

Fachabteilung LSR

LEBENSMITTELANALYTIK

Modern schlägt klassisch

Patricia Fischer, Promega GmbH

Die EHEC-Krise hat gezeigt: Eine schnelle Aufklärung, welche Lebensmittel, mit welchem Stamm kontaminiert sind, ist essentiell – für Verbraucher und Erzeuger. Die klassischen mikrobiologischen Methoden sind bislang der Goldstandard in der Lebensmittelanalytik. Sie sind verhältnismäßig einfach, erfordern nur eine geringe technische Ausstattung und sind zudem sehr kostengünstig (1 bis 3 Euro Materialkosten/Probe). Doch bis Ergebnisse vorliegen, vergehen vier bis zehn Tage. Zudem gerät die Methode an ihre Grenzen, wenn es um einen hohen Proben-durchsatz geht.

Für akute Notfälle ist die mikrobielle Analyse daher wenig geeignet. Die neuen – molekularbiologischen – Methoden sind schneller, genauer, verlässlicher und sensitiver. Was nicht alle wissen: der Einsatz der molekularbiologischen Methoden ist gesetzlich mit der EU-Verordnung (EG) Nr. 2073/2005 Artikel 5 Unterpunkt 5 abgesichert. Diese gestattet alternative Methoden, sofern sie nach den dort aufgeführten Referenzmethoden validiert und durch EN/ISO 16140 oder ähnliche Normen zertifiziert sind. „Die modernen Methoden sparen Arbeitsschritte, -material und Zeit“, urteilt Andreas Glaser, Bio-Rad GmbH. „Chargen können früher freigegeben werden, damit werden Lagerzeit und -kosten gespart. Letztendlich sind die neuen Methoden sogar genauer als die Standard- oder ISO-Methoden.“ Der Einsatz der modernen Verfahren bietet sich daher auch in der Routine-Analytik an.

Probenvorbereitung stark verkürzt

Die Anwender haben eine große Auswahl: Mit chromogenen Medien, Real-time PCR, DNA-Chips, Sandwich-Hybridisierung sowie ELISA können Kontaminationen und Bestandteile von Lebensmitteln nachgewiesen werden.

Bei allen Verfahren, modernen wie klassischen, wird häufig zuerst die Probe angereichert, um selbst geringste Spuren erfassen zu können. Bei chromogenen Medien kann



diese allgemeine Anreicherung häufig durch eine spezifische ersetzt und die Probe damit mindestens einen Tag früher ausplattiert werden. Der anschließende Nachweis basiert auf enzymatischen Farbreaktionen mit den Medien.

Der immunologische ELISA-Nachweis weist Toxine ebenfalls durch einen enzymatischen Farbumschlag nach. Die Probe wird homogenisiert und in Mikrotiterplatten gegeben. Dort fixierte Antikörper binden die Toxine, diese werden wiederum von einem Antikörper-Enzymkonjugat erkannt. Der Nachweis wird durch die Zugabe eines Substrats gestartet, Produktfreigaben sind meist nach 24 Stunden möglich.

Für den Nachweis lebender Zellen bietet sich eine Sandwich-Hybridisierung auf RNA-Ebene an. Fängersonden immobilisieren die RNA-Fragmente der aufgeschlossenen Vorkultur in 96-well-Platten, diese werden anschließend von Detektionssonden nachgewiesen. Nach 2,5 Stunden können die Ergebnisse mit einem Plattenlesegerät gemessen werden. „Die Sensitivität liegt pro Assay bei 1.000 bis 2.000 Bakterien-Zellen, bei Hefen sogar bei 100 bis 200 Zellen“, fasst Claudia Thiele, Sigma-Aldrich, zusammen. „Häufig erübrigt sich

so sogar die Vorkultur und erlaubt somit eine Quantifizierung der Mikroorganismen.“

Auf der Suche nach tierischen Bestandteilen kommen DNA-Chips zum Einsatz. Mit den Chips können bis zu zwölf Proben auf bis zu acht Tierarten pro PCR nachgewiesen werden. Ihre Nachweisgrenze liegt bei 0,5 % bis 1%. Die Lebensmittel oder das tierische Gewebe werden mechanisch aufgeschlossen und die DNA extrahiert. Anschließend wird eine PCR mit fluoreszenzmarkierten Primern durchgeführt. Für die Auswertung ist ein Microarray-Scanner nötig. „Falsch-positive und falsch-negative Ergebnisse können durch den Versuchsaufbau nahezu ausgeschlossen werden“, so Silke Schütz, Greiner Bio-One. Die Daten lassen sich, wie auch bei den anderen Methoden, digital auswerten und archivieren.

Kommt es auf die schnelle Detektion von Pathogenen oder die exakte Bestimmung von Stämmen an, kann eine Real-time PCR eingesetzt werden. Abhängig von Material und Untersuchung wird direkt aus der Probe oder aus einer Vorkultur die DNA aufgereinigt. Innerhalb von 40 bis 200 Minuten können dann bis zu 96 auch ganz verschiedene Proben parallel analysiert werden. „Der hohe Automatisierungsgrad und die standardisierten Protokolle machen die Anwendung sehr einfach. Die Methode ist sehr robust und führt zu sensitiven, sicheren Ergebnissen“, beschreibt Marco Piccinini, Life Technologies, die Vorteile. „Die Ergebnisse sind anwenderunabhängig und reproduzierbar.“

Insgesamt überwiegen die Vorteile der neuen Methoden. Da der Arbeitsaufwand gering ist und sie schnellere Ergebnisse liefern, sind sie letztlich sogar günstiger. ■



Termine für
LSR-Firmen

13. Oktober 2011, Hannover

Fachabteilungssitzung auf der Biotechnica