

## Lebensmittelvergiftungen durch *Bacillus cereus*: Nachweis der Toxingene und des emetischen Toxins (Cereulid)

**B***acillus cereus* (*B. cereus*) ist eine in der natürlichen Umgebung weit verbreitete Bakterienart, die auch Lebensmittel kontaminieren kann. Im Falle hoher Keimzahlen ist es möglich, dass es nach dem Verzehr betroffener Lebensmittel zu Vergiftungen kommt. Diese sind die Folge von Enterotoxinen (Durchfall erzeugend) oder emetischen Toxinen (Erbrechen erzeugend), welche *B. cereus* ausbilden kann. Das Kantonale Laboratorium Basel-Stadt hat eine Methode etabliert, die sich zum Nachweis des emetischen Toxins aus Extrakten von *B. cereus*-Kulturen und Lebensmitteln eignet. Damit sind gezieltere Abklärungen von Lebensmittelvergiftungen mit Verdacht auf Beteiligung von *B. cereus* möglich.

### EINLEITUNG

*Bacillus cereus* (*B. cereus*) ist ein bekannter Erreger von Lebensmittelintoxikationen bzw. von Lebensmittel-Toxiinfektionen. Er ist im Erdboden weit verbreitet (ubiquitär) und als Sporenbildner resistent gegen Umwelteinflüsse. *Bacillus cereus* kann auf vielen pflanzlichen Produkten, und, zumindest in geringen Mengen, auch auf Rohstoffen tierischen Ursprungs nachgewiesen werden. Sein Eintrag in die Lebensmittelkette stellt dann ein Problem dar, wenn im Rahmen des weiteren Produktions- und Verarbeitungsprozesses keine Vorkehrungen getroffen werden, die ein Auskeimen der Sporen sowie eine Vermehrung und eventuelle Toxinbildung verhindern [1].

Nebst sporadischen Erkrankungen liessen sich in der Schweiz in den letzten Jahren immer wieder Ausbrüche nachweisen, die in ursächlichem Zusammenhang mit *B. cereus* standen [2]. *Bacillus cereus* kann beim Menschen zwei Formen einer gastrointestinalen Erkrankung induzieren, welche durch verschiedene Toxine ausgelöst werden. Die diarrhöische Form wird durch hitzelabile Enterotoxine verursacht, welche erst im Darm nach Verzehr *B. cereus*-belasteter Lebensmittel gebildet werden. Die entsprechenden Krankheitssymptome, wie Bauchkrämpfe und Durchfall, treten 6–15 Stunden nach Aufnahme des inkriminierten Lebensmittels auf. In solchen Fällen können im kontaminierten Lebensmittel hohe Keimzahlen von *B. cereus* und in Stuhl-

proben von Patienten mit kommerziell erhältlichen Testsystemen Enterotoxine nachgewiesen werden. Die emetische Erkrankung hingegen wird durch das hitzestabile und bereits im Lebensmittel ausgebildete Toxin «Cereulid» ausgelöst. Voraussetzung hierfür ist, dass nach entsprechender Vermehrung genügend Keime eines cereulidbildenden *B. cereus* Stammes im Lebensmittel vorliegen [3]. Bei dieser Voraussetzung kommt es bereits eine halbe bis sechs Stunden nach Verzehr zu Übelkeit und Erbrechen. Cereulid schädigt Mitochondrienmembranen und Leberzellen und wird als gesundheitlich sehr gefährlich eingestuft [3,4]. Häufig führen Fehler in der Zubereitung der Speisen, insbesondere Fehler im Temperaturmanagement, zu solch hohen Keimzahlen in ursprünglich nur mit geringen Mengen von *B. cereus* kontaminierter Rohware tierischen oder pflanzlichen Ursprungs [1]. Betroffen sind vor allem erhitzte bzw. vorgekochte Speisen, die nicht ausreichend gekühlt, bei zu tiefen Temperaturen warmgehalten oder zu lange bei Raumtemperatur stehen gelassen werden. In Folge solcher Fehler können allfällig vorhandene Sporen, die den Erhitzungsprozess überlebt haben, auskeimen und sich aufgrund fehlender bakterieller Konkurrenzflora nahezu ungehindert vermehren. Bei Keimzahlen von über  $10^5$  *B. cereus* Zellen pro Gramm Lebensmittel können Toxinmengen vorliegen, die gastrointestinale Symptome auslösen. Da vor allem vorgekochte Lebensmittel eine Ge-

