

# Journal of Food Safety and Food Quality

No. **5**

Archiv für Lebensmittelhygiene

## Highlights in this issue

- Retail and street vendors of fish and fish products Page 116
- Nematodes in wild salmon Page 125

Volume 65  
September/October 2014

Pages 113–132  
ISSN 0003-925 X

R-Biopharm AG 

## RIDASCREEN® T-2 / HT-2 Toxin ELISA

Hafer, Mais, Weizen und Gerste  
verlässlich analysieren –  
Damit der Tag mit einem gesunden  
Müsli beginnen kann.

Außerdem verfügbar:  
RIDASCREEN® T-2 Toxin  
RIDASCREEN®FAST T-2 Toxin



R-Biopharm AG • An der neuen Bergstraße 17, 64297 Darmstadt • [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com)



# Quantify T-2 / HT-2 Toxin in Food

European commission set guidance levels for the sum of T-2 and HT-2 toxin in food whose compliance can be reliably tested with the new RIDASCREEN® T-2 / HT-2 Toxin ELISA.

With the increase of food safety awareness in the past years T-2 toxin and its metabolite HT-2 toxin came into focus. Both mycotoxins are produced by cereal-infecting molds and are able to induce serious health problems such as immunosuppression and increased susceptibility to infection.

T-2 and HT-2 toxin belong to the trichothecene A mycotoxins mainly produced by *Fusarium* molds whose spores infect cereals during plant flowering. Contamination prevention measures at the stage of agricultural production are very important. However, *Fusarium* infection of cereals can't be completely avoided. Once contaminated with T-2 and HT-2 toxins these highly heat stable mycotoxins cannot be reduced by ordinary procedures of cereal processing or cooking and the toxins keep their toxicity despite this treatment. Their frequent occurrence and high stability indicate the need for consistent screening for T-2 and HT-2 toxin of cereals and cereal products before human consumption.

Natural contamination occurs in many cereals cultured. Very frequently T-2 and HT-2 toxin are detected in oats, corn, barley, wheat and further grains, as well as their products. RIDASCREEN T-2 / HT-2 Toxin (art. no. R3805) uses an immunological detection method based on the antigen-antibody reaction, well-established for trichothecenes. The competitive ELISA shows a high specificity to T-2 toxin and HT-2 toxin, allowing for the efficient screening of the sum of these toxins in food samples. A particular advantage is the water-based toxin extraction method offered for the major parameter oats. This organic-solvent-free extraction method improves work safety and causes less hazardous chemical waste compared to

conventional extraction methods which often use organic solvents like methanol, acetonitrile or ethanol.

The R-Biopharm ELISA for the detection of T-2 and HT-2 is reliable, robust and specific. RIDASCREEN T-2 / HT-2 toxin was extensively validated for oats, corn, barley and wheat. Recovery of T-2 and HT-2 toxin in naturally contaminated samples is excellent (105 %). The available data documents the high sensitivity and very low limits of detection. This allows using the test to analyze these matrices for the compliance of EU guidance levels. A copy of the validation report is available from R-Biopharm on request.

## RIDASCREEN® T-2 / HT-2 Toxin

The RIDASCREEN T-2 / HT-2 Toxin is a competitive enzyme immunoassay for the quantitative analysis of the sum of T-2 and HT-2 toxin in oats, corn, barley and wheat.

- Extensively tested with naturally contaminated and spiked commodities
- Excellent recovery rates in naturally contaminated samples
- Water-based extraction for the main parameter oats. Extraction buffer concentrate included in the kit.
- Specifications accomplish EU-wide guidance levels for the sum of T-2 / HT-2 toxin
- Test duration 45 min

ORIGINALARBEITEN

Kashif Nauman, Peter Paulsen, Sharhiar Vali,  
Frans J. M. Smulders

Gehalte an biogenen Aminen, aerobe  
Gesamtkeimzahl und Vorkommen von  
Nematodenlarven und *Listeria mono-*  
*cytogenes* in Fisch und Fischerei-  
erzeugnissen in Wien ..... 116

Bülent Ergönül, Akif Kundakçı, Selcan Durgun

Hygienische Qualität von gefüllten  
mediterranen Muscheln (*Mytilus*  
*gallovincialis*) von Straßenverkäufern  
in Izmir, Türkei ..... 121

Elke Müller-Hohe, Uta Ballin, Birgit Holland,  
Marianne Wagler, Michael Walter,  
Jörg Oehlschläger

Untersuchungen zum Vorkommen von  
Nematodenlarven in pazifischem Wildlachs  
(*Oncorhynchus* spp.) in Abhängigkeit von  
der Lokalisation im Filet ..... 125

ORIGINAL ARTICLES

Kashif Nauman, Peter Paulsen, Sharhiar Vali,  
Frans J. M. Smulders

Contents of biogenic amines, Total  
Aerobic Counts, and prevalence of  
nematode larvae and *Listeria monocy-*  
*genes* in fish and fish products sold at  
retail in Vienna ..... 116

Bülent Ergönül, Akif Kundakçı, Selcan Durgun

Hygienic quality of stuffed  
Mediterranean mussels (*Mytilus*  
*gallovincialis*) sold by street vendors  
in Izmir, Turkey ..... 121

Elke Müller-Hohe, Uta Ballin, Birgit Holland,  
Marianne Wagler, Michael Walter,  
Jörg Oehlschläger

Investigations on the occurrence of  
larvae of nematodes in Pacific salmon species  
(*Oncorhynchus* spp.) in different parts  
of the fillet ..... 125

Schriftleitung

Prof. Dr. G. Klein, Institut für Lebensmittel-  
qualität und -sicherheit, Stiftung Tierärztliche  
Hochschule, Bischofsholer Damm 15,  
30173 Hannover

Prof. Dr. E. Haunhorst, Niedersächsisches  
Landesamt für Verbraucherschutz und  
Lebensmittelsicherheit, Postfach 39 49,  
26029 Oldenburg

Editorial Board

Dr. O. Andreoletti, INRA, Ecole Nationale  
Vétérinaire de Toulouse, Frankreich

Dr. U. P. Brunner, Tierärztliche Vereinigung  
für Lebensmittelsicherheit und Tiergesund-  
heit, Schaffhausen

Prof. Dr. M. Bülte, Institut für Tierärztliche  
Nahrungsmittelkunde, Justus-Liebig-  
Universität Gießen

Dir. u. Prof. Dr. L. Ellerbroek, Bundesinstitut  
für Risikobewertung, Berlin

Prof. Dr. K. Fehlhaber, Institut für Lebens-  
mittelhygiene, Universität Leipzig

Prof. Dr. G. Hildebrandt, Institut für Lebens-  
mittelhygiene, Freie Universität Berlin

LVetD Dr. D. Horn, CVUA-RRW, AöR, Krefeld

Min.Rat Dr. H. Kobelt, Bundesministerium für  
Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucher-  
schutz, Bonn

Prof. Dr. W. Luf, Institut für Milchhygiene,  
Veterinärmedizinische Universität Wien,  
Österreich

Dr. A. Martínez López, Instituto de  
Agroquímica y Tecnología de Alimentos  
(CSIC), Valencia, Spanien

Prof. Dr. Dr. h.c. E. Märtilbauer, Lehrstuhl für  
Hygiene und Technologie der Milch, Ludwig-  
Maximilians-Universität München

Dr. C. Nguyen-The, INRA,  
Avignon, Frankreich

Dr. K. Nöckler, Bundesinstitut  
für Risikobewertung (BfR), Berlin

Prof. Dr. M. Prieto Maradona,  
Universidad de León, Spanien

Dr. A. Rampp, Bayerisches Landesamt  
für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit,  
Oberschleißheim

Prof. Dr. F. Smulders, Institut für  
Fleischhygiene, Veterinärmedizinische  
Universität Wien, Österreich

Prof. Dr. R. Stephan, Institut für  
Lebensmittelsicherheit und -hygiene,  
Universität Zürich, Schweiz

Prof. Dr. K. Troeger, Max Rubner-Institut,  
Kulmbach

Arch Lebensmittelhyg 65,  
116–120 (2014)  
DOI 10.2376/0003-925X-65-116

© M. & H. Schaper GmbH & Co.  
ISSN 0003-925X

Korrespondenzadresse:  
kashifctn@gmail.com

<sup>1)</sup> Institute of Meat Hygiene, Meat Technology and Food Sciences, Department of Farm Animal and Public Health, University of Veterinary Medicine, Veterinärplatz 1, 1210 Vienna, Austria, <sup>2)</sup> Department of Meat Technology, University of Veterinary and Animal Sciences, Lahore, Pakistan

## Contents of biogenic amines, Total Aerobic Counts, and prevalence of nematode larvae and *Listeria monocytogenes* in fish and fish products sold at retail in Vienna

*Gehalte an biogenen Aminen, aerobe Gesamtkeimzahl und Vorkommen von Nematodenlarven und Listeria monocytogenes in Fisch und Fischereierzeugnissen in Wien*

Kashif Nauman<sup>1,2)</sup>, Peter Paulsen<sup>1)</sup>, Sharhiar Vali<sup>1)</sup>, Frans J. M. Smulders<sup>1)</sup>

### Summary

Ready to eat (RTE) fishery products (n = 53) and non-ready to eat (Non-RTE) fish samples (n = 49) were obtained from retail shops in Vienna. The 102 samples were analyzed for content of biogenic amines, total aerobic count and *Listeria monocytogenes* (in 25 g). Raw and marinated saltwater fish was tested for nematodes.

Histamine content >100 mg/kg was observed in one tuna (496 mg/kg) and one trout (280.7 mg/kg) fillet. For histamine and spermine contents, a significant ( $P \leq 0.05$ ) effect of fish species was observed, whereas putrescine was significantly affected by processing mode and storage temperature. No significant correlation was found between amine contents and total aerobic counts. *Listeria monocytogenes* were detected in one RTE sample and four Non-RTE samples. Presumptive nematode larvae were found in 11 Non-RTE and two RTE samples.

Keywords: Fish, market samples, biological hazards, biogenic amines

### Zusammenfassung

Verzehrsfertige Fischereierzeugnisse (RTE, n = 53) und nicht-verzehrfertiger Fisch (Non-RTE, n = 49) wurden aus Lebensmittelgeschäften in Wien bezogen. Die 102 Proben wurden auf den Gehalt an biogenen Aminen, aerobe mesophile Keimzahl und *Listeria monocytogenes* (nachweisbar in 25 g) untersucht. Rohes und mariniertes Seefisch wurde auf Nematodenlarven untersucht.

Histamingehalte >100 mg/kg wurden in je einem Thunfisch- (496 mg/kg) und Forellenfilet (280,7 mg/kg) bestimmt. Histamin- und Spermingehalte wurden signifikant ( $P \leq 0.05$ ) von der Fischart bestimmt. Die Putrescingehalte wurden signifikant von der Verarbeitungstechnik und Lagerungstemperatur beeinflusst. Zwischen der aeroben mesophilen Keimzahl und den Amingehalten bestand kein signifikanter Zusammenhang. *Listeria monocytogenes* wurden in einer RTE Probe und in vier Non-RTE Proben gefunden. Präsumtive Nematodenlarven wurden in 11 Non-RTE und zwei RTE Proben gefunden.

Schlüsselwörter: Fisch, Marktproben, biologische Gefahren, biogene Amine

## Introduction

From the beginning of history humans are using marine and fresh water animal products for their food (EFSA, 2010). Among them fish represents a valuable source of white meat, providing approximately one-fifth of animal protein consumption and other nutrients in many parts of the world (Esteban, 2012). Fish meat is well suitable for human nutrition, because it contains easily digestible proteins, vitamins, minerals and particularly long chain polyunsaturated fatty acids (n-3) important for cardiac health, brain development and reproduction. It is consumed as fresh fish or as frozen, salted, dried, smoked, canned or as fermented products.

In Austria, the *per capita* consumption of fish amounts to 7.7 kg annually. Most fish and fishery products are imported from Denmark, Poland, France and Germany, i. e. 66,159 tonnes per year which represents 93 % of the total fish consumption (Statistics Austria, 2013).

As regards food safety, fish and fishery products may contain a variety of biological hazards. Among those of bacterial origin, *Listeriae* are known to be associated with cold-smoked fish fillets (Eklund et al., 1995; Feldhusen et al., 2001; Gram, 2001).

Besides pathogenic bacteria, compounds produced by bacterial metabolism are also classified as biological hazards. For instance, this applies to biogenic amines which are formed by degradation of amino acids (Silla-Santos, 1996). The formation of such amines is largely governed by the abundance of free amino acids as precursors and the presence and activity of endogenous or bacterial enzymes; in particular, the flesh of certain fish species is rich in free histidine, which can be converted to the vasoactive histamine. Quite recently, tolerable values for dietary biogenic amines have been elaborated by EFSA (EFSA, 2011) at EU level, and – more specifically taking into account local dietary habits – for Austria (Rauscher-Gabernig et al., 2009; Paulsen et al., 2012; Rauscher-Gabernig et al., 2012).

Fish-borne parasites are relevant as agents causing infectious disease. Worldwide the number of people at risk, including those in developed countries, is more than half a billion (EFSA, 2010).

In the EU, the Rapid Alert System for Food and Feed-stuff (RASFF), has, since its establishment in 1979, recorded 494 notifications of parasitic infestation of fish – 366 of which explicitly related to *Anisakis* sp. (2 from Austria) – and among 617 notifications of pathogenic bacteria, 432 related to *Listeria monocytogenes* (52 from Austria). In

Austria, cases of fish-derived human Anisakiasis cases have been reported (Auer et al., 2007; Kapral et al., 2009).

It can be argued, that “safe” processing practices would inactivate the parasites, and, thus, eliminate the risk. However, the role of fish borne parasites as allergens should not be neglected. Nowadays, *Anisakis* allergens are included in the standard sets of allergens during allergy investigation (Garcia et al., 2001). These allergens may be present in food as excretory and secretory antigens from living larvae or somatic and cuticular antigens from dead and disintegrating larvae (Audicana and Kennedy, 2008). Among all these, *Ani s 4* is a clinically relevant allergen due to its heat-, acid- and pepsin resistant properties and its importance in the anaphylaxis process (Rodriguez-Mahillo et al., 2008; Vidacek et al., 2009; Vidacek et al., 2011).

The main task of this work was to present recent data on biogenic amines contents in fish retailed in Vienna, and to assess if these would exceed tolerable values. In addition, other biological hazards were studied, depending on the type of fish and the mode of processing.

