

Zeitschrift: Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchungen und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène
Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit
Band: 91 (2000)
Heft: 3

Artikel: Schlachthygienemonitoring als Teil der Selbstkontrolle :
Untersuchungen zum Vorkommen verotoxinbildender Escherichia coli
(VTEC) auf Rinderschlachttierkörpern
Autor: Stephan, Roger
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-981875>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 12.05.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Schlachthygienemonitoring als Teil der Selbstkontrolle

Untersuchungen zum Vorkommen verotoxinbildender *Escherichia coli* (VTEC) auf Rinderschlachttierkörpern

Roger Stephan, Institut für Lebensmittelsicherheit und -hygiene,
Universität Zürich, Zürich

Eingegangen 20. März 2000, angenommen 15. Mai 2000

Einleitung

Das Ausmass der Keimkontamination eines Schlachttierkörpers hängt sowohl von der Schlachttechnologie als auch vom Hygieneverhalten des Personals ab. Trotz zahlreicher technologischer Veränderungen an den Rinderschlachtbändern im Hinblick auf Verringerung des Kontaminationsrisikos während des Schlachtprozesses bleiben kritische Phasen bestehen. So stellen die manuelle Vorenthäutung und die mechanische Enthäutung, aber auch das Ausweiden der Tierkörper jene Stationen des Schlachtvorganges dar, die zu einer entscheidenden Keimkontamination der Schlachttierkörper führen können. Eine hohe Keimbelastung wirkt sich zunächst negativ auf die Haltbarkeit des Fleisches aus und ist somit ein Qualitätsmangel, den es aus wirtschaftlichen Gründen zu vermeiden gilt. Gleichzeitig ist aber zu beachten, dass neben einer saprophytären Verderbnisflora auch pathogene Mikroorganismen auf das Fleisch gelangen können, die beim Verzehr von rohen oder unzureichend erhitzten Fleischerzeugnissen zu Erkrankungen führen können. Ebenso erfolgt mit dem Fleisch eine Verschleppung der Keime in Verarbeitungsbetriebe und auch in die Haushalte der Konsumenten, wo sie durch Kreuzkontamination auf oder in andere Lebensmittel gelangen können.

Grosse und kleine Wiederkäuer gelten weltweit als wichtiges Reservoir für verotoxinbildende *E. coli* (VTEC) (1,2). Untersuchungen von Kottupferproben bei 544 Schlachtrindern in der Schweiz ergaben eine altersabhängige Prävalenz von 23,7% bei Kälbern und 2,3% bei Kühen (3). Es muss somit am Schlachthof bei Rindern

und Schafen von einem relativ hohen VTEC-Kontaminationsdruck ausgegangen werden.

Aus fleischhygienischer Sicht stellen sich vor diesem Hintergrund die Fragen nach der Häufigkeit der tatsächlichen Oberflächenkontamination von Schlachttierkörpern und der Eignung des VTEC-Nachweises bei Rinderschlachttierkörpern als mikrobiologische Verifikationskontrolle zur Überprüfung der Schlachthygiene. In diesem Zusammenhang wurden in der vorliegenden Arbeit Daten zum Vorkommen von VTEC auf Schlachttierkörperoberflächen von Kühen, Rindern, Mastmunis, Fressern und Kälbern erhoben sowie einige VTEC-Stämme phäno- und genotypisch weiter charakterisiert.

Material und Methode

Über einen Zeitraum von vier Monaten wurden an 14 Schlachttagen insgesamt 166 Schlachttierkörper (76 Kühe, 66 Rinder/Mastmunis, 24 Fresser/Kälber) in zwei grösseren Schlachtbetrieben der Schweiz in die Untersuchungen einbezogen. Pro Tierkörper wurden jeweils sechs Probenentnahmestellen (Abb. 1) mittels der Nass-Trocken-Tupfertechnik (4) beprobt und anschliessend die Tupfer pro Tierkörper zu einer Probe gepoolt. Die Probenentnahme erfolgte im Kühlraum maximal drei Stunden nach dem Wiegen.

