungstemperatur	zwischen -1°C und 59°C	GOEPFERT et al. (1972)
Beweglichkeit	positiv	BERGANN (1989)
Wachstumstemperatur	zwischen 6°C und 47°C	
Untere Wachstumsgrenze	1°C	COGHILL u. JUFFS (1979)
	4°C	VAN NETTEN et al. (1990)
Obere Wachstumsgrenze	50°C	FEHLHABER et al. (2000)
Gram-Verhalten	positiv	
Vermehrung	aerob/ fakultativ anaerob	
β-Hämolyse	positiv	(BEECHER und MACMILLAN, 1991; BEECHER und WONG, 1997; BEECHER und WONG, 2000a, 2000b)
Katalase	positiv	
Oxidase	negativ	
Voges-Proskauer-Reaktion	positiv	
Nitratreduktion	positiv	
Hydrolyse von Lecithin	positiv	SCHRAFT u. GRIFFITHS (1995)
Fermentation von Mannitol	negativ	BEUTLING u. BÖTTCHER (1998)
Hydrolyse von Stärke	positiv	
Verstoffwechslung von Glykogen	positiv	

### 2.1.6 *Bacillus cereus*-Toxine

Lebensmittelhygienische Bedeutung erlangt *B. cereus* durch verschiedene Pathogenitätsfaktoren. Neben einer großen Vielfalt von toxischen Faktoren können Stämme der Spezies *B. cereus* Enterotoxine und ein emetisches Toxin produzieren (MURRELL, 1989; GRANUM u. LUND, 1997; BEUTLING u. BÖTTCHER, 1998). Die Diarrhoe-Form steht zumeist im Zusammenhang mit dem Verzehr von Milch und Molkereiprodukten, während Ausbrüche der emetischen Form in der Regel mit dem Verzehr von Reisgerichten vergesellschaftet sind (LUND, 1991). HAUGE (1950, 1955) hat die ersten nachgewiesenen Ausbrüche von *Cereus*-bedingter Diarrhoe, bei denen 600 Personen betroffen waren, beschrieben. Die in Norwegen aufgetretenen Erkrankungen wurden durch den Verzehr kontaminierter Vanillesauce verursacht, die bei Zimmertemperatur aufbewahrt wurde. Die emetische Form der Lebensmittelerkrankung wurde erstmalig von MORTIMER und McCANN

(1974) nach durch den Verzehr von Reisgerichten verursachten Erkrankungsfällen in London beschrieben.

#### **2.1.6.1 Enterotoxine**

Die Pathogenese der *Cereus*-bedingten Diarrhoe ist nicht endgültig geklärt. Entgegen der früheren Auffassung, dass krankheitsverursachende Enterotoxine im Lebensmittel gebildet werden und die Symptomatik auslösen (SINELL, 1992), gehen GRANUM (1994) sowie MÄRTLBAUER und DIETRICH (2001) davon aus, dass die Enterotoxine während der vegetativen Vermehrung der Keime im Dünndarm gebildet werden. Es werden zwar Enterotoxine im Lebensmittel präformiert, wobei es aber als unwahrscheinlich angesehen wird, dass diese im Lebensmittel befindlichen Enterotoxine in der Lage sind, Erkrankungen auszulösen. SHINAGAWA et al. (1991a) stellten fest, dass Enterotoxin T hitzelabil ist und durch verschiedene Verdauungsenzyme sowie bei niedrigem pH zerstört wird. Nach GRANUM et al. (1993b) gilt dies für alle Enterotoxine. In Modellexperimenten zeigte sich, dass die Toxine während ihrer Passage im Magen-Darm-Trakt dem dortigen Milieu nicht standhalten können (GRANUM, 1994). Somit handelt es sich im eigentlichen Sinne bei der durch *B. cereus*-Enterotoxine ausgelösten diarrhoeischen Form der Erkrankung um eine **Toxiinfektion**.

Zur Dosis infectiosa minima werden in der Literatur unterschiedliche Angaben gemacht. KRAMER und GILBERT (1989) sowie KATSARAS und HILDEBRANDT (1979) berichteten von Erkrankungsfällen nach Aufnahme von Speisen mit Keimzahlen über  $10^6$  KbE/g. Studien von GRANUM (1994) zeigten, dass die Keimzahlen inkriminierter Lebensmittel zwischen 200 und  $10^9$  KbE/g lagen. Hieraus folgert GRANUM (1997), dass die infektiöse Dosis für die Diarrhoe-Form bei  $10^5$  bis  $10^7$  mit einer Mahlzeit aufgenommenen Keimen liegt. MORAVEK et al. (2002) beschreiben eine quantitativ stark divergierende Enterotoxinproduktion untersuchter *B. cereus*-Isolate und ziehen daraus den Schluß, dass eine Aussage über das toxische Potential eines Stammes nur über die Quantifizierung der Toxine möglich ist.

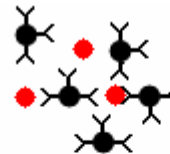
Annähernd jeder zweite isolierte *B. cereus*-Stamm ist in der Lage, Enterotoxine zu bilden (GRANUM et al. 1993a; SHINAGAWA, 1993; PIRTTIJÄRVI et al. 1996; ERNST et al., 2001). Die Enterotoxine bestehen teilweise aus mehreren Komponenten (THOMPSON et al., 1984; GRANUM, 1994; BEECHER et al., 1995; LUND u. GRANUM, 1996).

Als Verfahren zum Nachweis von *B. cereus*-Enterotoxinen werden biologische Testsysteme beschrieben. Bei SPIRA und GOEPFERT (1972), TURNBULL (1986) sowie NOTERMANS und BATT (1998) fand das „rabbit ileal loop“ (RIL)-Verfahren Anwendung. Dabei werden Ileumschleifen vom Darm eines Kaninchens ligiert, eine Probe in diesen abgebunden Darmabschnitt injiziert und die daraus resultierende Flüssigkeitsansammlung ermittelt und protokolliert. Des Weiteren werden Mäuseletalitätstests, nekrotische Hautveränderungen

nach intradermaler Applikation sowie Erhöhung der Kapillarpermeabilität (vascular permeability reaction, VPR) zur Darstellung der Enterotoxinwirkung genutzt (SHINAGAWA et al., 1991b). Mit den unterschiedlichen biologischen Testsystemen lassen sich die verschiedenen Enterotoxine jedoch nicht differenzieren, da die Toxinwirkungen zumeist identisch sind.

Gegenwärtig sind zwei kommerzielle Immunoassays zur routinemäßigen Identifizierung von *B. cereus*-Enterotoxinen erhältlich. Im Oxoid® *B. cereus* Enterotoxin (BCET)-RPLA (reverse passive latex agglutination)-Kit (Unipath Ltd., Basingstoke, Hampshire, England) wird laut OXOID Handbuch (1993) das Diarrhoe-Toxin aus Lebensmitteln und aus *B. cereus*-Kulturfiltrat nachgewiesen. Das BCET-RPLA Kit (Abb. 2) detektiert allerdings nur die L2-Komponente des von BEECHER und MACMILLAN (1990) beschriebenen Hämolyisin BL-Komplexes (BEECHER u. WONG 1994b; BUCHANAN u. SCHULTZ, 1994; GRANUM u. NISSEN, 1993).

1. Latexpartikel mit Antikörpern gegen die L2-Komponente des HBL agglutinieren in Anwesenheit des Antigens



2. Bei negativer Reaktion punktförmiges, kompaktes Sediment in der Kavität der Mikrotiter-Platte  
Bei positiver Reaktion Trübung der Suspension in der Kavität, von (+) bis (+++)

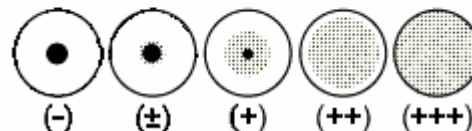
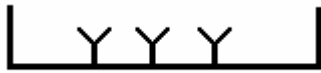
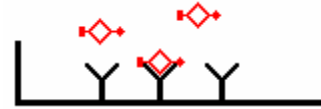


Abb.2: Schematische Darstellung des OXOID BCET-RPLA Test Kits zum Nachweis der L2-Komponente des Hämolyisin BL-Komplexes (HBL) ((nach OXOID, 1993, modifiziert)

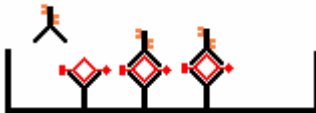
Mit dem *B. cereus* Diarrhoeal Enterotoxin (BDE) Visual Immunoassay (VIA) (Tecra.) (Bioenterprises Pty., Ltd., Roseville, NSW, Australien) wird das A-Protein des nichthämolyisierenden Toxinkomplexes (BEECHER u. WONG, 1994b; BUCHANAN u. SCHULTZ, 1994; LUND u. GRANUM, 1996) mittels Sandwich-ELISA direkt aus dem Lebensmittel oder aus Kulturfiltraten nachgewiesen (Abb. 3).



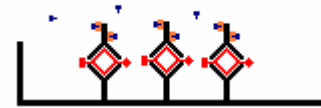
1. Kavitäten der Mikrotiterplatte beschichtet mit spezifischen Antikörpern



2. Addition des 45 kDa Proteins des NHE Komplexes



3. Sandwich-Konfiguration nach Zugabe des zweiten Detektions-Antikörpers



4. Bindung des Konjugats



5. Indikatorreaktion (Farbumschlag)

Abb.3: Schematische Darstellung des TECRA-BDE Visual Immunoassays zum Nachweis des A-Proteins des nichthämolisierenden Toxin Komplexes (NHE)

Reagiert eines der kommerziell erhältlichen Testkits positiv mit einem von *B. cereus* gebildeten Proteinen ist es wahrscheinlich, dass es sich um einen Enterotoxin-positiven Stamm handelt. Bei der Erstellung von Enterotoxin-Profilen aus 88 *B. cereus*-Isolaten (GUINEBRETIERE et al. 2002) ist bei 10 Stämmen keine Übereinstimmung der negativen VIA- und RPLA-Ergebnisse mit der molekularbiologischen Charakteristik festgestellt worden. Wird zusätzlich Zytotoxizität mittels Zellkulturverfahren nachgewiesen, ist dieses als Beweis für die Pathogenität der Stämme anzusehen (LUND u. GRANUM, 1997). Bei Zellkulturverfahren zum Nachweis des Toxinbildungsvermögens von *B. cereus*-Stämmen werden geeignete Zelllinien verwandt wie VERO-Zellen (african green monkey kidney) (WONG et al., 1988; AGATA et al., 1994; LUND u. GRANUM, 1996; LINDBÄCK, 1999) und HEL Zellen (human embryonic lung) (CHRISTIANSSON, 1993).

DIETRICH et al. (1997) untersuchten die Anwendbarkeit des MTT-Zellkulturtests zum Nachweis der zytotoxischen Aktivität von *B. cereus*-Isolaten. Dazu wurden CaCo-2 Zellen (humane Colonkarzinom-Zellen), die in der Routinediagnostik allerdings nicht zum Einsatz kommen, genutzt. Beim MTT-Zellkulturtest wird 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid (MTT, ein gelbes, wasserlösliches Tetrazoliumsalz), welches durch metabolisierende Zellen zu unlöslichen violetten Formazankristallen umgewandelt wird, als Marker eingesetzt. Toxizitätstiter werden anhand der durch spektrophotometrische

Messungen ermittelten mitochondrialen Transformationsrate ermittelt. Bei 94 % der untersuchten Isolate aus Säuglings- und Kleinkindernahrung konnte zytotoxische Aktivität nachgewiesen werden, wobei 73 % verhältnismäßig gesehen niedrige Toxizitätstiter aufwiesen (DIETRICH et al., 1997).

Obwohl einige zytotoxisch wirkende Komponenten von möglichen Enterotoxinkomplexen beschrieben sind (GRANUM et al., 1995), ist die molekulare Basis der durch *B. cereus* ausgelösten Erkrankungen weitgehend ungeklärt (LUND u. GRANUM, 1997; BEECHER u. WONG, 2000). Die Pathogenitätsfaktoren, die bei der Diarrhoe-Form eine wesentliche Rolle spielen, werden intensiv diskutiert (MÄRTLBAUER, 2001). So ist fraglich, unter welchen Umständen die Keime im Darm anhaften und sich vermehren, wie das dortige Milieu die Toxinproduktion beeinflusst und auf welcher molekularen Basis die Toxine in der Lage sind, die Symptomatik auszulösen (MÄRTLBAUER, 2002).

