

Aus dem Institut für Hygiene und Technologie der Lebensmittel tierischen Ursprungs
(Vorstand: Univ.- Prof. Dr. Dr. h. c. A. Stolle)
der tierärztlichen Fakultät
der Ludwig- Maximilians- Universität München

**Vorkommen und Kontrolle lebensmittelrelevanter Mikroorganismen
und Verbreitung von Shiga Toxin- bildenden *Escherichia coli* in
verschiedenen Stadien der Rohwurstherstellung aus
konventioneller und ökologischer Produktion**

Inaugural- Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig- Maximilians- Universität München

von
Alexander Brinkmann
aus Haunstetten

München 2007

**Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig- Maximilians-Universität München**

Dekan: Univ.-Prof. Dr. E. P. Märtlbauer
Referent: Univ.-Prof. Dr. Dr. h.c. Stolle
Korreferent: Univ.-Prof. Dr. W. Schmahl

Tag der Promotion: 20. Juli 2007

Meinen Eltern und meinen Geschwistern

Inhaltsverzeichnis

1 EINLEITUNG	1
2 LITERATUR	2
2.1 Technologie der Rohwurst	2
2.1.1 Definition des Begriffes Rohwurst	2
2.1.2 Rohmaterialien / Ausgangsmaterialien.....	3
2.1.3 Ablauf der Rohwurstherstellung	11
2.1.4 Endprodukt.....	14
2.1.5 Kritische Prozessschritte/ HACCP	15
2.2 Faktoren, die den mikrobiellen Verderb bestimmen	23
2.2.1 Wasseraktivität.....	23
2.2.2 pH- Wert.....	24
2.3 Relevante Mikroorganismen bei der Rohwurstreifung	25
2.3.1 Bedeutung für den Menschen	25
2.3.1.1 Lebensmittelassoziierte Ausbrüche	25
2.3.1.2 Bedeutung von STEC/ EHEC für den Menschen	26
2.3.2 Im Herstellungsprozess erwünschte Bakterien	30
2.3.3 Im Herstellungsprozess unerwünschte Bakterien	31
2.3.3.1 Listerien	31
2.3.3.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	32
2.3.3.3 <i>Clostridium botulinum</i>	33
2.3.3.4 <i>Enterobacteriaceae</i>	33
2.3.3.5 Salmonellen.....	35
2.3.3.6 <i>Escherichia coli</i>	36
2.3.3.7 Pathogene <i>E. coli</i>	38
2.3.2.8 Shigatoxin- bildende <i>E. coli</i> (STEC)	39
2.4 Nachweismethoden von STEC	43

2.4.1 phänotypische Nachweisverfahren	43
2.4.2 Polymerasekettenreaktion (PCR).....	44
3. MATERIAL UND METHODEN.....	46
3.1 Material	46
3.1.1 Entnahme von Proben	46
3.1.2 Probenmaterial.....	48
3.2. Methoden.....	50
3.2.1 Wasseraktivität.....	50
3.2.2 pH- Wert.....	51
3.2.3 Milchsäurebakterien/ Laktobazillen	51
3.2.3 <i>E.coli</i>	52
3.2.4 <i>Enterobacteriaceae</i>	52
3.2.5 Polymerasekettenreaktion (PCR).....	53
3.2.6 Real- Time- PCR.....	54
4. ERGEBNISSE	55
4.1 Ergebnisse aus Betrieb 1	55
4.1.1 Wasseraktivität.....	55
4.1.2 pH- Wert.....	56
4.1.3 Milchsäurebakterien/ Laktobazillen	59
4.1.4 <i>Enterobacteriaceae</i>	63
4.1.5 <i>Escherichia coli</i>	67
4.1.6 STEC	70
4.2 Ergebnisse aus Betrieb 2.....	73
4.2.1 Wasseraktivität.....	73
4.2.2 pH- Wert.....	73
4.2.3 Milchsäurebakterien/ Laktobazillen	73
4.2.4 <i>Enterobacteriaceae</i>	74
4.2.5 <i>Escherichia coli</i>	74

4.2.6 STEC	74
5. DISKUSSION	75
5.1 pH- und a_w- Wert	76
5.1.1 Ergebnisse aus Betrieb 1	76
5.1.2 Ergebnisse aus Betrieb 2	77
5.2 Mikrobiologische Ergebnisse	78
5.2.1 Mikrobiologische Ergebnisse aus Betrieb 1	79
5.2.2 Mikrobiologische Ergebnisse aus Betrieb 2	81
5.3 STEC	82
5.3.1 Ergebnisse aus Betrieb 1	82
5.3.2 Ergebnisse aus Betrieb 2	84
5.4 Bedeutung für den Verbraucher	84
5.5 Ausblick	86
6 ZUSAMMENFASSUNG	87
7 SUMMARY	89
8 ANHANG	91
8.1 Anhang zu Material und Methoden	91
8.1.1 Allgemeine Materialien	91
8.1.2 Materialien für mikrobiologische Untersuchungen	91
8.1.3 Material für die PCR	93
8.1.4 Material für sonstige Untersuchungen	94
8.1.4 PCR- Sequenzen und Zeit- Temperatur- Protokoll	95
8.1.5 Real – Time- PCR	96
8.2. Anhang zu Ergebnisse	97
8.2.1 Ergebnisse in Betrieb 1	97

8.2.1.1 Milchsäurebakterien	97
8.2.1.2 Laktobazillen	104
8.2.1.3 <i>Enterobacteriaceae</i>	110
8.2.1.4 <i>Escherichia coli</i>	117
8.2.1.5 STEC.....	124
8.2.1.6 Wasseraktivität	137
8.2.1.7 pH- Wert.....	141
8.2.2 Ergebnisse in Betrieb 2.....	148
8.2.2.1 Ergebnisse vom 6. April 2006.....	148
8.2.2.2 Ergebnisse vom 12. April 2006.....	150
9. LITERATURVERZEICHNIS	152

Abkürzungsverzeichnis

CCP	Critical Control Point
<i>Cl. botulinum</i>	<i>Clostridium botulinum</i>
DAEC	diffus adhärenzte <i>Escherichia coli</i>
DGHM	Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie
DNA	Desoxyribonukleinsäure
<i>eae</i>	<i>E. coli</i> attaching and effacing
EAEC	enteroaggregative <i>Escherichia coli</i>
EAggEC	enteroaggregative <i>Escherichia coli</i>
EAF	EPEC- Adhärenzfaktor
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
ECD	<i>Escherichia coli</i> Direkt Medium
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EIEC	enteroinvasive <i>Escherichia coli</i>
EHEC	enterohämorrhagische <i>Escherichia coli</i>
EPEC	enteropathogene <i>Escherichia coli</i>
ETEC	enterotoxische <i>Escherichia coli</i>
E-hly	Hämolysin hly- Gen
FIHV	Fleischhygieneverordnung
FRET	fluorescence resonance energy transfer
Glc	Glucose
GKZ	Gesamtkeimzahl
HACCP	Hazard- Analysis-and- Critical- Control- Point
HC	Hämorrhagische Colitis
HUS	Hämolytisch- urämisches Syndrom
IfSG	Infektionsschutzgesetz
GdL	Glucono- delta- lacton
KbE	Koloniebildende Einheiten
kDa	Kilodalton
Lac	Laktose
<i>L.</i>	<i>Lactobacillus</i>

LEE	Locus of Enterocyte Effacement
LFBG	Lebensmittel-Bedarfsgegenstände und Futtermittelgesetzbuch
LMHV	Lebensmittelhygieneverordnung
LS	Leitsätze
LT	hitzeempfindliches Enterotoxin
MO	Mikroorganismen
MUG	4- Methylumbelliferyl- β - D- glucuronid
NPS	Nitritpökelsalz
PCR	Polymerase- Kettenreaktion
rF	relative Luftfeuchte
RNA	Ribonukleinsäure
Sac	Saccharose
SMAC	Sorbitol- Mac- Conkey- Agar
ST	hitzeempfindliches Enterotoxin
<i>St. aureus</i>	<i>St. Staphylococcus aureus</i>
<i>stx1</i>	Shiga- Toxin 1
<i>stx2</i>	Shiga- Toxin 2
VT	Verotoxin
mTSB	Modifizierte Tryptose- Soja- Bouillon
TTP	thrombotisch- thrombozytopenische Purpura
Y.	<i>Yersinia</i>

1 EINLEITUNG

„Es kann kein Mikrobiologe gewesen sein, der die Rohwurst erfunden hat, denn es handelt sich um einen ungeheuerlichen Vorgang: Rohes Fleisch und Fett werden in den Darm gestopft und darin bis zum Verzehr aufbewahrt“. Diese Bemerkung von Leistner (1985) unterstreicht, dass es sich bei der Rohwurstreifung aus mikrobiologischer Sicht um einen sensiblen Prozess handelt.

Der erste Infektionsausbruch durch enterohämorrhagische *Escherichia coli* (EHEC) wurde im Jahr 1982 beschrieben. Ursache waren nicht genügend durcherhitzte Hamburger einer Schnellimbisskette in den USA. Seit diesem Zeitpunkt wurden verstärkt Infektionen durch EHEC beschrieben. Wiederkäuer gelten als das wichtigste Erregerreservoir für shigatoxinbildende *Escherichia coli* (STEC). In den letzten Jahren wurden häufiger mit STEC kontaminierte Rohwürste identifiziert. Dies liegt auch in der verbesserten Diagnostik begründet. Da bereits einige wenige Zellen für eine Erkrankung ausreichen und EHEC neben Durchfällen Krankheiten verursachen kann, die insbesondere bei Kleinkindern und älteren Menschen tödlich verlaufen können sind EHEC-freie Lebensmittel anzustreben. Die Problematik der STEC-Kontamination von Rohwürsten wurde seit 2004 besonders im süddeutschen Raum deutlich. Hier wurden von 2004 bis 2007 STEC aus fünf Betrieben STEC in Rohwürsten nachgewiesen. Bemerkenswerterweise stellten vier dieser Betriebe Öko-Produkte her.

Ziel dieser Arbeit ist es, die konventionelle und ökologische Herstellungsschiene vergleichend, einen Überblick darüber zu erhalten, in welchen Stadien der Produktion STEC auftritt und wie sich lebensmittelrelevante mikrobiologische und physikalische Parameter im Verlauf der Rohwurstreifung verändern.

2 LITERATUR

2.1 *Technologie der Rohwurst*

Rohwurst unterscheidet sich von den übrigen Fleischerzeugnissen nicht nur in Geschmack und Aussehen, sondern auch im Hinblick auf die Mikrobiologie und die Qualität. Da Rohwürste im Gegensatz zu Brühwürsten und Kochwürsten nicht erhitzt werden, muss besonderes auf die mikrobiologische Beschaffenheit geachtet werden (Leistner, 1985).

2.1.1 Definition des Begriffes Rohwurst

Rohwürste sind nach Leitsatz Nr. 2.21 des Deutschen Lebensmittelbuches (2003) umgerötete, ungekühlt (über +10° C) lagerfähige, meist roh zum Verzehr gelangende Wurstwaren. Sie sind streichfähig oder nach einer mit Austrocknung verbundenen Reifung schnittfest. Leitsatz 2.212 des Deutschen Lebensmittelbuches gibt als besonderes Merkmal für streichfähige Rohwürste eine nur geringe Abtrocknung sowie den Hinweis, dass sie nicht zur längeren Lagerung vorgesehen sind, an.

Schnittfeste Rohwürste sind gereift und unangeschnitten ohne Kühlung lagerfähig. Es wird zwischen grob zerkleinerten (z.B. Plockwurst), mittelgrob zerkleinerten (z.B. Salami) und fein zerkleinerten Rohwürsten (z.B. Cervelatwurst) unterschieden (Coretti, 1971). Zudem wird bei schnittfesten Rohwürsten zwischen kurzgereiften (ca. vier bis zehn Tage Reifung) und langgereiften (ca. vier Wochen bis sechs Monate Reifung) unterschieden.

Streichfähige Rohwürste sind aufgrund mangelnder Trocknung zur ungekühlten Lagerung ungeeignet. Laut Fuchs (1984) beträgt die Lagerfähigkeit maximal 7 bis 10 Tage. Es gibt grobe und feine streichfähige Rohwürste. Beispiele für streichfähige Rohwürste sind Teewürste, Streichmettwürste und Zwiebelmettwürste (Coretti, 1971; Knepper, 1991). Streichfähige Rohwürste reifen drei bis vier Tage (Langner u. Malek,

1977). Rohwürste setzen sich von unvollständig gereift in den Verkehr gekommenen Produkten wie „Hackfleischzubereitungen“, „Rohwursthalbfabrikaten“ oder rohwurstartigen Erzeugnissen durch abgeschlossene Pökellung mit Umrötung sowie durch die Reifung ab.

2.1.2 Rohmaterialien/Ausgangsmaterialien

Rohwurst wird aus zerkleinertem rohem Fleisch und Speck hergestellt. Zugewetzt werden Pökelfstoffe (Kochsalz, Nitritpökelsalz oder Nitrat), Zucker, Glucono- Delta-Lacton (GdL), Ascorbinsäure, Starterkulturen und Gewürze. Als Hüllen werden Kunst und Naturdärme verwendet.

Das zur Rohwurstherstellung verwendete **Fleisch** sollte nach der Schlachtung erst zwei bis drei Tage gelagert werden. Dann ist der pH- Wert auf 5,4 bis 5,8 gefallen. Fleisch mit einem pH- Wert von 5,4 bis 5,8 hat eine offene Struktur. So können Pökelfstoffe gut eindringen. Fleisch mit einem pH- Wert über 6,2 sollte nicht zur Herstellung von Rohwürsten verwendet werden (Coretti, 1971). Zur Rohwurstherstellung sollte das Fleisch älterer Tiere verwendet werden. Dieses hat eine dunklere Farbe und eine bessere Farbhaltung als das jüngerer Tiere.

Rückenspeck ist der für die Rohwurstherstellung am besten geeignete **Speck**. Weicher Speck enthält höhere Anteile ungesättigter Fettsäuren. Das verringert die Lagerfähigkeit. Die Wurst wird schneller ranzig und die Farbstabilität wird geringer. Der zu verarbeitende Speck sollte fest, frisch und gesalzen sein (Blocher et al., 2002). Das Fleisch und der Speck werden vorzugsweise gefroren gekuttert. Nicht gefrorenes Rohmaterial ist derb elastisch und weicht den Kuttermessern aus (Fehlhaber u. Janetschke, 1992). Das hätte zur Folge, dass das erwünschte klare Schnittbild der Rohwurst verschmiert. Nach einer Erhebung der Verbraucherzentrale NRW (2006) enthalten traditionelle schnittfähige Rohwürste zwischen 25 und 35 % Fett, streichfähige zwischen 30 und 40 %.

Der haltbar machende Effekt von **Kochsalz** beruht vor allem auf der Senkung der Wasseraktivität. Damit werden die Lebensbedingungen für nicht erwünschte Mikroorganismen (MO) eingeschränkt. Die Salzkonzentration, die in Rohwürsten vorliegt, besitzt jedoch keine vollständig konservierende Wirkung. Sie ist ein Faktor im Hürdenkonzept (Sinell, 2004). *Escherichia coli* (*E.coli*) stellt bei einer Kochsalzkonzentration von 8% sein Wachstum ein. Durch die Auflösung und Diffusion der myofibrillären Proteine von der Muskulatur und Bildung einer Gelstruktur zwischen Fleischanteilen untereinander sowie zwischen Fleisch und Fett hat Kochsalz Anteil an der Bindung der Rohwurst (Erkkilä, 2001). In der Bundesrepublik liegt die Kochsalzdosierung bei durchschnittlich 28 bis 30g Kochsalz pro Kilogramm Rohmasse. Bio- Rohwurst wird teilweise nur mit Kochsalz gepökelt. Dabei lassen sich bei entsprechender Reifedauer durchaus Produkte mit ansprechender roter Farbe herstellen (Lücke, 2003). Zudem wird die bei alleiniger Kochsalzverwendung oft vorherrschende graue Farbe des Produktes insbesondere von Kunden, die ihre Würste aus dem Naturkost Einzelhandel beziehen immer mehr akzeptiert (Hummerjohann, 2004). Bei alleiniger Verwendung von Kochsalz muss nach Jakob (2003) möglichst schnell ein aw- Wert von 0,9 und ein pH- Wert von 5,0 bis 5,3 erreicht werden.

Im Gegensatz zu Bio-Betrieben wird in der konventionellen Rohwurstherstellung immer mit **Nitrat** (mit Kochsalz) oder mit **Nitrit** (als Nitritpökelsalz) gepökelt. Bei der Schnellreifung wird Nitritpökelsalz (NPS), bei der Langsamreifung auch Nitrat und Kochsalz verwendet. Einige Bio-Betriebe verwenden auch Nitrat mit Kochsalz oder NPS zur Pökellung, dies jedoch meist in geringerer Menge als gesetzlich möglich. Bei Bio-Produkten sollen nach Anweisung der Arbeitsgemeinschaft ökologischer Landbau (AGÖL, 1999) maximal 2% NPS (mit höchstens 0,5% Natriumnitrit) zugegeben werden. Die maximale Nitratzugabe beträgt 150mg/kg Kaliumnitrat (KNO_3). Der Einsatz von Pökelfstoffen ist bei Bio- Produkten klar kenntlich zu machen. Die Verwendung von 0,03% Ascorbat ist hierbei zugelassen und empfohlen (Lücke, 2003). Andere Bio- Verbände wie die Bundesverbände Naturkost im Einzelhandel (BNN) bestehen auf einem strikten Verbot der Anwendung von Nitrat/ Nitrit.

Bei konventionell hergestellten Produkten dürfen laut EU- Richtlinie 300mg/kg Nitrat zugegeben werden (Sinell, 2004). Die Notwendigkeit der restriktiven

Nitrat/Nitritregelungen liegt weniger in der direkten Toxizität als in den N- Nitroso-Verbindungen begründet (Hill, 1988). Albert et al. (2003) untersuchten 80 streichfähige Bio-Rohwürste, die entweder ohne Nitrit oder einer Mischung aus NPS und Meersalz zu gleichen Anteilen gepökelt wurden und sahen alle untersuchten Produkte als mikrobiologisch unbedenklich an. Kühne (2003) untersuchte fertige Rohwürste bezüglich Nitritrestmengen. Diese betragen im Mittel 13,2 mg Natriumnitrit/kg. In einem Challengeversuch wurden langereifte Rohwürste (Reifung mit NPS oder Meersalz) eines von einer Rückrufaktion betroffenen Herstellers mit 10^4 KbE/g *E.coli* und anderen *Enterobacteriaceae* Spezies (10^4 KbE/g) beimpft. Nach Ablauf der Reifezeit von sechs Wochen war in der mit Meersalz hergestellten Ware STEC nachweisbar (PICHNER et al., 2005). Nitrat darf nur bei Rohwürsten verwendet werden, die länger als 4 Wochen reifen. Kurzgereifte Rohwürste können damit nur mit Kochsalz oder Nitrit gepökelt werden. Die gleichzeitige Zugabe von Nitrat und NPS ist verboten. Nitrat und Nitrit bewirken die Umrötung des Produktes und tragen zur Bildung des erwünschten Pökelaromas bei. Als Antioxidanzien verhindern sie, dass das Produkt ranzig wird. Die antimikrobielle Wirkung von Nitrit beruht auf den bei der Umrötung freigesetzten Stickoxiden, welche sich an die Aminogruppen des Dehydrogenasesystems der Bakterien binden und dadurch eine Hemmwirkung auslösen. Die Wirkung von Nitriten steigt mit sinkendem pH- Wert. Die erwünschte antibakterielle Wirkung wird nach Lück, (1977) bei Konzentrationen von 50- 160 ppm im Produkt erreicht. **Abbildung 1** gibt einen Überblick über den Pökelvorgang.

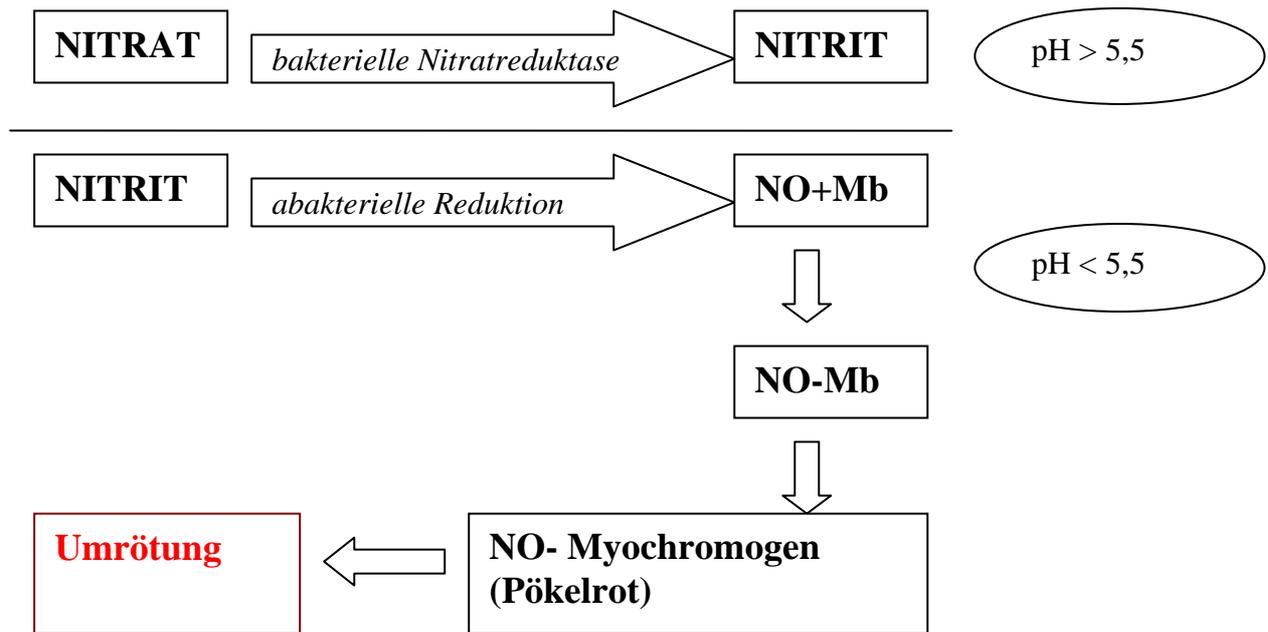


Abb.1: Vorgänge beim Pökeln (nach Hummerjohann, 2004; Sperner et al., 2006)

Glucono- delta- Lacton (GdL) ist ein inneres Anhydrid der Gluconsäure. GdL hydrolysiert in wässrigem Milieu zu Gluconsäure. Dadurch sinkt der pH- Wert der Wurst ab (Kuchling u. Weber, 1968). Durch die schnelle Absenkung des pH- Wertes kommt es zu einer schnelleren Trocknung des Fleisches und zu einer schnelleren Gelbfärbung. Dadurch kann die Schnittfestigkeit des Produktes innerhalb weniger Tage erreicht werden. Auch wird das Fleisch schneller umgerötet, da bei Anwendung von GdL die Reduzierung von Nitrit zu Stickoxid schneller vonstatten geht. Unerwünschte Keime werden durch die schnelle Absenkung des pH- Wertes gehemmt, erwünschte Keime (Starterkulturen) gefördert (Lienhop, 1974; Belitz et al., 2001). Bei dem Einsatz von Nitrat muss während der Umrötung eine Reduzierung des Nitrats zu Nitrit erfolgen. Dies gelingt am besten bei einem pH- Wert über 5,5. Sinkt der pH- Wert zu schnell ab, was bei dem Einsatz von Glucono- delta- Lacton (GdL) oder zu hohem Zuckeranteil der Fall sein kann, so ist die Umrötung fehlerhaft. Es soll damit bei Verwendung von GdL nur NPS verwendet werden (Coretti, 1971).

Abbildung 2 zeigt den Verlauf des pH- Wertes von Rohwürsten bei verschiedenen zugesetzten GdL- Mengen im zeitlichen Verlauf der Reifung. Üblicherweise wird GdL in Mengen von 0,5- 0,8% zugesetzt (Coretti, 1971).

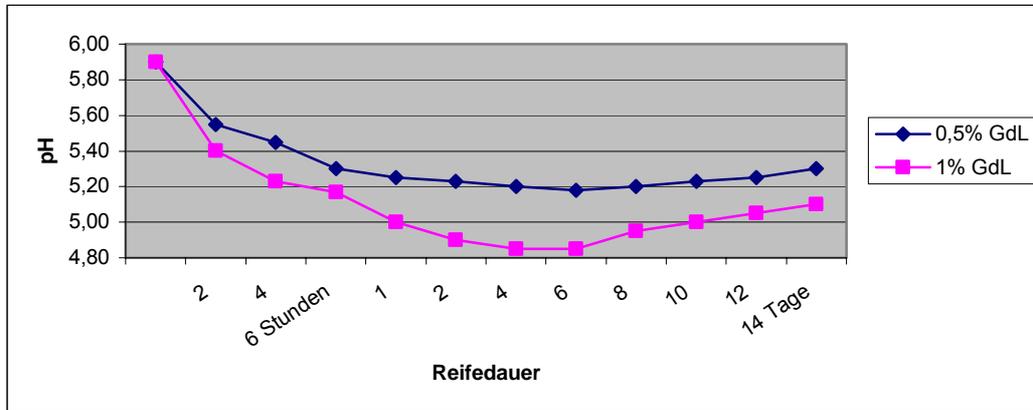


Abb.2: pH- Verlauf in GdL- Würsten bei verschiedenen GdL- Mengen (nach Coretti, 1971)

Fermentierbare Kohlenhydrate werden durch Mikroorganismen rascher als Muskelprotein angegriffen. Gleichzeitig wird in Anwesenheit von Zuckerstoffen das Wachstum der Keime gefördert, die Nitrat zu Nitrit reduzieren. Die Kohlenhydrate werden von den in der Rohwurst vorhandenen Mikroorganismen zu Säure abgebaut. Einfachzucker (vor allem Dextrose) werden von fast allen Mikroorganismen schnell metabolisiert. Disaccharide (meist Saccharose) werden langsamer verstoffwechselt. Zuckerstoffe werden bei der Rohwurstherstellung bis zu 2% zugesetzt (Frey, 1987; Hummerjohann, 2004). Optimal ist nach Leistner (1985) der Zusatz von 0,3% Glucose (Glc) oder Saccharose (Sac) bei langsamgereiften Produkten oder 0,5 bis 0,7% bei schnellgereiften Produkten. Lactose (Lac) kann bei langsamgereiften Produkten zu 0,5% und bei schnellgereiften Produkten zu 1,0% anstatt Glc oder Sac zugesetzt werden.

Ascorbinsäure oder Ascorbat (vorwiegend in der Form von Natriumascorbat oder Natriumisoascorbat) sind Reduktionsmittel, die die Reduktion von Nitrit zu Stickoxid unterstützen/beschleunigen und die Nitrosaminbildung effektiv hemmen. Die unterstützende, beschleunigende Wirkung beruht auf einer verstärkten Bildung des Stickstoffmonoxidradikals. Es entspricht heute „Good Manufacturing Practice“ Ascorbat als „Umrötehilfsstoff“ einzusetzen (Frey, 1987; Kühne, 2003; Hummerjohann, 2004).

Starterkulturen dienen der schnellen Initiation des Reifungsprozesses. Starterkulturen sind relativ moderne Zusatzstoffe in der Rohwurstherstellung. So befand Farchim (1965) die Verwendung von Starterkulturen als noch nicht praxisreif.

Nach Hechelmann (1981) sind Starterkulturen Reinkulturen oder Mischkulturen von Bakterien, Hefen oder Schimmelpilzen, die aufgrund ihrer StoffwechsellLeistungen erwünschte Veränderungen des Ausgangsproduktes herbeiführen. Die Veränderungen betreffen Aroma, Aussehen, Konsistenz und die Konservierung. Starterkulturen setzen sich im Verlauf der Reifung gegenüber den anderen im Fleisch vorhandenen Mikroorganismen (insbesondere aus den Familien der *Enterobacteriaceae* und *Pseudomonaceae*) durch (Lienhop, 1974; Stahnke, 1995). Diese Selektion wird durch den aw- Wert, den pH- Wert, sowie Nitrat und Nitrit gefördert. Starterkulturen sind nach Gonzales u. Diez (2002) eine der wichtigsten mikrobiologischen Hürden bei der Rohwurstherstellung.

Tabelle 1 gibt eine Übersicht über die gebräuchlichsten Mikroorganismen in Starterkulturen und ihre Eigenschaften. Industriell hergestellte Starterkulturen sind meist Mischprodukte aus säuernden (Milchsäurebakterien) und nitratreduzierenden Mikroorganismen (Mikrokokken und Staphylokokken).

Hefen werden vor allem in ungeräucherten Produkten zur Verbesserung des Aromas hinzugegeben. Schimmelpilze werden meist als Oberflächenkultur ungeräucherter Rohwürste verwendet.

Tab. 1: Mikroorganismen in Starterkulturen und ihre Eigenschaften (nach Knauf, 1998; Häußler, 2004)

Mikroorganismen	Eigenschaften
Milchsäurebakterien - <i>Lactobacillus</i> (<i>L. curvatus</i> , <i>L. sake</i>) - <i>Leuconostoc</i> - <i>Pediococcus</i> - <i>Laktococcus</i> - <i>Streptococcus</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Bilden Milchsäure, dadurch pH- Wert-Senkung - Bilden Bakteriozine - Aromabildung - Verzögerung Ranzigwerden - Können Wasserstoffperoxid bilden (unerwünscht)
Mikrokokken und Staphylokokken - <i>Micrococcus</i> - <i>Staphylococcus</i> (<i>St. carnosus</i> , <i>St. xylosus</i>)	<ul style="list-style-type: none"> - Bilden Nitratreduktase (Unterstützung der Umrötung im pH- Bereich > 5,5) - Bilden Katalase (Abbau von Peroxiden und damit Schutz vor Ranzigwerden. Insbesondere im Zusammenhang mit Milchsäurebakterien, die Wasserstoffperoxid bilden) - Aromabildung durch Protease- Lipase- Peptidaseaktivität - Mikrokokken sind aerobe MO's, die Nitratreduktase ist temperaturunabhängig - St. können aerob und anaerob wachsen, die Nitratreduktase ist aber stark temperaturabhängig
Hefen - <i>Debaromyces hansenii</i> - <i>Candida famata</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Aromabildung - Verzögerung Ranzigwerden
Schimmelpilze - <i>Penicillium</i> (<i>P.</i>) spp. (<i>P. nalgiovense</i> , <i>P. camembertii</i> , <i>P. candidum</i>)	<ul style="list-style-type: none"> - Aromabildung - Hemmung Konkurrenzflora - Verzögerung Ranzigwerden - Einsatz als Oberflächenkultur

Die Bakteriozine der Milchsäurebakterien sind beispielsweise organische Säuren, Diacetyl und Wasserstoffperoxid. Dadurch kann das Wachstum von *L. monocytogenes*, *B. cereus*, *Cl. perfringens* und *St. aureus* entscheidend verhindert werden (Lewus et al., 1991). Die direkte Zugabe von Milchsäure stört die Bildung der Farbe und der Konsistenz (Kuchling u. Weber, 1968) und wird deswegen nicht durchgeführt. Die Zahl der Milchsäurebakterien erreicht unmittelbar nach dem Räuchern Werte von 10^8 bis 10^9 /g, teilweise noch höhere. Im Verlauf der weiteren Reifung bleibt der Gehalt an Milchsäurebakterien annähernd gleich oder erhöht sich noch leicht (Farchim, 1965). Bei längerer Reifedauer können die Milchsäurebakterien jedoch soviel Milchsäure produzieren, sodass der pH- Wert stark absinkt. Die Bedingungen werden damit selbst für die säuretoleranten Milchsäurebakterien inakzeptabel. Damit sinkt die Zahl der Milchsäurebakterien (Terplan, 1969; Leistner, 1985).

Gewürze wie Pfeffer, Kardamon, Wacholder, Rum, Paprika, Rosmarin oder Knoblauch tragen zur Geschmacksbildung des Endproduktes bei. Gewürze sind nach Berger et al. (1987) Pflanzenteile ohne Nährwert, jedoch mit hohem Aromawert. Gewürze wirken zudem antimikrobiell (Beuchat, 1976; Elgayyar et al., 2001; Fabio et al., 2003) und antioxidativ (Chipault et al., 1952). Damit stellen sie eine weitere Hürde für unerwünschte Mikroorganismen in der Rohwurstherstellung dar.

Als **Wursthülle** werden Därme oder Kunststoffhüllen verwendet. Die Hüllen müssen vor dem Abfüllen gewässert werden, damit die Elastizität beibehalten wird und das Produkt während des Reifungsvorganges mit der Hülle schrumpfen kann (Coretti, 1971).

2.1.3 Ablauf der Rohwurstherstellung

Das Rindfleisch wird gekühlt oder gefroren, Schweinefleisch und Speck werden gefroren. Unter Zugabe von Pökelformulierungen, Starterkulturen, Gewürzen, Zucker und Nitritpökelsalz bzw. Kochsalz oder Nitrat werden das Fleisch und der Speck gekuttert. Selten wird das Fleisch im Wolf zerkleinert. Bei der einphasigen Rohwurstherstellung werden Magerfleisch und Speck gemeinsam gekuttert, gepökelt und gewürzt. Bei der zweiphasigen Rohwurstherstellung wird das vorgewolfte Magerfleisch ein bis zwei Tage vorgepökelt. Danach werden Gewürze und Speck hinzugekuttert (Coretti, 1971; Schnäckerl et al. 2000). Schnittfeste Rohwürste enthalten je nach Rezeptur einen Speckanteil von ca. 33%, nach Reifung und Trocknung resultiert daraus ein Fettgehalt von ca. 43%. Bei der Herstellung streichfähiger feiner Rohwurst wird zuerst das Fett und dann das Magerfleisch gekuttert, damit sich die Fettbestandteile um das Magerfleisch legen und somit eine gute Streichfähigkeit erreicht wird. Aus der Rohmasse wird die Luft entfernt und in Natur- oder Kunstdärme gespritzt. Durch das Kuttern und die spätere Abfüllung der Grundmasse unter Vakuum wird ein Sauerstoffaustrieb erzielt, der die Haltbarkeit des Produktes verbessern soll (von Canstein, 2005). Die frisch gefüllten Würste werden in Klimakammern verbracht. Hier kommt es durch geregelte Temperaturen, Luftfeuchtigkeit und Luftbewegung zur Reifung des Produktes. Teilweise werden die Würste auch geräuchert. Die bei der Reifung der Rohwurst wichtigsten Vorgänge sind die Umrötung, Bindung, Trocknung und die Aromatisierung. Die einzelnen Vorgänge laufen nebeneinander, nacheinander, ineinander ab und sind auch zum Teil voneinander abhängig (Coretti, 1971; Sinnell, 2004).

Bei der **Umrötung** (siehe **Abbildung 1**) muss bei der Verwendung von Nitrat (NO_3) dieses erst durch bakterielle Mikroorganismen zu Nitrit reduziert werden. Nitrit zerfällt unterhalb des pH-Wertes von 5,5 durch Einwirkung von Säuren und Mikroorganismen zu Stickoxid. Das Stickoxid verbindet sich mit Myoglobin zu Stickoxid-Myoglobin, dem Pökelfarbstoff (Belitz et al., 2001).

Bei der **Bindung** werden die an der Grenzfläche zwischen Speck und Fleischteilchen liegenden Muskeleiweiße Myosin und Actin durch das zugegebene Salz herausgelöst (Solzustand). Mit dem Sinken des pH- Wertes wird das Eiweiß gelartig (Gelzustand). Damit werden die einzelnen Wurstteilchen verbunden und die Wurst wird schnittfest. Der Gelzustand wird bei einem pH-Wert von 5,3 bis 5,4 erreicht. Die Schnittfestwerdung kann durch proteolytische Fäulniskeime gestört werden, die einerseits das Eiweiß abbauen, andererseits die Säurebildung beeinträchtigen (Coretti, 1971, Häußler, 2004).

Nachdem zu Beginn der Reifung die Wasseraktivität nur durch Substanzen wie Salz, Zucker oder NPS zu beeinflussen ist, nimmt die Bedeutung der **Trocknung** als mikrobiologische Hürde im Verlauf der Reifung zu (Wallhäuser, 1990). Durch die Trocknung wird die Konsistenz der Wurst fester und der a_w - Wert sinkt.

Die in **Tabelle 2** zusammengefassten mikrobiologischen Parameter verdeutlichen die unterschiedlichen Anforderungen der lebensmittelrelevanter Mikroorganismen an die Umgebung. Hier zeigt sich, dass *St. aureus* bei niedrigem pH- Wert einen Selektionsvorteil hat. *L. monocytogenes* ist ein psychrophiler Mikroorganismus mit einer enormen Kochsalztoleranz.

Tab 2: minimale Wasseraktivitätswerte, pH- Wert Bereiche, Temperaturbereiche und Kochsalzkonzentrationen, bei der lebensmittelrelevante Mikroorganismen wachsen (nach Leistner et. al., 1971; Troller u. Christian, 1978, Sinell, 2004)

	Minimaler aw-Wert	pH- Wert	Temperatur (in °C)	max. NaCl-Konzentration (in %)
<i>E. coli</i>	0,935	[4,0;9,5]	[2,5;45]	8,5
<i>Salmonella spp.</i>	0,95	[4,0;9,6]	[6; 47]	10
<i>St. aureus</i>	0,86	[4,2;9,3]	[6; 45]	18,2
<i>L.monocytogenes</i>	0,93	[4,5;9,6]	[2; 45]	25
<i>Y. enterocolica</i>	0,95	[4,4;9,0]	[0,5;44]	5,8
<i>Bacillus spp.</i>	[0,9;0,93]	[]	[10; 65]	[11,8;14,5]
<i>Cl. botulinum</i>	[0,93; 0,98]	[4,5;9,0] (A, B)	[4;50] (je nach Typ)	3-10 (je nach Typ)
<i>Cl. perfringens</i>	0,93	[4,8;8,3]	[5; 52]	10,5
<i>Bacillus cereus</i>	0,94	[4,3;9,3]	[5; 50]	10,5
<i>Campylobacter jejuni/coli</i>	0,99	[5,5;9,0]	[25; 46]	1,7

Bei der **Säuerung** steht zu Beginn der Reifung der heterofermentative Kohlenhydratabbau im Vordergrund. Stoffwechselprodukte sind hier Kohlendioxid (CO₂), Wasserstoff (H₂), Wasser, organische Säuren und Alkohole. Der heterofermentative Kohlenhydratabbau wird im Reifeverlauf von der homofermentativen Milchsäurebildung abgelöst. Milchsäurebildner können eine Konzentration von 10⁸ KbE/g erreichen und dominieren nach wenigen Tagen die Reifungsflora.