## Materials and Methods

### Acquisition of samples

A total of 102 samples (one original packing unit or  $\geq 200$  g fresh fish fillet) of 23 types of fishes of processed and semi processed fish meat products (i. e. raw chilled, raw frozen, smoked and marinated products) were purchased from major retail stores of Vienna city (Table 1). Particular care was taken that similar types of products originated from different brands (suppliers). All products were transported to the laboratory in chilled storage conditions at  $4 \pm 3$  °C, if refrigerated storage was indicated on the label, otherwise at ambient temperature.

### Examination of samples

Examination of samples started within 24 h after arrival at the laboratory, but always before the “use by” or “best before” date. Examination procedure differed according to processing technology (Table 1).

For fish canned in brine or oil, the liquid was drained off, and the flesh homogenized. Then, aliquots were taken for microbiological examination (10 g for TAC; 25 g for *Listeria*) and 10 g for determination of biogenic amines.

Samples were subjected to microbiological analysis, determination of biogenic amines and pH. In brief, total aerobic count was determined by plating out of serial tenfold dilutions (MRD, OXOID CM0733) on plate count

**TABLE 1:** Overview on samples and tests conducted.

Origin of fish	Processing of fish	n =	Ready-to-eat product?	TAC, n =	biogenic amines, n =	Listeria, n =	Nematodes n =	Main species
Freshwater	Raw on ice	5	no	5	4	5	5	Trout (n = 3)
	Raw-deep frozen	5	no	5	4	5	5	Trout (n = 3)
	Smoked	3	yes	3	3	3	3	Trout (n = 3)
	total	13		13	11	13	13	
Saltwater	Raw on ice	9	no	9	9	9	9	Salmon (n = 4)
	Raw-deep frozen	30	no	30	26	30	30	Salmon (n = 15), pollock (n=5), cod (n = 3)
	Smoked	16	yes	16	11	16	16	Salmon (n = 15)
	Marinated	6	yes	6	4	6	6	Herring (n = 4)
	Fully retorted can	28	yes	28	23	28	28	Mackerel (n = 9); sardine (n=6); tuna (n=5); herring (n=5)
	total	89		89	73	89	89	

agar (Merck 1.05463) and counting colonies after 72 h incubation at 30 °C (ISO, 2003), and the presence of *Listeria monocytogenes* in 25 g aliquots was assessed after enrichment in 1/2 Fraser broth (Oxoid CM0895, SR0166), incubation 72 h at 30 °C, then culturing the enrichment broth on ALOA agar (CM1084, SR0226), incubation 72 h at 30 °C (Fraser and Sperber, 1988). Biogenic amines were determined as follows: 10 g of minced sample are homogenized with 90 g 10 % (w/v) trichloroacetic acid and filtrated. Biogenic amines were derivatised under alkaline conditions with dansylchloride at 70 °C. Dansylated amines were separated using an HPLC method and were detected by UV-VIS absorption (Paulsen et al., 2006).

In addition, 23 types of fish from different fishing zones were analyzed for nematodes by two different techniques, i. e. fluorescence detection (fillets pressed to a thin slice were examined under 350 nm illumination) and peptic digestion method (200 g minced fish are suspended with 6 g pepsin and 8 ml 25 % HCl in 1L water, stirred at 40–45 °C for 20–30 min. and filtered through a 1 mm<sup>2</sup> diameter mesh. Longitudinal objects retained by the mesh are examined under the microscope) (Bratney, 1988; Karl et al., 2002).

#### Statistical processing of results

Biogenic amine contents were related to fish family, temperature and processing technology (independent factors) via ANOVA, with Fisher's LSD to discriminate among means (Statgraphics 3.0; Princeton, NJ, USA). Statistical significance was established at  $P \leq 0.05$ . Correlation analysis was done for log transformed bacterial numbers against biogenic amine contents.

## Results and Discussion

#### Contents of biogenic amines in fish at retail in Vienna, and comparison with legal limits and tolerable values

Table 2 relates biogenic amines amount in RTE and Non-RTE fish products to legal limits and recommended tolerance levels. None of the RTE samples exceeded legal limits or maximum tolerance levels. Among Non-RTE fish,

amine contents above limits or tolerance values were detected in four of 39 samples: trout, 30.9 mg/kg  $\beta$ -phenylethylamine; Atlantic cod, 622 mg/kg cadaverine; tuna and trout with 496 mg/kg and 280.7 mg/kg histamine, respectively. Considering that histamine levels are hardly affected by culinary preparation of fish (Hagen et al., 2005), a portion could contain roughly 50 mg histamine, a dose which could induce circulatory effects even in non-pre-disposed humans (Rauscher-Gabernig et al., 2009).

As regards quality assessment, levels of histamine, tyramine, phenylethylamine and tryptamine of exceeding 100, 800, 30 and 25 mg/kg, respectively, are considered unacceptable (Özden and Erkan, 2005). These levels were exceeded by 2, 1, 4 and 0 of the total of 102 samples, respectively. The 4 samples exceeding 100 mg/kg histamine were two samples each of smoked salmon and frozen salmon fillets.

#### Relation of biogenic amines content to fish species/family and processing technique

Statistically significant relations were observed for processing technology/storage temperature and putrescine content ( $P = 0.001$ ). In detail, higher putrescine contents were associated with raw fish fillets stored on ice. This was not unexpected and reflects incipient spoilage during cold storage of proteinaceous foods.

A statistically significant fish-species specific effect was demonstrated for spermine ( $P = 0.04$ ) and histamine ( $P = 0.002$ ), with higher contents in mackerel, sardine, tuna and salmon. Such fish are known to contain higher levels of free histidine in their flesh, and have been implicated in so-called scombrototoxicosis (Rauscher-Gabernig et al., 2010).

#### Relation of biogenic amine content to bacterial numbers

Expectedly, total bacterial counts were lower in heat-processed fish than in raw fillets (Table 3). Correlation between bacterial numbers in log cfu/g and individual biogenic amines was generally low and did not exceed  $r = 0.4$ . This was not unexpected as, in particular, putrescine levels reflect the "history" of storage conditions of perishable foods prior to heat processing, whereas the total aerobic

**TABLE 2:** Comparison of biogenic amine contents in mg/kg with available legal limits (histamine) or tolerance levels (TL).

	Legal limit (mg/kg)	Tolerance level (mg/kg)	Contents in the analyzed samples (mg/kg)			Samples exceeding limit of detection, %	TL, n =	Type of samples exceeding limits or TL
			Min	Max	Median			
<b>Ready to eat</b>								
Tryptamine	100–800		0	25.2	0	37.0	0	
$\beta$ -phenylethylamine		25 <sup>c</sup>	0	16	1.4	16.0	0	
Putrescine		170 <sup>b</sup>	2.4	140.9	13.1	0.0	0	
Cadaverine		510 <sup>b</sup>	0	62.1	0	25.0	0	
Histamine	200–400 <sup>d</sup>	200–400 <sup>d</sup>	0	195.3	5.8	8.0	0	
Tyramine		950 <sup>a</sup>	0	44.6	1.0	11.0	0	
Spermidine			0	72.2	9.6	4.0	0	
Spermine			0	33.6	4.0	15.0	0	
<b>Non-Ready to eat</b>								
Tryptamine			0	17.3	0	36.0	0	
$\beta$ -phenylethylamine		25 <sup>c</sup>	0	30.9	2.5	7.0	1	Trout
Putrescine		170 <sup>b</sup>	0	93.9	17.8	1.0	0	
Cadaverine		510 <sup>b</sup>	0	622.0	4.5	13.0	1	Atlantic Cod
Histamine	100–200 <sup>d</sup>	100–200 <sup>d</sup>	0	495.9	0.5	20.0	2	Tuna, Trout
Tyramine		950 <sup>a</sup>	0	34.7	0.5	15.0	0	
Spermidine			0	29.3	6.8	3.0	0	
Spermine			0	17.0	6.9	8.0	0	

<sup>a</sup>: Rauscher-Gabernig et al., 2009; <sup>b</sup>: Rauscher-Gabernig et al., 2010; <sup>c</sup>: Paulsen et al., 2012; <sup>d</sup>: Rauscher-Gabernig et al., 2012

**TABLE 3:** Relation of biogenic amine contents to total aerobic counts (TAC).

Sample type	TAC (log cfu/g) mean ± std. dev.	Biogenic amines in mg/ kg (wet weight), median with maximum in brackets							
		tryptamine	β-phenylethylamine	putrescine	cadaverine	histamine	tyramine	spermidine	spermine
<b>Freshwater</b>									
Raw on ice	3.8±1.7	<1 (1.8)	4.3 (11.8)	13.7 (41.6)	<1 (6.8)	5.8 (20.3)	2.7 (3.4)	10 (23.1)	7.8 (16.2)
Raw deep-frozen	4.7±0.9	<1 (<1)	3.3 (30.9)	17.1 (34.9)	7.4 (215.5)	4.9 (280.7)	<1 (23)	6.2 (8.3)	6.5 (10.5)
Smoked	2.8±1.5	<1 (<1)	4.1 (11)	25.3 (93.9)	3.5 (4.7)	66.3 (166.6)	2.6 (34.7)	10.3 (17.6)	14.1 (17)
<b>Saltwater</b>									
Raw on ice	4.1±1.3	<1 (10.1)	1.8 (15.5)	26 (51.2)	1.2 (41.5)	6.3 (496)	1.3 (12.8)	10.4 (27.8)	5.3 (14.1)
Raw deep-frozen	4.2±1.5	<1 (17.3)	2.7 (21.8)	17.4 (78.7)	5.8 (622)	<1 (55.5)	<1 (26.3)	6.7 (29.3)	6.2 (16.3)
Smoked	2.7±1.2	<1 (14.5)	3.8 (12.9)	30.1 (93.9)	<1 (62.1)	1.6 (80.4)	2.3 (44.6)	9.6 (46.2)	10.3 (33.6)
Marinated	2.2±0.4	<1 (25.3)	4.5 (9.9)	27 (140.9)	8.6 (41.6)	20 (95.9)	<1 (23.2)	3.8 (44.1)	<1 (19.3)
Canned	<2	<1 (5.4)	<1 (6.8)	7.8 (46.8)	<1 (39)	35.1 (195.4)	<1 (23.4)	11.3 (72.2)	<1 (17.6)

counts include not only this “history” but also reductions in bacterial numbers due to heat treatment (Bauer and Paulsen, 2002); likewise, the ability of bacteria to form of biogenic amines is not always species- or family specific, but rather a strain-dependent characteristic (Pircher et al., 2007).

#### Detection of presumptive nematodes

In 13 of 102 samples (12.7 %) mainly those from wild salmon (*Onchorhynchus*) and herring samples nematodes were detected. Eleven of these infected samples were Non-RTE, so the nematodes would most likely be inactivated during culinary preparation (Karl, 2008). Still, *Anisakis* antigens can be a source of hypersensitive immune response (Audicana et al., 2002). Among these allergens only *Anisakis* 4 is heat-, acid- and pepsin sensitive (Rodriguez-Mahillo et al., 2008).

#### Detection of *Listeria* sp.

In four (salmonids and trout fillets) of 49 Non-RTE and in one of 53 RTE samples (smoked salmon), *Listeria monocytogenes* were detected in 25 g aliquots. The presence of this pathogen in aquatic environments (Dijkstra, 1982), and colonisation of processing plants requires different control options to reduce the prevalence in RTE products (Huss et al., 2000). In 2012, *Listeria monocytogenes* could be recovered from 3 to 6 % of fishery products in Austria, which was similar to meat, but higher than in a variety of other foods examined (AGES, 2013). In Austria, 26 confirmed listeriosis cases were reported for 2011 (ECDC, 2013) and 36 for 2012 (AGES, 2013). In fish samples examined in Germany in the period 1998–2000, *Listeria monocytogenes* was detected in 3.5 to 100 % of samples, depending on fish species and type of fish processing (Feldhusen et al., 2001). The authors concluded that despite the abundance of the pathogens, fish was rarely implicated in clinical human listeriosis, maybe due the low concentration of *Listeria* in most of the samples. Although the fraction of cases attributable to fishery products is unclear, it is obvious that such foods present some reservoir for human foodborne infections.

#### Conclusions: Significance for public health

In 53 RTE samples, frequency of pathogenic agents was low, i. e. *Listeria monocytogenes* and presumptive nematode larvae were detected in one sample each. A higher frequency of *Listeria monocytogenes* in Non-RTE foods (4/49) will not necessarily result in higher consumer exposure, as

the latter depends also on culinary processing. For nematode larvae, the allergenic potential of already inactivated larvae (recovered from 12 of 49 samples) should be considered, as well as the fact that histamine contents >200 mg/kg could be detected and will not be reduced by culinary preparation.

#### Acknowledgement

The scholarship scheme of Higher Education Commission of Pakistan is gratefully acknowledged.

#### References

- AGES (2013):** Bericht über Zoonosen und ihre Erreger in Österreich im Jahr 2012. Vienna: AGES and BMG Publ. Accessed 2014 June 23. Available at: [http://www.ages.at/uploads/media/Zoonosenbericht-2012\\_2b.pdf](http://www.ages.at/uploads/media/Zoonosenbericht-2012_2b.pdf)
- Audicana MT, Ansotegui IJ, Fernández de Corres L, Kennedy MW (2002):** *Anisakis simplex*: dangerous — dead and alive? Trends Parasitol 18: 20–25.
- Audicana MT, Kennedy MW (2008):** *Anisakis simplex*: from obscure infectious worm to inducer of immune hypersensitivity. Clin Microbiol Rev 21: 360–379.
- Auer H, Leskowschek H, Engler J, Leitner G, Wentzel C, Wolkerstorfer W, Schneider R (2007):** Epidemiology and nosology of anisakiosis, a rather rare helminthozoonosis in Central Europe – two case reports. Wien Klin Wochenschr 119: 106–109.
- Bauer F, Paulsen P (2002):** Biogenic amines in meat and meat products. In: Morgan DML, Hirvi T, Dandriofosse G, Deloyer P, White A (Eds.): COST 917: Biogenically active amines in food. Off for Official Publ of the Europ Communities.
- Bratney J (1988):** A simple technique for recovering larval ascariid nematodes from the flesh of marine fish. J Parasitol 74, 735–737.
- Dijkstra RG (1982):** The occurrence of *Listeria monocytogenes* in surface water of canals and lakes, in ditches of one big polder and in the effluents and canals of a sewage treatment plant. Zentralbl Bakteriell Mikrobiol Hyg B 176: 202–205.
- ECDC (2013):** Annual epidemiological report-Reporting on 2011 surveillance data and 2012 epidemic intelligence data. 99, 90–239.
- Eklund MW, Poysky FZ, Paranjpye RN, Lashbrook LC, Peterson ME, Pelroy GA (1995):** Incidence and Sources of *Listeria monocytogenes* in Cold-Smoked Fishery Products and Processing Plants. J Food Prot 58: 502–508.
- EFSA (2010):** Scientific Opinion on risk assessment of parasites in fishery products. EFSA Journal 8, 1543.