fahr darstellen, besteht für diese Produktkategorie (sogenannte hitzebehandelte, kalt oder aufgewärmt genussfertige Lebensmittel) in der Schweizerischen Hygieneverordnung (HyV) ein Toleranzwert von 1000 koloniebildenden Einheiten (KbE) *B. cereus* pro Gramm Lebensmittel [5]. Der Nachweis von *B. cereus* erfolgt dabei gemäss der Norm EN/ISO 7932 «Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln – Horizontales Verfahren zur Zählung von präsumtiven *Bacillus cereus* – Koloniezählverfahren bei 30 °C».

In einer breit angelegten Studie der Lebensmittelkontrollbehörden der Nordwestschweiz waren hitzebehandelte, kalt oder aufgewärmt genussfertige Lebensmittel am häufigsten mit hohen Keimzahlen von *B. cereus* belastet. 17 von 1892 Proben (0,9 %) wiesen eine Keimzahl von mehr als  $10^4$  KbE *B. cereus* pro Gramm Lebensmittel auf [6]. Gemäss einer über fünf Jahre dauernden Untersuchung des Kantonalen Labors Basel-Stadt im Zeitraum 2008 bis 2012 kam es bei 0,5 % der analysierten vorgekochten Teigwaren (655 Proben) aus Restaurationsbetrieben zu Überschreitungen des Toleranzwertes für *B. cereus*. Bei vorgekochtem Reis (405 Proben) betrug die Beanstandungsquote 3 %, bei vorgekochtem Gemüse (992 Proben) 1,6 %, bei vorgekochten Suppen und Saucen (454 Proben) 1,3 % und bei vorgekochten Fleischgerichten und Fleischerzeugnissen (802 Proben) 0,2 % [7]. Auch wenn Überschreitungen des Toleranzwertes für *B. cereus* insgesamt selten sind, können Intoxikationen durch das emetische Toxin Cereulid schwere Vergiftungen, zum Teil mit Leberschäden, und vereinzelt sogar mit Todesfällen, bewirken [1].

In der Schweiz liegen bis anhin keine Studien vor, die über die Häufigkeit cereulidbildender *B. cereus* Stämme in Lebensmitteln Auskunft geben. Auch liegen keine Daten vor zur Häufigkeit von *B. cereus* Stämmen, welche für die Diarrhötoxine verantwortlichen Gene des Cytotoxins K1 (CytK1) bzw. der Enterotoxine Hämolyysin BL (Hbl) und des nicht-hämolytischen Enterotoxins (Nhe) beherbergen. Die vorliegenden Untersuchungen liefern dazu nun einen ersten Beitrag. Zur Abklärung von Lebensmittelvergiftungen

mit Verdacht auf *B. cereus*-Intoxikation ist eine geeignete Methode nötig, die nicht nur den Erreger bzw. dessen Toxingen (mit der Intoxikation im strengen Sinn steht nur das *ces*-Gen in Zusammenhang) nachweist, sondern mit Hilfe derer auch das verantwortliche Cereulid-Toxin im Lebensmittel nachgewiesen werden kann. Letzteres ist darum wichtig, weil ein Erhitzen emetische *B. cereus* im Lebensmittel reduzieren bzw. abtöten kann und es dann mit Hilfe der üblichen kulturellen Nachweismethoden nicht immer mehr möglich ist, den Erreger und damit die Ursache einer solchen Lebensmittelvergiftung aufzuspüren. Kommerziell erhältliche Testsysteme zum Nachweis von Cereulid sind nicht erhältlich. Bis anhin gelang der Nachweis nur indirekt mittels Zellkulturen oder Tierversuchen, beides wenig routineteugliche diagnostische Verfahren.

Ein Hauptziel der vorliegenden Arbeit war deshalb das Etablieren geeigneter Methoden zum molekularbiologischen Nachweis des Cereulid-Gens (*ces*) in *B. cereus* und zum direkten chemischen Nachweis des Cereulid-Toxins. Damit wurde bei *B. cereus* Stämmen aus Lebensmittelproben von Restaurationsbetrieben, die wegen Toleranzwertüberschreitungen beanstandet werden mussten, untersucht, ob und wie häufig potenzielle Cereulidbildner vorliegen und ob dabei das Toxin im Lebensmittel nachzuweisen ist. Gleichzeitig erlaubte es die Studie auch Daten zur Häufigkeit diarrhöischer *B. cereus* Stämme in Lebensmitteln zu gewinnen.