Das **Räuchern** ist in nordeuropäischen Ländern üblich, während in südeuropäischen Ländern eher die Lufttrocknung des Produktes vorherrscht. Bei der Rohwurstherstellung kommt die Kalträucherung bei Temperaturen von ca. +18° C über mehrere Tage bis Wochen und seltener die Feuchträucherung bei ca. +30° C über zwei bis drei Tage zum Einsatz. In den USA ist die Feuchträucherung üblich. Das Räuchern dient der Farbverstärkung und Geschmacksgebung sowie der Haltbarmachung durch antibakterielle und antioxidative Effekte. Dies wird vor allem durch die beim Räuchern freigesetzten Formaldehyde und Phenole bewirkt (Binder, 1995; Ternes, 1998).

2.1.4 Endprodukt

Das Grundkonzept der Rohwurstherstellung besteht darin, durch eine ausreichende Verminderung von pH- Wert und/ oder a_w- Wert ein stabiles Erzeugnis zu bekommen (N.N., 2002). In einer gut abgetrockneten schnittfesten Rohwurst findet eine Vermehrung von Mikroorganismen praktisch nicht mehr statt. Jedoch sind biochemische Veränderungen weiter möglich. Dies kann zum Verderben der Rohwurst führen. Meist handelt es sich dann um ranzige Fettveränderungen. Seltener ist der Verderb durch Veränderungen der Proteine begründet (Coretti, 1971, Belitz et. al, 2001). **Tabelle 3** verdeutlicht, dass in kurzgereifter und in streichfähiger Rohwurst die Haltbarmachung durch Senkung des aw- Wertes von untergeordneter Bedeutung ist. Die mikrobielle Stabilisierung wird hier vor allem durch einen niedrigen pH- Wert erreicht (Frey, 1988).

Tab. 3: Zielvorgaben für Wasseraktivitäts- und pH- Werte von Rohwurst- Endprodukten (nach Leistner, 1986).

	pH- Wert	Wasseraktivität
Schnellreifende Rohwurst	<5,0	0,95-0,9
Langsamreifende Rohwurst	5,3-5,8	0,90-0,65
Streichfähige Rohwurst	<5,5	0,94-0,91

2.1.5 Kritische Prozessschritte/HACCP

Bei der Herstellung von Lebensmitteln wurde schon seit jeher auf die für die Qualität und Sicherheit der Produkte wichtigen Faktoren geachtet. Die Qualitätssicherung beruhte oft auf Erfahrungen, die in den einzelnen Betrieben weitergeben wurden und deren Niveau von Betrieb zu Betrieb verschieden war. Mit dem Beginn der industriellen Fertigung von Lebensmitteln und der staatlichen Lebensmittelüberwachung wurde die Kontrolle eingeführt. Daraus sind von größeren Herstellern innerbetriebliche Standards und im Rahmen der Lebensmittelüberwachung verbindliche Hygienevorschriften entwickelt worden (Leistner, 1985). Die zunehmende Sensibilität der Verbraucher bezüglich der Lebensmittelsicherheit veranlasste 1998 die Verankerung des Hazard- Analysis- and- Critical- Control – Point Systems (HACCP) in §4 der Lebensmittelhygieneverordnung (LMHV). Das am 1.1.2006 in Kraft getretene EU-Hygienepaket löste die LMHV ab und erlaubt nur noch das Inverkehrbringen von Lebensmitteln, die nach dem HACCP- Konzept hergestellt wurden.

Die Verordnung (EG) 852/2004 verlangt von allen Lebensmittel- Unternehmen prozessorientierte vorbeugende Sicherheitsmaßnahmen entsprechend den Grundsätzen des HACCP- Systems des Codex- Alimentarius. Eine Differenzierung zwischen industriellen und handwerklichen Betrieben entfällt. Somit müssen auch kleine und mittlere Betriebe ein Eigenkontrollsystem erstellen und dokumentieren. Die Überwachung der Systeme wird von den zuständigen Behörden vorgenommen.

Beim HACCP- Konzept werden aus der Analyse der hygienischen Risiken eines Lebensmittels die für die Produktion kritischen Kontrollpunkte abgeleitet, die durch Richtwerte überwacht und damit entschärft werden können (Sinell, 2004).

Das HACCP-Konzept besteht nach Leistner (1985) auf drei Säulen:

- Ausbildung und Fortbildung der Mitarbeiter
- Kontrolle der Anlagen und Verfahren
- Mikrobiologische Untersuchung der Produkte und Anlagen

Tabelle 4 stellt die wesentlichen Grundsätze des HACCP- Konzeptes dar. Bevor in einem Betrieb die Grundsätze in Angriff genommen werden, muss ein HACCP-Team benannt werden, welches das Produkt beschreibt, ein Ablaufdiagramm des Herstellungsprozesses erstellt und dieses mit den tatsächlichen Arbeitsvorgängen im Unternehmen abgeglichen werden (Sinell, 2004).

Tab. 4: Grundsätze des HACCP- Systems (Sinell, 2004)

Grundsatz 1	Gefahrenanalyse
Grundsatz 2	Bestimmen der „Critical Control Points“ (CCP)
Grundsatz 3	Festlegen von einem oder mehreren Grenzwert(en) (=Critical Limit)
Grundsatz 4	Etablieren eines Systems zur ständigen Überwachung (=Monitoring)
Grundsatz 5	Festlegen von Korrekturmaßnahmen (=Corrective Actions), die erfolgen müssen, wenn die Überwachung/ Monitoring anzeigt, dass ein bestimmter CCP nicht mehr beherrscht wird (not under control)
Grundsatz 6	Verification: Methoden, Verfahren, Tests und andere Auswertungen anwenden, um die Erfüllung des HACCP- Plans nachzuweisen
Grundsatz 7	Einführung einer Dokumentation, die alle Vorgänge und Aufzeichnungen entsprechend den Grundsätzen und deren Anwendung berücksichtigt

Wesentliche Kontaminationen des Fleisches mit Mikroorganismen finden unmittelbar in Zusammenhang mit dem **Schlachtprozess** statt. Das Fleisch gesunder Tiere ist in der Tiefe keimfrei (Höne et al., 1976). Wenn der Schlachtprozess hygienisch erfolgt, sind auf der Oberfläche des Frischfleisches etwa 10^3 bis 10^4 Mikroorganismen pro Quadratzentimeter (cm^2) zu erwarten (Leistner, 1985). Bei schlechten Hygienebedingungen (Kontamination durch tierische Fäkalien) liegen diese Werte erheblich höher ($> 10^6/\text{cm}^2$). Durch das Entbeinen und Zerlegen kommt es zu einer starken Verteilung der Mikroorganismen auf neu geschaffenen Oberflächen. Zusätzlich kann das Fleisch durch Kettenhandschuhe, Hände, Schneidunterlagen, Transportbänder etc. verunreinigt werden (Lücke, 1993; Sinell u. Meyer, 1996). Der Keimgehalt nimmt im Laufe der Aufbewahrung und Verarbeitung weiter zu. Bei Aufrechterhaltung einer Kühlkette handelt es sich meist um psychrotrophe, saprophytäre Mikroorganismen. Es muss somit versucht werden, den Keimgehalt von Fleisch von Beginn an so gering wie möglich zu halten, um pathogene und potenziell toxinbildende Bakterienspezies auszuschließen. Die Betreiber von Schlachtbetrieben sind gesetzlich verpflichtet regelmäßige mikrobiologische Kontrollen durchzuführen (EG VO 852/2004). **Tabelle 5** fasst in Anlehnung an die Baden Württembergische Leitlinie für eine gute Hygiene-Praxis in Schlacht- Zerlegungs- und Verarbeitungsbetrieben (2004) die Risikostufen im Schlacht und Kühlprozess bei der Rinder- und Schweinschlachtung zusammen.

Tab.5: Risikostufen beim Schlacht- und Kühlprozess (nach Baden Württembergischer Leitlinie für eine gute Hygienepraxis in Schlacht- Zerlegungs- und Verarbeitungsbetrieben)

Tierart	Risikostufen
Rind	<ul style="list-style-type: none"> - Abtrennen der Gliedmaßen - Ausweiden (Darm- Pansenrupturen) - Enthäuten - Kreuzkontaminationen: ungenügende Reinigung der Arbeitsgeräte, Hin- und Herlaufen von der reinen zur unreinen Seite - manuelles Weiterschieben beim Transport - zu späte Kühlung - zu hohe Kühltemperatur (>7°C) - Spritzwasser
Schwein	<ul style="list-style-type: none"> - falsches Stechen (Eröffnung des Brustraumes) - Brühen: Temperatur < 60°C, ungenügende Wassererneuerung, Schmutzwassereintritt in große Blutgefäße - Enthaarung: ungenügende Wassererneuerung (Keiminvasion in Haut) - Kühlen mit Kontakt zu anderen Tierkörpern und Nebenprodukten

Tabelle 6 weist auf die Risikostufen den der Schlachtung folgenden Prozeßschritte hin. Hier ist anzumerken, dass in jedem Produktionsschritt die Temperatur eine Rolle spielt. Bei Transport und Lagerung sowie beim Zerlegen, Entbeinen, Zurichten, Umhüllen und Verpacken von Fleisch muss eine Kerntemperatur von + 7 °C eingehalten werden. Durch Überwachung des Kühlregimes wird die Gefahr der Vermehrung von Krankheits- und Verderbniserregern auf ungenügend gekühltem Fleisch auf ein annehmbares Niveau reduziert.

Tab. 6: Risikostufen beim Zerlegen (nach Baden Württembergischer Leitlinie für eine gute Hygienepraxis in Schlacht- Zerlegungs- und Verarbeitungsbetrieben)

Prozeß	- Risikostufe
Anlieferung der Schlachtkörper	- Temperatur, - Hygiene des Transportmittels - Personalhygiene - Zustand der Ware und Verpackung
Kühlen	- Temperatur im Kühlraum - Temperatur im Zerlegungsraum
Entbeinen	- Abszesse - Temperatur
Kühl lagern	- Temperatur - Kühlraumbelegung
Versand	- Temperatur

In **Tabelle 7** sind die Kontrollpunkte und die Richtwerte für die Überwachung der kritischen Kontrollpunkte der Rohwurstherstellung ab der Zerlegung zusammengefasst. Dazu ist anzumerken, dass ein funktionierendes HACCP- System nicht die Überwachung aller in Tabelle 7 aufgeführten CCP's verlangt. Die Baden Württembergische Leitlinie für eine gute Hygiene- Praxis in Schlacht- Zerlegungs- und Verarbeitungsbetrieben (2004) beschreibt in diesem Zusammenhang lediglich einen CCP, nämlich das Reifen/ ggf. Räuchern. Ein HACCP- System muss für jeden Betrieb erarbeitet werden (Zechel et al., 2006).

Tab. 7: Richtwerte für die Überwachung der kritischen Kontrollpunkte für Rohwurst (Leistner, 1985)

Nummer	Bezeichnung des CCP's	Kontrollstelle	Richtwerte für den CCP
1	Keimgehalt des Rohmaterials	Fleisch	Gesamtkeimzahl (GKZ) $< 5 \cdot 10^6/\text{g}$ <i>Enterobacteriaceae</i> $1 \cdot 10^5/\text{g}$
2	Temperatur des Rohmaterials	Fleisch	Temperatur nahe 0°C, nie über 7°C
3	pH- Wert des Rohmaterials	Fleisch	pH < 5,8
4	a _w - Wert des Rohmaterials	Rohmasse	a _w - Wert < 0,96
5	Kochsalzzusatz	Rohmasse	bis 3,0 %, nie weniger als 2,5% (auch als NPS)
6	Nitrit- Zusatz	Rohmasse	nicht < 125 ppm
7	Nitrat- Zusatz	Rohmasse	bis 300 ppm, nur bei langgereiften Rohwürsten zulässig
8	Zucker- Zusatz	Rohmasse	0,3% Glc oder Sac bei langgereiften Produkten. 0,5-0,7 % bei schnellgereiften Produkten.
9	GdL- Zusatz	Rohmasse	0,3% bei schnellgereifter Rohwurst
10	Starterkulturen- Zusatz	Rohmasse	Bei normal- und schnellgereiften Produkten empfehlenswert
11	Temperatur bei der Reifung	Raum	Bei Reifebeginn < 22°C, bei Nitrat - oder NPS Verwendung < 18°C

Tab. 7:

Nummer	Bezeichnung des CCP´s	Kontrollstelle	Richtwerte für den CCP
12	Luftfeuchtigkeit bei Reifung	Raum	Reifebeginn bei 90% relativer Luftfeuchte (rF) Langsam auf 75% rF abfallend
13	Luftgeschwindigkeit bei der Reifung	Raum	Reifebeginn 0,8- 0,5 Meter/ Sekunde (m/s), später 0,5- 0,2 m/s
14	MO im Innern der Wurst	Produkt	Im Reifeverlauf sollten sich Milchsäurebakterien durchsetzen. Im Endprodukt sollten $< 1 \cdot 10^{44}/g$ <i>Enterobacteriaceae</i> sein
15	Erwünschte MO auf der Wurstoberfläche	Produkt	Schimmelpilze (<i>Penicillium</i>), Hefen (<i>Debaromyces</i>)
16	Unerwünschte Schimmelpilze auf der Wurstoberfläche	Produkt	Wachstumshemmung durch leichte Räucherung Vermeiden von Temperatur- und rF-Schwankungen Tauchen der Produkte in Kaliumsorbat-Lösungen
17	Räucherung der Rohwurst	Produkt	Spezifisch je nach Wurstsorte
18	pH- Wert der Rohwurst	Produkt	Bei schnellgereiften in ein bis zwei, bei langsamgereiften Würsten in 4-6 Reifetagen auf 5,0 abfallend, bei langgereiften Rohwürsten steigt der pH auf 5,8 bis 6,0 an.

Das Wachstum pathogener Keime wird bei der nach guter Herstellungspraxis hergestellten schnittfesten Rohwurst im konventionellen Bereich durch Verwendung von Pökelfstoffen, Säuerung, Reifungsflora sowie der mit der Reifung verbundenen Abtrocknung ausreichend gehemmt. (Zechel et. al., 2006). Leistner (1985) beschreibt dies als „Hürden- Konzept“. In Bio-Betrieben wird häufig nur mit Kochsalz gepökelt. Nitrit ist jedoch gerade zu Beginn der Reifung nach Leistner (1981) für die mikrobiologische Sicherheit des Produktes maßgebend. Deswegen müssen Rohprodukte aus biologischer Herstellung einer strengeren hygienischen Kontrolle unterliegen, als konventionell gepökelte Produkte. Nach Sinell (2004) muss sich zur Vermeidung von EHEC- Infektionen das Hauptaugenmerk auf eine hygienisch einwandfreie Herrich-

tung der Schlachtkörper richten. Bei streichfähigen Rohwürsten kann bei üblichen Technologien das Vorkommen von *Salmonellen*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* und *Escherichia coli* nicht ausgeschlossen werden. Das Risiko ist besonders hoch, wenn keine ausreichende Säuerung und Reifungsflora erreicht wird

2.2 Faktoren, die den mikrobiellen Verderb bestimmen

2.2.1 Wasseraktivität

Die Wasseraktivität (a_w - Wert) berücksichtigt im Gegensatz zum Wassergehalt eines Lebensmittels die Tatsache, dass durch osmotische Kräfte und die Adsorption an ungelöste Nahrungsbestandteile Wasser gebunden wird, welches von Mikroben nicht genutzt werden kann. Somit ist die Wasseraktivität ein Maß für das nichtgebundene, freiverfügbare Wasser eines Lebensmittels (Troller, 1986).

Ausgedrückt wird die Wasseraktivität als Quotient der relativen Feuchte über der Probe zur relativen Feuchte von reinem Wasser bei gleicher Temperatur (Rödel, 1993).

Der a_w - Wert des Lebensmittels wird durch folgende Faktoren beeinflusst:

1. Wassergehalt
2. Art und Menge der gelösten Stoffe (Säuren, Zucker, Elektrolyte)
3. Form der Bindung des Wassers im Lebensmittel wie Adsorption an Bestandteile oder Verteilung von Mikrotröpfchen (Lautenschläger, 1998)

Die Haltbarkeit und der mikrobielle Verderb von Lebensmitteln hängen unter anderem nicht vom Wassergehalt, sondern von der Wasseraktivität ab. Abnehmende Wasseraktivität bremst das Wachstum von Bakterien, später auch von durch Enzyme katalysierten Reaktionen. Die Wasseraktivität kann durch Zusatz von Stoffen mit hohem Wasserbindungsvermögen und Trocknung gesenkt werden (Lück, 1977). Die meisten pathogenen Mikroorganismen sind bereits im Bereich mittlerer Wasseraktivitäten (intermediate moisture foods mit a_w - Werten zwischen 0,6 und 0,9) nicht mehr lebensfähig (Ternes, 1998). *E. coli* wachsen ab einem a_w - Wert von 0,935 (siehe **Tabelle 2**).

2.2.2 pH- Wert

Der pH- Wert ist der negative dekadische Logarithmus der Wasserstoffionenkonzentration. Bei einem pH- Wert von beispielsweise 7 sind 10^{-7} g Wasserstoffionen in einem Liter Wasser. Der pH zeigt die saure (pH kleiner 7), neutrale (pH gleich 7) oder alkalische (pH größer 7) Reaktion einer Lösung an.

Im neutralen pH- Bereich vermehren sich Bakterien am besten. Ein pH- Wert von 5,0 wirkt auf die meisten Mikroorganismen bakteriostatisch (Wirth et al., 1990).

E.coli sind sehr säuretolerante Keime, die sich noch bei einem pH- Wert von 4,0 vermehren können. In **Tabelle 3** finden sich die Zielvorgaben betreffend pH- Werten von Rohwürsten.

2.3 Relevante Mikroorganismen bei der Rohwurstreifung

Aus Rohwürsten können neben erwünschten und unerwünschten Bakterien auch Viren, Hefen und Schimmelpilze isoliert werden. Folgend werden die wichtigsten Bakterienarten, die während der Rohwurstreifung vorkommen können, abgehandelt.

2.3.1 Bedeutung für den Menschen

Zu Beginn des 20. Jahrhunderts war die Bevölkerung durch Lebensmittel von Tuberkulose, Brucellose, Milzbrand und Typhus bedroht. Heute beherrschen Salmonellose, Campylobakteriose, Yersiniose, Listeriose und durch enteropathogene *E. coli* Stämme verursachte Enteritiden das Krankheitsgeschehen (Sinell, 2004).

2.3.1.1 Lebensmittelassoziierte Ausbrüche

Mikrobiologische Ursachen spielen bei der Entstehung von Lebensmittelschädigungen eine herausragende Rolle. So sind in den USA in den Jahren 1983-1992 bei den Centers for Disease Control and Prevention (CDC, 1995) 1910 durch Lebensmittel verursachte Epidemien mit 91430 Einzelerkrankungen gemeldet worden, wobei 91% der Einzelfälle und fast drei Viertel der Epidemien bakterielle Ursachen hatten (Bean et al., 1997). **Tabelle 8** zeigt die Zahl der Ausbrüche in der Bundesrepublik Deutschland durch potenziell lebensmittelassoziierte virale und bakterielle Erreger im Jahr 2005. Im Jahr 2005 wurden 6472 Ausbrüche durch Erreger, die potenziell über Lebensmittel übertragen werden können an das RKI übermittelt. Betroffen waren 51820 Personen, von denen 9147 im Krankenhaus behandelt werden mussten und mindestens 13 gestorben sind. Im internationalen Vergleich werden in Deutschland höhere Zahlen an Ausbrüchen erfasst als in anderen EU- Ländern und den USA. Da nicht davon auszugehen ist, dass die Hygienestandards in Deutschland schlechter sind als in anderen Ländern, kann von einer effizienteren Ausbruchserfassung ausgegangen werden (RKI, 2006,1).

Tab. 8: Ausbrüche durch meldepflichtige bakterielle und virale Erreger, die durch Lebensmittel übertragen werden können (RKI, 2006,1).

Erreger	Ausbrüche	Erkrankte
Norovirus	2013	34298
Enteritis Salmonellen	1749	7039
Rotaviren	1580	7239
<i>Campylobacter spp.</i>	7587	2010
Hepatitis- A- Virus	70	203
<i>Shigella</i>	64	220
Enteropathogene <i>E. coli</i>	54 (ohne STEC)	165 (ohne STEC)
STEC/EHEC	39	134
<i>Yersinia enterocolica</i>	28	72
<i>Salmonella typhi</i>	4	14
<i>Clostridium botulinum</i>	3	19
<i>Salmonella paratyphi</i>	2	4

2.3.1.2 Bedeutung von STEC/ EHEC für den Menschen

EHEC- Erkrankungen beim Mensch/ Inzidenz

Nach einer Inkubationszeit von 3 bis 4 Tagen können EHEC sowohl einfache Durchfälle als auch hämorrhagische Colitis verursachen. Eher selten sind Erbrechen und Fieber. Während die Krankheit meist selbstlimitierend und nach 7- 10 Tagen beendet ist, können bei 10% der Patienten (insbesondere bei Kindern und älteren Menschen) schwere Komplikationen auftreten (Weber u. Schwarzkopf, 2003). Das hämolytisch- urämische Syndrom (HUS) ist durch hämolytische Anämie und Nierenversagen charakterisiert. Die thrombotisch- thrombozytopenische Purpura (TTP) führt zu diffusen Blutungen. Ebenfalls treten neurologische Komplikationen auf (RKI, 1999). Der Verzehr von weniger als 100 EHEC O157 kann nach Peitz et al. (2000) beim Menschen bereits eine Infektion auslösen. Nach Timm et al. (1998) genügt eine Infektionsdosis von 10 Keimen.

Seit 2003 werden seitens des RKI enteropathische HUS getrennt von EHEC übermittelt und ausgewertet. In den RKI- Jahrbüchern 2001 und 2002 wurden die HUS- Fälle noch in die Zahl der EHEC- Meldungen inkludiert. Dies ist in **Tabelle 9** zu beachten, die die Anzahl der EHEC- Meldungen von 2001 bis 2005 in der Bundesrepublik Deutschland und im Freistaat Bayern zusammenfasst.

Tab. 9: Inzidenz der EHEC- Erkrankungen von 2001 bis 2005. Die in Klammern geschriebene Zahl gibt die Zahl der Erkrankungen pro 100.000 Einwohnern an (RKI, 2006, 2)

	2001 EHEC	2001 HUS	2002 EHEC	2002 HUS	2003 EHEC	2003 HUS	2004 EHEC	2004 HUS	2005 EHEC	2005 HUS
BRD	1018 (1,2)	64 (<0,1)	1253 (1,5)	114 (0,1)	1135 (1,4)	82 (0,1)	927 (1,1)	54 (0,1)	1162 (1,4)	78 (0,1)
Bayern	185 (1,5)	6 (<0,1)	258 (2,1)	32 (0,3)	245 (2,0)	22 (0,2)	203 (1,6)	10 (0,1)	261 (2,1)	23 (0,2)

Die Serogruppe O157 wurde 2005 in der Bundesrepublik Deutschland erstmals nicht am häufigsten bei erkrankten Personen nachgewiesen. Sie wurde von der Serogruppe O103 übertroffen. (RKI, 2006, 2).

Es besteht gemäß §7 Infektionsschutzgesetz (IfSG) seit 1998 namentliche Meldepflicht für EHEC- Infektionen. Der Nachweis kann direkt oder indirekt geführt werden und muss eine akute Infektion nachweisen. Infizierte Personen, die mit Lebensmittel in Berührung kommen, dürfen ihren Beruf nicht ausüben (§ 42 IfSG).

Übertragung

Der Mensch infiziert sich meist durch kontaminierte Lebensmittel oder durch Mensch-Mensch und auch Tier- Mensch Kontakte (Huber et al., 1997; Bülte, 2002). Die meisten Krankheitsausbrüche sind mit dem Verzehr von Hackfleisch oder nicht pasteurisierter Milch verbunden (Chapman u. Wright, 1993; Weber u. Schwarzkopf, 2003). Bei Mensch- Mensch Übertragungen spielt der fäko- orale Weg eine wesentliche Rolle (Reida et al., 1994). Bei Kindern unter drei Jahren ist nach RKI (2004) der direkte Kontakt zu Wiederkäuern die häufigste Infektionsquelle. Lebensmittelbedingte Infektionen sind in dieser Altersgruppe von untergeordneter Bedeutung. Bei über 10 Jahre alten Kindern sind Infektionen durch Lebensmittel (Lammfleisch, streichfähige Rohwürste) am häufigsten. Nach Gareis et al. (2000) stellt das Ausscheiden von STEC durch gesunde Mitarbeiter eine mögliche Kontaminationsquelle für Rohwurst dar. Bei einer Untersuchung von Stuhlproben von 22 klinisch gesunden Mitarbeitern eines Fleisch verarbeitenden Betriebes über 21 Monate wurden zwei Mitarbeiter als STEC-Ausscheider ermittelt. Bei einem der Mitarbeiter wurde sogar eine intermittierende Langzeitausscheidung über 10 Monate festgestellt.

EHEC- Ausbrüche

Tabelle 10 gibt einen Überblick über nachgewiesene EHEC- Ausbrüche weltweit. Häufig wurden Hamburger als Infektionsquelle genannt. Hier ist davon auszugehen, dass die Produkte nicht ausreichend durcherhitzt wurden. Zudem macht die Tabelle deutlich, dass EHEC- Infektionen vor allem in Ländern mit hoch entwickelter Landwirtschaft auftreten (Sinell, 2004).

Tab. 10: EHEC- Ausbrüche weltweit: Land, Zahl der Erkrankten und Toten, Vektor, Referenz

Land	Jahr	Erkrankungen	Tote	Vektor	Referenz
USA	1982	25	0	Hamburger	Riley et al. 1983
USA	1982	21	0	Hamburger	Riley et al. 1984
USA	1984	53	4	Hamburger	Ryan et al 1986
USA	1984	50	0	Mensch- Mensch	Spika et al. 1986
CDN	1986	95	12	Sandwiches u. Mensch- Mensch	Carter et al. 1987
USA	1988	63	0	Roastbeef Salat	Rodrigue et al. 1995
USA	1989	245	4	Trinkwasser	Swerdlow et al. 1992
USA	1990	5	0	Mensch- Mensch	Banatvala et al. 1995
DEU	1990	3	0	Unpasteurisierte Milch	Bockemühl et al. 1990
USA	1991	11	0	Rentierfleisch	Keene et al. 1997
DEU	1992	53	1	Mensch- Mensch	Reida et al. 1994
USA	1993	44	4	Hamburger	CDC, 1993
UK	1993	8	0	Beefburger	Willshaw et al. 1994
USA	1994	37	0	Rindfleisch, Lamm- fleisch	Banatvala et al 1996
USA	1994	24	0	Salami	CDC, 1995

Tab. 10:

Land	Jahr	Erkrankungen	Tote	Vektor	Referenz
UK	1994	10	0	Milch	Upton und Coia, 1994
DEU	1995/96	45	7	Teewurst	RKI, 1996
AUS	1995	140	1	Mettwurst	Paton et al, 1996
JPN	1996	8000	4	Rettichsprossen	Watanabe et al., 1996;
DEU	1998	6	0	Mensch-Mensch	RKI, 1998
UK	1999	30	0	Ziegenkäse	N.N., 1999
CDN	1998	31	0	Salami	Williams et al. 2000
DEU	2005	39	0	Kindergarten	RKI, 2006, 1
DEU	2005	6	0	Wurst	RKI, 2006, 1

2.3.2 Im Herstellungsprozess erwünschte Bakterien

Die für die Rohwurstherstellung wichtigsten Bakterien gehören zu den Gattungen *Lactobacillus*, *Staphylococcus* und *Micrococcus*. Die Eigenschaften dieser Bakterien im Zusammenhang mit der Rohwurstreifung sind unter 2.1.2 (Starterkulturen) bereits dargelegt.

Laktobazillen sind grampositive stäbchenförmige Bakterien. Sie bilden keine Sporen aus. Sie sind anaerob, häufig aber aerotolerant. Die Katalasereaktion fällt negativ aus. Laktobazillen benötigen Kohlenhydrate zur Energiegewinnung und scheiden als charakteristisches, wenn auch nicht immer einziges, Stoffwechselprodukt Milchsäure aus (Rolle und Mayr, 2002). Die gebildeten Säuren tragen maßgeblich zur Unterdrückung unerwünschter Bakterien in der Rohwurst bei.

Staphylokokken und Mikrokokken sind grampositive kugelförmige Bakterien. Die Katalasereaktion fällt positiv aus. Staphylokokken sind anaerob besser vermehrungsfähig als Mikrokokken. Dies ist jedoch kein zuverlässiges Kriterium zur Unterscheidung dieser beiden Gattungen (Lücke, 1985).

2.3.3 Im Herstellungsprozess unerwünschte Bakterien

Im Herstellungsprozess unerwünschte Bakterien können den Verderb der Lebensmittel beschleunigen, Fehlfabrikate verursachen sowie Lebensmittelinfektionen und –intoxikationen verursachen.

2.3.3.1 Listerien

Listerien sind grampositive, nicht sporenbildende, ca. 0,5 bis 2,0 µm große Stäbchenbakterien. Listerien sind psychrotroph und fakultativ anaerob. Listerien sind durch zwei bis fünf peritrich angeordnete Geißeln (Flagellen) beweglich. Die Mobilität der Listerien ist jedoch temperaturabhängig. Bei 20 bis 25°C sind sie am beweglichsten, bei 37°C sind sie praktisch immobil. Listerien haben eine hohe Natriumchlorid (NaCl) Toleranz (bis 25%). Damit bleiben sie in gepökelten Produkten über Monate infektiös. Listerien können bei +60°C in 30 Minuten sicher abgetötet werden (Terplan, 1989). Die bei Erkrankungen des Menschen häufigsten Serovare sind 4b, 1/2a, 1/2c. Alle pathogenen Stämme besitzen ein Hämolyysin. Nichthämolyisierende Stämme sind apathogen (Sinell, 2004). Das Listeriolysin O wird aufgrund der β- Hämolyse diagnostisch genutzt. Die Erkrankung verläuft häufig als Septikämie, seltener als Meningitis oder Meningoencephalitis. Listerien sind Aborterreger. Bei Rindern ist nach dem Deutschen Zoonosen Trendbericht eine Listerien- Prävalenz von 5% nachgewiesen worden (Hartung, 2001). Nach Weber et al. (1996) liegt dieser Wert erheblich höher (33%).

Streichfähige Rohwürste gelten als Risikoprodukte in Bezug auf Kontamination mit *L. monocytogenes*. Hersteller haben sicherzustellen, dass eine Keimzahl von 100 KbE/g bis zum Ablauf des Mindesthaltbarkeitsdatums nicht überschritten wird. Eine völlige Abwesenheit von *L. monocytogenes* in Lebensmitteln zu fordern wäre unrealistisch und nach dem gegenwärtigen Stand der Lebensmittelherstellung nicht machbar (Sinell, 2004).

2.3.3.2 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus (*St. aureus*) ist ein grampositives, kokkoides Bakterium. Die Koagulasereaktion fällt positiv aus. *St. aureus* bildet Gewebstoxine (Leukozidine, Hyaluronidase, Hämolsine, Fibrinolysin) und Enterotoxine (SEA bis SEK). Die Enterotoxine sind die Ursache der Staphylokokken- Lebensmittelvergiftung. Für den Menschen bedenkliche Toxinkonzentrationen entstehen, wenn im Lebensmittel Keimzahlen über $10^6/g$ vorhanden sind. Die Leitsymptome einer *St. aureus* Infektion sind Erbrechen und Durchfall. In schweren Fällen Schockzustände und Dehydratation. Die Inkubationszeit beträgt zwei bis vier Stunden. Die Erkrankung ist meist nach einem Tag überstanden. In Lebensmitteln ist die Übertragung durch den Menschen (Nasensekret, Speichel, Hustenaerosole, Partikel infizierter Wunden) am häufigsten (Sinell, 2004). Eine Tier- Mensch- Ansteckung (Staphylokokken- Mastitis) ist eher selten. Zudem bilden Rinderstaphylokokken selten Enterotoxine. Zur Bildung von Staphylokokken- Enterotoxinen muss eine Vermehrung des Erregers im Lebensmittel stattfinden. Übliche Salz- und Pökelfstoffkonzentrationen können die Toxinbildung nicht verhindern. Jedoch benötigt der Erreger zu Toxinbildung reichlich Sauerstoff. Einen Selektionsvorteil hat *St. aureus* nach einer die Begleitflora abtötenden Behandlung („Post-process“) und bei niedriger Wasseraktivität des Lebensmittels (Minor u. Marth, 1978). Eine Kontamination zu Herstellungsbeginn des Produktes ist unbedeutender, da *St. aureus* sich im Gegensatz zu anderen Mikroorganismen sehr langsam vermehrt und sich nicht so kompetitiv durchsetzen kann wie andere Mikroorganismen. Die kritische Erregerdosis im Lebensmittel kann dann nicht erreicht werden.

2.3.3.3 *Clostridium botulinum*

Clostridium botulinum (*Cl. botulinum*) ist ein sporenbildendes, obligat anaerobes, sulfitreduzierendes, grampositives stäbchenförmiges Bakterium. *Clostridium botulinum* bildet bei seiner Vermehrung das Botulinumtoxin. Aufgrund der Toxinbildung unterscheidet man acht verschiedene Formen des Erregers. Die Intoxikation ist durch ein neuroparalytisches Syndrom charakterisiert, das häufig mit gastrointestinalen Störungen einhergeht und eine hohe Sterblichkeitsrate aufweist. Das Bakterium kann sich in geschlossenen Konserven, oder in großvolumigen Lebensmitteln vermehren (Sauerstoffabschluss). Bei 90 % aller beobachteten Vergiftungen handelt es sich um im Haushalt hergestellte Konserven. Im Gegensatz zu autoklavierten Industrieprodukten reicht die Kochtemperatur beim Einweckprozess nicht aus (Sinell, 2004). Nach Leistner (1986) stellt *Cl. botulinum* in Rohwürsten keine Gefahr da. Sporen von *Cl. botulinum* können durch Staub- und Erdkontamination von Wasser oder Geräten in das Lebensmittel gelangen (Krämer, 1992).

2.3.3.4 *Enterobacteriaceae*

Die Familie der *Enterobacteriaceae* umfasst wichtige Gattungen wie *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Proteus*, *Citrobacter*, *Salmonella*, *Shigella* und *Yersinia*. Die gesamte Familie umfasst mindestens 30 verschiedene Gattungen (Baumgart, 1999; Sinell, 2004).

Enterobacteriaceae sind gramnegative Stäbchenbakterien. Meist sind sie beweglich. *Enterobacteriaceae* bilden keine Sporen aus. Die Oxidasereaktion fällt negativ aus. Ihr Stoffwechsel ist fakultativ anaerob. Sie vergären Glucose und andere Kohlenhydrate unter Säurebildung oder Säure- und Gasbildung. Ferner können sie Nitrat zu Nitrit reduzieren und besitzen das Enzym Katalase. Bei niedrigem pH-Wert können sich *Enterobacteriaceae* nicht mehr vermehren und sind nicht gegenüber hohen und nur bedingt gegenüber niedrigen Temperaturen resistent (s. **Tabelle 2**). Mikroskopisch sind *Enterobacteriaceae* untereinander nicht zu unterscheiden. Zur Klassifizierung dienen biochemische Merkmale. In der Familie der *Enterobacteriaceae* wird

zwischen obligat pathogenen (*Salmonella* und *Shigella*) und fakultativ pathogenen (*Escherichia*, *Enterobacter* u.a.) Gattungen unterschieden (Krämer, 1992).

Diverse Gattungen und Arten der *Enterobacteriaceae* befinden sich im Magen und Darm von Säugetieren. Bei der Schlachtung kann es zur Kontamination durch Darminhalte oder Fell kommen. Als Markerorganismen weisen sie auf unzureichende Betriebshygiene oder Rekontamination hin (Schmid- Lorenz u. Spillmann, 1988; Sinell, 2004). Nach Mossel et al. (1995) sind Markerorganismen Index- und/ oder Indikatororganismen. Indexorganismen weisen auf eine mögliche Anwesenheit pathogener Mikroorganismen hin. Indikatororganismen geben Hinweise auf mögliche Verunreinigungen während des Herstellungsprozesses. Dieses Konzept ist schon seit dem 19. Jahrhundert bekannt und hat den Vorteil, dass von der Anwesenheit einfach nachzuweisender Mikroorganismen auf eine potenzielle Gefährdung durch pathogene Mikroorganismen geschlossen werden kann. Zu Beginn der Reifung sind *Enterobacteriaceae* häufig in der Rohwurst- Rohmasse nachzuweisen. Der Anfangskeimgehalt sollte jedoch nicht höher als $5,0 \cdot 10^4$ KbE/g sein. Innerhalb weniger Stunden bis Tage kommt es im Verlauf einer regulären Reifung zu einem starken Rückgang der *Enterobacteriaceae* (Weber, 1996). Durch *Enterobacteriaceae* kann es bei Fehlern in der Herstellung zu Kernfäulnis und Gasbildung kommen (Hechelmann, 1986). Die im Folgenden beschriebenen Bakterien gehören alle zu der Familie der *Enterobacteriaceae*.