- EFSA (2011):** Scientific Opinion on risk based control of biogenic amine formation in fermented foods. *EFSA Journal* 9, 93.
- Esteban A (2012):** Fish dependence - 2012 update. Accessed 2014 Feb 10. Available at: [http://s.bsd.net/nefoundation/default/page/file/3762d4b3f0b755b693\\_5om6vw96i.pdf](http://s.bsd.net/nefoundation/default/page/file/3762d4b3f0b755b693_5om6vw96i.pdf)
- Feldhusen F, Jark U, Eitzel V, Ballin U, Wilke T (2001):** *Listeria monocytogenes* in smoked salmon – Analysis of problems and attempts of resolving. *Arch Lebensmittelhyg* 53: 8–12.
- Fraser JA, Sperber WH (1988):** Rapid detection of *Listeria* spp. in food and environmental samples by esculin hydrolysis. *Journal of Food Protection* 51: 762–765.
- Gram L (2001):** Potential Hazards in Cold-Smoked Fish: *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Science* 66: 1072–1081.
- Garcia F, Blanco JG, Garces M, Juste S, Fuentes M, Herrero D (2001):** Freezing protects against allergy to *Anisakis simplex*. *J Investig Allergol Clin Immunol* 11: 49–52.
- Hagen U, Bauer F, Paulsen P (2005):** Geringfügige Änderungen von Amingehalten – Modellversuche zu Änderungen im Gehalt an biogenen Aminen und Polyaminen bei der Zubereitung von Fleisch und Fisch. *Fleischwirtsch* 85: 128–130.
- Huss HH, Jørgensen LV, Vogel BF (2000):** Control options for *Listeria monocytogenes* in seafoods. *Int J Food Micro* 62: 267–274.
- ISO (2003):** ISO 4833, Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of microorganisms – Colony-count technique at 30 °C. ISO, Genf.
- Kapral C, Haditsch M, Wewalka F, Schatzlmayr W, Lenz K, Auer H (2009):** The first case of anisakiasis acquired in Austria. *Z Gastroenterol* 47: 1059–1061.
- Karl L, Meyer C, Banneke S, Sipos G, Bartelt E, Lagrange F, Jark U, Feldhusen F (2002):** The abundance of nematode larvae *Anisakis* sp. in the flesh of fish and possible post-mortem migration. *Arch Lebensmittelhyg* 53: 97–120.
- Karl H (2008):** Nematode larvae in fish on the German market 20 years of consumer related research. *Arch Lebensmittelhyg* 59: 107–116
- Özden Ö, Erkan N (2005):** Biogene Amine als Hygiene- und Qualitätskriterien in Fischmarinaden. *Arch Lebensmittelhyg* 56: 41–44.
- Paulsen P, Hagen U, Bauer F (2006):** Changes in biogenic amine contents, non protein nitrogen and crude protein during curing and thermal processing of *m. longissimus*, pars lumborum of pork. *Eur Food Res Techn* 223:603–608
- Paulsen P, Grossgut R, Bauer F, Rauscher-Gabernig E (2012):** Estimates of maximum tolerable levels of tyramine content in foods in Austria. *J Food Nutr Res* 51: 52–59.
- Pircher A, Bauer F, Paulsen P (2007):** Formation of cadaverine, histamine, putrescine and tyramine by bacteria isolated from meat, fermented sausages and cheeses. *Eur. Food Res. Technol.* 226: 225–231.
- Rauscher-Gabernig E, Gabernig R, Brueller W, Grossgut R, Bauer F, Paulsen P (2012):** Dietary exposure assessment of putrescine and cadaverine and derivation of tolerable levels in selected foods consumed in Austria. *Eur Food Res Techn* 235: 209–220.
- Rauscher-Gabernig E, Grossgut R, Bauer F, Paulsen P (2010):** Phenylethylamin in Lebensmitteln: Gehalte und Erarbeitung von tolerierbaren Höchstgehalten. *Wien Tierärztl Mschr - Vet Med Austria* 97: 242–252.
- Rauscher-Gabernig E, Grossgut R, Bauer F, Paulsen P (2009):** Assessment of alimentary histamine exposure of consumers in Austria and development of tolerable levels in typical foods. *Food Control* 20: 423–429.
- Rodriguez-Mahillo AI, Gonzalez-Munoz M, Moneo I (2008):** Identification and allergenic characterisation of a new isoform of the *A. simplex* allergen Ani s 4. *Mol Biochem Parasitol* 160: 152–156.
- Silla-Santos M H (1996):** Biogenic amines: their importance in foods. *International Journal of Food Microbiology* 29: 213–231.
- Statistik Austria (2013):** Versorgungsbilanzen. Accessed 2014 Feb 10. Available at: [http://www.statistik.at/web\\_de/statistiken/land\\_und\\_forstwirtschaft/preise\\_bilanzen/versorgungsbilanzen/](http://www.statistik.at/web_de/statistiken/land_und_forstwirtschaft/preise_bilanzen/versorgungsbilanzen/)
- Vidacek S, De las Heras C, Solas MT, Rodriguez Mahillo, AI, Tejada M (2009):** Effect of high hydrostatic pressure on mortality and allergenicity of *Anisakis simplex* L3 and on muscle properties of infested hake. *J Sci Food Agriculture* 89: 2228–2235.
- Vidacek S, De Las Heras C, Solas MT, Garcia ML, Mendizabal A, Tejada M (2011):** Viability and antigenicity of *Anisakis simplex* after conventional and microwave heating at fixed temperatures. *J Food Prot* 74: 2119–2126.

#### Address of corresponding author:

Dr. Kashif Nauman  
 Institute of Meat Hygiene, Meat Technology and Food Sciences, Department of Farm Animal and Public Health, University of Veterinary Medicine Vienna  
 Veterinärplatz 1  
 1210, Vienna  
 Austria  
[kashifctn@gmail.com](mailto:kashifctn@gmail.com)



Arch Lebensmittelhyg 65,  
121–124 (2014)  
DOI 10.2376/0003-925X-65-121

© M. & H. Schaper GmbH & Co.  
ISSN 0003-925X

Korrespondenzadresse:  
bulent.ergonul@hotmail.com

Celal Bayar University, Engineering Faculty, Food Engineering Department,  
Muradiye Campus, 45140, Muradiye, Manisa, Turkey

## Hygienic quality of stuffed Mediterranean mussels (*Mytilus galloprovincialis*) sold by street vendors in İzmir, Turkey

*Hygienische Qualität von gefüllten mediterranen Muscheln (Mytilus galloprovincialis) von Straßenverkäufern in İzmir, Türkei*

Bülent Ergönül, Akif Kundakçı, Selcan Durgun

### Summary

Stuffed mussels are a popular foodstuff in the Mediterranean that is sold on a ready-to-eat base by street vendors. The present paper sought to determine the microbiological quality of this product. For that, edible parts of mussels (valves and stuffing removed, n = 100) from different city districts of İzmir were analysed with regard to average total mesophilic aerobic bacteria (TMAB), coliform bacteria, faecal coliform bacteria, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* and *Vibrio* spp. counts, as well as pH. Results were compared with the recommendations of the Turkish Food Codex. While all samples were negative for salmonellae and *E. coli*, several other criteria as recommended by the Turkish food safety authorities were not met, e. g. elevated TMBA or the presence of *Vibrio* spp. in 13 % of samples. Comparing the results with the literature it became clear that street-sold stuffed mussels can pose a threat to human health in the Mediterranean, and that means should be taken (including enhanced control and monitoring schemes) to ensure hygienic processing and marketing of this foodstuff.

**Keywords:** Stuffed mussels, food safety, microbiology, consumer health

### Zusammenfassung

Gefüllte Muscheln sind ein beliebtes Nahrungsmittel im Mittelmeerraum, die verzehrsfertig von Straßenverkäufern angeboten werden. Die vorliegende Arbeit hinterfragt die mikrobiologische Qualität dieser Produkte. Hierfür wurden die essbaren Teile der Muscheln (n = 100) aus verschiedenen Stadtteilen von İzmir im Hinblick auf die aerobe mesophile Gesamtkeimzahl (GKZ), kolloforme Bakterien, fäkalkolloforme Bakterien, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* und *Vibrio* spp. analysiert, sowie der pH-Wert bestimmt. Die Ergebnisse wurden mit den Empfehlungen des türkischen Lebensmittelkodex verglichen. Während alle Proben Salmonellen und *E. coli* negativ waren, wurden verschiedene andere Kriterien, die von den türkischen Lebensmittelsicherheitsbehörden empfohlen werden nicht erfüllt, z. B. die erhöhte GKZ oder das Vorhandensein von *Vibrio* spp. in 13 % der Proben. Vergleicht man die Ergebnisse mit der Literatur wird deutlich, dass gefüllte Muscheln aus Straßenverkäufen eine Bedrohung für die menschliche Gesundheit im Mittelmeerraum darstellen können, und dass Mittel ergriffen werden sollten (einschließlich verstärkte Kontrolle und Überwachungssysteme), um hygienische Verarbeitung und Vermarktung dieses Nahrungsmittels zu gewährleisten.

**Schlüsselwörter:** Gefüllte Muscheln, Lebensmittelsicherheit, Mikrobiologie, Verbraucherschutz

## Introduction

Although sold by street vendors under poor hygienic conditions, stuffed mussels is one of the most frequently-consumed fast foods in the Mediterranean, particularly in Turkey and Middle Eastern countries. The Mediterranean mussel, *Mytilus galloprovincialis* (known as “black mussel” in Turkey and other Mediterranean countries), is a member of the family *Mytilidae* and inhabits mainly the Mediterranean Sea, Black Sea, Marmara Sea, Atlantic shores and in Bosphorus (Binsi et al., 2007; Erkan, 2005). This species is important in terms of human nutrition, being a source of high quality and cheap protein (Choo and Ng; 1990; Fuentes et al., 2009). Orban et al (2002) reported that fat and cholesterol content of mussels was quite low and that 42 to 45 % of their fatty acid composition related to unsaturated fatty acids. They are also important sources of vitamins A, B1, C, D and E and trace elements like Fe and Ca (Cheong and Lee, 1984). Because of the intake of high amount of sea water in their body for their survival (filter feeder), they can be contaminated by the microorganisms and toxic compounds found in water (Ripabelli et al., 1999). Additionally, because of high glycogen, free amino acid contents, high water activity (0.95 aw) and pH values (6.7–7.1), they act as an ideal medium for the growth of microorganisms. Mussels are relevant in terms of food safety and consumer health since they may lead to food intoxications (Jay, 1996; Murphree and Tamplin, 1991). For stuffed mussels as sold in the Mediterranean, this is due to poor hygienic conditions manufacturing and trading practices under.

Regarding processing, mussels are harvested from the sea, boiled for a first time and their shells cleaned. Then, mussels are stuffed with boiled rice and spices, their shells then closed again by wrapping with cord and then boiled a second time (Ateş et al., 2011). Stuffed mussels are generally sold under poor hygienic conditions on small and open pushcarts. These ready-to-eat foods are served in streets at ambient temperatures.

There are many points which can lead to contaminations during this manufacturing, i. e. microbiological risks arising from the sea from which the mussels are caught, contaminations from working staff and equipment, from raw materials (spices, rice water), and from the environment of sale and service place. Especially in mussels collected from the sewage confluence of the seas, *Salmonella* spp. and *Escherichia* (*E. coli* O157:H7) are found. Also spices and rice may be important sources of *Bacillus* (*B. cereus*) contamination (Üzgül, 2005). Also there is an important cross-contamination risk while serving these ready-to-eat foods on pushcarts in the streets.

The constabulary of local municipality is responsible for the control of these mussel sellers and street vendors. However, effective control done by the police is very difficult. Especially at night, it is typical to see many pushcarts in the streets selling ready-to-eat foods in all Turkey.

From these points of view, a survey was performed in order to determine the microbiological attributes of stuffed mussels sold by street vendors. To the authors' knowledge, it is the first comprehensive research to provide data rela-

ted to microbiological quality of stuffed mussels sold by street vendors in different districts of İzmir, Turkey.

## Materials and Methods

Stuffed mussels were purchased from street vendors in the four largest districts of İzmir (Bornova, Alsancak, Konak, and Karşıyaka). Samples from 25 different vendors in each district were collected and total of 100 different samples were analysed. With the same experimental design, research was repeated two times. Approximately twelve stuffed mussel samples (500 g) were purchased from each vendor in two replicates. Then, samples were brought in their own package (but cooled in ice-boxes) into the Microbiology Laboratory of Celal Bayar University within 30 minutes. Mussel stuffing and shells were removed aseptically. The edible parts of the stuffed mussel were used for microbiological analysis. 25 g of edible part was aseptically transferred into 225 ml of peptone water (0.1 % w/v) and further dilutions were prepared.

The Turkish Food Codex Communication for Microbiological Criteria (Anon., 2009 – Announcement No: 2001/19) details the microbiological criteria for daily ready-to-eat meat and vegetable meals. It also contains the methods to be used in the analysis, and the criteria for this foodstuff include *E. coli*, *B. cereus*, *Staphylococcus* (*S. aureus*) and *Salmonella* spp. (Tab. 1). Besides, total mesophilic aerobic bacteria (TMAB), total coliform (TC), total faecal coliform (TFC), *Clostridium* (*C. perfringens*), and *Vibrio* spp. counts were also determined (methods according to ICMSF, 1978; Halkman, 2005; Üzgül, 2005). Finally, pH values of the samples were measured by using a pH-meter (WTW, pH3110). Results of the analyses were evaluated by using a SAS statistical analyses programme; the method was CR (Completely Randomized).

## Results and Discussion

Average pH values of stuffed mussel samples are given in Table 2. As seen from the table, average pH value of

**TABLE 1:** Microbiological criteria for ready-to-eat meat and vegetable meals (Anon., 2009).

Microbiological criteria for ready-to-eat meat and vegetable meals	n	c	m	M
<i>Escherichia coli</i>	5	0	<10 <sup>1</sup>	
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
<i>Bacillus cereus</i>	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
<i>Salmonella</i> spp.	5	0	0/25 g-mL	

n = number of sampling, c = number of allowed samples having counts between m and M values, m = upper limit for (n-3) samples, M = marks the limit beyond which the level of contamination is hazardous or unacceptable.

