

Zum Nachweis von Salmonellen in Eiprodukten und anderen Lebensmitteln

Autor(en): **Emmenegger, T. / Müller, R.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **50 (1959)**

Heft 3

PDF erstellt am: **22.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-983419>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Zum Nachweis von Salmonellen in Eiprodukten und anderen Lebensmitteln

Von T. Emmenegger

(Mitteilung aus dem kantonalen Laboratorium Basel, Vorstand: Dr. R. Müller)

Allgemeine Gesichtspunkte

Die nach dem Entdecker Salmon benannten Keime der Typhus-Paratyphus-Enteritis-Gruppe (Salmonellen- oder T.P.E.-Gruppe) sind vor allem Krankheitserreger des Menschen und der Haustiere. Da bekanntlich nach einer Paratyphus-Epidemie ein Teil der Erkrankten jahrlang, oft sogar lebenslänglich, Bakterienträger (Dauerausscheider) bleibt, diese latent infizierten Personen nach überstandener Krankheit sich bester Gesundheit erfreuen können und daher keine Ahnung haben, dass sie Träger und Ausscheider dieser pathogenen Organismen sind, gewinnt der schnelle und sichere Nachweis obgenannter Bakterien an Bedeutung.

Die Uebertragung von Salmonellen auf den Menschen durch Milch und Milchprodukte kann nach Kästli¹¹⁾ nur vom infizierten Menschen stammen.

Die Möglichkeit einer Infektion durch Salmonellen aus dem Wasser scheint nach Steiniger¹²⁾ erst gegeben zu sein, wenn ein gewisser Schwellenwert an Typhus- oder Paratyphus-Bakterien überschritten wird. Diese Tatsache gilt nach Kästli¹¹⁾ auch für die Krankheitsanfälligkeit durch infizierte Milchprodukte für *Brucella abortus* Bang.

Salmonellen halten sich nach Steiniger¹²⁾ im Wasser nicht nur am Leben, sondern können sich bei Anwesenheit von Eiweisstoffen mit Tyrosin- und Tryptophanringkörper vermehren. Gefrieren schädigt Salmonellen nicht, im Gegenteil vermehren sie sich in feuchten Eisschränken schnell und verderben Lebensmittel (fauliger Geruch und Geschmack).

Untersuchungen über die Thermostabilität der Paratyphus-Enteritis-Erreger und ihrer Toxine wurden von Reuter²²⁾ beschrieben. Danach tötete eine 80 Minuten lange auf 70° C, eine 20 Minuten lange auf 75° C und eine wenige Augenblicke auf 80° C-Erhitzung 35 untersuchte Paratyphus-Enteritis-Stämme ab (21 Breslau-, 10 Gärtner-, 2 Newport-Stämme, 1 Suipestifer- und 1 Schottmüller-Stamm). Durch 2stündiges Kochen oder durch 10stündige Erhitzung auf 75° C verloren die 35-Versuchsstämme jede im Tierversuch oder im menschlichen Genussversuch nachweisbare toxische Wirkung.

In der ganzen Schweiz wird seit 1957 gemäss Kreisschreiben des Eidg. Gesundheitsamtes vom 11. Juli und 12. November 1957 (s. auch Mitteilung des Kantonschemikers Basel-Stadt¹⁷⁾) von Eierimporteuren gefordert, dass bakteriell verunreinigte Eikonserven zur Kaltpräparation nicht benützt werden und nur mit folgender Kennzeichnung in den Verkehr gelangen dürfen: «Nur für Lebens-

mittel zu verwenden, welche vor dem Konsum gut durchgebacken oder durchgekocht werden (mindestens 80° C)».

Hie und da stellten wir bei garantiert pasteurisierten Eikonserven, die zur Untersuchung an unser Laboratorium eingesandt wurden, eine hohe Keimzahl und das Vorhandensein von *Escherichia coli* fest, niemals aber die Anwesenheit von Salmonellen. Bei der Herstellung von Eikonserven ist es vor allem wichtig, dass die betreffende Ware an Ort und Stelle pasteurisiert wird, d.h. die Entstehung von Toxinen verhindert wird, bevor das Produkt den Weg zum Verbraucher antritt.

Nach einer Mitteilung von P.D. Dr. *H. Fey*, Vet.-bakt. Institut der Universität Zürich (heute Professor und Vorsteher des Vet.-bakt. Instituts Bern, ab Jan. 1959 Leiter der Schweiz. Salmonella-Zentrale) sind die Endotoxine der Salmonellen thermostabil. O-Antigene (= Körper Antigene) ertragen 3stündiges Erhitzen von 100° C. Vi (Virulenz)- und H (Geißel)-Antigene sind thermolabil. Pasteurisation zerstört Salmonella-Bakterien, die O-Antigene und die Endotoxine aber bleiben erhalten.

Die Lebensfähigkeit von Salmonellen kann nach *Mitscherlich*¹⁸⁾ und *Bergner*²⁸⁾ in Kot bis 2 Jahre, in Jauche bis 90 Tage, in Wasser 32 Tage, in getrocknetem Klärschlamm 180 Tage betragen. Nach *Broek* und *Mom*¹⁹⁾ ist ein Fall eines Paratyphusträgers beschrieben worden, der pro Gramm Fäkalien mindestens 450 Millionen *S. Schottmüller*-Bakterien abschied.

In stark verunreinigtem Wasser mit hoher Sauerstoffzehrung, ferner mit dem Auftreten von Bacteriophagen und gewissen Ciliaten, gehen Salmonellen nach einiger Zeit zugrunde.