Von folgenden Substanzen wird angenommen, dass sie bei der Pathogenese der Diarrhoe-Form auslösend beteiligt sind:

### **Hämolysin BL, der sogenannte HBL-Komplex**

Es handelt sich dabei um ein aus drei Komponenten gebildetes (THOMPSON et al. 1984, BEECHER u. MACMILLAN, 1990, 1991; BEECHER u. WONG, 1994a, 1997, SCHOENI u. WONG, 1999) sehr potentes Toxin. Die Komponenten bestehend aus einem bindenden Protein B sowie zwei lytischen Komponenten L1 und L2 wirken enterotoxisch, hämolytisch, dermonekrotisch sowie vaskulär permeabilitätssteigernd („vascular permeability“- Reaktion, VPR) (PRÜSS et al., 1999; LINDBÄCK et al., 1999; BEECHER u. WONG, 2000b). Die Strukturgene (*hblA*, *hblC* und *hblB*) der drei Komponenten liegen auf einem Operon (BÜRCK, 2001). DIETRICH et al. (1999) entwickelten zur spezifischen und sensitiven Detektion monoklonale Antikörper gegen alle drei Komponenten des HBL-Komplexes. HBL verursacht beim beschriebenen RIL-Verfahren Flüssigkeitsansammlungen in ligierten Ileumschleifen von Kaninchen (BEECHER et al., 1995). Die B-Komponente des Toxin-Komplexes hat nach BEECHER und MACMILLAN (1991) ein Molekulargewicht von 35 kDa, für die L1-Komponente sind 36 kDa und für die L2-Komponente 45 kDa ermittelt worden. Die Molekulargewichte variieren leicht je nach verwendetem Gel. Von BEECHER und WONG (1994a) wurde für die B-Komponente ein Molekulargewicht von 37,8 kDa, für die L1-Komponente von 38,5 kDa und für die L2-Komponente von 43,2 kDa angegeben. Die N-terminale Sequenz der B-Komponente besteht aus dreizehn identifizierten Aminosäuren. Beim N-terminalen Ende der L1- und der L2-Komponente sind 18 bzw. 11 Aminosäuren beschrieben, von denen nicht alle bekannt sind (BEECHER u. WONG, 1994a).

Im Hinblick auf die thermische Inaktivierung und Entfaltung der alpha-Helix Sekundärstruktur wurden die HBL-Komponenten weitergehend durch BEECHER et al. (1998) charakterisiert.

Eine Umwandlung wurde für die Komponenten L1 und L2 bei 55 °C und 59 °C festgestellt, während die Strukturumwandlung des Protein B erst bei 78 °C erfolgte. Die Profile der thermischen Inaktivierung zeigten, dass L1 nach 10 Minuten bei 50 °C irreversibel inaktiviert wird, was mit der thermischen Inaktivierung der vaskulär permeabilitätssteigernden Wirkung und der RIL-Aktivität übereinstimmt. Die Aktivität der L2-Komponente wurde selbst bei einer Hitzeeinwirkung von 100 °C über 10 Minuten hinweg nicht beeinflusst. Die B-Komponente zeigte eine 80%ige Inaktivierung bei einer Behandlung zwischen 60 und 70 °C für 10 Minuten.

Ein charakteristisches Merkmal von HBL ist eine ungewöhnlich diskontinuierliche Hämolyseform auf Blutagar (BEECHER u. MACMILLAN, 1991; BEECHER u. WONG, 1997; BEECHER u. WONG, 2000). Die Lysis beginnt einige Millimeter entfernt von der Kolonie, gefolgt von einer langsamen Lysis in Richtung der Keimquelle. Die bindende Komponente des Enterotoxinkomplexes heftet sich an Erythrozyten und sensibilisiert diese für die lytische Aktivität der L-Komponenten (BEECHER u. WONG, 1994b). Eine schnelle und deutliche hämolytische Aktivität oder eine „vascular permeability“- Reaktion wird nur bei Vorliegen von allen drei Komponenten in Kombination ausgelöst (BEECHER und MACMILLAN, 1991). Das toxische Potential von HBL wird mit dem des Cholera-toxins verglichen, was BEECHER et al. (1995) zu der Folgerung veranlasste, dass HBL der primäre Virulenzfaktor bei einer *Cereus*-bedingten Diarrhoe ist.

### **NHE, der nichthämolisierende Toxinkomplex**

NHE besteht ebenfalls aus drei verschiedenen Proteinen A, B und C mit den jeweiligen Molekulargewichten von 45 kDa, 39 kDa bzw. 105 kDa (LUND u. GRANUM, 1996, 1997). Auch hier liegen die entsprechenden Gene *nheA*, *nheB* und *nheC* auf einem gemeinsamen Operon (GRANUM et al., 1999). Die Komponenten wurden erstmalig aus einem *B. cereus*-Stamm isoliert, der 1995 Auslöser einer lebensmittelbedingten Gruppenerkrankung in Norwegen war (LUND u. GRANUM, 1996) und sind in Verbindung miteinander bereits in geringer Menge zytotoxisch. Der Grad der Zytotoxizität ist jedoch stammspezifisch, was vermutlich in Abhängigkeit zu einer Variabilität des C-Proteins steht. Eine Abschätzung der zytotoxischen Aktivität mittels des oben angeführten immunologischen Testkits ist somit nicht möglich, da dieses lediglich die 45 kDa-Komponente nachweist (LUND u. GRANUM, 1997; HANSEN u. HENDRIKSEN, 2001).

In Größe und Aminosäuresequenz des N- Terminals ergeben sich große Ähnlichkeiten zwischen der L1 Komponente des HBL und dem 39 kDa-Protein des NHE (LUND u. GRANUM, 1997; LINDBÄCK, 1999). LUND und GRANUM (1996) vermuten, dass es sich um homologe Proteine handeln könnte.

*B. cereus*-Stämme sind nach LUND und GRANUM (1997) in der Lage, sowohl den HBL- als auch den NHE-Komplex zu produzieren. Dieses wird durch die von BÜRK et al. (2001), ANDERSEN BORGE et al. (2001) sowie GUINEBRETIERE et al. (2002) durchgeführten molekularbiologischen Charakterisierungen von enterotoxinproduzierenden Stämmen bestätigt.

### **Enterotoxin T**

AGATA et al. (1995a) beschrieben das Enterotoxin T, welches ebenfalls durch *B. cereus* gebildet werden kann. Es handelt sich dabei um ein Polypeptid mit einem Molekulargewicht von 41 kDa, welches aus 336 Aminosäuren besteht. Enterotoxin T ist tödlich für Mäuse, verursacht im abgebundenen Ileum von Mäusen Flüssigkeitsansammlungen, wirkt zytotoxisch auf Vero Zellen und hat eine positive "vascular permeability"-Reaktion. Das Polypeptid wird vom *bceT* Gen kodiert. PCR-Methoden zum Nachweis des *bceT* Genes sind von AGATA et al. (1995a), MÄNTYNEN und LINDSTRÖM (1998) sowie HANSEN und HENDRIKSEN (2001) entwickelt worden.

### **Enterotoxinkomplex**

Nach GRANUM und NISSEN (1993) besteht der Enterotoxin-Komplex aus drei Komponenten, wobei die drei Proteine Molekulargewichte von 34 kDa, 40 kDa und 48 kDa haben. Die ersten 14 bzw. 15 Aminosäuren nach dem Signalpeptid der drei Proteine sind bekannt und von GRANUM und NISSEN (1993) beschrieben worden. Auf Blutagar verursacht die 34 kDa-Komponente Hämolyse. Die Sequenz des 40 kDa-Proteins ist annähernd identisch mit der der B-Komponente des HBL-Komplexes (BEECHER u. WONG, 1994b). Die höchste zytotoxische Aktivität im Zellkulturverfahren mit Vero Zellen hat das 40 kDa-Protein, während das 48 kDa- und das 34 kDa-Protein keine oder nur äußerst geringe Aktivitäten, vermutlich bedingt durch Verunreinigungen, aufweisen (GRANUM und NISSEN 1993). Die enterotoxische Aktivität hängt somit nur von einem Protein (40 kDa) ab.

### **Cytotoxin-K**

Das von LUND et al. (2000) beschriebene Cytotoxin-K ist ein enterotoxisches Protein mit einem Molekulargewicht von 34 kDa, welches vom *cytK*-Gen kodiert wird. Das Cytotoxin-K wurde aus einem *B. cereus*-Stamm isoliert, der auslösend für verschiedene Ausbrüche von Lebensmittelinfektionen mit blutiger Diarrhoe in Frankreich war. In drei Fällen war der Ausgang der Erkrankung tödlich. Das Protein wirkt hoch zytotoxisch, nekrotisch, hämolytisch und gehört zu den Toxinen, die Membrantunnel bilden. Es führt zu einer Lysis von Dünndarm-Epithelzellen (HARDY et al., 2001). Die Kombination mit anderen *B. cereus*-Toxinen hat keine synergistischen Effekte auf die zytotoxische Wirkung. In Untersuchungen von GUINEBRETIERE et al. (2002) wurde das *cytK*-Gen bei 73 % der Diarrhoe-verursachenden *B. cereus*-Stämme nachgewiesen.

### 2.1.6.2 Emetisches Toxin

Das für die emetische Verlaufsform verantwortliche Toxin Cereulid wurde von AGATA et al. (1994) beschrieben. Es handelt sich dabei um ein cyclisches Peptid (Dodecadepsipetid), welches stabil gegenüber Hitze und verschiedenen Verdauungsenzymen ist sowie einen niedrigen pH-Wert toleriert (SHINAGAWA et al. 1995; AGATA et al., 1995b; HANSEN u. HENDRIKSEN, 2001). Das Cereulid hat ein Molekulargewicht von 1,2 kDa. Die Aminosäuresequenz lautet: (D-O-Leu-D-Ala-L-O-Val-L-Val)<sub>3</sub>. Die Ringstruktur ähnelt der des Antibiotikums Valinomycin (AGATA et al., 1994). Das emetische Toxin ist nach ANDERSSON et al. (1998) sehr wahrscheinlich das gefährlichste aller *Cereus*-Toxine und löst seine Symptomatik innerhalb von Minuten bis Stunden aus. Nach GRANUM (1997) wird das emetische Toxin im Lebensmittel gebildet. Es handelt sich bei der durch Cereulid ausgelösten Erbrechen-Form um eine **Lebensmittelintoxikation** (GRANUM et al., 1995). Die für eine Intoxikation notwendige Toxinmenge liegt vor, wenn der *B. cereus*-Gehalt im Lebensmittel zwischen  $10^5$ - $10^8$  KbE/g beträgt (GRANUM, 1997).

Die durch ISOBE et al. (1995) und AGATA et al. (1994) dokumentierte biologische Aktivität des Toxins wurde mit Emesis bei Primaten (SHINAGAWA et al., 1995; TURNBULL et al., 1979a), Schwellung von Mitochondrien in humanen Epidermiskarzinom-Zellen aus dem Larynx, sogenannten HEp-2 Zellen (SAKURAI et al., 1994), und Schwellung der Mitochondrien in Hepatozyten eines Patienten im Rahmen einer tödlich verlaufenden Cereulid-Intoxikation (MAHLER et al., 1997) beschrieben. HUGHES et al. (1988) stellten fest, dass das emetische Toxin eine Vakuolationsaktivität in HEp-2 Zellen zeigt, was als diagnostischer Marker für die Anwesenheit des Toxins dient. Nach SHINAGAWA et al. (1995) korreliert die Deutlichkeit der Vakuolisierung der HEp-2 Zellen mit der eingesetzten Menge des emetischen Toxins. Die Methode ist jedoch unzuverlässig, sehr arbeitsintensiv und subjektiv, sodass ein semiautomatischer MTT-Zellkulturtest zum quantitativen Nachweis des emetischen Toxins von *B. cereus* entwickelt wurde (FINLAY et al., 1999). Das emetische Toxin greift die mitochondriale Funktion der verwendeten Hep-2 Zellen an und MTT wurde als Indikator für die Zellschädigung und somit für die Zytotoxizität des Toxins gewertet. Dabei war zu klären, ob das Toxin gegebenenfalls die MTT-Konversion direkt beeinflusst. Bei der Entwicklung dieses Nachweissystems sind vor allem *B. cereus*-Stämme aus Lebensmitteln und klinischen Isolaten zum Einsatz gekommen. Die Toxizitäts-Titer, die mittels des MTT-Färbungstestes colorimetrisch gemessen wurden, korrelierten mit dem parallel durchgeführten Vakuolationstest, wobei die Vakuolationsantwort zunächst nach 12 bis 16 Stunden optimal ablesbar war und bei zunehmender Inkubationsdauer abschwächte, was für die Unzuverlässigkeit des Vakuolationstestes spricht. Nach etwa 23 Stunden sind die Vakuolen durch granuläres Material ersetzt worden, wobei vermutet wird, dass dieses eine Reaktion auf den mitochondrialen Kollaps ist (FINLAY et al., 1999). FINLAY et al. (2000)



untersuchten mit diesem Testverfahren sieben *B. cereus*-Stämme im Hinblick auf eine temperaturabhängige Produktion des emetischen Toxins. Es wurde eine signifikant höhere Toxinproduktion zwischen 12°C und 15 °C als bei 30 °C konstatiert.