**TABLE 2:** Average pH values of stuffed mussels purchased from street vendors (n=100).

District	Min	Max	Average
Bornova	6.06	6.6	6.40b
Alsancak	6.24	7.75	6.57ab
Konak	6.27	6.88	6.48b
Karşıyaka	6.32	8.12	6.72a
Overall	6.06	8.12	6.54

Values with different letters are statistically different from each other (P<0.05).

**TABLE 3:** Average TMAB counts of stuffed mussel samples (log cfu/g) (n=100).

District	Min	Max
Bornova	<1.00	3.77
Alsancak	<1.00	4.41
Konak	<1.00	3.66
Karşıyaka	1.60	4.67
Overall	<1.00	4.67

all samples was 6.54, ranging between 6.06 and 8.12. The highest average pH value (6.72) was measured in the samples sold in Karşıyaka ( $P<0.05$ ). As reported by ICMSF (1980), pH value of fresh bivalve aquacultures should be between 6.2 and 6.5. During spoilage, pH values decrease to 5.8. Gönül et al. (1996) reported that average pH values of stuffed mussels was 6.9, whereas according to Tatlısu (2002), pH values of stuffed mussel samples were between 5.67 and 6.43. Thus, pH values encountered in the present study frequently ranged above the recommended values, but this condition supports the observations made by other authors.

Microbiological attributes of stuffed mussel samples are provided in Tables 3 to 8. TMAB counts of the samples ranged between <1.00 and 4.67 log cfu/g (Tab. 3). Just as with pH, samples from Karşıyaka displayed higher average TMAB counts than those from other districts. Bingöl et al. (2008) reported that TMAB counts of stuffed mussels sold in markets ranged between 2 and 7.5 log cfu/g, i. e. many İzmir samples ranged below these values. According to the Tatlısu (2002), the main reasons of the high TMAB count of these products are the poor hygienic conditions of manufacturing, low microbiological quality of raw material and extended holding time under inappropriate conditions prior to consumption.

TC counts ranged between 1.15 and 3.90 log cfu/g (Tab. 4). The mean TC count of the samples consumed in Karşıyaka (1.27 log cfu/g) was significantly higher ( $P<0.05$ ) than means from other districts, with lowest value being registered from Bornova (0.34 log cfu/g). According to ICMSF (1978), the threshold for the coliform bacteria counts in aquacultured bivalves amounts to 2 log cfu/g. When this limit is taken into account (although the present samples did not originate knowingly in aquaculture), “all of the samples are in conformance in terms of coliform bacteria count” In general coliform bacteria were enumerated in 35 % of the samples between the values of 1.15 and 3.90 log cfu/g. Bingöl et al. (2008) revealed that in nearly 78 % of the stuffed

**TABLE 4:** Average Coliform Bacteria counts of stuffed mussel samples (log cfu/g) (n=100).

District	$N_p$ (Min–Max)	Average <sub>T</sub>	Average <sub>p</sub>
Bornova	4 (1.15–2.66)	0.34b	2.10
Alsancak	9 (1.30–2.57)	0.74ab	2.07
Konak	9 (1.30–3.56)	0.76ab	2.11
Karşıyaka	13 (1.30–3.90)	1.27a	2.53
Overall	35 (1.15–3.90)	0.78	2.20

$N_p$  = Number of Coliform positive samples; Average<sub>T</sub> = Average count of all samples; Average<sub>p</sub> = Average count of positive samples; Values with different letters are statistically different from each other ( $P<0.05$ )

led between 4 (Bornova) and 24% (Karşıyaka and Alsancak). Mean TFC of positive samples was 1.45 log cfu/g. Stuffed mussel collected from Istanbul markets yielded faecal coliform bacteria at a comparable level (22 % of samples; Bingöl et al., 2008), and Hampikyan et al. (2008) reported a prevalence of 15 %, with, in comparison to the present results, markedly higher counts (2.34 and 4.66 log cfu/g).

As seen in Table 6, *B. cereus* was detected in 20 % of samples at amounts between 1.00 and 3.83 log cfu/g (mean 2.34 log cfu/g). This species may pose a risk for consumers because it can lead to food poisoning and gastrointestinal illness via several protein toxins and one heat-stable peptide toxin (cereulide), causing the emetic variety of the disease (Ateş et al., 2011). According to CFSA (2003), *B. cereus* may cause intoxications when its amount ranges above 6 log cfu/g. The threshold for *B. cereus* in these food-stuffs is 3 log cfu/g (Anon., 2009). It was seen that *B. cereus* counts of only 2 samples were higher than this limit (2 %). As reported by Bingöl et al. (2008), *Bacillus cereus* was detected in almost 39 % of the stuffed mussel samples collected in the İstanbul region.

With regard to other *Enterobacteriaceae*, all *Salmonella* spp. and *E. coli* counts ranged below the threshold of <1.0 log cfu/g. Samples analysed by other authors (Bingöl et al., 2008; Hampikyan et al., 2008) were also negative for *Salmonella*. However, Ates et al. (2011) stated that 50 % of

mussel samples, coliform bacteria were detected.

TFC were detected in 16 % of all samples in amounts varying between 1.00 and 2.45 log cfu/g (Tab. 5); depending on the district, values ran-

**TABLE 5:** Average Fecal Coliform Bacteria counts of stuffed mussel samples (log cfu/g) (n=100).

District	$N_p$ (Min–Max)	Frequency (%)
Bornova	1 (1.00)	4
Alsancak	6 (1.30–1.95)	24
Konak	3 (1.48–2.23)	12
Karşıyaka	6 (1.00–2.45)	24
Overall	16 (1.00–2.45)	16

$N_p$  = Number of Fecal Coliform positive samples

**TABLE 7:** Average *S. aureus* counts of stuffed mussel samples (log cfu/g) (n=100).

District	$N_p$ (Min–Max)	Frequency (%)
Bornova	<1	0
Alsancak	3 (2.70–2.85)	12
Konak	1 (2.00)	4
Karşıyaka	<1	0
Overall	4 (2.00–2.85)	4

$N_p$  = Number of *Staphylococcus aureus* positive samples

**TABLE 6:** Average *B. cereus* counts of stuffed mussel samples (log cfu/g) (n=100).

District	$N_p$ (Min–Max)	Frequency (%)
Bornova	5 (1.00–2.83)	20
Alsancak	7 (1.00–3.83)	28
Konak	4 (2.70–3.00)	16
Karşıyaka	4 (1.00–3.70)	16
Overall	20 (1.00–3.83)	20

$N_p$  = Number of *Bacillus cereus* positive samples

**TABLE 8:** Average *Vibrio* spp. counts of stuffed mussel samples (log cfu/g) (n=100).

District	$N_p$ (Min–Max)	Frequency (%)
Bornova	5 (2.15–3.71)	20
Alsancak	3 (1.18–7.07)	12
Konak	3 (1.09–7.07)	12
Karşıyaka	2 (1.18–1.36)	8
Overall	13 (1.09–7.07)	13

$N_p$  = Number of *Vibrio* spp. positive samples

the stuffed mussels were unsuitable for consumption because of their high *Salmonella* count. During the same research, *E. coli* was detected in 30 % of the samples.

The presence of *S. aureus* is an important indicator for poor hygienic conditions and lack of sanitation applications (Jay, 1990). So, *S. aureus* counts of foods should be below the limit of 2 log cfu/g as stated in Turkish Food Codex Communication for ready-to-eat Foods (Anon., 2009). During the present analyses, *S. aureus* was detected in only four out of 100 samples (Tab. 7). While Karşıyaka and Bornova samples resulted negative, the mean *S. aureus* counts in the remaining districts were <1.00 log cfu/g, meaning that this criterion was met. This however contrasts to the results obtained by Bingöl et al. (2008) who encountered this pathogen in nearly 24 % of samples collected in İstanbul region, and those of Ateş et al. (2011) who reported that that 77 % of their samples were unsuitable for consumption because of their high *S. aureus* counts.

Finally, Table 8 provides the results regarding *Vibrio* spp. counts. It was detected in 13 samples out of 100, with counts between 1.09 and 7.07 log cfu/g. According to the Turkish Food Codex, *Vibrio* spp. should not be detected in ready-to-eat foods (0 cfu/25 g). So, 13 % of samples did not comply with this legal requirement. The presence of this pathogenic genus in seafood indicates an insufficient heat treatment. Since *Vibrio* spp. are inhibited after heating the seafood at 60 °C for 15 minutes, the purchased positive samples must have been submitted to an inadequate heating procedure.

## Conclusion

The microbiological quality of stuffed mussels sold in streets of four larger districts in İzmir is quite poor. In many samples, several hygiene criteria as established by the national food authorities were not met. However, results from other authors showed an even more drastic situation in other areas of Turkey. These ready-to-eat foods produced and sold under poor hygienic conditions might be an important concern in terms of food safety and consumer health as they can be a major cause of food poisoning and foodborne diseases.

The results of this research showed that drastic measures should be taken to ensure that processing and marketing conditions of stuffed mussels become improved and controlled more effectively in order to make this traditional foodstuff safer.

## References

- Anon. (2009): Turkish Food Codex Communication for ready-to-eat Foods. Reference number: 06.02.2009–27133.
- Ateş M, Özkızılçık A, Tabakoğlu C (2011): Microbiological analysis of stuffed mussels sold in the streets. *Indian Journal of Microbiology*, 51(3), 350–354.
- Bingöl EB, Colak H, Hampikyan H, Muratoglu K (2008): The microbiological quality of stuffed mussels (Midye Dolma) sold in İstanbul. *British Food Journal*. Vol. 110 Iss: 11, pp.1079–1087.
- Binsi PK, Shamasundar BA, Dileeo AO (2007): Physico-chemical and functional properties of proteins from green mussel (*Perna viridis*) during ice storage. *J. Sci. Food Agric*. 87: 245–254.
- CFSAN – Center for Food Safety & Applied Nutrition (2003): Foodborne Pathogenic Microorganism and Natural Toxins Handbook.
- Cheong L, Lee HB (1984): “Mussel farming”, Satis Extension Manual Series, No. 5, Southern Asian Fisheries Development Centre, Bangkok.
- Choo SE, Ng CS (1990): “Enzymic hydrolysis of green mussel (*Perna viridis*) to produce an enhanced taste extract”, *Singapore Journal of Primary Industries and Resources*, Vol. 18, pp. 48–53.
- Ekanem EO (1998): The street food trade in Africa: safety and socio-environmental issues. *Food Control*. 9: 211–215.
- Erkan N (2005): Changes in quality characteristics during cold storage of shucked mussels (*Mytilus galloprovincialis*) and selected chemical decomposition indicators. *J. Sci. Food Agric*. 85: 2625–2630.
- Fowler JL, Stutzman DL, Foster JE, Langley W (1977): Selected Food Microbiological Data Collected Through a Computerized Program. *Journal of Food Protection*, 40 (3): 166–169.
- Fuentes A, Fernández-Segovia I, Escriche I, Serra JA (2009): Comparison of physicochemical parameters and composition of mussels (*Mytilus galloprovincialis* Lmk.) from different Spanish origins. *Food Chem*. 112: 295–302.
- Halkman AK (2005): Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları, Merck, Ankara.
- Hampikyan H, Ulusoy B, Bingöl EB, Çolak H, Akhan M (2008): Determination of microbiological quality of some grilled food, salad and appetizers. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*. 38 (2), 87–94.
- ICMSF – International Commission on Microbiological Specifications for Foods (1978): Microorganisms in Foods 1. Their Significance and Methods of Enumeration. Second Edition. Toronto Press. London.
- ICMSF – International Commission on Microbiological Specifications for Foods (1980): Microorganisms in Foods 1. Their Significance and Methods of Enumeration. Second Edition. Toronto Press. London.
- Jay JM (1996): Seafoods. In: Modern food microbiology, 5th edn. Chapman and Hall, New York, pp 118–130.
- Mepba HD, Achinewhu SC, Aso SN, Wachukwu CK (2007): Microbiological quality of selected street foods in Port Harcourt, Nigeria. *J Food Safety*. 27: 208–218.
- Murphree RL, Tamplin ML (1991): Uptake and retention of *Vibrio cholerae* O1 in the eastern oyster *Crassostrea virginica*. *AEM* 61: 3656–3660.
- Ripabelli G, Sammarco ML, Grasso MG, Fanelli L, Caprioli A, Luzzi I (1999): Occurrence of *Vibrio* and other pathogenic bacteria in *Mytilus galloprovincialis* (mussels) harvested from Adriatic Sea, Italy. *International Journal of Food Microbiology*, 49: 43–48.
- Tathis NU (2002): İstanbul Piyasasında Satılmakta Olan Midye Dolmaların Kalite Düzeylerinin Belirlenmesi. (Yüksek Lisans Tezi) İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Fakültesi, İSTANBUL.
- Üzgül Y (2005): İzmir’in Çeşitli Semtlerinde Satışa Sunulan Midye Dolmaların Mikrobiyolojik Kalite Kontrolü, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı.
- Ünlütürk A, Turantaş F (2002): Gıdaların Mikrobiyolojik Analizi, İzmir, Bornova, 192 p

### Address of corresponding author:

Bülent Ergönül  
Celal Bayar University, Engineering Faculty,  
Food Engineering Department  
Muradiye Campus  
45140 Muradiye, Manisa,  
Turkey  
bulent.ergonul@hotmail.com

Arch Lebensmittelhyg 65,  
125–128 (2014)  
DOI 10.2376/0003-925X-65-125

© M. & H. Schaper GmbH & Co.  
ISSN 0003-925X

Korrespondenzadresse:  
J.Oehlschlaeger@gmx.net

<sup>1</sup>)Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt Freiburg, <sup>2</sup>)Landesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, Institut für Fische und Fischereierzeugnisse Cuxhaven, <sup>3</sup>)Landeslabor Berlin-Brandenburg, <sup>4</sup>)Institut für Hygiene und Umwelt Hamburg, Abteilung Lebensmittel I, <sup>5</sup>)Chemisches Untersuchungsamt der Stadt Hagen, <sup>6</sup>)seafood-consultant, Buchholz i. d. N.

## Untersuchungen zum Vorkommen von Nematodenlarven in pazifischem Wildlachs (*Oncorhynchus* spp.) in Abhängigkeit von der Lokalisation im Filet

*Investigations on the occurrence of larvae of nematodes in Pacific salmon species (*Oncorhynchus* spp.) in different parts of the fillet*

Elke Müller-Hohe<sup>1</sup>), Uta Ballin<sup>2</sup>), Birgit Holland<sup>3</sup>), Marianne Wagler<sup>4</sup>), Michael Walter<sup>5</sup>), Jörg Oehlschläger<sup>6</sup>)

### Zusammenfassung

Die Diskussionen der letzten Jahre über den starken Befall von pazifischem Wildlachs mit Nematodenlarven und die derzeitige Beurteilungspraxis warfen die Frage auf, ob die Befallsstärke einer Partie durch Maßnahmen des Lebensmittelunternehmers beeinflusst werden kann.