Sumpf- und Wasservögel, insbesondere Möwen, Enten, ferner Schweine, Fische u.a. sind oft Träger von *S. typhi murium* (Breslau), *S. enteritidis* (Gärtner) und *S. paratyphi B* (Schottmüller).

Die im Februar 1956 im Sanatorium St. Anna in Luzern aufgetretene Epidemie vom Typus *S. typhi murium* und neuerdings im Juni/Juli 1958 in Basel epidemisch aufgetretenen bakteriellen Lebensmittelvergiftungen vom Typus *S. paratyphus B* (Schottmüller) haben deutlich gezeigt, dass immer mit einem sporadischen Auftreten von Salmonellen-Infektionen zu rechnen ist.

Von den 311 Salmonella-Typen, deren biochemisches Verhalten von *Kauffmann*¹⁴⁾ im Standard-Werk der Enterobacteriaceae beschrieben wird, sind nach Prof. Dr. *H. Fey* sämtliche für den Menschen kontagiös und können septikämische, z.T. gastro-enteritische Erkrankungen hervorrufen.

Die wichtigsten Paratyphus-Enteritis-Erkrankungen des Menschen werden nach *Kolle-Hetsch*⁵⁾, *Müller*⁶⁾ und *Hallmann*¹⁾ durch folgende Salmonellen erzeugt:

Paratyphus A-Bakterien: *S. paratyphi A*; sie sind vor allem in den Tropen, Ost- und Kleinasien heimisch.

Paratyphus B-Bakterien: *S. paratyphi B* (*S. Schottmülleri*),

S. typhi murium (Typ Breslau) sind die wichtigsten Vertreter der Lebensmittel- und Wasservergiftungen. Die Uebertragung erfolgt hauptsächlich durch Kontaktinfektion (sog. Schmierinfektion) oder durch infizierte Nahrungsmittel, wie z.B. Milch, Wasser, Gemüse, Obst, infizierte Enteneier, Austern usw. Sie verursachen hauptsächlich Gruppen- oder Massenerkrankungen. Die Inkubationszeit beträgt nur wenige Stunden. Die Letalität beträgt: 1 bis 4 %. Viele Enteritisbazillen sind bei Tieren, insbesondere bei Rindern, Schweinen, Enten und anderem Geflügel als Erreger sporadischer oder seuchenhaft auftretender Infektionen festgestellt worden.

Paratyphus C-Bakterien: *S. paratyphi C* sind Vertreter typhöser Fieber.

Der Typus *S. cholerae suis* (Suipestifer) wurde in Amerika bei der Schweinepest nachgewiesen und kann als Erreger gastro-enteritischer und paratyphöser Erkrankungen beim Menschen angetroffen werden.

S. thompson, *S. oranienburg*, *S. montevideo* u.a. kommen gelegentlich in Ei-Produkten vor, z.B. in aus China und den USA importiertem Hühnereiweiss. *Demeter*²¹⁾ erwähnt von ihm beobachtete Nahrungsmittelvergiftungen durch *S. cholerae suis* nach Gebrauch von importiertem chinesischem Eigelb.

Bakterielle Lebensmittelvergiftungen

Hierher gehören vorwiegend Erreger, die fähig sind, beim Menschen Infektionen oder Intoxikationen herbeizuführen besonders im Zusammenhang mit dem Genuss von Lebensmitteln.

a) *Gruppe der Enteritis-Gärtner-Bakterien:* durch sie werden 20 bis 30 % der bakteriellen Lebensmittelvergiftungen verursacht. Infiziert sind meistens Schlachthausprodukte. Die häufigsten Vertreter sind: *S. typhi murium* (Breslau) 50 bis 70 % und *S. enteritis* (Gärtner) 20 bis 30 %. Sie wirken zunächst durch die Ausscheidung der Toxine in die betreffenden Speisen, ausserdem durch das Vorhandensein lebender Bakterien. Massenerkrankungen durch roh genossenes Hackfleisch und Milchepidemien treten nicht selten auf. Enteneier können *S. typhi murium* und *S. enteritis* enthalten und rufen die typischen Entenei-Infektionen hervor nach Genuss roher oder ungenügend erhitzter Enteneier, z.B. als Mayonnaise in Kartoffelsalat. Nach einer kurzen Inkubationszeit von 2 bis 16 Stunden rufen sie heftig auftretende gastroenteritische Erkrankungen hervor.

b) Lebensmittel können ferner von Botulinus-, Typhus-, Cholera-, Ruhr- und Bang-Bakterien befallen sein.

Die Häufigkeit des Auftretens von Paratyphus-Enteritis-Bakterien bei Tieren

Folgende Tiere können nach *Dräger*⁴⁾ mit Enteritis-Bakterien befallen sein:

Tabelle 1

	Pferd	Rind	Kalb	Schwein	Schaf	Ente	Taube	Summe
	%	%	%	%	%	%	%	%
Gärtner Breslau	0,6	15,0	48,6	1,0	0,4			65,6
Paratyphus B	2,3	10,4	5,8	2,0	0,2	0,6	0,3	21,6
Abortus equi		0,3						0,3
Suipestifer	2,4			4,2				2,4
								4,2

Lebensmittelschädigungen durch *S. typhi murium* (Breslau) sind nach Verzehren von Enteneiern in Deutschland häufig vorgekommen. So dürfen nun z.B. in Deutschland nach behördlicher Anordnung und Verfügung²³⁾ seit 1954 zum menschlichen Genuss bestimmte Enteneier nur dann zum Verkauf vorrätig gehalten, verkauft oder in den Verkehr gebracht werden, wenn sie die deutlich lesbare Aufschrift tragen: *Entenei!*, vor Gebrauch mindestens 10 Minuten kochen oder in Backofenhitze durchbacken! Die eidg. Lebensmittelverordnung verlangt seit 1946, dass Behälter, in welchen Enteneier zum Verkauf gelangen, die Aufschrift «Enteneier, nur gut gekocht zu geniessen» tragen müssen.