ANDERSSON et al. (1998) entwickelten ebenfalls ein sensibles und schnelles Nachweisverfahren für das emetische Toxin, den Ebersperma-Bioassay. Er basiert auf dem Verlust der Beweglichkeit von Ebersperma nach 24-stündiger Exposition mit Extrakten von *B. cereus*-Stämmen mit Cereulid- Bildungsvermögen oder mit entsprechend kontaminierten Lebensmitteln. Die paralyzierten Spermatozoen wiesen geschwollene Mitochondrien auf, aber weder eine Entleerung des ATP-Speichers noch eine Beschädigung der Plasmamembran. 50 % der Spermatozoen wurden durch 0,5 ng des Dodecadepsipeptid pro ml Ebersperma paralyziert. Das entspricht der Toxinbildung von  $10^4$  bis  $10^5$  KbE *B. cereus*. Die Nachweisgrenze für Lebensmittel lag bei 3 g Reis mit einem *B. cereus*-Gehalt von  $10^6$  bis  $10^7$  KbE/g. Durch Valinomycin und Gramacidin wird ein vergleichbarer Effekt bei Ebersperma ausgelöst. Die Symptome lassen darauf schließen, dass das emetische Toxin wie ein Ionophor Tunnel in der Membran bildet, die Mitochondrien schädigt und die oxidative Phosphorylierung blockiert (MIKKOLA et al., 1999), wodurch das Sperma seine Beweglichkeit verliert (ANDERSSON et al., 1998). SALKINOJA-SALONEN et al. (1999) nutzten dieses Verfahren zum Nachweis von emetischem Toxin, das von *Bacillus licheniformis*-Isolaten aus Lebensmitteln gebildet wird und dem Cereulid sehr ähnlich ist.

In Studien von HAGGBLOM et al. (2002) werden der Ebersperma-Bioassay und eine neu entwickelte sensitive und quantitative Analysenmethode für Cereulid mittels HPLC-Massenspektrometrie verglichen, um die Toxinproduktion von drei *B. cereus*-Stämmen unter unterschiedlich definierten Bedingungen (Temperatur, flüssiges oder festes Medium) zu ermitteln. Unterschiede der Cereulid-Produktion der verwendeten Stämme bei Temperaturen von 8°C und weniger bis hin zu 40°C waren als minimal anzusehen. Dieses steht im Gegensatz zu den von FINLAY et al. (2000) beschriebenen Ergebnissen, die allerdings lediglich auf der Basis von Toxizitätstestern bestimmt wurden. Innerhalb eines weiten Cereulid-Konzentrationsbereichs von 0,02 bis 230 µg pro ml sind die Ergebnisse der beiden von HAGGBLOM et al. (2002) untersuchten Methoden vergleichbar.

AGATA et al. (2002) quantifizierten ebenfalls die in Lebensmitteln gebildete Menge des emetischen Toxins. Bei 13 untersuchten Lebensmitteln, die nachgewiesenermaßen auslösend für Fälle der Cereulid-bedingten Lebensmittelintoxikation waren, bewegten sich die Toxinmengen zwischen 0,01 bis 1,28 µg pro g Lebensmittel.

Des Weiteren wurde der Cereulid-bildende *B. cereus*-Stamm NC 7401 in verschiedenen Lebensmittel inokuliert und das Toxinbildungsverhalten quantitativ beurteilt. AGATA et al. (2002) kamen zu dem Schluss, dass die ermittelten Werte in mehlhaltigen Lebensmitteln den Toxinkonzentrationen aus den 13 im Versuch genutzten Lebensmittelproben entsprachen. Niedrigere Toxinmengen wurden in Ei- und Fleischprodukten sowie in Milch gebildet, während in sauren Lebensmitteln, wie Essig, die Toxinproduktion anscheinend gehemmt wurde.

## **2.2 Desinfektion**

### **2.2.1 Definition**

Auf den verschiedenen organisatorischen Ebenen wird der Begriff der Desinfektion, vor allem unter Berücksichtigung des zu desinfizierenden Bereichs, unterschiedlich definiert. REBER (1973) sieht in der Desinfektion allgemein die „gezielte Eliminierung bestimmter Mikroorganismen mit dem Zweck, deren Übertragung durch Eingriffe in deren Struktur oder Stoffwechsel unabhängig von ihrem Funktionszustand zu verhindern“. Für den Lebensmittelbereich ist der Begriff Desinfektion nach DIN 10516 „Lebensmittelhygiene-Reinigung und Desinfektion“ (2001) spezifischer als „Verfahren zur Abtötung von Mikroorganismen auf einem Niveau, welches weder gesundheitsschädlich ist noch die Qualität der Lebensmittel beeinträchtigt“ definiert.

Das Ziel routinemäßiger Desinfektion im Lebensmittelbereich ist die weitestgehende Entfernung, Abtötung oder Inaktivierung unerwünschter Substanzen und Organismen, damit von den erzeugten Lebensmitteln keine Gefahren für die menschliche Gesundheit ausgehen (ROTHE, 2000). Die Effektivität der Desinfektionsmaßnahmen hängt grundlegend vom Erfolg einer vorhergehenden Reinigung ab (EC, 1997; BERDING, 1991; EDELMEYER, 1985), die nach REUTER (1984) eine unabdingbare Voraussetzung für die Desinfektion ist. Mit Reduktion des Gesamtkeimgehaltes kann angenommen werden, dass auch die Zahl der pathogenen und toxigenen Mikroorganismen gleichlaufend zurückgeführt wird (REUTER, 1994). Keimfreie Bedingungen werden damit gewöhnlicherweise nicht erreicht (REUTER, 1998). Demzufolge handelt es sich bei der im Lebensmittelbereich durchgeführten Desinfektion nicht um eine „Entkeimung“ im strengeren Sinne (REUTER, 1994). Die Europäische Kommission (EC) sieht die Desinfektion als eine „Abtötung von Mikroorganismen, nicht jedoch deren Sporenform“. Dabei müssen nicht alle Mikroorganismen abgetötet werden. Ihre Zahl muss aber auf eine Größenordnung gesenkt werden, von der weder eine gesundheitliche Gefährdung für den Verbraucher noch eine nachteilige Beeinflussung der Lebensmittel zu erwarten ist“ (EC, 1997).

### **2.2.2 Anforderungen an Desinfektionsmittel für den Lebensmittelbereich**

Die Anforderungen an im Lebensmittelbereich verwendete Desinfektionsmittel sind vielfältig (ROTHE, 2000; BERDING, 1991; REUTER, 1986; MROZEK, 1980), sodass eine zielorientierte Auswahl eines geeigneten Mittels erfolgen muss. Dabei sind Kriterien der Wirksamkeit, Anwendbarkeit und Zulässigkeit zu berücksichtigen (REUTER, 1984; MROZEK, 1980) (Tab. 4).

Tab.4: Kriterien zur Auswahl geeigneter Desinfektionsmittel (nach MROZEK, 1980; REUTER, 1984; BERGMANN, 1987; REUTER 1988a)

<b>Wirksamkeit</b>	<b>Anwendbarkeit</b>	<b>Zulässigkeit</b>
starke Keimreduktion	Materialsicherheit	Unschädlichkeit
breites Wirkungsspektrum	Erhaltung des Gebrauchswertes keine Aggressivität, Korrosion	niedrige Toxizität keine unerwünschten Nebenwirkungen keine Rückstandsbildung
kurze Einwirkzeit	physikalische Eigenschaften	
irreversible Wirkung	Mischungsverträglichkeit Löslichkeit	Arbeitssicherheit
Zuverlässigkeit der Wirkung geringer Eiweiß-/Seifen-/Kältefehler, Schmutzstabilität	pH-/Temperaturabhängigkeit Wasserhärte Lagerbeständigkeit	risikoarme Handhabung
hohe Gebrauchsverdünnung	Akzeptanz	Umweltverträglichkeit
geringes Resistenzrisiko	Geruchsarmut sensorische Unbedenklichkeit	biologische Abbaubarkeit geringe Umweltbelastung geringe Abwassertoxizität
	Wirtschaftlichkeit Aufwand und Nutzen in angemessenem Verhältnis	

Unter Wirksamkeit eines Desinfektionsmittels versteht man seine Eigenschaft, Mikroorganismen in ihrer Anzahl zu reduzieren. Der Grad der Wirksamkeit eines Desinfektionsmittels wird durch sogenannte Reduktionsfaktoren, die sich auf Testkeime unterschiedlicher Art beziehen, beschrieben. Da die Keimreduktion im Lebensmittelbereich Sinn und Zweck einer jeden Desinfektionsmaßnahme ist, muss die gute Wirksamkeit des eingesetzten Mittels einer der wichtigsten Parameter für seine Auswahl sein. Dabei sollte das Wirkungsspektrum breit sein und die Keimflora vollständig erfassen, die es auf der zu desinfizierenden Oberfläche zu reduzieren bzw. unschädlich zu machen gilt. Die Wirksamkeit eines Desinfektionsmittels ist umgekehrt proportional zu der Zeitspanne, die es zur Erzielung der gewünschten Keimreduktion auf einer Oberfläche verbleiben muss. Eine kurze Einwirkzeit ( $\leq 30$  Minuten) ist für den Desinfektionsmitteleinsatz vorteilhaft, damit das zu desinfizierende Gut schnell wieder für den Gebrauch zur Verfügung steht. Desinfektionsmittel sollten darüber hinaus zuverlässig wirken, d.h. keine oder nur eine geringe und ausgleichbare negative Beeinträchtigung der Desinfektionsmittelwirkung durch bestimmte äußere Faktoren (Proteine, Seifen, niedrige Temperaturen, pH-Wert) aufweisen.

Ein weiterer Parameter für die Auswahl eines Desinfektionsmittels ist seine Anwendbarkeit bzw. technologische Eignung. Die Desinfektionsmittel müssen unschädlich gegenüber dem zu desinfizierenden Material sein, d.h. möglichst wenig materialaggressive oder korrosive Effekte zeigen. Des Weiteren spielen physikalische Eigenschaften wie die Löslichkeit, Mischungsverträglichkeit oder Temperaturabhängigkeit eine Rolle. Die Mittel sollten sowohl

in gebrauchsfertiger Lösung wie auch als Konzentrat gelagert ausreichende Stabilität aufweisen.

Zusammenfassend sind als wichtigste technologische Anwendungseigenschaften die Materialverträglichkeit und die physikalische Eigenschaften zu nennen, zudem ist die Wirtschaftlichkeit eines Desinfektionsmittels von entscheidender Bedeutung.

Durch die erlassenen gesetzlichen Vorschriften und Richtlinien ist die Zulässigkeit von Desinfektionsmitteln eingeschränkt (MROZEK, 1980). Seit 07/2002 muss eine Zulassung von Desinfektionsmitteln erfolgen, die auf dem Chemikalien-Gesetz (ChemG) beruht. Berücksichtigt werden bei der Beurteilung der Zulässigkeit die Toxizität, die Arbeitssicherheit sowie die durch das Desinfektionsmittel ausgelöste Umweltbelastung. Das Mittel muss in der Gebrauchsverdünnung für den Anwender frei von toxischen und unerwünschten Nebenwirkungen wie beispielsweise Haut- oder Schleimhautreizungen sein. Darüber hinaus sollte die ökologische Abbaubarkeit des Mittels gewährleistet sein. Die Handhabung darf für die mit der Desinfektion betrauten Personen nicht mit einer erhöhten Gefahr im Sinne einer Einschränkung der Arbeitssicherheit einhergehen.

### **2.2.3 Desinfektionsverfahren, Wirkstoffgruppen und deren Wirkungsweise**

Desinfektionsverfahren sind unterteilt in physikalische, chemisch-thermische und chemische Verfahren (DIN 10516, 2001; WELLHÄUSER, 2002a).

#### Physikalische Desinfektion:

Unter physikalischer Desinfektion wird die Anwendung von geeigneten thermischen Verfahren oder die Anwendung von Strahlenquellen verstanden. In der Lebensmittelindustrie spielen die physikalischen Desinfektionsverfahren im Gegensatz zur Desinfektion bei Tierseuchen eine untergeordnete Rolle.

Dampfdesinfektionsverfahren erreichen mit unter Druck stehendem Dampf von über 100°C in geschlossenen Apparaturen oder mit strömendem Dampf von 100°C ihre desinfizierende Wirkung. In der „Liste der vom Bundesgesundheitsamt geprüften und anerkannten Desinfektionsmittel und -verfahren“ (RKI, 1997) sind derartige Verfahren und ihre Wirkungsbereiche aufgeführt. Das Auskochen, also die Verwendung von heißem Wasser, ist ein unter Praxisbedingungen bewährtes Verfahren für kleinere Gegenstände und Materialien. Die Gegenstände müssen völlig mit Wasser bedeckt sein. Der gleichzeitige Zusatz von geeigneten Desinfektionsmitteln erhöht die Wirksamkeit. Im Lebensmittelbereich wird 82°C heißes Wasser zur Zwischendesinfektion von Gebrauchsgegenständen (z.B. Messern) eingesetzt. In Bundeswehrkrankenhäusern müssen Geschirrspülmaschinen im Nachspülgang bei Thermodesinfektion + 95°C erreichen (ZDv 46/28, 1982). Des Weiteren wird Ultraviolett- oder Infrarotstrahlung zur Luftdesinfektion in Kühleinrichtungen genutzt. Bei

der Desinfektion im Tierseuchenfall sind die Verfahren des Verbrennens, des Abflammens sowie der Selbsterhitzung, bei der durch bakteriellen Abbau und ggf. Zusatz von Chemikalien (z.B. Branntkalk) keimtötende Temperaturen entstehen, von Bedeutung (BML, 1997).