## MATERIAL UND METHODEN

### Referenzstämme

In sämtlichen Untersuchungen wurde routinemässig als Positivkontrolle der nachweislich cereulidbildende *B. cereus* Referenzstamm DSM 4312 (NCTC 11143, F 4810/72) mitgeführt. Als Negativkontrolle kam der nachweislich nicht emetische *B. cereus* Referenzstamm ATCC 11778 zum Einsatz.

### Molekularbiologischer Nachweis von Toxingenen

Der Nachweis des für Cereulidbildung verantwortlichen *ces*-Gens erfolgte in einem ersten Schritt mit-

tels Simplex real-time Polymerase-Kettenreaktion (PCR) in Anlehnung an die Methode von Fricker et al. [8]. In einem zweiten Schritt wurden die *B. cereus* Stämme in einer Multiplex real-time PCR auf das Vorhandensein der wichtigsten Diarrhö-Toxingene *nheA*, *hblD* und *cytK1* sowie des *ces*-Gens in Anlehnung an die Methode von Wehrle et al. untersucht [9].

### Chemischer Nachweis von Cereulid

Eine Methode zum Nachweis von Cereulid aus Lebensmitteln und Kulturextrakten mittels LC-MSMS wurde etabliert. Mit synthetisch hergestelltem Cereulid und einem Isotop-markierten internen Standard ( $^{13}\text{C}_6$ -Cereulid), konnte die Nachweismethode soweit verbessert werden, dass eine genaue und reproduzierbare quantitative Bestimmung von Cereulid bis in den Spurenbereich von 20 µg/kg möglich wurde. Die Extraktion von Cereulid aus Kulturisolaten erfolgte in Anlehnung an die Methode von Rau et al. [10]. Für die Extraktion von Cereulid direkt aus Lebensmitteln wurde ein Zweiphasen-Extraktionssystem mit Acetonitril und n-Heptan etabliert und für eine breite Auswahl an stärkereichen Lebensmitteln validiert. Mit dem Zweiphasen-Extraktionssystem liessen sich für Cereulid hohe Wiederfindungsraten (>95%) aus allen untersuchten Lebensmitteln erzielen.

### Untersuchung von Feldproben

Die Untersuchungen auf cereulidbildende *B. cereus* Stämme und Cereulid erfolgten von Oktober 2009 bis Dezember 2012 an 39 vorgekochten Lebensmitteln. Dabei handelte es sich um 12 Reisgerichte, 7 Teigwarengerichte, 15 Gemüsespeisen, 2 Fleischgerichte sowie je eine Süssspeise, eine Eierspeise und ein Milchprodukt. 26 dieser Lebensmittelproben wurden im Rahmen von Routine-Betriebshygienekontrollen in Restaurationsbetrieben erhoben und 13 wurden aus anderen Kantonen zur Untersuchung eingesandt. Dabei handelte es sich um Lebensmittel, die den in der HyV für hitzebehandelte, kalt oder aufgewärmt genussfertige Lebensmittel festgelegten Toleranzwert für *B. cereus* von 1000 KbE pro

Gramm Lebensmittel überschritten hatten. In Extrakten dieser Lebensmittel wurde der Cereulidnachweis mittels LC-MSMS durchgeführt. Zur Prüfung des Cereulidbildungsvermögens wurden pro Lebensmittel mehrere (wenn möglich fünf) *B. cereus* Isolate reingezüchtet und sowohl auf das Vorhandensein des *ces*-Gens und weiterer Diarrhö-Toxingene untersucht als auch einer Cereulidextraktion unterzogen mit anschliessendem Nachweis mittels LC-MSMS.

## RESULTATE UND DISKUSSION

Wie Tabelle 1 zeigt, wurden in 39 untersuchten vorgekochten Lebensmitteln mit Toleranzwertüberschreitungen für *B. cereus* Keimzahlen zwischen  $1,1 \times 10^3$  und  $1,7 \times 10^6$  KbE pro Gramm festgestellt. Insgesamt wurden 158 *B. cereus* Isolate aus 33 Lebensmitteln gewonnen und auf das Vorhandensein des *ces*-Gens untersucht. 141 Isolate stammten aus 26 durch das Kantonale Labor Basel-Stadt amtlich erhobenen Lebensmittelproben und 17 Isolate aus 7 Lebensmittelproben anderer Kantone.