Enteneier sollen zur Verhütung von Gesundheitsschädigungen nicht roh oder weichgekocht verzehrt und nicht zur Herstellung von Puddings, Mayonnaise, Rührei, Pfannkuchen, Torten, Crème, Speiseeis und ähnlichen Zubereitungen verwendet werden, bei deren Herstellung nicht eine die ganze Masse durchdringende Erhitzung auf mindestens 100° C während mindestens 10 Minuten lang gewährleistet ist.

*Zeman*²⁴⁾ berichtet von einer Paratyphus C-Infektion in Ludwigsburg (1947) nach dem Genuss von Rühreiern, die aus Trockeneipulver zubereitet wurden. Die Salmonellen entstammten dem Hühnerkot. 45 Personen wurden von einer Gastroenteritis befallen.

Wichtig erscheint der Hinweis, dass Trockeneispeisen, die sofort nach dem Anrühren mit Wasser gekocht oder gebraten werden, praktisch frei von Salmonellen oder deren Toxinen sind. Ueber das Eindringen von pathogenen Bakterien in das Hühnerei durch die Eischale liegen zahlreiche Abhandlungen vor. Hier werden kurz die Befunde von *Lange*²⁵⁾, *Grossfeld*²⁰⁾ und *Sachs-Mücke*²⁶⁾ beschrieben.

Das Eindringen der Keime in das Ei geschieht entweder vor der Ausbildung der Eischale durch den Eileiter bei der Begattung oder nachträglich durch die Poren der Kalkschale des gelegten Eies. Als Hauptinfektionsweg gilt die Keimdurchlässigkeit der Eischale. Alte Eier werden von Bakterien und Pilzen leichter und schneller befallen als ganz frische, deren Schalen gegen das Eindringen von Fremdkeimen ausserordentlich widerstandsfähig sind. Das Eiweiss frischer Eier erweist sich als stark keimtötend, während Dotter ein günstiger Nährboden ist. Bei länger gelagerten Eiern ändert sich jedoch die Bactericidie des Eiweisses.

Eier, die mit Hühnerkot verschmutzt sind, bedeuten eine grosse Infektionsgefahr. Ein Teil der Keime findet bald den Weg durch die Poren der Eischale. Die Lagerfähigkeit der Eier, also ihr Widerstand gegen Infektion, ist in hohem Masse eine individuelle Eigenschaft der einzelnen Henne. Mit dem Alter der Henne nimmt die Schutzwirkung des Hühnereiweisses ab, d.h. die Zahl der infizierten Eier zu. Coli-, Typhus-, Paratyphus B-, Gärtner- und Botulinus-Bakterien besaßen nach *Lange* ²⁵⁾ die Fähigkeit, die intakte Eiwand eines Hühnereies zu durchdringen und gelangten bis in das Eigelb hinein. Eine Temperatur von 100° C vermag obgenannte Bakterien (mit Ausnahme des *Bac. botulinus*) erst nach 8 Minuten im Eigelb abzutöten.

Besonders gross ist die Infektionsgefahr durch pathogene Keime bei Enteneiern, wenn die Enten mit infiziertem Teichwasser in Berührung kommen. Beim Begattungsakt der Enten auf verschmutztem Wasser können leicht pathogene Keime in den Eileiter und damit in das Ei selbst gelangen.

Eigene Untersuchungen

Im kantonalen Laboratorium Basel-Stadt wurden im Zeitraum von etwa 1½ Jahren folgende, uns von privater Seite oder von Zollämtern zur bakteriologischen Untersuchung eingesandte Eiprodukte auf das Vorhandensein von *E. coli* und Salmonellen untersucht:

Tabelle 2

Eingesandte Proben	Herkunftsland
Trockeneiklar in Kristallen	Holland, Japan, USA, China
Gefriervollei	Argentinien, Polen, Kanada
Hühnereigelb, gefroren	Frankreich
Hühnereiweiss, gefroren	West-Deutschland
Hühnervollei, gefroren	Argentinien
Trockeneigelb	Eritrea, Aethiopien, China, USA
Hühnervolleipulver	Polen, USA, China

Insgesamt wurden in unserem Laboratorium bis Ende 1958, in einem Zeitraum von etwa 1½ Jahren, 353 Salmonellen-Untersuchungen durchgeführt, wobei sich 42 Produkte (= 11,9 %) als mit Salmonellen infiziert erwiesen.

Ferner wurden anschliessend an die aufgetretenen bakteriellen Lebensmittelvergiftungen in Basel (Juni/Juli 1958), bei denen der Typus S. Schottmüller isoliert werden konnte, etwa 132 Proben von Milch, Gemüse (in- und ausländisch), Glacé, Käse und Wasser der Salmonellen-Untersuchung unterzogen, mit negativem Erfolg.