#### Chemisch-thermische Desinfektion:

Chemisch-thermische Desinfektion ist ein Verfahren, welches durch hohe Temperaturen in Verbindung mit chemischen Substanzen eine Keimverminderung erreicht. Diese Art der Desinfektion erfolgt beispielsweise in Spülmaschinen oder bei der Behandlung von Wäsche.

#### Chemische Desinfektion:

Entsprechend der Art und Weise der Ausbringung chemischer Desinfektionsmittel unterscheidet man vier verschiedene Verfahren.

Bei der gebräuchlichsten Art der chemischen Desinfektion wird das Desinfektionsmittel in **flüssiger** Form durch Scheuern oder Sprühen auf die zu behandelnden Flächen aufgetragen oder die zu desinfizierenden Gegenstände werden in eine Desinfektionsmittellösung eingetaucht. Desinfektionsmittel in **fester** Form werden als Pulver ausgebracht, was allerdings Sonderfällen vorbehalten ist (z.B. der Ausbringung von Kalk) und als Desinfektionsverfahren im Lebensmittelbereich eine untergeordnete Rolle spielt.

Ein spezielles Desinfektionsverfahren stellt die **Aerosol**desinfektion dar. Dabei werden flüssige Desinfektionsmittellösungen mittels geeigneter Apparaturen in Form kleinster Tröpfchen in der Luft dispergiert. Der Einsatz der Aerosol-desinfektion ist beschränkt und wird für geschlossene Räume, z.B. bei der Flugzeugdesinfektion (BACKHAUS et al., 1975; HILDEBRANDT, 1975; HILDEBRANDT u. EDELMEYER, 1981), für Luft und für Geräte genutzt.

Eine weitere Möglichkeit der Anwendung chemischer Desinfektionsmittel ist das Ausbringen des Desinfektionsmittels als **Gas**. Dieses eignet sich nur für Spezialfälle wie der Formalinbegasung von Bruteiern oder Brutapparaten.

Folgende nach ihrem Wirkprinzip unterschiedene Stoffgruppen werden bei der chemischen Desinfektion im Lebensmittelbereich verwendet (REUTER, 1994):

#### Oberflächenaktive Verbindungen:

Zur Stoffgruppe der oberflächenaktiven Verbindungen gehören Quaternäre Ammoniumverbindungen (QAV), Amphotenside, Quaternäre Phosphoniumverbindungen und Biguanide, welche sich an der Zellmembran des Mikroorganismus anreichern und die physiologische Stoffwechselfunktion der Zellen stören. Der Wirkungsmechanismus beruht wahrscheinlich auf Reaktionen mit Oberflächenlipiden und Enzymen. Die QAV dominieren in ihrer Produktvielfalt

eindeutig in der Desinfektionsmittelliste der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft (DVG) für den Lebensmittelbereich (KNAUER-KRAETZL u. REUTER, 1992). Sie gehören zu den kationischen Tensiden und besitzen eine positiv geladene hydrophile Gruppe, meist in Form von Ammoniumgruppen. Sie wirken vorrangig auf Gram-positive, aber auch auf Gram-negative Keime und Pilze, sind jedoch nur gering viruzid (ausschließlich gegen behüllte Viren) und töten Mykobakterien und Sporen nicht ab. Ihre Wirkung gegen Gram-negative Bakterien (insbesondere Pseudomonaden) ist wie auch bei Amphotensiden und Biguaniden unzulänglich (TAYLOR et al., 1999). Durch organische Substanzen werden QAV inaktiviert. Sie wirken nicht im sauren Bereich ( $\text{pH} < 3$ ) und zeigen einen ausgeprägten Eiweiß- und Kältefehler, was allerdings durch Konzentrationserhöhung und/ oder Verlängerung der Einwirkzeit ausgeglichen werden kann (REUTER, 1994). Als Eiweißfehler eines Desinfektionsmittels bezeichnet man den Wirkungsverlust durch Bindung der Wirkstoffe an tierisches oder pflanzliches Eiweiß, welches durch die vorgeschaltete Reinigung nicht entfernt wurde. Je höher der Eiweißfehler eines Desinfektionsmittels ist, desto bedeutender ist die gründliche Reinigung für den Desinfektionserfolg. Kältefehler treten bei bestimmten chemischen Wirkstoffen auf, da ihre Wirksamkeit im Kühlbereich erheblich reduziert wird (REUTER, 1984). Darüber hinaus erfahren die QAV in Anwesenheit von anionischen Seifenbestandteilen einen Wirkungsverlust (Seifenfehler). Sie besitzen nach EDELMEYER (1982), WILDBRETT (1985) und REUTER (1988a) ein ausgeprägtes Haftungsvermögen auf Flächen, erfüllen aber die Forderung nach sensorischer und technologischer Unbedenklichkeit.

Amphotenside zeigen ein mit den QAV vergleichbares begrenztes Wirkungsspektrum. Die amphoterer Verbindungen besitzen eine fettlösliche (langkettige Kohlenwasserstoffe) und eine wasserlösliche (Ionen) Gruppe und wirken mikrobizid gegen Bakterien und Pilze (REUTER, 1988b), jedoch nicht gegen Bakteriensporen. Ein Eiweiß- sowie deutlicher Kältefehler, der durch Verlängerung der Einwirkzeit ausgeglichen werden kann, wird von REUTER (1988a) beschrieben.

Reine Biguanid-Präparate werden in der DVG-Liste (DVG, 1999) aufgrund ihres ausgeprägten Kältefehlers und ihrer dann hohen Gebrauchskonzentration nicht geführt (REUTER, 1994). Kombinationspräparate mit QAV, die oftmals unter dem Begriff „Desinfektionsreiniger“ geführt werden und in einem Arbeitsgang zur Reinigung und Desinfektion eingesetzt werden, sind wenig begrüßenswert. Nur bei sehr geringer Ausgangsbelastung bringt die kombinierte Reinigung und Desinfektion den gewünschten Erfolg (DIN 10516, 2001).

### Organische Säuren:

Die antimikrobielle Wirksamkeit der Säuren beruht auf einer pH-Wertveränderung, die einen direkten Eingriff in das notwendige Lebensmilieu der Mikroorganismen darstellt. Durch Schädigungen der Zellmembran in Form kleinster Koagulationsnekrosen kommt es zu Veränderungen des intrazellulären osmotischen Drucks und somit zum Zelltod. Organische Säuren haben eine bakterizide, teilweise auch fungizide Wirksamkeit (BÖHM, 1986). Eine mikrobizide Wirkung ist auch vom aktuellen pH-Wert des Umgebungsmilieus der Keime abhängig. Bei pH-Werten von über 3,5 sind die meisten Erreger nur wenig empfindlich gegenüber einer Säurewirkung. Vorteilhaft ist vor allem die Rückstandsfreiheit auf den behandelten Flächen sowie die biologische Abbaubarkeit. Der vorhandene Eiweiß- und der weniger deutliche Kältefehler lassen sich durch eine höhere Anwendungskonzentration ausgleichen (REUTER, 1994). Nachteilig ist der korrosive Effekt auf empfindlichen Flächen (EDELMEYER, 1985).

### Alkoholpräparate:

Alkohol wirkt in Gegenwart von Wasser durch Eiweißfällung mikrobizid und ist deshalb den spezifisch adsorptiv membranaktiven Stoffen zuzuordnen. Eine sporenabtötende Wirkung wird mit Alkoholen nicht erreicht. Als Desinfektionsmittel im Fleischverarbeitungsbereich werden Ethanol (70%ig), n-Propanol (50 - 60%ig) und Isopropanol (60 - 70%ig) aufgrund des hohen Preises der Produkte lediglich zur Händedesinfektion und als Schnelldesinfektionsmittel für kleine Flächen eingesetzt (REUTER, 1998). In höheren Konzentrationen wird durch einen sofortigen Zellmembranverschluss lediglich eine reversible zellschädigende Wirkung erzielt. Nachteilig für den Einsatz als Flächendesinfektionsmittel sind neben den Kosten der Präparate die leichte Entflammbarkeit sowie die schlechte Wasserlöslichkeit.

### Aldehyde:

Aldehyde gehören zu den reaktionsfreudigsten chemischen Verbindungen und haben außerdem eine gute Wirksamkeit bei vorhandener Restverschmutzung. Der allgemeine Wirkmechanismus ist durch Reaktion mit Bestandteilen von Eiweißmolekülen der Zellen gekennzeichnet, was zunächst zu Veränderungen an der biologischen Membran und infolgedessen zum Austritt von zellnotwendigen und zum Eintritt von zelltoxischen Substanzen führt. Aldehyde besitzen bei einer vergleichsweise langen Einwirkzeit ein deutlich ausgeprägtes Wirkungsspektrum, welches bakterizide, viruzide, fungizide sowie sporozide Effekte umfasst. Das verbreitetste Derivat ist Formaldehyd, dessen sporozide Wirkung von SPICHER und PETERS (1981) nach Versuchen mit Sporen von *B. cereus* und *B. subtilis*, welche



nach Formaldehydbehandlung durch Hitze reaktiviert werden konnten, angezweifelt wird. Bei Versuchen mit Glutaraldehyd konnten diese Ergebnisse nicht reproduziert werden. Im Lebensmittelbereich verbieten die massiven sensorischen Beeinflussungen von biologischen Materialien den Einsatz von reinen Aldehyd-Präparaten (REUTER, 1994).

#### Halogene:

Vor allem Chlor und Jod einschließlich ihrer verschiedenen Verbindungen werden als Desinfektionsmittel in der Human- und Veterinärmedizin eingesetzt. Die mikrobizide Wirkung wird durch die Oxidation organischer Substanzen (essentielle Gruppen von Eiweißmolekülen v.a. in der Zellwand) erreicht. Die Anwendungskonzentration des Desinfektionsmittels ist von der organischen Restverschmutzung der Flächen abhängig. Aktivchlorabspaltende Verbindungen werden in der Lebensmittelindustrie insbesondere in kombinierten Reinigungs- und Desinfektionsmitteln eingesetzt, wobei sich bei der Prüfung nach DVG- Richtlinien die gleichzeitige Wirkung von Reinigung und Desinfektion nicht bestätigten (REUTER, 1994). Als Problemkeime im Wirkungsspektrum sind Gram-positive Bakterien und Hefen beschrieben. Sowohl Eiweiß- als auch Kältefehler sind vorhanden. Jodhaltige Verbindungen spielen wegen der sensorischen Beeinflussung von Lebensmitteln eine untergeordnete Rolle.

#### Peroxide / organische Persäuren:

Die Sauerstoffabspalter wie Peressigsäure und Peroxid haben ein sehr breites Wirkungsspektrum. Die abtötenden Effekte gegen Sporen (MÜCKE et al., 1989; MROZEK, 1996; BLAKISTONE et al., 1999; SAGRIPANTI u. BONIFACIO, 1999; LANGSRUD et al., 2000), Bakterien und Pilze werden durch katalasebedingte Freisetzung von atomarem Sauerstoff und anschließender irreversibler Oxidation von Enzymen verursacht. Peroxide/ organische Persäuren weisen keinen oder nur einen geringgradigen Eiweiß- und keinen Kältefehler auf. Die Oxidantien sind weder umweltbelastend, da sich die Präparate rückstandsfrei zersetzen, noch wirken sie sich sensorisch auf Lebensmittel aus. Somit handelt es sich um eine interessante Stoffgruppe für die Desinfektion im Lebensmittelbereich (REUTER, 1994). Die Oberflächenaggressivität dieser Wirkstoffe und ihre dadurch bedingten korrosionsfördernden Effekte sind limitierende Faktoren in der Anwendung und Handhabung.

#### **2.2.4 Die Prüfung von Desinfektionsmitteln auf ihre Wirksamkeit**

Das Ziel von Desinfektionsmittelprüfungen ist nach REUTER (1984) die Leistungs- und Belastungsfähigkeit handelsüblicher Desinfektionsmittel zu erfassen sowie die Anwendungsempfehlungen und Deklarationen auf ihre Gültigkeit zu überprüfen. Die Wirksamkeitsprüfung von Desinfektionsmitteln muss als wesentliche Voraussetzung für ihren Einsatz zur Verhinderung der Verbreitung von Krankheitserregern und zum Erreichen einer „guten Lebensmittelhygienepraxis“ bewertet werden.