Wie in Tabelle 1 dargelegt, wurde in 29 von 158 (18%) *B. cereus* Stämmen, die aus 7 der 33 (21%) Lebensmitteln isoliert wurden, das *ces*-Gen nachgewiesen. Aus diesen Isolaten konnten zwischen 8 und 271 µg Cereulid pro Gramm Zellmaterial (Nassgewicht) extrahiert werden (Abbildungen 1 und 2). Damit bildeten sämtliche Isolate, die das *ces*-Gen beherbergten, das emetische Toxin unter optimalen Kulturbedingungen. In den 7 kontaminierten Lebensmitteln selber liess sich jedoch kein Cereulid nachweisen. Dabei handelte es sich um je 2 Proben von Reis und Teigwaren sowie um je eine Probe von Spargelsuppe, Bohnenmousse und Champignons. Isolate, die aufgrund der Abwesenheit des *ces*-Gens über kein Cereulidbildungsvermögen verfügten, zeigten auch unter optimalen Kulturbedingungen keine Cereulidproduktion und auch in den entsprechenden Lebensmitteln war kein emetisches Toxin nachweisbar.

61 von 158 *B. cereus* Isolaten, die aus 12 Lebensmitteln stammten, wurden zusätzlich mittels Multiplex real-time PCR auf das Vorhanden-

Tabelle 1  
**Vorkommen von cereulidbildenden *B. cereus* Stämmen und Cereulid in 39 Lebensmitteln, Oktober 2009 bis Dezember 2012**

Lebensmittel	<i>B. cereus</i>	<i>ces</i> -Gen*		Cereulid im Isolat** (µg/g)	Cereulid im Lebensmittel (µg/kg)
	KbE/g	n	+		
Reis	7,0 × 10 <sup>3</sup>	5	0	n.n.	n.b.
Wirz	1,2 × 10 <sup>3</sup>	5	0	n.n.	n.b.
Erbsenpüree	1,1 × 10 <sup>3</sup>	5	0	n.n.	n.b.
Spargelsuppe	1,7 × 10 <sup>6</sup>	5	5	9,20	n.n.
Reis	2,8 × 10 <sup>4</sup>	4	4	18,4	n.n.
Lammkopf für Suppe	5,3 × 10 <sup>3</sup>	5	0	n.n.	n.b.
Risotto-Funghi	7,4 × 10 <sup>3</sup>	5	0	n.n.	n.b.
Püree	4,7 × 10 <sup>5</sup>	5	0	n.n.	n.b.
Reis	9,9 × 10 <sup>3</sup>	5	5	56,5	n.n.
Nudeln	2,5 × 10 <sup>3</sup>	4	0	n.n.	n.b.
Spargeln weiss	1,7 × 10 <sup>4</sup>	5	0	n.n.	n.b.
Risotto	7,5 × 10 <sup>3</sup>	5	0	n.n.	n.b.
Schupfnudelnpfanne	1,7 × 10 <sup>3</sup>	5	3	91,0	n.n.
Reis	1,5 × 10 <sup>3</sup>	5	0	n.n.	n.n.
Gemüsesuppe	> 1,0 × 10 <sup>4</sup>	5	0	n.n.	n.n.
Tomatensauce	2,4 × 10 <sup>3</sup>	5	0	n.n.	n.n.
Gefüllte Omeletten	3,2 × 10 <sup>3</sup>	5	0	n.n.	n.n.
Spätzli	2,0 × 10 <sup>4</sup>	n.b.	n.b.	n.b.	n.n.
Rosenkohl	4,6 × 10 <sup>4</sup>	n.b.	n.b.	n.b.	n.n.
Risotto	5,9 × 10 <sup>3</sup>	n.b.	n.b.	n.b.	n.n.
Spätzli	3,0 × 10 <sup>3</sup>	n.b.	n.b.	n.b.	n.n.
Couscous	2,3 × 10 <sup>4</sup>	4	0	n.b.	n.n.
Curryreis	1,6 × 10 <sup>3</sup>	7	0	n.b.	n.n.
Bohnenmousse	5,0 × 10 <sup>4</sup>	10	10	8,00	n.n.
Nudeln	7,6 × 10 <sup>3</sup>	10	1	70,4	n.n.
Weisswurst Münchner Art	1,9 × 10 <sup>3</sup>	5	0	n.n.	n.n.
Gemüsemischung	1,1 × 10 <sup>3</sup>	5	0	n.n.	n.b.
Kantonesischer Reis	6,4 × 10 <sup>4</sup>	5	0	n.b.	n.b.
Mischgemüse	1,2 × 10 <sup>3</sup>	5	0	n.b.	n.n.
Panna cotta	1,3 × 10 <sup>3</sup>	7	0	n.b.	n.n.
Champignons geschnitten	1,4 × 10 <sup>4</sup>	1	1	271	n.n.
Reis	1,9 × 10 <sup>3</sup>	5	0	n.b.	n.n.
Karotten	1,5 × 10 <sup>3</sup>	5	0	n.b.	n.n.
Spargeln	–	1	0	n.b.	n.n.
UHT-Milch	1,5 × 10 <sup>5</sup>	2	0	n.b.	n.n.
Tortellini mit Fleischfüllung	6,9 × 10 <sup>4</sup>	2	0	n.b.	n.b.
Reis	1,6 × 10 <sup>4</sup>	1	0	n.b.	n.n.
Reis	9,1 × 10 <sup>3</sup>	n.b.	n.b.	n.b.	n.n.
Spaghetti	7,3 × 10 <sup>3</sup>	n.b.	n.b.	n.b.	n.n.