Die von uns mit biochemischen und serologischen Methoden als positiv mit Salmonellen infizierten Eiprodukte wurden zur Typenbestimmung an das Vet.-

bakt. Institut der Universität Zürich eingesandt. Dabei wurden folgende Salmonellen nachgewiesen:

Tabelle 3

Hühnervolleipulver aus China	enthielt <i>S. potsdam</i>
Trockeneigelbpulver aus Aethiopien	enthielt <i>S. eastburne</i>
Trockeneigelbpulver aus Eritrea	enthielt <i>S. typhi murium</i>
Trockeneiklar in Kristallen aus USA	enthielt <i>S. oranienburg</i>
	enthielt <i>S. montevideo</i>
	enthielt <i>S. tennessee</i>
	enthielt <i>S. thompson</i>

Seit der Einführung der Pasteurisation für Eiprodukte in Polen und China sind die importierten Produkte meistens frei von Salmonellen, was hingegen bei amerikanischen Eiprodukten, die nicht pasteurisiert sind, nicht der Fall ist. In letzter Zeit wird vom Käufer immer mehr die Forderung aufgestellt, dass die Eiprodukte sowohl frei von Salmonellen als auch von *E. coli* sein sollen. Aus diesem Grunde bestimmen wir jeweils, ob in 0,1 g der betreffenden Ware *E. coli* vorhanden ist.

Es besteht keine Parallelität zwischen dem Vorkommen von Salmonellen und *E. coli* in Eiprodukten. Es scheint vielmehr so zu sein, wie dies *Steiniger* ¹²⁾ für pathogene Wassermikroorganismen beschreibt: «Der Coli-Titer kann dazu dienen, die Möglichkeit einer Verunreinigung mit pathogenen Darmkeimen mehr qualitativ zu beurteilen. Doch ist schon im Trinkwasser keineswegs wahrscheinlich, dass die Gefahr einer solchen Verunreinigung um so grösser ist, je höher der Coli-Titer liegt. Im Abwasser vollends kann sogar die umgekehrte Beziehung bestehen, da *Bacterium coli*, wie man schon aus der bakteriologischen Kultur weiss, die Salmonellen überwuchern kann. Nach *Bail* wachsen Coli-Bakterien schneller als Typhus-Bakterien, gegenüber Paratyphus B-Bakterien wachsen sie gleich schnell; eine Begründung dafür, dass man Salmonellen paratyphi B in den meisten Fällen zahlreicher als andere Salmonellen im Wasser vorfindet».

Experimentelles zum Nachweis von Salmonellen in Eiprodukten und anderen Lebensmitteln

a) *Der Nachweis in Wasser:*

Nach *Grossmann* und *Beling* ¹⁰⁾³¹⁾, *Müller* ⁷⁾⁹⁾, *Beger* ⁸⁾, *Hallmann* ¹⁾ pag. 547 und eigenen Untersuchungen mit *S. typhi murium* und *S. enteritis* gelingt der Nachweis von Keimen der Typhus-Paratyphusgruppe mit Hilfe des Membranfilterverfahrens sehr gut in Wasser und Abwasser bei Filtration von einigen Litern Wasser, je nach dem vermuteten Verunreinigungsgrad.

Die Membranfilter werden nach der Filtration auf den elektiven Wismut-Sulfitagar nach *Wilson* und *Blair* gelegt und 20 bis 24 Stunden bei 37° C be-

brütet. Typhus- und Paratyphuskolonien wachsen so ähnlich, dass sie nur durch serologische und biochemische Nachweismethoden differenziert werden können.

Typhus- und Paratyphusbakterien wachsen als silberschwarze Kolonien, die von einem silberglänzenden metallischen Hof umgeben sind. Es treten nach *Grosmann* und *Beling*³¹⁾ auch grüne Kolonien mit hellem Hof, braun-grüne Kolonien mit schwarzem Zentrum auf. Als diagnostisch wichtigstes Merkmal gilt für Stämme der Salmonellagruppe die Ausbildung von mehr oder weniger schwarz bis braunen Flecken auf dem Agar an Stelle des Koloniewachstums.

Begleitbakterien wie *Coli*, *Proteus* usw. werden entweder gehemmt oder wachsen, da ihnen die Fähigkeit der Reduktion von Wismutsulfit zu schwarzem Sulfid fehlt, in farblosen Kolonien.

b) *Der Nachweis in Eiprodukten und anderen Lebensmitteln:*

Im kantonalen Laboratorium Basel-Stadt verwenden wir seit Juli 1957 mit Erfolg folgenden Nachweisgang: nach *Osborne* und *Stokes*³⁰⁾, *Stokes* und *Osborne*²⁷⁾, *Hajna* und *Damon*²⁹⁾ und *Byrne*, *Rayman* und *Schneider*³²⁾, siehe auch bei *Wells*, *Bergquist* und *Forsythe*³⁶⁾ *Taylor*, *Silliker* und *Andrews*³³⁾, *Silliker* und *Taylor*³⁴⁾, *Taylor* und *Silliker*³⁵⁾.

2 g der zu untersuchenden Substanz (= 1/10 Inoculum), die evtl. in sterilisiertem Mörser mit Pistill fein zerrieben wird, führt man in je einmal wöchentlich frisch zubereitetes Tetrathionatbouillon-(Tetrathionat-Broth-Base, Difco)- bzw. Selenit-Brillantgrün-Bouillonröhrchen nach *Stokes* und *Osborne*²⁷⁾ unter aseptischen Bedingungen über. Die Bouillonröhrchen enthalten etwa 10 ccm der entsprechenden Anreicherungsbouillon. Diese beiden Anreicherungskulturen für Salmonellen, die das Wachstum der Begleitbakterien (*Coli*, *Proteus* u.a.m.) hemmen, bebrütet man bei 37° C während 18 bis 24 Stunden.