Die Ergebnisse der durch die Arbeitsgruppe Fische und Fischerzeugnisse der Lebensmittelchemischen Gesellschaft (Fachgruppe in der Gesellschaft Deutscher Chemiker) durchgeführten Untersuchungen zeigen in Übereinstimmung mit den vorliegenden Literaturdaten, dass bei pazifischen Wildlachsen das ventrale Filet (unteres bzw. bauchseitiges Filet) erheblich stärker mit Nematodenlarven belastet ist als das dorsale Filet (oberes bzw. Rückenfilet).

Dies lässt eine Reduzierung des Befalls beim Lebensmittel „Wildlachsfilet“ von einer erwartungsgemäß oder durch Stichprobenuntersuchungen nachgewiesen stark nematodenhaltigen Partie durch gezielte Entfernung der am stärksten belasteten Teilstücke, ggf. bis hin zum gesamten ventralen Filet zu.

Schlüsselwörter: Parasiten, Fisch, Bauchlappen

### Summary

The ongoing discussion about the infestation of Pacific wild caught salmon species with larvae of nematodes and the nowadays used practice of assessment raised the question if the amount of infestation of a lot can be influenced by measures performed by the food trader. The results of the investigations performed by the working group „Fish and fishery products“ of the Food Chemists Society reveal in coincidence with literature data that the ventral fillet of Pacific wild salmon is heavier infested with larvae of nematodes than the dorsal fillet. This allows specific measures to influence the amount of infestation in a lot of Pacific salmon which was as expected known to be or was shown by screening tests to be heavily infested by nematodes by removing the most infested parts or the whole ventral part of the fillet.

Keywords: parasites, fish, belly flap

## Einleitung

Bei Wildlachs ist wie bei allen Wildfischen grundsätzlich mit dem Vorkommen von Parasiten, insbesondere von Nematodenlarven zu rechnen. Speziell bei pazifischem Wildlachs ist regelmäßig eine große Anzahl von Anisakislarven im Filet nachweisbar. Aufgrund der intensiven Eigenfarbe und geringen Transparenz der Wildlachsmuskulatur entziehen sich die Nematodenlarven den im EU-Hygienericht vorgeschriebenen Sichtkontrollen einschließlich des sogenannten Durchleuchtens („candling method“).

Sofern Pazifischer Wildlachs tiefgefroren vermarktet wird oder verarbeitete Erzeugnisse wie geräucherter Wildlachs aus tiefgefrorener Rohware hergestellt werden, ist von einer Gesundheitsgefährdung des Verbrauchers durch migrationsaktive Nematodenlarven nicht auszugehen, da diese durch das vorgeschriebene Tiefgefrierverfahren sicher abgetötet werden. Allerdings gelten stark von Nematoden befallene Wildlachserzeugnisse als ekelregend und werden als für den Verzehr durch den Menschen inakzeptabel beanstandet (Etzel et al., 2007).

Bei einigen Speisefischarten, z. B. Seelachs und Hering bestimmter Bestände ist bekannt, dass Anisakislarven in bestimmten Teilen des Seitenmuskels gehäuft lokalisiert sind (Müller und Schröder, 1987; Priebe, 2007; Karl, 2008). Japanische und amerikanische Untersuchungen wiesen dies auch bei *Oncorhynchus keta* und anderen *Oncorhynchus*-Arten nach (Deardorff et al., 1989; Sugawara et al., 2004; Urawa et al., 2006).

Im Vordergrund der hier vorgestellten Untersuchungen stand die Frage, wie die Nematodenlarven bei Wildlachserzeugnissen auf dem deutschen Markt verteilt sind bzw. ob sich Lokalisationen mit unterschiedlichen Befallsstärken finden lassen. Im Zusammenhang mit der lebensmittelrechtlichen Beurteilung, die einen quantitativen Ansatz beinhaltet, stellte sich die Frage, ob die Befallsstärke durch Maßnahmen der Lebensmittelunternehmer beeinflusst werden kann.

## Material und Methoden

Untersucht wurde tiefgefrorener Pazifischer Wildlachs in unterschiedlichen Zuschnitten (Filets und Steaks zwischen 200 und 1771 g nach Abtrennung der Muskulatur von den Gräten) sowie geräucherter Pazifischer Wildlachs ( $n = 71$ , s. Tab. 1). Als Untersuchungsmethode zur Erfassung der vollständigen Anzahl der Nematodenlarven wurde das Digestionsverfahren nach der im Jahr 1988 veröffentlichten Methode des damaligen Bundesgesundheitsamtes angewandt (Anon, 1988). Die Proben wurden im Rahmen der amtlichen Lebensmittelüberwachung aus dem Einzelhandel erhoben.

Vorversuche hatten ergeben, dass bei Wildlachs die Nematodenlarven nicht nur im sogenannten Bauchlappen, sondern auch in darüber liegenden Teilen des Filets lokalisiert sind. Deshalb wurde, sofern möglich, oberer (epaxialer) und unterer (hypaxialer) Anteil des Filets getrennt untersucht, die Trennung erfolgte an der Seitenlinie bzw. dem Septum horizontale. Der bei einigen Erzeugnissen komplett vorhandene Bauchlappen wurde am unteren Anteil belassen und mit diesem zusammen aufgearbeitet.

Sofern eine Probe aus mehreren Einzelpackungen mit identischer Kennzeichnung inklusive Mindesthaltbarkeits-

datum und Losnummer zur Verfügung stand, wurden die Einzelpackungen als eine Probe behandelt.

Erfasst wurden Produktbezeichnung, Verarbeitungsart, Fischart (sofern angegeben oder nachgewiesen), Fanggebiet (falls angegeben), die Anzahl der Nematodenlarven im gesamten Filet, im dorsalen Filetanteil sowie im ventralen Filetanteil absolut und berechnet auf 100 g bzw. 1000 g Einwaage.

## Ergebnisse und Diskussion

### Deklarierte Lachsarten, Fanggebiete und Betriebe

Von ursprünglich 90 zur Auswertung vorliegenden Datensätzen konnten 71 Datensätze in die Ergebniserfassung einbezogen werden (Tab.1). Sofern überhaupt eine Angabe der Tierart erfolgte, handelte es sich meist um *O. keta*. Insgesamt war die Anzahl der Datensätze mit angegebener oder nachgewiesener Tierart so gering, dass auf eine speziesbezogene Zuordnung der Befallsstärke mit Nematodenlarven verzichtet wurde. Als Fanggebiet im Sinne der „Fischetikettierung“ war bei 53 Datensätzen „Pazifischer Ozean“ bzw. FAO Gebiet 61 (Beringsee) bzw. 67 (Golf von Alaska) angegeben, bei 9 Datensätzen „Nordpazifik“/„NO-Pazifik“.

Von Sugawara et al. (2004) wurden regionale Unterschiede in den Befallsstärken bei *O. keta* beschrieben. Die Autoren führten dies auf unterschiedliche Wanderwege der Lachse zurück. Die Herkunftsangaben bei den uns vorliegenden Erzeugnissen waren sehr grob und lassen keine Rückschlüsse auf bestimmte Fanggründe zu. Im Zusammenhang mit den auf den Verpackungen angegebenen Zulassungsnummern der Betriebe fiel auf, dass sämtliche Filets mit anhängendem Bauchlappen aus chinesischen Betrieben stammten.

### Ermittlung der Befallsstärke mit Nematodenlarven in den Gesamtproben

Die angegebenen Einwaagen betragen zwischen 200 g und 1771 g, meist um 400 g, so dass eine Berechnung auf 1 kg gerechtfertigt erschien. Die Befallsrate mit Nematodenlarven (NL) in den Gesamtproben (dorsales und ventrales Filet) betrug im Mittel 40/kg bezogen auf alle berücksichtigten Proben ( $n = 71$ ). Der aufgrund der extrem streuenden Ergebnisse zwischen 0 und 217 Nematodenlarven/kg Filet

**TABELLE 1:** Deklarierte Arten, Fanggebiete und Betriebe ( $n = 71$ ).

<b>Arten</b>	
Ohne Angabe	53
<i>Oncorhynchus keta</i>	11
<i>Oncorhynchus nerka</i>	4
<i>Oncorhynchus kisutch</i>	2
<i>Oncorhynchus gorbuscha</i>	1
<b>Fanggebiete</b>	
Pazifischer Ozean	47
Nordpazifik/NO-Pazifik	9
Ohne Angabe	9
FAO 61/67	6
<b>Betriebe lt. Zulassungsnummer</b>	
Deutschland	27
China	14
Sonstige (NL, USA, DK, PL)	15
Ohne Angabe	11

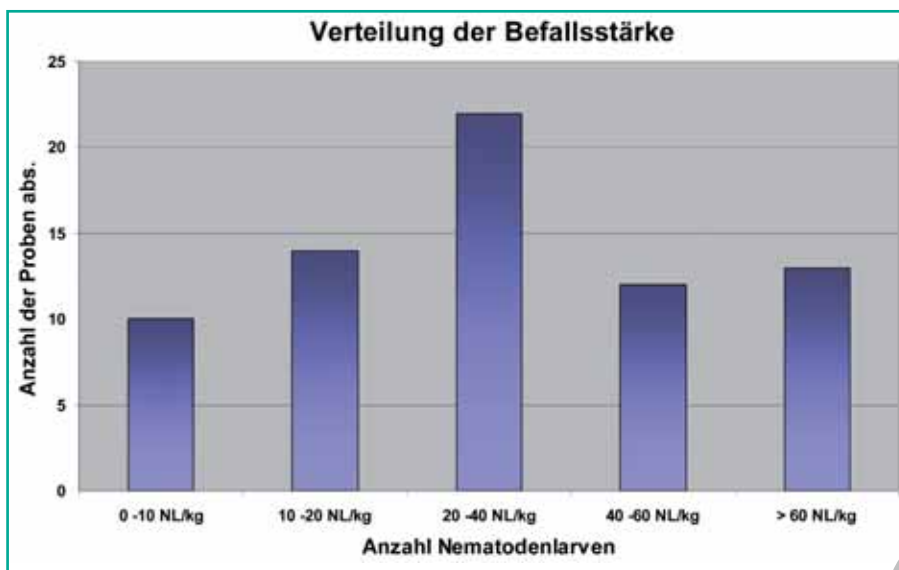


ABBILDUNG 1: Verteilung der Befallsstärke von Pazifischen Lachsarten mit Nematodenlarven (NL)/kg Filet.

ergänzend ermittelte Median betrug 30,2/kg. Abbildung 1 zeigt die Verteilung der Befallsstärke innerhalb der berücksichtigten Datensätze. Ein Maximum ergab sich mit 31 % bei 20–40 Nematodenlarven/kg.

Die ermittelten Nematodenzahlen/kg entsprechen den bisher vorliegenden Literaturangaben.

Sugawara et al. (2004) stellten bei Untersuchungen an *Oncorhynchus keta* (engl. Chum) aus verschiedenen Fangplätzen in der Beringsee und vor dem Aufstieg in den Chitose River bei Anteilen mit von Nematoden befallenen Fischen in der Gesamtprobe zwischen 92,9 und 100 % Befallsstärken von 8,7 bis 30,3 Nematodenlarven in der Muskulatur je Fisch bezogen auf alle untersuchten Exemplare fest. Die an zwei Fangplätzen im Golf von Alaska gefangenen Lachse wiesen sowohl geringere Anteile mit Nematoden belasteter Fische als auch niedrigere Befallsstärken bezogen auf die befallenen Fische und das Gesamtprobenkontingent auf.

Bei den Untersuchungen von Urawa und Fujisaki (2006) an *O. keta* aus der Beringsee und dem Bereich des Chitose River enthielten 100 % der untersuchten Lachse Nematoden bei Befallsstärken in der Muskulatur von im Mittel 81 bis 160 Nematodenlarven je Fisch bei ebenfalls stark streuenden Ergebnissen. Die Autoren stellten einen starken Anstieg der Nematodenbelastung bei *O. keta* seit 2003 fest.

#### Ermittlung der Befallsstärke mit Nematodenlarven in Abhängigkeit von der Lokalisation

In einem weiteren Ansatz wurden nur Datensätze berücksichtigt, bei denen dorsale und ventrale Teile der Filets getrennt untersucht worden waren ( $n = 57$ ). Wegen der geringeren Einwaagen werden die Ergebnisse zunächst als Anzahl Nematodenlarven in 100 g Filet und zusätzlich als Anzahl in 1 kg angegeben.

Abbildung 2 zeigt die Verteilung nach Entfernung aller Datensätze, bei denen der

Anteil des ventralen Filets an der Gesamteinwaage weniger als 15 % betrug. Die insgesamt etwas niedrigeren Befallsstärken kommen dadurch zustande, dass es sich bei den aussortierten Datensätzen um Proben mit insgesamt extrem hoher Befallsstärke gehandelt hatte. Entscheidend für die vorliegende Fragestellung ist jedoch die Differenz zwischen der Befallsstärke des dorsalen und des ventralen Filets, die noch etwas höher ausfällt als bei Verwendung aller Datensätze.

Die Ergebnisse zeigen auch unter Berücksichtigung der relativ geringen Datenmenge von 57 Proben deutlich, dass Nematodenlarven bei Wildlachs deutlich schwerpunktmäßig im ventralen Filet lokalisiert sind, wobei das Verhältnis von oberem zu unterem Filet etwa bei 10:100

Nematodenlarven/kg liegt.

In der Literatur finden sich vergleichbare Ergebnisse. Auch nach den Untersuchungen von Urawa et al., (2006) und Sugawara et al., (2004) befinden sich die Nematodenlarven weitaus überwiegend in den die Organe umgebenden Muskelanteilen, nach einer Darstellung bei Sugawara et al., (2004) sind dabei große Teile des ventralen Filets und nicht nur die dünnwandigen sog. Bauchlappen betroffen. Auch im Rückenfilet waren Nematodenlarven nachweisbar, jedoch in weitaus geringerer Anzahl.

