

Harmonisierung und Standardisierung in der molekularen Lebensmittelhygiene

M. WAGNER

Seit ungefähr 30 Jahren sind für die Diagnostik pathogener Mikroorganismen Methoden eingeführt, die bakterienspezifische molekulare Strukturen detektieren und somit auf das Vorhandensein eines Keimes in klinischen Proben oder Lebensmittelproben schließen lassen. Diese Methoden basieren überwiegend auf dem Nachweis zellwandständiger Moleküle (ELISA und ELISA-verbundene Techniken) oder dem Nachweis von Nukleinsäuren (Hybridisierungstechniken, PCR, Chip-Technologie). Vor allem durch die Entwicklung der Polymerase Kettenreaktion (PCR) vor 15 Jahren schien eine Weiterentwicklung in der Diagnostik möglich, die zur Ablöse der traditionellen Mikrobiologie führen sollte.

Dieser Effekt ist bis dato nicht eingetreten. Während in der klinischen Mikrobiologie die PCR mehr und mehr Einsatzmöglichkeiten zum Nachweis von pathogenen Mikroorganismen gewinnt, ist ein flächendeckender Einsatz in der Lebensmittelanalytik nicht gegeben. Dies ist vor allem auf die komplexe Probenstruktur und lebensmittelspezifische Keimassoziationen zurückzuführen.

Eine telefonische Umfrage in 10 österreichischen Lebensmitteluntersuchungsstellen ergab, daß zwar 80% dieser Untersuchungseinrichtungen die nötige Grundausstattung zur Durchführung dieser Technik besitzen, aber nur 30% diese im Zuge der klassischen Mikrobiologie zur Bestätigung von isolierten Verdachtskeimen einsetzen. Andere Techniken wie die Real Time-PCR, die auf dem Prinzip der klassischen PCR aufbauen,

aber ein erweitertes Anwendungspotential besitzen, sind in der Pathogenendiagnostik noch nicht eingeführt.

Die Ursachen für den Umstand der schleppenden Implementierung der PCR-Methoden liegen hauptsächlich in der Vielzahl von publizierten Methoden, die zwar das breitgefächerte Interesse von Forschungseinrichtungen dokumentieren, potentielle Anwender aber verwirren. Weiters sind die Methoden der Probenaufbereitung, der DNA-Extraktion und der Qualitätssicherung der benötigten Grundausrüstung unstandardisiert. Ein letzter Fragenkomplex betrifft die Verifikation von positiven Befunden, da durch die indirekte Natur der PCR-Nachweise, es wird ja von der Anwesenheit einer Nukleinsäure auf das Vorhandensein eines womöglich vermehrungsfähigen und intakten Keimes geschlossen, die Interpretation von Untersuchungsergebnissen erschwert werden kann.

Um die weitgefächerten Probleme anzugehen, wurde von der Europäischen Union das Projekt QLK1-CT-1999-00226 „Validation and Standardization of diagnostic Polymerase Chain Reaction for detection of foodborne pathogens“, welches unter dänischer Koordination steht, genehmigt. Es werden die Grundpfeiler dieses Projektes zur Kenntnis gebracht, die die obig erwähnten Fragen wissenschaftlich bearbeiten und Lösungsvorschläge angeben. Für die meisten dieser Fragestellungen wurden Guidelines erarbeitet, die im Internet unter der Adresse www.pcr.dk abrufbar sind.

Diese können direkt in die Alltagsarbeit umgesetzt werden.

Da die wissenschaftlichen Aspekte, die aus dem Projekt QLK1-CT-1999-00226 resultieren, in die Normierungsarbeit der einschlägigen europäischen Institutionen einfließen sollten, wurde im Rahmen der permanenten Arbeitsgruppe CEN TC 275/WG6 eine eigene Subarbeitsgruppe TAG 3 eingerichtet, welche durch Zusammenarbeit mit den Proponenten aus QLK1-CT-1999-00226 die Standardisierung von molekularen Methoden, die auf der Polymerase-Kettenreaktion aufbauen, erreichen will.

An beiden Aktivitäten ist die molekularbiologische Arbeitsgruppe des Institutes für Milchhygiene, Milchtechnologie und Lebensmittelwissenschaft beteiligt. Ein erster Entwurf, der sich mit den „allgemeinen Bedingungen für die Durchführung von PCR im Lebensmittelbereich“ beschäftigt, wurde bereits erstellt und der CEN TC 275/WG6 zugeleitet. Beide Aktivitäten wollen das in der Vision 2010 formulierte Ziel erreichen, welches vorsieht, dass PCR-gestützte Diagnoseverfahren spätestens im Jahre 2010 die klassische Mikrobiologie abgelöst haben werden.

Es wird aber im Rahmen beider Initiativen unbenommen bleiben, weitere Aktivitäten zur Harmonisierung alternativer molekularer Analysetechniken zur PCR zu setzen, da Entwicklungen wie die Microarray (Chip) - Technologie neue Perspektiven zum Nachweis von pathogenen Mikroorganismen in kurzen Zeitabständen eröffnen.

Autor: ao. Univ. Prof. Dr. Martin WAGNER, Institut für Milchhygiene, Milchtechnologie und Lebensmittelwissenschaft, Veterinärmedizinische Universität Wien, Veterinärplatz 1, A-1210 WIEN



