

Nachweis von Salmonellen in Oberflächenwasser : Vergleich eines konventionellen Kulturverfahrens mit dem "Path stik one step rapid salmonella test" = Detection of salmonella in surface water : comparison of a conventional culture method with the "Path S...

Autor(en): Gautsch, Sylvia

Objektyp: Article

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

Band (Jahr): **87 (1996)**

Heft 2

PDF erstellt am: **22.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-982078>

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.

Nachweis von Salmonellen in Oberflächenwasser

Vergleich eines konventionellen Kulturverfahrens mit dem «Path Stik One Step Rapid Salmonella Test»

Detection of Salmonella in Surface Water
Comparison of a Conventional Culture Method with the
«Path Stik One Step Rapid Salmonella Test»

Key words: Salmonella, Surface water, Rapid detection,
Dip-stick test, Immunological method

Sylvia Gautsch
Kantonales Laboratorium Basel-Stadt, Basel

Einleitung

Der Wunsch nach automatisierten, miniaturisierten und besonders schnelleren Nachweismethoden in der Mikrobiologie nimmt stetig zu. Dies gilt insbesondere auch für den Nachweis von Salmonellen, der sich mit der konventionell-kulturellen Methode bedingt durch Anreicherung, Isolierung und dem Durchführen mehrerer Bestätigungstests als relativ arbeits- und zeitaufwendig darstellt. So liegt das endgültige Resultat in der Regel erst nach drei bis sechs Tagen vor. Im Gegensatz hierzu erlaubt der von der Firma LUMAC entwickelte «Path Stik One Step Rapid Salmonella Test» den Nachweis von Salmonellen in Lebensmitteln innerhalb von 10 Minuten nach einer vorangegangenen Voranreicherung und selektiven Anreicherung von jeweils 16–24 Stunden sowie einer 6- bis 8stündigen Nachanreicherung. Dabei wird ein Eintauchstift («Dipstick»), der ein in zwei Bereiche unterteiltes Reaktionsfenster aufweist, in die angereicherte Probe getaucht. Hierdurch werden salmonellenspezifische Antikörper, die an farbige Latexkügelchen gebunden sind, in die Membran des «Dipsticks» und weiter bis zum Reaktionsfenster transportiert. Bei Anwesenheit von ausreichend Salmonellen in der Probe bildet sich im unteren Testbereich «T» eine blau-violette Bande aufgrund eines zwischen dem Zielantigen, den an Latexkügelchen gebundenen Antikörpern und den im Testbereich «T» im Stick immobilisierten Antikörpern gebildeten Sandwich-Kom-

plexes. Überschüssige, an farbige Latexkügelchen gebundene Antikörper werden im oberen Kontrollbereich «C» immobilisiert und bilden bei korrekter Durchführung des Tests dort ebenfalls eine blau-violette Bande.

Es gibt bereits einige Studien, die sich mit dem Nachweis von Salmonellen in künstlich und natürlich kontaminierten Lebensmitteln mit Hilfe des «Path Stik One Step Rapid Salmonella Tests» befassen (1–3). Inwieweit sich diese Methode jedoch zur Untersuchung von Wasserproben eignet, ist noch nicht untersucht worden.

Die zur Harmonisierung von Untersuchungen natürlicher Badegewässer herausgegebenen «Empfehlungen für die hygienische Beurteilung von See- und Flussbädern» (4) sehen unter anderem die Untersuchung von Oberflächengewässern während der Badesaison auf Salmonellen vor. Die entsprechende Methode hierfür ist ebenfalls in den genannten Empfehlungen aufgeführt. Nach selektiver Anreicherung in Flüssigmedien erfolgt die Isolierung der Zielkeime auf zwei verschiedenen selektiven Agarmedien mit anschliessender Bestätigung salmonellenverdächtiger Kolonien.

Zweck der bakteriologischen Untersuchung von See- und Flussbädern ist die Ermittlung des Hygienestatus mit abschliessender Beurteilung im Hinblick auf eine mögliche Gesundheitsgefährdung der Badegäste sowie die nachfolgend möglichst rasche Information dieser bzw. der verantwortlichen Behörden. Der Bedarf nach einer schnelleren Untersuchungsmethode, die das endgültige Resultat schon nach 24 Stunden liefert, ist daher gegeben.

Ziel der vorliegenden Studie war es abzuklären, ob der «Path Stik One Step Rapid Salmonella Test» als Alternative zur empfohlenen amtlichen Nachweismethode für Salmonellen erwogen werden kann.