Nach Etzel et al. (2009) sind hohe Anzahlen an Nematodenlarven überwiegend im Bereich der Bauchlappen vorhanden, nach Auffassung dieser Autoren lässt sich durch das vollständige Entfernen der Bauchlappen die Nematodenbelastung auf unter 20 Nematodenlarven/kg Endprodukt senken. Dies ist der Grenzwert von Nematodenlarven/kg, bei dessen Überschreitung das Erzeugnis nach einem Vorschlag von Etzel et al. (2007) nicht mehr verkehrsfähig ist.

Bei im Jahre 2007 durchgeführten Untersuchungen an

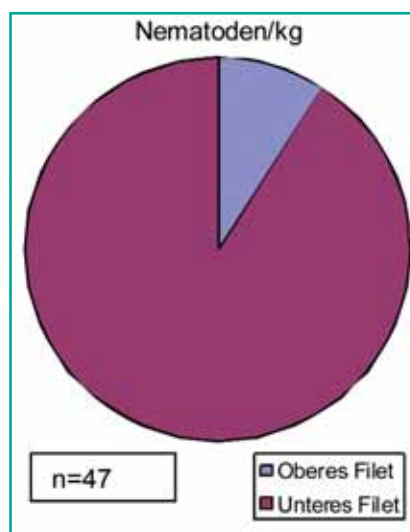


ABBILDUNG 2: Verteilung von Nematodenlarven auf den oberen und unteren Teil des Filets von Pazifischen Lachsen (reduzierte Datensatzzahl).

verschiedenen Lachsarten (*O. keta*, *O. nerka*, *O. gorbuscha*) aus Fängen vor der Küste Alaskas (Karl et al., 2011) zeigte sich ebenfalls, dass unabhängig von der Lachsart annähernd 80% der Nematodenlarven im Bereich der Bauchlappen gefunden wurden. Im Muskelgewebe oberhalb der Seitenlinie waren wiederum die rückennahen Anteile schwächer befallen als die näher an der Leibeshöhle liegenden.

Nach den Ergebnissen dieser Arbeitsgruppe würde bei einer großzügigen Entfernung der Bauchlappen bei einem Masseverlust von etwa 30 % des Filets die Nematodenbelastung im Endprodukt deutlich gesenkt werden. Allerdings

müsste aufgrund der extrem unterschiedlichen individuellen Belastung bei einigen der Filets (z. B. bis 20 % bei *O. keta*) auch nach dieser Maßnahme noch mit Nematodenbelastungen von mehr als 20/kg gerechnet werden.

Bei der vorliegenden Erhebung war die Nematodenbelastung im dorsalen Filetanteil umso geringer im Vergleich zum ventralen Filet, je konsequenter der Bereich unterhalb der Seitenlinie abgetrennt wurde (s. Abb. 2a und 2b). Das Gewichtsverhältnis zwischen dorsalem und ventralem Filet betrug im Durchschnitt 60 % zu 40 %. Nach den vorliegenden Ergebnissen lässt sich durch stärkeres Beschneiden des Filets, das über die Entfernung der Bauchlappen hinausgeht, eine weitere Absenkung der Nematodenbelastung erreichen.

### Literaturverzeichnis

- Anon (1988):** Bekanntmachungen des BGA. Vorläufiger Probeplan, Untersuchungsgang und Beurteilungsvorschlag für die amtliche Überprüfung der Erfüllung der Vorschriften des § 2 Abs. 5 der Fisch-VO. Bundesgesundhbl. 12/88: 486–487.
- Deardorff TL, Kent ML (1989):** Prevalence of larval *Anisakis simplex* in pen-reared and wild-caught Salmon (Salmonidae) from Puget Sound, Washington. Journal of Wildlife Diseases, 25(3): 416–419.
- Etzel V, Boiselle C, Ramdohr S, Bartelt E (2007):** Vorschlag zum Nachweis und zur Beurteilung von Nematodenlarven in Wildlachs vor dem Hintergrund des EU-Rechts. J. Verbr. Lebensm. 2: 496–498.
- Etzel V, Ramdohr S, Bartelt E (2009):** Würmer in Wildlachs – Untersuchungsmethoden und Beurteilung von Nematoden in Wildlachs (*Oncorhynchus* spp.). Rundschau für Fleischhygiene und Lebensmittelüberwachung 7/2009: 290–293.
- Karl H (2008):** Nematode larvae in fish on the German market 20 years of consumer related research. Archiv für Lebensmittelhygiene 59: 107–116.
- Karl H, Baumann F, Ostermeyer U, Kuhn T, Klimpel S (2011):** *Anisakis simplex* (s.s.) larvae in wild Alaska salmon: no indication of post-mortem migration from viscera into flesh. Diseases of Aquatic Organisms 94: 201–209.
- Möller H, Schröder S (1987):** Neue Aspekte der Anisakiasis in Deutschland. Archiv für Lebensmittelhygiene 38: 121–148.
- Priebe K (2007):** Parasiten des Fischfilets. Verlag Springer Berlin Heidelberg New York, 268–325.
- Sugawara Y, Urawa S, Kaeriyama M (2004):** Infection of *Anisakis simplex* (Nematoda: Anisakidae) larvae in chum salmon (*Oncorhynchus keta*) in the North Pacific Ocean, Bering Sea, and a river of Hokkaido. (NPAFC Doc. 791) 14 pages. Hokkaido Tokai University, Minamisawa 5-1-1-1, Minami-ku, Sapporo 005-8601, Japan.
- Urawa S, Fujisaki Y (2006):** Heavy infections of *Anisakis simplex* (Nematoda: Anisakidae) larvae in the muscle of maturing chum salmon: a preliminary report. (NPAFC Doc. 993) 6 p. National Salmon Resources Centre, Fisheries Research Agency, Toyohira-ku, Sapporo 062-0922, Japan)

#### Korrespondenzadresse:

Prof. Dr. Jörg Oehlenschläger  
Seafoodconsultant  
Sandstrasse 11a  
21244 Buchholz in der Nordheide  
Deutschland  
J.Oehlenschlaeger@gmx.net

## Kontakte

### Sie interessieren sich für ein Abonnement des „Archivs“?

Telefon (0 51 81) 80 02-50  
Telefax (0 51 81) 80 02-55  
E-Mail dieter.meyer@p-d-ges.de

### Sie interessieren sich für Anzeigen- oder Beilagenwerbung?

Telefon (0 51 81) 80 02-53  
Telefax (0 51 81) 80 02-55  
E-Mail a.m.peter@p-d-ges.de



Presse Dienstleistungs-  
gesellschaft mbH & Co. KG

Ravenstraße 45 · 31061 Alfeld (Leine)  
Postfach 16 42 · 31046 Alfeld (Leine)  
Telefon (0 51 81) 80 02-0  
Telefax (0 51 81) 80 02-55  
E-Mail info@p-d-ges.de



## +++ Nachrichten aus Forschung, Politik und Industrie +++

(Die Verantwortlichkeit für die Texte liegt ausschließlich bei den Instituten, Ministerien und werbenden Unternehmen.)

### Krankheitserreger attackieren gezielt Eiweißstoffe mit vielen Funktionen

#### Gute Netzwerker sind beliebte Angriffsziele

**Proteine erfüllen ihre Aufgaben nicht alleine, sondern vernetzen sich zu kleinen oder größeren Teams. Wie diese Proteinnetzwerke von Krankheitserregern manipuliert werden, hat ein Forscherteam an einem Pflanzenmodell untersucht. Die Forscher zeigten, dass so unterschiedliche Erreger wie Pilze und Bakterien die gleiche Taktik anwenden: Sie attackieren gezielt die Proteine, die viele Funktionen haben und stark vernetzt sind. Die Arbeit ist in der aktuellen Ausgabe von Cell Host & Microbe erschienen.**

Proteine sind für nahezu alle lebenswichtigen Funktionen im Organismus verantwortlich: Unter anderem katalysieren sie Reaktionen im Stoffwechsel, leiten Signale weiter, übernehmen den Transport bestimmter Stoffe und sind für die Antworten des Immunsystems zuständig. Bereits vor einigen Jahren stellten Forscher fest, dass die Proteine nicht unabhängig voneinander arbeiten, sondern komplexe Netzwerke bilden.

„Wenn man sich die Proteinnetzwerke ansieht, findet man viele Gemeinsamkeiten mit sozialen Netzwerken im Web“, erklärt Dr. Pascal Falter-Braun vom TUM-Lehrstuhl für die Systembiologie der Pflanzen. „Auch unter den Proteinen gibt es gute Netzwerker, die mit vielen anderen Proteinen in Kontakt stehen – und daneben auch solche, die weniger interaktiv sind.“

#### Verschiedene Krankheitserreger attackieren die gleichen Ziele

In der Studie an der Modellpflanze *Arabidopsis thaliana* (Acker-Schmalwand) stellten die Forscher fest, dass Krankheitserreger insbesondere die stark vernetzten Proteine ins Visier nehmen. „Dabei hat uns überrascht, dass biologisch so unterschiedliche Erreger wie Bakterien und Pilze die gleichen Proteine manipulieren“, führt Falter-Braun aus. Dazu zählen Proteine, die wichtige Abläufe in der Zelle steuern. Wie zum Beispiel Transkriptionsfaktoren: Diese aktivieren Gene für die Produktion neuer Proteine.

Seit einiger Zeit ist bekannt, dass diese Knotenpunkte für das gesamte Netzwerk bedeutend sind, da sie viele Prozesse koordinieren und aufeinander abstimmen. „Da die Krankheitserreger ihren Wirt bei einem Angriff möglichst effektiv schwächen wollen, versuchen sie Schaltzentralen der Zelle unter Kontrolle zu bekommen, also Proteine mit möglichst vielen 'Freunden' im Netzwerk“, sagt Falter-Braun.

### Braune Champignons, verdorbene Champignons?

**Annette Rempel und ihr Team vom Institut für Biophysikalische Chemie der Universität Wien erforschen die „Bräunungsreaktion“ beim Verderb von Champignons.**

Das Verständnis der Wirkungsweise des Pigmentierung-Enzyms Tyrosinase ist sowohl von medizinischem als auch technologischem Interesse. Das Kupfer enthaltende Enzym gilt bei Tieren und Menschen als unentbehrlich für den Schutz vor UV-Strahlung und liefert zugleich auch Informationen zur Verhinderung des Verderbs von Lebensmitteln. Champignons sind dabei aufgrund ihrer niedrigen Kosten und der guten Verfügbarkeit eine wertvolle Quelle für die WissenschaftlerInnen. Vor allem wegen ihres hohen Enzymgehaltes werden die Pilze für Untersuchungen an der Tyrosinase geschätzt. Die Champignons dienen daher auch als Modellorganismus zur Untersuchung von Bräunungsreaktionen.

#### Bildung in inaktiver Vorstufe

Seit 2012 ist bekannt, dass sechs verschiedene Tyrosinasen (PPO1 bis 6) im Champignon existieren, von denen zwei in größeren Mengen vorkommen (PPO3 und PPO4). Das für die Bräunungsreaktion verantwortliche Enzym wird dabei in sogenannten Eukaryoten (Lebewesen, die einen Zellkern besitzen) in einer inaktiven Vorstufe des Entwicklungsprozesses gebildet. Diese Vorstufe wird dann durch eine Spaltung aktiviert. Dabei wird der das aktive Zentrum abdeckende Teil des Enzyms entfernt und die Substrate (Tyrosin und andere Monophenole) können umgesetzt werden.

#### Schaltzentralen sind stark konserviert

Für die zentrale Rolle dieser Proteine spricht auch, dass sie stark konserviert sind. Im Lauf der Evolution können kleine Mutationen zu Veränderungen in den Molekülen führen. Wenn sich für den betroffenen Organismus ein Vorteil ergibt, ist es wahrscheinlich, dass die neuen Eigenschaften an die Nachkommen weitervererbt werden.

Bei den stark vernetzten Proteinen kommen solche Veränderungen kaum vor, wie Falter-Braun erklärt: „Da diese Proteine eine so zentrale Position im Netzwerk haben, können sie sich kaum verändern, ohne dass dies negative Auswirkungen auf die Pflanze hätte.“ Diese Konservierung scheinen die Pathogene auszunutzen: Sie zielen auf Proteine, die sich nicht verändern – und sich damit dem Angreifer auch nicht entziehen können.

#### Hilfe aus dem Netzwerk

Gleichzeitig scheinen die Netzwerke so aufgebaut zu sein, dass sie die Verteidigung der empfindlichen Knotenpunkte optimal unterstützen. Denn die für Pathogene besonders attraktiven Proteine haben häufig Nachbarn, deren Mutationen das Netzwerk gut verkraftet. Wie diese „Nachbarschaftshilfe“ funktioniert und welche anderen Verteidigungsstrategien das Netzwerk außerdem bietet, muss noch untersucht werden.

Das verschiedene Erreger die gleichen Proteine in der Pflanze angreifen, könnte den Weg für die Züchtung von resistenteren Nutzpflanzen weisen. Ob die Ergebnisse auf andere Organismen – und auch den Menschen – übertragbar sind, bedarf noch weiterer Forschung. „Da menschliche Proteine den gleichen evolutionären Prozessen unterworfen



Pilzbefall auf einem Blatt der Modellpflanze Acker-Schmalwand. Foto: Jeffery L. Dangl / UNC

sind, ist es durchaus möglich, dass unsere Erkenntnisse auch für den Menschen gültig sind“, so Falter-Braun abschließend.

Weitere Informationen (Quelle):  
Technische Universität München  
[www.tum.de](http://www.tum.de)

#### Neuer Isolierungsweg und außergewöhnliche Reagenz führten zum Erfolg

Keiner der bis dahin in der Literatur bekannten Isolierungswege konnte für PPO4 erfolgreich angewendet werden. Am Institut für Biophysikalische Chemie wurde nun eine Methode entwickelt, die es erstmals erlaubt, die latente Tyrosinase aus deren natürlicher Quelle zu isolieren. Die Enzym-Charakterisierung fand in enger Zusammenarbeit mit dem Massenspektrometriezentrum der Fakultät für Chemie Universität Wien unter der Leitung von Andreas Rizzi statt. Nachdem genügend große Mengen von reinem PPO4 extrahiert werden konnten, gelang es den WissenschaftlerInnen, Kristallisationsbedingungen zu finden und zu optimieren, unter denen das Protein Einkristalle bildet. Dieses gelang nur unter dem Einsatz eines relativ außergewöhnlichen Co-Kristallisations Reagenz, einem Polyoxyometallat des Anderson-Typs.