\* mittels Simplex real-time PCR geprüft; \*\*Durchschnittswerte der jeweiligen Anzahl *ces*-Gen positiver Isolate;  
n: Anzahl getestete Isolate; +: Anzahl Isolate mit positivem Gennachweis; n.b.: nicht bestimmt  
(Isolate bzw. Lebensmittel nicht vorhanden); n.n.: nicht nachweisbar

Abbildung 1  
**Chromatogramm von Cereulid, extrahiert aus einem *B. cereus* Isolat einer Reisprobe**

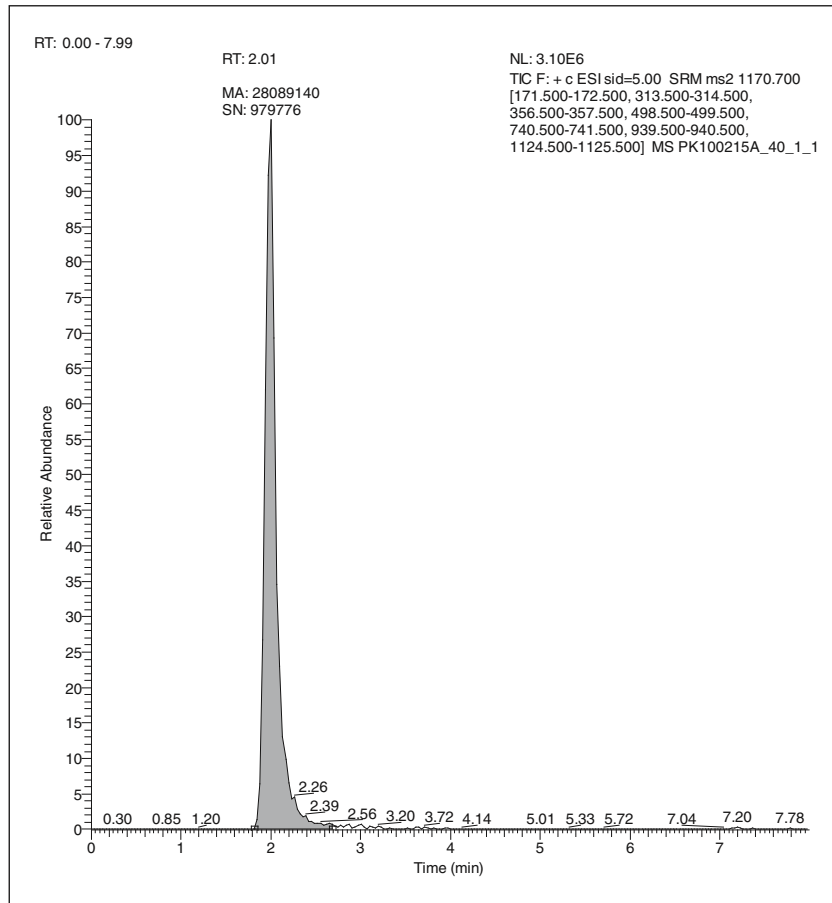
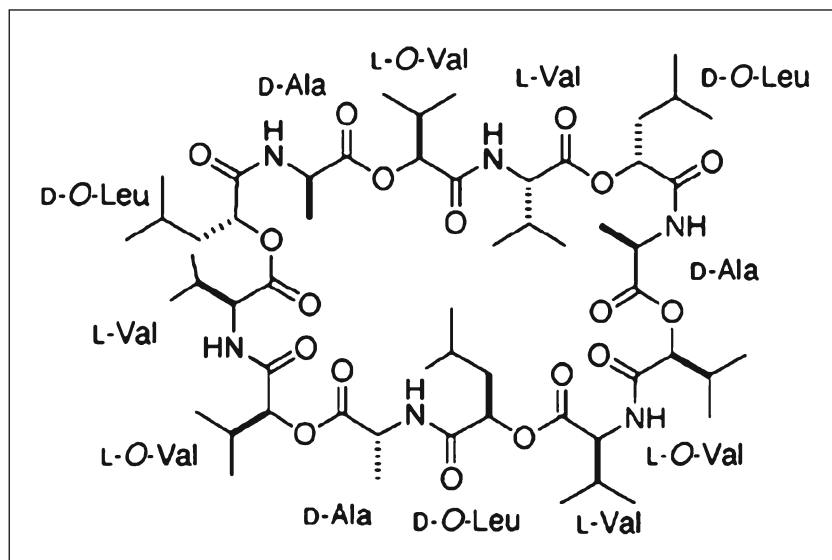