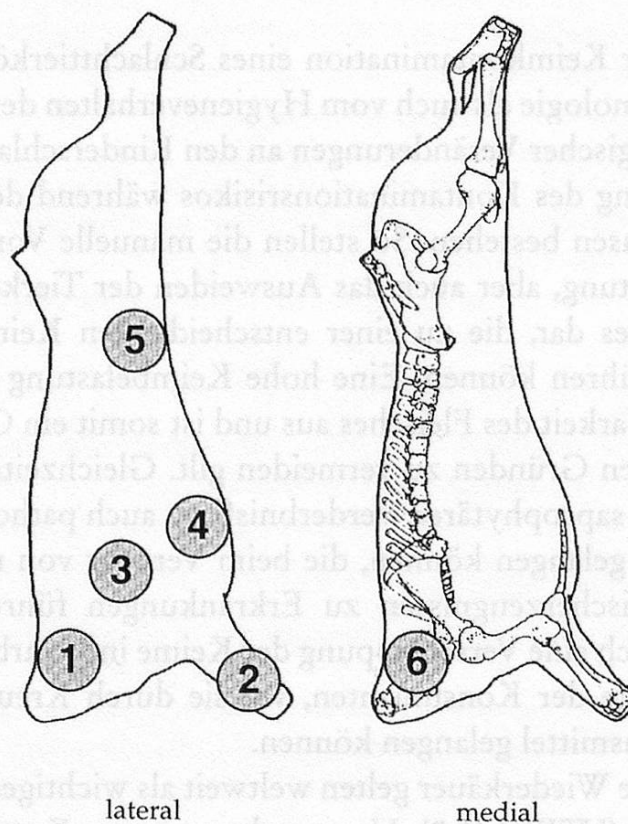


Abbildung 1 Lokalisation der Probenentnahmestellen am Schlachttierkörper

Anreicherung und PCR-Screening

Zur Anreicherung wurden die Tupferproben mit 20 ml Brilliantgrün-Galle-Laktose-Bouillon (BBL 4311080) überschichtet, eine Minute im Stomacher homogenisiert und anschliessend 18 Stunden bei 37°C im Schüttelinkubator (100 rpm) bebrütet. Nach erfolgter Bebrütung wurde die Anreicherung auf MacConkey-Agar (Difco 1818-17-1) ausgestrichen und bei 37°C während 18 Stunden inkubiert. Diese Platten wurden anschliessend für die PCR-Analytik verwendet.

Für den VTEC-Nachweis wurden die Abschwemmungen (mit 2 ml 0,85% NaCl-Lösung) von MacConkey-Agar mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) und dem von *Burnens et al.* (5) beschriebenen Primerpaar, upper primer 5'-ATT GAG CAA AAT AAT TTA TAT GTG-3' und lower primer 5'-TGA TGA TGG CAA TTC AGT AT 3', auf das Vorkommen verotoxinbildender *E. coli* gescreent. Kurz: 2 µl der Abschwemmungen wurden in 42 µl Aqua bidest resuspendiert und für 10 min auf 100°C erhitzt. Die Amplifizierung erfolgte in einem Endvolumen von 50 µl (200 µM dNTPs, 30 pmol von jedem Primer, 5 µl 10-fach konzentrierter Polymerase Synthesis Buffer mit 15 mM MgCl₂ und 2,5 U Taq-DNA-Polymerase (Promega)) in einem Trio Thermoblock (Biometra) mit folgendem Programm: 1 × 2 min 94°C, 35 × 60 s bei 94°C, 60 s bei 52°C, 60 s bei 74°C und anschliessender letzter Extension bei 72°C für 2 min. Die Auftrennung der Amplifikationsprodukte erfolgte mittels Elektrophorese auf einem 1,8% Agarosegel (Boehringer Mannheim) in TBE-Puffer. Die Gele wurden anschliessend mit Ethidiumbromid gefärbt.

Isolierung von VTEC-Stämmen und weitergehende Charakterisierung

Um VTEC-Stämme zu isolieren, wurden die PCR-positiven Abschwemmungen noch einmal ausplattiert und jeweils bis zu 18 Einzelkolonien mit demselben PCR-Protokoll überprüft. Die biochemische Identifizierung der Isolate erfolgte über die Säure-/Gasbildung aus Mannit, den ONPG-Test, den Ureasenachweis, die H₂S- und Indolbildung und den Nachweis der Lysindecaboxylase. Zudem wurde über den Fluorocult-Agar (Merck 4036) die Sorbitfermentation und die β-D-Glucuronidaseaktivität bestimmt. Ein Stamm pro Probe wurde dann für die weitergehende Differenzierung verwendet.

