



Autorin: Dr. Sylvia Gautsch

### **1.1.1 Lebensmittel aus dem Handel und aus Restaurationsbetrieben / Enterotoxinogene *Clostridium perfringens***

Anzahl untersuchte Proben: 235

Anzahl Proben mit *C. perfringens*: 33

Anzahl Proben mit enterotoxinogenen *C. perfringens*: 0

#### **Ausgangslage**

*Clostridium (C.) perfringens* ist ein sporenbildendes ubiquitär in der Umwelt, vor allem im Boden und Staub sowie natürlicherweise im Verdauungstrakt von Säugetieren einschliesslich Mensch vorkommendes Bakterium. Der Keim spielt in der Lebensmittelhygiene sowohl als Verderbserreger als auch als Verursacher von lebensmittelbedingten Erkrankungen eine Rolle. Aufgrund seines verbreiteten Vorkommens ist ein Nachweis von *C. perfringens* in pflanzlichen Lebensmitteln, wie z.B. Früchte, Gemüse, Kräuter und Gewürze sowie in Lebensmitteln tierischen Ursprungs, insbesondere Fleischwaren, nicht ungewöhnlich, erfolgt allerdings meist nur in geringen Keimzahlen. Nebst der Tatsache, dass Lebensmittel-Rohstoffe und -Ausgangsprodukte bereits natürlicherweise mit *C. perfringens* belastet sein können, können diese Keime auch durch Verunreinigung bzw. unhygienischen Umgang auf bzw. in genussfertige Lebensmittel gelangen. Selbst bei einwandfreier küchenhygienischer Handhabung kann ein Eintrag von *C. perfringens* in verzehrsfertige Lebensmittel nicht ausgeschlossen werden. Kommt es, bedingt durch ein nicht adäquates Temperaturmanagement, zur Vermehrung des Erregers, kann es ausgelöst durch das bakterielle, im Dünndarm gebildete Enterotoxin zu einer mit Durchfall einhergehenden Erkrankung kommen. Voraussetzung für diese lebensmittelbedingte Toxiinfektion ist das Vorkommen im Lebensmittel von sogenannten enterotoxinogenen, d.h. Enterotoxin bildenden *C. perfringens* Stämmen. Ungefähr 8-24 Stunden nach Verzehr des kontaminierten Lebensmittels kommt es dann zu Bauchschmerzen und Durchfall, seltener zu Erbrechen. Die Erkrankung verläuft meist mild und selbstlimitierend und dauert in der Regel zwischen 12 und 24 Stunden. Etwa 5 % der *C. perfringens* Stämme zeigen das Vermögen Enterotoxin zu bilden.



#### **Untersuchungsziele**

Da in der Vergangenheit noch keine Untersuchungen zum Vorkommen von enterotoxinogenen *C. perfringens* in Lebensmitteln durchgeführt worden sind, sollten im Rahmen einer Untersuchungskampagne Lebensmittel aus dem Handel und aus Restaurationsbetrieben auf deren Belastung mit Enterotoxin bildenden *C. perfringens* untersucht werden.

#### **Gesetzliche Grundlagen**

Pathogene Keime, zu denen auch *C. perfringens* zählt, dürfen gemäss Art. 8 Abs. 1 der Lebensmittel- und Gebrauchsgegenständeverordnung (LGV) nur in Mengen enthalten sein, welche die menschliche Gesundheit nicht gefährden. In Anbetracht der Tatsache, dass normalerweise für eine durch *C. perfringens* bedingte Toxiinfektion eine grössere Menge an vegetativen enterotoxinogenen *C. perfringens*-Zellen von ungefähr  $10^8$  Kolonie bildenden Einheiten (KbE) aufgenommen werden muss, erscheint der ehemals in der Schweizerischen Hygieneverordnung (HyV) genannte Grenzwert für *C. perfringens* von  $10^4$  KbE/g für genussfertige Lebensmittel bzw.  $10^5$

KbE/g für nicht genussfertige Lebensmittel als geeigneter Höchstwert zur Abschätzung der Gesundheitsgefährdung.