Abbildung 2  
**Chemische Struktur von Cereulid**



sein des *ces*-Gens untersucht. Dabei hatte die Multiplex-Methode den Vorteil, zugleich auch drei Diarrhö-Toxingene erfassen zu können. Wie Tabelle 2 zeigt, wiesen beide PCR-Methoden bezüglich Nachweis des *ces*-Gens übereinstimmende Ergebnisse auf. In 4 von insgesamt 61 Isolaten (6,6%), die aus einer Probe Couscous stammten, konnte das äusserst seltene *cytK1*-Gen nachgewiesen werden, in 57 Isolaten (93%) das *nheA*-Gen und in 40 Isolaten (66%) das *hblD*-Gen. Sowohl das in 12 Isolaten nachgewiesene *ces*-Gen als auch das *hblD*-Gen traten dabei stets gemeinsam mit dem *nheA*-Gen auf.

Vorgekochte Speisen aus Restaurantsbetrieben in der Schweiz überschreiten relativ selten den Toleranzwert für *B. cereus*. Etwa aus jedem fünften dieser Lebensmittel liessen sich *B. cereus* Stämme isolieren, die über das Vermögen verfügen, das emetische Toxin Cereulid zu bilden und die als obligat pathogen zu betrachten sind [9]. Betroffen waren dabei sowohl stärkehaltige Lebensmittel als auch Gemüsegerichte. Dabei können emetische Stämme zusammen mit nicht emetischen Isolaten in der gleichen Probe vorkommen bzw. zusätzlich zum *ces*-Gen noch die für Durchfalltoxine verantwortlichen Gene tragen. Auch wenn die emetischen *B. cereus* Stämme das Toxin unter optimalen Kulturbedingungen bilden, scheint die Produktion von Cereulid im Lebensmittel selbst von mehreren Faktoren abzuhängen und eher selten zu sein. In der Regel ist ab einem *B. cereus* Gehalt von  $10^5$ – $10^6$  KbE pro Gramm Lebensmittel damit zu rechnen, dass genügend Toxin vorliegt, um eine Erkrankung beim Menschen auszulösen [5]. Unsere Resultate zeigten, dass sogar in Lebensmitteln, die mit mehr als  $1 \times 10^6$  KbE emetischen *B. cereus* pro Gramm kontaminiert sind, kein Cereulid nachweisbar war. Die kontaminierten Lebensmittel wurden nach ihrer Zubereitung vermutlich zu kühl aufbewahrt, um optimale Bedingungen für eine Cereulid-Produktion, die bevorzugt bei 25–30°C (Minimum 15°C und Maximum 43°C) stattfindet, zu gewährleisten. Die Sauerstoffverfügbarkeit, welche von der Beschaffenheit des kontaminierten Lebensmit-