2.3.3.5 Salmonellen

Salmonellen sind 2- 3µm lange, sporenlöse, gramnegative und mit einer Ausnahme (*S. gallinarum-pullorum*) bewegliche peritrich begeißelte Stäbchenbakterien (Rolle u. Mayr, 2002). Die serologische Differenzierung erfolgt über die O-, H- und K- Antigene. Es sind etwa 2500 Serovare bekannt, von denen jedoch nur 10 bis 20 bei der Salmonellose des Menschen vorherrschen und welche immer wieder aus Lebensmitteln isoliert werden. Nach einer Auswertung der Daten aus 191 WHO- Mitgliedstaaten waren 1995 10 Serovare für 93% der näher untersuchten Fälle verantwortlich (Herikstadt et al., 2002). Salmonellen sind außerhalb des Organismus sehr lange lebensfähig. Sie können in Gülle bis zu zehn Monaten überleben (Strauch, 1992). Eine Gefrierlagerung bei - 20°C können sie jahrelang überstehen (Schmidt, 1985). Abgetötet werden Salmonellen durch handelsübliche Desinfektionsmittel und Temperaturen von +55°C über 60 Minuten oder +60°C über 30 Minuten.

Pathogenitätsfaktoren der Salmonellen sind Oberflächenantigene, Endotoxine, Fimbrien, Flagellen, Enterotoxine, Chemotaxis und Serumresistenz. Die Pathogenitätsfaktoren sind fast ausschließlich chromosomal codiert und werden erst bei ihrer Vermehrung im Dünndarmlumen exprimiert (Sinell, 2004). Am Erkrankungsgeschehen des Menschen sind *S. enteritidis* und *S. typhimurium* am häufigsten beteiligt. Tieradaptierte Salmonellen sind eher selten Ursache für eine Erkrankung des Menschen (Schiefer u. Stephan, 1999). Bis auf *S. typhi* sind alle Salmonellen Zoonoseerreger, die Gastroenteritiden auslösen können. Die Inkubationszeit beträgt ca. 3 Wochen. Das Leitsymptom ist wässriger Durchfall. Die Schwere der Erkrankung hängt vom Erregertyp, von der Abwehrlage und vom Alter des Erkrankten ab. Der Nachweis von Salmonellen erfolgt qualitativ nach dem amtlichen Verfahren des §64 Lebensmittel- Bedarfsgegenstände und Futtermittelgesetzes (LFMG).

Die Ansteckung des Menschen mit Salmonellen erfolgt durch Ausscheider, verunreinigte Oberflächengewässer und kontaminierte Nahrungs- und Futtermittel. Häufig sind Infektionen über kontaminierte Lebensmittel wie Fleisch, Fleischprodukte, Hackfleisch, Speiseeis, Salate und Majonäse. Bedeutsamstes Reservoir der Salmonellen ist jedoch nach wie vor das Schlachtgeflügel (Rolle u. Mayr, 2002). Leitsymptome

einer Salmonelleninfektion sind Kopfschmerzen, Unwohlsein, Leibschmerzen, bisweilen mildes Fieber und Durchfall. Die Inkubationszeit beträgt 12 bis 36 Stunden. Das akute Stadium der Krankheit ist meist nach zwei bis fünf Tagen überwunden (Sinell, 2004). Als mögliche Komplikation kann sich das Reiter- Syndrom entwickeln: Urethritis, Konjunktivitis und vor allem aseptische Polyarthrit (Sinell, 2004). Nach Boos (1979) waren durchschnittlich 20% der durch Salmonellen hervorgerufenen Lebensmittelinfektionen durch Rohwürste - insbesondere streichfähige - begründet. In Rohwürsten soll durch Absenken des aw- Wertes unter 0,965, den niedrigen pH-Wert (unter 5,8), NPS und durch die Reifeflora verhindert werden, dass im Endprodukt Salmonellen vorhanden sind.

2.3.3.6 *Escherichia coli*

Escherichia coli (*E. coli*) wurden erstmals 1885 von dem Pädiater Dr. Theodor Escherich aus dem Stuhl von Säuglingen isoliert. Es handelt sich um gramnegative, fakultativ anaerobe, mesophile und nicht sporenbildende Stäbchenbakterien der Familie der *Enterobacteriaceae*. Sie sind 1-1,5 µm breit und 2- 6 µm lang. Als lactosepositive Keime sind sie gut gegenüber anderen Keimen abzugrenzen (Selbitz, 1992). Sie sind meist beweglich. Die meisten Stämme bilden eine Kapsel aus. Innerhalb der Spezies wird durch Oberflächen (O-), Kapsel (K-) und Geißel (H-) – Antigene differenziert. Kauffmann führte diese Differenzierung 1966 ein. Hat ein Bakterium keine Geißel, so kann kein H- Antigen bestimmt werden. Dies wird mit H- oder Hnm bezeichnet. Rechnerisch können sich dabei ca. 10000 Kombinationsmöglichkeiten ergeben. Wenn die F- Antigene der Fimbrien einbezogen werden, erhöht sich diese Zahl weiter. Mukoide Colistämme bilden weiterhin das M- Antigen aus. Das O- Antigen definiert den Serotyp/ Serogruppe, das O- und H- Antigen zusammen ergeben den *E.coli* Serovar. *E. coli* sind in der Normalflora des Colons von Mensch und Tier nachzuweisen. Im Kot von gesunden Meerschweinchen und Chinchillas sind *E. coli* nicht nachzuweisen. In der Regel sind *E. coli* Kommensalen, einige Stämme können aber Erkrankungen beim Menschen hervorrufen. *E. coli* gilt als Indikatorkeim für die fäkale Verschmutzung von Trinkwasser, Lebensmitteln und Badewasser (Bettelheim et al., 1974; Bülte, 2002). Fleisch kann während der Schlachtung durch Darminhalt

und über das Fell kontaminiert werden (Krämer, 1992). Als weit verbreiteter Kontaminationskeim ist *E. coli* besonders bei kurz gereiften, streichfähigen Rohwürsten relevant. Rödel und Scheuer (2001) weisen darauf hin, dass bereits eine Absenkung des a_w - Wertes um 0,01 Einheiten die Belastung des streichfähigen Endproduktes bei mit 10^4 *E. coli* / g beimpften Rohwürsten um eine Zehnerpotenz vermindert. *E.coli* wachsen auf vielen üblichen Nährböden bei Temperaturen zwischen 30°C und 45°C. Auf Agar- Nährböden wachsen sie in grau- weißlichen Kolonien. Der Rand dieser Kolonien ist entweder glatt (S- Form) oder gezackt (R- Form). *E.coli* enthalten eine Glucuronidase, die 4- Methylumbelliferyl- β - D-glucuronid (MUG) spaltet. Die MUG Spaltprodukte fluoreszieren bei einer Wellenlänge von 360-366 nm. Selektive chromogene Nährböden erlauben an Hand der positiven β - Glucuronidase- Reaktion die Differenzierung der *E. coli* Kolonien von anderen laktosepositiven coliformen Bakterien.

2.3.3.7 Pathogene *E. coli*

Die meisten *E. coli* sind apathogen. Einige Varianten bilden jedoch pathogene Eigenschaften aus:

- Enterohämorrhagische *E. coli* (EHEC)
- Enteropathogene *E. coli* (EPEC)
- Enterotoxische *E. coli* (ETEC)
- Enteroinvasive *E. coli* (EIEC)
- Enteroaggregative *E. coli* (EA_gEC oder EAEC)
- Diffus adärente *E. coli* (DAEC)

Enterohämorrhagische *E. coli* (EHEC) werden unter 2.4 gesondert abgehandelt.

Enteropathogene *E. coli* (EPEC) verursachen Diarrhöen bei Säuglingen und Kleinkindern. Leitsymptom der Erkrankung ist ein starker fieberhafter Durchfall ohne Blutbeimengungen, der nach 17 bis 72 Stunden Inkubationszeit einsetzt. Die Bakterien heften sich an die Enterozyten und zerstören die Mikrovilli. Sie dringen nicht in die Enterozyten ein. Virulenzeigenschaften sind Adhäsion und die Bildung von Zytotoxinen (Nothdurft, 2004).

Im Zuge einer Infektion mit **enterotoxischen *E. coli* (ETEC)** kommt es nach Befall des vorderen Dünndarms zu choleraartigen Durchfällen (wässrig, kombiniert mit Übelkeit, Bauchkrämpfen und geringer Erhöhung der Körpertemperatur). Virulenzfaktoren sind Adhäsine und Enterotoxine. Die Enterotoxine sind entweder hitze~~l~~abil (LT) oder hitze~~s~~tabil (ST). Die Adhäsine sind meist, die Enterotoxine immer plasmidkodiert (Levine, 1987). Die Wirkungsweise des LT entspricht der des Cholera-toxins (Smith u. Sack, 1973).

Bei einer Infektion mit **enteroinvasiven *E.coli* (EIEC)** kommt es zu einer Invasion in die Schleimhaut von Ileum, Caecum und Colon. Das schwere Krankheitsbild ist von Durchfall mit blutig- schleimigen Beimengungen, Fieber und Intoxikationserscheinungen geprägt (Hoelscher u. Löscher, 2003).

Enteroaggregative *E. coli* (EAggEC oder EAEC) bilden Fimbrien aus.

Sie kolonisieren den Dickdarm. Zudem erfolgt die Bildung eines Zytotoxins, welches dem ST- Toxin der ETEC ähnelt. Das Erkrankungsbild ähnelt dem von EPEC. **Diffus adärente *E.coli* (DAEC)** sind von untergeordneter Bedeutung. Sie besiedeln den Dickdarm.

2.3.2.8 Shigatoxin- bildende *E. coli* (STEC)

Mikrobiologische Eigenschaften

Unter 2.3.3.6 sind die mikrobiologischen Eigenschaften von *E. coli* beschrieben. Diese gelten auch für STEC. STEC können jedoch kein MUG spalten, so dass sie im fluoreszenzoptischen Koloniezählverfahren nicht erfasst werden. STEC sind mesophile Keime. Ihre Optimaltemperatur ist +37°C. Ein Wachstum ist bis +44,5°C möglich. Ein gutes Wachstum ist bereits mit einem organischen Substrat (als Kohlenstoff- und Energiequelle) möglich. Unter optimalen Bedingungen (Temperatur, komplexes Medium) verdoppelt sich die Bakterienzahl alle 20 Minuten. STEC sollten im Gegensatz zu 95% der physiologischen *E. coli* nicht in der Lage sein, Sorbit zu verstoffwechseln. Es wurden jedoch aus dem Stuhl von HUS- Patienten STEC isoliert, bei denen die Fermentation von Sorbit nachgewiesen wurde (Karch et al., 1993; Karch et al., 1996). Der Nachweis des Sorbit fermentierenden Serovars 0157:H- wurde weltweit erstmals 1988 in Bayern geführt.

Pathogenitätsfaktoren

STEC besitzen mehrere Pathogenitäts bzw- Virulenzfaktoren (Karch et al., 1992). Als wichtigste Virulenzfaktoren gelten die Vero- oder Shigatoxinbildung, die Intiminbildung und die Bildung von Enterohämolysin (KARCH et al., 1997).

Die **Verotoxine** wurden erstmals von Konowalchuk et al. (1977) beschrieben. Verotoxine lösen in Verozellen (Nierenzellen der grünen afrikanischen Meerkatze *Cercopithecus aethiops*) charakteristische cytopathomorphologische Effekte aus.

Das Verotoxin wurde später auch als **Shigatoxin** (*stx*) bezeichnet, da Shigatoxin I mit dem Toxin von *Shigella dysenteriae* identisch ist (Heißenhuber et al., 2005). Als

EHEC im engeren Sinne versteht man STEC, die beim Menschen Erkrankungen auslösen. Gemäß der amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach

§64 LFBG sollen alle STEC aus Sicherheitsgründen als potenzielle EHEC bezeichnet werden, da gegenwärtig noch nicht bekannt ist, welche Eigenschaften einen

STEC zum EHEC machen. Verotoxine/Shigatoxine bestehen aus einer A- Untereinheit und 5 B-Untereinheiten, die über eine A2- Untereinheit miteinander verbunden

sind. Das Gesamtgewicht beträgt ca. 70 Kilodalton (kDa). Die B- Untereinheiten bewirken die Bindung an die Zielzellen, die A- Untereinheit besitzt die eigentliche Wirkkomponente (O'Brien und La Veck, 1983; Karmali, 1989). Sie spaltet die

28s- rRNA der Zielzelle, wodurch die Proteinbiosynthese gehemmt wird (Lingwood et al., 1987). Die beiden Haupttypen der Shigatoxine sind das *stx1* und das *stx2*. Eine

porcine Variante des Shigatoxins 2e löst die Ödemkrankheit bei Schweinen aus (Weinstein et al., 1988). Bei schwerwiegenden Erkrankungen des Menschen werden

vorwiegend Stämme nachgewiesen, die das *stx2* bilden (Bülte, 2002).

Das *E. coli* attaching and effacing (*eae*)-Gen kodiert ein Adhäsion, das **Intimin**. Dieser Virulenzfaktor bewirkt eine starke Bindung des Bakteriums an die Mukosazellen des Darmes, wobei der Bürstensaum der Zellen irreversibel geschädigt wird (Bülte, 2002).

Wie das Shigatoxin- Gen befindet sich auch das *eae*- Gen auf dem Chromosom des Bakteriums. Das *eae*- Gen ist ein Teil des Locus of Enterocyte Effacement

(LEE), auf dem noch andere Pathogenitätsfaktoren codiert sind. Bockemühl et al. (1998) wiesen das Intimin determinierende *eae*- Gen bei 95,7% aller HUS- Fälle

nach. Bei Isolaten von an Enteritis erkrankten Personen wurde es nur in 65,5% der

Fälle nachgewiesen Von dem *eae*- Gen sind zur Zeit 15 genetische Varianten bekannt (Oswald et al., 2000; Blanco et al., 2004).

Das **Enterohämolysin** wird von dem Hämolysin *hly*- Gen (*E-hly*) kodiert, welches sich auf dem Plasmid pO157 befindet. Wie auch von anderen Pathogenitätsfaktoren ist auch die Bedeutung des Enterohämolysins noch nicht abschließend geklärt. Es ist aber bei hochvirulenten Stämmen deutlich häufiger als bei der überwiegenden Anzahl anderer STEC- Stämme anzutreffen (Gallien et. al., 1998).

Serotypen/ Serovare

Der Serotyp O157 stellt nach Bockemühl et al. (1998) den größten Anteil unter den STEC. Non- O157 Serotypen stellen weltweit einen steigenden Anteil. In den USA stellt der Serovar O157:H7 noch immer den zahlenmäßig bedeutendsten Anteil aller Isolate aus HUS- Patienten (Peacock et al., 2001). In Europa übersteigen andere Serovare (O26, O103, O111, O118 und O145) in der Summe den Serovar O157 deutlich. Besonders die Serovare O26 und O103 gewinnen immer größere Bedeutung (Misselwitz et al, 2003; Beutin et al, 2004). 2005 wurde in der Bundesrepublik Deutschland erstmals der Serotyp O103 am häufigsten nachgewiesen (RKI, 2006,1; RKI 2006,2). Bülte (2002) gibt zu bedenken, dass die non- O157 STEC aufgrund der einseitig auf den Serotyp O157 ausgerichteten Diagnostik unterschätzt werden.

Nachweis von STEC bei Tieren

In Ländern mit hochentwickelter Landwirtschaft stellen STEC die wichtigste *E. coli* Pathovare dar (Tschäpe, 1998). Wiederkäuer, insbesondere Rinder sind das Hauptreservoir für STEC (Olsen et.al. 1995; Tschäpe 1998; Bülte, 2002).

In **Tabelle 11** sind die Häufigkeiten des Nachweises von STEC aus Kotproben von Rindern in der Bundesrepublik Deutschland dargestellt. **Tabelle 12** gibt über gleiches bei anderen Haussäugetieren Auskunft. Die unterschiedliche Anzahl positiver Kotproben kann in unterschiedlicher Haltungsform, unterschiedlicher Stallhygiene und im unterschiedlichen regionalen Vorkommen von STEC begründet sein.

Tab. 11: Nachweis von STEC in Kotproben von Rindern in der Bundesrepublik Deutschland

Tiere	Anzahl STEC (%)	Referenz
Mastbullen	9,4	Montenegro et. al (1990)
Milchkühe	17	Montenegro et. al (1990)
Rinder	21,1	Beutin et. al. (1993)
Rinder	5	Gallien et. al. (1994)
Schlachtrinder	47,6	Richter et. al. (1997)
Rinder	18	Zschöck et.al.(2000)
Rinderherden	50	Zschöck et.al.(2000)
Rinder	29- 82	Geue et. al. (2002)
Rinder	12,24	Hartung (2003)
Milchrinder	9,5	Hartung (2003)

Tab. 12: Nachweis von STEC in Kotproben bei anderen Tieren in Deutschland

Tier	STEC (%)	Referenz
Schweine	5,6	Bülte et. al. (1990)
Schafe	80	Beutin et. al. (1993)
Hunde	4,8	Beutin et. al. (1993)
Katzen	13,8	Beutin et. al. (1993)
Ziegen	56,1	Beutin et. al. (1993)
Schweine	7,5	Beutin et. al. (1993)
Schweine	32,3	Gallien et. al. (1994)
Schafe	3	Gallien et. al. (1994)
Schafe	32,1	Zschöck et. al. (2000)

Beim Rind ist im Gegensatz zu Schaf und Ziege der *stx2*- Subtyp dominierend. Er tritt alleine oder in Verbindung mit *stx1* auf. STEC- Infektionen verlaufen beim Wiederkäuer meist inapparent (Olsen et al. 1995; Tschäpe, 1998). Lediglich in Infekti-

onsversuchen konnte man bei Kälbern durch *E.coli* O157:H7 wässrig- blutigen Durchfall provozieren (Dean- Nystrom et al.; 1998).

2.4 Nachweismethoden von STEC

Im Folgenden werden Nachweismethoden für den Lebensmittelbereich beschrieben. Grundsätzlich kann zwischen phäno- und genotypischen Nachweismethoden unterschieden werden.

2.4.1 phänotypische Nachweisverfahren

Zu den phänotypischen Nachweisverfahren gehören Verfahren wie der **Sorbitol-Mac- Conkey- Agar** (SMAC), **der Enterohämolysin- Agar** sowie die **immuno-magnetische Separation**.

EHEC, vor allem O157:H7 kann kein Sorbit verstoffwechseln. Jedoch wiesen Karch et al. (1996) eine Sorbitfermentation bei *E. coli* O157 Stämmen nach, die aus dem Stuhl von HUS- Patienten isoliert wurden. Hier würde es bei Anwendung des SMAC zu falsch negativen Ergebnissen kommen. Falsche Ergebnisse können auch bei Verwendung des Enterohämolysin- Agars auftreten, da 75% der VTEC- Stämme trotz Vorhandensein des codierenden Genes kein Enterohämolysin bilden (Beutin et al.; 1996; Gallien et al., 2000).

Im **Verozelltest** kommt es bei der Inkubation von Verotoxin zu typischen cytopathomorphologischen Effekten der Verozellen. Diese müssen durch einen Neutralisationstest mit spezifischen Antikörpern bestätigt werden. Der Verozelltest verfügt über eine hohe Sensitivität und Spezifität. Jedoch dauert es durch den Neutralisationstest bis zu 6 Tage bis zur Vorlage eines gesicherten Ergebnisses (Konowalchuk et al., 1977; Ritchie et al., 1992).

2.4.2 Polymerasekettenreaktion (PCR)

Durch die Polymerasekettenreaktion (**PCR**) kann man eine gesuchte DNA- Sequenz amplifizieren. Voraussetzung ist die Kenntnis der Zusammensetzung der flankierenden Sequenzen des gesuchten DNA- Abschnittes. Diese In- Vitro- Methode entspricht im Wesentlichen der Replikation in der Zelle. Die PCR wird angewandt, um einen spezifischen DNA- Abschnitt zu vervielfältigen oder um die Anwesenheit einer bekannten DNA- Sequenz nachzuweisen. Der Nachweis von RNA ist durch Reverse-Transkriptase-PCR möglich. Durch die PCR können definierte DNA – Abschnitte binnen kurzer Zeit millionenfach vermehrt werden (Schwägele, 1999).

Folgende Komponenten werden benötigt:

- die DNA- Matrize
- eine hitzestabile DNA- Polymerase
- Desoxynucleotide
- zwei Oligonucleotid Primer
- ein Puffersystem, um die Verhältnisse in der Zelle nachzuahmen und damit für die Polymerase eine geeignete chemische Umgebung darzustellen
- Magnesiumchlorid ($MgCl_2$) kann fakultativ hinzugefügt werden

Ein PCR- Zyklus besteht aus drei Einzelschritten:

1. **Denaturierung** : Durch kurzes Erhitzen werden die beiden Stränge des DNA- Moleküls getrennt. Das geschieht durch Brechen der Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Einzelsträngen. Die Temperatur beträgt über $90^{\circ}C$.

2. **Hybridisierung, Annealing**: Die Lösung wird abgekühlt. Damit können die Primer mit jeweils einem DNA- Strang hybridisieren. Die Primer werden in großem Überschuss zugegeben. Damit kommt es praktisch zu keiner Rückbildung der anfangs eingesetzten DNA- Doppelstränge. In Abhängigkeit von der Länge und Zusammensetzung des Primers beträgt hier die Temperatur 37 bis $72^{\circ}C$.

3. **DNA- Synthese, Polymerisation, Elongation**: Die angelagerten Primer ermöglichen es der Polymerase den markierten Genabschnitt zu verlängern. Die Polymerisation beginnt am 3`-Ende des DNA- Stranges.

Diese drei Schritte können mehrmals hintereinander ablaufen, es wird im Thermocycler einfach die Temperatur der Reaktionsmischung geändert. Dadurch wird eine exponentielle Vermehrung der gesuchten DNA- Sequenz erreicht. Üblicherweise werden 25 bis 35 Zyklen angewendet. Ein Thermocycler ermöglicht einen automatisierten Ablauf der Einzelschritte (Olsen et al., 1995, Stryer, 1996, Schwägele, 1999). Die darzustellenden Gene werden durch Agargelelektrophorese getrennt und mit Ethidiumbromid gefärbt.

Bei der **Real- Time- PCR** können die Ergebnisse bereits während des PCR- Laufes abgelesen werden. Die Real- Time -PCR ermöglicht zudem die Quantifizierung der Ergebnisse durch Verwendung von Fluoreszenzfarbstoffen. Die Fluoreszenz nimmt proportional mit der Menge der PCR-Produkte zu. Die einfachste Methode der Real- Time- PCR ist die Verwendung von Fluoreszenzfarbstoffen wie SYBR- Green. Diese lagern sich in die DNA ein (interkalieren), womit die Fluoreszenz der Farbstoffe ansteigt. Damit besteht eine Korrelation zwischen der während des PCR Laufes entstehenden Target DNA und der Fluoreszenz. Fluoreszenzfarbstoffe reagieren jedoch nicht spezifisch auf die gesuchten DNA- Sequenzen. Es können auch Primer- Dime- re fluoreszieren. Jedoch kann durch eine Schmelzkurvenanalyse die Spezifität erhöht werden. Bei einer Schmelzkurvenanalyse wird die DNA aufgeschmolzen und dann die Temperatur erniedrigt (oder umgekehrt). Bei einer für jede Sequenz typischen Temperatur bildet sich wieder ein Doppelstrang, womit die Fluoreszenz ansteigt. Kleine DNA- Fragmente weisen einen niedrigeren Schmelzpunkt auf als die längeren spezifischen Sequenzen (Messelhäuser, 2005).

Eine andere Variante der Real-Time- PCR besteht in der Verwendung von fluoreszenzmarkierten Sonden. Bei der Verwendung von fluorescence- resonance energy- transfer (FRET) wird die Energie eines angeregten Fluoreszenzfarbstoffs am 5'- Ende (Donor- Fluorophor) strahlungsfrei auf einen zweiten Fluoreszenzfarbstoff am 3'- Ende (Akzeptor- Fluorophor) übertragen. Der FRET ist nur möglich, wenn Donor und Akzeptor in einem bestimmten Abstand voneinander liegen. FRET Sonden sind beispielsweise Light- Cycler[®]-Sonden, Molecular Beacons oder TaqMan[®]-Sonden (Bel- lin et al., 2001; Ginzinger, 2002).

3. MATERIAL UND METHODEN

3.1 Material

3.1.1 Entnahme von Proben

Stallboden

Bei der Probennahme vom Stallboden wurden in Betrieb 2 am 6. und 12. April 2006 über die Gummistiefel Überziehschuhe angezogen. Der Stall wurde dann mehrmals begangen. Die anhaftenden Kot- und Strohpartikel wurden in 225 ml modifizierte Tryptose- Soja- Bouillon (mTSB) verbracht, bei +37°C im Wasserbad inkubiert und am folgenden Tag mittels Real- Time- PCR auf STEC untersucht.

Tonsillen

Schweinetonsillen wurden aus Betrieb 2 am 6. April 2006 entnommen. Rindertonsillen am 12. April 2006 aus Betrieb 2. Die Tonsillen wurden nach der Schlachtung mit einem sauberen Messer entfernt. Am selben Tag wurden sie in mTSB verbracht, bei +37°C im Wasserbad inkubiert und am folgenden Tag mittels Real- Time- PCR auf STEC untersucht.

Kotproben

Die Kotproben wurden aus Betrieb 2 am 6. und am 12. April entnommen. Die Kotproben wurden, nachdem das Darmkonvolut entfernt wurde, mit einem Untersuchungshandschuh aus dem Darm entnommen. Die Proben wurden am selben Tag in mTSB verbracht, bei +37°C inkubiert und am folgenden Tag mittels Real- Time- PCR auf STEC untersucht.

Tupferproben Rind

Die Probennahme erfolgte am Schlachttag der Rinder in Betrieb 1 und Betrieb 2. Die Rinderhäften wurden mittels eines befeuchteten Tupfer beprobt. Die Tupfer wurden sofort in mTSB verbracht und bis zur Untersuchung gekühlt gehalten. Die Tupferpro-

ben des zerlegten Rindfleisches für die Rohwurstproduktion wurden an dem der Zerlegung folgendem Tag genommen, sofort in mTSB verbracht und gekühlt gelagert. Später wurden sie bei +37°C inkubiert. Die Proben aus Betrieb 1 wurden am folgenden Tag mittels PCR auf STEC untersucht. Die Proben aus Betrieb 2 wurden mit Real- Time- PCR auf STEC untersucht. Die Proben aus Betrieb 1 wurden teilweise gepoolt.

Brühwasser

Die Proben wurden aus dem Brühtank entnommen und gekühlt transportiert. 25 ml der Probe wurde in 225 ml mTSB verbracht, bei +37°C inkubiert und am folgenden Tag mittels Real- Time- PCR auf STEC untersucht.

Tupferproben Schwein

Die Tupferproben wurden am 6. April 2006 in Betrieb 2 genommen. Die Beprobung erfolgte direkt nach der Schlachtung. Die Probennahme mit dem Tupfer erfolgte caudal an der Schlachtkörperhälfte innen und außen. Die Tupferproben wurden am selben Tag in mTSB verbracht, bei +37°C inkubiert und am folgenden Tag mittels Real- Time- PCR auf STEC untersucht.

Rohwurstproben

Die Probennahme aus Betrieb 1 erfolgte zwischen Juni 2005 bis August 2005 sowie von Oktober 2005 bis März 2006. Die Proben aus Betrieb 2 wurden am 6. April 2006 sowie am 12. April 2006 entnommen. Die Proben wurden gegen Mittag aus dem jeweiligen Betrieb abgeholt und gekühlt bei ca. +7°C aufbewahrt. Danach wurden sie gekühlt transportiert. Am Abend desselben Tages wurde im Institut für Hygiene und Technologie der Lebensmittel tierischen Ursprungs mit der Untersuchung auf *E. coli*, Milchsäurebakterien, Laktobazillen, *Enterobacteriaceae* und STEC begonnen. Zudem wurden der pH- und der a_w - Wert gemessen.

3.1.2 Probenmaterial

Von beiden Betrieben wurden insgesamt 431 Proben untersucht. 323 Proben stammten von Betrieb 1 und 108 Proben von Betrieb 2. Betrieb 1 stellt Rohwürste im konventionellen Verfahren sowie Bio- Rohwürste her. Betrieb 2 stellt Bio- Würste her.

Die Rohwurstproben stammen von Rohwürsten am ersten Tag der Reifung und von fertigen Rohwürsten. Bei langgereiften Rohwürsten wurden - wenn möglich - auch Proben am siebten Tag der Reifung genommen. **Tabelle 13** gibt Auskunft über die Herkunft, Anzahl und Art der untersuchten Proben.

Tab. 13: Betrieb, Probenmaterial und Anzahl

Betrieb	Probenmaterial	Anzahl
1	Schlachtkörper Bio	65
1	Zerlegung Bio	40
1	Schlachtkörper	32
1	Zerlegung	23
1	Rohwürste langgereift Bio	61
1	Rohwürste langgereift konventionell	41
1	Rohwürste kurzgereift Bio	40
1	Rohwürste kurzgereift	22
2	Kotproben Schwein	15
2	Tonsillen Schwein	12
2	Tupfer außen Schwein	12
2	Tupfer innen Schwein	12
2	Brühwasser Schweineschlachtung	4
2	Stallboden Schweineschlachtung	1
2	Kotproben Rind	6
2	Tupfer Kopf Rind	6
2	Tupfer caudal Rind	6
2	Tonsillen Rind	6
2	Stallboden Rinderschlachtung	1
2	Rohwurst kurzgereift	10
2	Rohwurst langgereift	14
2	Rohwurst streichfähig	3

Wie schon erwähnt wurden die Rohwürste in verschiedenen Reifestadien untersucht. **Tabelle 14** gibt Art, Reifestadium und Anzahl der Rohwurstproben aus Betrieb 1 an.

Tab. 14: Rohwurstproben aus Betrieb 1, Reifestadium und Anzahl

Art	Reifestadium	Anzahl
Rohwurst Bio langgereift	Tag1 der Reifung	31
Rohwurst Bio langgereift	Tag7 der Reifung	16
Rohwurst Bio langgereift	Endprodukt	14
Rohwurst konventionell langgereift	Tag1 der Reifung	15
Rohwurst konventionell langgereift	Tag7 der Reifung	13
Rohwurst konventionell langgereift	Endprodukt	13
Rohwurst Bio kurzgereift	Tag1 der Reifung	22
Rohwurst Bio kurzgereift	Endprodukt	18
Rohwurst konventionell kurzgereift	Tag1 der Reifung	12
Rohwurst konventionell kurzgereift	Endprodukt	10

Tabelle 15 gibt Art, Reifestadium und Anzahl der Rohwurstproben aus Betrieb 2 an.

Tab. 15: Rohwurstproben aus Betrieb 2, Reifestadium und Anzahl

Art	Reifestadium	Anzahl
Rohwurst Bio langgereift	Tag1 der Reifung	9
Rohwurst Bio langgereift	Endprodukt	5
Rohwurst Bio kurzgereift	Tag1 der Reifung	7
Rohwurst Bio kurzgereift	Endprodukt	3
Rohwurst Bio streichfähig	Tag1 der Reifung	1
Rohwurst Bio streichfähig	Endprodukt	2

Von Betrieb 1 wurden Rindersalami, Bio- Rindersalami, Bio- Big- Salami, Bistrosalami, Kantsalami, Haussalami, Bio- Feuerbeißer, Feuerbeißer, Bio- Salamini, Cacciatore, Bio- Cacciatore, Bio- Pfefferbeißer und Pfefferbeißer untersucht.

Von Betrieb 2 wurden Mettwurst, Hinterbeißer, Schinkenmettwurst, Pfefferbeißer, Rohpolnische, Polnische, Haussalami, Pfeffersalami, Salami- Milano, Rinderrauchsalami, Cervelatwurst und Sommerwurst untersucht.

3.2. Methoden

3.2.1 Wasseraktivität

Die Messung der Wasseraktivität erfolgte mit dem Roremeter RM- 10 (Fa. Nagy).

In die Messkammer des Gerätes wurde eine Messdose mit der Probe eingelegt.

Durch Tastendruck wurde die Messung gestartet und der a_w - Wert automatisch mit dem Tauspiegel- Verfahren bestimmt.

3.2.2 pH- Wert

Die pH- Wert- Messung erfolgte nach §64 LFBG Methode L.06.00-2.

Die Messung des pH- Wertes wurde durch ein pH-Meter (pH535, Fa. WTW) mit der elektrometrischen Methode durchgeführt. Das pH-Meter wurde vor den Messungen kalibriert und zwischen den Messungen mit Diethylether und Ethanol gereinigt und mit Aqua dest. abgespült.

3.2.3 Milchsäurebakterien/ Laktobazillen

Die Bestimmung der Milchsäurebakterien/ Laktobazillen erfolgte in Anlehnung an die Methoden L. 06.00-35 und L. 06.00-31 der amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach §64 LFBG.

Aerob wachsende Milchsäurebakterien wurden mit dem de Man- Rogosa- Sharpe-Medium (MRS) nachgewiesen. Der Nährboden wurde auf einen pH- Wert von 5,7 eingestellt. Anaerobe Laktobazillen wurden ebenfalls mit dem MRS- Medium nachgewiesen. Hier wurde der pH- Wert aber auf 5,0 eingestellt. Eine Erstverdünnung wurde mit 10g der Probe und 90ml Peptonwasser nach ISO 6579 für die Mikrobiologie hergestellt und im Stomacher bearbeitet. Auf eine Spatelplatte wurde 1ml der Erstverdünnung getropft und verteilt. Eine zweite Spatelplatte wurde durch den Spiralplater mit einer log 50 Verdünnung beimpft.

Der MRS – Agar mit dem pH- Wert 5,7 zum Nachweis der Milchsäurebakterien wurde aerob 72 Stunden bei +37°C bebrütet. Der MRS – Agar mit dem pH- Wert 5,0 zum Nachweis von Laktobazillen wurde anaerob 72 Stunden bei +30°C bebrütet. Nach der Bebrütung wurden weiße bis grauweiße, flache oder erhabene, glatte oder raue Kolonien als Milchsäurebakterien/Laktobazillen bewertet und ausgezählt. Die Kolonien der mit dem Spiralplater beimpften Platten wurden dabei mit einer speziellen Schablone abgelesen und die Ergebnisse aus entsprechenden Tabellen ermittelt. Aus beiden Ergebnissen wurde das arithmetische Mittel bestimmt und mit dem Faktor 10 multipliziert.

3.2.3 *E.coli*

Die Bestimmung der *E. coli* erfolgte in Anlehnung an die Methode L. 06.00-36 der amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach §64 LFBG.

E. coli wurden mit dem fluoreszenzoptischen Koloniezählverfahren nachgewiesen.

Zum Nachweis von *E.coli* wurden 10 g der zerkleinerten Probe mit 90 ml Peptonwasser nach ISO 6579 für die Mikrobiologie im Stomacher bearbeitet. 1 ml der Probenlösung wurde auf *Escherichia coli* Direkt Medium (ECD) übertragen und 18 Stunden (h) bei 42°C bebrütet. ECD- Medium enthält MUG. Unter ultraviolettem Licht (Wellenlänge 366 nm) wurden die blau fluoreszierenden Kolonien ausgezählt und das Ergebnis mit dem Faktor 10 multipliziert.

3.2.4 *Enterobacteriaceae*

Die Bestimmung der *E. coli* erfolgte in Anlehnung an die Methode L. 06.00-25 der amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach §64 LFBG.

Enterobacteriaceae wurden mit dem VRBG (Kristallviolett- Neutralrot- Galle- Glucose- Agar) nachgewiesen. Kristallviolett und Galle sind hierbei Hemmstoffe für grampositive Mikroorganismen. Neutralrot ist ein Indikator und Glucose dient dem Wachstum der *Enterobacteriaceae*. Eine Erstverdünnung wurde mit 10g der Probe und 90ml Peptonwasser nach ISO 6579 für die Mikrobiologie hergestellt und im Stomacher bearbeitet. Auf eine Spatelplatte wurde 1ml der Erstverdünnung getropft. Eine zweite Platte wurde mit dem Spiralplater in einer log 50 Verdünnung beimpft. Die VRBG- Platten wurden 24h bei 30°C bebrütet. Auf dem VRBG- Agar stellen sich *Enterobacteriaceae* als rot- lilafarbene Kolonien dar. Diese wurden ausgezählt. Die Kolonien der mit dem Spiralplater beimpften Platten wurden dabei mit einer speziellen Schablone abgelesen und die Ergebnisse aus entsprechenden Tabellen ermittelt. Aus beiden Ergebnissen wurde das arithmetische Mittel bestimmt und mit dem Faktor 10 multipliziert.

3.2.5 Polymerasekettenreaktion (PCR)

Die PCR wurde nach der Methode L. 07.18 der amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach §64 LFGB durchgeführt.

Jeweils 25g der Rohwurstproben wurden in 225 ml mTSB verbracht und 24 Stunden bei +37°C im Inkubationsschüttler inkubiert. Die Tupfer, die Kotproben und die Tonsillen wurden in 225 ml mTSB verbracht und wie die Rohwurstproben inkubiert. Diese Voranreicherung soll den Anteil lebender STEC exponentiell erhöhen. Aus dieser Bouillon wurden nach der Voranreicherung 100µl entnommen und eine Minute bei 13000 Umdrehungen/ min zentrifugiert. Der flüssige Überstand wurde verworfen und das verbleibende Pellet wurde mit 50µl InstaGene Matrix (BioRad, USA) resuspendiert. Dieser Ansatz wurde im Schüttelmixer mit einer Schüttelfrequenz von 300 min⁻¹ 15 min bei 56°C und dann 8 Minuten bei 100°C geschüttelt. Der flüssige Überstand wurde in ein neues Reaktionsgefäß überführt. Sodann wurden 3µl der Probe in den MasterMix mit folgender Zusammensetzung überführt:

- 9 µl H₂O für molekularbiologische Zwecke
- 12,5 µl MasterMix (2,5x)
- 0,5 µl Primer KS7 und KS8 oder LP43 und LP44

Insgesamt wurden jeweils 25 µl zur PCR eingesetzt und in den Thermocycler verbracht (Sequenzen und Zeit- Temperatur- Protokoll s. 8.1.4). Es wurden je Probe zwei Ansätze mit den jeweiligen Primern hergestellt.