Mittels weiterer PCRs wurden die Stämme anschliessend auf die Art des Verotoxins sowie das Vorkommen des *eae*-Gens (Gen im «Locus of Enterocyte Effacement-LEE»), des EHEC-*hlyA*-Gens (Gen A im Custer für ein plasmidcodiertes EHEC-Hämolyisin) und des *astA*-Gens (Gen für ein hitzestabiles Toxin enteroaggregativer *E. coli* in VTEC) untersucht. Primerpaare und PCR-Bedingungen sind in der Literatur bereits beschrieben (6–9). Die Serotypisierung der Stämme erfolgte am Statens Serum Institut in Dänemark.

Ergebnisse und Diskussion

Neun der 166 untersuchten Poolproben zeigten ein VT-PCR-positives Ergebnis, wobei 0% der Kuh-, 10,6% der Mastmuni-/Rinder- und 8,3% der Fresser-/Kälber-

Tabelle 1

Häufigkeit VT-PCR positiver Proben von Rinderschlachttierkörpern

Schlachttierkörper	VT-PCR+/n	%
Kühe	0/76	0
Mastmunis/Rinder	7/66	10,6
Kälber/Fresser	2/24	8,3

n = Anzahl untersuchter Schlachttierkörper

Schlachttierkörper im VTEC-Screening ein positives Ergebnis lieferten (Tabelle 1). Die Verteilung der positiven Ergebnisse entspricht den Erwartungen, da bereits bei den Schlachttieren eine altersabhängige Prävalenz gefunden wurde (3). Die neun positiven Proben verteilten sich auf drei der insgesamt 14 Probenentnahmetage. Wyss und Hockenjos (10) beschreiben in ihrer Arbeit eine Prävalenz von 30% positiver Proben, geben aber weder Angaben zu den beprobten Tierkörpern noch zur Häufigkeit der Probennahmen.

Aus sechs der neun PCR-positiven Screeningproben konnten VTEC-Stämme isoliert werden. Die Charakterisierungsergebnisse dieser Stämme sind in Tabelle 2 zusammengestellt. Alle Stämme gehörten zur Gruppe der non-0157 und waren sowohl sorbitol- wie auch β -D-glucuronidasepositiv. Vier der sechs Rinderstämme bildeten VT1, zwei Stämme VT2. Die Kombination von VT1 und VT2 wurde bei keinem der Stämme gefunden. Bei einem Stamm liess sich zusätzlich zum Toxinbildungsvermögen das *eae*-Gen nachweisen. Ähnliche Charakterisierungsergebnisse wurden auch bei den Stämmen aus den Kottupferproben von Schlachttieren gefunden (3).

Im Rahmen eines Lebensmittelsicherheitskonzeptes bei der Gewinnung von Fleisch kommt der strikten Einhaltung der Schlachthygiene als Massnahme zur Ver-

Tabelle 2

Phänotypische und genotypische Charakterisierung von VTEC-Stämmen isoliert von Rinderschlachttierkörpern

Herkunft	Serotyp	VT-Typ	Weitere Virulenzfaktoren			
			<i>eae</i>	<i>EHEC-hlyA</i>	<i>astA</i>	<i>S⁺G⁺</i>
Fresser	O8:H25	VT1	–	–	–	+/+
Fresser	ONT:H25	VT1	+	–	–	+/+
Mastmuni	O7:H-	VT2	–	–	–	+/+
Mastmuni	O113:H21	VT1	–	–	–	+/+
Mastmuni	O113:H21	VT2	–	–	–	+/+
Mastmuni	O148:H8	VT2	–	–	–	+/+

S = Sorbitfermentation; G = β -D-Glucuronidaseaktivität; + = positiv; – = negativ

