

# **Verfahren zum Nachweis verotoxinbildender Escherichia coli (VTEC) in Milch und Weichkäse = Method for detection of verotoxin-producing escherichia coli (VTEC) in milk and soft-cheese**

Autor(en): **Jäggi, Niklaus / Diezi, Mirco**

Objektyp: **Article**

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

Band (Jahr): **88 (1997)**

Heft 3

PDF erstellt am: **10.08.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-982330>

## **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.

## Verfahren zum Nachweis verotoxinbildender *Escherichia coli* (VTEC) in Milch und Weichkäse

Method for Detection of Verotoxin-producing *Escherichia coli*  
(VTEC) in Milk and Soft-cheese

*Key words:* *Escherichia coli*, VTEC, EHEC, Toxin Detection, Milk, Soft-cheese

Niklaus Jäggi und Mirco Diezi  
Migros-Genossenschafts-Bund, Zürich

### Einleitung

Seit Beginn der achtziger Jahre haben die verotoxinbildenden *Escherichia coli* (VTEC) in zunehmendem Masse als Erreger menschlicher Darmerkrankungen Bedeutung erlangt. Aus fast allen Erdteilen wird von dramatischen Kollektiverkrankungen, die für einige Patienten tödlich endeten, berichtet. Die Schweiz ist glücklicherweise bis jetzt von Epidemien verschont geblieben. Bei den sporadischen Erkrankungen scheint der in den USA dominierende VTEC Serovar 0157:H7 hierzulande nur eine untergeordnete Rolle zu spielen. Verotoxin-Produzenten sind im schweizerischen Rindviehbestand vorhanden (1) und wurden mittels PCR auch in Rindfleisch nachgewiesen (2). Ein VTEC (nicht 0157) wurde zudem erst kürzlich aus Hackfleisch isoliert (3). Wie Berichte aus Deutschland zeigen, sind auch Schafe und Ziegen Träger dieser Erreger (4). Aus diesen Gründen muss vermutet werden, dass Fleisch- und Milchprodukte aus dem In- und Ausland ein gewisses Gefährdungspotential beinhalten. Dies vor allem, wenn vor dem Konsum kein Erhitzungsschritt erfolgt, beispielsweise bei Tatar, Rohwurst, Vorzugsmilch oder Rohmilchkäse. Auf den Genuss von Weichkäse werden bereits mehrere Kollektiverkrankungen zurückgeführt (5–7).

Vorwiegend bei diesen Produkten stellt sich die Frage, mit welchen diagnostischen Mitteln der Nachweis einer Absenz von verotoxigenen *E. coli* erbracht werden kann. Da mittlerweile über hundert verschiedene *E. coli* Serotypen bekannt sind, die Verotoxine bilden, sind serogruppenspezifische Tests, wie sie vor allem für 0157 angeboten werden, nur bedingt von Nutzen (8). Die WHO äussert sich analog und hält fest, dass der einzige verlässliche Marker für VTEC-Infektionen das Shiga-

oder Verotoxin ist (9). Der Nachweis soll genotypisch mittels PCR oder DNA-Hybridisation oder aber phänotypisch beispielsweise mit immunologischen Tests für die Toxine geführt werden. Aufgrund der niedrigen infektiösen Dosis (7), wie auch der Tatsache, dass gerade die auf einem Bakteriophagen kodierte Fähigkeit zur Toxinbildung durch Subkultur verloren gehen kann, ist immer eine Anreicherung angezeigt. Diese empfiehlt sich auch deshalb, weil im Darm von Wirtstieren, wie auch in Lebensmitteln Toxinbildner zusammen mit einer Vielzahl harmloser *E. coli* vergesellschaftet sein können.

Ziel dieser Arbeit war es, für Milch und Weichkäse optimale Anreicherungsmedien und Bedingungen zu testen, um mittels dem kommerziell erhältlichen PREMIER EHEC ELISA die Bildung von Verotoxinen und dadurch die Präsenz oder Absenz verotoxinbildender *E. coli* verlässlich nachweisen zu können.