Auf freiwilliger Basis existieren nach REUTER (1989) in Deutschland für den Lebensmittelbereich die Prüfverfahren

- der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM) für die Flächendesinfektion im Krankenhausbereich, Händedesinfektion sowie Wäsche- und Instrumentendesinfektion,
- der Deutschen Landwirtschaftsgesellschaft (DLG) für die Desinfektion im Bereich der Milchgewinnung,
- der Mitteleuropäischen Brautechnischen Analysen-Kommission (MEBAK) für die Getränkeindustrie sowie
- der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft (DVG) für die Bereiche der Gewinnung und Bearbeitung von Lebensmitteln tierischer Herkunft.

Rechtlich verbindliche Zulassungsverfahren für Desinfektionsmittel finden in Deutschland auf der Grundlage der im folgenden beschriebenen Bestimmungen Anwendung.

##### **2.2.4.1 Rechtliche Grundlagen für die Desinfektionsmittelprüfung und -zulassung**

Gemäß § 18 Infektionsschutzgesetz vom 20. Juli 2000 dürfen bei der behördlich angeordneten Entseuchung zum Schutz des Menschen vor übertragbaren Krankheiten nur Mittel und Verfahren verwendet werden, die in einer Liste im Bundesgesundheitsblatt bekannt gemacht worden sind. Die Aufnahme in die Liste erfolgt nur, wenn die Mittel und Verfahren hinreichend wirksam sind und sie keine unvertretbaren Auswirkungen auf die Gesundheit und die Umwelt haben. Zuständig für die Prüfung und die Listung der Desinfektionsmittel nach dem Infektionsschutzgesetz ist das Robert-Koch-Institut.

In der Richtlinie des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten über Mittel und Verfahren für die Durchführung der Desinfektion bei anzeigepflichtigen Tierseuchen (BML, 1997) wird bei Verwendung von Handelspräparaten gefordert, die „Liste der nach den Richtlinien der DVG geprüften und als wirksam befundenen Desinfektionsmittel für die Tierhaltung (Handelspräparate)“ zu berücksichtigen.

Neben diesen Ausnahmen gab es bislang in der Bundesrepublik Deutschland kein offizielles und rechtlich verbindliches Zulassungsverfahren für Desinfektionsmittel (REUTER, 1994). Dieses ändert sich mit der Umsetzung der Richtlinie 98/8/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 16. Februar 1998 über das Inverkehrbringen von Biozid-Produkten, deren Bestimmungen durch das Biozid-Gesetz vom 20.06.2002 in das Chemikaliengesetz (Chem-G) in der Fassung der Bekanntmachung vom 20.06.2002 integriert wurden. Danach dürfen Biozid-Produkte nur in den Verkehr gebracht und verwendet werden, wenn sie von der zuständigen Stelle zugelassen worden sind.

Art. 2 Abs. 1 a) der genannten EG-Richtlinie definiert Biozid-Produkte als "Wirkstoffe und Zubereitungen, die einen oder mehrere Wirkstoffe enthalten, in der Form, in welcher sie zum Verwender gelangen, und die dazu bestimmt sind, auf chemischem oder biologischem Wege Schadorganismen zu zerstören, abzuschrecken, unschädlich zu machen, Schädigungen durch sie zu verhindern oder sie in anderer Weise zu bekämpfen". Zu den Biozid-Produkten im Sinne dieser Gesetze gehören nach Anlage V der Richtlinie auch Desinfektionsmittel für den Lebens- und Futtermittelbereich. Darunter sind „Produkte zur Desinfektion von Einrichtungen, Behältern, Besteck und Geschirr, Oberflächen und Leitungen, die im Zusammenhang mit der Herstellung, Beförderung, Lagerung oder dem Verzehr von Lebens- oder Futtermitteln oder Getränken (einschließlich Trinkwasser) für Menschen und Tiere Verwendung finden“ zu verstehen. Darüber hinaus unterliegen Desinfektionsmittel, die für den Privatbereich und den Bereich des öffentlichen Gesundheitswesens genutzt werden, Biozid-Produkte für die Hygiene im Veterinärbereich sowie Trinkwasserdesinfektionsmittel ebenfalls diesen rechtlichen Vorgaben.

Die Zulassung von Biozid-Produkten ist nach § 12 b Chem-G zu erteilen, wenn nach dem jeweiligen Stand der wissenschaftlichen und technischen Kenntnisse sichergestellt ist, dass das Biozid-Produkt hinreichend wirksam ist und es keine unannehmbaren Auswirkungen auf die Gesundheit von Mensch und Tier und auf die Umwelt hat.

#### **2.2.4.2 Prüfmethoden für Desinfektionsmittel**

Grundsätzlich finden mehrere Methoden zur Desinfektionsmittelprüfung Verwendung. Mit der Einrichtung eines technischen Komitees für Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika (TC 216) durch das Europäische Komitee für Normierung (CEN) im April 1990 wurde die Grundlage geschaffen, eine Harmonisierung der national unterschiedlichen Richtlinien zur Wirksamkeitsprüfung von Desinfektionsverfahren in Europa zu erreichen.

Dabei wurden die aus folgender Tabelle ersichtlichen Prüfphasen festgelegt:

Tab.5: Prüfphasen zur Wirksamkeitsprüfung von Desinfektionsverfahren (nach AFNOR, 1998)

---

Phase 1	Suspensionsversuch für die Basiswirkung des Produktes
Phase 2/ Stufe 1	Suspensionsversuch unter Bedingungen, die für die praktische Anwendung repräsentativ sind
Phase 2/ Stufe 2	Weitere Laborversuche, wie z. B. Oberflächenprüfungen, bei denen praktische Bedingungen simuliert werden
Phase 3	Feldversuche unter Praxisbedingungen

---

Generell können in vitro-Tests, zu denen Reihenverdünnungs- und Suspensionstests gehören, von Versuchen unter praxisnahen Bedingungen (Tests unter Verwendung von Keimträgern) und Feldversuchen zur Prüfung der Wirkung im eigentlichen Anwendungsbereich unterschieden werden.

#### Reihenverdünnungstests:

Der Verdünnungstest dient der Bestimmung der bakterio­statischen Wirkung der Desinfektionsmittel, die mit der Minimalen Hemmstoffkonzentration (MHK) beschrieben wird. Dabei werden geometrische Desinfektionsmittelverdünnungen mit definierten Mengen einer Keimsuspension beimpft. Die MHK ist definiert als die höchste Desinfektionsmittelverdünnung, die das Keimwachstum noch unterdrückt. Es wird visuell anhand der Trübung oder Nicht-Trübung einer Bouillon ausgewertet.

#### Suspensionstests:

Bei **qualitativen** Suspensionstests wird beurteilt, ob das zu prüfende Desinfektionsmittel eine Grundwirkung gegen die Testmikroorganismen aufweist. Dazu wird das Desinfektionsmittel geometrisch verdünnt und eine Keimsuspension über unterschiedliche Zeiträume den verschiedenen Verdünnungen ausgesetzt. Bei der Auswertung zeigt sich, inwieweit ein Mittel unter bestimmten Konzentrations-Zeit-Bedingungen wirksam ist, d.h. alle eingesetzten Testkeime abtötet.

Beim **quantitativen** Suspensionstest wird die Wirkung durch die Reduktion der Keimzahl infolge der Einwirkung des Desinfektionsmittels nachgewiesen. Dieser Test ist quantitativer Art, weil die Reduktion der Zahl der Zielorganismen, berechnet in Ig- Stufen, ermittelt wird. Grundsätzlich können bei Suspensionstests parallele Ansätze unter Zusatz von Belastungsstoffen durchgeführt werden.

### Keimträgertests:

Keimträgertests sind praxisnahe Prüfungsmodelle. Dabei wird die Wirkung von Desinfektionsmitteln auf kontaminierten Flächen oder Gegenständen des eigentlichen Anwendungsbereiches ermittelt.

Auf Materialien definierter Größe (Keimträger) werden bestimmte Mengen einer Keimsuspension aufgebracht. Als Materialien können bei dieser Art der Desinfektionsmittelprüfung Fliesen, Holzplättchen, rauhes Glas, Polyethylen, Metallzylinder oder Silikonschläuche zum Einsatz kommen. Der kontaminierte Keimträger wird dann durch Eintauchen oder Überschichten mit dem Desinfektionsmittel in Kontakt gebracht, verschiedenen Konzentrations-Zeit-Bedingungen ausgesetzt und anschließend auf überlebende Testkeime untersucht. Als Kontrollen dienen Keimträger, die dem Desinfektionswirkstoff nicht ausgesetzt waren. Durch die Differenz zwischen der Anzahl lebender Mikroorganismen auf den „desinfizierten“ Keimträgern und der Anzahl lebender Mikroorganismen auf den Kontrollkeimträgern kann die Wirksamkeit der Desinfektionsmittel beschrieben werden. Nach quantitativer oder semiquantitativer Auswertung der Versuchsreihen können Aussagen über die keimreduzierende Wirkung eines Desinfektionsmittels unter praxisnahen Bedingungen getroffen werden. Bei qualitativer Auswertung wird die Desinfektionsmittelkonzentration bestimmt, bei der auf den Keimträgern keine vermehrungsfähigen Mikroorganismen mehr nachweisbar sind.

Eine möglichst vollständige Rückgewinnung überlebender Keime von den Trägern ist für die Aussagekraft der Desinfektionsmittelprüfung von entscheidender Bedeutung. Verschiedene Methoden finden Anwendung, um die überlebenden Keime zu quantifizieren.

### Tupferabstrichmethoden

SPICHER und PETERS (1976) beschreiben, dass es sich bei dem Tupferverfahren um eine Technik handelt, mit der nur ein Bruchteil der Population überlebender Keime (1%) von Oberflächen gewonnen werden können. Beim Abreiben des Tupfers auf dem Keimträger haftet nur ein gewisser Teil der Keime am Tupfer, beim Abschütteln wird wiederum nur ein gewisser Prozentsatz an die Nährbouillon abgegeben. Nach BORNEFF (1977) können verschiedene Untersucher aufgrund von Abweichungen in der technischen Ausführung der Methodik unterschiedliche Ergebnisse erzielen, was die Standardisierung erschwert. Je nach Beschaffenheit des zu beprobenden Materials (raue oder feuchte Oberfläche) ist das Tupferverfahren nach LOUWERS und KLEIN (1994a) dem Abklatschverfahren allerdings überlegen.

### Abklatschmethoden

REYBROUK und WERNER (1975) sehen die Schwierigkeiten des Abklatschverfahrens mit Hilfe von RODAC-Platten in der quantitativen Überführung der Keime von der Testfläche auf den Nährboden. Darüber hinaus ist eine quantitative Auswertung bei höheren Keimgehalten aufgrund des Rasenwachstums auf den Nährböden nicht möglich (SCHULZE u. HILDEBRANDT, 1995).

### Abschwemmmethoden

Bei dieser Methode werden die Keimträger in eine Lösung getaucht oder durch mechanische Einwirkung (Schütteln, Rühren) in der Lösung abgespült, wobei die Größe der Keimträger in Relation zum Flüssigkeitsvolumen im Eintauchgefäß zu setzen ist. Je größer das benötigte Volumen und somit die Verdünnung des Restkeimgehaltes, desto ungenauer wird die Quantifizierung und desto höher ist die Nachweisgrenze.

Nach den DGHM-Richtlinien (1984) werden als Modell für die Desinfektion von Flächen im Krankenhaus Keramik- oder PVC-Keimträger verwendet, wobei die Keimsuspension aufgetropft und über den Keimträger verteilt wird. Nach festgelegten Einwirkzeiten erfolgt die quantitative Bestimmung der überlebenden Keime (DGHM, 1984).

Bei der Prüfung von Desinfektionsmitteln für den schwer desinfizierbaren Bereich der Tierhaltung werden gemäß DVG (2000) Lindenholzkeimträger in Keimsuspension und nach erfolgter Antrocknung für zwei Minuten Kontaktzeit in Desinfektionsmittellösung eingelegt. Nach Einwirkzeiten von 30, 60 bzw. 120 Minuten werden die Keimträger in Nährbouillon mit Enthemer überführt und inkubiert. Die Auswertung erfolgt hier qualitativ nach der Endpunktmethode.

Die Association Française de Normalisation (AFNOR) entwickelte die Norm NF T 72-190 (1988). Bei diesem quantitativen Keimträgertest ist das Trägermaterial nicht näher definiert. Empfohlen werden Metallscheiben, Kunststoffplättchen oder Glas. Zur Keimrückgewinnung wird ein Abschwemmverfahren genutzt und aus der Spülflüssigkeit eine quantitative Bestimmung mittels Membranfiltration durchgeführt.