Das zur Gelelektrophorese benötigte Agarosegel hatte folgende Zusammensetzung:

- 1,0 ml Agarose
- 5,0 ml 10x Tris BoricAcid EDTA (TBE)
- ad 100 ml Aqua destillata

Der Laufpuffer setzte sich wie folgt zusammen:

- 90 ml 10x Tris Boric Acid EDTA (TBE)
- ad 1710 ml Aqua destillata

Die folgende 40 minütige Gelelektrophorese wurde mit den Proben, zwei Positivkontrollen (*stx1* und *stx2*) und einer Negativkontrolle durchgeführt.

Die Färbung des Gels erfolgte in einer mit 0,5 µl/ml konzentrierten Ethidiumbromidlösung. Anschließend wurde das Ergebnis auf einem Geldokumentationssystem mittels angeschlossenen PC betrachtet.

3.2.6 Real- Time- PCR

Die Real- Time- PCR wurde mit dem iCycler iQ (BioRad) durchgeführt. Mittels eines angeschlossenen PCs und der darauf installierten iCycler iQ Real Time Detection Software konnte man die Ergebnisse auswerten. Der MasterMix wurde wie folgt zusammengestellt:

- 7,6 µl H₂O für molekularbiologische Zwecke
- 2,4 µl MgCl₂ – Lösung (25 mmol/l)
- 1,0 µl Primer (Sequenzen s. 8.1.5)
- 1,0 µl Sonde (Sequenzen s. 8.1.5)
- 2,0 µl LC- Fast Start DNA MasterMix

8 µl des MasterMixes und 2 µl der wie unter 3.2.5 vorbehandelten Probe wurden in ein PCR- Gefäß pipettiert und in den iCycler iQ verbracht (Amplifikationsprotokoll s. 8.1.5).

4. ERGEBNISSE

4.1 Ergebnisse aus Betrieb 1

Betrieb 1 ist ein zugelassener fleischverarbeitender Betrieb, der konventionelle und Bio- Produkte herstellt. Die konventionellen Produkte werden über 10 Filialen in einem Umkreis von ca. 50 km, die Öko- Produkte werden bundesweit und auch in angrenzenden Nachbarländern vermarktet.

4.1.1 Wasseraktivität

Der a_w - Wert wurde bei 63 Proben gemessen. Es wurden 33 Würste am ersten Tag der Reifung, 14 Würste am siebten Tag der Reifung und 16 der Endprodukte untersucht. **Abbildung 3** verdeutlicht, dass die Wasseraktivität im gesamten Reifeverlauf stetig geringer wird.

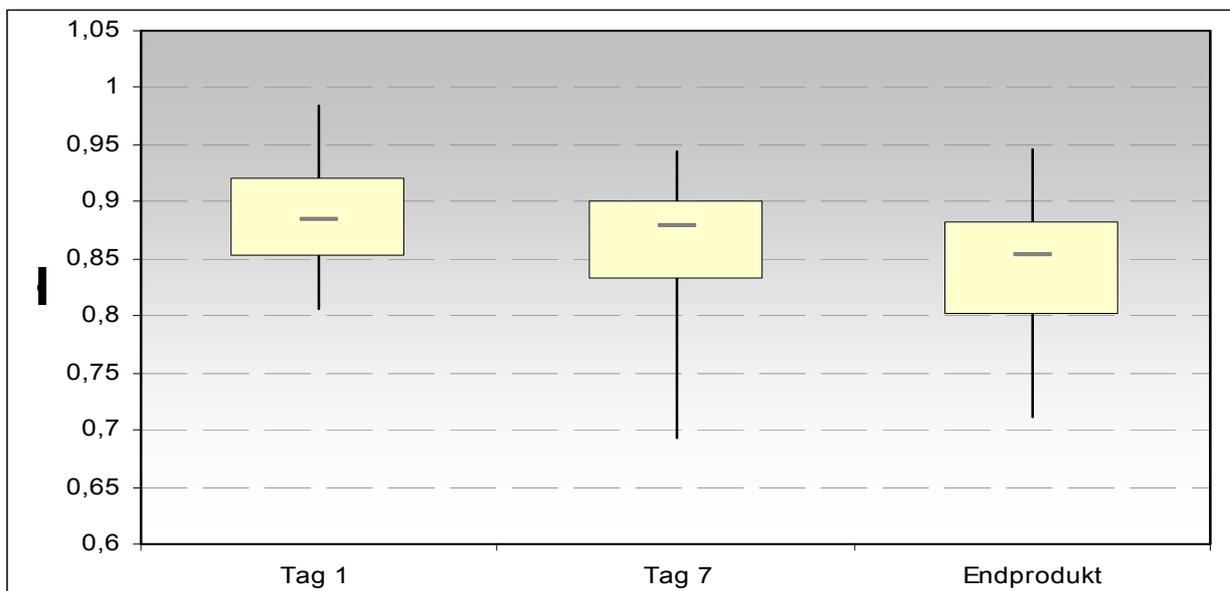


Abb. 3: Wasseraktivität der untersuchten Rohwürste in Abhängigkeit vom Reifestadium (Whisker- Box-Plot mit Darstellung von Median, Quartilen, Minimum und Maximum)

Die konventionellen Endprodukte wiesen im Durchschnitt eine niedrigere Wasseraktivität wie die Bio-Produkte auf. Bei den langgereiften fertigen Bio-Produkten wurde ein durchschnittlicher a_w -Wert von 0,833 gemessen, bei den konventionellen Produkten betrug dieser Wert 0,826.

4.1.2 pH- Wert

Bei insgesamt 137 Proben aller Reifungsstadien wurde der pH- Wert gemessen.

Tabelle 16 zeigt die Anzahl der jeweils gemessenen Proben. Wie bei den anderen gemessenen Werten fällt auch hier auf, dass erheblich mehr Proben aus der Bio-Produktion entnommen werden konnten. Der Grund dafür ist, dass in diesem Betrieb erheblich mehr Bio-Produkte hergestellt werden.

Tab. 16: Anzahl und Reifestadium der Proben, bei denen der pH- Wert gemessen wurde

Art	Reifestadium	Anzahl
Rohwurst Bio langgereift	Tag1 der Reifung	27
Rohwurst Bio langgereift	Tag7 der Reifung	20
Rohwurst Bio langgereift	Endprodukt	11
Rohwurst konventionell langgereift	Tag1 der Reifung	9
Rohwurst konventionell langgereift	Tag7 der Reifung	10
Rohwurst konventionell langgereift	Endprodukt	5
Rohwurst Bio kurzgereift	Tag1 der Reifung	22
Rohwurst Bio kurzgereift	Endprodukt	12
Rohwurst konventionell kurzgereift	Tag1 der Reifung	10
Rohwurst konventionell kurzgereift	Endprodukt	11

Abbildung 4 zeigt die Verteilung der pH- Werte der langgereiften Rohwürste als Whisker Box- Plot. Hier ist auffällig, dass der pH- Wert im Reifeverlauf erst sinkt, dann wieder ansteigt, jedoch das Niveau des ersten Reifetages nicht wieder erreicht. Die langgereiften Bio- Rohwurst- Endprodukte wiesen im Durchschnitt pH- Werte von 5,34 auf, während in der konventionellen Herstellungsschiene ein Durchschnittswert von 5,30 erreicht wurde. Bei einer langgereiften Bio- Rohwurst erreicht das Endprodukt sogar einen pH- Wert von 6,01.

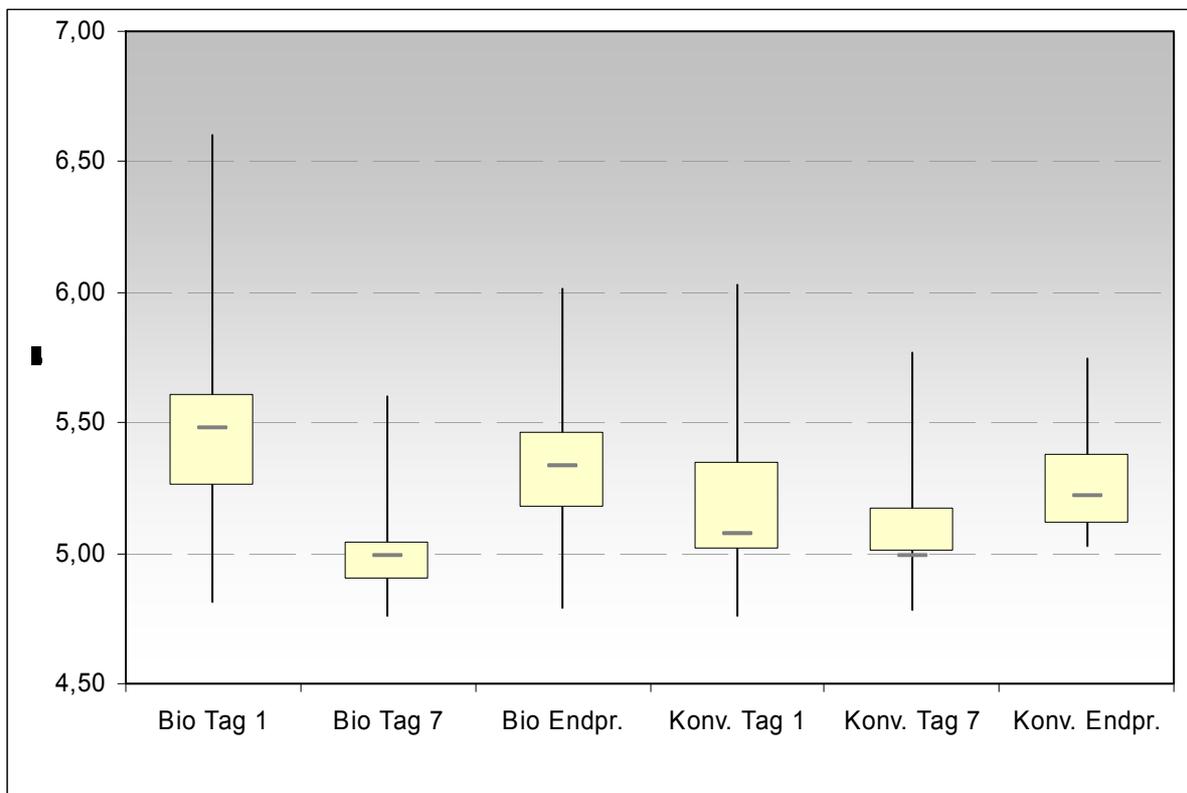


Abb. 4: pH- Werte langgereifter Rohwürste im Reifeverlauf

Abbildung 5 zeigt gleiches für kurzgereifte Rohwürste. Hier wird deutlich, dass bei den Bio- Rohwürsten der pH- Wert im Reifeverlauf meist nicht absinkt.

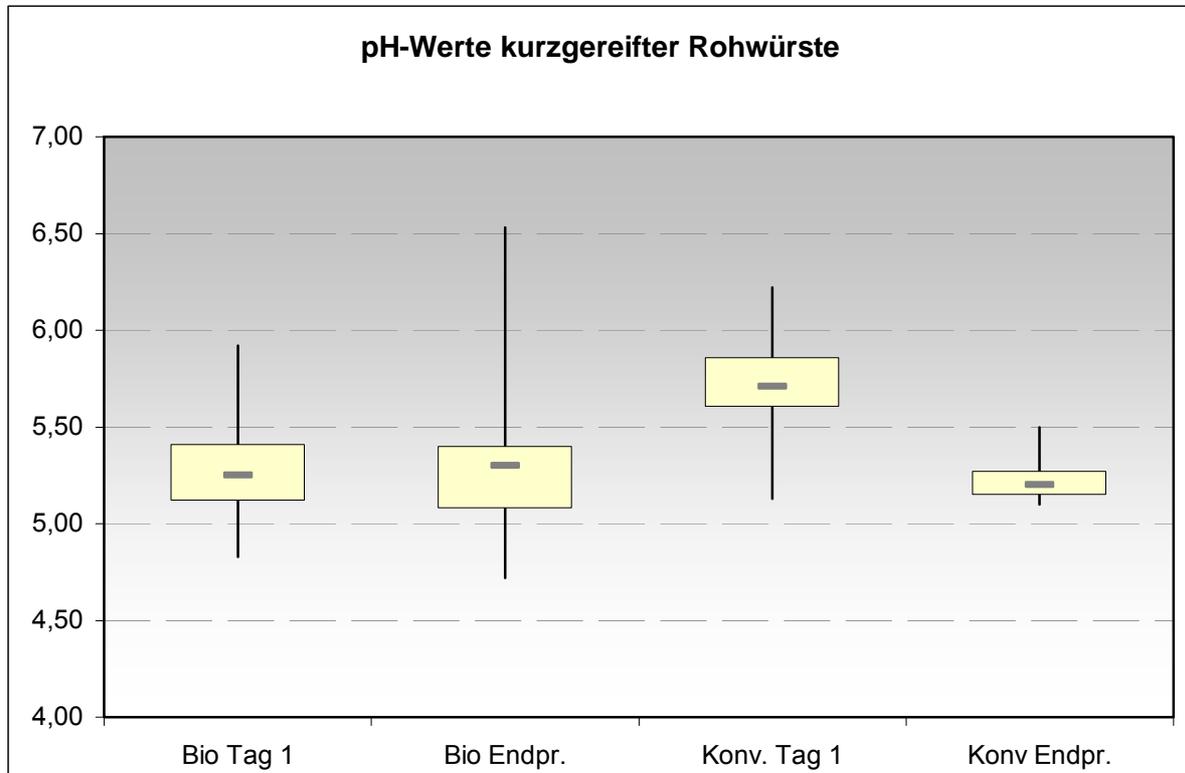


Abb. 5: pH- Werte kurzgereifter Rohwürste im Reifeverlauf

Der pH- Wert von 5,0 wurde von jeweils einem kurzgereiften Endprodukt aus konventioneller und einem Endprodukt aus der Bio- Produktion unterschritten. Im Durchschnitt wurden bei kurzgereiften Endprodukten pH- Werte von 5,45 (Bio- Produkte) und 5,20 (konventionelle Produkte) nachgewiesen.

4.1.3 Milchsäurebakterien/ Laktobazillen

Es konnten insgesamt 115 Proben bezüglich **Laktobazillen** untersucht und ausgewertet werden.

Tabelle 17 zeigt die Anzahl der bezüglich Laktobazillen untersuchten und auswertbaren Würste aller Reifestadien und Herstellungsschienen.

Tab. 17: Anzahl und Reifestadium der Proben, bei denen Laktobazillen nachgewiesen wurden

Art	Reifestadium	Anzahl
Rohwurst Bio langgereift	Tag1 der Reifung	21
Rohwurst Bio langgereift	Tag7 der Reifung	18
Rohwurst Bio langgereift	Endprodukt	7
Rohwurst konventionell langgereift	Tag1 der Reifung	8
Rohwurst konventionell langgereift	Tag7 der Reifung	9
Rohwurst konventionell langgereift	Endprodukt	5
Rohwurst Bio kurzgereift	Tag1 der Reifung	17
Rohwurst Bio kurzgereift	Endprodukt	15
Rohwurst konventionell kurzgereift	Tag1 der Reifung	8
Rohwurst konventionell kurzgereift	Endprodukt	7
Summe		108

Abbildung 6 zeigt die Verteilung der Anzahl der Laktobazillen in den verschiedenen Reifestadien getrennt nach Produktionsschiene als Whisker Box- Plot. Zu bemerken ist die enorme Spannweite der Werte. Bei den kurzgereiften Endprodukten beträgt diese $2,8 \cdot 10^6$ Kbe/g und bei den langgereiften Endprodukten $7,3 \cdot 10^6$ Kbe/g.

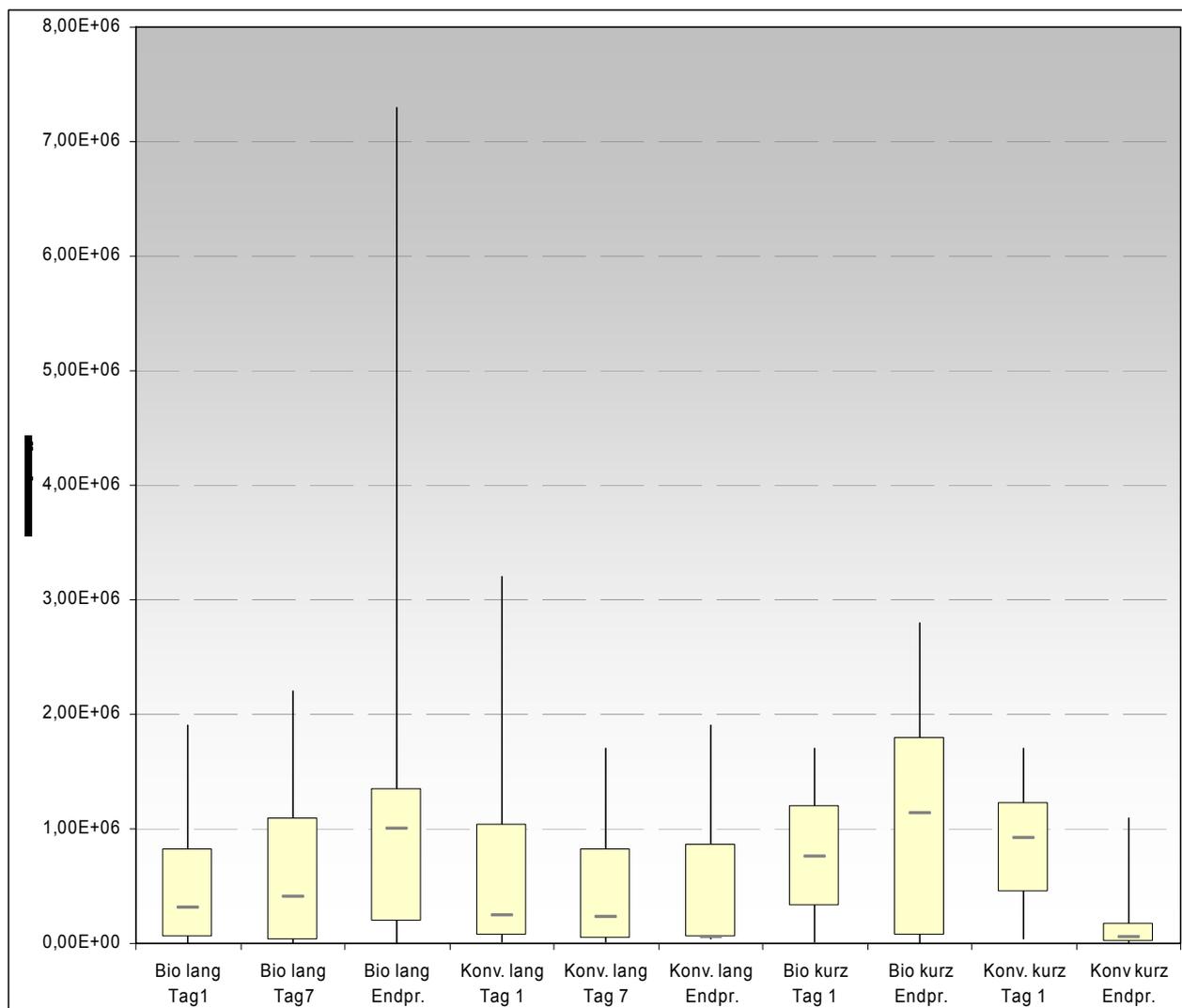


Abb. 6: Laktobazillen in Rohwürsten (Angabe in Kbe/g)

In **Abbildung 7** werden die arithmetischen Mittelwerte der Anzahl der Laktobazillen getrennt nach Reifestadium und Produktionsschiene dargestellt. Bei den Bio- Produkten steigt die Anzahl der Laktobazillen während der Reifung stetig an. Bei den konventionell hergestellten Produkten ist auffällig, dass das Wachstum der Laktobazillen während der Reifung weniger durchgesetzt werden konnte als bei den Bio-

Produkten. Hier kommt es während der Reifung sogar zu einem Absinken der Laktobazillen.

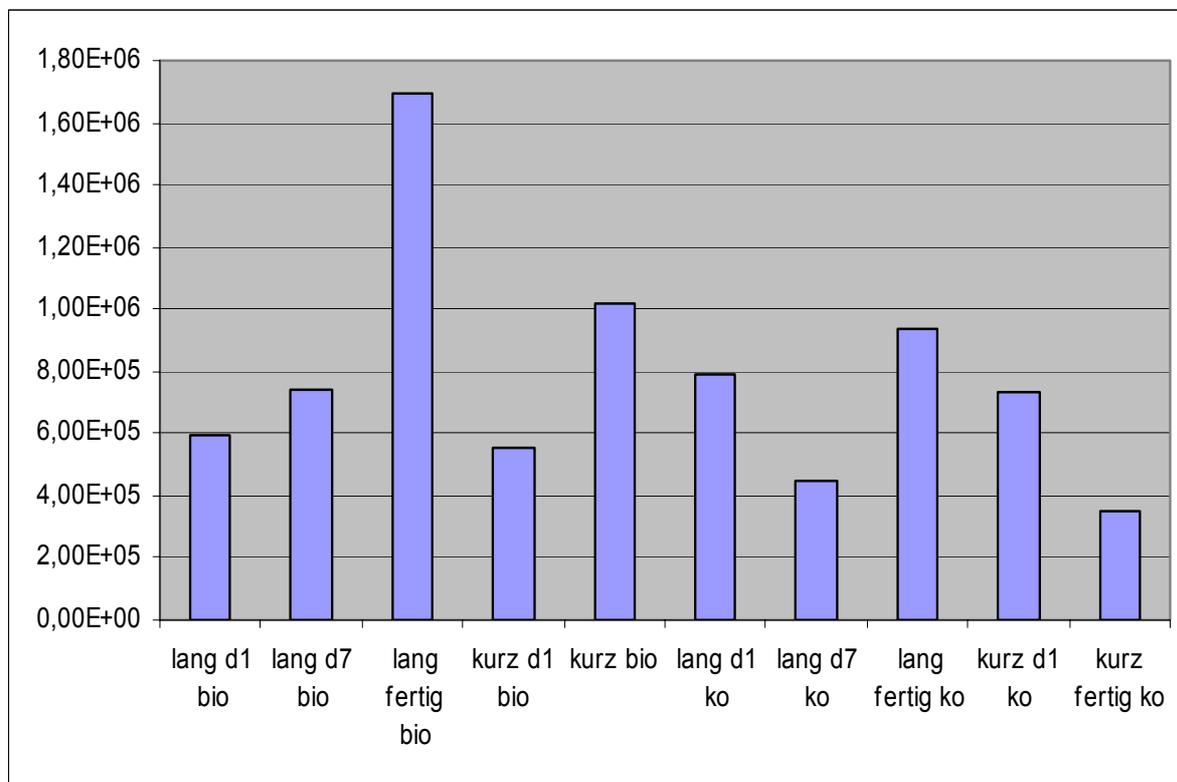


Abb. 7: Laktobazillen in Rohwürsten (KbE/g)

Bei langgereiften Endprodukten wurden durchschnittlich $1,63 \cdot 10^6$ KbE/g (Bio) und $6,38 \cdot 10^5$ KbE/g (konventionell) Laktobazillen nachgewiesen. Bei den kurzgereiften Produkten waren es $1,15 \cdot 10^6$ KbE/g (Bio) und $2,11 \cdot 10^5$ KbE/g (konventionell).

Es konnten insgesamt 129 Proben bezüglich **Milchsäurebakterien** ausgewertet werden. **Tabelle 18** zeigt die Anzahl der untersuchten und ausgewerteten Würste aller Reifestadien und Herstellungsweisen.

Tab. 18: Anzahl und Reifestadium der Proben, bei denen Milchsäurebakterien nachgewiesen wurden

Art	Reifestadium	Anzahl
Bio Rohwurst langgereift	Tag1 der Reifung	20
Bio Rohwurst langgereift	Tag7 der Reifung	18
Bio Rohwurst langgereift	Endprodukt	16
Rohwurst konventionell langgereift	Tag1 der Reifung	10
Rohwurst konventionell langgereift	Tag7 der Reifung	9
Rohwurst konventionell langgereift	Endprodukt	7
Bio Rohwurst kurzgereift	Tag1 der Reifung	17
Bio Rohwurst kurzgereift	Endprodukt	15
Rohwurst konventionell kurzgereift	Tag1 der Reifung	10
Rohwurst konventionell kurzgereift	Endprodukt	7
Summe		129

Der Mittelwert aller untersuchten Würste in Betrieb 1 betrug $7,34 \cdot 10^5$ Milchsäurebakterien/g. Bei den fertigen Produkten waren $4,32 \cdot 10^5$ Milchsäurebakterien/g nachweisbar. Am Tag 1 der Reifung betrug dieser Wert bereits $5,15 \cdot 10^5$ KbE/g. Wie bei den Laktobazillen fiel auch bei den Milchsäurebakterien die enorme Spannweite der Ergebnisse auf. Sie betrug am ersten Tag der Reifung $1,9 \cdot 10^6$ KbE/g, bei den Endprodukten sogar $3,23 \cdot 10^6$ KbE/g. Bei konventionellen langgereiften Endprodukten waren $7,28 \cdot 10^5$, in der Bio-Produktion waren $1,21 \cdot 10^6$ KbE/g Milchsäurebakterien nachweisbar. Eine ähnliche Tendenz war auch bei den kurzgereiften Rohwürsten festzustellen. Die Werte betragen hier $4,64 \cdot 10^5$ (konventionell) und $7,24 \cdot 10^5$ KbE/g (Bio).

4.1.4 *Enterobacteriaceae*

Insgesamt wurden 160 Rohwurstproben auf das Vorhandensein von *Enterobacteriaceae* untersucht. Bei 58,4% (94 Proben) konnten *Enterobacteriaceae* nachgewiesen werden. **Tabelle 19** stellt die Anzahl der auf *Enterobacteriaceae* untersuchten Proben in den verschiedenen Reifestadien und die absolute sowie prozentuale Anzahl der einzelnen Wurstproben bezüglich des Nachweises von *Enterobacteriaceae* dar. Als Proben, in denen *Enterobacteriaceae* nachgewiesen wurden, gelten Proben, bei denen mehr als $1 \cdot 10^2$ KbE/g festgestellt wurden. Dies ist auch die unterste Nachweisgrenze bei dieser Untersuchungsmethode nach §64 LFBG.

Tab. 19: Anzahl und Reifestadium der untersuchten und der *Enterobacteriaceae* positiven Wurstproben

Art	Reifestadium	Anzahl untersuchter Proben	<i>Enterobacteriaceae</i> nachgewiesen (%)
Rohwurst Bio langgereift	Tag1 der Reifung	29	25 (86,2)
Rohwurst Bio langgereift	Tag7 der Reifung	22	13 (59,1)
Rohwurst Bio langgereift	Endprodukt	13	4 (30,8)
Rohwurst konventionell langgereift	Tag1 der Reifung	12	5 (41,7)
Rohwurst konventionell langgereift	Tag7 der Reifung	12	6 (50,0)
Rohwurst konventionell langgereift	Endprodukt	10	6 (60,0)
Rohwurst Bio kurzgereift	Tag1 der Reifung	24	15 (62,5)
Rohwurst Bio kurzgereift	Endprodukt	14	4 (28,6)
Rohwurst konventionell kurzgereift	Tag1 der Reifung	13	8 (61,5)
Rohwurst konventionell kurzgereift	Endprodukt	11	8 (72,2)
Summe		160	94 (58,4)

Abbildung 8 stellt die Ergebnisse der Untersuchung der langgereiften Rohwurstprodukte bezüglich *Enterobacteriaceae* mit Medianen, Quartilen, sowie Minima und Maxima als Box- and- Whisker- Plots dar. Es wurden nur die Produkte berücksichtigt, bei denen *Enterobacteriaceae* nachgewiesen wurden. Die Ergebnisse wurden zur besseren Darstellung als dekadischer Logarithmus dargestellt.

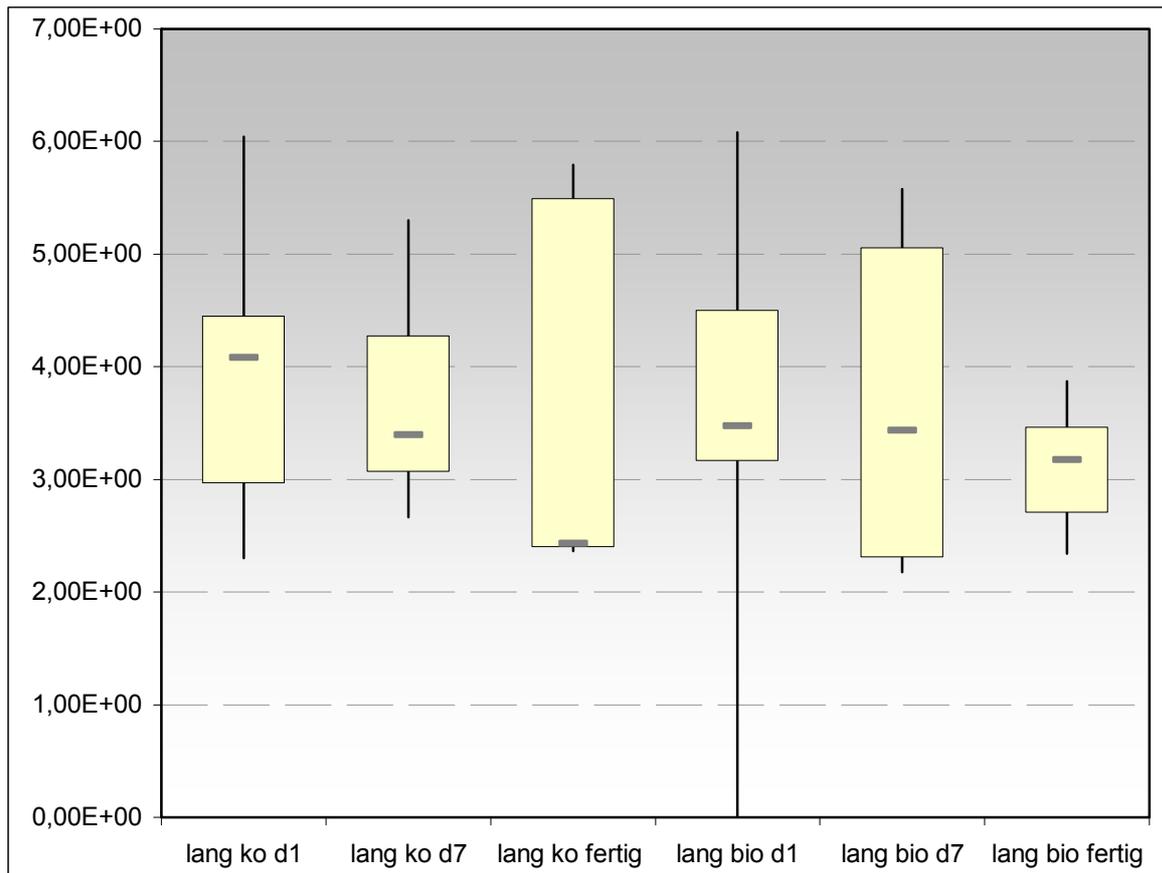


Abb. 8: *Enterobacteriaceae* in verschiedenen Reifestadien von langgereiften Rohwürsten (log KbE/g)

Abbildung 9 zeigt die arithmetischen Mittelwerte des *Enterobacteriaceae* – Gehaltes in den Rohwürsten im zeitlichen Verlauf der Probennahme. Es werden jeweils für jeden Monat alle Würste und die verschiedenen Reifestadien dargestellt. Wobei die Endprodukte bezüglich des *Enterobacteriaceae* Durchschnittswertes bis auf den Februar 2006 in jedem Monat weniger *Enterobacteriaceae* als bei allen vorhergehenden Reifestadien aufweisen, ist auffällig, dass in vielen Monaten am siebten Tag der Reifung mehr *Enterobacteriaceae* als am ersten Tag der Reifung zu finden sind. Auffällig ist das starke Auftreten von *Enterobacteriaceae* im November 2005.

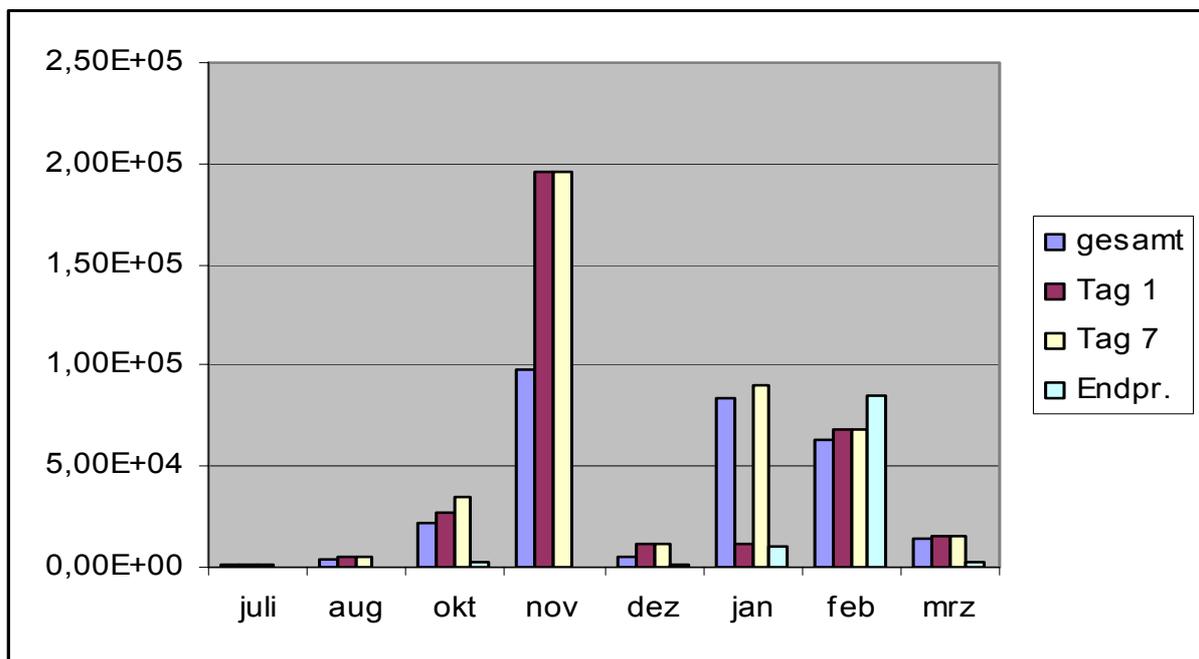


Abb. 9: *Enterobacteriaceae*: arithmetische Mittelwerte aller untersuchten Würste (KbE/g)

Im Vergleich konventioneller Produkte zu Bio- Produkten waren die konventionellen Produkte über den gesamten Verlauf der Probennahme stärker mit *Enterobacteriaceae* belastet. Fertige langgereifte Bio- Würste waren durchschnittlich mit $4,6 \cdot 10^2$ KbE/g *Enterobacteriaceae* belastet, konventionelle Produkte mit $1,18 \cdot 10^5$ KbE/g. Bei den kurzgereiften Endprodukten betragen diese Werte $7,23 \cdot 10^2$ und $1,01 \cdot 10^4$ KbE/g.

4.1.5 Escherichia coli

Aus Betrieb 1 wurden insgesamt 145 Rohwurstproben auf das Vorhandensein von *E. coli* untersucht.

Tabelle 20 gibt Auskunft über die Proben und das absolute und relative Vorhandensein von *E. coli* in den verschiedenen Produkten während der verschiedenen Reifestadien.

Tab. 20: Anzahl der untersuchten und *E. coli* positiver Wurstproben

Art	Reifestadium	Anzahl	<i>E. coli</i> (%)
Rohwurst Bio langgereift	Tag1 der Reifung	29	4 (13,8)
Rohwurst Bio langgereift	Tag7 der Reifung	20	2 (10)
Rohwurst Bio langgereift	Endprodukt	11	0 (0)
Rohwurst konventionell langgereift	Tag1 der Reifung	9	3 (33,3)
Rohwurst konventionell langgereift	Tag7 der Reifung	10	2 (20)
Rohwurst konventionell langgereift	Endprodukt	10	2 (20)
Rohwurst Bio kurzgereift	Tag1 der Reifung	18	7 (38,9)
Rohwurst Bio kurzgereift	Endprodukt	14	4 (28,6)
Rohwurst konventionell kurzgereift	Tag1 der Reifung	12	2 (16,7)
Rohwurst konventionell kurzgereift	Endprodukt	12	0 (0)
Summe		145	26 (17,9)

Insgesamt wurden bei 26 (17,9%) der Proben *E. coli* nachgewiesen.

Unabhängig von der Art des hergestellten Produktes und der Produktionsschiene wurde am Tag 1 der Reifung am häufigsten *E. coli* nachgewiesen (23,5%). Am Tag 7 der Reifung wurden bei 13,3% der Proben *E. coli* nachgewiesen. Beim Endprodukt betrug dieser Wert 12,8%. Hier ist anzumerken, dass bei den kurzgereiften Endprodukt in 15,4 % der Fälle *E. coli* nachgewiesen wurde, dies jedoch bei den langgereiften Produkten nur 9,5% der Würste betraf.

Abbildung 10 zeigt das prozentuale Auftreten von *E. coli* im zeitlichen Verlauf auf. Hier ist anzumerken, dass in den Monaten September und Oktober keine Proben genommen wurden.