Aus den Anreicherungskulturen werden mit abgeflämmter Kapillarpipette oder mit einer Platinöse je ein Tropfen auf vorher getrocknete Endo-, Mc Konkey-, SS- und Wilson-Blair-Agarplatten überimpft und verstrichen (alles Difco-Nährböden). Diese Elektivnährböden werden 24 Stunden bei 37° C bebrütet (Wilson-Blairagar evtl. 48 Stunden lang).

Helle, transparente, glasige Oberflächenkolonien auf Endo-, Mc Konkey- und SS-Agar, sowie auf Wilson-Blairagar schwarze, metallisch glänzende Kolonien sind Salmonella-verdächtig.

Einige verdächtige Kolonien werden mit der Platinöse auf einem Objektträger verrieben und mit je einem Tropfen Salmonella-O-Antiserum (polyvalent anti- I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XII, XV, XXVI, bezogen bei Veterinaria AG, Zürich, oder Schweiz. Serum- und Impfinstitut Bern) durchmischt. Tritt Agglutination nach spätestens 3 Minuten auf, so kontrolliert man, ob die Kolonie mit einem Tropfen physiologischer Kochsalzlösung oder mit einem Tropfen Normalserum des Rindes Agglutination erzeugt. Wäre dies der Fall, so nennt man diese Art der Agglutination: Spontanagglutination ohne Gegenwart von Antikörpern. Das Salmonella-O-Antiserum (polyvalent) aggluti-

niert etwa 200 Stämme der Gruppen A, B, C, D, E. Tritt mit Salmonella-O-Antiserum keine Agglutination auf, wiederholt man das Prozedere mit Shigella-Antiserum (polyvalent). Shigella (Ruhr) ist zwar für Tiere fremd, doch könnte möglicherweise eine Infektion durch den Menschen stattgefunden haben.

Welche Kolonien von den vier verwendeten Elektivnährböden zur Agglutination herangezogen werden, spielt keine Rolle.

Bei aufgetretener Agglutination mit Salmonella-O-Antiserum ist eine weitere Differenzierung und Reinkultivierung mit folgenden vier biochemischen Nährmedien unerlässlich:

1. Anlegen einer Stich- und Strichkultur auf Triple-Sugar-Iron-Agar (Difco). Ablesen der Reaktion (Gasbildung, Verfärbung, H₂S-Bildung) nach 8, 16 und 24 Stunden bei 37° C Bebrütung.
2. Beimpfen eines Urea-Bouillonröhrchens (Difco Urea-Broth-Concentrate verdünnt). Die Kolonie wird zu diesem Zweck an der Innenwand des Röhrchens verrieben. Tritt nach 24 Stunden bei 37° C Bebrütung eine Rotfärbung auf, herrührend vom Abbau des Harnstoffes zu Ammoniak, so ist die Kolonie mit Proteus infiziert.
3. Beimpfen eines Indolbouillonröhrchens mit der verdächtigen Kolonie und Bebrütung 24 Stunden bei 37° C. Nachher Zugabe von p-dimethylaminobenzaldehyd. Tritt eine Rotfärbung auf, so ist E. coli vorhanden (Indol positiv). Salmonellen sind Indol-negativ.
4. Beimpfen eines Milchzuckerbouillon-Gärröhrchens. Tritt nach 48 Stunden bei 37° C Bebrütung Gasbildung auf, so spricht dies für die Anwesenheit von E. coli.

Zur Beurteilung der auftretenden Reaktionen dieser biochemischen Untersuchungsreihe, siehe auch im Difco Manual ¹⁶⁾ pag. 160/161.

Das Wachstum von glasigen, farblosen, transparenten Kolonien auf SS- und Mc Konkeyagar, Agglutination mit polyvalentem Antiserum und Wachstum mit H₂S-Bildung auf Triple-Sugar-Ironagar ist für Salmonellen typisch.

Zur weiteren Typenbestimmung mit monovalentem Antiserum werden aus den verdächtigen Kolonien Reinkulturen angelegt entweder auf Fleischwasserpeptonagar oder auf Blauagar und die gewachsenen Kolonien zur Typenbestimmung an die Salmonella-Zentrale Bern, z.H. von Prof. Dr. H. Fey, eingesandt.

Urea-Bouillon und Triple-Sugar-Ironagar sollten wenn möglich nur mit Reinkulturen von Salmonellen beimpft werden, da sonst unsichere Resultate entstehen. Eine Rückimpfung in Selenitbouillon unter vorheriger Verdünnung in physiologischer Kochsalzlösung und mit weiterer Behandlung wie oben beschrieben, erlaubt oft eine Reinzüchtung der Salmonellen; andernfalls ist auch eine Passage über Blauagar nützlich.

Obwohl sicherheitshalber zur Isolierung von Salmonellen zwei Anreicherungsbouillons verwendet werden sollten, benützen wir seit längerer Zeit nur noch die Selenit-Brillantgrün-Anreicherungsbouillon, da es sich gezeigt hat,

dass in den meisten Fällen bei Paralleluntersuchungen der Nachweis von Salmonellen aus dem Tetrathionat-Broth-Base -Medium (Difco) nicht gelingt, wie übrigens auch von *Taylor, Silliker* und *Andrews*³³⁾ beschrieben wird.