Material und Methoden

Zur Untersuchung gelangten 48 Proben Flusswasser von drei verschiedenen, das Kantonsgebiet Basel-Stadt durchquerenden Flüssen. Die Proben wurden in sterile Glasflaschen entnommen, ungekühlt innerhalb von zwei Stunden an den Untersuchungsort gebracht und ebenfalls innerhalb von zwei Stunden auf die Anwesenheit von *Salmonella spp.* untersucht.

Die Untersuchung erfolgte parallel mit einem konventionellen Kulturverfahren sowie mit dem «Path Stik One Step Rapid Salmonella Test».

Konventionelle Methode

Der Untersuchungsgang richtete sich im wesentlichen nach den im Anhang II der «Empfehlungen für die hygienische Beurteilung von See- und Flussbädern» gemachten Angaben (4). Nach Filtration von 1 Liter der Probe wurde der Membranfilter in ca. 100 ml Salmonella-Anreicherungsbouillon nach Rappaport und

Vassiliadis (Merck, 7700) während 18–24 Stunden bei 42 °C inkubiert. Danach erfolgte die Isolierung von je 50 µl Anreicherungsmedium auf Xylose Lysine Desoxycholate Agar (Oxoid, CM 469) und Hektoen Entero Agar (Merck, 11 681) mit nachfolgender Inkubation bei 37 °C während 18–24 Stunden. Beim Vorliegen salmonellenverdächtiger Kolonien schloss sich eine Bestätigung von drei Kolonien pro Selektivplatte an. Diese erfolgte entweder mittels Phagolysetest (Polyvalente 01 Salmonella Phagensuspension, Biokema) und nachfolgender Seroagglutination mit Antiseren gegen die Salmonella-Gruppen A, B, C, D, E und G (Wellcolex Colour Salmonella, Murex ZC 50) oder mit Hilfe des Phagolysetests gefolgt von dem einfach und schnell durchzuführenden Mucap-Test (Biolife, 191 500). Als *Salmonella spp.* beurteilte Isolate wurden zur genauen Serotypisierung an das Nationale Zentrum für enteropathogene Bakterien in Bem gesandt.

«Path Stik One Step Rapid Salmonella Test»

Entgegen dem in der Herstelleranleitung angegebenen Protokoll wurde auf eine Voranreicherung verzichtet und direkt ausgehend von der selektiven Anreicherungsbouillon aus der konventionellen Methode die sogenannte Nachanreicherung durchgeführt. Hierzu wurde 1 ml Rappaport Vassiliadis-Bouillon in 10 ml Buffered Peptone Water (Oxoid, CM 509) transferiert und bei 37 °C während 6–6,5 Stunden inkubiert. Danach erfolgte das Eintauchen eines «Dipsticks» etwa 0,5 cm tief in die Nachanreicherungsbouillon solange, bis die Flüssigkeitsfront im Reaktionsfenster sichtbar war (3–5 s). Der «Dipstick» wurde in eine leere Petrischale gelegt und das Ergebnis nach 10 min abgelesen. Die Beurteilung des Testergebnisses als positiv bzw. negativ erfolgte nach den Angaben des Herstellers. Dabei galt das Resultat als negativ, wenn lediglich eine blau-violette Bande im Kontrollbereich «C» erschien, als positiv, wenn sich zusätzlich eine blau-violette, auch schwache Bande bzw. Teilbande im Testbereich «T» darstellte.

Resultate

Wie in Tabelle 1 dargestellt, konnten in 42 von insgesamt 48 untersuchten Flusswasserproben Salmonellen nachgewiesen werden. Von diesen 42 salmonellenhaltigen Proben zeigten 39 in beiden Methoden übereinstimmende Ergebnisse. In 6 Flusswasserproben blieb der Nachweis von Salmonellen sowohl mit der herkömmlichen als auch mit der neuen Schnellmethode negativ. Damit ergibt sich für den «Path Stik One Step Rapid Salmonella Test» im Vergleich zur konventionellen Methode eine Sensitivität von 92,9%.

Über die Art und Häufigkeit der gefundenen Serovare gibt Tabelle 2 Auskunft. Die drei vom «Path Stik One Step Rapid Salmonella Test» nicht erkannten salmonellenhaltigen Proben enthielten *S. Grumpensis*, *S. Abony* und *Salmonella ssp.* I 6,8:–:–.