#### Wesentlich für Medizin und Biotechnologie

Der Dissertant Stephan Mauracher hat das Projekt im Rahmen des Initiativkollegs „Functional Molecules“ der Uni Wien bearbeitet. „Es ist gelungen, das Enzym in ausreichender Menge zu reinigen und zu charakterisieren. Ulrich Kortz von der Jacobs Uni Bremen hat das Polyoxyometallat synthetisiert und als Additiv für die Proteinkristallisation vorgeschlagen. Das Forschungsvorhaben wurde sodann als FWF Einzelprojekt weiter geführt. So gelang die Kristallisation und die dreidimensionale Strukturlösung von PPO4“, so Rempel abschließend.

Weitere Informationen (Quelle):  
Universität Wien  
[www.univie.ac.at](http://www.univie.ac.at)

## +++ Nachrichten aus Forschung, Politik und Industrie +++

(Die Verantwortlichkeit für die Texte liegt ausschließlich bei den Instituten, Ministerien und werbenden Unternehmen.)

### Gadolinium aus Kontrastmitteln und Arzneimittelrückstände weit verbreitet im deutschen Trinkwasser

**Immer häufiger ist Wasser in Deutschland mit Arzneimittelrückständen verunreinigt. Nahezu in allen hiesigen Flüssen und Seen ist Gadolinium, ein Hochtechnologie-Metall und Element aus der Gruppe der Seltenen Erden, inzwischen in anomal hohen Konzentrationen zu finden. Gadolinium wird als Kontrastmittel bei der Magnetresonanztomographie (MRT) verwendet und gelangt über den Urin der Patienten ins Abwasser. Da es in Klärwerken nicht entfernt oder abgebaut werden kann, wird es mit dem gereinigten Abwasser in Flüsse und Seen eingeleitet und erreicht nach einiger Zeit das Grundwasser.**

Natürlicherweise kommt Gadolinium nur in sehr geringen Konzentrationen in Gewässern vor. Durch den Vergleich seiner Konzentrationen mit der anderer Seltener Erden wird es möglich, den Anteil des anthropogenen Gadoliniums, also des Kontrastmittel-Gadoliniums im Wasser zu berechnen.

Nachdem Pilotstudien des Geochemikers Michael Bau, Professor für Geowissenschaften an der Jacobs University in Bremen, und seiner Forschungsgruppe gezeigt haben, dass das Kontrastmittel-Gadolinium in den westlichen Bezirken von Berlin und entlang von Rhein und Ruhr auch im Trinkwasser in anomal hohen Konzentrationen auftritt, berichtet die Zeitschrift Öko-Test nun von anthropogenem Gadolinium im Trinkwasser zahlreicher anderer deutscher Städte und Gemeinden. Dies ist bemerkenswert, weil Gadolinium aus MRT-Kontrastmitteln ein Indikator dafür ist, dass auch andere aus dem Abwasser stammende, sogenannte abwasserbürtige Stoffe im Wasser vorhanden sein können.

Für Michael Bau, der diese Entwicklung mit seinen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern seit Jahren verfolgt, ist dies wenig überraschend. „Unsere Untersuchungen zeigen seit längerem, dass überall dort, wo Oberflächenwasser aus Seen und Flüssen eine wichtige Rolle für die Trinkwasserversorgung spielt, relativ hohe Gehalte an Gadolinium aus Kontrastmitteln im Leitungswasser gefunden werden.“ Als Beispiele sind Städte im Einzugsgebiet des Rheins

(etwa Düsseldorf und Köln, aber auch Rüsselsheim, Koblenz, Bonn, Leverkusen und Kleve) und der Ruhr (etwa Beispiel Essen und Duisburg) oder der Westen Berlins zu nennen. Dort haben die gemessenen Konzentrationen in den letzten Jahren deutlich zugenommen.

Es gibt aber auch unerwartete Funde, wie beispielsweise in München, wo noch zu klären ist, wo und wie das anthropogene Gadolinium ins Leitungswasser gelangt. Als Ergänzung der Öko-Test Studie konnte im Geochemie-Labor der Jacobs University das Kontrastmittel-Gadolinium auch im Trinkwasser von Städten nachgewiesen werden, die in der Studie von Öko-Test nicht untersucht wurden, beziehungsweise für die kein Kontrastmittel-Gadolinium bestimmt werden konnte. Michael Bau führt letzteres auf die empfindliche Analyseverfahren zurück, die er und seine Kollegen angewandt haben.

Muss sich der Verbraucher darüber nun Sorgen machen? „Nein, das Gadolinium ist in den bisher im Trinkwasser gemessenen Konzentrationen gesundheitlich völlig unbedenklich“, betont Michael Bau, fügt aber hinzu, dass, wenn auch das Gadolinium selbst kein Problem sei, es aber anzeige, dass Stoffe, die in Kläranlagen nicht aus dem Abwasser entfernt werden können, ins Leitungswasser gelangt seien. Zu solchen abwasserbürtigen Stoffen gehören zum Beispiel Rückstände von Medikamenten und Körperpflegeprodukten, die ihrerseits schon in geringsten Konzentrationen wirken. Diese könnten vor allem bei der Zubereitung von Säuglingsnahrung bedenklich sein.

Die Forschungsgruppe Rohstoff- und Umweltgeochemie gehört an der Jacobs University zum Schwerpunkt Health. Mit ihren Untersuchungen konzentrieren sich Michael Bau und seine Kollegen unter anderem auf Seltene Erden und andere Hochtechnologiemetalle. Zum Umweltverhalten des Gadoliniums und anderer Seltener Erden sowie zu ihrer Nutzung als kostensparender Indikator bietet Michael Bau auch eintägige Schulungsseminare für Mitarbeiter von privaten und kommunalen Wasser- und Umweltbetrieben an.

Weitere Informationen (Quelle):  
Jacobs University Bremen  
[www.jacobs-university.de](http://www.jacobs-university.de)

### Bio-Betrüger auf der Spur

**Bio-Essen boomt – aber ist die viel teurere Bio-Tomate auch wirklich eine? Das lässt sich mit einer Analysetechnik herausfinden, an der Würzburger Wissenschaftler arbeiten.**

Die Nachfrage nach Bio-Lebensmitteln steigt. Weltweit hat sie sich zwischen den Jahren 2002 und 2011 fast verdreifacht. Dabei sind Bio-Lebensmittel deutlich teurer als herkömmlich erzeugte Produkte. Das verführt manche Hersteller und Händler dazu, konventionelle Waren als biologische auszugeben – zum Schaden der Verbraucher.

#### Bisherige Analytik ist nicht gut genug

Ob Gemüse und Früchte tatsächlich auf biologische Weise erzeugt wurden, lässt sich mit Laboranalysen bislang nur unzureichend klären. Die verlässlichste Methode besteht derzeit darin, in Tomaten, Lauch oder Brokkoli die verschiedenen Formen (Isotope) von Stickstoff zu untersuchen.

„Eine eindeutige Zuordnung ist mit dieser Methode aber nicht immer möglich“, sagt die Lebensmittelchemikerin Monika Hohmann, Doktorandin an der Universität Würzburg und am Bayerischen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit. Das liege unter anderem daran, dass in der Bio-Landwirtschaft bestimmte Düngungsverfahren möglich sind, bei denen die Stickstoffzusammensetzung sich in der Isotopen-Analyse nicht klar von Stickstoff aus konventionellen Düngemitteln abgrenzen lässt.

#### Magnetresonanz-Spektren als Alternative

Hohmann entwickelt darum eine andere Methode, und die ersten Ergebnisse sind vielversprechend: Mit der so genannten Magnetresonanz-Spektroskopie (NMR) erstellte sie eine Art Fingerabdruck der Tomateninhaltsstoffe, und nach der Auswertung

zeigten sich deutliche Unterschiede zwischen biologisch und konventionell erzeugten Tomaten der Sorten „Mecano“ und „Tastery“. Das berichten Hohmann und ihre Dissertationsbetreuer Norbert Christoph, Helmut Wachter und Ulrike Holzgrabe im „Journal of Agricultural and Food Chemistry“.

Die Wissenschaftler kooperieren bei diesem Projekt mit der Bayerischen Landesanstalt für Wein- und Gartenbau (Veitshöchheim). Dort werden Tomaten im Gewächshaus unter genau definierten Bedingungen konventionell und biologisch angebaut. Regelmäßig werden Proben entnommen, püriert und zentrifugiert. Am Ende misst Hohmann davon ein so genanntes 1H NMR-Spektrum.

#### Weitere Tomatensorten mit einbeziehen

„Aus den Spektren bauen wir eine Datenbank auf, und daraus konnten wir für die Tomaten aus dem Versuchsanbau die Unterschiede zwischen den biologischen und den konventionellen Tomaten erkennen“, sagt Hohmann. Bislang hatte die Doktorandin nur zwei Tomatensorten im Blick. Als nächstes will sie auch andere Sorten analysieren – denn es

zeichnet sich ab, dass Unterschiede zwischen den Tomatensorten zu berücksichtigen sind. Eignet sich die Methode auch für anderes Obst und Gemüse? Das ist eine Frage, die ebenfalls noch zu klären ist.

Die Wissenschaftler sehen ihre bisherigen Ergebnisse als guten Ausgangspunkt für die Entwicklung einer verlässlichen Methode, mit der sich biologisch produzierte Tomaten und andere Lebensmittel künftig klar identifizieren lassen. Das dürfte Betrügern, die herkömmlich erzeugtes Obst und Gemüse als „Bio“ deklarieren, nicht so sehr gefallen.

Weitere Informationen (Quelle):  
Julius-Maximilians-Universität Würzburg  
[www.uni-wuerzburg.de](http://www.uni-wuerzburg.de)



Bio-Tomate oder nicht? Würzburger Wissenschaftler wollen diese Frage mit moderner Laboranalytik klären. Foto: Robert Emmerich

## +++ Nachrichten aus Forschung, Politik und Industrie +++

(Die Verantwortlichkeit für die Texte liegt ausschließlich bei den Instituten, Ministerien und werbenden Unternehmen.)

**Pilz unterstützt Kariesbildung**

Das Zusammenspiel verschiedener Pathogene entscheidet über deren Wirkung

***Streptococcus mutans* gilt als wichtigster Verursacher von Karies. Jedoch scheint das Bakterium keinesfalls alleine für die Entstehung von Löchern in den Zähnen verantwortlich zu sein. Wissenschaftler des Helmholtz-Zentrums für Infektionsforschung (HZI) in Braunschweig konnten nun zeigen, dass ein komplexes Zusammenspiel verschiedener Pathogene zur Entstehung von Karies führt. Ihre Ergebnisse veröffentlichten die Forscher im „ISME Journal“.**

Das Bakterium *Streptococcus mutans* kommt bei fast allen Menschen im Speichel vor und spielt eine Hauptrolle bei der Bildung von Karies. Lange ging man gar davon aus, dass der Keim allein für die Kariesbildung verantwortlich ist. Neuere Studien zeigen jedoch, dass eine ganze Reihe von Pathogenen daran beteiligt ist. Viele von ihnen leben in der klebrigen Substanz, die *S. mutans* bildet, um auf den Zähnen Halt zu finden. Einer dieser Keime ist der Hefepilz *Candida albicans*.

„Wir haben uns das Zusammenspiel von *Streptococcus mutans* und *Candida albicans* genauer angeschaut und festgestellt, dass das Bakterium im Beisein des Pilzes seine Virulenz verändert“, sagt Prof. Irene Wagner-Döbler, Leiterin der Arbeitsgruppe „Mikrobielle Kommunikation“. Das Bakterium wird also in Anwesenheit des Pilzes schädlicher.

Da Mikroorganismen keinen Mund und keine Ohren haben, können sie nicht über Töne miteinander sprechen, sondern verwenden chemische Signale. Sie geben Moleküle ab und erkennen die Moleküle anderer Mikroorganismen in ihrer Umgebung. Ist die Konzentration bestimmter Signalstoffe hoch genug, wird das sogenannte Quorum-Sensing-System aktiviert.

Die Pilze produzieren also nach außen Signalmoleküle, die beim Überschreiten einer bestimmten Konzentration von Bakterien aufgenommen werden und verschiedene metabolische Reaktionen auslösen können. „Eine dieser Reaktionen ist die Aktivierung von Genen bei *Streptococcus mutans*, die zur Produktion zelleigener Antibiotika führen“, sagt Dr. Helena Sztajer, Erstautorin der Studie. So kann *S. mutans* andere Bakterien erfolgreich bekämpfen und sich selbst einen Vorteil verschaffen.



Links: Nahaufnahme eines Biofilms bestehend aus zwei humanen Krankheitserregern, dem Pilz *Candida albicans* und dem Karies fördernden Bakterium *Streptococcus mutans*. Die Produktion von extrazellulären polymeren Substanzen (EPS) des Bakteriums, die Karies auslösen können, wird durch den Pilz gestoppt. Rechts: *S. mutans* Zellen fluoreszieren grün. Sie tragen ein Gen für das grün fluoreszierende Protein und sind mit dem Promotor des Quorum-Sensing gesteuerten alternativen sigma-factor SigX verbunden. Das Quorum-Sensing System wurde durch den Pilz induziert. Foto: HZI/Rohde&Sztajer

Darüber hinaus ist das Bakterium in Anwesenheit des Pilzes eher in der Lage fremdes Erbgut aufzunehmen. „So kann es sich neue Eigenschaften aneignen, wie beispielsweise Antibiotikaresistenzen“, sagt Sztajer. Auch die Produktion klebriger Substanzen, eine wichtige Voraussetzung für die Haftung von *S. mutans* und der anderen Bakterien auf dem Zahn, wird durch den Pilz unterdrückt. Ob dadurch die Kariesbildung verstärkt wird, müssen Untersuchungen an Menschen zeigen. Fest steht, daß ein Pathogen durch das Zusammenspiel mit einem anderen Mikroorganismus seine Gefährlichkeit (Virulenz) völlig ändern kann – es wird von Dr. Jekyll zu Mr. Hyde.

Die Erkenntnisse der Forscher sind nicht nur im Hinblick auf Karies wichtig, denn sie bestätigen eine neue Sichtweise für die Untersuchung von Krankheiten. Suchte man früher meist nach einem einzigen Erreger als Verursacher einer Erkrankung, unterstützen die Ergebnisse der HZI-Forscher die These, dass das Zusammenspiel vieler verschiedener Mikroorganismen dabei eine Rolle spielt.