## Material und Methoden

### *E. coli*-Teststämme

0157:H7, ATCC 43899, SLT I, SLT II, eaeA, enthly. Stamm isoliert bei Kollektiv-Erkrankung in den USA 1982.

026:H-, SLT II, eaeA. NENT-Stamm 3235-93 aus CH-HUS Fall.

Die Stämme wurden uns freundlicherweise von Herrn Dr. A. Burnens, Nationales Zentrum für enteropathogene Bakterien (NENT), Bern, zur Verfügung gestellt.

### *Verwendete Lebensmittel*

Rohmilch, Morgengemelk, wurde frisch von einem Bauernhof abgeholt und gleichentags verwendet. Pasteurisierte Vollmilch und pasteurisierter Weichkäse (Schweizer Camembert vollfett) wurden lokal erworben.

### *Kulturmedien und Reagenzien*

Gepuffertes Peptonwasser (Oxoid CM 509)

MacConkey Bouillon (BioMérieux 51015)

Tryptone Soya Bouillon (Gibco BRL 14980-031) mit 20 mg/l Novobiocin (Fluka 74675) nach Autklavieren sterilfiltriert zugesetzt (nTSB)

Tryptone Soya Bouillon (Gibco BRL 14980-031) mit 100 ng/l Mitomycin (Sigma M-0503) nach Autklavieren sterilfiltriert zugesetzt (mTSB)

Tryptone Soya Agar (Oxoid CM 131)

Enterohämolysin-Agar (Oxoid RPP 105B)

PREMIER EHEC ELISA (Meridian Diagnostics, Produkt Nr. 608096, RUWAG Handels AG, Zürich)

### *Apparate*

Schüttelapparatur (Denley Orbital Mixer) mit ca. 140 Schüttelbewegungen/min.  
ELISA-Reader (Dynatech MR 5000) Auswertung mit zwei Wellenlängen 450/630 nm)  
Mixer (Krupps Rotary 500)

### *Einsaat der Testkeime*

Die Testkeime wurden mit einer Oese in 10 ml gepuffertes Peptonwasser übertragen und über Nacht bei 37 °C bebrütet. Danach wurde die Bakteriensuspension verdünnt und zur Titerbestimmung auf Tryptone Soja Agar ausgespatelt. Die Verdünnungsreihe wurde bei 4 °C aufbewahrt und bestimmte Aliquote am nächsten Tag verwendet.

### *Vorgehen bei der Untersuchung*

Weichkäse wurde vor der Einwaage mit dem Mixer homogenisiert. 25 g Lebensmittel wurden in sterile 300-ml-Duran-Enghalsflaschen eingewogen, mit der gewünschten Anzahl VTEC-Organismen versetzt, mit 225 ml Anreicherungsmedium verdünnt und manuell gemischt. Dieser Ansatz wurde während 18 h bei 37 °C (in einigen Ansätzen bei 42 °C) auf der Schüttelmaschine im Brutschrank bebrütet. Anschliessend wurde nach Vorschrift des Herstellers der PREMIER EHEC ELISA durchgeführt.

### *Toxinbildung von VTEC in Pastmilch*

Keimgehalte von ungefähr 40 und 4 KBE pro ml Milch wurden in Pastmilch inokuliert und die Toxinbildung in gepuffertem Peptonwasser, MacConkey Bouillon, Novobiocin Tryptone Soja Bouillon und Mitomycin Tryptone Soja Bouillon geprüft.

### *Toxinbildung von VTEC in Rohmilch*

Keimgehalte von ungefähr 40 und 4 KBE pro ml Milch wurden in Rohmilch inokuliert und die Toxinbildung in gepuffertem Peptonwasser, MacConkey Bouillon, Novobiocin Tryptone Soja Bouillon und Mitomycin Tryptone Soja Bouillon geprüft.

### *Toxinbildung von kältegeschädigten VTEC in Rohmilch*

Es wurde dieselbe Rohmilch aus dem vorhergehenden Versuch mit bereits inokulierten VTEC verwendet und während vier Tagen tiefgefroren. Nach dem Auftauen wurde die Toxinbildung in gepuffertem Peptonwasser, MacConkey Bouillon, Novobiocin Tryptone Soja Bouillon und Mitomycin Tryptone Soja Bouillon geprüft.

