**Untersuchungen zur Fleischmikrobiota: Anwendungen des MALDI-Biotyper bei Reifung und Verderb**

LICK, S., KRÖCKEL, L.

Lebensmittel sind in der Regel nicht steril; mehr oder weniger erwünschte Mikroorganismen sind allgegenwärtig. In Fleisch und Fleischerzeugnissen findet sich eine Vielfalt von Mikroorganismen aus der Primärproduktion und Verarbeitung, die sich während der Reifung und Lagerung unterschiedlich entwickeln und die dadurch die mikrobiologische Sicherheit und Qualität der Produkte beeinflussen. Klassische Keimzahlbestimmungen liefern grobe Hinweise auf die Zusammensetzung der Mikrobiota und sind wichtige Hilfsmittel zur Beurteilung der Prozesshygiene. Erst die genaue Identifizierung der beteiligten Mikroorganismen jedoch gestattet fundierte Aussagen zur Entwicklung gezielt eingesetzter Mikroorganismen bei Fermentations- und Reifeprozessen (Starter- und Schutzkulturen, Probiotika) bzw. zu fleischeigenen Mikroorganismen als möglicher Ursache von Risiko- und Fehlprodukten oder vorzeitigem Verderb. Ein präziser Gesamteindruck von der Zusammensetzung einer produktspezifischen Mikrobiota kann nur auf diese Weise gewonnen werden. Erst eine genaue Identifizierung der beteiligten Mikroorganismen gibt Auskunft darüber, ob ein „Fleischsystem“ unbedenklich ist und sich erwünschte Keime durchgesetzt haben oder ob es potentiell gesundheitsschädliche Keime enthält.

Neben den molekularen Identifizierungsmethoden wie Amplifizierung und Sequenzierung hat sich seit dem Jahr 2000 die Massenspektrometrie, hauptsächlich MALDI-TOF-MS, als schnelle Methode zur Identifizierung von Mikroorganismen auf der Genus-, Spezies- oder sogar Subspeziesebene durchgesetzt. Im Gegensatz zu den molekularen Nachweismethoden handelt es sich dabei aber um eine kulturabhängige Methode. Für eine Analyse wird frisches Zellmaterial von Einzelkolonien bzw. Reinkulturen benötigt. Eine Identifizierung von Mikroorganismen kann innerhalb weniger Minuten direkt von der Agarplatte durchgeführt werden. Es werden Protein- und Peptidprofile ganzer Zellen („top down“-Proteomics) dargestellt und mit Mustern verglichen, die in der bereitgestellten Datenbank vorhanden sind.

Die Geräte sind inzwischen leicht in den Laboralltag integrierbar, einfach zu handhaben und bieten viele Vorteile im Vergleich zu klassischen Identifizierungsmethoden. Da mehrere hundert Proben pro Tag gescreent werden können, zählt die Massenspektrometrie zu den Hochdurchsatzmethoden. Auch für die Identifizierung von Mikroorganismen aus biologischen Flüssigkeiten und die Erkennung von Antibiotikaresistenzen stehen inzwischen MALDI-TOF-MS-Protokolle zur Verfügung.

Wir stellen hier an Hand ausgewählter Beispiele die Leistungsfähigkeit des MALDI-Biotyper (Bruker Daltonics) für praxisrelevante Anwendungen in der Fleischmikrobiologie vor. So konnten Mikroorganismen als Ursache für Fehlprodukte schnell und erfolgreich identifiziert werden. Am Beispiel von *Lactobacillus sakei* wird demonstriert, wie ein schnelles Screening von Bacteriocin bildenden Schutzkulturen aussehen kann. Die Konkurrenzfähigkeit potenzieller Starter- und Schutzkulturen in Rohwürsten konnte ebenso sicher wie schnell bestimmt werden. In einem Lagerungsversuch wurden Rind- und Schweinefleisch unter aeroben Bedingungen bei verschiedenen Temperaturen gelagert und die Zusammensetzung der indigenen Mikrobiota untersucht. Bezüglich Fleisch assoziierter Pseudomonaden führten die Untersuchungen mittels MALDI-Biotyper auffallend oft zu relativ unsicheren Identifizierungen, die keine eindeutige Spezieszuordnung zuließen.

Insgesamt sind Fleisch assoziierte Mikroorganismen zum jetzigen Zeitpunkt noch relativ unvollständig in der Vergleichsdatenbank des MALDI-Biotyper abgebildet. Eine zuverlässige Identifizierung kann daher oft nicht erzielt werden. Allerdings können durch Vergleiche der Spektren identische Profile leicht erkannt und durch ergänzende DNA-gestützte Methoden taxonomische Zuordnungen vorgenommen werden. Die Spektren identifizierter Isolate können nachträglich ergänzend in die Datenbank eingepflegt werden. Die am Institut für Sicherheit und Qualität bei Fleisch vorhandenen mikrobiologisch-genetischen Ressourcen könnten einen wertvollen Beitrag zur Verbesserung der Vergleichsdatenbank liefern.