Tabelle 2  
**Vorkommen von Toxingenen in 61 aus Lebensmitteln isolierten *B. cereus* Stämmen**

Lebensmittel	<i>B. cereus</i> Isolate	Isolate mit positivem Gennachweis				
		Multiplex rt-PCR				Simplex rt-PCR <i>ces</i> -Gen
		<i>nheA</i> -Gen	<i>ces</i> -Gen	<i>cytK1</i> -Gen	<i>hbID</i> -Gen	
Nudeln	10	10	1	0	9	1
Gemüsemischung	5	5	0	0	5	0
Kantonesischer Reis	5	5	0	0	5	0
Champignons geschnitten	1	1	1	0	0	1
Couscous	4	0	0	4	0	0
Reis	5	5	0	0	2	0
Karotten	5	5	0	0	5	0
Mischgemüse	5	5	0	0	3	0
Panna cotta	7	7	0	0	7	0
UHT-Milch	2	2	0	0	2	0
Tortellini mit Fleischfüllung	2	2	0	0	2	0
Bohnenmousse	10	10	10	0	0	10

tels abhängt, ist ein weiterer Faktor, der die Bildung und Verteilung von Cereulid in einem Lebensmittel massgeblich beeinflusst [11].

Eine ähnliche Häufigkeit emetischer Stämme fanden auch Wehrle et al. [9], die in nur 49 von 325 (15 %) getesteten *B. cereus* Isolaten das *ces*-Gen nachwies. Sehr viel häufiger, nämlich in 99 % der Stämme, war das Gen für das nicht-hämolytische Enterotoxin NheA vorhanden. In den eigenen Untersuchungen gelang dieser Nachweis bei 93 % der *B. cereus* Isolate. Das für das Enterotoxin Hämolsin BL verantwortliche Gen *hbID* konnte in 65 % der *B. cereus* Stämme aufgezeigt werden. Diese Häufigkeit liegt in der Grössenordnung mit der in einer vorgängigen Studie gefundenen Positivrate von 55 % [9].

Weitaus häufiger als emetische lassen sich offenbar diarrhöische *B. cereus* Stämme aus Lebensmitteln isolieren. So zeigten die eigenen Untersuchungen, dass in 11 (92 %) bzw. in 9 (75 %) von 12 untersuchten Lebensmitteln *B. cereus* Stämme vorkamen, die über das Vermögen verfügten, nicht-hämolytisches Enterotoxin bzw. Enterotoxin Hämolsin BL zu bilden. Gemäss Fachliteratur ist der Nachweis dieser Enterotoxingene ein Hinweis für das enteropathogene Potenzial des betreffenden Isolates, korreliert

jedoch nicht zwingend mit der Enterotoxizität [9]. Sowohl nicht-hämolytisches Enterotoxin als auch Enterotoxin Hämolsin BL werden als Hauptvirulenzfaktoren betrachtet, doch weitere Parameter, insbesondere die mit dem Lebensmittel aufgenommene Anzahl an *B. cereus* Zellen bzw. Sporen, spielen eine Rolle für das Auftreten klinischer Symptome. Wehrle et al. [9] fanden bei den durch sie untersuchten *B. cereus* Stämmen vier Toxingenprofile, nämlich die Kombination *nheA*-Gen mit *hbID*-Gen, *nheA*-Gen mit *ces*-Gen, *nheA*-Gen alleine und *cytK1*-Gen. Gemäss diesen Autoren sind bisher nur drei solcher *cytK1*-Gen-beherbergenden *B. cereus* Stämme beschrieben worden. Ganz ähnlich präsentierten sich die Profile in den eigenen Untersuchungen. Emetische Stämme enthielten stets zusätzlich das *nheA*-Gen, Isolate, die das *hbID*-Gen beherbergten ebenso. Fünf *B. cereus* Stämme trugen lediglich das *nheA*-Gen, vier nur das *cytK1*-Gen.