### *Einfluss des Schüttelns auf die Toxinbildung von VTEC*

Keimgehalte von ungefähr 1000, 200, 40 und 8 KBE pro Gramm Weichkäse wurden auf zuvor im Mixer zerkleinerten Weichkäse pipettiert und die Toxinbildung mit Mitomycin Tryptone Soja Bouillon in geschüttelter und ungeschüttelter Kultur geprüft.

### *Einfluss der Temperatur auf die Toxinbildung von VTEC*

Keimgehalte von ungefähr 20 und 2 KBE pro ml Milch wurden in Rohmilch inokuliert und die Toxinbildung mit Mitomycin Tryptone Soja Bouillon sowie Novobiocin Tryptone Soja Bouillon bei 37 °C und 42 °C geprüft. Es wurde mittels Temperaturschreiber überwacht, dass trotz der im Inkubator installierten und Wärme produzierenden Schüttelmaschine die Temperatur nicht über 42 °C + -0,5 °C hinausging.

### *Einfluss des VTEC-Gehaltes von Rohmilch und Weichkäse auf die Toxinbildung*

Keimgehalte von ungefähr 40, 8, 1,6 und 0,32 KBE pro ml Milch wurden in Rohmilch inokuliert und die Toxinbildung mit Mitomycin Tryptone Soja Bouillon geprüft. Es wurden zwei Ansätze mit unterschiedlicher Rohmilch und separat aufbereiteten Inokula untersucht. Analog wurden Keimgehalte von ungefähr 1000, 200, 40, 8, 1,6 und 0,32 KBE pro Gramm Käse auf Weichkäse pipettiert und die Toxinbildung mit demselben Anreicherungsmedium geprüft. Es wurden zwei, bei 40 und 8 KBE sogar drei Ansätze mit unterschiedlichem Weichkäse und separat aufbereiteten Inokula untersucht.

## **Resultate und Diskussion**

### *Auswertung*

Gemäss Hersteller wird für die photometrische Auswertung eine optische Dichte von >0,150 als positives Resultat angegeben. Die Erfahrung mit den unter-

suchten Milchprodukten hat jedoch gezeigt, dass eindeutig negative Resultate unter 0,03 liegen, und dass Werte über 0,10 mit Sicherheit Toxinproduktion anzeigten. (Die Teststämme waren nach Ausstrich auf Enterohämolysin-Agar wieder kultivierbar.) Werte dazwischen müssen als verdächtig eingestuft werden. In der Praxis wird bei positiven und verdächtigen Resultaten wohl ein kultureller Nachweis aus der Anreicherung angestrebt werden.

### Vergleich verschiedener Anreicherungsmedien

In mehreren Arbeiten und Methodenanleitungen werden zur Anreicherung von VTEC MacConkey Bouillon, Tryptone Soja Bouillon mit Zusatz von Novobiocin (nTSB-Medium) oder mit Zusatz von Mitomycin (mTSB-Medium) verwendet und empfohlen (10–13). Diese Medien und zusätzlich gepuffertes Peptonwasser wurden bezüglich Wachstum und Toxinbildung durch die zwei Teststämme 0157 und 026 verglichen. Die Extinktionswerte in Tabelle 1 zeigen, dass in pasteurisierter Milch sowohl VTEC 0157 wie auch VTEC 026 viel Toxin bildeten. Mit mTSB-Medium wurden die höchsten Extinktionswerte erzielt.

Der Versuch mit Rohmilch (Tabelle 2) zeigt, dass die Menge des gebildeten Toxins beim VTEC-Teststamm 026, der wie beschrieben nur SLTII produzieren kann, im Vergleich zur pasteurisierten Milch merklich zurückging. Rohmilch enthält mehr lebensfähige Bakterien, welche das Wachstum und die Bildung von Toxin durch die Teststämme stören können. Zusätzlich können die in Rohmilch vorhandenen bakterienhemmenden Faktoren, wie zum Beispiel die Lactoperoxidase (14), eine Rolle gespielt haben. Wiederum lieferte das mTSB-Medium die höchsten Absorptionswerte. Dieselbe Rohmilch mit exakt denselben VTEC-Inocula wurde während vier Tagen tiefgefroren und danach nochmals untersucht. Aus den Ergebnissen in Tabelle 3 geht hervor, dass, sobald die VTEC-Organismen subletal geschädigt waren, nur noch die TSB-Medien Toxinbildung ermöglichten.