hinderung einer fäkalen Kontamination der Schlachttierkörperoberfläche eine ganz besondere Bedeutung zu. Artikel 30 der Fleischhygieneverordnung (FHyV) vom 1. März 1995 (11) fordert von einem Schlachtbetrieb, im Rahmen der Selbstkontrolle, die systematische Überwachung der Schlachthygiene. Sie umfasst neben der Überwachung der Kühltemperatur die Sauberheitskontrolle an jedem Schlachttag, die periodisch durch mikrobiologische Untersuchungen ergänzt werden muss. Damit schliesst ein Schlachthygienemonitoring-System in einem Grossbetrieb auch mikrobiologische Verifikationskontrollen von Schlachttierkörpern mit ein. Durch den Freiraum über die Art und Weise bzw. den Umfang solcher Untersuchungen liegt es in der Eigenverantwortung des Schlachtbetriebes, diese festzulegen. In eigenen früheren Untersuchungen (13), wie im übrigen auch in anderen Studien (12), hat sich eine periodische Bestimmung der Gesamtkeimzahl und *Enterobacteriaceae*-Zahl von definierten Stellen an Schlachttierkörpern als Verifikation für die Einhaltung der Schlachthygiene als sehr geeignet erwiesen. Vor der Bedeutung der VTEC als food-born pathogens und von Seiten von Abnehmerbetrieben wird aber zunehmend häufiger auch die Forderung nach einer spezifischen auf die VTEC-Problematik ausgerichtete Untersuchungstätigkeit gestellt. Wyss und Hockenhjós (10) stellen in ihrer Arbeit fest, dass mit der Verschlechterung des Hygienestatus und damit einer Zunahme des Nachweises von *Enterobacteriaceae* auch ein steigender Anteil VTEC-positiver Schlachttierkörper festzustellen war. Dies ist aufgrund der hohen Prävalenz VTEC ausscheidender Tiere nicht erstaunlich. Vielmehr kann daraus gefolgert werden, dass sich der apparativ aufwendige und teure Nachweis von VTEC nicht eignet, um die Schlachthygiene zu überwachen. Zudem sagt ein positives VT-PCR-Screeningergebnis nichts aus über die Art des gebildeten Verotoxins oder über zusätzliche Virulenzfaktoren und somit die mögliche Pathogenität eines Stammes. Als praxistaugliche Verifikation der Schlachthygiene sollte daher vielmehr die aerobe mesophile Gesamtkeimzahl und die Zahl der *Enterobacteriaceae* herangezogen werden. Wichtig dabei ist allerdings eine regelmässige Auswertung der Ergebnisse und wenn notwendig das Eruiere der Fehler sowie das Ergreifen von Massnahmen.

Dank

Für die Mitarbeit im Rahmen dieser Untersuchungen möchte ich mich bei Sandra Schumacher ganz herzlich bedanken.

Zusammenfassung

Oberflächentupferproben von 166 Rinderschlachttierkörpern wurden nach Anreicherung mittels PCR auf das Vorkommen verotoxinbildender *E. coli* gescreent. Neun der 166 untersuchten Proben (0% der Kuh-, 10,6% der Mastmuni-/Rinder- und 8,3% der Fresser-/Kälber-Schlachttierkörper) zeigten ein VT-PCR positives Ergebnis. Sechs VTEC-Stämme wurden zudem phäno- und genotypisch weiter charakterisiert.

Zur Verifizierung der Schlachthygiene erscheinen aber VTEC-Untersuchungen von Schlachttierkörpern wenig sinnvoll. Als praxistaugliche Verifikation der Schlachthygiene sollte vielmehr die aerobe mesophile Gesamtkeimzahl und die Zahl der *Enterobacteriaceae* herangezogen werden. Wichtig dabei ist allerdings eine regelmässige Auswertung der Ergebnisse und wenn notwendig das Eruiere der Fehler sowie das Veranlassen von Massnahmen.

Résumé

Des échantillons provenant de 166 carcasses de bovins ont été examinés après enrichissement au moyen de RCP sur l'occurrence d'*Escherichia coli* produisant de la verotoxine (VTEC). Neuf des 166 échantillons examinés ont montré un résultat positif. Pour six souches de VTEC on a en outre réalisé une caractérisation phénotypique et génotypique. Cependant, pour le contrôle de l'hygiène d'abattage la recherche de VTEC sur les carcasses apparaît peu valable. Axé sur la pratique, c'est plutôt le nombre total de colonies et le nombre des entérobactériacées qui devraient être pris en compte. En plus, l'analyse régulière des résultats, ainsi que la détection et l'élimination d'erreurs sont d'une grande importance.

Summary «Prevalence of Verotoxin-producing *E. coli* (VTEC) on Beef Carcasses Sampled in two Abattoirs in Switzerland»

Surface swab samples from 166 beef cattle were screened after enrichment by means of PCR for the occurrence of verotoxin-producing *E. coli* (VTEC). Nine of the 166 examined samples showed a VT-PCR positive result. Six VTEC strains could be isolated and were further characterized. However, for the verification of slaughter hygiene VTEC investigation of carcasses appears not much appropriate. For a practice-suited verification procedure, it is rather the total aerobic mesophilic count and the number of *Enterobacteriaceae* that should be consulted. Furthermore, regular analysis of the results and if necessary corrective measures are of great importance.