PENG et al. (2002) führten Keimträgertests mit *B. cereus*-Stämmen unter Verwendung von sauberen Stahltestobjekten und solchen mit einem eingetrockneten Milchfilm durch. Dabei wurden die Keimträger in Sporensuspension eingetaucht. Dadurch bildete sich auf ihrer Oberfläche ein Biofilm bzw. Milch-Biofilm, der sowohl vegetative Zellen wie auch Sporen enthielt. Die Wirkung von QAV und Natriumhypochlorid auf vegetative *B. cereus*-Zellen, anhaftende Zellen sowie Biofilme konnte in der Untersuchung verglichen werden. Die Reduktionsfaktoren, die bei vegetativen Zellen über 5lg KbE lagen, konnten bei den

Biofilmen bzw. Milchbiofilmen nicht annähernd erreicht werden (max. 2lg KbE Reduktion bei doppelter Konzentration und 12facher Einwirkzeit).

#### Feldversuche:

Feldversuche dienen der Wirksamkeitsprüfung von Desinfektionsmitteln im eigentlichen Anwendungsbereich. Zur Überprüfung des Desinfektionserfolges werden Oberflächenproben von einer zu desinfizierenden Fläche zur quantitativen Bestimmung der Ausgangskeimzahl genommen. Nach erfolgter Desinfektionsmaßnahme findet ebenfalls eine Beprobung und quantitative Auswertung statt, was im Vergleich mit der Ausgangskeimzahl eine Aussage über die Keimreduktion zulässt.

Die hohe Anzahl von beeinflussenden Faktoren, wie sie beispielsweise durch unterschiedliche Umgebungsbedingungen gegeben sind, erschweren die Standardisierung derartiger Untersuchungen und mindern die Reproduzierbarkeit bzw. Verwertbarkeit ihrer Ergebnisse.

Zur Überprüfung von Flächendesinfektionsmitteln in Krankenhäusern bestimmte ANDENMATTEN (1990) über fünf Tage die Keimzahlen im Schmutzwasser nach der Reinigung mit Schmierseife, damit der Durchschnittswert für den Versuchsansatz als Ausgangskeimzahl angenommen werden konnte. Nach durchgeführter Wischdesinfektion mit dem zu prüfenden Mittel wurde eine Keimquantifizierung aus dem Wischwasser vorgenommen und in Relation zur Ausgangskeimzahl gesetzt. Seifen- und Eiweißfehler wurden in dieser Untersuchung durch Zusatz der entsprechenden Belastungsfaktoren berücksichtigt.

Desinfektionsverfahren auf für den im Lebensmittelbereich üblichen Oberflächen wurden von EGGINGER (1988) zunächst mit einer praxisnahen Keimträgermethode (Metall, Holz) und nachfolgend durch einen Feldversuch in einem fleischverarbeitenden Betrieb getestet. Durch die Reinigung wurde der Ausgangskeimgehalt um mehr als 70% reduziert. Eine nahezu vollständige Eliminierung lebender Keime war nach Durchführung des Desinfektionsverfahrens feststellbar und bestätigte die Resultate des Keimträgetests.

Auch beim Feldversuch stellt die Gewinnung der Keime von den Oberflächen einen kritischen Punkt dar, an dem die Ergebnisse zur Wirksamkeit der geprüften Desinfektionsmittel verfälscht werden können. Neben den schon angesprochenen Methoden untersuchten BÖHM und KRAUS (1983) die Leistungsfähigkeit des THRAN-Bakterienkollektors (THRAN, 1979) und verglichen sie mit anderen Verfahren zur Bestimmung des Oberflächenkeimgehaltes. Die Absprühmethode mit dem THRAN-Bakterienkollektor erzielte gegenüber den in der Praxis häufiger angewendeten Abstrich- und Abklatschtechniken höhere Rückgewinnungsraten, findet heutzutage allerdings keine Anwendung mehr. Demgegenüber wird zur Überprüfung von Reinigung und Desinfektion die

von LOUWERS und KLEIN (1994a, 1994b) beschriebene Naß-Trocken-Tupfertechnik (NTT) als Referenzverfahren angewandt, bzw. die vereinfachte Naß-Tupfertechnik (NT) (LOUWERS et al., 1995, 1997) und das Abklatschverfahren für die Routineuntersuchung (SCHULZE u. HILDEBRANDT, 1995). Alle drei Techniken sind in der DIN 10113 (Teil 1-3) (1997) beschrieben.

#### **2.2.4.3 Desinfektionsmittelprüfungen auf Sporozidie**

Bei der Methodik der Norm DIN EN 13704 (Quantitativer Suspensionsversuch zur Bestimmung der sporiziden Wirkung chemischer Desinfektionsmittel in den Bereichen Lebensmittel, Industrie, Haushalt und öffentliche Einrichtungen - Phase 2 / Stufe 1), die durch die Arbeitsgruppe 3 "Lebensmittelhygiene" des CEN/TC 216 entwickelt wurde, werden Sporen von *B. subtilis* verwendet. Als Anwendungsbereiche sind speziell die Verarbeitung, der Vertrieb und der Verkauf von Lebensmitteln tierischer Herkunft genannt (AFNOR, 1998). Für den „quantitativen Suspensionstest zur Bestimmung der sporiziden Wirkung chemischer Desinfektionsmittel und Antiseptika für den Veterinärbereich“ der als Normentwurf durch die Arbeitsgruppe 2 des CEN/TC 216 ausgearbeitet wurde, sind *B. cereus*-Sporen als obligatorischer Testorganismus vorgesehen (AFNOR, 2003).

LANGSRUD et al. (2000) prüften in Suspensionstests die Wirkung von Peroxiden auf *B. cereus*-Sporen. Wie die Ergebnisse zeigten, weisen Peroxide zwar in hohen Konzentrationen eine sporozide Wirkung auf, können aber in diesen Konzentrationen korrosiv wirken. Die Prüfansätze wurden deshalb in Abhängigkeit von der Temperatur und nach Vorbehandlung der Sporen durch Reiniger durchgeführt, um so eine geringere Gebrauchsverdünnung der Peroxide einsetzen zu können. Die sporozide Wirkung des geprüften Desinfektionsmittels steigerte sich mit Einwirkdauer und Temperaturerhöhung. Eine weitere Erhöhung der Sporenempfindlichkeit durch ihre Vorbehandlung konnten die Autoren dagegen erst bei hohen Reinigungstemperaturen (ab 60°C) feststellen.

In Untersuchungen von SAGRIPANTI und BONIFACIO (1996) sind fünf verschiedene Aldehyde bzw. Oxidantien bezüglich ihrer sporoziden Wirkung verglichen worden. Sporen von *B. subtilis* wurden bei unterschiedlichen pH-Werten, Temperaturen sowie Konzentrationen und Einwirkzeiten den zu prüfenden Desinfektionsmitteln in quantitativen Suspensionsversuchen ausgesetzt. Die desinfizierenden Wirkungen der unterschiedlichen Mittel sind von den o.g. Testparametern abhängig. Anhand der Sporeninaktivierungsraten ordnen die Autoren Hypochlorid und PES in die Gruppe von Wirkstoffen mit hoher sporozider Aktivität ein.

VENCZEL et al. (1997) verwendeten *Clostridium perfringens*-Sporen in quantitativen Suspensionstests zur Prüfung der Wirksamkeit von Oxidantien und freiem Chlor. Die



Keimzählung erfolgte durch Membranfiltration. Die Oxidantien erzielten im Vergleich zum freien Chlor eine höhere Reduktionrate der Sporen in kürzerer Einwirkzeit.

Die niederländische COMMISSIE VOOR FYTOFARMACIE prüft die sporozide Wirkung von Desinfektionsmitteln mit hitzebehandelten Sporen von *B. cereus* ebenfalls in einem Suspensionstest (CREMIEUX u. FLEURETTE, 1983).

Der Test 966.04 der Association of Analytical Chemists (AOAC) zur Bestimmung der sporiziden Wirkung von Desinfektionsmitteln (BELOIN, 1995) wird in den USA als Kriterium genutzt, um die geprüften Chemikalien in die Klasse der wirksamsten Desinfektionsmittel einzuordnen. Unglasierte Porzellanzylinder oder Schleifen aus Seidenfäden werden mit *Bacillus subtilis*- oder *Clostridium sporogenes*-Sporen kontaminiert. Nach einer Trocknungszeit von minimal 24 Stunden werden die Keimträger bei konstanter Temperatur dem zu prüfenden Desinfektionsmittel ausgesetzt. Die Keimträger werden nach definierter Einwirkzeit in eine Nährbouillon mit Enthemer überführt, inkubiert und quantitativ ausgewertet. Nach MINER et al. (1995) sind neben ungeeigneten Medien und Keimträgern (porige Oberfläche der Porzellanzylinder, Seidenproteine reagieren mit chemischen Wirkstoffen) Fehler in der Durchführung aufgrund des anspruchsvollen technischen Versuchsaufbaus nicht auszuschließen. Eine modifizierte Version des AOAC Tests 966.04 entwickelten MINER et al. (1997), wobei das Grundkonzept eines quantitativen Keimträgertests beibehalten wurde, die zuvor beschriebenen kritischen Punkte jedoch eliminiert wurden. Bei der Auswertung von acht Testgruppen mit jeweils fünf Zylindern ist das Vorkommen von einzelnen falsch-positiven Keimträgern als statistisch nicht signifikant beurteilt worden.

MÜCKE et al. (1989) bezogen neben vegetativen Keimen auch Sporen von *B. subtilis* in die Prüfung von alkalischer Peressigsäure (PES) auf mikrobizide bzw. sporozide Wirkung ein. Als Keimträger dienten lackierte Sperrholzplatten, PVC-Fußbodenbelag und glasierte Keramikfliesen. Die Sporensuspension wurde auf die Keimträger ausgespatelt, wobei in parallelen Ansätzen Rinderserum bzw. Humanblut zugesetzt war. Mittels steriler Wattetupfer wurde das Desinfektionsmittel auf die Keimträger aufgebracht. Eine sporozide Wirkung von PES zur geruchsfreien Flächendesinfektion konnte in diesen Versuchen bei einer 0,2 %igen Verdünnung mit pH 9 in einer Einwirkzeit von 15 Minuten nachgewiesen werden.

WALSH et al. (1999) führten Keimträgertests mit sterilen Glasflaschen, die mit *B. subtilis*-Sporen beimpft wurden, durch. Die Sporen trockneten am Flaschenboden an. Die biozide Wirkung von ortho-phthalaldehyd (OPA) und Glutaraldehyd wurde sowohl im Keimträger- wie auch im Suspensionstest (keine Antrocknung am Flaschenboden) ermittelt. Mittels eines Magnetrührers wurden die Sporen zur Keimzählung vom Keimträger resuspendiert. Glutaraldehyd bewirkte bei einer Exposition von 180 Minuten in 2 %iger Verdünnung eine

Reduktion der Sporen um 5 lg-Stufen, während OPA in Gebrauchsverdünnung keine sporoziden Effekte aufwies.

Mit radioaktiv markierten Sporen von *B. subtilis* erreichten SAGRIPANTI und BONIFACIO (1999) beim quantitativen Keimträgertest erstmalig eine direkte Bestimmung der Ausgangskeimzahl sowie der die Desinfektion überlebenden Sporen.

#### **2.2.4.4 Beurteilung der Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln**

Ein Produkt sollte zunächst auf seine grundsätzliche biozide Wirkung auch unter belastenden Faktoren geprüft werden. Nach REYBROUK (1975) und dem CEN/TC 216 ist für diese erste Phase der Prüfung der Suspensionstest geeignet. Untersuchungen zur Gebrauchskonzentration und Einwirkzeit unter praxisnahen Bedingungen sind der nächste zur Beurteilung notwendige Schritt, um die Laborergebnisse zu bestätigen. Eine Bewertung der Desinfektionsmittelwirkung im Feldversuch stellt die abschließende Phase des schon von BORNEFF et al. (1975) geforderten Drei-Phasen-Tests dar.

An Oberflächen anhaftende Mikroorganismen akkumulieren zu Biofilmen und weisen nach STONE und ZOTTOLA (1985) sowie FRANK und KOFFI (1990) eine größere Resistenz gegenüber antimikrobiellen Wirkstoffen auf. Resultate aus Suspensionsversuchen müssen dementsprechend nicht zwingend mit der eigentlichen Wirkung im Anwendungsbereich korrelieren (PENG et al., 2002). In der DVG-Richtlinie (2000) wird diesem Umstand Rechnung getragen und darauf hingewiesen, dass allein die Resultate der Laboruntersuchungen aufgrund der Beeinflussung der germiziden Wirkung unter Feldbedingungen keine Garantie für die erfolgreiche Anwendung in der Praxis bietet.

Die unterschiedlichen Prüfungsmethoden im Zusammenhang gesehen liefern Angaben über die Wirksamkeit eines Desinfektionsmittels gegen die verschiedenen Testorganismen, über die Anwendungskonzentrationen und über die zum Erreichen der geforderten Desinfektionsmittelwirkung erforderlichen Einwirkungszeiten. Insoweit die Tests normiert sind, ist ein zuverlässiger Vergleich der verschiedenen Substanzen bei Anwendung der gleichen Prüfmethode möglich.