Diese Versuche belegen, dass das mTSB-Medium für Milch das geeignetste Anreicherungsmedium darstellt. Offensichtlich ist die Eignung diverser Anreicherungsmedien stark produkteabhängig. Insbesondere bei Produkten mit vorwie-

Tabelle 1. Toxinbildung von VTEC in pasteurisierter Milch in Abhängigkeit von Keimgehalt und Anreicherungsmedium

	VTEC 0157		VTEC 026	
Inoculum (KBE/ml Milch)	40	4	40	4
Gepuffertes Peptonwasser	1,49	1,44	1,41	1,37
MacConkey Bouillon	1,77	1,77	1,06	1,03
Novobiocin Tryptone Soya Bouillon	1,65	1,64	1,26	1,33
Mitomycin Tryptone Soya Bouillon	2,01	1,89	1,80	1,77

(Absorption > 0,10 = positiv)

*Tabelle 2.* Toxinbildung durch VTEC in Rohmilch in Abhängigkeit von Keimgehalt und Anreicherungsmedium

	VTEC 0157		VTEC 026	
	40	4	40	4
Inoculum (KBE/ml Milch)	40	4	40	4
Gepuffertes Peptonwasser	0,37	0,07	0,80	0,23
MacConkey Bouillon	1,37	0,30	0,30	0,20
Novobiocin Tryptone Soya Bouillon	>2,5	1,64	0,44	0,42
Mitomycin Tryptone Soya Bouillon	>2,5	1,65	>2,5	1,63

(Absorption > 0,10 = positiv, 0,05–0,10 verdächtig)

*Tabelle 3.* Toxinbildung durch kältegeschädigte VTEC in Rohmilch, in Abhängigkeit von Keimgehalt und Anreicherungsmedium

	VTEC 0157		VTEC 026	
	40	4	40	4
Inoculum (KBE/ml Milch)	40	4	40	4
Gepuffertes Peptonwasser	0,01	0,03	0,03	0,01
MacConkey Bouillon	0,08	0,01	0,02	0,01
Novobiocin Tryptone Soya Bouillon	0,67	0,08	0,20	0,11
Mitomycin Tryptone Soya Bouillon	1,04	0,24	n.b.	0,09

(Absorption > 0,10 = positiv, 0,05–0,10 verdächtig, n.b. = nicht bearbeitet)

gend grampositiver Begleitflora, wie Hackfleisch oder Mettwurst, haben sich MacConkey Bouillon oder Enterohämolyse-Agar mit Vancomycin als effizient erwiesen (10, 15). Dies lässt sich dadurch erklären, dass Gallensalze und Kristallviolett in MacConkey-Medien sowie Vancomycin und auch das in der vorliegenden Untersuchung verwendete Novobiocin vorwiegend die grampositive Flora hemmen, während Mitomycin gegen grampositive wie gramnegative Bakterien wirksam ist (16).

#### *Anreicherungskulturen geschüttelt und nicht geschüttelt*

Mit wenigen Ausnahmen werden VTEC in Schüttelkulturen angereichert. Diese Praxis ist im Routinelabor nicht üblich und umständlich, da in der Regel kein Schüttelinkubator zur Verfügung steht. Es wurde deshalb abgeklärt, ob Schütteln während der Inkubation einen Einfluss auf die Rate der positiven Befunde hat. Aus Tabelle 4 geht hervor, dass in Weichkäse der Teststamm 026 tatsächlich nur in geschüttelter Kultur Toxin bildete. Auch ein weiterer Versuch mit Rohmilch bestätigte, dass Schütteln durchwegs höhere Toxinausbeuten ergab (Daten nicht gezeigt).