Weitere Informationen (Quelle):

Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung GmbH  
<http://www.helmholtz-hzi.de>

**Neue Studie zeigt, wie *Staphylococcus aureus* das Immunsystem überlistet**

**Wissenschaftler des Instituts für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene an der Universität des Saarlandes befassen sich mit den krankmachenden Mechanismen des Bakteriums *Staphylococcus aureus*, insbesondere mit einem von diesem Erreger produzierten Protein, dem „Extrazellulären Adhäsivprotein“ (Eap). Gemeinsam mit Forschern aus den Niederlanden und den USA haben sie jetzt erstmals beschrieben, dass Eap-Moleküle bestimmte eiweißspaltende Enzyme, die für die Immunabwehr verantwortlich sind, sogenannte Neutrophile Proteasen, außer Kraft setzen. Damit könnte eine neue Klasse von Substanzen zur Therapie überschießender Immunreaktionen entdeckt sein.**

Bakterien mit dem Namen *Staphylococcus aureus* sind Erreger harmloser Hautinfektionen, können aber unter bestimmten Umständen auch schwere, zum Teil lebensbedrohliche Organinfektionen oder Blutvergiftungen hervorrufen. Eine besondere Rolle in Krankenhäusern spielen multiresistente Varianten dieser Bakterienart, bekannt als antibiotikaresistenter Krankenhauskeim (MRSA).

Bis vor kurzem ging man davon aus, dass die Schädigungsmechanismen der Staphylokokken darauf beruhen, dass ihre bakteriellen Enzyme den Wirt direkt schädigen. Nach diesem Verständnis sind diese Bakterien zwar anpassungsfähige, sich schnell vermehrende Mikroorganismen, aber lediglich zu einer „passiven“ Schädigung fähig. Durch intensive Forschungen über diesen Infektionserreger hat sich dieses Bild in jüngster Zeit grundlegend gewandelt. So befasste sich die Arbeitsgruppe um Professor Mathias Herrmann und Privatdozent Dr. Markus Bischoff vom Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene seit langem mit den krankmachenden Mechanismen von *Staphylococcus aureus*, insbesondere mit einem von diesem Erreger produzierten Protein, dem „Extrazellulären Adhäsivprotein“ (Eap). Die Wissenschaftler stellten fest, dass dieses Protein die Abwehrmechanismen des Wirts schwächt und sich so optimale Bedingungen verschafft: Unter ande-

rem verhindert das Eap-Molekül das Andocken von weißen Blutabwehrzellen, sogenannten Granulozyten, an die Gefäßwand; darüber hinaus hemmt Eap das Wachstum von Gefäßzellen und die Neubildung kleinster Blutgefäße, die für die Wundheilung entscheidend sind. Kürzlich konnte die Homburger Arbeitsgruppe sogar feststellen, dass das Eap-Molekül den Staphylokokken „Zutritt“ in bestimmte Wirtszellen verschafft, beispielsweise in Hautzellen. Dadurch können sich die Bakterien intrazellulär vermehren und sind dabei wiederum vor Abwehrreaktionen des Wirts sicher.

In Zusammenarbeit mit einer niederländischen und einer US-amerikanischen Arbeitsgruppe konnten die Forscher der Universität des Saarlandes nun einen weiteren Wirkmechanismus von Eap nachweisen. In ihrer neuesten Publikation beschreiben sie eine spezifische Wechselwirkung zwischen dem Eap-Molekül und den sogenannten Neutrophilen Proteasen. Dabei handelt es sich um eiweißspaltende Enzyme, die von den Granulozyten produziert werden und eine entscheidende Rolle bei der Immunabwehr spielen: Sie können Bakterien direkt abtöten, aber auch krankmachende bakterielle Faktoren inaktivieren oder die Immunantwort durch eine Zerstörung von Signal-Proteinen beeinflussen.

Wie die Forscher nun zeigten, verlieren die Proteasen durch die Wechselwirkung mit dem Eap allerdings ihre Fähigkeit, Eiweiße zu spalten – und damit ihre Funktion in der Immunabwehr. „Wir konnten Eap-Moleküle nun erstmals als neue Klasse von Protease-Inhibitoren beschreiben, die für die ‚intelligente‘ Hemmung der Wirtsabwehr verantwortlich sind“, erläutert Herrmann. Gleichzeitig eröffne dieser Nachweis neue therapeutische Möglichkeiten bei anderen immunologischen Prozessen im Körper: „Eap-Moleküle stellen eine mögliche neue Klasse von Substanzen zur Therapie überschießender Immunreaktionen dar“, so Herrmann. Solche Substanzen könnten beispielsweise bei chronisch immunologischen Erkrankungen und Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises angewendet werden.

Weitere Informationen (Quelle):

Universität des Saarlandes  
[www.uni-saarland.de](http://www.uni-saarland.de)

**Impressum****Journal of Food Safety  
and Food Quality**

Archiv für Lebensmittelhygiene

65. Jahrgang · ISSN 0003-925X

**Verlag:** Presse Dienstleistungsgesellschaft  
mbH & Co. KG · Postfach 16 42, 31046 Alfeld ·  
Ravenstraße 45, 31061 Alfeld · Tel.: (0 51 81) 80 02-0,  
Fax: (0 51 81) 80 02-55 · E-Mail: info@p-d-ges.de

© 2010 M. & H. Schaper GmbH,  
Postfach 54 29, 30054 Hannover

**Schriftleitung:** Prof. Dr. G. Klein, Institut für Lebens-  
mittelqualität und -sicherheit, Stiftung Tierärztliche  
Hochschule, Bischofsholer Damm 15, 30173 Hannover;  
Prof. Dr. E. Haunhorst, Niedersächsisches Landesamt  
für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit,  
Postfach 39 49, 26029 Oldenburg

**Schriftleitungsassistent:** Dr. Helga Nagengast, Institut für  
Lebensmittelqualität und -sicherheit, Stiftung Tierärztliche  
Hochschule, Bischofsholer Damm 15, 30173 Hannover;  
Dr. Anke Rottinghaus, Niedersächsisches Landesamt  
für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit,  
Postfach 39 49, 26029 Oldenburg

**Geschäftsführer:** Dipl.-Kfm. Ewald Dobler,  
Dipl.-Vw. Carolin Dobler

**Anzeigenverkauf:** Anna-M. Peter, Tel.: (0 51 81) 80 02-53,  
Fax: (0 51 81) 80 02-55, E-Mail: a.m.peter@p-d-ges.de

**Vertrieb:** Dieter Meyer

**Herstellung:** Jens Rubrecht

**Konten:** Sparkasse Hildesheim, IBAN: DE94 2595 0130  
0010 0084 29, BIC: NOLA DE 21 HIK · Volksbank eG  
Seesen, IBAN: DE89 2789 3760 0316 3199 00, BIC:  
GENO DE F1 SES

**Erfüllungsort und Gerichtsstand für Lieferung  
und Zahlung:** 31061 Alfeld (Leine)

**Druck:** Buchdruckerei P. Dobler GmbH & Co. KG,  
Ravenstraße 45, 31061 Alfeld (Leine)

**Bezugsbedingungen:** Das „Journal of Food Safety and  
Food Quality“ erscheint jährlich sechsmal. Bezugspreis  
146,80 Euro einschließlich Vertriebsgebühren; Preis des  
Einzelheftes 25,- Euro zzgl. Porto. Ermäßigter Bezugs-  
preis für Studenten jährlich 98,- Euro einschließlich Ver-  
triebsgebühren. Für DVG-Mitglieder (Arbeitsgebiet  
Lebensmittelhygiene) im ersten Bezugsjahr im Inland  
73,40 Euro (146,80 Euro in den Folgejahren). Für  
Mengenbezüge gelten besondere Preise, die der Verlag auf  
Anfrage bekannt gibt. Bezugspreis für das Ausland jähr-  
lich 152,50 Euro einschl. Versandkosten. Abbestellungen  
nur bis sechs Wochen vor Ende des Berechnungszeitra-  
umes möglich. Wird das Erscheinen durch höhere Gewalt  
oder Streik verhindert, so können keine Ansprüche an  
den Verlag geltend gemacht werden.

**Rechtliche Hinweise:** Eingereichte Arbeiten gehen in  
allen Teilen ins Eigentum des Verlages über und dürfen  
in derselben oder ähnlichen Form nicht anderweitig ange-  
boten noch andernorts veröffentlicht werden. Mit der  
Übergabe des Manuskripts tritt der Autor folgende  
Rechte an den Verlag ab:

- Bestand der Rechte: Der Verfasser versichert, dass  
er allein berechtigt ist, über die urheberrechtlichen  
Nutzungsrechte an seinem Beitrag einschließlich etwaiger  
Bildvorlagen, Zeichnungen, Pläne, Karten, Skizzen und  
Tabellen zu verfügen und dass der Beitrag keine  
Rechte Dritter verletzt.
- Dauer der Rechte: In Erweiterung von § 38 UrhG  
räumt der Verfasser dem Verlag das ausschließliche  
Verlagsrecht an seinen Beiträgen für die Dauer des  
gesetzlichen Urheberrechtsschutzes ein (alternativ: für  
die Dauer von drei Jahren ab Erscheinen).
- Umfang der Rechte: Der Verfasser räumt dem Verlag  
auch die folgenden Nutzungsrechte ein:
  - Das Recht zur Übersetzung in andere Sprachen  
sowie das Recht zur sonstigen Bearbeitung, insbe-  
sondere zur EDV-gerechten Aufbereitung zum  
Zwecke der Nutzung in neuen Medien wie Bild-  
schirmtext, Videotext, Datenbanken und dgl. sowie  
zur Erstellung von Zusammenfassungen (abstracts)  
u. zur Herausgabe als Mikrofilm, Mikrofiches, etc.
  - Das Recht zur Veröffentlichung von Sonderdrucken  
und zu sonstiger Vervielfältigung, insbesondere  
durch Fotokopie, sowie die von der VG Wort  
wahrenommenen Rechte einschließlich der ent-  
sprechenden Vergütungsansprüche.
  - Das Recht zur Aufzeichnung auf Bild- und Tonträ-  
ger sowie auf maschinenlesbare Datenträger, ferner  
das Recht zur elektronischen Speicherung in Daten-  
banken sowie zur Ausgabe in körperlicher und  
unkörperlicher Form.
  - Das Recht zur öffentlichen Wiedergabe in unkör-  
perlicher Form und das Recht zur Weitergabe der  
dem Verlag eingeräumten Nutzungsrechte an Dritte.

Für den Inhalt der Beiträge sind deren Verfasser verant-  
wortlich. Die fachliche Aussage der Beiträge drückt nicht  
immer die Meinung der Schriftleitung aus.

**Richtlinien für Autoren**

**Detaillierte Richtlinien für Autoren sind im Internet  
unter [www.journal-food-safety.de](http://www.journal-food-safety.de) oder [www.vetline.de/afl/](http://www.vetline.de/afl/) zu finden.**

Die Schriftleitung behält sich vor, Beiträge zurückzuweisen oder den Autoren Vorschläge für  
Änderungen zu unterbreiten. Alle Beiträge werden von Spezialisten begutachtet („peer-  
reviewed“). Die Schriftleitung bestimmt den Zeitpunkt der Veröffentlichung. Beiträge dürfen nicht  
bereits veröffentlicht sein und nicht gleichzeitig anderen Verlagen oder sonstigen Stellen zum  
Abdruck angeboten werden.

**Beleghefte/Sonderdrucke**

Jeder korrespondierende Autor eines Beitrages erhält je ein kostenloses Belegheft für jeden  
genannten Autor. Sonderdrucke (ohne Werbung, mind. 200 Exemplare) können gegen Rechnung  
auf Anfrage über den Verlag bezogen werden.

**Urheber- und Verlagsrechte**

Alle in dieser Zeitschrift veröffentlichten Beiträge sind urheberrechtlich geschützt. Der Rechts-  
schutz gilt auch gegenüber Datenbanken und ähnlichen Einrichtungen. Kein Teil dieser Zeitschrift  
darf außerhalb der jeweils geltenden engen Grenzen der Urheberrechtsgesetze der einzelnen  
Länder ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form – durch Fotokopie,  
Mikrofilm oder andere Verfahren – reproduziert oder in eine von Maschinen, insbesondere von  
Datenverarbeitungsanlagen, verwendbare Sprache übertragen werden.

**Checkliste für Autoren**

- Manuskripte sind dem Verlag in elektronischer Form einzureichen.
- Abbildungen sind separat als hochauflösende Bilddaten zu liefern.
- Das Manuskript enthält Wirkungsstätte, Name und Vorname der Autoren.
- Titel/Title, Zusammenfassungen/Summary und Schlüsselwörter/Keywords sind in  
deutscher und englischer Sprache anzugeben.
- Das Manuskript enthält die vollständige Korrespondenzadresse mit E-Mail-Adresse.
- Literatur im Text wird mit Namen und Jahr der Publikation (chronologisch) in  
Klammern angegeben (Müller und Frank, 1983; Albrecht, 1985; Schmitz et al., 1988)  
oder bei Namensnennung des Autors im Text mit dem Erscheinungsjahr in Klammern  
ergänzt.
- Alle im Text genannten Literaturquellen müssen im Literaturverzeichnis erscheinen  
und umgekehrt („cross-check“).
- Im Literaturverzeichnis ist nachfolgende Zitierweise anzuwenden:
  - Zeitschriftenartikel: **Sudhaus N, Pina-Pérez MC, Martínez A, Klein G (2012):**  
Inactivation kinetics of spores of *Bacillus cereus* strains treated by a peracetic acid-  
based disinfectant at different concentrations and temperatures. *Foodborne Pathog*  
*Dis* 9: 442–452.
  - Buchkapitel: **Shama G, Ahlfeld B (2012):** Part I. Introduction to non-equilibrium  
plasma, cell biology, and contamination: 5 Contamination. In: Laroussi M (ed.),  
*Plasma medicine: applications of low-temperature gas plasmas in medicine and*  
*biology*. Cambridge, Cambridge University Press, UK, 99–114.
  - Buch: **Rood JI, McClane BA, Songer JG, Titball RW (1997):** *The clostridia:*  
*molecular biology and pathogenesis*. Academic Press, San Diego, CA, USA.
  - Dissertation: **Unnerstad H (2001):** *Listeria monocytogenes – strain diversity*  
*demonstrated by genotyping*. Uppsala, Sweden, Swedish University of Agricultural  
Sciences, diss.
  - Tagungsbericht: **Baggesen DL, Wingstrand A, Thomsen LK, McFadden C, Nielsen B**  
**(1997):** Salmonella contamination of carcasses from “Salmonella high risk pig  
herds“ and documentation of cross-contamination at abattoirs by use of epidemiolo-  
gical markers. *Proceedings of the International Symposium Salmonella and Salmo-*  
*nellosis*, Ploufragan, France 1997, 321–324.

**E-Mail-Adresse zur Online-Manuskripteinreichung**

- [helga.nagengast@tiho-hannover.de](mailto:helga.nagengast@tiho-hannover.de)**