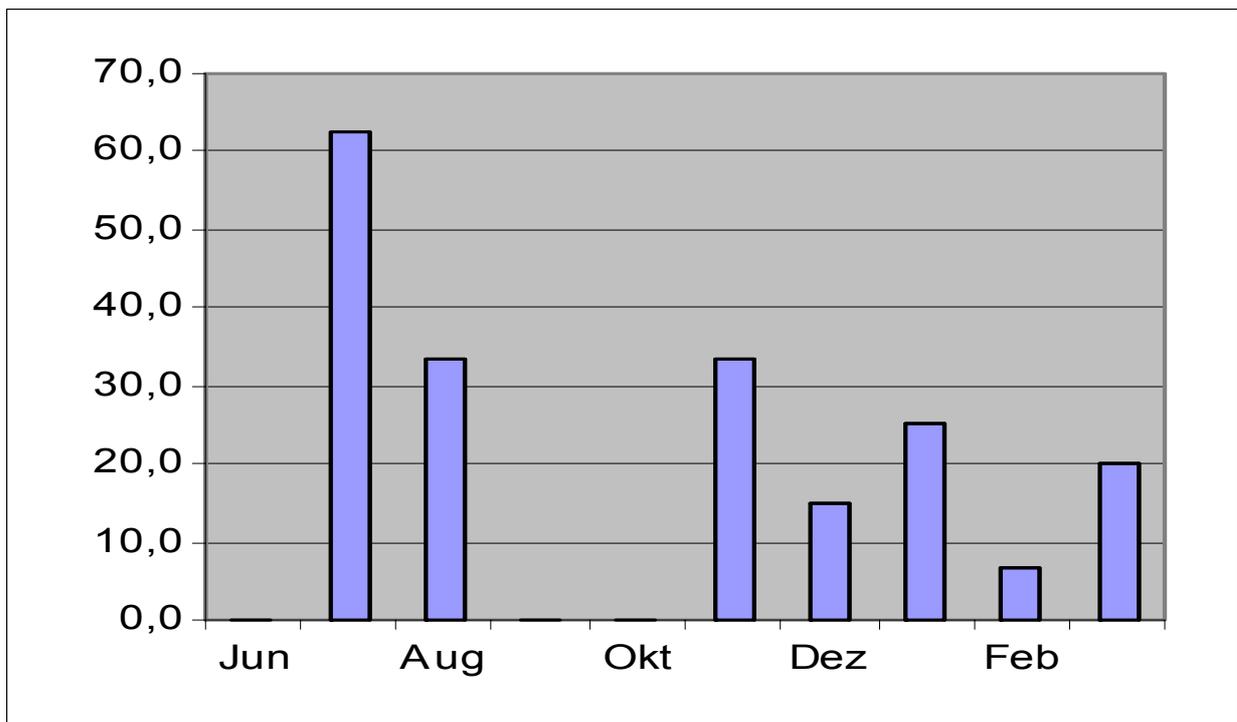


Abb. 10 : Anteil der Rohwurstproben, bei denen *E. coli* nachgewiesen wurde (Angaben in %).

Abbildung 11 veranschaulicht die arithmetischen Mittelwerte der Proben, bei denen *E. coli* nachgewiesen wurde in Abhängigkeit vom Reifestadium und der Herstellungslinie. Hervorzuheben ist hier, dass in langgereiften fertigen Bio-Produkten kein *E. coli* nachgewiesen wurde. Die mit *E. coli* kontaminierten kurzgereiften Bio-Endprodukte waren jedoch bei Herstellungsbeginn durchschnittlich stärker mit *E. coli* belastet als die anderer Produkte am ersten Reifetag. Dies schlägt sich bei den kurzgereiften Produkten auch im Endprodukt nieder.

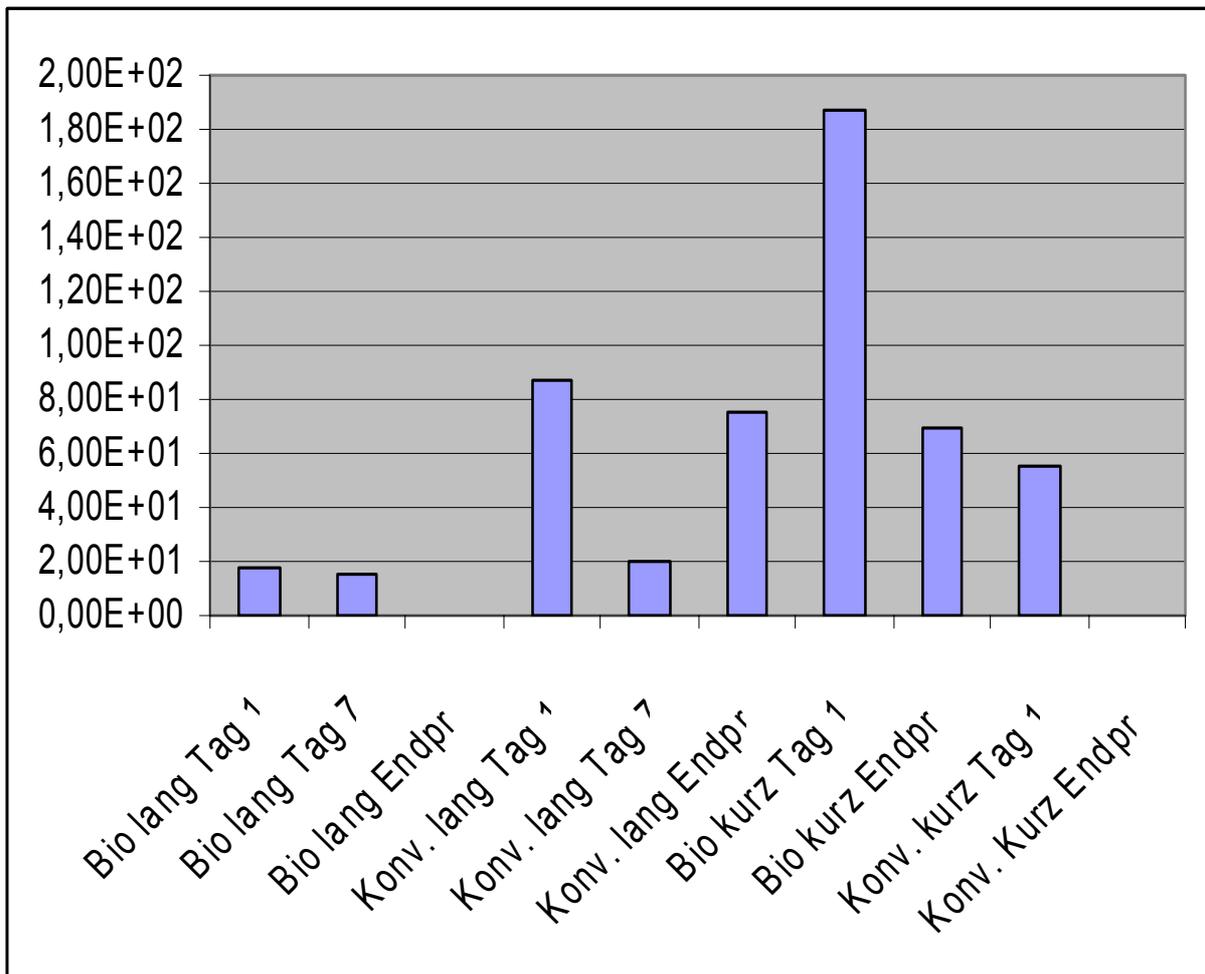


Abb. 11: Rohwürste bei denen *E. coli* nachgewiesen wurde, arithmetischer Mittelwert (KbE/g)

4.1.6 STEC

Insgesamt wurden 323 Proben auf das Vorhandensein von STEC untersucht. 8 Proben waren positiv. Das entspricht einem Wert von 2,5%.

Tabelle 21 zeigt Vorkommen und Art der positiven Proben. Eine eindeutige Häufung der positiven Proben ist im Dezember festzustellen. In diesem Monat wurden auch bei zwei Rohwurst-Endprodukten STEC nachgewiesen. Besonders hervorzuheben ist, dass es sich bei der am 23.12.2005 hergestellten *stx1* positiven Probe um eine Rohpolnische handelte, die nur aus Schweinefleisch hergestellt wurde.

Tab. 21: Vorkommen und Art der STEC- positiven Proben

Datum	Probe	<i>stx</i>
15.06.2005	Schlachtkörper Bio	2
06.07.2005	Schlachtkörper Bio	2
07.12.2005	Feuerbeißer Bio Endprodukt	2
12.12.2005	Schlachtkörper konventionell	2
15.12.2005	Schlachtkörper Bio	1+2
21.12.2005	Schlachtkörper Bio	2
23.12.2005	Rohpolnische konventionell Endprodukt	1
27.01.2006	Feuerbeißer konventionell Tag 1	2

In **Tabelle 22** ist der Nachweis von STEC abhängig vom Produktionsstadium und der Produktionsschiene dargestellt. Hier wird deutlich, dass bei Produkten aus der Bio-Schiene häufiger STEC nachgewiesen wurde.

Tab. 22: Nachweis von STEC abhängig vom Produktionsstadium

Art	Reifestadium	Anzahl	STEC nachgewiesen (%)
Schlachtkörper Bio		65	4 (6,2)
Schlachtkörper konventionell		31	1 (3,4)
Zerlegung Bio		40	0
Zerlegung konventionell		23	0
Rohwurst Bio langgereift	Tag1 der Reifung	31	0
Rohwurst Bio langgereift	Tag7 der Reifung	16	0
Rohwurst Bio langgereift	Endprodukt	14	0
Rohwurst konventionell langgereift	Tag1 der Reifung	15	0
Rohwurst konventionell langgereift	Tag7 der Reifung	13	0
Rohwurst konventionell langgereift	Endprodukt	13	0
Rohwurst Bio kurzgereift	Tag1 der Reifung	22	0
Rohwurst Bio kurzgereift	Endprodukt	18	1 (5,6)
Rohwurst konventionell kurzgereift	Tag1 der Reifung	12	1 (8,3)
Rohwurst konventionell kurzgereift	Endprodukt	10	1 (10)
Summe		323	8 (2,5)

Abbildung 12 zeigt den prozentualen Anteil positiver Schlachtkörperproben. Bio-Schlachtkörper sind in dieser Untersuchung häufiger mit STEC belastet als Schlachtkörper konventioneller Herkunft.

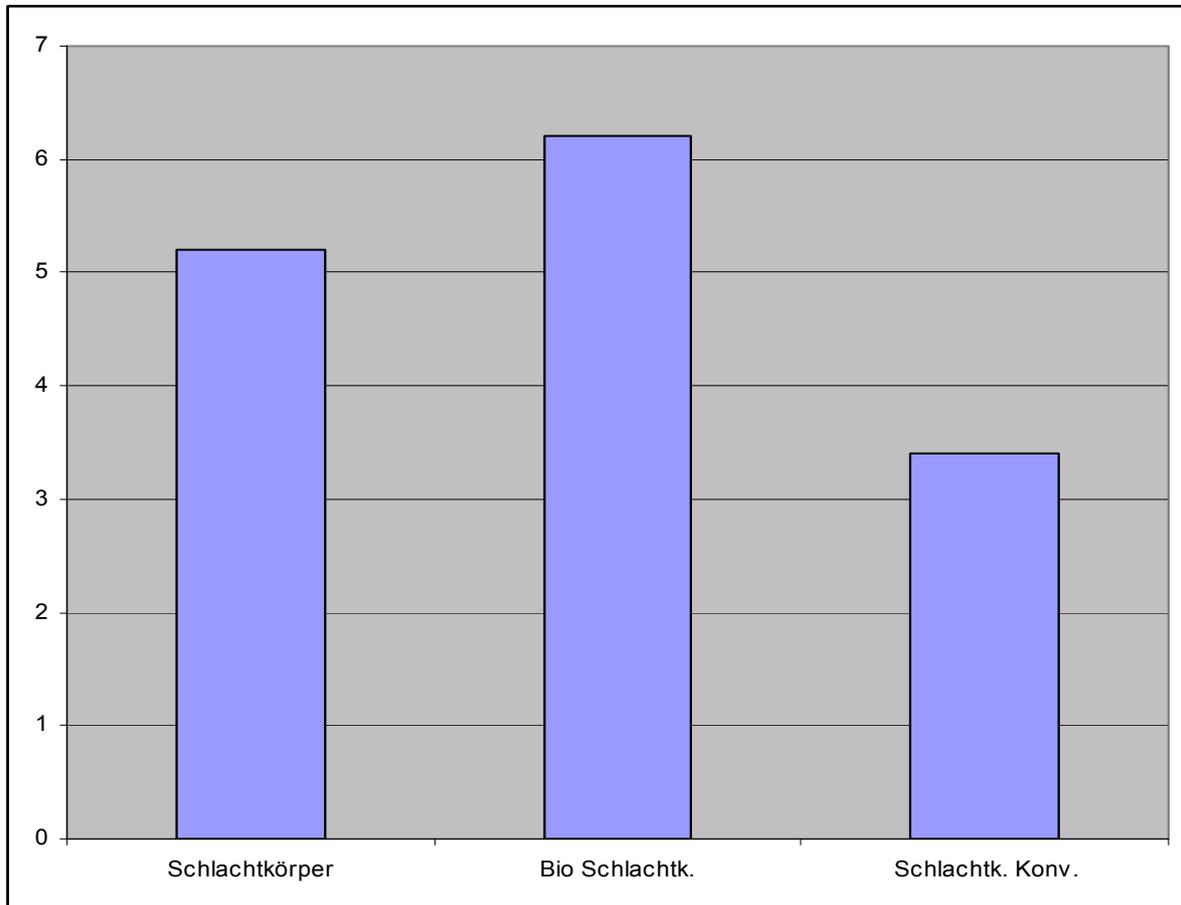


Abb. 12: Anteil positiver Schlachtkörperproben (Angaben in %)

Bei langgereiften Rohwürsten wurde in dieser Untersuchung kein STEC nachgewiesen. Von besonderem Interesse ist der Anteil STEC-positiver Proben bei den kurzgereiften Endprodukten. Kurzgereifte Endprodukte waren zu 7,1% STEC-positiv. Dabei waren Bio-Produkte zu 8,3% STEC-positiv, konventionelle Produkte zu 10%.

4.2 Ergebnisse aus Betrieb 2

Betrieb 2 ist ein zugelassener Betrieb, der ausschließlich ökologische Produkte herstellt und vermarktet. Die Waren werden am Herstellungsort und über eigene Filialen im Umkreis von ca. 70 km und bundesweit über Handelsketten vermarktet.

4.2.1 Wasseraktivität

Der a_w - Wert wurde bei 17 untersuchten Würsten ermittelt. Am ersten Reifetag betrug er im Durchschnitt 0,934. Bei den Endprodukten betrug der Mittelwert 0,923. Es ist anzumerken, dass in diesem Teil des Versuches auch streichfähige Rohwürste untersucht wurden. Hier hatten die Endprodukte einen Durchschnittswert von 0,930 aufzuweisen.

4.2.2 pH- Wert

Der pH- Wert wurde bei 20 Rohwürsten gemessen. Zu Beginn der Reifung betrug dieser im Mittel 5,64. Bei den Endprodukten wurde ein Mittelwert von 5,09 gemessen. Der Mittelwert der streichfähigen Rohwürste betrug 5,13. Keine streichfähige Rohwurst wies einen pH- Wert über 5,5 auf.

4.2.3 Milchsäurebakterien/ Laktobazillen

Es wurden 20 Würste untersucht. Eine Probe konnte bezüglich Laktobazillen, eine bezüglich Milchsäurebakterien und nicht ausgewertet werden. Eine Probe konnte weder bezüglich Laktobazillen noch Milchsäurebakterien ausgewertet werden. Der Mittelwert aerober Milchsäurebakterien am ersten Tag der Reifung betrug $6,92 \cdot 10^5$ KbE/g. Die Spannweite betrug $7,0 \cdot 10^5$ KbE/g. Bei den Laktobazillen betrug diese Werte $3,67 \cdot 10^5$ KbE/g und $1,4 \cdot 10^6$ KbE/g. Bei den Endprodukten wurden im Durchschnitt $1,1 \cdot 10^6$ KbE Milchsäurebakterien/g mit einer Spannweite von $3,9 \cdot 10^5$ KbE/g

nachgewiesen. Betreffend der Laktobazillen wurden hier Werte von $1,35 \cdot 10^6$ KbE/g und $7,1 \cdot 10^5$ KbE/g ermittelt.

4.2.4 *Enterobacteriaceae*

Es wurden 20 Würste untersucht. Bei sieben Würsten wurden *Enterobacteriaceae* nachgewiesen. Dies betraf sechs Würste am ersten Tag der Reifung sowie ein Endprodukt. Das Endprodukt war mit $8,0 \cdot 10^5$ KbE/g belastet. Dies war der höchste *Enterobacteriaceae*-Wert aller in diesem Versuchsteil untersuchten Würste. Der Mittelwert der Würste, bei denen *Enterobacteriaceae* nachgewiesen wurde, betrug $1,17 \cdot 10^5$ KbE/g.

4.2.5 *Escherichia coli*

Es wurden 20 Würste untersucht. Bei einer Rohwurst wurde *E. coli* nachgewiesen. Es handelte sich hierbei um eine „Hinterbeißer“ am ersten Reifetag, bei der $2,0 \cdot 10^1$ KbE/g *E. coli* nachgewiesen wurden.

4.2.6 STEC

Es wurden 108 Proben bezüglich STEC untersucht (s. Tabelle 11 und 13). Die Untersuchung wurde mit Real- Time- PCR durchgeführt. Bei keiner der Proben wurde STEC nachgewiesen.

5. DISKUSSION

Vorliegende wissenschaftliche Erhebung soll einen Einblick geben, ob es einen Unterschied in der mikrobiellen Beschaffenheit, insbesondere im Hinblick auf die STEC-Kontamination, in verschiedenen Herstellungsstadien von Rohwürsten gibt.

Der Verbraucher hat ein Anrecht auf einwandfreie, gesundheitlich unbedenkliche Lebensmittel und soll vor Täuschung und Übervorteilung beim Verkehr mit Lebensmitteln geschützt werden. Der mikrobiologischen Beschaffenheit der Lebensmittel kommt dabei besondere Bedeutung zu. Beim Rohstoff Fleisch muss aber immer von einer unvermeidlichen mikrobiellen Kontamination ausgegangen werden (Leistner, 1985). Die Rohwurstherstellung ist in mikrobieller Hinsicht problematisch, da es nicht wie bei Koch- und Brühwürsten zu einer die Bakterien abtötenden Erhitzung der Produkte kommt (Sinell, 2004). Der Rohwurstverzehr birgt somit ein höheres Risiko für den Verbraucher. Insbesondere Rohwürste die Rindfleisch enthalten gelten in Bezug auf die Kontamination mit STEC als ein sensibles Produkt. Immerhin konnte in wissenschaftlichen Untersuchungen im Kot von 5 bis 82% der Rinder STEC festgestellt werden.

In den letzten Jahren hat sich der Absatz sogenannter Bio- Produkte stetig erhöht. Der Absatz von Lebensmitteln, die mit dem „Bio- Siegel“ nach der EG-Öko- Verordnung gekennzeichnet waren, erhöhte sich von 1,48 Mrd. Euro im Jahr 1997 auf rund 4 Mrd. Euro im Jahr 2005 (BMELV, 2007). Es stellt sich die Frage, ob „Öko- Rohwurst“ ein höheres Prozessrisiko birgt als konventionell produzierte Rohwurst, da sich beide Herstellungstechnologien in wichtigen Punkten unterscheiden. In vorliegender Untersuchung wurden zwei Betriebe untersucht. Betrieb 1 stellt Fleischwaren nach konventionellen und ökologischen Richtlinien her. Betrieb 2 fertigt ausschließlich nach ökologischen Richtlinien. Insbesondere in Betrieb 1 konnten Erkenntnisse darüber gewonnen werden, ob ökologisch hergestellte Produkte ein größeres mikrobielles Risiko darstellen als konventionell hergestellte Produkte, da die Betriebshygiene in beiden Herstellungsschienen dieselbe war.

5.1 pH- und a_w - Wert

5.1.1 Ergebnisse aus Betrieb 1

Der a_w - Wert ist die einzige mikrobiologische Hürde, deren Bedeutung im Verlauf einer ordnungsgemäßen Reifung stetig zunimmt.

E. coli können noch bei einem a_w - Wert von 0,935 wachsen. Dieser Wert wurde von 33,0 % der Würste am ersten Reifetag, von 4,2% der Würste am siebten Reifetag und von einem Endprodukt überschritten. Bei diesem Endprodukt wurde zudem ein pH- Wert von 5,08 gemessen, ein Wert, der über den Zielvorgaben für kurzgereifte Rohwürste nach Leistner (1986) und Sinell (2004) liegt. Obwohl hier zwei wichtige Parameter bezüglich eines ordnungsgemäßen Rohwurstproduktes zu hoch waren, wurden weder STEC, *E. coli* oder *Enterobacteriaceae* nachgewiesen.

Der pH- Wert als mikrobiologische Hürde ist vor allem bei kurzgereiften und streichfähigen Rohwürsten wichtig (Leistner, 1985).

Bezüglich des pH- Wertes ist festzustellen, dass insbesondere die hier untersuchten kurzgereiften Bio- Produkte die in der Literatur geforderten niedrigen pH- Werte nicht erfüllen (Leistner, 1985; Sinell, 2004). Es kommt hier im Zuge der Reifung zu einem unbefriedigenden Absinken des pH- Wertes. Die häufigen *Enterobacteriaceae* Funde in jedem Stadium der Reifung können durch die höhere Konkurrenzfähigkeit gramnegativer Bakterien bei höheren pH- Werten begründet werden (Lücke, 1985). Nach Müller et al. (1994) ist die mikrobiologische Stabilität besonders dann gefährdet, wenn gleichzeitig hohe pH- Werte ($\geq 5,6$) und Wasseraktivitäten ($\geq 0,92$) vorkommen. Dies ist nur bei einem Endprodukt der Fall.

5.1.2 Ergebnisse aus Betrieb 2

Albert et al. (2003) untersuchten streichfähige Rohwürste bezüglich der **Wasseraktivität** und ermittelten Werte zwischen 0,94 und 0,97. In Betrieb 2 wurden bei den Endprodukten a_w -Werte zwischen 0,897 bis 0,961 ermittelt, wobei die streichfähigen Endprodukte Werte zwischen 0,912 und 0,927 aufwiesen. Diese Ergebnisse sprechen für einen angemessenen Wert der Wasseraktivität. Albert et al. (2003) wiesen bei streichfähigen Bio- Rohwürsten eine **pH- Wert** Spannweite zwischen 4,8 und 5,9 nach. Schotte (2002) ermittelte bei der Untersuchung von 146 Rohwürsten einen pH- Mittelwert von 4,82 bei den schnittfesten und einen pH- Mittelwert von 5,16 bei den streichfähigen Rohwürsten. In der gleichen Untersuchung wurde bei zwei Proben STEC nachgewiesen. Diese beiden Rohwürste hatten einen pH- Wert von 4,6 und 4,7. Dies zeigt, dass die Senkung des pH- Wertes nicht zwangsläufig zu einer Eliminierung von STEC führen muss. In vorliegender Untersuchung wurden bei den streichfähigen Endprodukten pH- Werte zwischen 4,98 und 5,26 ermittelt. Damit erfüllten hier die streichfähigen Endprodukte die Zielvorgaben bezüglich des pH- Wertes streichfähiger Rohwürste nach Leistner (1986). Auch die schnittfähigen Rohwürste erfüllten alle die von Leistner (1986) beschriebenen Zielvorgaben bezüglich des pH- Wertes. In diesem Betrieb konnten die Zielvorgaben bezüglich pH- Wert und Wasseraktivität erreicht werden.

5.2 Mikrobiologische Ergebnisse

Für die Beurteilung von Mikroorganismen in Rohwürsten gibt es, entgegen weitverbreiteter Meinung keine gesetzlichen Regelungen, lediglich Empfehlungen. Der Arbeitskreis lebensmittelhygienischer tierärztlicher Sachverständiger (ALTS) hat Richtwerte mit empfehlendem Charakter erarbeitet. Unbestritten der fehlenden gesetzlichen Regelung werden solche Werte benötigt. Mikrobiologische Richt- und Warnwerte liegen zusammengefasst von der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM, 2006) und von Eisgruber und Stolle (2006) vor. Sie sind für *E. coli*, *Enterobacteriaceae* und Milchsäurebildner in nachfolgender Tabelle zusammengefasst.

Mikrobiologische Richt- und Warnwerte für Rohwürste (nach DGHM, 2006 u. Eisgruber u. Stolle, 2006)

	Richtwerte nach DGHM (KbE/g)	Richtwerte nach Eisgruber u. Stolle (KbE/g)	Warnwerte Nach DGHM (KbE/g)
<i>E.coli</i>	1*10 ¹	-	1*10 ²
<i>Enterobacteriaceae</i>	1*10 ² 1*10 ³	1*10 ³ (streichfähige)	1*10 ³ 1*10 ⁴
Milchsäurebildner	-	1*10 ⁸	

5.2.1 Mikrobiologische Ergebnisse aus Betrieb 1

Enterobacteriaceae gelten in der Lebensmittelherstellung als Markerorganismus für eine mögliche Kontamination der Umgebung und der Geräte mit pathogenen Mikroorganismen (Sinell, 2004).

Die Kontamination der Schlachtkörper und des zerlegten Fleisches mit *Enterobacteriaceae* wurde in dieser Arbeit nicht untersucht. Nach Baumgart (1999) sollten in Frischfleisch nicht mehr als $1 \cdot 10^3$ KbE/g *Enterobacteriaceae* nachgewiesen werden. Bräunig und Matthes (2001) wiesen in ökologisch erzeugtem Rindfleisch bis zu $2,7 \cdot 10^3$ KbE/g nach. Ludewig et al. (2004) definierten Schweinefleisch als erhöht mit *Enterobacteriaceae* belastet, wenn mehr als 10^4 KbE/g nachgewiesen wurden und wiesen erhöhte Werte bei 20,5% der Proben ökologischer- und bei 12,5% der Proben konventioneller Herkunft nach. Ludewig et al. (2004) fanden in einer Untersuchung schnittfester Rohwürste bei 38,7% der Bio- Rohwürste und bei 33,3% der konventionell hergestellten Würste *Enterobacteriaceae* Werte über dem DGHM-Warnwert. In vorliegender Untersuchung wurde der DGHM- Richtwert bezüglich *Enterobacteriaceae* von 60,4%, der Warnwert von 40,3% der Wurstproben überschritten. Insgesamt waren 25,5% der Endprodukte über dem DGHM- Warnwert mit *Enterobacteriaceae* kontaminiert, wobei dies Bio- Produkte zu 11,5% und konventionelle Produkte zu 42,9% betraf. Im Gegensatz zur Untersuchung von Ludewig et al. (2004) sind in Betrieb 1 die konventionellen Rohwürste häufiger als die Bio- Rohwürste mit *Enterobacteriaceae* über dem DGHM- Warnwert belastet. Das Ergebnis vorliegender Untersuchung steht im Gegensatz zu der in Diskussionen in der Fachwelt vertretenen Meinung. Besonders stark war die Belastung mit *Enterobacteriaceae* im November 2005. Dies lässt vermuten, dass es in diesem Monat, in dem sehr viel produziert wurde (Weihnachtsgeschäft), Hygieneprobleme im Be- und Verarbeitungsprozess gab. So kann es sein, dass die Kühlung aufgrund starker Belegung mit Schlachtkörpern nicht die erforderliche Temperatur erreichte. Eine nachlässigere Betriebshygiene, bedingt durch Überarbeitung der Mitarbeiter, ist nicht auszuschließen. So könnte es sein, dass die Geräte in diesem Zeitraum nicht so häufig gereinigt wurden als in anderen Monaten.

Auch *E. coli* ist ein Markerorganismus (Sinell, 2004). *E. coli* gilt als Indexorganismus, der auf die mögliche Anwesenheit von Pathogenen fäkaler Herkunft hinweist, zu denen auch STEC gezählt werden (Coenen, 2000, Fredriksson- Ahomaa, 2007). Pichner et al. (2005) untersuchten im Zusammenhang mit einer durch STEC in Rohwürsten verursachten Rückrufaktion eines Herstellers 33 langgereifte Rohwürste und wiesen neben STEC auch bei einigen Würsten erhöhte *E. coli* Kontaminationen nach. In vorliegender Untersuchung wurde der DGHM- Warnwert bezüglich *E. coli* von 6,4% der Endprodukte überschritten. In den Monaten Juli, August und November 2005 wurde prozentual am häufigsten *E. coli* in Rohwürsten festgestellt. Die Häufung im November 2005 kann mit der schon erwähnten Belastung des Betriebes während der Weihnachtsvorbereitungen erklärt werden. In den Monaten Juli und August 2005 kann es möglich sein, dass die Kühlung durch hohe Außentemperaturen überlastet war.

Milchsäurebakterien/ Laktobazillen gehören zu den in der Rohwurst erwünschten Mikroorganismen. Nach Hechelmann et al. (1986) sollten in einer Rohwurst 10^7 bis 10^8 KBE/g Laktobazillen nachweisbar sein. In den Untersuchungen von Müller et al. (1994) und Ludewig et al. (2004) erbrachten fast alle untersuchten Bio- Rohwürste diesen Wert. In vorliegender Untersuchung wurde dieser Wert von keinem Produkt erreicht. Es kann vermutet werden, dass der pH- Wert im Verlauf der Reifung insbesondere bei den Bio- Produkten wie bereits unter 5.1 erwähnt ohne Zugabe von Nitrat oder Nitrit nicht so schnell und stark absinkt, sodass der Wachstumsvorteil der Milchsäurebakterien/ Laktobazillen bei niedrigem pH nicht zum Tragen kommen kann. Jedoch erreicht in dieser Untersuchung auch kein konventionell hergestelltes Produkt oben erwähnte Werte. Insbesondere bei kurzgereiften Rohwürsten in der Bio- Produktion kommt es im Verlauf der Reifung zu keinem nennenswerten pH- Wert- Abfall. Hier liegt ein Reifeproblem vor, was durch einen zu hohen Ausgangs- pH- Wert der Rohmasse, durch falsche Zugabe von Starterkulturen (zu wenig) und zu geringen Zusatz von Glucose oder GdL begründet werden kann.

5.2.2 Mikrobiologische Ergebnisse aus Betrieb 2

In Betrieb 2 wurden bei einem von zehn untersuchten Endprodukten ***Enterobacteriaceae*** nachgewiesen. Dieses Produkt überschreitet mit $8 \cdot 10^5$ KbE/g den DGHM Warnwert deutlich. Bei den Proben am ersten Tag der Reifung wurden bei 6 von 10 untersuchten Würsten ***Enterobacteriaceae*** nachgewiesen. Der Mittelwert betrug hier $2,19 \cdot 10^3$ KbE/g.

E. coli konnte bei keinem Endprodukt nachgewiesen werden. Die von Hechelmann et al. (1986) geforderte Anzahl an **Milchsäurebakterien** konnte auch hier von keinem Produkt erreicht werden. Albert et al. (2003) untersuchten 80 streichfähige Rohwürste und fanden dort Milchsäurebakterien zwischen 10^6 bis 10^7 KbE/g vor. In diesem Betrieb wurden bei den streichfähigen Rohwürsten Werte zwischen $9,4 \cdot 10^5$ und $1,9 \cdot 10^6$ ermittelt. Die mikrobiologischen Ergebnisse aus Betrieb 2 können als unproblematisch bezeichnet werden. Dies kann in besserer Schlachthygiene und besserer Technologie begründet sein. So wird beispielsweise von Betrieb 2 im Gegensatz zu Betrieb 1 von den Lieferanten der Rinder verlangt, dass diese vor dem Transport geputzt werden.

5.3 STEC

5.3.1 Ergebnisse aus Betrieb 1

Nach Timm et. al. (1998) sollten alle in Lebensmitteln nachgewiesenen STEC als potenziell humanpathogen bewertet werden. Unzureichende Schlacht- und Fleischhygiene kann eine Kontamination des Schlachtkörpers und der daraus produzierten Produkte bewirken. Nicht unterschätzt werden darf aber die Gefahr, an einer EHEC-Infektion durch andere Vektoren als Fleischprodukte zu erkranken. Auch Gartengemüse, Obst, Obstsäfte können über Dung oder Abwässer mit STEC kontaminiert sein. Auch können sich EHEC- Infektionen durch Schmierinfektionen, Kontakt mit infizierten Menschen (Ausscheider), Kontakt mit Wiederkäuern, durch Spielen im Sandkasten oder Baden ergeben (Karch et. al., 2000; Karuniawati, 2001).

In einer Untersuchung von Protz et al. (1999) wurde bei 18,6% der untersuchten Rinderschlachtkörper STEC nachgewiesen. In Schweineschlachtkörpern sind bis zu 1,8% STEC nachgewiesen worden (Bouvet et al., 2002; Heuvelink et al., 2004).

Der von Protz et al. (1999) beschriebene Wert bezüglich der Kontamination von Rinderschlachtkörpern wurde in vorliegender Untersuchung weder von Betrieb 1 (5,2%) noch von Betrieb 2 (0%) annähernd erreicht. Auffällig ist aber, dass drei der fünf STEC- positiven Schlachtkörper in Betrieb 1 von Rindern stammen, die im Dezember geschlachtet wurden. Hier kann eine Kreuzkontamination nicht ausgeschlossen werden. In Bio- Rinderschlachtkörpern konnte in vorliegender Untersuchung häufiger STEC nachgewiesen werden als in Rinderschlachtkörpern konventioneller Herkunft. Dies lässt den Schluss zu, dass Bio- Rinder häufiger mit STEC infiziert sind als Rinder die konventionell gehalten werden. Da Rinder aus Bio- Betrieben häufiger auf Weiden oder im Auslauf gehalten werden, kommen als Infektionsquellen die Tränke oder die Weide in Betracht (van Donkersgoed et. al., 2001). Auch der Mensch, andere Haussäugetiere, wild lebendes Geflügel und Wildwiederkäuer können STEC übertragen und Rinder auf der Weide oder im Auslauf infizieren (Heißenhuber, 2005; Lehmann et al., 2003).

Aus den Proben, die nach der Zerlegung des Fleisches untersucht wurden sind, wurde kein STEC isoliert. Die Wahrscheinlichkeit einer Kontamination mit STEC wäh-

rend des Zerlegevorganges scheint in Betrieb 1 damit gering zu sein. Es stellt sich die Frage, ob es möglich ist, die Kontamination mit STEC von der fertigen Wurst bis zum Schlachtkörper zurückzuverfolgen. Dies ist in vorliegender Untersuchung nicht gelungen. Beide Rohwurst- Endprodukte, bei denen STEC gefunden wurde waren über dem mikrobiologischen Richtwert nach DGHM mit *Enterobacteriaceae* kontaminiert. Bei einem STEC- positiven Endprodukt wurde *E. coli* nachgewiesen.

Beide STEC- positiven Rohwurst Endprodukte wurden im Dezember 2005 nachgewiesen. In diesem Monat wurden, wie schon erwähnt, auch bei drei Bio- Schlachtkörperproben STEC nachgewiesen. Hier kann die Möglichkeit einer Kreuzkontamination durch Mitarbeiter, die von der Produktion in die Schlachtung und umgekehrt laufen, eng hängende Schlachthälften oder durch Geräte diskutiert werden. Auf die besondere Belastung in Betrieb 1 im November und Dezember 2005 wurde bereits hingewiesen. Es stellt sich in diesem Zusammenhang die Frage, ob Betriebe mit labilem Hygienesystem die Produktionskapazitäten auch zu Zeiten stark erhöhter Nachfrage (hier Weihnachten) nur limitiert erhöhen sollten. Eine weitere Möglichkeit, die Kontamination der Rohmaterialien und Produkte zu erklären wäre ein nicht erkannter EHEC- Ausscheider im Betrieb. Gareis et al. (2000) wiesen bei einer Untersuchung von Stuhlproben in einem fleischverarbeitenden Betrieb mit 22 Mitarbeitern bei zwei Mitarbeitern STEC nach. Auch in dem im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Betrieb 1 wurden im Jahr 2004 drei Ausscheider identifiziert. Nach den drei gesetzlich vorgeschriebenen Nachuntersuchungen dieser Personen wurden jedoch keine weiteren Kotuntersuchungen bezüglich EHEC in diesem Betrieb durchgeführt.

5.3.2 Ergebnisse aus Betrieb 2

In Betrieb 2 wurde bei keiner der untersuchten Proben STEC nachgewiesen.

Es wurden jedoch nur Proben von zwei Schlachttagen untersucht. Hier müssten weitere Untersuchungen über einen längeren Zeitraum vorgenommen werden, um genauere Aussagen über eine eventuelle STEC- Problematik in Betrieb machen zu können.

5.4 Bedeutung für den Verbraucher

Kurzgereifte Rohwurst muss als Risikoerzeugnis bezüglich STEC bezeichnet werden (Müller et al, 1998; Timm et al, 1999). So wiesen Hechelmann et al. (2005) bei insgesamt 2,5% der von ihnen untersuchten Rohwurstproben STEC nach. Pichner et al. (2004) wiesen bei 11,7% von 1986 untersuchten streichfähigen Rohwürsten STEC nach. Pichner et al. (2005) fanden in 9,7% der untersuchten schnittfesten Bio- Rohwürste STEC. Diese kamen jedoch aus einem Betrieb, bei dem schon zuvor STEC in Rohwürsten nachgewiesen worden war. Jedoch kommen Pichner et al. (2005) zu dem Schluss, dass langgereifte Rohwürste keine Risikoprodukte sind. Die hohe STEC- Prävalenz wird hier mit Hygieneproblemen im untersuchten Betrieb erklärt. In vorliegender Untersuchung wurden 7,14% der kurzgereiften Endprodukte als STEC- positiv bewertet.

Albert et al. (2003) halten den Verzicht auf Nitrit bei der Rohwurstproduktion für unbedenklich. Nach Pichner et al. (2005) muss bei dem Verzicht auf NPS besonders auf die Verwendung einwandfreien Rohmaterials und die strikte Einhaltung von Hygienemaßnahmen auf jeder Prozessstufe geachtet werden. Je stärker das Rohmaterial mit unerwünschten Mikroorganismen (meist gramnegative Bakterien) kontaminiert und je kürzer die Reifedauer ist kann eine nicht ausreichende Zurückdrängung dieser Bakterien erfolgen. Da die infektiösen Dosen sehr gering sind sollten insbesondere Personen aus Risikogruppen keine Rohwürste konsumieren (Peitz et al., 2000; Timm et al., 1998). Nach Williams et al. (2004) muss davon ausgegangen werden, dass bezüglich STEC auch beim rein qualitativen Nachweis ein Erkrankungsrisiko nicht auszuschließen ist. Es besteht ein ständiges Risiko der Kontamina-

tion von Rohwürsten in jeder Phase der Produktion. Damit ist die Prozesshygiene ein wesentlicher Schwerpunkt der Rohwurstproduktion. Der Eintrag der pathogenen Erreger in die Nahrungskette geschieht vorwiegend auf der Ebene der Landwirtschaft. Das größte Problem stellt hier die inapparente Präsenz der Erreger in den Tierbeständen dar.