Die Selenit-Brillantgrün-Bouillon setzt sich wie folgt zusammen: (nach *Stokes* und *Osborne*²⁷⁾ und *Osborne* und *Stokes*³⁰⁾)

Pepton (Difco)	0,5 ‰
Hefeextrakt (Difco)	0,5 ‰
Mannit	0,5 ‰
Na-Taurocholat (Difco)	0,1 ‰

Alle 4 Substanzen mischen wir gut und zerreiben sie im Mörser zu einer homogenen Masse. Wir bewahren sie dann im Kühlschrank vorrätig auf. Von dieser Mischung wägen wir bei der Herstellung der Selenit-Brillantgrün-Bouillon 1,6 g pro 100 ccm Bouillon in einen sterilen Erlenmeyerkolben ab, der eine Marke bei 100 ccm enthält.

Dazu geben wir noch:

Na-Selenit	0,4 ‰
Sulfapyridin	0,05 ‰ (= eine kleine Spatelspitze)

(Sulfapyridin beziehen wir bei der Veterinaria AG, Zürich)

Etwa 80 bis 90 ccm steriles destilliertes Wasser wird beigelegt, einige Tropfen 5n-HCl, bis das pH=7,0 (prüfen mit pH-Papier!).

Brillantgrünlösung 1 ccm

(0,5 g Brillantgrün, Difco, pro Liter dest. Wasser, die Lösung kann vorrätig gehalten werden).

Phosphatpuffer (pH 7,0) 10 ccm

Dieser wird hergestellt durch Mischen angemessener Menge von 0,25 molaren Lösungen von KH_2PO_4 und K_2HPO_4 zu einer Lösung mit einem pH von 7,0. Diese Lösung wird dem Medium in einem Verhältnis von 1 : 10 zugesetzt.

34,01 g KH_2PO_4 und 43,54 g K_2HPO_4 pro Liter dest. Wasser lösen, $\frac{1}{2}$ Stunde im Dampftopf sterilisieren. Die Pufferlösung kann unter aseptischen Bedingungen vorrätig gehalten werden. Davon je 10 ccm pro 100 ccm Bouillon mit steriler Pipette geben.

Nachdem alle Substanzen und Lösungen in den sterilen Erlenmeyerkolben gebracht worden sind, füllen wir denselben mit sterilem dest. Wasser bis zur Marke 100 ccm auf. Alle Substanzen lösen sich durch kurzes Schütteln gut auf.

Von dieser Selenit-Brillantgrün-Bouillon geben wir in sterile Röhrchen je etwa 10 ccm sowie das entsprechende Untersuchungsmaterial (mindestens 1/10 hiervon) und bebrüten die Röhrchen während 18 Stunden bei 37° C.

Der weitere Untersuchungsgang ist oben beschrieben.

Die nach dieser Art und Weise hergestellte Selenit-Brillantgrün-Bouillon kann eine Woche im Kühlschrank vorrätig gehalten werden, muss also bei Gebrauch nicht jedesmal frisch hergestellt werden.

Herstellung des Bromthymolblauagars (= Blauagarplatte)

Diese Blauagarplatte dient zum Reinzüchten von Salmonellen. Das Rezept stammt aus dem Vet.-bakt. Institut der Universität Zürich.

Pro Liter dest. Wasser löst man:

Fadenagar	20 g
Liebigs Fleischextrakt	5 g
Pepton Witte	5 g
Dinatriumphosphat	2 g
NaCl (jodfrei)	5 g
pH = 7,4. Lösen der Substanzen, aufkochen, durch Gaze filtrieren. Zugabe von Natriumthiosulfat	
	1 g
Bromthymolblau	40 ccm
(1 g Bromthymolblau in 25 ccm 0,1-n NaOH und 475 ccm dest. Wasser lösen, kann vorrätig gehalten werden).	
Lactose	10 g
Kristallviolett	5 ccm
(1 g Kristallviolett pro Liter dest. Wasser, kann vorrätig gehalten werden).	

Tabelle 4

Biochemische Reihe der Reinkulturen nach 24 Stunden Bebrütung bei 37° C

		S. typhi- murium	S. ente- ritis	Prot. vulg.	Prot. mirab.	E. coli 275	Klebsiella (A. aerog.)
Urea		—	—	+	+	—	—
Milch- zucker		+	+	+	+	+	+
Indol		—	—	+	—	+	—
Citrat		—	—	—	—	—	+
Triple- Sugar- Iron- Agar	Stich:	schwarz	schwarz	gelb	schwarz	gelb	gelb
	Nähr- boden:	rot	rot	gelb	rot	gelb	gelb
	Strich:	schwarz	schwarz	schwarz	schwarz	gelb	gelb
	Gas:	+	+	—	—	—	—
Aggluti- nation		+	+	—	—	—	—

Im Dampftopf 30 Minuten sterilisieren.

Farbe des Agars: blaugrün. Kontrollieren und evtl. mit 10 % HCl korrigieren. Salmonellen wachsen blau, E. coli gelb.

Mit Reinkulturen, die wir von P. D. Dr. H. Fey, Vet.-bakt. Institut der Universität Zürich erhalten haben, prüften wir das biochemische Verhalten, die Wachstumsaspekte und die serologische Agglutination auf den verwendeten Nährböden.