Damit ein Desinfektionsmittel als wirksam für die jeweiligen Zielorganismen eingestuft werden kann, muss nach dem Schweizer BUNDESAMT FÜR GESUNDHEIT (2002) die Zahl der Bakterien um mehr als 5 lg-Stufen, die Zahl der Pilze um mehr als 4 lg-Stufen und die Zahl der Viren um mehr als 4 lg-Stufen reduziert werden.

Die DVG (1988) fordert für den Lebensmittelbereich eine Keimreduktion des jeweils resistantesten Prüfkeimes des Gram-negativen sowie des Gram-positiven Spektrums um mindestens 4 lg-Stufen im quantitativen Suspensionstest unter Eiweißbelastung.

Nach den DVG-Richtlinien (DVG, 2000) muss sowohl bei der Kurzzeit-Desinfektion nach 5 min als auch bei der Langzeit-Desinfektion nach 30 min eine Reduktion um 4 lg KbE-Stufen erreicht werden.

Demgegenüber wird für den Europäischen Suspensionstest (EST) eine Reduktion von mindestens 5 lg KbE-Stufen in 5 min (EST, 1987) gefordert.

Die Norm DIN EN 13704 des CEN/TC 216 (AFNOR, 1998) gibt für den quantitativen Suspensionstest mit *B. subtilis*-Sporen vor, dass bei 20°C in 60 min unter Berücksichtigung des Eiweißfehlers ein Reduktionsfaktor von mindestens 3 lg KbE-Stufen erreicht wird.

Die Bewertung bzw. Interpretation der Ergebnisse von quantitativen Suspensionsversuchen unterscheidet sich somit bei Betrachtung der verschiedenen Testvorschriften und hinsichtlich der Zielorganismen (Wirkung auf Bakterien, Pilze, Viren oder Sporen) der Desinfektionsmittel.

## **2.3 Lebensmittel- und Hygieneüberwachung in Verpflegungseinrichtungen der Bundeswehr**

### **2.3.1 Rechtliche Grundlagen**

Wehrsoldempfänger sind grundsätzlich, Berufs- und Zeitsoldaten (BS/SaZ) im Einzelfall zur Teilnahme an der Gemeinschaftsverpflegung der Bundeswehr verpflichtet. Auf Antrag können zivile Mitarbeiter der Bundeswehr und BS/SaZ ebenfalls an der Gemeinschaftsverpflegung teilnehmen (ZDv 36/1, 1976). Somit ist die Bundeswehr einer der größten Gemeinschaftsverpfleger in der Bundesrepublik Deutschland (REICHE, 1998).

Den verantwortlichen Stellen im Geschäftsbereich des Bundesministeriums der Verteidigung (BMVg) ist im § 40 (2) Lebensmittel- und Bedarfsgegenständegesetz (LMBG) sowie im Fleischhygiene- und im Geflügelfleischhygienegesetz die Zuständigkeit für die Überwachung und den Vollzug des Lebensmittelrechtes für den Bereich der Bundeswehr übertragen worden.

Aus dem Fürsorgegedanken des Dienstherrn gegenüber dem zur Verpflegung Verpflichteten ergeben sich für die Lebensmittelhygiene sowie die veterinärmedizinische Lebensmittelüberwachung in der Bundeswehr zusätzliche Anforderungen und besondere Untersuchungsverpflichtungen. Restriktive Hygienebestimmungen, die über die gesetzlichen Regelungen hinausgehen, können im Rahmen von Dienstvorschriften erlassen werden. Beispielsweise ist das Inverkehrbringen bestimmter handelsüblicher Verpflegungsmittel, denen ein erhöhtes Risikopotential zugesprochen wird (sämtliche Erzeugnisse im Sinne der Hackfleischverordnung, sofern nicht Vollkonserve oder tiefgefroren und tischfertig; Milch ab Hof; ect.), in Einrichtungen der Bundeswehr durch interne Bestimmungen verboten. Neben den zusätzlichen Vorgaben für Hackfleisch und Hühnereier wird auch der Behandlung von Geflügelfleisch in der Dienstvorschrift besondere Aufmerksamkeit geschenkt.

Die gesetzlichen Vorgaben und zusätzlichen Anforderungen an die Lebensmittelsicherheit sind durch Erlasse des Bundesministeriums der Verteidigung, durch Weisungen sowie Zentrale Dienstvorschriften (ZDv) insbesondere der ZDv 46/28 „Lebensmittelhygiene“ festgelegt worden.

Amtliche Aufgaben im Sinne der übertragenen sogenannten Eigenvollzugskompetenz nehmen die zuständigen Stellen und Sachverständigen wahr. Die Dezernate Veterinärmedizin der Abteilungen Gesundheitswesen der Sanitätskommandos (SanKdo) nehmen die Funktion des Veterinäramtes wahr. Die Überwachung von Produktionshygiene, Hygiene der Einrichtungen und Lebensmitteln erfolgt sowohl durch die Sachverständigen der Sanitätskommandos wie auch durch die veterinärmedizinischen und lebensmittelchemischen Sachverständigen der Zentralen Institute des Sanitätsdienstes der Bundeswehr (ZInstSanBw) (REICHE, 1998). Der Vollzug des LMBG obliegt den

Wehrbereichsverwaltungen. Die oberste Behörde für die Überwachung des Verkehrs mit Lebensmitteln und Bedarfsgegenständen in der Bundeswehr ist das Bundesministerium der Verteidigung (BMVg) mit dem Fachreferat Veterinärmedizin (FüSan I4).

Durch die Lebensmittelhygiene-Verordnung (LMHV) wurde die EG-Lebensmittel-Hygiene-Richtlinie 93/43/EWG als bundeseinheitliche Verordnung in deutsches Recht umgesetzt. Die LMHV findet innerhalb des Geltungsbereiches Anwendung auf Lebensmittel jeglicher Art, auf alle Betriebsformen und Branchen, die gewerbsmäßig Lebensmittel herstellen, behandeln oder in Verkehr bringen (§ 1). Somit ist sie auch auf die Verpflegungseinrichtungen der Bundeswehr anzuwenden.

Der § 4 LMHV ist mit den Änderungen der Anlagen zur ZDv 46/28 „Hinweise für Maßnahmen der Eigenkontrolle im Bereich der Bundeswehr“ in Form konkreter Handlungsanweisungen in die bundeswehrinterne Vorschriftenlage eingearbeitet worden. Dadurch werden für die verantwortlichen Betreiber von Verpflegungseinrichtungen Hilfestellungen bei der Erfüllung einer „guten Lebensmittelhygienepaxis“ und Wahrnehmung der Sorgfaltspflicht nach § 3 LMHV geleistet.

Bei der Durchführung in der Praxis bedarf es der sachverständigen Unterstützung durch Sanitätsoffiziere Veterinär (SanOffzVet). Aus den Ergebnissen der Untersuchungen von zubereiteten Lebensmitteln, Ausgangsprodukten und Eigenkontrollen im Rahmen von mikrobiologischen Raum- und Geräteuntersuchungen werden wertvolle Informationen für eine Beratung gewonnen. Damit tragen sie letztendlich zur Gewährleistung einer guten Produktionshygiene und Lebensmittelsicherheit bei.

Einen der Kernpunkte der Lebensmittelhygiene-Verordnung stellt § 3 Satz 1 dar, der den Grundsatz festlegt, dass Lebensmittel so hergestellt, behandelt und in den Verkehr gebracht werden müssen, dass sie nicht der Gefahr einer nachteiligen Beeinflussung ausgesetzt werden. Nach der ZDv 46/28 sind Lebensmittel bis zur Abgabe so zu behandeln, dass sie keiner gesundheitlich bedenklichen, ekelerregenden oder sonst nachteiligen Beeinflussung ausgesetzt sind. Lebensmittel, Bedarfsgegenstände und Behandlungsverfahren müssen hinsichtlich ihrer Unbedenklichkeit einer ständigen Überprüfung und Überwachung unterworfen sein. Zur Konkretisierung dieses allgemeinen Grundsatzes werden in § 3 Satz 2 LMHV in Verbindung mit den Anlagen nähere Hygienevorschriften an Einrichtungen, die Ausstattung der Betriebsstätten und an den Umgang mit Lebensmitteln festgeschrieben. Dieses ist im Kapitel 3 „Bauliche Raumgestaltung und –ausstattung“, Kapitel 4 „Bedarfs- und Einrichtungsgegenstände“ sowie Kapitel 7 „Anweisungen zur Behandlung verschiedener Lebensmittel“ der ZDv 46/28 für die Verpflegungseinrichtungen der Bundeswehr konkretisiert.

Das Ziel der ZDv 46/28 ist es, durch Hygienemaßnahmen und -kontrollen und strikte Anforderungen an Infrastruktur der Einrichtungen, Bedarfsgegenstände sowie Lagerung und Zubereitung der Speisen die Gefahren durch Lebensmittelinfektions- und intoxicationserreger zu minimieren.

Der SanOffzVet trägt nach den „Bestimmungen zur Überwachung und Qualitätskontrolle von Lebensmitteln und Bedarfsgegenständen in der Bundeswehr (DBBwLMBG)“ (BMVg, 1999) in besonderer Weise Verantwortung für Lebensmittel tierischer Herkunft. Diese zählen nicht nur zu den hochwertigen und teuren Produkten, sondern sind auch besonders empfindlich gegenüber nachteiligen Beeinflussungen, welche zu raschem mikrobiellem Verderb oder zur Gesundheitsgefährdung des Verbrauchers führen können. Darüber hinaus werden die veterinärmedizinischen Sachverständigen bei jeder möglichen mikrobiellen Kontamination von Bedarfsgegenständen und Lebensmitteln jeglicher Herkunft tätig.

### **2.3.2 Vorschriften zur Reinigung und Desinfektion in Verpflegungseinrichtungen der Bundeswehr**

Der Zweck der Reinigung und Desinfektion ist nach ZDv 46/28 folgendermaßen definiert: „In Betriebsräumen ist durch diese Maßnahmen eine einwandfreie Umgebungshygiene zu gewährleisten und so eine Kontamination von Lebensmitteln bei deren Behandlung in Verpflegungs- und Betreuungseinrichtungen mit Krankheitserregern zu verhindern“.

Eine ordnungsgemäße und sachgerechte Durchführung der Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen sowie bestimmte Anforderungen an Bedarfs- und Einrichtungsgegenstände sind zu diesem Zweck unerlässlich (siehe 9. Anhang).

Grundsätzlich müssen Bedarfs- und Einrichtungsgegenstände rostbeständig sowie leicht und einwandfrei zu reinigen und zu desinfizieren sein. Dementsprechend müssen Oberflächen von Arbeits- und Abgabetischen glatt, riß- und spaltenfrei, leicht abwaschbar und desinfizierbar sein. Im Küchenbereich sind ausschließlich Tische und Regale aus korrosionsfestem Material zu verwenden. Schneidbretter für Fleisch und Fleischerzeugnisse müssen aus Kunststoff bestehen. In der Anlage 13 der ZDv 46/28 sind die Maßnahmen der Eigenkontrolle im Bereich der Reinigung und Desinfektion aufgeführt. Von der sachgemäßen Durchführung der Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen hat sich der zuständige entsprechend geschulte Hygienebeauftragte täglich zu überzeugen. Die Kontrollpunkte sind dabei Konzentration sowie Einwirkzeit der Reinigungs- und Desinfektionsmittel. Der Erfolg der Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen wird anhand der optischen Sauberkeit der nach einem Reinigungs- und Desinfektionsplan gereinigten und desinfizierten Räume, Einrichtungs- und Bedarfsgegenstände beurteilt. Darüber hinaus sollen durch mikrobiologische Raum- und Geräteuntersuchungen die Effekte der Reinigung und Desinfektion mindestens einmal jährlich in den Verpflegungseinrichtungen überprüft werden.

Der Leiter der Einrichtung hat im Rahmen der Maßnahmen zur Eigenkontrolle sicherzustellen, dass diese Untersuchungen des Hygienestatus regelmäßig durch die Sachverständigen der Zentralen Institute des Sanitätsdienstes der Bundeswehr durchgeführt werden. Als Korrekturmaßnahme bei nicht ordnungsgemäßer Durchführung der Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen setzt sich der Hygienebeauftragte unmittelbar mit dem für die Durchführung zuständigen Mitarbeiter in Verbindung und veranlaßt die Mängelbeseitigung.

Die Einhaltung und die Dokumentation der betriebseigenen Maßnahmen und Kontrollen sind durch den Hygienebeauftragten sicherzustellen.

### **2.3.3 Lebensmittelbedingte Gruppenerkrankungen in der Bundeswehr und im zivilen Bereich: Meldewesen und epidemiologische Ermittlungen**

Trotz intensiver Kontrollmaßnahmen ist das Auftreten von lebensmittelassoziierten Gruppenerkrankungen in der Gemeinschaftsverpflegung nicht vermeidbar.