### Probenbeschreibung

Im Zeitraum von Oktober 2015 bis Januar 2016 wurden insgesamt 160 Lebensmittelproben tierischer und pflanzlicher Herkunft aus dem Detailhandel untersucht. Darunter befanden sich genussfertige und nicht genussfertige, verarbeitete und unverarbeitete Produkte. Welche Produkte im Einzelnen erhoben wurden, zeigt Tabelle 1.

Im Zeitraum von Februar bis November 2016 wurden im Rahmen von Betriebshygienekontrollen insgesamt 75 genussfertige Lebensmittelproben aus 14 Restaurationsbetrieben untersucht. Welche Speisen im Einzelnen erhoben wurden, zeigt Tabelle 2.

Tabelle 1: Art und Anzahl der 160 Lebensmittelproben aus dem Handel

Art der Probe	Anzahl Proben
Fleisch	25
Gewürze/Kräuter	25
Convenience Food	20
Gemüse/Obst	20
Milchprodukte	20
Pâtisserieswaren	20
Fisch/Meeresfrüchte	15
Saucen	15
<b>Total</b>	<b>160</b>

Tabelle 2: Art und Anzahl der 75 genussfertigen Lebensmittelproben aus Restaurationsbetrieben

Art der Probe	Anzahl Proben
Gemüse vorgekocht	23
Saucen/Suppen vorgekocht	10
Süssspeisen	10
Fleisch-/Fischgerichte vorgekocht	8
Reis vorgekocht	7
Teigwaren vorgekocht	7
Brüh-/Kochwurstware	7
Salate und andere Kaltspeisen	3
<b>Total</b>	<b>75</b>

### Prüfverfahren

#### Quantitative Bestimmung

Die quantitative Bestimmung von *C. perfringens* erfolgte nach Einwaage von 10 g Lebensmittel und Homogenisierung mit 90 ml Kochsalzpeptonlösung für 1 min im Stomacher im Gussplattenverfahren mit Tryptose Sulphite Cycloserine Agar mit Überschichtung in den Verdünnungen  $10^{-1}$  bis  $10^{-2}$ , bei flüssigen Proben wurde zusätzlich 1 ml der unverdünnten Probe angesetzt. Die Platten wurden während 18-24 h bei  $37 \pm 1$  °C anaerob inkubiert, verdächtige Kolonien ausgezählt und die präsumtive Keimzahl pro Gramm Lebensmittel berechnet. Maximal fünf verdächtige Kolonien pro Verdünnungsstufe wurden einer Bestätigung mittels Gramfärbung, Katalasetest, reverse CAMP-Test und Wachstumstest unter aeroben Bedingungen unterzogen. Isolate, die sich hierbei als *C. perfringens* bestätigen liessen, wurden mittels real-time Polymerase-Kettenreaktion (rtPCR) auf das Vorhandensein des für die Spezies *C. perfringens* typische  $\alpha$ -Toxin codierenden *cpa*-Gens sowie auf das Vorhandensein des für das Enterotoxin verantwortlichen *cpe*-Gens untersucht.

### Qualitativer Nachweis

Für den qualitativen Nachweis von *C. perfringens* erfolgte eine Anreicherung von je 10 g Lebensmittel in Brain-Heart-Infusion-Broth (BHIB) sowie in Schädler-Bouillon (SB) für 18-24 h bei  $37 \pm 1$  °C unter anaeroben Bedingungen. Je 100 µl jeder Anreicherungsbouillon wurden auf selektive Membran-*C. perfringens*-Agarplatten fraktioniert ausgestrichen. Die Platten wurden während 18-24 h bei  $37 \pm 1$  °C anaerob inkubiert und danach das Wachstum verdächtiger Kolonien festgehalten. Maximal zwei verdächtige Kolonien pro Morphotyp pro Selektivplatte wurden einer Bestätigung mittels Gramfärbung, Katalasetest, reverse CAMP-Test und Wachstumstest unter aeroben Bedingungen unterzogen. Isolate, die sich hierbei als *C. perfringens* bestätigen liessen, wurden mittels rtPCR auf das Vorhandensein des für die Spezies *C. perfringens* typische  $\alpha$ -Toxin codierenden *cpa*-Gens sowie auf das Vorhandensein des für das Enterotoxin verantwortlichen *cpe*-Gens untersucht.