*Tabelle 4.* Einfluss des Schüttelns von Anreicherungskulturen in Mitomycin Tryptone Soya Medium auf die Toxinbildung von VTEC in Weichkäse

Inoculum (KBE/g Käse)	VTEC 0157				VTEC 026			
	1000	200	40	8	1000	200	40	8
Kulturen geschüttelt	0,30	0,26	0,01	0,01	0,14	0,14	0,01	0,01
Kulturen nicht geschüttelt	0,54	0,25	0,24	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01

(Absorption > 0,10 = positiv)

*Anreicherung bei 37 °C und bei 42 °C*

Obwohl VTEC bei 43 °C und 44 °C nicht mehr wachstumsfähig sind (13), haben *Bolton et al.* (11) bei 42 °C mit nTSB und nachfolgender immunomagnetischer Separation positive Resultate erzielt. Der Vorteil einer höheren Bebrütungstemperatur liegt bei der selektiven Hemmung der Begleitkeime. In Vorversuchen wurde abgeklärt, dass die zwei verwendeten VTEC-Stämme bei 42 °C auf Enterohaemolysin-Agar wie auch in mTS-Bouillon wachsen konnten. Trotzdem wurde in Rohmilch weder mit nTSB- noch mit mTSB-Medium bei 42 °C Toxin gebildet (Tabelle 5). Ein zweiter Versuch mit Weichkäse bestätigte diese Resultate (Daten nicht gezeigt).

*Tabelle 5.* Einfluss der Temperatur auf die Toxinbildung von VTEC in Rohmilch

Bebrütungs- temperatur	Anreicherungsmedium (KBE/ml Milch)	VTEC 0157		VTEC 026	
		20	2	20	2
37 °C	Novobiocin Tryptone Soya Bouillon	1,00	0,33	0,76	0,09
37 °C	Mitomycin Tryptone Soya Bouillon	2,37	1,73	2,02	1,13
42 °C	Novobiocin Tryptone Soya Bouillon	0,01	0,01	0,01	0,01
42 °C	Mitomycin Tryptone Soya Bouillon	0,01	0,01	0,01	0,01

(Absorption > 0,10 = positiv, 0,05–0,10 = verdächtig)



## Nachweisgrenze von VTEC in Rohmilch und Weichkäse

In Tabelle 6 sind die Resultate von bis zu drei unterschiedlichen Ansätzen zusammengefasst. Es wird deutlich, dass die Nachweisgrenze für Rohmilch bei ungefähr 1,6 KBE pro Milliliter liegt. In derselben Grössenordnung ist auch anderen Autoren der Nachweis gelungen (10–12). Hingegen liegt bei Weichkäse die Nachweisgrenze mit dem 0157-Stamm bei 8 KBE pro Gramm und mit dem 026-Stamm gar bei 200 KBE pro Gramm. Diese Werte sind ungenügend, da wie erwähnt die infektiöse Dosis für VTEC-Erreger sehr tief ist. Der Grund für diese erhöhte Nachweisgrenze ist wahrscheinlich auf die im Weichkäse um Zehnerpotenzen erhöhte Begleitflora (zugesetzte grampositive Milchsäurekulturen wie auch gramnegative Bakterien) zurückzuführen.

Bis zum Vorliegen eines empfindlicheren Nachweises muss die vorgestellte Methode für Weichkäse und insbesondere Rohmilchweichkäse, dessen gramnegative Begleitflora diejenige des pasteurisierten Weichkäses in der Regel bei weitem überschreitet, als ungenügend bezeichnet werden. Hingegen ergaben die vorliegenden Untersuchungen bei Rohmilch befriedigende Resultate. Zur besseren hygienischen Überwachung von Rohmilchkäse hinsichtlich VTEC bietet sich deshalb als Ausweg an, Rohmilch der einzelnen Produzenten oder allenfalls Kot- oder Tupferproben der Tierbestände selbst zu testen.