Bessere Schulungsmöglichkeiten, bessere Kontrolle der Anlieferung und besseres Monitoring während der Produktion, auch in kleinen und mittleren Betrieben, zu denen Öko-Betriebe meistens zählen, können die Verbrauchersicherheit des Produktes Rohwurst erhöhen. Da Rohwürste Produkte sind, bei denen STEC nicht ausgeschlossen werden kann, müssen sich Personen, die verantwortlich für die Distribution dieser Produkte sind, der Problematik der möglichen STEC-Kontamination insbesondere streichfähiger und kurzgereifter Rohwürste bewusst sein. Rohwürste, insbesondere kurzgereifte und streichfähige, sollten nicht in Kindergärten, Krankenhäusern oder Altersheimen angeboten werden.

5.5 Ausblick

- Nutztiere, insbesondere Wiederkäuer sind häufig mit STEC infiziert.
- Die Schlachttechnologie muss so ausgelegt sein, dass eine Kontamination des Schlachtkörpers mit pathogenen Mikroorganismen auf das Mindestmaß begrenzt wird.
- Die Technologie und Basisygiene ist von entscheidender Bedeutung für ein annehmbar sicheres Rohwurstprodukt.
- Risikogruppen sollten auf den Rohwurstkonsum verzichten.
- Vor allem bei schnellgereiften und streichfähigen Rohwürsten kann keine vollkommene Abwesenheit pathogener Mikroorganismen erwartet werden.

6 ZUSAMMENFASSUNG

Einige Stämme des Darmbakteriums *Escherichia coli* sind in der Lage Shiga-Toxine zu produzieren, die gastrointestinale Erkrankungen auslösen können. Wiederkäuer, vor allem Rinder, Schafe und Ziegen gelten als Hauptreservoir für STEC. STEC-Infektionen treten weltweit vor allem in Ländern mit hoch entwickelter Landwirtschaft auf. Als wichtigste Infektionsquelle gelten vor allem rohe oder nicht ausreichend erhitzte Lebensmittel tierischen Ursprungs wie unzureichend gegartes Rinderhackfleisch, Rohmilch und Rohmilchprodukte. Aber auch Rohwürste wurden bereits mit humanen Infektionen in Verbindung gebracht.

Vorrangiges Ziel dieser Studie war es, mögliche STEC-Kontaminationsquellen in zwei Rohwurst-produzierenden Betrieben abzuklären. Begleitend wurden mikrobiologische Untersuchungen durchgeführt sowie die Wasseraktivität und der pH-Wert gemessen. Ein Betrieb umfasst Schlachtung, Zerlegung und Produktion sowohl in der konventionellen Herstellungsschiene wie auch in der Bio-Produktion. Der zweite untersuchte Betrieb ist ein reiner Biobetrieb.

Insgesamt wurden 323 Proben aus Betrieb 1 untersucht. 206 Proben stammen aus der Bio-, 117 aus der konventionellen Produktion. Dabei wurden Rinder-Schlachtierkörper, Proben aus der Zerlegung sowie kurz- und langgereifte Rohwürste in unterschiedlichen Reifungsstadien ausgewählt. Für den STEC-Nachweis wurden sowohl die Lebensmittel und die nach der Schlachtung und Zerlegung entnommenen Tupferproben nach Anreicherung in modifizierter Tryptose-Soja-Bouillon (mTSB) auf das Vorhandensein des Shiga-Toxin-Gens mittels PCR und anschließender Gelelektrophorese gemäß der Amtlichen Sammlung nach §64 LFGB (L.07.18) untersucht. Der Nachweis von *Enterobacteriaceae*, *E.coli*, Milchsäurebakterien und Laktobazillen erfolgte in Anlehnung an die Amtliche Methode nach §64 LFGB. Der pH-Wert und die Wasseraktivität wurde gemäß der amtlichen Sammlung nach §64 LFGB ermittelt. Der Warnwert bezüglich *Enterobacteriaceae* nach DGHM wurde von 25,5% der untersuchten fertigen Würste überschritten. Konventionell hergestellte Produkte waren dabei mit 42,9% der fertigen Produkte über dem DGHM-Warnwert erheblich mehr

belastet als Bio- Produkte (11,5%). Der DGHM- Warnwert bezüglich *E. coli* wurde von 6,4% der fertig gereiften Produkte überschritten. Säuernde Mikroorganismen waren in den untersuchten Produkten zu wenig vorhanden.

In 8 der 323 untersuchten Proben wurde STEC nachgewiesen. Insgesamt 5 der 96 beprobten Schlachttierkörper (Rind) waren STEC- positiv: 4 Tiere aus der Bio- Produktion und 1 Tier aus der konventionellen Produktion. 3 von 62 untersuchten kurzgereiften Rohwürsten waren STEC- positiv: 1 aus der Bio- Produktion und zwei aus der konventionellen Produktion. Alle untersuchten Proben aus der Zerlegung und alle langgereiften Rohwürste reagierten STEC- negativ.

Aus Betrieb 2 wurden 108 Proben untersucht. Hier wurde nur bei einem Endprodukt *Enterobacteriaceae* über dem DGHM- Warnwert festgestellt. In keinem Endprodukt fanden sich *E. coli*. In keiner Probe wurde STEC nachgewiesen.

7 SUMMARY

Occurrence and Control of food- relevant Microorganisms and Spread of Shiga Toxin- creating *Escherichia Coli* (STEC) in different States of Raw Sausage production by Application of Conventional and Ecological Production Methods

Some strains of the intestinal bacterium *Escherichia coli* are able to produce Shiga Toxins which may cause gastro intestinal diseases. Ruminants, mainly cattle, sheep and goats are considered to be the main reservoir for STEC. STEC- infections emerge worldwide, particularly in regions with highly developed agriculture.

Above all, raw or insufficiently heated food of animal origin, such as inadequately cooked minced beef, raw milk or products of raw milk are considered to be the main cause of infection. However, raw sausages were also associated with human infections.

It was the prior objective of this study to clarify possible STEC contamination sources in two raw sausage producing factories. Associated microbiological tests and measurements and evaluations of the water activity and pH- values were performed. The first factory conducts slaughtering and carving, and applies both conventional and bio- production methods. The second factory is a mere bio- firm.

In total, 323 samples from factory 1 were tested, of which 206 were originating from the bio- production. Thereby cattle carcasses, samples from the carving process, and short- and long- term ripened sausages in their different stages of ripeness were selected. In order to provide evidence for the existence of STEC, both food and swap- samples collected from slaughtering and carving, and after enrichment in modified tryptose- soy- bouillon (mTSB) were tested for the existence of Shiga Toxin genes by means of PCR and subsequent gelectrophoresis according to the "Amtliche Sammlung nach §64 LFBG". The evidence of *Enterobacteriaceae*, *E. coli*, and Lacto Acid Bacteria was demonstrated according to "Amtliche Sammlung nach §64 LFBG". The pH- value and water activity was measured according to "Amtliche Sammlung nach §64 LFBG". The required objectives with regard to pH- value and water activity were not achieved in this factory.

The critical value with reference to *Enterobacteriaceae* in accordance with DGHM was exceeded by 25,5% of the tested ready-made sausages. Conventionally manufactured products were considerably higher contaminated, with 42,9% of the ready-made products exceeding the DGHM critical value, than bio-products (11,5%). The DGHM critical value for *E. coli* was exceeded by 6,4% of the ready-ripened products. The required objectives with regard to Lacto acid bacteria were not achieved in this factory.

In out of 329 samples STEC was found. A total of 5 of 96 tested carcasses (cattle) were STEC-positive: 4 animals from the bio-production and 1 animal from the conventional production. All tested samples obtained from carving and long-time ripened sausages reacted STEC-negative.

From factory 2 108 samples were tested. Here *Enterobacteriaceae* exceeding the DGHM critical value were found in 1 final product only. *E. coli* were not found in any final product. STEC was not detected in any sample.

8 ANHANG

8.1 Anhang zu Material und Methoden

8.1.1 Allgemeine Materialien

Materialien für die Probennahme

- Rektalisierungshandschuhe Krutex soft Rectal (Heiland, Deutschland)
- Mullkompressen 12- fach gelegt (WDT, Garbsen, Deutschland)
- Folienstift Lumocolor permanent (Staedler, Deutschland)
- Einmalhandschuhe gehämmert, Manuplast (B. Braun, Melsungen, Deutschland)

Pipetten

- Eppendorf Research 10µl (eppendorf, Deutschland)
- Eppendorf Research 100µl (eppendorf, Deutschland)
- Eppendorf Research 1000µl (eppendorf, Deutschland)

Pipettenspitzen

- eppendorf Standardtips 50µl (eppendorf, Deutschland)
- eppendorf Standardtips 100µl (eppendorf, Deutschland)
- eppendorf standadtips 1000µl (eppendorf, Deutschland)

8.1.2 Materialien für mikrobiologische Untersuchungen

Anreicherung und Anzucht

- Caso Bouillon Nr. 1.005505000 (Merck, Deutschland)
- Bile Salts Nr. 3 Nr. LP 0056 (Oxoid, Vereinigtes Königreich)
- Pepton- Wasser gepuffert nach ISO 6579 für die Mikrobiologie Nr. 1.07228.0500 (Merck, Deutschland)
25,5g in 1 Liter demineralisiertem Wasser lösen, eventuell in kleinere Gefäße

abfüllen, autoklavieren (15 min bei 121°C)

- Laktobazillus- Agar nach de Man, Rogosa und Sharpe (MRS- Agar)
Nr 1.10275.0500 (Merck, Darmstadt)
66,2 g und 10g Agar technical in 1 Liter demineralisierten Wasser lösen durch Erhitzen im siedenden Wasserbad oder im strömenden Dampf, autoklavieren (15 min bei 118°C).
- Fluorocult- Agar (ECD) Nr. 1.04038.0500 (Merck, Deutschland)
66,2g und 10g Agar technical in 1 Liter demineralisiertem Wasser lösen durch Erhitzen im Wasserbad oder im strömenden Dampf, autoklavieren (15 min bei 118°C).
- VRBG- Agar (Kristallviolett- Neutralrot- Galle- Glucose- Agar nach Mossel) Nr. 1.10275.0500 (Merck, Darmstadt)
39,5 g in 1 Liter demineralisiertem Wasser lösen und im siedenden Wasserbad oder im strömenden Dampf unter regelmäßigem Umschwenken solange kochen, bis der Nährboden vollständig gelöst ist, anschliessend nicht länger als 2 min weiterkochen, nicht autoklavieren, nicht überhitzen.

Sonstiges

- Anaerobiertopf AnaeroJar (Oxoid, Vereinigtes Königreich)
- Brutschrank +30°C B6200 (Heraeus Instruments, Deutschland)
- Brutschrank + 37°C B6200 (Heraeus Instruments, Deutschland)
- Brutschrank +42°C BD115 (Binder Laborgeräte, Deutschland)
- Wasserschüttelbad SW22 (Julabo Labortechnik, Deutschland)
- Plater WB04KH (dw scientific, Deutschland)
- Stomacher 400 circulator (Seward, Vereinigtes Königreich)
- Sterile Kunststoffbeutel Stomacher´400´bags (Seward, Vereinigtes Königreich)
- Fluoreszenzgerät CM-10 (Spectroline, USA)
- Gasgerät GASI (Schütt labortechnik, Deutschland)
- Anaerocult Merck Nr. 1.16275.0001

8.1.3 Material für die PCR

Allgemeine Materialien

- eppendorf safe lock tubes 1,5 ml, 1000 Stck. (eppendorf, Deutschland)
- Nitril Handschuhe Rotiprotect Nitril (Berufsgenossenschaftliches Institut für Arbeitssicherheit, Deutschland)
- Handschuhe Meditradee Gentle Skin Größe M (Meditrade, Deutschland)
- Kühl- und Gefrierschrank (Liebherr, Schweiz)

Materialien für den PCR- Ansatz

- Thermomixer Comfort (eppendorf, Deutschland)
- Vortex Schüttler Schüttler scientifica 2x³ (VELP, Italien)
- Zentrifuge 5415D (eppendorf, Deutschland)
- Master- Mix eppendorf Master- Mix 2,5x (eppendorf, Deutschland)
- Wasser für molekularbiologische Zwecke Water Molcular Bio Grade (eppendorf, Deutschland)
- InstaGene Matrix (Bio- Rad, USA)
- PCR- Gefäß farblos 0,2 ml (eppendorf, Deutschland)
- Standart- Reaktionsgefäß 1,5ml (eppendorf, Deutschland)
- Pipettenspitzen etips PCR- clean 0,1- 10µl (eppendorf, Deutschland)

PCR

- Thermocycler iCycler iQ (Bio- Rad, USA)

Gel- Herstellung

- Analysenwaage CP3203S-CE (Sartorius, Deutschland)
- Mikrowelle MM6460 (micromaxx, Deutschland)
- Kämme 20 Well (Bio- Rad, USA)
- Gel- Kammer (Bio- Rad, USA)
- Tris- Boric- Acid- Puffer 10x (Bio- Rad, USA)
- Agarose Certified Molecular Biology Agarose (Bio- Rad, USA)

Elektrophorese

- Elektrophorese- Kammer sub cell gt (Bio- Rad, USA)
- Elektrophorese- Kammer mini sub cell gt (bio- Rad, USA)
- Elektrophorese Stromquelle Power- Pac 200 (Bio- Rad, USA)
- Elektrophorese Stromquelle 3000 Xi (Bio- Rad, USA)
- Parafilm (American Can Company, USA)
- Molekulargewichtsmarker EZ- Load and Molecular Ruler 100bp (Bio- Rad, USA)
- Loading Buffer Nucleic Acid- Sample Loading Buffer (Bio- Rad, USA)
- Ethidiumbromid 10mg/ml (Bio- Rad, USA)
- Geldokumentationssystem Gel- Doc 1000 (Bio- Rad, USA)
- Primer (Sequenzen s. 8.1.4)
- I Cycler iQ Real Time Detection Software (Bio- Rad, USA)

8.1.4 Material für sonstige Untersuchungen

pH- Wert Messung

- pH- Meter pH 535 (WTW, Deutschland)
- Kaliumchlorid (Hamilton, Schweiz)
- pH- Puffer Hamilton Duracal 4,01 (Hamilton, Schweiz)
- pH- Puffer Hamilton Duracal pH 9,10 (Hamilton, Schweiz)

Messung der Wasseraktivität

- Roremeter RM- 10 (Nagy, Deutschland)

8.1.4 PCR- Sequenzen und Zeit- Temperatur- Protokoll

- *Primer- Sequenzen*

- KS7 Sequenz: 5'-ccc gga tcc atg aaa aaa aca tta tta gc- 3'
- KS 8 Sequenz: 5'- ccc gaa ttc agc tat tct gag tca acg- 3'
- LP43 Sequenz: 5'- atc cta ttc ccg gga gtt tac g- 3'
- LP 44 Sequenz: 5'- gcg tca tcg tat aca cag gag c- 3'

- *Zeit- Temperatur- Protokoll des Thermocyclers*

Initiale Denaturierung: +94°C 5 min

30- maliges Durchlaufes des Zyklus:

Denaturierung: +94°C 1 min

Anlagerung: +72°C 1 min

Synthese: +72°C 1,5 min

Abschließender einmaliger Syntheseschritt:

 +72°C 5 min

Abkühlung auf: +4°C

8.1.5 Real – Time- PCR

- *Primer*

- STEC I: gA(Ag)C(Ag)A AAT AAT TTA TAT gTg
- STEC II: TgA TgA Tg(Ag) CAA TTC AgT AT

- *Sonden*

- STEC I: TTT Acg TTT TCg gCA AAT ACA gAg ggg At-(FL)
- STEC I: (Red 640)- TCg TAC AAC ACT ggA TgA TCT Cag Tgg g- Ph
- STEC II HP-1: TCA ggC ACT gTC TgA AAC TgC TCC TgT gTA-(FL)
- STEC II HP-2: (Red 705)- ACC Atg ACG CCg ggA gAC gTg gAC CT-(Ph)

(FI): Fluorescein

(Red 640): LC Red 640- N- hydroxy- succinimide- ester

(Red 705): LC Red 705- phosphoramidite

(Ph): 3'- phosphate

G: guanosine

- *Programm des iCycler iQ*

Initiale Denaturierung:	+95°C	10 min
50 Zyklen mit je :		
Denaturierung:	+95°C	10 sec
Anlagerung	+50°C	20 sec
Synthese	+72°C	30 sec

8.2. Anhang zu Ergebnisse

8.2.1 Ergebnisse in Betrieb 1

8.2.1.1 Milchsäurebakterien

Tab. 23 Milchsäurebakterien (KbE/g) in langgereiften Bio- Rohwürsten am ersten Reifetag

Produkt	Datum	KbE/g
Bio- Rindersalami	15.07.2005	1,30E+03
"Bio- Big" Salami	22.07.2005	3,50E+03
Bio- Rindersalami	22.07.2005	4,40E+03
"Bio- Big" Salami	29.07.2005	1,10E+05
Bio- Rindersalami	12.08.2005	1,20E+04
Bio- Rindersalami	29.10.2005	1,30E+05
Bio- Rindersalami	29.10.2005	2,30E+04
Bio- Rindersalami	04.11.2005	1,70E+05
Bio- Rindersalami	11.11.2005	6,70E+05
Bio- Rindersalami	18.11.2005	6,00E+04
Bio- Rindersalami	18.11.2005	7,60E+04
Bio- Rindersalami	25.11.2005	8,20E+05
Bio- Rindersalami	09.12.2005	1,90E+06
Bio- Rindersalami	23.12.2005	5,90E+05
Bio- Rindersalami	29.12.2005	3,10E+05
Bio- Rindersalami	13.01.2006	9,60E+05
Bio- Rindersalami	20.01.2006	1,10E+06
Bio- Rindersalami	27.01.2006	1,40E+06
Bio- Rindersalami	27.01.2006	5,60E+05
Bio- Rindersalami	03.02.2006	7,00E+05

Tab. 24: Milchsäurebakterien (KbE/g) in langgereiften Bio- Rohwürsten am siebten Reifetag

Produkt	Datum	Kbe/g
Bio- Rindersalami	15.07.2005	8,20E+03
Bio- Rindersalami	22.07.2005	1,80E+03
Bio- Rindersalami	05.08.2005	1,80E+05
"Bio- Big" Salami	12.08.2005	2,80E+03
Bio- Rindersalami	12.08.2005	9,60E+03
Bio- Rindersalami	18.11.2005	6,20E+05
Bio- Rindersalami	25.11.2005	4,30E+04
Bio- Rindersalami	25.11.2005	2,00E+04
Bio- Rindersalami	02.12.2005	8,50E+05
Bio- Rindersalami	18.12.2005	1,90E+06
Bio- Rindersalami	23.12.2005	7,80E+05
Bio- Rindersalami	23.12.2005	5,20E+04
Bio- Rindersalami	27.12.2005	2,20E+06
Bio- Rindersalami	06.01.2006	1,10E+06
Bio- Rindersalami	13.01.2006	2,10E+06
Bio- Rindersalami	20.01.2006	4,20E+04
"Bio- Big" Salami	27.01.2006	1,40E+06
Bio- Rindersalami	24.02.2006	1,30E+06

Tab. 25: Milchsäurebakterien (KbE/g) in langgereiften Bio- Rohwürsten- Endprodukten

Produkt	Datum	Ergebnis
Bio Rindersalami	08.07.2005	2,50E+03
Bio Rindersalami	08.07.2005	1,40E+03
Bio Rindersalami	22.07.2005	1,80E+04
Bio Rindersalami	02.08.2005	2,50E+03
Bio Rindersalami	29.10.2005	1,80E+04
Bio Rindersalami	11.11.2005	1,90E+06
Bio Rindersalami	11.11.2005	7,20E+05
Bio Rindersalami	18.11.2005	7,40E+05
Bio Rindersalami	25.11.2005	4,90E+03
Bio Rindersalami	02.12.2005	3,40E+05
Bio Rindersalami	09.12.2005	1,60E+06
Bio Rindersalami	16.12.2006	5,40E+04
Bio Rindersalami	05.01.2006	6,60E+03
Bio Rindersalami	13.01.2006	2,60E+05
Bio Rindersalami	10.02.2006	6,20E+03
Bio Rindersalami	03.02.2006	2,20E+04

Tab. 26: Milchsäurebakterien (KbE/g) in langgereiften konventionellen Rohwürsten am ersten Reifetag

Produkt	Datum	Ergebnis
Rindersalami	29.10.2005	7,20E+03
Rindersalami	04.11.2005	5,30E+03
Rindersalami	18.11.2005	5,50E+05
Rindersalami	18.11.2005	1,30E+04
Haussalami	03.12.2005	2,30E+05
Haussalami	23.12.2005	2,60E+05
Rindersalami	23.12.2005	5,10E+05
Bistrosalami	13.01.2006	6,40E+05
Rindersalami	20.01.2006	2,80E+05
Rindersalami	10.03.2006	1,30E+03

Tab. 27: Milchsäurebakterien (KbE/g) in langgereiften konventionellen Rohwürsten am siebten Reifetag

Produkt	Datum	KbE/g
Rindersalami	29.10.2005	1,10E+05
Rindersalami	18.11.2005	8,30E+05
Haussalami	25.11.2005	6,00E+05
Rindersalami	25.11.2005	4,00E+04
Rindersalami	18.12.2005	6,80E+03
Haussalami	23.12.2005	4,20E+04
Haussalami	27.12.2005	2,30E+05
Rindersalami	27.01.2006	1,70E+06
Rindersalami	10.02.2006	1,10E+06

Tab. 28: Milchsäurebakterien (KbE/g) in langgereiften konventionellen Rohwürsten-Endprodukten

Produkt	Datum	Ergebnis
Rindersalami	11.11.2005	1,90E+06
Rindersalami	04.11.2005	5,20E+04
Haussalami	23.12.2005	3,80E+05
Rindersalami	23.12.2005	5,10E+05
Rindersalami	03.02.2006	5,10E+03
Kantsalami	13.02.2006	4,60E+05
Rindersalami	13.02.2006	1,40E+06

Tab. 29: Milchsäurebakterien (KbE/g) in kurzgereiften Bio- Rohwürsten am ersten Reifetag

Produkt	Datum	KbE/g
Bio- Feuerbeißer	29.07.2005	8,20E+03
Bio- Cacciatore	29.07.2005	8,40E+04
Bio- Feuerbeißer	12.08.2005	8,00E+03
Bio- Salamini	18.11.2005	5,20E+05
Bio- Feuerbeißer	23.11.2005	1,20E+06
Bio- Rohpolnische	09.12.2005	1,70E+06
Bio- Feuerbeißer	16.12.2005	6,60E+05
Bio- Feuerbeißer	02.01.2006	8,10E+05
Bio- Salamini	11.01.2006	7,60E+05
Bio- Feuerbeißer	20.01.2006	1,50E+06
Bio- Feuerbeißer	25.01.2006	1,20E+06
Bio- Salamini	27.01.2006	6,20E+04
Bio- Feuerbeißer	27.01.2006	3,80E+05
Bio- Feuerbeißer	03.02.2006	1,60E+06
Bio- Salamini	03.02.2006	9,60E+05
Bio- Feuerbeißer	03.02.2006	1,00E+06
Bio- Feuerbeißer	03.03.2006	3,20E+05

Tab. 30: Milchsäurebakterien (KbE/g) in kurzgereiften Bio- Rohwürsten- Endproduk-
ten

Produkt	Datum	Ergebnis
Feuerbeißer	08.07.2005	5,80E+03
Salamini	08.07.2005	4,80E+03
Rohpolnische	22.07.2005	5,20E+04
Salamini	22.07.2005	1,50E+03
Rohpolnische	02.08.2005	3,90E+04
Rohpolnische	05.08.2005	7,80E+03
Rohpolnische	12.08.2005	5,00E+03
Feuerbeißer	14.12.2005	1,30E+06
Salamini	21.12.2005	1,20E+06
Feuerbeißer	28.12.2005	2,30E+06
Feuerbeißer	11.01.2006	4,70E+03
Salamini	25.01.2006	8,60E+04
Feuerbeißer	11.01.2006	2,80E+03
Feuerbeißer	15.02.2006	3,20E+03
Feuerbeißer	03.03.2007	5,20E+04

Tab. 31: Milchsäurebakterien (KbE/g) in kurzgereiften konventionellen Rohwürsten am ersten Reifetag

Produkt	Datum	Ergebnis
Rohpolnische	05.08.2005	1,60E+03
Feuerbeißer	12.08.2005	7,40E+03
Rohpolnische	09.12.2005	9,30E+04
Feuerbeißer	16.12.2005	9,30E+05
Rohpolnische	16.12.2005	7,20E+05
Rohpolnische	23.12.2005	6,60E+05
Feuerbeißer	13.01.2006	6,90E+05
Rohpolnische	27.01.2006	5,50E+05
Feuerbeißer	27.01.2006	3,60E+04
Feuerbeißer	08.02.2006	8,00E+05

Tab. 32: Milchsäurebakterien (KbE/g) in kurzgereiften konventionellen Rohwürsten Endprodukt

Produkt	Datum	Ergebnis
Feuerbeißer	11.11.2005	1,60E+05
Rohpolnische	27.01.2006	7,40E+05
Salamini	13.02.2006	1,00E+06
Feuerbeißer	20.02.2006	7,20E+05
Salamini	20.02.2006	9,20E+05
Feuerbeißer	03.03.2006	3,70E+06
Salamini	08.03.2006	3,10E+03

8.2.1.2 Laktobazillen

Tab. 33: Laktobazillen (KbE/g) in langgereiften Bio- Rohwürsten am ersten Reifetag

Produkt	Datum	KbE/g
Bio- Rindersalami	15.07.2005	1,30E+03
"Bio- Big"- Salami	22.07.2005	3,50E+03
Bio- Rindersalami	22.07.2005	4,40E+03
"Bio- Big"- Salami	29.07.2005	1,10E+05
Bio- Rindersalami	12.08.2005	1,20E+04
Bio- Rindersalami	29.10.2005	1,30E+05
Bio- Rindersalami	29.10.2005	2,30E+04
Bio- Rindersalami	04.11.2005	1,70E+05
Bio- Rindersalami	11.11.2005	6,70E+05
Bio- Rindersalami	18.11.2005	6,00E+04
Bio- Rindersalami	18.11.2005	7,60E+04
Bio- Rindersalami	25.11.2005	8,20E+05
Bio- Rindersalami	09.12.2005	1,90E+06
Bio- Rindersalami	23.12.2005	5,90E+05
Bio- Rindersalami	29.12.2005	3,10E+05
Bio- Rindersalami	13.01.2006	9,60E+05
Bio- Rindersalami	20.01.2006	1,10E+06
Bio- Rindersalami	27.01.2006	1,40E+06
Bio- Rindersalami	27.01.2006	5,60E+05
Bio- Rindersalami	27.01.2006	1,40E+06
Bio- Rindersalami	03.02.2006	7,00E+05

Tab. 34: Laktobazillen (KbE/g) in langgereiften Bio- Rohwürsten am siebten Reife-
tag

Produkt	Datum	KbE/g
Bio- Rindersalami	15.07.2005	8,20E+03
Bio- Rindersalami	22.07.2005	1,80E+03
Bio- Rindersalami	05.08.2005	1,80E+05
Bio- Rindersalami	12.08.2005	2,80E+03
Bio- Rindersalami	12.08.2005	9,60E+03
Bio- Rindersalami	18.11.2005	6,20E+05
Bio- Rindersalami	25.11.2005	4,30E+04
Bio- Rindersalami	25.11.2005	2,00E+04
Bio- Rindersalami	02.12.2005	8,50E+05
Bio- Rindersalami	18.12.2005	1,90E+06
Bio- Rindersalami	23.12.2005	7,80E+05
Bio- Rindersalami	23.12.2005	5,20E+04
Bio- Rindersalami	27.12.2005	2,20E+06
Bio- Rindersalami	06.01.2006	1,10E+06
Bio- Rindersalami	13.01.2006	2,10E+06
Bio- Rindersalami	20.01.2006	4,20E+04
"Bio- Big"- Salami	27.01.2006	1,40E+06
Bio- Rindersalami	24.02.2006	1,30E+06

Tab. 35: Laktobazillen (KbE/g) in langgereiften Bio- Rohwürsten Enprodukt

Produkt	Datum	KbE/g
Bio- Rindersalami	25.11.2005	3,10E+03
Bio- Rindersalami	02.12.2005	2,36E+05
Bio- Rindersalami	09.12.2005	1,30E+06
Bio- Rindersalami	16.12.2005	1,40E+06
Bio- Rindersalami	05.01.2006	1,40E+05
Bio- Rindersalami	13.01.2006	1,00E+06
Bio- Rindersalami	16.12.2006	7,30E+06

Tab. 36: Laktobazillen (KbE/g) in langgereiften konventionellen Rohwürsten am ersten Reifetag

Produkt	Datum	KbE/g
Rindersalami	29.10.2005	1,20E+05
Rindersalami	04.11.2005	2,70E+04
Rindersalami	18.11.2005	8,20E+05
Rindersalami	18.11.2005	8,70E+04
Haussalami	03.12.2005	1,20E+04
Haussalami	23.12.2005	3,60E+05
Chilисalami	29.12.2005	3,20E+06
Rindersalami	20.01.2006	1,70E+06

Tab. 37: Laktobazillen (KbE/g) in langgereiften konventionellen Rohwürsten am siebten Reifetag

Produkt	Datum	KbE/g
Rindersalami	29.10.2005	1,10E+05
Rindersalami	18.11.2005	8,30E+05
Rindersalami	25.11.2005	4,00E+04
Rindersalami	18.12.2005	6,80E+03
Haussalami	23.12.2005	4,20E+04
Haussalami	27.12.2005	2,30E+05
Bistrosalami	13.01.2006	7,80E+05
Rindersalami	27.01.2006	1,70E+06
Rindersalami	10.02.2006	1,10E+06

Tab. 38: Laktobazillen (KbE/g) in langgereiften konventionelle Rohwürsten Endprodukt

Produkt	Datum	KbE/g
Rindersalami	28.11.2005	1,90E+06
Haussalami	23.12.2005	4,50E+04
Rindersalami	03.02.2006	8,70E+05
Kantsalami	13.02.2006	4,80E+04
Rindersalami	13.02.2006	5,20E+04

Tab. 39: Laktobazillen (KbE/g) in kurzgereiften Bio- Rohwürsten am ersten Reifetag

Produkt	Datum	KbE/g
Bio Feuerbeißer	29.07.2005	8,20E+03
Bio Cacciatore	29.07.2005	8,40E+04
Bio Feuerbeißer	12.08.2005	8,00E+03
Bio Salamini	18.11.2005	5,20E+05
Bio Feuerbeißer	23.11.2005	1,20E+06
Bio Rohpolnische	09.12.2005	1,70E+06
Bio Feuerbeißer	16.12.2005	6,60E+05
Bio Feuerbeißer	02.01.2006	8,10E+05
Bio Salamini	11.01.2006	7,60E+05
Bio Feuerbeißer	20.01.2006	1,50E+06
Bio Feuerbeißer	25.01.2006	1,20E+06
Bio Salamini	27.01.2006	6,20E+04
Bio Feuerbeißer	27.01.2006	3,80E+05
Bio Feuerbeißer	03.02.2006	1,60E+06
Bio Salamini	03.02.2006	9,60E+05
Bio Feuerbeißer	03.02.2006	1,00E+06
Bio Feuerbeißer	03.03.2006	3,20E+05

Tab. 40: Laktobazillen (KbE/g) in kurzgereiften Bio- Rohwürsten Endprodukt

Produkt	Datum	KbE/g
Bio Cacciatore	02.08.2005	1,40E+04
Bio Cacciatore	12.08.2005	1,40E+03
Bio Feuerbeißer	11.11.2005	9,80E+05
Bio Feuerbeißer	07.12.2005	9,00E+04
Bio Feuerbeißer	14.12.2005	1,60E+06
Bio Salamini	21.12.2005	1,30E+06
Bio Feuerbeißer	28.12.2005	2,80E+06
Bio Feuerbeißer	11.01.2006	2,40E+06

Tab. 41: Laktobazillen (KbE/g) in kurzgereiften konventionellen Rohwürsten am ersten Reifetag

Produkt	Datum	KbE/g
Feuerbeißer	04.11.2005	1,40E+05
Rohpolnische	09.12.2005	1,70E+06
Rohpolnische	16.12.2005	5,40E+05
Rohpolnische	23.12.2005	9,30E+05
Feuerbeißer	13.01.2006	1,30E+06
Rohpolnische	27.01.2006	9,20E+05
Feuerbeißer	27.01.2006	3,90E+04
Feuerbeißer	10.02.2006	1,20E+06

Tab. 42: Laktobazillen (KbE/g) in kurzgereiften konventionellen Rohwürsten Endprodukt

Produkt	Datum	KbE/g
Salamini	22.07.2005	2,50E+03
Rohpolnische	22.12.2005	2,90E+05
Feuerbeißer	20.02.2006	1,40E+03
Feuerbeißer	20.02.2006	1,20+E04
Salamini	20.02.2006	1,50+E04
Salamini	20.02.2006	5,30+E04
Salamini	08.03.2006	1,10E+06

8.2.1.3 *Enterobacteriaceae*

Tab. 43: *Enterobacteriaceae* (KbE/g) in langgereiften Bio- Rohwürsten am ersten Reifetag

Produkt	Datum	KbE/g
Bio- Rindersalami	08.07.2005	4,10E+02
Bio- Rindersalami	15.07.2005	2,80E+03
"Bio- Big" Salami	22.07.2005	2,00E+03
Bio Rindersalami	22.07.2005	2,30E+03
Bio Rindersalami	29.07.2005	4,90E+02
"Bio- Big" Salami	29.07.2005	0,00E+00
"Bio- Big" Salami	29.07.2005	1,90E+02
Bio Rindersalami	05.08.2005	3,20E+03
"Bio- Big" Salami	05.08.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	12.08.2005	1,10E+03
Bio Rindersalami	29.10.2005	7,40E+03
Bio Rindersalami	29.10.2005	1,00E+01
Bio Rindersalami	04.11.2005	7,40E+05
Bio Rindersalami	11.11.2005	3,10E+03
Bio Rindersalami	18.11.2005	4,00E+03
Bio Rindersalami	18.11.2005	3,60E+04
Bio Rindersalami	25.11.2005	2,20E+03
Bio Rindersalami	09.12.2005	1,80E+03
Bio Rindersalami	23.12.2005	2,20E+04
Bio Rindersalami	29.12.2005	2,20E+04
Bio Rindersalami	05.01.2006	0,00E+00
Bio Rindersalami	13.01.2006	1,20E+06
Bio Rindersalami	20.01.2006	7,40E+05
Bio Rindersalami	27.01.2006	3,00E+03
Bio Rindersalami	27.01.2006	0,00E+00
Bio Rindersalami	03.02.2006	4,20E+04
"Bio- Big" Salami	10.02.2006	7,00E+02
Bio Rindersalami	24.02.2006	6,40E+05
Bio Rindersalami	03.03.2006	2,70E+04

Tab. 44: *Enterobacteriaceae* (KbE/g) in langgereiften Bio- Rohwürsten am siebten Reifetag

Produkt	Datum	KbE/g
Bio Rindersalami	08.07.2005	5,20E+03
Bio Rindersalami	08.07.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	15.07.2005	3,00E+01
Bio Rindersalami	22.07.2005	5,70E+02
"Bio- Big" Salami	05.08.2005	1,70E+02
"Bio- Big" Salami	12.08.2005	6,50E+03
Bio Rindersalami	12.08.2005	2,00E+01
Bio Rindersalami	18.11.2005	1,80E+02
Bio Rindersalami	25.11.2005	2,70E+02
Bio Rindersalami	25.11.2005	2,60E+02
Bio Rindersalami	02.12.2005	7,00E+01
Bio Rindersalami	18.12.2005	5,20E+03
Bio Rindersalami	23.12.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	23.12.2005	2,00E+05
Bio Rindersalami	27.12.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	06.01.2006	2,10E+02
Bio Rindersalami	13.01.2006	8,50E+04
Bio Rindersalami	20.01.2006	0,00E+00
"Bio- Big" Salami	03.02.2006	0,00E+00
Bio Rindersalami	03.02.2006	0,00E+00
Bio Rindersalami	03.02.2006	1,50E+02
Bio Rindersalami	24.02.2006	1,60E+02

Tab. 45: *Enterobacteriaceae* (KbE/g) in langgereiften Bio- Rohwürsten Endprodukt

Produkt	Datum	KbE/g
Bio Rindersalami	08.07.2005	2,00E+01
Bio Rindersalami	08.07.2005	7,00E+02
Bio Rindersalami	02.08.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	11.11.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	18.11.2005	2,20E+02
Bio Rindersalami	25.11.2005	4,40E+02
Bio Rindersalami	02.12.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	09.12.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	16.12.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	23.12.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	05.01.2006	0,00E+00
Bio Rindersalami	13.01.2006	4,60E+03
Bio Rindersalami	16.12.2006	0,00E+00

Tab. 46: *Enterobacteriaceae* (KbE/g) in langgereiften konventionellen Rohwürsten am ersten Reifetag

Produkt	Datum	KbE/g
Rindersalami	29.10.2005	0,00E+00
Rindersalami	04.11.2005	1,10E+06
Rindersalami	18.11.2005	5,20E+04
Rindersalami	18.11.2005	2,00E+02
Haussalami	03.12.2005	3,00E+02
Haussalami	23.12.2005	0,00E+00
Rindersalami	20.01.2006	1,20E+04
Rindersalami	10.02.2006	2,60E+03
Rindersalami	10.02.2006	0,00E+00
Rindersalami	03.03.2006	9,20E+02
Rindersalami	03.03.2006	2,80E+04
Rindersalami	10.03.2006	0,00E+00

Tab. 47: *Enterobacteriaceae* (KbE/g) in langgereiften konventionellen Rohwürsten am siebten Reifetag