### Ergebnisse

- In insgesamt 33 von 235 Lebensmittelproben (14%) wurde *C. perfringens* nachgewiesen, mehrheitlich erst nach Anreicherung. Dabei wiesen 30 der 160 (19%) Lebensmittelproben aus dem Handel und drei der 75 (4%) genussfertigen Lebensmittelproben aus Restaurationsbetrieben *C. perfringens* auf. Aus keiner der 33 *C. perfringens*-positiven Lebensmittelproben konnten enterotoxinogene Stämme isoliert werden.
- Wie Tabelle 3 zeigt, wurde bei den 160 Lebensmittelproben aus dem Handel lediglich in drei (1.9 %) mit der quantitativen Methode *C. perfringens* nachgewiesen. Alle drei Proben entstammten der Kategorie Gewürze und Kräuter. Dabei handelte es sich um eine Probe Curry mit einer Anzahl an *C. perfringens* von  $1.9 \times 10^5$  KbE/g, eine Gewürzzubereitung für Fleisch mit einer Anzahl an *C. perfringens* von  $1.0 \times 10^2$  KbE/g und getrocknete Lorbeerblätter, auf denen *C. perfringens* in einer Keimzahl von 20 KbE/g gefunden wurden. Bei allen anderen Proben lag der Gehalt an *C. perfringens* bei  $<10$  KbE/g Lebensmittel. In weiteren 27 Proben (17%) wurde *C. perfringens* erst nach Anreicherung nachgewiesen. Dabei handelte es sich um sieben Proben Gewürze und Kräuter, je fünf Proben Milchprodukte und Patisseriewaren, vier Proben Gemüse und Obst, drei Proben Fleisch sowie zwei Salate und eine Sauce. Während bei zwei der drei Proben, in denen sich *C. perfringens* bereits quantitativ nachweisen liess, der Nachweis des Keims auch im qualitativen Ansatz gelang (Curry, Lorbeerblätter), liess sich *C. perfringens* in der Gewürzzubereitung für Fleisch jedoch nur quantitativ nachweisen. Die höchste Kontaminationsrate mit *C. perfringens* zeigten Gewürze und Kräuter mit 40%, gefolgt von Milchprodukten und Patisseriewaren mit jeweils 25%. Ein Fünftel der Proben von Gemüse und Obst war mit *C. perfringens* belastet. Eine Kontaminationsrate von knapp über bzw. unter 10% zeigten Fleisch bzw. Fische und Meeresfrüchte sowie Saucen. Mit 5% wies Convenience Food die geringste Kontaminationsrate mit *C. perfringens* auf.
- Wie Tabelle 4 zeigt, lag in sämtlichen genussfertigen Lebensmittelproben aus Restaurationsbetrieben der Gehalt an *C. perfringens* bei der quantitativen Methode bei  $<10$  KbE/g Lebensmittel. Lediglich in drei Proben (4%) wurde *C. perfringens* erst nach Anreicherung nachgewiesen. Dabei handelte es sich um zwei vorgekochte Fleischgerichte und einen Salat. Dies ergibt Kontaminationsraten mit *C. perfringens* von 33% für Salate und andere Kaltspeisen bzw. von 25% für vorgekochte Fleisch- und Fischgerichte.
- In sechs Proben liess sich *C. perfringens* sowohl nach Anreicherung in BHIB als auch in SB nachweisen, in 14 Proben gelang der Nachweis nur nach Anreicherung in SB, in zwölf Proben nur nach Anreicherung in BHIB.
- Insgesamt wurden 78 *C. perfringens* Isolate aus 33 Lebensmittelproben auf das Vorhandensein des für die Spezies *C. perfringens* typische  $\alpha$ -Toxin codierenden *cpa*-Gens sowie auf das Vorkommen des für das Enterotoxin verantwortlichen *cpe*-Gens untersucht. Sämtliche Isolate, die sich mit den klassisch-kulturellen Methoden als *C. perfringens* erwiesen hatten, zeigten in der rtPCR das *cpa*-Gen und konnten somit molekularbiologisch als *C. perfringens* bestätigt werden. Keines der 78 Isolate jedoch besass das *cpe*-Gen und damit das Vermögen Enterotoxin zu bilden.