Tabelle 5

Die Elektivnährböden zeigten nach 24 Stunden Bebrütung bei 37° C folgende makroskopische Wachstumsaspekte:

	S. typhimurium	S. enteritis	Prot. vulg.	Prot. mirab.	E. coli 275	Klebsiella (A. aerog.)
Mc Konkey-Agar	farblose, helle, transparente Oberflächenkolonien				rote Oberfl.-Koloniaen	farblose, schleimige Oberfl.-Koloniaen
SS-Agar	farblose, helle, transparente Oberflächenkoloniaen	Kein Wachstum	farblose Koloniaen		rote Oberfl.-Koloniaen üppig	weniger üppig
Wilson-Blair-Agar	schwarze Koloniaen mit metall. Hof. Braune Umrandung	Kein Wachstum	grüne Koloniaen		Kein Wachstum	
Endo-Agar	fast farblose, leicht rosarote Koloniaen	Fuchsin glänzende Koloniaen	rote Koloniaen		Fuchsin glänzende Koloniaen	rote Koloniaen, schleimig
Blau-Agar	blaue Koloniaen		blaue Koloniaen		gelbe Koloniaen, schleimig	blaue Koloniaen, schleimig

Zusammenfassung

1. Eikonserven müssen an Ort und Stelle der Herstellung pasteurisiert werden, um die Entstehung von Toxinen zu verhindern.
2. Sämtliche bisher isolierten Salmonellen-Stämme sind nach Kauffmann und Fey für den Menschen kontagiös.
3. In den untersuchten Eiprodukten erwiesen sich etwa 12 % der Proben als mit Salmonellen infiziert. Wir isolierten: *S. potsdam*, *S. eastburne*, *S. typhi murium*, *S. oranienburg*, *S. montevideo*, *S. tennessee*, *S. thompson*.
4. Es besteht keine Parallelität zwischen dem Vorkommen von Salmonellen und *E. coli* in Eiprodukten.
5. In Wasser und Abwasser gelingt der Nachweis von Keimen der Typhus-Paratyphusgruppe mit Hilfe des Membranfilterverfahrens.
6. Es wird ein für den Nachweis von Salmonellen in Eiprodukten günstiges Anreicherungsmilieu (Selenit-Brillantgrün-Bouillon nach Osborne und Stokes) beschrieben. Bei Verwendung weiterer biochemischer und serologischer Methoden – wie beschrieben – gelingt der Nachweis von Salmonellen in Eiprodukten sehr gut.
7. Das biochemische Verhalten und die makroskopischen Wachstumsaspekte von einigen Reinkulturen werden beschrieben.

Herrn Prof. Dr. H. Fey vom Vet.-bakt. Institut der Universität Bern und Herrn H. Gasser vom Laboratorium des Stadt-Chemikers Zürich danke ich bestens für die mir erteilten guten Ratschläge.

Résumé

Examen de conserves d'œufs et d'autres denrées alimentaires quant à la présence de Salmonelles. 12 % des conserves d'œufs examinées étaient infectées par ces organismes. Il n'y a pas de parallélisme entre la présence de Salmonelles et d'*E. coli* dans les œufs et les conserves d'œufs.

Le milieu d'Osborne et de Stokes (bouillon au sélénite de Na et vert-brillant) convient bien à la culture des Salmonelles car il freine le développement des bactéries (*Coli*, *Proteus*, etc.) qui les accompagnent.

Summary

Bacteriological examination of egg products and other foodstuffs regarding the presence of Salmonellas. These organisms have been found in 12 % of the examined egg products.

The Osborne and Stoke's medium (broth containing Na selenite and Brilliant Green) has been found suitable for the culture of Salmonellas.