Produkt	Datum	KbE/g
Rindersalami	29.10.2005	9,40E+02
Rindersalami	18.11.2005	4,60E+02
Haussalami	25.11.2005	3,20E+03
Rindersalami	25.11.2005	0,00E+00
Rindersalami	18.12.2005	0,00E+00
Haussalami	23.12.2005	0,00E+00
Haussalami	27.12.2005	0,00E+00
Rindersalami	27.01.2006	1,80E+03
Rindersalami	10.02.2006	0,00E+00
Rindersalami	17.02.2006	2,20E+04
Haussalami	24.02.2006	0,00E+00
Rindersalami	03.03.2006	2,40E+04

Tab. 48: *Enterobacteriaceae* (KbE/g) in langgereiften konventionelle Rohwürsten Endprodukt

Produkt	Datum	KbE/g
Rindersalami	04.11.2005	2,30E+02
Rindersalami	03.02.2005	2,70E+02
Rindersalami	28.11.2005	0,00E+00
Haussalami	23.12.2005	0,00E+00
Rindersalami	23.12.2005	4,00E+02
Rindersalami	03.02.2006	6,20E+05
Kantsalami	03.02.2006	0,00E+00
Rindersalami	13.02.2006	0,00E+00
Kantsalami	13.02.2006	2,60E+05
Rindersalami	13.02.2006	3,00E+05

Tab. 49: *Enterobacteriaceae* (KbE/g) in kurzgereiften Bio- Rohwürsten am ersten Reifetag

Produkt	Datum	KbE/g
Bio Cacciatore	08.07.2005	2,40E+03
Bio Feuerbeißer	15.07.2005	1,60E+03
Bio Cacciatore	22.07.2005	0,00E+00
Bio Feuerbeißer	29.07.2005	9,00E+02
Bio Cacciatore	29.07.2005	7,20E+03
Bio Feuerbeißer	12.08.2005	4,80E+03
Bio Salamini	18.11.2005	6,50E+03
Bio Feuerbeißer	23.11.2005	7,60E+03
Bio Feuerbeißer	15.12.2005	5,80E+04
Bio Feuerbeißer	16.12.2005	0,00E+00
Bio Rohpolnische	16.12.2005	3,20E+04
Bio Feuerbeißer	23.12.2005	1,10E+05
Bio Feuerbeißer	02.01.2006	0,00E+00
Bio Salamini	11.01.2006	0,00E+00
Bio Feuerbeißer	20.01.2006	0,00E+00
Bio Feuerbeißer	25.01.2006	8,00E+01
Bio Rohpolnische	27.01.2006	4,90E+04
Bio Salamini	27.01.2006	5,20E+03
Bio Feuerbeißer	27.01.2006	6,00E+01
Bio Feuerbeißer	03.02.2006	1,50E+02
Bio Salamini	03.02.2006	5,00E+02
Bio Feuerbeißer	03.02.2006	0,00E+00
Bio Feuerbeißer	10.02.2006	0,00E+00
Bio Feuerbeißer	03.03.2006	5,50E+02

Tab. 50: *Enterobacteriaceae* (KbE/g) in kurzgereiften Bio- Rohwürsten
Endprodukt

Produkt	Datum	KbE/g
Bio Salamini	08.07.2005	0,00E+00
Bio Feuerbeißer	08.07.2005	0,00E+00
Bio Cacciatore	02.08.2005	0,00E+00
Bio Cacciatore	05.08.2005	6,20E+02
Bio Cacciatore	12.08.2005	3,00E+01
Bio Feuerbeißer	11.11.2005	1,80E+03
Bio Feuerbeißer	07.12.2005	6,40E+03
Bio Feuerbeißer	14.12.2005	0,00E+00
Bio Salamini	21.12.2005	0,00E+00
Bio Feuerbeißer	28.12.2005	0,00E+00
Bio Feuerbeißer	11.01.2006	0,00E+00
Bio Salamini	15.02.2006	0,00E+00
Bio Feuerbeißer	03.03.2006	5,50E+02

Tab. 51: *Enterobacteriaceae* (KbE/g) in kurzgereiften konventionellen Rohwürsten am ersten Reifetag

Produkt	Datum	KbE/g
Cacciatore	29.07.2005	7,20E+03
Rohpolnische	05.08.2005	1,80E+04
Feuerbeißer	04.11.2005	1,20E+04
Rohpolnische	09.12.2005	0,00E+00
Rohpolnische	16.12.2005	3,20E+04
Rohpolnische	23.12.2005	1,10E+05
Feuerbeißer	13.01.2006	0,00E+00
Feuerbeißer	14.12.2005	0,00E+00
Rohpolnische	27.01.2006	4,90E+04
Feuerbeißer	27.01.2006	3,00E+03
Feuerbeißer	24.02.2006	0,00E+00
Rohpolnische	03.03.2006	4,20E+04
Feuerbeißer	08.02.2006	0,00E+00

Tab. 52: *Enterobacteriaceae* (KbE/g) in kurzgereiften konventionellen Rohwürsten Endprodukt

Produkt	Datum	KbE/g
Salamini	22.07.2005	0,00E+00
Rohpolnische	22.12.2005	1,00E+04
Rohpolnische	23.12.2005	9,60E+03
Salamini	06.02.2006	5,10E+02
Feuerbeißer	06.02.2006	0,00E+00
Feuerbeißer	20.02.2006	4,20E+04
Feuerbeißer	20.02.2006	4,70E+03
Salamini	20.02.2006	4,20E+03
Salamini	20.02.2006	3,30E+04
Cacciatore	24.02.2006	7,20E+03
Salamini	08.03.2006	0,00E+00

8.2.1.4 *Escherichia coli*

Tab. 53: *E. coli* (KbE/g) in langgereiften Bio- Rohwürsten am ersten Reifetag

Produkt	Datum	KbE/g
Bio Rindersalami	10.06.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	10.06.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	24.06.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	08.07.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	15.07.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	22.07.2005	0,00E+00
"Bio- Big" Salami	22.07.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	29.07.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	29.07.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	29.07.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	05.08.2005	0,00E+00
"Bio- Big" Salami	05.08.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	12.08.2005	1,00E+01
Bio Rindersalami	19.08.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	19.08.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	29.10.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	29.10.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	04.11.2005	3,00E+01
Bio Rindersalami	11.11.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	18.11.2005	2,00E+01
Bio Rindersalami	18.11.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	25.11.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	09.12.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	23.12.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	29.12.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	27.01.2006	0,00E+00
Bio Rindersalami	27.01.2006	0,00E+00
Bio Rindersalami	24.02.2006	0,00E+00
Bio Rindersalami	03.03.2006	1,00E+01

Tab. 54: *E. coli* (KbE/g) in langgereiften Bio- Rohwürsten am siebten Reifetag

Produkt	Datum	KbE/g
Bio Rindersalami	24.06.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	08.07.2005	2,00E+01
Bio Rindersalami	15.07.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	22.07.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	05.08.2005	0,00E+00
"Bio- Big" Salami	12.08.2005	1,00E+01
Bio Rindersalami	12.08.2005	0,00E+00
"Bio- Big" Salami	19.08.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	19.08.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	18.11.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	25.11.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	25.11.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	02.12.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	18.12.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	23.12.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	23.12.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	27.12.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	06.01.2006	0,00E+00
Bio Rindersalami	20.01.2006	0,00E+00
Bio Rindersalami	24.02.2006	0,00E+00

Tab. 55: *E. coli* (KbE/g) in langgereiften Bio- Rohwürsten Endprodukt

Produkt	Datum	KbE/g
Bio Rindersalami	08.07.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	08.07.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	02.08.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	11.11.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	18.11.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	25.11.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	02.12.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	09.12.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	23.12.2005	0,00E+00
Bio Rindersalami	05.01.2006	0,00E+00
Bio Rindersalami	13.01.2006	0,00E+00

Tab. 56: *E. coli* (KbE/g) in langgereiften konventionellen Rohwürsten am ersten Reifetag

Produkt	Datum	KbE/g
Rindersalami	29.10.2005	0,00E+00
Rindersalami	04.11.2005	2,80E+02
Rindersalami	18.11.2005	0,00E+00
Rindersalami	18.11.2005	1,00E+01
Haussalami	03.12.2005	0,00E+00
Rindersalami	20.01.2006	4,00E+01
Rindersalami	10.02.2006	0,00E+00
Rindersalami	03.03.2006	2,00E+01
Rindersalami	10.03.2006	0,00E+00

Tab. 57: *E. coli* (KbE/g) in langgereiften konventionellen Rohwürsten am siebten Reifetag

Produkt	Datum	KbE/g
Rindersalami	29.10.2005	0,00E+00
Rindersalami	18.11.2005	0,00E+00
Haussalami	25.11.2005	1,00E+01
Rindersalami	25.11.2005	0,00E+00
Rindersalami	18.12.2005	0,00E+00
Haussalami	23.12.2005	0,00E+00
Haussalami	27.12.2005	0,00E+00
Bistrosalami	13.01.2006	3,00E+01
Rindersalami	10.02.2006	0,00E+00
Haussalami	24.02.2006	0,00E+00

Tab. 58: *E. coli* (KbE/g) in langgereiften konventionelle Rohwürsten Endprodukt

Produkt	Datum	KbE/g
Rindersalami	03.02.2005	0,00E+00
Rindersalami	04.11.2005	0,00E+00
Rindersalami	28.11.2005	1,00E+01
Haussalami	23.12.2005	0,00E+00
Rindersalami	23.12.2005	0,00E+00
Haussalami	03.02.2006	1,40E+02
Kantsalami	03.02.2006	0,00E+00
Rindersalami	13.02.2006	0,00E+00
Kantsalami	13.02.2006	0,00E+00
Rindersalami	13.02.2006	0,00E+00

Tab. 59: *E. coli* (KbE/g) in kurzgereiften Bio- Rohwürsten am ersten Reifetag

Produkt	Datum	KbE/g
Bio Feuerbeißer	10.06.2005	0,00E+00
Bio Salamini	24.06.2005	0,00E+00
Bio Feuerbeißer	01.07.2005	1,00E+02
Bio Cacciatore	08.07.2005	2,00E+02
Bio Feuerbeißer	15.07.2005	5,00E+01
Bio Cacciatore	22.07.2005	0,00E+00
Bio Feuerbeißer	29.07.2005	8,00E+01
Bio Cacciatore	29.07.2005	6,60E+02
Bio Cacciatore	05.08.2005	1,00E+02
Bio Feuerbeißer	12.08.2005	0,00E+00
Bio Salamini	18.11.2005	0,00E+00
Bio Feuerbeißer	23.11.2005	0,00E+00
Bio Feuerbeißer	02.01.2006	1,20E+02
Bio Salamini	27.01.2006	0,00E+00
Bio Feuerbeißer	27.01.2006	0,00E+00
Bio Feuerbeißer	03.02.2006	0,00E+00
Bio Salamini	15.02.2006	0,00E+00
Bio Feuerbeißer	03.03.2006	0,00E+00

Tab. 60: *E. coli* (KbE/g) in kurzgereiften Bio- Rohwürsten Endprodukt

Produkt	Datum	KbE/g
Bio Salamini	08.07.2005	0,00E+00
Bio Feuerbeißer	08.07.2005	0,00E+00
Bio Cacciatore	02.08.2005	0,00E+00
Bio Cacciatore	05.08.2005	1,30E+02
Bio Cacciatore	19.08.2005	0,00E+00
Bio Feuerbeißer	11.11.2005	1,00E+01
Bio Feuerbeißer	07.12.2005	1,00E+01
Bio Feuerbeißer	14.12.2005	0,00E+00
Bio Salamini	21.12.2005	0,00E+00
Bio Feuerbeißer	28.12.2005	0,00E+00
Bio Salamini	27.01.2006	0,00E+00
Bio Feuerbeißer	27.01.2006	0,00E+00
Bio Cacciatore	27.01.2006	1,30E+02
Bio Salamini	15.02.2006	0,00E+00

Tab. 61: *E. coli* (KbE/g) in kurzgereiften konventionellen Rohwürsten am ersten Reifetag

Produkt	Datum	KbE/g
Rohpolnische	05.08.2005	0,00E+00
Feuerbeißer	19.08.2005	0,00E+00
Cacciatora	19.08.2005	0,00E+00
Feuerbeißer	04.11.2005	8,00E+01
Rohpolnische	09.12.2005	0,00E+00
Rohpolnische	16.12.2005	3,00E+01
Rohpolnische	23.12.2005	0,00E+00
Feuerbeißer	13.01.2006	0,00E+00
Rohpolnische	27.01.2006	0,00E+00
Feuerbeißer	27.01.2006	0,00E+00
Feuerbeißer	08.02.2006	0,00E+00
Feuerbeißer	10.02.2006	0,00E+00

Tab. 62: *E. coli* (KbE/g) in kurzgereiften konventionellen Rohwürsten Endprodukt

Produkt	Datum	KbE/g
Salamini	22.07.2005	0,00E+00
Cacciatore	19.08.2005	0,00E+00
Feuerbeißer	19.08.2005	0,00E+00
Rohpolnische	22.12.2005	0,00E+00
Rohpolnische	23.12.2005	0,00E+00
Salamini	06.02.2006	0,00E+00
Feuerbeißer	06.02.2006	0,00E+00
Feuerbeißer	20.02.2006	0,00E+00
Feuerbeißer	20.02.2006	0,00E+00
Salamini	20.02.2006	0,00E+00
Salamini	20.02.2006	0,00E+00
Salamini	08.03.2006	0,00E+00

8.2.1.5 STEC

Tab. 63: STEC in Bio Schlachtkörpern

Datum	Ergebnis		Datum	Ergebnis
01.06.2005	neg		27.07.2005	neg
02.06.2005	neg		03.08.2005	neg
03.06.2005	neg		03.08.2005	neg
04.06.2005	neg		10.08.2005	neg
05.06.2005	neg		10.08.2005	neg
06.06.2005	neg		17.08.2005	neg
07.06.2005	neg		29.10.2005	neg
08.06.2005	neg		02.11.2005	neg
08.06.2005	neg		14.11.2005	neg
08.06.2005	neg		23.11.2005	neg
08.06.2005	neg		23.11.2005	neg
08.06.2005	neg		30.11.2005	neg
08.06.2005	neg		30.11.2005	neg
08.06.2005	neg		07.12.2005	neg
09.06.2005	neg		15.12.2005	stx 1 + stx 2
10.06.2005	neg		15.12.2005	neg
15.06.2005	neg		21.12.2005	stx 2
15.06.2005	Stx2		21.12.2005	neg
15.06.2005	neg		27.12.2005	neg
15.06.2005	neg		04.01.2006	neg
22.06.2005	neg		11.01.2006	neg
22.06.2005	neg		11.01.2006	neg
22.06.2005	neg		18.01.2006	neg
29.06.2005	neg		18.01.2006	neg
29.06.2005	neg		25.01.2006	neg
29.06.2005	neg		25.01.2006	neg
06.07.2005	neg		30.01.2006	neg
06.07.2005	Stx2		02.02.2006	neg
13.07.2005	neg		02.02.2006	neg
13.07.2005	neg		02.02.2006	neg

20.07.2005	neg		08.02.2006	neg
20.07.2005	neg		22.02.2006	neg
27.07.2005	neg			

Tab. 64: STEC in Schlachtkörpern konventionell

Datum	Ergebnis		Datum	Ergebnis
06.07.2005	neg		23.11.2005	neg
06.07.2005	neg		23.11.2005	neg
13.07.2005	neg		30.11.2005	neg
13.07.2005	neg		07.12.2005	neg
20.07.2005	neg		12.12.2005	stx 2
20.07.2005	neg		12.12.2005	neg
27.07.2005	neg		27.12.2005	neg
27.07.2005	neg		02.01.2006	neg
27.07.2005	neg		09.01.2006	neg
27.07.2005	neg		18.01.2006	neg
03.08.2005	neg		25.01.2006	neg
10.08.2005	neg		08.02.2006	neg
10.08.2005	neg		08.02.2006	neg
17.08.2005	neg		22.02.2006	neg
14.11.2005	neg			
23.11.2005	neg			

Tab. 65: STEC nach der Zerlegung Bio

Datum	Ergebnis		Datum	Ergebnis
03.06.2005	neg		15.07.2005	neg
04.06.2005	neg		22.07.2005	neg
05.06.2005	neg		22.07.2005	neg
06.06.2005	neg		29.07.2005	neg
10.06.2005	neg		29.07.2005	neg
10.06.2005	neg		12.08.2005	neg
10.06.2005	neg		12.08.2005	neg
10.06.2005	neg		19.08.2005	neg
17.06.2005	neg		29.10.2005	neg
17.06.2005	neg		04.11.2005	neg
17.06.2005	neg		17.11.2005	neg
24.06.2005	neg		17.11.2005	neg
24.06.2005	neg		09.12.2005	neg
24.06.2005	neg		22.12.2005	neg
24.06.2005	neg		22.12.2005	neg
01.07.2005	neg		20.01.2006	neg
01.07.2005	neg		27.01.2006	neg
01.07.2005	neg		30.01.2006	neg
08.07.2005	neg		30.01.2006	neg
15.07.2005	neg		17.02.2006	neg

Tab. 66: STEC nach der Zerlegung konventionell

Datum	Ergebnis
08.07.2005	neg
15.07.2005	neg
22.07.2005	neg
29.07.2005	neg
05.08.2005	neg
12.08.2005	neg
19.08.2005	neg
11.11.2005	neg
16.11.2005	neg
25.11.2005	neg
02.12.2005	neg
09.12.2005	neg
16.12.2005	neg
16.12.2005	neg
22.12.2005	neg
27.12.2005	neg
27.12.2005	neg
09.01.2006	neg
20.01.2006	neg
02.02.2006	neg
17.02.2006	neg
17.02.2006	neg
24.02.2006	neg

Tab. 67: STEC in langgereiften Bio Rohwürsten am ersten Reifetag

Produkt	Datum	Ergebnis
Bio Rindersalami	10.06.2005	neg
Bio Rindersalami	11.06.2005	neg
Bio Rindersalami	17.06.2005	neg
Bio Rindersalami	17.06.2005	neg
Bio Rindersalami	17.06.2005	neg
Bio Rindersalami	24.06.2005	neg
Bio Rindersalami	01.07.2005	neg
Bio Rindersalami	08.07.2005	neg
Bio Rindersalami	15.07.2005	neg
Bio Rindersalami	22.07.2005	neg
Bio Rindersalami	29.07.2005	neg
"Bio Big" Salami	29.07.2005	neg
Bio Rindersalami	05.08.2005	neg
"Bio Big" Salami	05.08.2005	neg
Bio Rindersalami	12.08.2005	neg
"Bio Big" Salami	19.08.2005	neg
Bio Rindersalami	19.08.2005	neg
Bio Rindersalami	11.11.2005	neg
Bio Rindersalami	18.11.2005	neg
Bio Rindersalami	18.11.2005	neg
Bio Rindersalami	25.11.2005	neg
Bio Rindersalami	02.12.2005	neg
Bio Rindersalami	09.12.2005	neg
Bio Rindersalami	23.12.2005	neg
Bio Rindersalami	23.12.2005	neg
Bio Rindersalami	20.01.2006	neg
Bio Rindersalami	27.01.2006	neg
Bio Rindersalami	27.01.2006	neg
Bio Rindersalami	03.02.2006	neg
Bio Rindersalami	03.02.2006	neg
"Bio Big" Salami	10.02.2006	neg

Tab. 68: STEC in langgereiften Bio Rohwürsten am siebten Reifetag

Produkt	Datum	Ergebnis
Bio- Rindersalami	17.06.2005	neg
Bio- Rindersalami	24.06.2005	neg
Bio- Rindersalami	11.09.2005	neg
Bio- Rindersalami	24.11.2005	neg
Bio- Rindersalami	25.11.2005	neg
Bio- Rindersalami	02.12.2005	neg
Bio- Rindersalami	11.12.2005	neg
Bio- Rindersalami	18.12.2005	neg
Bio- Rindersalami	27.12.2005	neg
Bio- Rindersalami	06.01.2006	neg
Bio- Rindersalami	13.01.2006	neg
Bio- Rindersalami	20.01.2006	neg
"Bio- Big" Salami	20.01.2006	neg
"Bio- Big" Salami	03.02.2006	neg
"Bio- Big" Salami	03.02.2006	neg
Bio- Rindersalami	03.02.2006	neg

Tab. 69: STEC in langgereiften Bio- Rohwürsten Endprodukt

Produkt	Datum	Ergebnis
Bio Rindersalami	08.07.2005	neg
Bio Rindersalami	13.07.2005	neg
Bio Rindersalami	22.07.2005	neg
Bio Rindersalami	02.08.2005	neg
Bio Rindersalami	09.08.2005	neg
Bio Rindersalami	11.11.2005	neg
Bio Rindersalami	11.11.2005	neg
Bio Rindersalami	18.11.2005	neg
Bio Rindersalami	25.11.2005	neg
Bio Rindersalami	02.12.2005	neg
Bio Rindersalami	09.12.2005	neg
Bio Rindersalami	16.12.2005	neg
Bio Rindersalami	16.12.2005	neg
Bio Rindersalami	23.12.2005	neg

Tab. 70: STEC in kurzgereiften Bio- Rohwürsten am ersten Reifetag

Produkt	Datum	Ergebnis
Bio Feuerbeißer	06.05.2005	neg
Bio Feuerbeißer	10.06.2005	neg
Bio Salamini	24.06.2005	neg
Bio Feuerbeißer	01.07.2005	neg
Bio Cacciatore	08.07.2005	neg
Bio Feuerbeißer	15.07.2005	neg
Bio Feuerbeißer	19.07.2005	neg
Bio Cacciatore	22.07.2005	neg
Bio Cacciatore	29.07.2005	neg
Bio Cacciatore	05.08.2005	neg
Bio Feuerbeißer	11.11.2005	neg
Bio Feuerbeißer	23.11.2005	neg
Bio Feuerbeißer	15.12.2005	neg
Bio Feuerbeißer	02.01.2006	neg
Bio Feuerbeißer	20.01.2006	neg
Bio Salamini	27.01.2006	neg
Bio Feuerbeißer	27.01.2006	neg
Bio Feuerbeißer	03.02.2006	neg
Bio Salamini	03.02.2006	neg
Bio Feuerbeißer	10.02.2006	neg
Bio Feuerbeißer	10.02.2006	neg
Bio Feuerbeißer	03.03.2006	neg

Tab. 71: STEC in kurzgereiften Bio- Rohwürsten Endprodukt

Produkt	Datum	Ergebnis
Bio Salamini	08.07.2005	neg
Bio Feuerbeißer	08.07.2005	neg
Bio Cacciatore	22.07.2005	neg
Bio Cacciatore	02.08.2005	neg
Bio Cacciatore	05.08.2005	neg
Bio Cacciatore	12.08.2005	neg
Bio Cacciatore	19.08.2005	neg
Bio Feuerbeißer	11.11.2005	neg
Bio Feuerbeißer	07.12.2005	stx 2
Bio Feuerbeißer	14.12.2005	neg
Bio Salamini	21.12.2005	neg
Bio Feuerbeißer	28.12.2005	neg
Bio Feuerbeißer	11.01.2006	neg
Bio Salamini	11.01.2006	neg
Bio Feuerbeißer	25.01.2006	neg
Bio Cacciatore	27.01.2006	neg
Bio Feuerbeißer	15.02.2006	neg
Bio Salamini	08.03.2006	neg

Tab. 72: STEC in langgereiften konventionellen Rohwürsten am ersten Reifetag

Produkt	Datum	Ergebnis
Rindersalami	29.11.2005	neg
Rindersalami	11.11.2005	neg
Rindersalami	18.11.2005	neg
Rindersalami	17.11.2005	neg
Haussalami	03.12.2005	neg
Haussalami	23.12.2005	neg
Chilисalami	29.12.2005	neg
Bistrosalami	13.01.2006	neg
Rindersalami	20.01.2006	neg
Rindersalami	10.06.2005	neg
Rindersalami	10.06.2005	neg
Rindersalami	10.02.2006	neg
Rindersalami	03.03.2006	neg
Rindersalami	04.03.2006	neg
Rindersalami	10.03.2007	neg

Tab. 73: STEC in langgereiften konventionellen Rohwürsten am siebten Reifetag

Produkt	Datum	Ergebnis
Rindersalami	10.11.2005	neg
Rindersalami	24.11.2005	neg
Rindersalami	24.11.2005	neg
Haussalami	03.12.2005	neg
Haussalami	18.12.2005	neg
Rindersalami	18.12.2005	neg
Haussalami	24.12.2005	neg
Haussalami	27.12.2005	neg
Bistrosalami	13.01.2006	neg
Rindersalami	27.01.2006	neg
Rindersalami	10.02.2006	neg
Rindersalami	17.02.2006	neg
Rindersalami	03.03.2006	neg

Tab. 74: STEC in langgereiften konventionellen Rohwürsten Endprodukt

Produkt	Datum	Ergebnis
Rindersalami	10.11.2005	neg
Rindersalami	24.11.2005	neg
Rindersalami	24.11.2005	neg
Haussalami	03.12.2005	neg
Haussalami	18.12.2005	neg
Rindersalami	18.12.2005	neg
Haussalami	24.12.2005	neg
Haussalami	27.12.2005	neg
Bistrosalami	13.01.2006	neg
Rindersalami	27.01.2006	neg
Rindersalami	10.02.2006	neg
Rindersalami	17.02.2006	neg
Rindersalami	03.03.2006	neg

Tab. 75: STEC in kurzgereiften konventionellen Rohwürsten erster Reifetag

Produkt	Datum	Ergebnis
Feuerbeißer	23.11.2005	neg
Rohpolnische	09.12.2005	neg
Feuerbeißer	16.12.2005	neg
Rohpolnische	16.12.2005	neg
Rohpolnische	23.12.2005	neg
Feuerbeißer	13.01.2006	neg
Rohpolnische	27.01.2006	neg
Feuerbeißer	27.01.2006	neg
Feuerbeißer	25.12.2005	neg
Rohpolnische	03.03.2006	neg
Salamini	03.03.2006	neg
Feuerbeißer	08.02.2006	neg

Tab. 76: STEC in kurzgereiften konventionellen Rohwürsten Endprodukt

Produkt	Datum	Ergebnis
Salamini	06.02.2007	neg
Feuerbeißer	06.02.2007	neg
Salamini	13.02.2007	neg
Feuerbeißer	20.02.2007	neg
Salamini	20.02.2007	neg
Cacciatore	24.02.2007	neg
Feuerbeißer	03.03.2007	neg
Salamini	08.03.2007	neg
Rohpolnische	22.12.2007	neg
Rohpolnische	23.12.2007	stx 1

8.2.1.6 Wasseraktivität

Tab. 77: Wasseraktivität langgereifter Bio- Rohwürste am ersten Reifetag

Produkt	Datum	Ergebnis
Bio Rindersalami	01.07.2005	0,984
Bio Rindersalami	08.07.2005	0,935
Bio Rindersalami	08.07.2005	0,932
Bio Rindersalami	15.07.2005	0,821
Bio Rindersalami	15.07.2005	0,819
Bio Rindersalami	05.08.2005	0,852
"Bio Big" Salami	05.08.2005	0,852
Bio Rindersalami	12.08.2005	0,876
Bio Rindersalami	12.08.2005	0,880
Bio Rindersalami	09.12.2005	0,908
Bio Rindersalami	11.11.2005	0,842
Bio Rindersalami	23.12.2005	0,874
Bio Rindersalami	29.12.2005	0,830
Bio Rindersalami	20.01.2006	0,950
Bio Rindersalami	27.01.2006	0,936
Bio Rindersalami	27.01.2006	0,921

Tab. 78: Wasseraktivität langgereifter Bio- Rohwürste am siebten Reifetag

Produkt	Datum	Ergebnis
Bio Rindersalami	08.07.2005	0,935
Bio Rindersalami	08.07.2005	0,815
Bio Rindersalami	15.07.2005	0,819
Bio Rindersalami	05.08.2005	0,880
Bio Big Salami	12.08.2005	0,842
Bio Rindersalami	12.08.2005	0,880
Bio Rindersalami	02.12.2005	0,895
Bio Rindersalami	23.12.2005	0,915
Bio Rindersalami	23.12.2005	0,902
Bio Rindersalami	18.12.2005	0,876
Bio Rindersalami	27.12.2005	0,693
Bio Rindersalami	13.01.2006	0,944

Tab. 79: Wasseraktivität langgereifter Bio- Rohwürste Endprodukt

Produkt	Datum	Ergebnis
Bio Rindersalami	08.07.2005	0,897
Bio Rindersalami	08.07.2005	0,712
Bio Rindersalami	18.11.2005	0,881
Bio Rindersalami	16.12.2005	0,819
Bio Rindersalami	16.12.2006	0,854
Bio Rindersalami	23.12.2005	0,836

Tab. 80: Wasseraktivität kurzgereifter Bio- Rohwürste erster Reifetag

Produkt	Datum	Ergebnis
Bio Cacciatore	08.07.2005	0,963
Bio Feuerbeißer	08.07.2005	0,898
Bio Feuerbeißer	15.07.2005	0,845
Bio Cacciatore	22.07.2005	0,968
Bio Cacciatore	05.08.2005	0,879
Bio Feuerbeißer	12.08.2005	0,897
Bio Feuerbeißer	15.12.2005	0,917
Bio Feuerbeißer	16.12.2005	0,889
Bio Feuerbeißer	02.01.2006	0,805
Bio Feuerbeißer	20.01.2006	0,913

Tab. 81: Wasseraktivität kurzgereifter Bio- Rohwürste Endprodukt

Produkt	Datum	Ergebnis
Bio Salamini	08.07.2005	0,946
Bio Feuerbeißer	08.07.2005	0,898
Bio Cacciatore	05.08.2005	0,839
Bio Cacciatore	12.08.2005	0,864

Tab. 82: Wasseraktivität konventioneller Rohwürste

Produkt	Datum	Ergebnis
Rohpolnische Tag 1	05.08.2005	0,885
Cacciatore Tag 1	19.08.2005	0,954
Rindersalami Endpr.	04.11.2005	0,854
Rindersalami Endpr.	28.11.2005	0,779
Rohpolnische Tag 1	09.12.2005	0,896
Rohpolnische Tag 1	16.12.2005	0,872
Rindersalami Tag 7	18.12.2005	0,830
Rohpolnische Endpr.	22.12.2005	0,783
Rohpolnische Tag 1	23.12.2005	0,859
Rohpolnische Endpr.	23.12.2005	0,770
Haussalami Tag 1	23.12.2005	0,852
Haussalami Tag 7	23.12.2005	0,833
Haussalami Endpr.	23.12.2005	0,822
Rindersalami Endpr.	23.12.2005	0,882
Chilисalami Tag 1	29.12.2005	0,823

8.2.1.7 pH- Wert

Tab. 83: pH- Werte langgereifter Bio- Rohwürste erster Reifetag

Produkt	Datum	Ergebnis
Bio Rindersalami	24.06.2005	5,60
Bio Rindersalami	01.07.2005	5,56
Bio Rindersalami	08.07.2005	5,30
Bio Rindersalami	15.07.2005	5,26
"Bio Big" Salami	22.07.2005	5,26
Bio Rindersalami	22.07.2005	4,90
Bio Rindersalami	29.07.2005	5,40
"Bio Big" Salami	29.07.2005	4,99
"Bio Big" Salami	29.07.2005	5,25
Bio Rindersalami	05.08.2005	5,62
"Bio Big" Salami	05.08.2005	5,45
Bio Rindersalami	12.08.2005	5,61
Bio Rindersalami	29.10.2005	5,39
Bio Rindersalami	29.10.2005	4,81
Bio Rindersalami	04.11.2005	5,42
Bio Rindersalami	11.11.2005	5,48
Bio Rindersalami	18.11.2005	5,48
Bio Rindersalami	18.11.2005	5,08
Bio Rindersalami	25.11.2005	5,59
Bio Rindersalami	09.12.2005	5,58
Bio Rindersalami	23.12.2005	5,66
Bio Rindersalami	29.12.2005	6,60
Bio Rindersalami	13.01.2006	5,63
Bio Rindersalami	20.01.2006	5,62
Bio Rindersalami	27.01.2006	5,59
Bio Rindersalami	27.01.2006	5,14
Bio Rindersalami	03.02.2006	5,69

Tab. 84: pH- Werte langgereifter Bio- Rohwürste siebter Reifetag

Produkt	Datum	Ergebnis
Bio Rindersalami	24.06.2005	4,86
Bio Rindersalami	01.07.2005	4,89
Bio Rindersalami	08.07.2005	4,78
Bio Rindersalami	08.07.2005	5,26
Bio Rindersalami	15.07.2005	4,82
Bio Rindersalami	22.07.2005	5,04
Bio Rindersalami	05.08.2005	4,90
"Bio Big" Salami	12.08.2005	4,92
Bio Rindersalami	12.08.2005	4,94
Bio Rindersalami	18.11.2005	4,94
Bio Rindersalami	25.11.2005	5,31
Bio Rindersalami	25.11.2005	4,76
Bio Rindersalami	02.12.2005	5,05
Bio Rindersalami	18.12.2005	4,97
Bio Rindersalami	23.12.2005	5,60
Bio Rindersalami	23.12.2005	5,02
Bio Rindersalami	27.12.2005	5,07
Bio Rindersalami	06.01.2006	5,01
Bio Rindersalami	13.01.2006	5,04
Bio Rindersalami	20.01.2006	5,02

Tab. 85: pH- Werte langgereifter Bio- Rohwürste Endprodukt

Produkt	Datum	Ergebnis
Bio Rindersalami	08.07.2005	5,48
Bio Rindersalami	08.07.2005	5,57
Bio Rindersalami	02.08.2005	5,13
Bio Rindersalami	11.11.2005	4,79
Bio Rindersalami	18.11.2005	5,33
Bio Rindersalami	25.11.2005	5,22
Bio Rindersalami	02.12.2005	6,01
Bio Rindersalami	09.12.2005	5,07
Bio Rindersalami	16.12.2005	5,35
Bio Rindersalami	23.12.2005	5,31
Bio Rindersalami	16.12.2006	5,44

Tab. 86: pH- Werte langgereifter konventioneller Rohwürste erster Reifetag

Produkt	Datum	Ergebnis
Rindersalami	29.10.2005	5,21
Rindersalami	04.11.2005	5,29
Rindersalami	18.11.2005	5,35
Rindersalami	18.11.2005	4,95
Haussalami	03.12.2005	4,76
Haussalami	23.12.2005	6,03
Chilисalami	29.12.2005	5,01
Rindersalami	20.01.2006	5,20
Rindersalami	03.03.2006	5,38

Tab. 87: pH- Werte langgereifter konventioneller Rohwürste siebter Reifetag

Produkt	Datum	Ergebnis
Rindersalami	29.10.2005	4,85
Rindersalami	18.11.2005	4,99
Haussalami	25.11.2005	5,50
Rindersalami	25.11.2005	4,78
Rindersalami	18.12.2005	5,06
Haussalami	23.12.2005	5,08
Haussalami	27.12.2005	5,20
Bistrosalami	13.01.2006	5,77
Bistrosalami	13.01.2006	5,06
Rindersalami	27.01.2006	5,08

Tab. 88: pH- Werte langgereifter konventioneller Rohwürste Endprodukt

Produkt	Datum	Ergebnis
Rindersalami	04.11.2005	5,22
Rindersalami	28.11.2005	5,38
Haussalami	23.12.2005	5,11
Rindersalami	23.12.2005	5,03
Rindersalami	03.02.2006	5,75

Tab. 89: pH- Werte kurzgereifter Bio- Rohwürste erster Reifetag

Produkt	Datum	Ergebnis
Bio Salamini	24.06.2005	4,85
Bio Feuerbeißer	01.07.2005	4,93
Bio Cacciatore	08.07.2005	5,59
Bio Feuerbeißer	15.07.2005	5,50
Bio Cacciatore	22.07.2005	5,40
Bio Feuerbeißer	29.07.2005	5,31
Bio Cacciatore	29.07.2005	5,92
Bio Cacciatore	05.08.2005	5,65
Bio Feuerbeißer	12.08.2005	5,65
Bio Salamini	18.11.2005	4,91
Bio Feuerbeißer	23.11.2005	5,13
Bio Feuerbeißer	15.12.2005	5,12
Bio Feuerbeißer	16.12.2005	5,76
Bio Feuerbeißer	02.01.2006	5,25
Bio Salamini	11.01.2006	5,19
Bio Feuerbeißer	20.01.2006	5,41
Bio Feuerbeißer	25.01.2006	5,02
Bio Feuerbeißer	27.01.2006	4,87
Bio Salamini	27.01.2006	5,39
Bio Feuerbeißer	03.02.2006	5,18
Bio Salamini	03.02.2006	5,19

Tab. 90: pH- Werte kurzgereifter Bio- Rohwürste Endprodukt

Produkt	Datum	Ergebnis
Bio Salamini	08.07.2005	5,08
Bio Feuerbeißer	08.07.2005	4,72
Bio Cacciatore	02.08.2005	6,53
Bio Cacciatore	05.08.2005	6,07
Bio Cacciatore	12.08.2005	5,38
Bio Feuerbeißer	11.11.2005	5,39
Bio Feuerbeißer	07.12.2005	5,57
Bio Feuerbeißer	14.12.2005	5,29
Bio Salamini	21.12.2005	5,30
Bio Salamini	28.12.2005	5,40
Bio Feuerbeißer	11.01.2006	5,14
Bio Cacciatore	27.01.2006	5,56

Tab. 91: pH- Werte kurzgereifter konventioneller Rohwürste erster Reifetag

Produkt	Datum	Ergebnis
Rohpolnische	05.08.2005	5,61
Cacciatore	19.08.2005	5,41
Feuerbeißer	04.11.2005	4,83
Rohpolnische	09.12.2005	5,67
Rohpolnische	16.12.2005	6,15
Rohpolnische	23.12.2005	6,22
Feuerbeißer	13.01.2006	5,68
Rohpolnische	27.01.2006	5,74
Feuerbeißer	27.01.2006	5,41
Rohpolnische	03.03.2006	6,02

Tab. 92: pH- Werte kurzgereifter konventioneller Rohwürste Endprodukt

Produkt	Datum	Ergebnis
Salamini	22.07.2005	4,95
Rohpolnische	23.12.2005	5,21
Rohpolnische	22.12.2005	5,10
Feuerbeißer	06.02.2006	5,1
Salamini	06.02.2006	5,16
Cacciatore	13.02.2006	5,50
Salamini	08.03.2006	5,30
Feuerbeißer	20.02.2006	5,26
Feuerbeißer	20.02.2006	5,14
Salamini	20.02.2006	5,19
Salamini	20.02.2006	5,28