Tabelle 3: Häufigkeit des Vorkommens von *C. perfringens* und dessen Keimzahl in 160 Lebensmittelproben aus dem Handel

Anzahl und Art der untersuchten Proben	Anzahl <i>C. perfringens</i> -positive Proben (%)	Quantitative Bestimmung		Qualitativer Nachweis Zusätzliche Anzahl und Art <i>C. perfringens</i> -positive Proben
		Anzahl und Art <i>C. perfringens</i> -positive Proben (≥ 10 KbE/g)	Nachgewiesene Keimzahl (KbE/g)	
Fleisch (n=25)	3 (12%)	0	-	3 (rohes Hackfleisch gemischt, Mini-Spiessli Rind mariniert, Pouletflügel roh)
Gewürze/Kräuter (n=25)	10 (40%)	3 (Curry, Gewürzzubereitung, Lorbeerblätter)	2.0x10 <sup>1</sup> -1.9x10 <sup>5</sup>	7 (Pfeffer schwarz, Petersilie getrocknet, Petersilie frisch, Dill frisch, Basilikum frisch, Kresse frisch, Salatkräuter getrocknet)
Convenience Food (n=20)	1 (5%)	0	-	1 (Kartoffelsalat)
Gemüse/Obst (n=20)	4 (20%)	0	-	4 (Kopfsalat, Nüsslisalat genussfertig, Äpfel, Datteln frisch)
Milchprodukte (n=20)	5 (25%)	0	-	5 (Cottage Cheese Schnittlauch, Kräuter-Frischkäse, Nusskäse, Ananas-Frischkäse, Fruchtkäse)
Patisseriewaren (n=20)	5 (25%)	0	-	5 (Spitzbube, Schwedenbecher, Mini Chocolat-Baumstamm, Cheesecake Blueberry, Ministollen)
Fisch/Meeresfrüchte (n=15)	1 (7%)	0	-	1 (Meeresfrüchtesalat)
Saucen (n=15)	1 (7%)	0	-	1 (Pesto verde)
<b>Total: 160</b>	<b>30 (19%)</b>	<b>3 (1.9%)</b>		<b>27 (17%)</b>

Tabelle 4: Häufigkeit des Vorkommens von *C. perfringens* und dessen Keimzahl in 75 genussfertigen Lebensmittelproben aus Restaurationsbetrieben

Anzahl und Art der untersuchten Proben	Anzahl <i>C. perfringens</i> - positive Proben (%)	Quantitative Bestimmung		Qualitativer Nachweis Zusätzliche Anzahl und Art <i>C. perfringens</i> - positive Proben
		Anzahl und Art <i>C. perfringens</i> - positive Proben ( $\geq 10$ KbE/g)	Nachgewiesene Keimzahl (KbE/g)	
Gemüse vorgekocht (n=23)	0	0	-	0
Saucen/Suppen vorgekocht (n=10)	0	0	-	0
Süssspeisen (n=10)	0	0	-	0
Fleisch-/Fischgerichte vorgekocht (n=8)	2 (25%)	0	-	2 (Pouletfleisch erhitzt, Frikadelle erhitzt)
Reis vorgekocht (n=7)	0	0	-	0
Teigwaren vorgekocht (n=7)	0	0	-	0
Brüh-/Kochwurstware (n=7)	0	0	-	0
Salate und andere Kaltspeisen (n=3)	1 (33%)	0	-	1 (Quinoasalat)
<b>Total: 75</b>	<b>3 (4%)</b>	<b>0</b>		<b>3 (4%)</b>

### Massnahmen

Die Untersuchungen auf *C. perfringens* wurden nicht im Rahmen einer Vollzugstätigkeit durchgeführt. Die Proben sind daher nicht zu beanstanden und es sind keine Massnahmen zu treffen.