Tabelle 1. Vergleich des Salmonellen-Nachweises mittels eines konventionellen Kulturverfahrens und mit dem «Path Stik One Step Rapid Salmonella Test» bei 48 Proben Flusswasser

	Path Stik positiv	Path Stik negativ
Kulturell positiv	39	3
Kulturell negativ	0	6

Total ($n = 48$)

Tabelle 2. Häufigkeit der in 42 Flusswasserproben isolierten Salmonella Serovare

Serovar	Häufigkeit
<i>S. Typhimurium</i>	8
<i>S. Infantis</i>	8
<i>S. Thompson</i>	5
<i>S. Abony</i>	3
<i>S. Enteritidis</i>	2
<i>S. Goldcoast</i>	2
<i>S. Tennessee</i>	1
<i>S. Virchow</i>	1
<i>S. Albany</i>	1
<i>S. Indiana</i>	1
<i>S. Blockley</i>	1
<i>S. Muenchen</i>	1
<i>S. Newport</i>	1
<i>S. Mbandaka</i>	1
<i>S. Grumpensis</i>	1
<i>S. Isangi</i>	1
<i>S. Uganda</i>	1
<i>S. Kedougou</i>	1
<i>Salmonella ssp. I 6,8:-:-</i>	1
<i>Salmonella ssp. I 4,12:b:-</i>	1

Der Vergleich der mit den beiden Methoden erzielten Positivraten erfolgte mit Hilfe des χ^2 -Tests von McNEMAR. Dabei zeigte sich, dass der festgestellte Unterschied statistisch nicht signifikant war ($\chi^2 = 1,33$; $p > 0,05$).

Diskussion

Insgesamt wurden 48 natürlich kontaminierte Flusswasserproben mit Hilfe eines konventionellen Kulturverfahrens und des «Path Stik One Step Rapid Salmo-

nella Tests» auf die Anwesenheit von Salmonellen untersucht. Dabei erwiesen sich 42 Proben in der herkömmlichen Untersuchung als salmonellenhaltig.

Entgegen anderer, jedoch an Lebensmitteln durchgeführten Untersuchungen (1–3) konnten mit dem «Path Stik One Step Rapid Salmonella Test» keine falsch positiven Resultate ermittelt werden. Die festgestellte Sensitivität von 92,9% war mit der in den zuvor genannten Studien vergleichbar. Ein Grund für die drei negativen Ergebnisse könnte sein, dass in den entsprechenden Proben die für eine positive Reaktion notwendige Salmonellenkonzentration nicht erreicht wurde. Laut Herstellerangaben liegt die Nachweisgrenze bei $5 \times 10^5 - 5 \times 10^6$ Salmonellen/ml. Möglicherweise hätten sich diese drei Proben bei einer Nachanreicherungsdauer von mehr als sechs Stunden durch Erreichen der erforderlichen Nachweisgrenze als salmonellenhaltig herausgestellt. Ganz bewusst wurde jedoch die Zeit der Nachanreicherung auf 6–6,5 Stunden beschränkt, um schon am Tag nach der Probenahme im Rahmen des üblichen Arbeitsablaufes die Übermittlung der endgültigen Resultate an die gewünschten Zielgruppen zu ermöglichen.

Nicht nur die Schnelligkeit, sondern auch die Einfachheit der Durchführung lassen den «Path Stik One Step Rapid Salmonella Test» zu einer weniger arbeits- und zeitaufwendigen Methode als die herkömmliche werden. Sie zeichnet sich ferner dadurch aus, dass keine zusätzlichen spezifischen Prüfeinrichtungen notwendig sind und sich der Einsatz weiterer Reagenzien für die Isolierung und Bestätigung stark reduziert.

Erst der Wunsch nach Serotypisierung bedingt die Isolierung der Nachanreicherung salmonellenhaltiger Proben auf Selektivmedien.

Wie die Resultate zeigen, erfasst der «Path Stik One Step Rapid Salmonella Test» nicht nur die am häufigsten aus Lebensmitteln isolierten Serovare, sondern auch eine Reihe verschiedener, zum Teil selten vorkommender Salmonellen-Serovare, was bei der Untersuchung von Umweltproben äusserst wichtig ist.

Soll eine neue Methode als Alternative zu einer Referenzmethode eingesetzt werden können, ist sicherzustellen, dass die durch beide Methoden erzielten Ergebnisse statistisch nicht signifikant voneinander abweichen. Hierzu bietet sich der χ^2 -Test nach McNEMAR an. Tatsächlich zeigt der vorliegende Methodenvergleich, dass die durch die beiden eingesetzten Methoden erzielten Resultate statistisch nicht signifikant voneinander abweichen. Damit ist die Grundvoraussetzung für den Einsatz der neuen Schnellmethode als Alternative zur empfohlenen kulturellen Nachweisteknik gegeben, da die Vergleichbarkeit der Resultate gewahrt bleibt.

