VBNC – *Campylobacter jejuni* geht unter Stressbedingungen in einen nicht kultivierbaren Zustand über (VBNC – viable but non culturable). Das geschieht schneller bei Bakterien aus Biofilmen als bei planktonisch lebenden Keimen.

Quelle: Food Control 2015, (50), 45-50

Campylobacter jejuni bleibt neben Salmonella und Viren eine der Hauptursachen von lebensmittelbedingten Infektionen/Gastroenteritiden in der westlichen Welt. Diese sind meist assoziiert mit der Verarbeitung oder dem Verzehr von kontaminiertem Geflügelfleisch. Obwohl Geflügel als Hauptkontaminationsquelle betrachtet wird, gibt es auch Fälle, die auf kontaminierte Milch, Haustiere oder andere Nutztiere zurückzuführen sind.

Camylobacter spp. sind sehr anspruchsvolle Keime und nicht einfach zu kultivieren. Sie wachsen nur zwischen 30 – 45 °C unter mikroaeroben Bedingungen. Kulturelle Methoden, die auf Selektionsmedien basieren, sind gängige Routine zur Feststellung der Keimbelastung bei Lebensmitteln. Manche Bakterien(-stämme) sind aber in der Lage unter bestimmten Bedingungen in den sogenannten VBNC-Zustand (**v**iable **b**ut **n**ot **c**ulturable – oder: lebend, aber nicht mehr kultivierbar) überzugehen, so dass sie bei den üblichen Keimzählungen nicht erfasst werden können, obwohl sie noch leben. Es existieren langjährige Diskussionen um diese Thematik, die v. a. bei Vibrionen sehr gut beschrieben wurde oder auch bei *E. coli,* der in natürlichen Oberflächenwassern Stressbedingungen wie Nährstoffmangel überdauern kann. Kritiker – besonders aus der Veterinärmedizin – bezweifeln meist, dass die Infektiosität in diesem Zustand erhalten bleibt oder unter bestimmten Bedingungen wiedererlangt werden kann.

Es wird zunächst auf Arbeiten anderer Autoren verwiesen, die beschrieben, dass *C. jejuni* ungünstige Umgebungsbedingungen in Biofilmen geschützt überleben kann. Es kommt dann entweder als Monokultur vor oder nistet sich in bereits vorhandene mikrobielle Gesellschaften anderer potenter Biofilmbildner ein wie z. B. Pseudomonaden, Flavobakterien, Corynebakterien, Staphylococcen, Enterococcen. Es kann auch wieder eine Loslösung aus den Biofilmen erfolgen und eine Neuinfektion z. B. von Wasserverteilungssystemen verursacht werden. Abgelöste Biofilme können zur Infektion von Mensch und Tier führen und bedeuten daher einen erheblichen Risikofaktor für die Verteilung und das Überdauern von Infektionsquellen, insbesondere bei Hühnerzucht- und Schlachtbetrieben.

C. jejuni reagiert auf verschiedene Umweltstressfaktoren wie Nährstoffmangel, niedrige Temperaturen und niedrigen pH-Wert mit dem Übergang in einen VBNC-Zustand. Es wurde von anderen Arbeitsgruppen bereits gezeigt, dass *C. jejuni* in diesem Zustand eine erhöhte Resistenz gegen Desinfektionsmittel aufweist. Sie können so bis zu 7 Monaten überdauern. Vor kurzem erschienene Arbeiten zeigten, dass trotz mangelndem Wachstum auf Kulturmedien durchaus noch Resistenzgene exprimiert werden und Anheftung/Adhäsion an Epithelzellen erfolgt. Das bestärkt die These, dass die Zellen noch infektiös sein können. VBNC wurde sowohl bei planktonisch (in Flüssigkultur) wachsenden Zellen als auch bei Biofilmbildung demonstriert.

Die Autoren (B. MAGAJNA und H. SCHRAFT, Ontario, Kanada) wollten in dieser Arbeit den Anteil von VBNC-Zellen in normalen planktonisch wachsenden Kulturen sowie in Biofilmen messen und Zeitverläufe beschreiben, wie und wann sie in den VBNC-Zustand übergehen. Sie setzten dazu LIVE/DEAD® Baclight™ Counterstaining ein („lebend-tot“ Färbemethode: tote bzw. beschädigte Zellen werden rot angefärbt, alle Bakterien grün; rot überstrahlt die grüne Färbung), wobei eine intakte Membran als Kriterium für „lebend“ angenommen wird. Es wurden drei verschiedene *C. jejuni* Isolate für die Versuche ausgewählt: ein Geflügelisolat, ein klinischer Ausbruchsstamm und derselbe Stamm nach Laborpassage, der als weniger virulent gilt.

Alle drei Stämme konnten bei 4 °C in Phosphat-Puffer (ohne weitere Nährstoffe) in den VBNC-Zustand überführt werden und waren danach in gängigen Medien nicht mehr kultivierbar. Bei Biofilmbildung erfolgte dies innerhalb eines Zeitraums von 10 - 20 Tagen, bei planktonisch wachsenden Zellen dauerte dies 30 – 40 Tage.

Wie zu erwarten gab es eine deutliche Abhängigkeit der Kultivierbarkeit vom Wachstumsmedium, in das die Zellen nach der Hunger- und Kältephase überführt worden waren. Am besten eignete sich Bolton-Medium. Es verlängerte bei planktonisch wachsenden Zellen die Kultivierbarkeit um 10 – 15 Tage im Vergleich zu supplementiertem *Campylobacter*-Agar und sogar um 30 – 45 Tage im Vergleich zu Müller-Hinton Agar. Daran wird deutlich, wie wichtig die Zusammensetzung des Kulturmediums bei Lebensmittel- und Wasseruntersuchungen für eine korrekte Keimzahlbestimmung ist.

Es zeigten sich auch Unterschiede zwischen den einzelnen untersuchten Campylobacter Stämmen. Der originäre klinische Ausbruchsstamm erwies sich am erfolgreichsten bei der Aufrechterhaltung des VBNC-Zustandes. Er gilt auch als virulenter als sein unmittelbarer Vergleichsstamm, der im Labor passagiert wurde. Die Autoren diskutieren einen möglichen Zusammenhang zwischen Virulenz und der Fähigkeit des Übergangs in den VBNC-Zustand. Sie weisen darauf hin, dass ein besseres Verständnis des VBNC-Zustandes in Kombination mit dem Einsatz von nicht-kultur-basierten Methoden zu erhöhter Lebensmittelsicherheit und einer Verringerung eines Infektionsrisikos führen könnte.

LICK