Key words

VTEC, Beef carcasses, Prevalence, Slaughter hygiene, Microbiological verification

Literatur

- 1 Wilson J.B., Mc Ewen, S.A., Clarke, R.C., Leslie, K.E., Wilson, R.A., Waltner, T.D. and Gyles, C.L.: Distribution and characteristics of verocytotoxigenic *Escherichia coli* isolated from Ontario dairy cattle. Epidemiol. Infect. 108, 423–439 (1992).
- 2 Rios, M., Prado, V., Trucksis, M., Arellano, C., Borie, C., Alexandre, M., Fica, A. and Levine, M.M.: Clonal diversity of Chilean isolates of enterohemorrhagic *Escherichia coli* from patients with hemolytic-uremic syndrome, asymptomatic subjects, animal reservoirs, and food products. J. Clin. Microbiol. 37, 778–781 (1998).
- 3 Stephan, R., Ragettli, S. und Untermann, F.: Vorkommen verotoxinbildender *Escherichia coli* (VTEC) in Kottupfern von Schlachtrindern und Schlachtschafen – eine Betrachtung aus fleischhygienischer Sicht. Schweiz. Arch. Tierheilk. 142, 110–114 (2000).

- 4 *Anonym*: Commission of the European Communities: Code of good hygienic practices. EG-Document VI/5938/87 (1987).
- 5 *Burnens, A.P., Frey, A., Lior, H. and Nicolet, J.*: Prevalence and clinical significance of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC) isolated from cattle in herds with and without calf diarrhoea. *J. Vet. Med. B* **42**, 311–318 (1995).
- 6 *Schmidt, H., Rüssmann, H., Schwarzkopf, A., Aleksic, S., Heesemann, J. and Karch, H.*: Prevalence of attaching and effacing *Escherichia coli* in stool samples from patients and controls. *Zbl. Bakt.* **281**, 201–213 (1994).
- 7 *Rüssmann, H., Kothe, E., Schmidt, H., Franke, S., Harmsen, D., Caprioli, A. and Karch, H.*: Genotyping of Shiga-like toxin genes in non-0157 *Escherichia coli* strains associated with haemolytic uraemic syndrome. *J. Med. Microbiol.* **42**, 404–410 (1995).
- 8 *Schmidt, H., Beutin, L. and Karch, H.*: Molecular analysis of the plasmid encoded hemolysin of *Escherichia coli* 0157:H7 strain EDL 933. *Infect. Immun.* **63**, 1055–1061 (1995).
- 9 *Yamamoto, T. and Nakazawa, M.*: Detection and sequences of the enteroaggregative *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin 1 gene in enterotoxigenic *E. coli* strains isolated from piglets and calves with diarrhea. *J. Clin. Microbiol.* **35**, 223–227 (1997).
- 10 *Wyss, R. und Hockenjos, P.*: Nachweis von enterohämorrhagischen *Escherichia coli* (EHEC) auf Rinderschlachtkörpern. *Fleischwirtsch.* **12**, 84–86 (1999).
- 11 *Anonym*: Fleischhygieneverordnung (FHyV) vom 1. März 1995. Eidg. Drucksachen- und Materialzentrale, Bern 1995.
- 12 *Siragusa, G.R., Dorsa, W.J., Cutter, C.N., Bennett, G.L., Keen, J.E. and Koohmaraie, M.*: The incidence of *Escherichia coli* on beef carcasses and its association with aerobic mesophilic plate count categories during the slaughter process. *J. Food Prot.* **61**, 1269–1274 (1998).
- 13 *Untermann, F., Stephan, R., Dura, U., Hofer, M. and Heimann, P.*: Reliability and practicability of bacteriological monitoring of beef carcass contamination and their rating within a hygiene quality control programme of abattoirs. *Int. J. Food Microbiol.* **34**, 67–77 (1997).

Korrespondenzadresse: Dr. Roger Stephan, Institut für Lebensmittelsicherheit und -hygiene der Universität Zürich, Winterthurerstr. 270, CH-8057 Zürich