Literatur

- 1) *L. Hallmann*, «Bakteriologie und Serologie», G. Thieme Verlag, Stuttgart 1950.
- 2) *L. Hallmann*, «Bakteriologische Nährböden», G. Thieme Verlag, Stuttgart, 1953.
- 3) *R. Buttiaux*, «L'analyse bactériologique des eaux de consommation», Editions médicales Flammarion, Paris, 1951.
- 4) *H. Dräger*, «Diagnostik der Bakterien der Salmonella-Gruppe», Akademie Verlag, Berlin, 1951.
- 5) *H. Kolle-Hetsch*, «Experimentelle Bakteriologie und Infektionskrankheiten», Urban und Schwarzenberg, Berlin und Wien, 1938.
- 6) *R. Müller*, «Medizinische Mikrobiologie», Urban und Schwarzenberg, München-Berlin, 1950.
- 7) *G. Müller*, «Der Nachweis von Keimen der Typhus-Paratyphusgruppe im Wasser», H. H. Nölke Verlag, Hamburg, 1947.
- 8) *H. Beger*, «Leitfaden der bakteriologischen Trinkwasseruntersuchung», Urban und Schwarzenberg, Berlin-München, 1948.
- 9) *G. Müller*, «Typhus und Trinkwasser», Med. Klinik, **18**, 1946.
- 10) *H. Grossmann* und *A. Beling*, «Ueber ein Verfahren des Nachweises von Colibakterien und Angehörigen der Typhus-Paratyphusgruppe in Trinkwasser mit Hilfe von Membranfiltern (M.F.-Methode). Membranfiltergesellschaft, Göttingen, 1944.
- 11) *P. Kästli*, «Zur Frage der Uebertragung von Krankheitskeimen auf den Menschen durch den Konsum von Milch und Milchprodukten», diese Mitt. **39**, 46-64, 1948.
- 12) *F. Steiniger*, «Ueber die Notwendigkeit einer Berücksichtigung freilebender Typhus-Paratyphus-Keime in der Abwassertechnik», Vom Wasser, **21**, 172-185, 1954.
- 13) *E. Boecker*, «Praktische Diagnostik der Bazillen der Typhus-Paratyphus-Enteritis-Gruppe der Ruhrgruppe und der Coli-Gruppe», G. Fischer Verlag, Jena, 1948.
- 14) *F. Kauffmann*, «Enterobacteriaceae», Ejnar Munksgaard Publisher, Copenhagen 1954.
- 15) *E. Zimmermann*, «Mikrobiologie, Erkennung und Bekämpfung der Infektionskrankheiten», F. Enke Verlag, Stuttgart, 1940.
- 16) *Difco Manual*, Detroit, Michigan, 1953.
- 17) Bericht über die Lebensmittel-Kontrolle im Kanton Basel-Stadt während des Jahres 1957, Dr. R. Müller, Kantons-Chemiker.
- 18) *Mitscherlich*, «Bedeutung des Abwassers in der Veterinärhygiene» Desinfekt. und Gesundheitswesen **45**, 8-11, 1953.
- 19) *J. C. H. Broek* und *C. P. Mom*, «Verseuchung von Poldergewässern mit Salmonella Paratyphi infolge Abwassereinführung», Ges. Ing. **75**, 3/4, 1954.
- 20) *J. Grossfeld*, «Handbuch der Eierkunde», J. Springer Verlag, Berlin, 1938.
- 21) *K. J. Demeter*, «Ueber Nahrungsmittelvergiftungen und ihre Erreger», Deutsch. Nahrungsmittel-Rundsch. **16**, 121-124, 1932.
- 22) *H. Reuter*, «Untersuchungen über die Thermostabilität der Paratyphus-Enteritis-Erreger und ihrer Toxine», Tierärztl. Wschr. pag. 87-89, 1948.
- 23) Behördliche Verlautbarungen und Anordnungen, Verordnung über Enteneier (Deutschland). Deutsch. Lebensm. Rundsch. **11**, 290-291, 1954.
- 24) *W. Zeman*, «Eine Paratyphus-C-Gastroenteritis durch den Genuss von Trockeneipulver», Dtsch. med. Wschr. **74**, 121-122, 1949.
- 25) *R. Lange*, «Ueber das Eindringen von Bakterien in das Hühnerei durch die Eischale», Arch. f. Hyg. **62**, 201-215, 1907.

- 26) *Sachs-Müke*, «Können lebende Dysenteriebacillen die Eiwand des frischen Hühner-
eies durchwachsen?», *Arch. f. Hyg.* **62**, 229-238, 1907.
- 27) *J. L. Stokes* und *W. W. Osborne*, «A Selenite Brilliant Green Medium for the Iso-
lation of Salmonella», *Appl. Microbiol.* **3**, 217-220, 1955.
- 28) *S. Bergner-Rabinowitz*, «The Survival of Coliforms, Streptococcus faecalis and Sal-
monella tennessee in the Soil and Climate of Israel», *Appl. Microbiol.* **4**, 101-106,
1956.
- 29) *A. A. Hajna* und *S. R. Damon*, «New Enrichment and Plating Media for the Iso-
lation of Salmonella and Shigella Organisms», *Appl. Microbiol.* **4**, 341-345, 1956.
- 30) *W. W. Osborne* und *J. L. Stokes*, «A modified Selenite Brilliant-Green Medium for
the Isolation of Salmonella from Egg Products», *Appl. Microbiol.* **3**, 295-299, 1955.
- 31) *H. Grossmann* und *A. Beling*, «Ueber den Nachweis von Typhus-Paratyphusbakterien
in Oberflächenwasser mit Hilfe der Membranfilter-(M.-F,-)-methode, zugleich ein
Beitrag zur Frage der Leistungsfähigkeit der Wismut-sulfitagarplatte nach Wilson
und Blair», Membranfiltergesellschaft Göttingen, 1944.
- 32) *A. F. Byrne*, *M. M. Raymann*, *M. D. Schneider*, «Methods for the Detection and Esti-
mation of Numbers of Salmonella in Dried Eggs and Other Food Products», *Appl.*
Microbiol. **3**, 368-372, 1955.
- 33) *W. I. Taylor*, *J. H. Silliker*, *H. P. Andrews*, «Isolation of Salmonellae from Food
Samples.
I. Factors Affecting the Choice of Media for the Detection and Enumeration of Sal-
monella», *Appl. Microbiol.* **6**, 189-193, 1958.
- 34) *J. H. Silliker*, *W. I. Taylor*, «Isolation of Salmonellae from Food Samples.
II. The Effect of Added Food Samples upon the Performance of Enrichment Broths»,
Appl. Microbiol. **6**, 228-232, 1958.
- 35) *W. I. Taylor*, *J. H. Silliker*, «Isolation of Salmonellae from Food Samples.
III. Dulcitol Lactose Iron Agar, a New Differential Tube Medium for Confirmation
of Microorganisms of the Genus Salmonella», *Appl. Microbiol.* **6**, 335-338, 1958.
- 36) *F. Wells*, *D. Bergquist*, *R. H. Forsythe*, «A Comparison of Selective Media for the
Isolation of Salmonella from Commercial Egg White Solids», *Appl. Microbiol.* **6**,
198-201, 1958.