Tabelle 6. Einfluss des VTEC-Gehaltes von Rohmilch und Weichkäse auf die Toxinbildung in Mitomycin Tryptone Soya Anreicherungsmedium

Rohmilch			Weichkäse		
KBE/ml	VTEC 0157	VTEC 026	KBE/g	VTEC 0157	VTEC 026
1000	n.b.	n.b.	1000	0,30/0,95	0,14/0,20
200	n.b.	n.b.	200	0,26/0,69	0,14/0,10
40	0,44/1,50	0,60/1,27	40	0,11/0,29/0,01	0,03/0,01/0,03
8	0,35	0,07/0,45	8	0,53/0,10/0,01	0,03/0,01/0,02
1,6	0,16/0,45	0,05/0,10	1,6	0,03/0,01	0,03/0,01
0,32	0,02/0,01	0,03/0,01	0,32	0,03/0,01	0,03/0,01

(Absorption > 0,10 = positiv, 0,05–0,10 = verdächtig, n.b. = nicht bestimmt)

### Zusammenfassung

Rohmilch, pasteurisierte Milch und Weichkäse aus Pastmilch wurden mit zwei verotoxinbildenden *E. coli*-Stämmen der Serogruppen 0157:H7 und 026:H versetzt. 25 g dieser Lebensmittel wurden mit verschiedenen Anreicherungsbouillons zehnfach verdünnt, bebrütet und danach die Toxinbildung mit einem kommerziell erhältlichen Toxin-ELISA photometrisch gemessen. Von vier getesteten Anreicherungsmedien erwies sich für diese Produkte

Tryptone Soja Bouillon mit Zusatz von Mitomycin als am besten geeignet. Geschüttelte Anreicherungskulturen erbrachten höhere Toxinausbeuten als ungeschüttelte. Nach Bebrütung bei 42 °C konnte kein Toxin nachgewiesen werden. Die Nachweisgrenze in Rohmilch lag bei ca. 1,6 KBE/ml, während bei Weichkäse je nach Serotyp eine solche von 8 beziehungsweise 200 KBE/g Lebensmittel resultierte. Diese Untersuchung zeigt, dass beim Nachweis von VTEC je nach Lebensmittel und Begleitflora sehr unterschiedliche Nachweisgrenzen resultieren. Diese sollten ermittelt werden, bevor ein Test im Routinelabor etabliert wird.

### Résumé

Deux souches d'*E. coli* des groupes sérologiques 0157:H7 et 026:H productrices de verotoxine ont été mélangées à du lait cru, du lait pasteurisé et du fromage à pâte molle produit à partir de lait pasteurisé. 25 g de chacun de ces produits alimentaires ont été dilués 10 fois avec différents bouillons d'enrichissement et incubés. À l'aide d'un test Toxin-ELISA commercialisé, on a ensuite mesuré par photométrie la formation de toxines. Parmi les quatre milieux d'enrichissement testés, le Tryptone Soya Bouillon avec adjonction de mitomycine s'est révélé le meilleur pour ces produits. L'agitation des cultures d'enrichissement a donné de meilleurs résultats. Après l'incubation à 42 °C, on n'a pas pu trouver de toxine. La limite de détection pour le lait cru est voisine de 1,6 UFC/ml, tandis qu'elle est de 8 respectivement 200 UFC/g selon le sérotype pour le fromage à pâte molle. Cette étude montre que la limite de détection de VTEC peut varier considérablement selon l'aliment et la flore qui l'accompagne. Il faudrait trouver ces variations avant d'établir un test de routine en laboratoire.

### Summary

Raw milk, pasteurised milk and soft-cheese made from pasteurised milk were inoculated with *Escherichia coli* of the verotoxin producing serovars 0157:H7 and 026:H. 25 grams of these milk-products were tenfold diluted with different enrichment broths. After overnight incubation, toxin production was measured in a photometer using a commercially available ELISA. Of the compared media, tryptone soy broth supplemented with mitomycin was shown to give the highest toxin yields. Shaking during incubation increased toxin production. After the incubation at 42 °C no toxin could be detected. The limit of detection for raw milk proved to be approximately 1.6 CFU/ml, whereas for soft cheese it was 8 and 200 CFU/g depending on the inoculated serotype. It was stipulated that in products with a high content of gramnegative bacteria, such as soft cheese, these pathogens are more difficult to grow. These findings have to be born in mind, before setting up protocols for routine testing.