### AUSBLICK

In Folge der durchgeführten Arbeiten stehen der Lebensmittelkontrolle in der Schweiz nun zwei real-time-PCR-Methoden zum Nachweis des *ces*-Gens in *B. cereus* Isolaten zur Verfügung, wobei eines der beiden

Verfahren gleichzeitig auch die für die Durchfalltoxine wichtigsten Gene *nheA*, *hbID* und *cytK1* aufzeigen kann. Die eingesetzte LC-MSMS-Methode erlaubt einen direkten Nachweis mit Quantifizierung von  $\geq 20 \mu\text{g/kg}$  Cereulid in verschiedenen Lebensmitteln unter Routinebedingungen. Dieses Verfahren hat den Vorteil, dass der direkte Nachweis von Cereulid in mit *B. cereus* kontaminierten Lebensmitteln auch nach dem Absterben der Erreger möglich ist. Damit lassen sich Verdachtsfälle von *B. cereus*-Lebensmittelintoxikationen bzw. -toxiinfektionen innerhalb weniger Stunden abklären, auch wenn der Erreger selbst nicht mehr im Lebensmittel vorhanden ist. Die vorgestellte molekularbiologische und chemische Analytik bietet das Kantonale Labor Basel-Stadt seit Oktober 2011 den kantonalen Lebensmittelkontrollbehörden der Schweiz (Kantonale Laboratorien) und allen anderen im öffentlichen Dienst stehenden Gesundheitsbehörden an. ■

### Mitgeteilt durch

M. Erbs und S. Gautsch  
 Kantonales Laboratorium Basel-Stadt

### Kontakt

A. Baumgartner  
 Bundesamt für Gesundheit  
 Abteilung Lebensmittelsicherheit  
 Telefon 031 322 95 82

**Literatur**

1. Baumgart, J., Becker, B., Stephan, R.: Mikrobiologische Untersuchung von Lebensmitteln (Kap. III 2.2.6.), Behr's Verlag, 2012.
2. Schmid, H., A. Baumgartner. 2012. Lebensmittelbedingte Grunderkrankungen in der Schweiz. Bundesamt für Gesundheit [www.bag.admin.ch/themen/lebensmittel/04861/index.html?lang=de](http://www.bag.admin.ch/themen/lebensmittel/04861/index.html?lang=de).
3. Notermans, S., Batt, C.A.: A risk assessment approach for food-borne *Bacillus cereus* and its toxins. Journal of Applied Microbiology Symposium Supplement 84, 51 S–61 S (1998).
4. Mikkola, R., Saris, N.E.L., Grigoriev, P.A., Andersson, M.A., Salkinoja-Salonen, M.S.: Ionophoretic properties and mitochondrial effects of cereulide. European Journal of Biochemistry 263, 112–117 (1999).
5. Baumgartner, A. 2008. Gruppenerkrankungen (Ausbrüche) mit mikrobiell kontaminierten Lebensmitteln in der Schweiz, 1994–2006. Bulletin Bundesamt für Gesundheit Nr. 32: 562–68.
6. Jahresbericht Kantonales Laboratorium Basel-Stadt 2006 [www.kantonslabor-bs.ch/kl/infos.cfm](http://www.kantonslabor-bs.ch/kl/infos.cfm).
7. Jahresbericht Kantonales Laboratorium Basel-Stadt 2012 [www.kantonslabor-bs.ch/kl/infos.cfm](http://www.kantonslabor-bs.ch/kl/infos.cfm).
8. Fricker, M., Messelhäusser, U., Busch, U., Scherer, S., Ehling-Schulz, M.: Diagnostic Real-Time PCR Assays for the Detection of Emetic *Bacillus cereus* Strains in Foods and Recent Food-Borne Outbreaks. Applied and Environmental Microbiology, 73/6, 1892–1898, (2007).
9. Wehrle, E., Didier, A., Moravek, M., Dietrich, R., Märtlbauer, E.: Detection of *Bacillus cereus* with enteropathogenic potential by multiplex real-time PCR based on SYBR green I. Molecular and Cellular Probes, 24, 124–130, (2010).
10. Rau, J., Perz, R., Klittich, G., Contzen, M.: Cereulidbildende präsumtive *Bacillus cereus* aus Lebensmitteln – Differenzierende Untersuchungen mittels kultureller Methoden, LC-MSMS, PCR und Infrarotspektroskopie unter Berücksichtigung thermotoleranter Vertreter. Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift 122, Heft 1/2, 25–36 (2009).
11. Jääskeläinen, E.L., Säggblom, M.M., Andersson, M.A., Salkinoja-Salonen, M.S.: Atmospheric oxygen and other conditions affecting the production of cereulide by *Bacillus cereus* in food. International Journal of Food Microbiology 96, 75–83 (2004).