### Schlussfolgerungen

- Auch wenn je nach untersuchter Lebensmittelkategorie deutlich über ein Fünftel, zuweilen bis knapp die Hälfte der Lebensmittel mit *C. perfringens* belastet sein können, scheinen den für die Toxiinfektion verantwortlichen enterotoxinogenen Stämmen, die in keiner Probe nachgewiesen werden konnten, eine untergeordnete Bedeutung zu zukommen. Das gesundheitsgefährdende Potenzial von Lebensmitteln aus dem Handel und genussfertigen Lebensmitteln aus Restaurationsbetrieben in Bezug auf durch enterotoxinogene *C. perfringens* ausgelöste Lebensmittelvergiftungen ist eher als gering einzuschätzen.
- Mit einem Eintrag von *C. perfringens* in Lebensmittel ist aufgrund seiner weiten Verbreitung in der Umwelt, vor allem auch in Form von Sporen, zu rechnen. Genussfertige Lebensmittel aus Restaurationsbetrieben scheinen dabei deutlich seltener mit *C. perfringens* belastet zu sein als Lebensmittel aus dem Handel.
- Mehrheitlich kommt *C. perfringens* in Lebensmitteln in sehr tiefen Keimzahlen vor, welche die menschliche Gesundheit nicht gefährden. Sporadisch kann es, wie die Curryprobe mit einem Gehalt an *C. perfringens* von  $1.9 \times 10^5$  KbE/g zeigt, zu Überschreitungen des ehemals in der HyV genannten Grenzwerts für *C. perfringens* von  $10^4$  KbE/g für genussfertige Lebensmittel kommen. Gerade wenn es sich dabei um Gewürze handelt, ist jedoch zu beachten, dass diese nur spärlich zum Würzen eingesetzt und nicht in Mengen verzehrt werden.
- Mit einer Quote *C. perfringens*-positiver Proben von 40% weisen Gewürze und Kräuter eindeutig die höchste Kontaminationrate auf. Bedingt durch ihre Herkunft, können diese sehr oft mit sporenbildenden Bakterien belastet sein. Über das Würzen kann es so zum Eintrag von *C.*

*perfringens* in andere Lebensmittel, Produkte und Speisen kommen und damit zu einer Kontamination dieser. Dann ist es, insbesondere wenn es sich um genussfertige Lebensmittel handelt, wichtig, durch ein geeignetes Temperaturmanagement eine Vermehrung des Erregers zu verhindern, so dass die kritische Menge an vegetativen enterotoxinogenen *C. perfringens*-Zellen von ungefähr  $10^8$  KbE nicht erreicht wird und es zu keiner lebensmittelbedingten Toxiinfektion kommen kann. In diesem Zusammenhang gilt es das Warmhalten von Speisen über einen längeren Zeitraum bei zu tiefen Temperaturen von unter  $65^{\circ}\text{C}$ , das zu langsame Abkühlen auf Kühlschranktemperatur bzw. das nicht sachgerechte Kühl lagern von Lebensmitteln zu vermeiden. Diesem kommt insbesondere deswegen eine grosse Bedeutung zu, da ein Eintrag von *C. perfringens* in Lebensmittel auch ganz allgemein via Zutaten, Lebensmittel-Rohstoffe und -Ausgangsprodukte selbst bei einwandfreier küchenhygienischer Handhabung nicht ausgeschlossen werden kann.

- Um einen möglichst grossen Anteil der kontaminierten Produkte erfassen zu können, sollte für den qualitativen Nachweis von *C. perfringens* in Lebensmitteln auf keines der beiden Anreicherungsmedien BHIB und SB verzichtet werden.