### Literatur

1. Burnens, A.P., Frey, A., Lior, H. and Nicolet, J.: Prevalence and clinical significance of Vero-cytotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC) isolated from cattle in herds with and without calf diarrhoea. *J. Vet. Med.* **B 42**, 311–318 (1995).
2. Baumgartner, A. and Grand, M.: Detection of verotoxin-producing *Escherichia coli* in minced beef and raw hamburgers: comparison of polymerase chain reaction (PCR) and immunomagnetic beads. *Arch. Lebensmittelhyg.* **46**, 125–148 (1995).

3. Stutz, W.: Jahresbericht des Kantonalen Laboratoriums Basel-Landschaft (1996).
4. Bülte, M., Heckötter, S. und Schwenk, P.: Enterohämorrhagische *E. coli* (EHEC) – aktuelle Lebensmittelinfektionserreger auch in der Bundesrepublik Deutschland? 2. Nachweis von VTEC-Stämmen in Lebensmitteln tierischen Ursprungs. *Fleischwirtschaft* 76 (1), 88–91 (1996).
5. Bockemühl, J. und Karch, H.: Zur aktuellen Bedeutung der enterohämorrhagischen *Escherichia coli* (EHEC) in Deutschland (1994–1995). *Bundesgesundheitsbl.* 8, 290–296 (1996).
6. Deschènes, G.C., Casenave, F., Grimont, J.C., Desenclos, S., Benoit, M., Collin, M., Baron, P., Mariani, P., Grimont, P.A.D. and Nivet, H.: Cluster of cases of haemolytic uraemic syndrome due to unpasteurised cheese. *Pediatr. Nephrol.* 10, 203–205 (1996).
7. Advisory Committee on the Microbiological Safety of Food: Report on Verocytotoxin – Producing *Escherichia coli*. HMSO, London 1995.
8. Baumgartner, A., Jemmi, T. und Burnens, A.: Nachweis enterohämorrhagischer *Escherichia coli* (EHEC) aus Lebensmitteln: aktueller Stand. *Bulletin des BAG* Nr. 31, 3–5 (1996).
9. WHO: Report of WHO Working Group Meeting on Shiga-like toxin producing *Escherichia coli* (SLTEC), with emphasis on zoonotic aspects. Bergamo, Italy (1994).
10. Acheson, D.W.K., Linicome, L.L., De Breucker, S. and Keusch, G.T.: Detection of Shiga-like toxin-producing *Escherichia coli* in ground beef and milk by commercial enzyme immunoassay. *J. Food Protec.* 59 (4), 344–349 (1996).
11. Bolton, E.J., Crozier, L. and Williamson, J.K.: New technical approaches to *Escherichia coli* 0157. *PHLS Microbiology Digest* 12 (2), 67–70 (1995).
12. Johnson, J.L., Rose, B.E., Sharar, A.K., Ransom, G.M., Lattuada, C.P. and McNamara, A.M.: Methods used for detection and recovery of *Escherichia coli* 0157:H7 associated with a food-borne disease outbreak. *J. Food Protec.* 58 (6), 579–603 (1995).
13. Richter, H.: Vorläufiges Verfahren zum qualitativen Nachweis von Verotoxin-bildenden *Escherichia coli* (VTEC) in Milch. *Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin* (1996).
14. Acker, L., Bergner, K.-G., Diemair, W., Heimann, W., Kiermeier, F., Schormüller, J. und Souci, S.W.: *Handbuch der Lebensmittelchemie*. Band III., Teil 1, 102–103. Springer, Berlin, Heidelberg, New York 1968.
15. Pozzi, W., Beutin, L. und Weber, H.: Überleben und Nachweis von enterohämorrhagischen *Escherichia coli* in streichfähiger Rohwurst. *Fleischwirtschaft* 76 (12), 1300–1311 (1996).
16. Burkhardt, F.: *Mikrobiologische Diagnostik*, 727ff. Georg Thieme, Stuttgart 1992.

Dr. Niklaus Jäggi  
 Mirco Diezi  
 Migros-Genossenschafts-Bund  
 Zentrallaboratorium  
 Postfach 266  
 CH-8031 Zürich