Es lässt sich auch sagen, dass sich der speziell für den Nachweis von Salmonellen in Lebens- und Futtermitteln entwickelte «Path Stik One Step Rapid Salmonella Test», mit dem laut Herstellerangaben keine Umweltproben untersucht worden sind, zumindest für die Untersuchung von Oberflächenwasser auf Salmonellen bewährt hat.

Dank

Frau *K. Krieger* und Herrn *G. Schaub* sei für die Mithilfe bei der Durchführung der Analysen gedankt.

Zusammenfassung

Ein im Handel befindlicher Schnelltest zum Nachweis von Salmonellen wurde auf seine Eignung zur Untersuchung von Oberflächenwasser geprüft. Hierzu wurden 48 Proben Flusswasser mit Hilfe eines konventionellen Kulturverfahrens und des «Path Stik One Step Rapid Salmonella Tests» auf die Anwesenheit von Salmonellen untersucht. Dabei ergab sich für den «Path Stik Test» eine Sensitivität von 92,9%, falsch positive Resultate konnten nicht ermittelt werden. Die Abweichung der mit den beiden Methoden erzielten Positivraten erwies sich als statistisch nicht signifikant. Der einfach und schnell durchzuführende «Path Stik One Step Rapid Salmonella Test» hat sich für die Untersuchung von Oberflächenwasser auf Salmonellen bewährt und kann als Alternative zur empfohlenen amtlichen Nachweismethode für Salmonellen in See- und Flussbädern erwogen werden.

Résumé

Un test rapide pour la mise en évidence de salmonelles a été évalué pour son application à l'analyse d'eaux superficielles. A cet effet la présence de salmonelles a été recherchée dans 48 échantillons d'eaux de rivières avec une méthode de culture conventionnelle et en parallèle avec le «Path Stik One Step Rapid Salmonella Test». Ce dernier a montré une sensibilité de 92,9%, des résultats faux positifs n'ont pas été observés. La différence entre les résultats obtenus avec les deux méthodes était statistiquement non significative. Le «Path Stik One Step Rapid Salmonella Test» est rapide et simple. Il se prête à l'analyse d'eaux superficielles et peut être utilisé comme méthode alternative à la méthode officielle conseillée pour la mise en évidence de salmonelles dans les eaux de baignade de lacs et de rivières.

Summary

A commercial test for the rapid detection of salmonella was examined for its suitability to analyse surface water. In total 48 samples of river water were analysed for the presence of salmonella comparing a conventional culture method with the «Path Stik One Step Rapid Salmonella Test». The sensitivity of the latter was 92.9%, no false positive results were observed. Statistical analysis showed that the results obtained from both methods did not differ significantly from each other. The «Path Stik One Step Rapid Salmonella Test» is a simple, rapid and user-friendly test suitable for the detection of Salmonella in surface water. It can be used as an alternative method to the recommended official method for the detection of salmonella in recreational water of lakes and rivers.

Literatur

1. *Brinkman, E., Van Beurden, R., Mackintosh, R. and Beumer, R.*: Evaluation of a new dip-stick test for the rapid detection of Salmonella in food. A research note. EFFI Foundation, P.O. Box 553, 6700 AN Wageningen, The Netherlands 1993.
2. Anon.: Comparison of the Lumac One-Step Path-Stik Salmonella Test with the traditional Iso Method. EFFI Foundation, P.O. Box 553, 6700 AN Wageningen, The Netherlands, 1994.
3. *Jones, K.L., MacPhee, S., Turner, A.J. and Betts, R.P.*: An evaluation of Path Stik for the detection of salmonella from foods. R&D Report No. 11, Project No. 18250, Campden & Chorleywood, Food Research Association, Chipping Campden, Gloucestershire, GL55 6LD, United Kingdom 1995.
4. Empfehlungen für die hygienische Beurteilung von See- und Flussbädern. Bundesamt für Gesundheitswesen, Bundesamt für Umwelt, Wald und Landschaft, Verband der Kantonschemiker der Schweiz, Verband der Kantonsärzte der Schweiz, 1991.

Dr. Sylvia Gautsch
Kantonales Laboratorium
Basel-Stadt
Postfach
CH-4012 Basel