Dieses verdeutlicht die Notwendigkeit, durch gezielte Ermittlungen und Untersuchungen eine rasche epidemiologisch-mikrobiologische Aufklärung herbeizuführen, um so eine Optimierung des Hygieneregimes in der betroffenen Verpflegungseinrichtung zu erzielen.

Die Zuständigkeit nur eines Arztes für den überwiegenden Teil der Verpflegungsteilnehmer an einem Bundeswehr-Standort ist für das Erkennen und die Aufklärung von Gruppenerkrankungen lebensmittelbedingter Genese vorteilhaft. Truppenärzte und Standortärzte melden den Verdacht einer lebensmittelbedingten Gruppenerkrankung an das zuständige SanKdo. Ein Verdacht ist nach ZDv 10/13 (1992) gegeben, wenn an einem Tag gastroenterale Erkrankungen mit gleicher Symptomatik bei mehr als fünf Personen einer Einheit vorliegen. Durch die zuständigen Stellen werden dann in diesem Zusammenhang epidemiologische und mikrobiologische Untersuchungen zur Abklärung einer lebensmittelbedingten Genese durchgeführt (Abb. 4).

# Lebensmittelepidemiologie bei der Aufklärung von Gruppenerkrankungen

Erkrankte n > 5

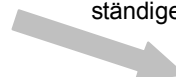


Truppenarzt



Dienststelle		Telefon	Datum, Uhrzeit
ZInstSanBw KOB LabAbt II		90-421-3400	
Aufnehmender	55129 Mainz	Generaloberst-Beck-Str. 1f	
Gesprächsnotiz			
	förmlich	persönlich	Telefax
Name, Amts- bzw. Dienstbezeichnung			
mit			
Dienststelle			
von			
Ort			
in			
Telefon			
<b>Meldung über Erkrankungen durch Lebensmittel bzw. Verdachtsfälle</b>			
1. Standort:		2. Einheit:	
3. Anzahl:		4. Zeitpunkt der Krankmeldungen:	
5. Symptome: Erbrechen, Übelkeit, Durchfall (breiig, wäßrig, blutig), Fieber			
6. Behandlung:	ambulant	stationär	
7. WBK/Dv informiert?	Ja	Nein	
Name, Dienstgrad, Dienststelle, Dezernat			
8. Werden epidemiologische Untersuchungen durchgeführt? Ja / Nein			
Durch wen:			
In welcher Verpflegungseinr. ?			
Vpfl.stärke:			
9. Werden gekühlte Lebensmittelproben an ZInstSanBw KOB LabAbt II Vet.Med. Mainz gebracht?			
9.1 Wie (z.B. Kurier):			
9.2 Welche (z.B. Abendkost vom ...):			
9.3 Liegt ein Vorbericht u Speiseplan bei?	Ja	Nein	
10. Bemerkungen/Ergebnis der Erhebungen:			
11. LabAbt II sendet per Telefax Meldung an SanABw I 4 "ELT - SOFORT VORLEGEN"			
Name, Dienstgrad, Datum, Uhrzeit, Sendeprotokoll			
(90-3420-2406)!			
12. Nach Abschluß der Ermittlungen/Untersuchungen			
12.1 Verdacht bestätigt?	Ja	Nein	
12.2 Ergebnis weitergeleitet an:			
am:			
An			
mit der Bitte um Kenntnisnahme			
mit der Bitte um weitere Veranlassung			
z.d.A. (Az 42-32-00/05)			
Unterschrift			

Tierärztlicher Sachverständiger



**Epidemiologische Untersuchung vor Ort**  
 In Zusammenarbeit mit dem Truppenarzt Ermittlungen durch Patientenbefragungen (einschließlich der Ermittlung des relativen Risikos bezogen auf die Exposition der Verpflegungsteilnehmer)

Tierärztlicher Sachverständiger



**Lebensmittelbezogene Ermittlungen in der Verpflegungseinrichtung**  
 -Entnahme von Sonderproben (z.B. Wasser oder Gewürze)  
 -Durchführung einer mikrobiologischen Statuskontrolle





**Beschlagnahme der 48-Stunden-Ration**



Truppe

**Einsendung der Lebensmittel an die Laborabteilung II - Veterinärmedizin (gekühlt und per Kurier)**



Tierärztlicher Sachverständiger

ZENTRALES INSTITUT DES SANITÄTSDIENSTES DER BUNDESWEHR KOBLENZ  
Laborabteilung II Vet. Med. 55129 Mainz, 05.10.98  
Generaloberst-Beck-Str. 1 f

Prüfgegenstand (Deklaration) «Prüfgegenstand» LSKZ: «LSKZ»	Probenart: «Probenart» «BWB»	Termin (RoT) «Termin»
Hersteller/Lieferant «Hersteller»	Lieferdatum: «Lieferdatum» MHD: «MHD»	STOV-Nr.: «STOV»
Einsender «Einsender» Einsendart «Einsendart»	Eingangsdatum «Eingangsdatum» Eingangstemperatur «Eingangstemperatur» » °C	Reg.Nr. «Reg.Nr.» I2- «BearbNr» Bearb.Nr. «BearbNr»

**Verteilungsplan  
Lebensmitteluntersuchung**

<input type="checkbox"/> <b>Lebensmittellabor</b> <input type="checkbox"/> Kennzeichnung <input type="checkbox"/> Verpackung <input type="checkbox"/> Beschreibende Prüfung <input type="checkbox"/> Analysenlampe (UV) <input type="checkbox"/> pH-Wert <input type="checkbox"/> Fäulnisprobe (NH <sub>3</sub> , H <sub>2</sub> S) <input type="checkbox"/> Ranzigkeitsprobe <input type="checkbox"/> Präparativ-gravimetrisch <input type="checkbox"/> Abtropfgewicht <input type="checkbox"/> « <sub>w</sub> »-Wert <input type="checkbox"/> Wassrigkeit und Ausblutungsgrad <input type="checkbox"/> Eier <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <b>Serologie</b> <input type="checkbox"/> Tierartbestimmung <input type="checkbox"/> Rind <input type="checkbox"/> Huhn <input type="checkbox"/> Schwein <input type="checkbox"/> Pute <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Fremdeiweiß <input type="checkbox"/> Milchweiß (Casein) <input type="checkbox"/> Molkeweiß <input type="checkbox"/> Sojaeiweiß <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Toxinbestimmung <input type="checkbox"/> Staph. aureus Enterotoxin <input type="checkbox"/> Bacillus cereus Diarrhoetoxin <input type="checkbox"/> E. coli Enterotoxin <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Rückstandsanalytik <input type="checkbox"/> Histamin <input type="checkbox"/> Chloramphenicol <input type="checkbox"/> Aflatoxin <input type="checkbox"/> Hemmstoffe <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <b>Mikrobiologie</b> <input type="checkbox"/> Standardprofil: (s. V-53010) ..... <input type="checkbox"/> Vorbebrütung: 35 °C/55 °C ..... Tage <input type="checkbox"/> Keimzählung <input type="checkbox"/> Direktanlange <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <b>Analysenlabor</b> <input type="checkbox"/> Phosphat-Puffer-Methode (BEFFE-AR) <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <b>Probenrückstellung</b> <input type="checkbox"/> Raumtemperatur <input type="checkbox"/> Kühlraum +4°C bis +6°C <input type="checkbox"/> Gefriertruhe -18°C bis -20°C <input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <b>Histologie</b> <input type="checkbox"/> Qualitativ <input type="checkbox"/> Quantitativ <input type="checkbox"/> Stärkenachweis <input type="checkbox"/> Wiederverarbeitetes Brät mit Hülle <input type="checkbox"/> Paraffin <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <b>Parasitologie</b> <input type="checkbox"/> Digestion <input type="checkbox"/> Leuchtstisch <input type="checkbox"/> Kompressorium <input type="checkbox"/>	

Datum/Unterschrift Gutachter \_\_\_\_\_

Formblatt 52001-02 Stand 08.06.98  
 Autorisiert durch OFVet Dr. Scheurer / Abteilungsleiter F:\Nutzer\QS\Formbl\WRO0002.DOC



Tierärztlicher Sachverständiger

**Begutachtung**



**Hygieneberatung**

Abb.4: Lebensmittelepidemiologie bei der Aufklärung von Gruppenerkrankungen (nach SCHEURER et al., 1998, modifiziert)

Unabdingbare Voraussetzung zur Aufklärung derartiger Erkrankungen ist die Untersuchung sämtlicher, ursächlich in Betracht kommender Lebensmittel (ZINSTSANBWKOB, 1998). Durch die ZDv 46/28 ist vorgeschrieben, dass Rückstellproben der ausgegebenen Rationsbestandteile am Ende der Ausgabezeit gezogen und mindestens 48 Stunden aufbewahrt werden müssen. Neben der amtlichen Beschlagnahme dieser Verdachtsproben wird routinemäßig eine Ermittlung ursächlicher Zusammenhänge vor Ort, eine mikrobiologische Raum- und Geräteuntersuchung sowie die Überprüfung der Personalhygiene durchgeführt. Ausgangsprodukte verdächtiger Rationsbestandteile können durch den SanOffzVet vor Ort asserviert und der Untersuchung in den ZInstSanBw zugeführt werden. In der lebensmittelmikrobiologischen Diagnostik können in Anlehnung an die Ergebnisse der Ermittlungen vor Ort gezielt Nachweisverfahren zur Keimdifferenzierung und Toxinbestimmung mit guter Aussicht auf Erfolg eingeleitet werden.

Abschließend erfolgt unter Berücksichtigung aller erhobenen Befunde die Bewertung durch die Sachverständigen der SanKdos.

Im zivilen Bereich ist die Aufklärung derartiger Erkrankungen erschwert. Zwar sind eine Vielzahl von Infektionskrankheiten nach dem Infektionsschutzgesetz meldepflichtig, allerdings ist die auch bundesländerübergreifende Zusammenarbeit von zuständigen Stellen oftmals nicht eng genug. Grundsätzlich ist nach § 8 IfSG der feststellende Arzt verpflichtet, die im Gesetz explizit genannten Krankheiten zu melden. Von den durch Lebensmittel auf den Menschen übertragbaren Infektions- und Intoxikationserregern unterliegen in der Bundesrepublik Deutschland nur folgende einer expliziten Meldepflicht: Botulismus, Typhus, Paratyphus, Salmonellose, Shigellose und Enteritis infectiosa (übrige Formen), weshalb über die Prävalenz der in den offiziellen Statistiken nicht geführten bakteriellen Erreger relativ wenig bekannt ist (KLEER et al., 2001). Darüber hinaus ist gemäß § 6 Abs. 1 Nr. 2 IfSG der Verdacht auf oder die Erkrankung an einer mikrobiell bedingten Lebensmittelvergiftung oder an einer akuten infektiösen Gastroenteritis meldepflichtig, wenn eine Person betroffen ist, die im Lebensmittelbereich tätig ist oder zwei oder mehr gleichartige Erkrankungen auftreten, bei denen ein epidemischer Zusammenhang wahrscheinlich ist oder vermutet wird. Vom Gesundheitsamt wird nach § 6 Abs. 1 Nr. 2 der Krankheitsverdacht, definiert als klinisches Bild vereinbar mit akuter infektiöser Gastroenteritis ohne labordiagnostischen Nachweis und ohne Nachweis eines epidemiologischen Zusammenhangs, erfasst (RKI, 2003). Dieser ist jedoch darüber hinaus nicht übermittlungspflichtig. Bei Ausbrüchen ist es wichtig, die Infektionsquelle bzw. das übertragende Vehikel schnell zu erkennen, um eine weitere Ausbreitung zu verhindern. Dies erfordert eine enge Kooperation zwischen human- und veterinärmedizinischen Einrichtungen. Besteht der Verdacht auf eine Krankheitsübertragung durch bestimmte Lebensmittel, sollte das Gesundheitsamt die zuständige Lebensmittelbehörde und das zuständige Veterinäramt unverzüglich informieren. In gleicher

Weise sollten auch Veterinär- und Lebensmittelbehörden bei Kenntnis von Krankheiten, die im Zusammenhang mit Lebensmittelverzehr stehen, das zuständige Gesundheitsamt informieren.

Weil in der gewerblichen Speiserversorgung bislang mit Ausnahme der Auflagen aus der Hühnereier-Verordnung lebensmittelrechtlich zwingend keine Verpflichtung zur Entnahme von Rückstellproben besteht, ist eine schnelle und eindeutige Fallabklärung beim Verdacht auf lebensmittelbedingte Erkrankungen nicht möglich. Zurzeit liegt ein vom Arbeitsausschuss „Lebensmittelhygiene“ erarbeiteter Norm-Entwurf „Rückstellproben in der Gemeinschaftsverpflegung“ (E DIN 10526:2002-05) vor.