8.2.2 Ergebnisse in Betrieb 2

8.2.2.1 Ergebnisse vom 6. April 2006

Tab. 93: PCR

Proben	PCR- Ergebnis
15 Kotproben Schwein	15x negativ
12 Schweinetonsillen	12X negativ
12 Tupferproben Schwein aussen	12X negativ
12 Tupferproben Schwein innen	12X negativ
4 Brühwasserproben	4x negativ
1 Probe Stallboden	negativ
Mettwurst Tag 1	negativ
Rohpolnische Tag 1	negativ
Salami Milano Tag 1	negativ
Rinderrauchsalami Tag 1	negativ
Haussalami Tag 1	negativ
Hinterbeisser Tag 1	negativ
Polnische Tag 1	negativ
Pfeffersalami Tag 1	negativ
Schinkenmettwurst Tag 1	negativ
Feuersalami Tag 1	negativ
Pfefferbeißer Tag 1	negativ
Cervelatwurst Tag 1	negativ
Sommerwurst Tag 1	negativ

Tab. 94: pH- Wert und Wasseraktivität

Produkt	pH- Wert	Wasseraktivität
Mettwurst Tag 1	5,41	0,914
Rohpolnische Tag 1	5,73	0,931
Salami Milano Tag 1	5,55	0,94
Rinderrauchsalami Tag 1	5,57	
Haussalami Tag 1	5,59	
Hinterbeisser Tag 1	5,85	

Tab. 95: Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung

	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>E. coli</i>	Laktobazillen	Milchsäurebakterien
Mettwurst Tag 1	0	0	0	9,00E+01
Rohpolnische Tag 1	1,20E+04	0	8,70E+05	6,70E+05
Salami Milano Tag 1	5,80E+03	0	3,60E+05	3,60E+05
Rinderrauchsalami Tag 1	2,60E+03	0	1,40E+06	1,40E+05
Haussalami Tag 1	7,10E+02	0	0,00E+00	0,00E+00
Hinterbeisser Tag 1	1,20E+02	2,00E+1	1,20E+06	5,00E+05

8.2.2.2 Ergebnisse vom 12. April 2006

Tab. 96: PCR

Probe	Ergebnis
6x Kotproben Rind	6x negativ
6x Tupferproben Kopf	6x negativ
6x Tupferproben caudal	6x negativ
6x Tonsillen	6x negativ
Stallboden	negativ
Polnische Endpr.	negativ
Pfefferbeißer Endpr.	negativ
Haussalami Endpr.	negativ
Pfeffersalami Endpr.	negativ
Mettwurst Endpr.	negativ
Hinterbeißer Endpr.	negativ
Schinkenmettwurst Endpr.	negativ
Pfefferbeißer Endpr.	negativ
Polnische Endpr.	negativ
Polnische Tag 1	negativ
Pfefferbeißer Tag 1	negativ
Haussalami Tag 1	negativ
Pfeffersalami Tag 1	negativ

Tab. 97: pH- Wert und Wasseraktivität

Produkt	pH- Wert	Wasseraktivität
Mettwurst Endpr.	5,26	0,912
Hinterbeißer Endpr.	5,00	0,937
Schinkenmettwurst Endpr.	5,30	0,927
Pfefferbeißer Endpr.	4,98	0,947
Polnische Endpr.	4,97	0,961
Polnische Tag 1	5,76	0,913
Pfefferbeißer Tag 1	5,78	0,963
Haussalami Tag 1	5,65	0,955
Pfeffersalami Tag 1	5,54	0,952

Tab. 98: Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung

	<i>Enterobacteriaceae</i>	Laktobazillen	Milchsäurebakterien	<i>E.coli</i>
Mettwurst Endpr.	0	80	1,90E+06	0,00E+0
Hinterbeißer Endpr.	8,00E+05	1,60E+04	1,60E+06	0,00E+00
Schinkenmettwurst Endpr.	0	6,00E+03	9,40E+05	0,00E+00
Pfefferbeißer Endpr.	0	1,20E+04	Fehler	0,00E+00
Polnische Endpr.	0	1,30E+03	1,70E+06	0,00E+00
Polnische Tag 1	0	1,40E+06	9,30E+05	0,00E+00
Pfefferbeißer Tag 1	0	8,90E+05	1,10E+06	0,00E+00
Haussalami Tag 1	0	1,60E+06	1,20E+06	0,00E+00
Pfeffersalami Tag 1	6,80E+02	1,50E+06	8,10E+05	0,00E+00

9. LITERATURVERZEICHNIS

ALBERT, T.; GAREIS, M.; KRÖCKEL, L. (2003)

Mikrobiologische Qualität von Fleischerzeugnissen aus ökologischer Produktion
Fleischwirtsch. **83**, 147-150

BAUMGART, J. (1999)

Mikrobiologische Untersuchung von Lebensmitteln
4. aktualisierte und erweiterte Auflage, Behrs Verlag Hamburg

BANATVALA, N.; DEBEUKELAER, M.M.; GRIFFIN, P.M.; BARRETT, T.J.; GREEN, K.D.; WELLS, J.G. (1996)

Shiga-like toxin-producing *Escherichia coli* O111 and associated hemolytic-uremic syndrome: a family outbreak
Pediatr. Infect. Dis. J. **15 (11)**, 1008-1011

BANATVALA, N.; MAGNANO, A.R.; CARTTER, M.L.; BARRETT, T.J.; BIBB, W.F.; VASLIE, L.L.; MSHAR, P.; LAMBERT-FAIR, M.A.; GREEN, J.H.; BEAN, N.H.; TAUXE, R.V. (1995)

Meat grinders and molecular epidemiology: Two supermarket outbreaks of *Escherichia coli* O157:H7 infection
J. Infect. Dis. **173**, 480-483

BEAN, N.H.; GOULDING, J.S.; DANIELS, M.T.; DANIELS, M.T.; ANGULO, F.J. (1997)

Surveillance for foodborne disease outbreaks- United States
J. Food. Protect. **60**, 1265-1286

BELITZ, H.D.; GROSCH, W.; SCHIEBERLE, P. (2001)

Lehrbuch der Lebensmittelchemie

5., vollst. überarb. Aufl.

Springer, Berlin, Heidelberg, New York, Barcelona, Hongkong, London, Mailand, Paris, Singapur, Tokio

BELLIN, T.; PULZ, M.; MATUSSEK, A.; HEMPEN, H. G.; GUNZER, F. (2001)

Rapid Detection of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* by Real-Time PCR with Fluorescent Hybridization Probes

J. Clin.Microbiol. **39**, 370- 374

BERGER, J.E.; DEISL, E.; GEBAUER, G.; OTTENSCHLÄGER, J.; STOLL, H. (1987)

Das Fleischerbuch

Bohmannverlag Wien, S. 37-48

BETTELHEIM, K.A.; BUSHROD, M.; CHANDLER, E.; COOKE, E.M.; O'FARELL, S.; SHOOTER, R.A.; (1974)

Escherichia coli distribution in man and animals

J. Hyg. (Lond) **73**, 467- 471

BEUCHAT, L.R. (1976)

Sensivity of *Vibrio parahemolyticus* to spices and organics acids

J. Food. Sci. **41**, 889-902

BEUTIN, L.; STROEHER, U.H.; MANNING, P.A. (1993)

Isolation of enterohemolysin (Ehly2)-associated sequences encoded on temperate phages of *Escherichia coli*

Gene **132**, 95-99

BEUTIN, L.; ZIMMERMANN, S.; GLEIER, K. (1996)

Rapid detection and isolation of shiga- like toxin (verotoxin) producing *Escherichia coli* by direct testing of individual enterohemolytic colonies from washed sheep blood agar plates in the VTEC-RPLA assay

J. Clin. Microbiol. **34**, 2812-2814

BEUTIN, L.; KRAUSE, G.; ZIMMERMANN, S.; KAULFUSS, S.; GLEIER, K. (2004)

Characterisation of Shiga toxin- producing *Escherichia coli* strains isolated from human patients in Germany over a 3- year period

J. Clin. Microbiol. **42**, 1099-1108

BINDER, E. (1995)

Räuchern: Fleisch, Wurst, Fisch

3. Auflage

Ulmer Verlag, Stuttgart

BLANCO, M.; BLANCO, J.E.; MORA, A.; DAHBI, G.; ALONSO, M.P.; GONZALEZ, E.A.; BERNARDEZ, M.I.; BLANCO, J. (2004)

Seorotypes, virulence genes, and intimin types of Shiga- Toxin- producing *Escherichia coli* isolated from cattle in Spain and identification of a new intimin variant gene.

J. Clin. Microbiol. **42**, 645- 651

BLOCHER, D, GLEITSMANN, S., PROBSON, F., RETHMEYER, G., SCHNEIDER, G., TRIPPNER, A., ZIMMERMANN, G. (2002)

Rohwürste

In: Fleisch verarbeiten und verkaufen

Bildungsverlag EINS, Troisdorf, S. 208- 215

BOCKEMÜHL, J.; KARCH, H.; RÜSSMANN, H.; ALEKSIC, S.; WIß, R.; EMMRICH, P. (1990)

Shiga-like Toxin (Verotoxin)- produzierende *Escherichia coli* O22:H8 - Übertragung durch unpasteurisierte Milch mit nachfolgender Erkrankung an Hämolytisch urämischem Syndrom

Bundesgesundhbl. **33**, 3-6

BOCKEMÜHL, J.; KARCH, H.; TSCHÄPE, H. (1998)

Zur Situation der Infektionen des Menschen durch enterohämorrhagische *Escherichia coli* (EHEC) in Deutschland 1997

Bundesgesundhbl. Sonderheft Oktober **41**, S.2 – 5

BOOS, G. (1979)

Vorkommen von Salmonellen in schnittfesten und streichfähigen Rohwürsten

Fleischwirtsch. **59**, 1882-1885

BOUVET, J.; MONTET, M.P.; ROSSEL, R.; LE ROUX, A.; BAVAI, C.; RAY GUENOT, S.; MAZUY, C.; ATRACHE, V.; VERNZOY- ROZAND, C. (2002)

Prevalence of verotoxin- producing *Escherichia coli* (VTEC) and *E.coli* 0157:H7 in French Pork

J. Appl. Microbiol. **93**; 7-14

BRÄUNIG, I. u. MATTHES, H. (2001)

Qualitätsrindfleisch ökologisch erzeugt

Arch. Lebensmittelhyg. **53**, 15-20

BÜLTE, M. (2002)

Veterinärmedizinische Aspekte der Infektion durch enterohämorrhagische E.-coli-Stämme (EHEC)

Bundesgesundhbl. **45**, 484-490

BÜLTE, M.; MONTENEGRO, M.A.; HELMUTH, R.; TRUMPF, T.; REUTER, G. (1990)

Nachweis von Verotoxin-bildenden *E. coli* (VTEC) bei gesunden Rindern und Schweinen mit dem DNS-DNS-Koloniehybridsierungsverfahren
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. **103**, 380-384

CANSTEIN, C von (2005)

Untersuchungen zur antimikrobiellen Wirkung eines Rosmarinextraktes und dessen Einfluss auf die mikrobiologische Stabilität von nitritreduzierter schnittfester Rohwurst
Diss.med.vet. Hannover

CARTER, A.O.; BORCZYK, A.A.; CARLSON, J.A.K.; HARVEY, B.; HOCKIN, J.C.; KARMALI, M.A.; KRISHNAN, C.; KORN, D.A.; LIOR, H. (1987)

A severe outbreak of *Escherichia coli* O157:H7-associated hemorrhagic colitis in a nursing home
New. Engl. J. Med. **24**, 1496-1500

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (1993)

UPDATE: Multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections from hamburgers - Western United States, 1992-1993
Morb. Mort. Weekl. Rep. **42**, 258-263

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (1995)

Escherichia coli O157:H7 outbreak linked to commercially distributed dry-cured salami - Washington and California, 1994
Morb. Mort. Weekl. Rep. **44 (9)**, 157-160

CHAPMAN P.A. u. WRIGHT D.J. (1993)

Untreated milk as a source of Verotoxinogenic *Escherichia coli* O157
Vet. rec. **133**, 171-172

CHIPAULT, J.R.; MIZUNO, G.R.; HAWKINS, J.M.; LUNDBERG, W.O. (1952)
The antioxidant properties of natural spices
Adv. Food Nutr. Res. **20**, 443

COENEN, C. (2000)
Untersuchung zum Vorkommen und zur Risikoeinschätzung pathogener Keime in
Rohmilch und Rohmilchprodukten aus der Direktvermarktung
Diss. med. vet., Berlin

CORETTI, K. (1971)
Herstellung der Rohwurst und Vorgänge der normalen Rohwurstreifung
Rohwurstreifung und Fehlerzeugnisse bei der Rohwurstherstellung
Verlag der Rhein Hessischen Druckwerkstätte, Alzey 1971

DEAN- NYSTRÖM, E.A.; BOSWORTH, D.T.; MOON, W.H.; O'BRIEN, A.D. (1998)
Escherichia coli O157:H7 requires Intimin for enteropathogenicity in calves
Infect. Immun. **66**; 4560-4563

EISGRUBER, H. u. STOLLE, A. (2006)
Mikrobiologische Kriterien und Mykotoxin- Höchstgehalte für Lebensmittel
Behrs Verlag, Hamburg

ELGAYYAR, M.; DRAUGHON, F.A.; GOLDEN, D.A.; MOUNT, J.R. (2001)
Antimicrobial activity of essential oils from plants against selected pathogenic and
saprophytic microorganisms
J. Food Prot. **64(7)**, 1019-1024

ERKKILÄ, SUSANNA (2001)
Bioprotective and probiotic meat starter cultures for the fermentation of dry sausages
Academic Dissertation, Helsinki

FABIO, A.; CORONA, A.; FORTE, E.; QUAGLIO, P. (2003)
Inhibitory activity of spices and essential oils on psychrotrophic bacteria
Microbiologica **26**, 115-120

FARCHIM, G. (1965)
Tierärztliche Lebensmittelhygiene
VEB Gustav Fischer Verlag, Jena

FEHLHABER, K. u. JANETSCHKE, P. (1992)
Veterinärmedizinische Lebensmittelhygiene
Gustaf Fischer Verlag Jena, Stuttgart

FREDRIKSSON- AHOMAA, M (2007)
Persönliche Mitteilung am 29.3.2007

FREY, W. (1987)
Fleischers Fachwörterbuch
Hans Holzmann Verlag, Bad Wörishofen

FREY, W. (1988)
Die sichere Fleischwarenherstellung
Leitfaden für den Praktiker
Hans Holzmann Verlag, Bad Wörishofen

FUCHS, -(1984)
Streichfähige Rohwürste
Fleischwirtsch. **64**, 514

GALLIEN, P.; KLIE, H.; LEHMANN, S.; PROTZ, D.; HELMUTH, R. (1994)
Nachweis verotoxinbildender *E. coli* in Feldisolaten von Haus- und
landwirtschaftlichen Nutztieren in Sachsen-Anhalt
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. **107**, 331-334

GALLIEN, P.; RICHTER, H.; KLIE, H.; TIMM, M.; KARCH, H.; LEHMANN, S.; PERLBERG, K.-W.; TEUFEL, P.; PROTZ, D. (1998)

Nachweis von Shigatoxin- produzierenden *Escherichia coli* (STEC) in Lebensmitteln und Charakterisierung der Isolate

Bundesgesundhbl. Sonderheft Oktober 1998, 26- 30

GALLIEN, P.; KARCH, H.; PERLBERG, K.; PROTZ, D. (2000)

Shigatoxin- produzierende *Escherichia coli* (STEC)

BgVVHefte 02, ISBN 3-931675-52-1, 83-105

GAREIS, M.; PICHNER, R.; BREI, N.; STEINRÜCK, H. (2000)

Nachweis Verotoxin- bildender E- coli (VTEC) bei gesunden Mitarbeitern eines Fleisch verarbeitenden Betriebes

Bundesgesundhbl. **43**, 781-787

GEUE, L.; SEGURA- ALVARENZ, M.; CONRATHS, F. J.; KUCZIUS, T.; BOCKE- MUHL, J.; KARCH, H.; GALLIEN, P. (2002)

A long- term study on the prevalence of shiga toxin- producing *Escherichia coli* (STEC) on four cattle farms.

Epidemiol. Infect. **129**, 173-185

GINZINGER, D. (2002)

Gene Quantification using real- time quantitative PCR: An emerging technology hits the mainstream

Exp. Hematol. **30**, 503-512

GONZALEZ, B. u. DIEZ, V. (2002)

The effect of nitrite and starter culture on microbiological quality of “chorizo“- a Spanish dry cured sausage

Meat Sci. **60**, 295- 298

HÄÜßLER, R. (2004)

Schneller zur schnittfesten Rohwurst

Fleischwirtsch. **10**, 52-54

HARTUNG, M. (2001)

Bericht über die epidemiologische Situation der Zoonosen in Deutschland für 2000

BgVV- Heft 06/2001, ISBN 3-931675-72-6

HARTUNG, M. (2003)

Mitteilungen der Länder über STEC/VTEC Nachweise in Deutschland

In: Hartung, M. (Hrsg.)

Bericht über die epidemiologische Situation der Zoonosen in Deutschland 2002. Übersicht über die Meldungen der Bundesländer, zusammengestellt vom Nationalen Referenzlabor für die Epidemiologie der Zoonosen

BfR Pressestelle, Berlin, 165- 176,

HECHELMANN, H. (1981)

Wirkung von Starterkulturen

Die Fleischerei **9**, 657-662

HECHELMANN, H. (1986)

Mikrobiell verursachte Fehlfabrikate bei Rohwurst und Rohschinken

Fleischwirtsch. **66**, 380-381

HERIKSTADT, H. ; MOTARJEMI, Y. ; TAUXE R.V. ; (2002)

Salmonella surveillance: a global survey of public health serotyping

Epidemiol. Infect. **129**, 1-8

HEUVELINK, A.E.; ZWARTKRUIS- NARHUIS, J.T.M.; BEUMER, R.R.; DE BOER, E.
(2004)

Occurrence and Survival of Verotoxin- producing *Escherichia coli* 0157 in Meats obtained from Retail Outlets in the Netherlands

J. Food. Prot. **62**, 1115-1122

HILL (1988)

Nitrosamines: Toxicology and Microbiology

Ellis Horwood Ltd., Chichester (Vereinigtes Königreich)

HOELSCHER, M u. LÖSCHER, T. (2003)

Gastroenteritis in der Reisemedizin

Schwere Diarrhoen schnell und gezielt behandeln

Klinikerarzt **32**, 214-220

HÖNE, J.D.; OCKERMANN, H.W.; CAHILL, Y.R.; BORTON, R.J.; PROCTOR, G. O.
(1976)

Entnahme von Muskelgewebeproben mit niedrigen Keimzahlen

Fleischwirtsch. **56**, 1508

HUBER, H.C.; KUGLER, R.; LIEBL, B. (1997)

Infektionen mit enterohämorrhagischen *Escherichia coli* (EHEC)- Ergebnisse einer epidemiologischen Erhebung in Bayern für den Zeitraum April 1996 bis März 1997.

Gesundheitswesen **60**, 159- 165

KARCH, H.; MEYER, T.; RÜSSMANN, H.; HESSEMAN, J. (1992)

Frequent loss of shiga- like toxin genes in clinical isolates of *Escherichia coli* upon subcultivation

Infect. Immun. **60**, 3464-3467

KARCH, H.; BÖHM, H.; SCHMIDT, F.; GUNZER, S.; ALEKSIC, S.; HEESEMANN, S. (1993)

Clonal structure and pathogenic of shiga- like toxin- producing sorbitol- fermenting *Escherichia coli* O157: H-

J. Clin. Microbiol. **31**, 1200- 1205

KARCH, H.; WISS, R.; GLONING, P.; EMMERICH, S.; ALEKSIC, S.; BOCKEMÜHL, J. (1996)

Hämolytisch- urämisches Syndrom bei Kleinkindern idurch verotoxin-produzierende *Escherichia coli*

Dtsch. Med. Wschr. **115**, 489- 495

KARCH, H.; HUPPERTZ, H.I.; BOCKEMÜHL, J.; SCHMIDT, H.; SCHWARZKOPF, A.; LISSNER, R. (1997)

Shigatoxin- producing *Escherichia coli* in Germany

J. Food. Prot. **11**, 1454- 1457

KARCH, H.J.; BOCKEMÜHL, H.I.; HUPPERTZ (2000)

Erkrankungen durch enterohämorrhagische *Escherichia coli*

Dtsch. Ärztebl. **36**, A2314- A2318

KARMALI, M.A. (1989)

Infection by verocytotoxin-producing *Escherichia coli*

Clin. Microbiol. Rev. **2** (1), 15-38

KARUNIAWATI, A (2001)

Untersuchung von Umweltproben auf "viable but not culturable" Salmonellen und enterohämorrhagische *Escherichia coli*

Verlag Grauer, Beuren

KAUFFMANN, F. (1966)

The Bacteriology of *Enterobacteriaceae*

Munksgaard Verlag, Kopenhagen

KEENE, W.E., SAZIE, E., KOK, J., RICE, D.H., HANCOCK, D.D., BALAN, V.K., ZHAO,

T., DOYLE, M.P. (1997)

An outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections traced to jerky made from deer meat

JAMA **277** (15), 1229-1231

KNAUF (1998)

Wissenswertes über Starterkulturen für die Fleischwarenherstellung- 2. Bedeutung von Starter- und Schutzkulturen für die Fleischindustrie

Fleischwirtsch. **78**, 312-314

KNEPPER, H. (1991)

Rohwürste

In: Leitfaden der Fleisch- und Wurstwarenherstellung: Technologie leicht gemacht

Gerber, München, Seite 87

KONOWALCHUK, J.; SPEIRS, J.L.; STAVRIC, S. (1977)

Vero response to a cytotoxin of *E. coli*

Infect Immun **18**, 775-779

KRÄMER, J. (1992)

Lebensmittelmikrobiologie

Ulmer Verlag, Stuttgart

KUCHLING, E. u WEBER, A. (1968)

Einsatz von Glukono- delta- Laktone bei der Rohwurstherstellung

Fleisch **22**, 293- 297

KÜHNE, D. (2003)

Nitrit, Nitrat, Nitrosamine.

Mitteilungsbl. BAFF **42**, Nr. 160, 105-113

LANGNER, H.J. u. MALEK, E. (1977)

Zusammensetzung frischer Mettwurst („Hackepeterwurst“) im Berliner Raum
Fleischwirtsch. **61**, 660

LAUTENSCHLÄGER, R. (1998)

Rohpökelfleischwaren.

in: BRANDSCHEID, W.; HONIKEL, K.O.; LENGERKEN, G.; TROEGER, K. (Hrsg)

Fleisch und Fleischwaren. Band 2

Deutscher Fachverlag GmbH, Frankfurt, S. 826- 852

LEHMANN, S.; TIMM, M.; STEINRÜCK, H.; GALLIEN, P. (2003)

Shiga Toxin-bildende *Escherichia coli* (STEC) im Kot von Hochwild und in Wild-
fleischproben

Nationales Veterinärmedizinisches Referenzlabor *E. coli* (NRL-Ec), Dessau

LEISTNER, L. (1981)

Neue Nitritverordnung in der Bundesrepublik Deutschland

Fleischwirtsch. **61**, 341-346

LEISTNER, L. (1985)

Allgemeines über Rohwurst und Rohschinken In: Mikrobiologie und Qualität für Roh-
wurst und Rohschinken

Institut für Mikrobiologie, Toxikologie und Histologie der Bundesanstalt für Fleischfor-
schung, Kulmbach

Kulmbacher Reihe; **5**, 1-29

LEISTNER, L. (1985)

Mikrobiologische Vorgänge bei der Herstellung von Rohwurst und Rohschinken

Institut für Mikrobiologie, Toxikologie und Histologie der Bundesanstalt für Fleischfor-
schung,

Kulmbach

Kulmbacher Reihe; **5**, 85- 100

LEISTNER, L. (1985)

Empfehlungen für sichere Produkte

In: Mikrobiologie und Qualität für Rohwurst und Rohschinken

Institut für Mikrobiologie, Toxikologie und Histologie der Bundesanstalt für Fleischforschung,

Kulmbach

Kulmbacher Reihe **5**, 219- 242

LEISTNER, L. (1986)

Allgemeines über Rohwurst

Fleischwirtsch. **66**, 290- 300

LEISTNER, L.; WIRTH, F.; VUKOVIC, I. (1971)

Untersuchungen über die Wasseraktivität von Rohwurst

Fleischwirtsch. **59**, 1313- 1318

LEVINE, M.M. (1987)

Escherichia coli that cause diarrhea: enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic and enteroadherent.

J. Infect. Dis. **156 (3)**, 377-389

LEWUS, C.; KAISER, A.; MONTVILLE, C. (1991)

Inhibition of Food- Borne Bacterial Pathogens by Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria Isolated from Meat

J. Appl. Microbiol. **57**, 1683- 1688

LIENHOP (1974)

Starterkulturen

In:

Handbuch der Fleischwarenherstellung, Praxis und Wissenschaft der Fleischverarbeitung

8. Auflage,

Verlag Günter Hempel, Braunschweig

LINGWOOD, C.A.; LAW, H.; RICHARDSON, S.; PETRIC, M.; BRUNTON, J.L.; DE GRANDIS, S.; KARMALI, M.A. (1987)

Glycolipid binding of purified and recombinant *Escherichia coli* produced verotoxin in vitro

J. Biolog. Chemist. **262**, 8834-8839

LUDEWIG, M.; PALINSKY, N.; FEHLHABER, K. (2004)

Öko- und direkt vermarktete konventionelle Fleischerzeugnisse

Fleischwirtsch. **84** (12), 105- 108

LÜCK, E. (1977)

Chemische Lebensmittelkonservierung

Stoffe, Wirkungen, Methoden

1. Auflage

Springer Verlag, Berlin Heidelberg, New York

LÜCKE, F.K. (1985)

Mikrobiologische Vorgänge bei der Herstellung von Rohwurst und Rohschinken

In: Mikrobiologie und Qualität von Rohwurst und Rohschinken

Bundesanstalt für Fleischforschung

Kulmbacher Reihe Band **5**, 85-102

LÜCKE, F.K. (1993,)

Pathogene Mikroorganismen und Hygiene bei der Rohwurstherstellung

in: BUCKENHÜSKES, H.J. (Hrsg)

2. Stuttgarter Rohwurstforum, Vertrieb: Gewürzmüller GmbH, S. 77-90

LÜCKE, F.K. (2003)

Einsatz von Nitrat und Nitrit in der ökologischen Fleischverarbeitung

Fleischwirtschaft **93**, 138- 141

MESSELHÄUSER, U. (2005)

Nachweis von Shiga Toxin- bildenden *Escherichia coli* Und thermophilen *Campylobacter* species bei Almkühen und in auf Almen produzierten Lebensmittel

Diss. med. vet., München

MINOR, T.E. u. MARTH, E.H. (1972)

Staphylococcus aureus and staphylococcal food intoxication

Staphylococci in meat, bakery products and other foods

J. Milk Food Technol., **35**, 228-241

MISSELWITZ, J.; KARCH, H.; BIELAZEWSKA, M.; JOHN, U.; RINGELMANN, F.;
RONNEFARTH, G.; PATZER, L. (2003)

Cluster of hemolytic- uremic syndrome caused by Shiga toxin- producing
Escherichia- coli O26:H11

Pediatr. Infect. Dis. J. **22**, 349- 354

MONTENEGRO, M.A.; BÜLTE, M.; TRUPF, T.; ALEKSIC, S.; REUTER, G.; BULLIN,
E.; HELLMUTH, R. (1990)

Detection and characterization of fecal verotoxin *Escherichia coli* from healthy cattle

J. Clin. Microbiol. **28**, 1417- 1421

MOSSEL, D.A.A.; CORRY, J.E.L.; STRUIJK, C.B. (1995)

Essentials of the microbiology of food

John Wiley & Sons Limited, Chichester

MÜLLER, A.; MOLL, A. HILDEBRANDT, G. (1994)

Bio- Rohwurst

Sensorische, substantielle und mikrobiologische Beschaffenheit

Fleischwirtsch. **74**, 606- 614

MÜLLER, A., BÜLTE, M., MACK, H. (1998)

Überlebenskinetik und Virulenzfaktoren von verotoxinogenen bzw.

enterohämorrhagischen *Escherichia coli*- (VTEC-/EHEC-) Stämmen in Rohwurst

Proc. 39. Arbeitstagung Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e.V.,

Arbeitsgebiet Lebensmittelhygiene, Garmisch-Partenkirchen 21.-25.09.1998

N.N. (1999)

Escherichia coli: Ursprung war Ziegenmilch

Food & Hygiene **3**, 6

N.N. (2002)

Rohwurst braucht Aufmerksamkeit

Fleischwirtsch. **7**, 41-42

NOTHDURFT, H.D. (2004)

Infektiöse Diarrhoe

Dtsch. Med. Wschr. **129**, 107- 110

O'BRIEN, A.D.; LA VECK, G.D. (1983)

Purification and characterisation of a Shigella dysenteriae 1-like toxin produced by

Escherichia coli

Infect. Immun. **40**, 675- 683

OLSEN, J.E.; AABO, S.; HILL, W.; NOTERMANN, S.; WERNARS, K.; GRANUM,

P.E.; POPVIC, T.; RASMUSSEN, H.N.; OLSVIK, O. (1995)

Probes and polymerase chain reaction for detection of food-borne bacterial pathogens

Int. J. Food Microbiol., **28**, 1- 78

OSWALD, E.; SCHMIDT, H.; MORABITO, S.; KARCH, H.; MARCHES, O.; CAPRIOLI, A. (2000)

Typing of intimin genes in human and animal enterohemorrhagic and enteropathogenic *Escherichia coli*: characterisation of a new intimin variant
Infect. Immun. **68**, 64-71

PATON, A.W.; RATCLIFF, R.M.; DOYLE, R.M.; SEYMOUR-MURRAY, J. (1996)
Molecular microbiological investigation of an outbreak of hemolytic-uremic syndrome caused by dry fermented sausage contaminated with shiga-like toxin-producing *Escherichia coli*
J. Clin. Microbiol. **34**, 1622-1627

PEACOCK, E.; JACOB, V.W.; FALLONE, S.M.; (2001)
Escherichia coli O157:H7: etiology, clinical features, complications and treatment.
Nephrol. Nurs. J. **28**, 547- 555

PEITZ, R., WEBER, H., GLEIER K., ZIMMERMANN, S., BEUTIN, L., (2000)
Nachweis von enterohämorrhagischen *Escherischia coli* (EHEC) in Fleischproben und Rohwürsten
Vergleich verschiedener Methoden
Fleischwirtsch. **80**, 71- 74

PICHLER, R.; STEINRÜCK, H.; GAREIS, M. (2004)
Vorkommen von STEC in Rohwurst produzierenden Betrieben
EHEC- Workshop 2004, Wildbad Kreuth, 22.-24. Juli 2004

REIDA, P.; WOLFF, M.; POHLS, H.-W.; KUHLMANN, W.; LEHMACHER, A.; ALEK-SIC, S.; KARCH, H.; BOCKEMÜHL, J. (1994)
An outbreak due to enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in a children Day care centre characterized by person-to-person transmission and environmental contamination
Zbl. Bakt. **281**, 534-543

RICHTER, H.; KLIE, H.; TIMM, M.; GALLIEN, P.; STEINRÜCK, H.; PERLBERG, K.-W.; PROTZ, D. (1997)

Verotoxin- bildende E. coli (VTEC) im Kot von Schlachtrindern aus Deutschland
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. **110**, 121- 127

RILEY, L.W.; REMIS R.S.; HOLGERSSON, S.D.; Mc. GEE, H.B.; WELLS, J.G.; DAVIS, B. R.; HEBERT, R.J.; OLCOTT, E.S.; JOHNSON, L.M.; HARGETT N. T.; BLAKE, P.A.; COHEN, M.L. (1983)

Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype
N. Engl. J. Med. **308**, 681- 685

RITCHIE, M.; PARTINGTON, S.; JESSOP, J.; KELLY, M.T. (1992)

Comparison of a direct fecal Shiga-like toxin assay and Sorbitol McConkey Agar culture for laboratory diagnosis of enterohemorrhagic *Escherichia coli* Infection

J. Clin. Microbiol.**30**, 461-464

RKI (1996)

Häufung von EHEC-Erkrankungen in Bayern

Epidemiologisches Bulletin 20/96

RKI (1998)

Zur Situation bei ausgewählten meldepflichtigen Infektionskrankheiten im Jahr 1997

Teil 1: Gastroenteritiden (II) – übrige Formen der Enteritis infectiosa

Epidemiologisches Bulletin 9/98

RKI (1999)

Zur Situation bei wichtigen Infektionskrankheiten im Jahr 1998

Teil 1: Darminfektionen (Gastroenteritiden)

Epid. Bull. **15**, 99-106

ROLLE, M.; u. MAYR, A. (2002)

Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre

Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart 2002

RODRIGUE, D.C.; MAST, E.E.; GREENE, K.D.; DAVIS, J.P.; HUTCHINSON, M.A.; WELLS, J.G.; BARRETT, T.J.; GRIFFIN, P.M. (1995)

A university outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections associated with roast beef and an unusually benign clinical course

J. Infect. Dis. **172**, 1122-1125

RÖDEL, W. (1993)

Water activity and its measurement in food

In: KREBS- ROGERS, E.

Industrial instrumentation Series: Instrumentation and sensors for the food industry.

Verlag Butterworth- Heinemann, Oxford, London, S. 375- 415

RYAN, C.A.; TAUXE, R.V.; HOSEK, G.W.; WELLS, J.G.; STOEZ, P.A.; McFADDEN, H.W. ; SMITH, P.W., WRIGHT, G.F.; BLAKE, P.A. (1986)

Escherichia coli O157:H7 diarrhea in a nursing home: clinical, epidemiological, and pathological findings

J. Infect. Dis. **154 (4)**, 631-638

SCHIEFER, G.; STEPHAN, F. (1999)

Salmonellen- zur aktuellen Situation aus Sicht des Veterinär- und Lebensmittelaufsichtsamtes der Stadt Leipzig

RFL **51**, 59-63

SCHMIDT, U. (1985)

Salmonellen- Bedeutung bei Rohwurst und Rohschinken

In: Mikrobiologie und Qualität von Rohwurst und Rohschinken

Bundesanstalt für Fleischforschung

Kulmbacher Reihe Band **5**, 128-151

SCHMIDT-LORENZ, W. u. H. SPILLMANN (1988)

Kritische Überlegungen zum Aussagewert von *E. coli*, Coliformen und Enterobacteriaceen

in Lebensmitteln

Arch. Lebensmittelhyg. **39**, 3-15

SCHNÄCKEL, W.; REUTER, T.; WIEGAND, D. (2000)

Rohe Fleischerzeugnisse ohne NPS

Fleischwirtsch. **80**, 35-41

SCHOTTE, U. (2002)

Bewertung des Infektionsrisikos für den Verpflegungsteilnehmer der Bundeswehr durch Verotoxin- bildende *Escherichia- coli* unter besonderer Berücksichtigung streichfähiger und schnittfester Rohwürste

Diss. med. Vet. Gießen

SELBITZ, H.J. (1992)

Enterobacteriaceae

In: Lehrbuch der veterinärmedizinischen Bakteriologie

Gustav Fischer Verlag, Jena, Stuttgart

SCHWÄGELE, F. (1999)

Polymerase Chain Reaction- PCR

Möglichkeiten und Grenzen der Anwendung in der Lebensmittelanalytik

Fleischwirtsch. **79**, 121-123

SINELL, H.J. (2004)

Einführung in die Lebensmittelhygiene

Parey Verlag, Stuttgart

SINELL, H.J. u. MEYER, H. (1996)

Lebensmittelsicherheit. HACCP in der Praxis

Behr's Verlag, Hamburg

SMITH, N.W. u. SACK R.B. (1973)

Immunologic cross- reactions of enterotoxins from *Escherichia coli* and *Vibrio cholerae*

J. Infect. Dis. **127**, 164- 170

SPIKA, J.S.; PARSONS, J.E.; NORDENBERG, D.; WELLS, J.G.; GUNN, R.A.; BLAKE, P.A. (1986)

Hemolytic uremic syndrome and diarrhea associated with *Escherichia coli* O157:H7 in a day-care center

J. Pediatr. **109 (2)**, 287-291

STAHNKE, L.H. (1995)

Dried sausages fermented with staphylococcus- xylosus at different temperatures and with different ingredient levels. 1. chemical and bacteriological data.

Meat Sci. **41 (2)**,179- 191

STRAUCH, D. (1992)

Vorkommen und mögliche epidemiologische Bedeutung von Salmonellen in kommunalen und landwirtschaftlichen Reststoffen

In: ATF Schriftreihe Interdisziplinäres Symposium Salmonellose, 71- 94

STRYER, L.

Der molekulare Bauplan des Lebens- Die Erforschung der Gene

In: Biochemie (1. korrigierter Nachdruck 1999 der 4. Auflage 1996)

Seite 123- 156, Spektrum akademischer Verlag Heidelberg, Oxford, Berlin

SWERDLOW, D.L.; WOODRUFF, B.A.; BRADY, R.C.; GRIFFIN, P.M.; TIPPEN, S.; DONNELL JR., H.D.; GELDREICH, E.; PAYNE, B.J.; MEYER JR., A.; WELLS, J.G.; GREENE, K.D.; BRIGHT, M.; BEAN, N.H.; BLAKE, P.A. (1992)

A waterborne outbreak in Missouri of *Escherichia coli* O157:H7 associated with bloody diarrhea and death

Ann. Intern. Med. **117 (10)**, 812-819

TERNES, W. (1998)

Naturwissenschaftliche Grundlagen der Lebensmittelzubereitung

Behr's Verlag, Hamburg

TERPLAN, G. (1969)

Biologische, chemische und physikalische Vorgänge bei der Herstellung von gepökelten und gereiften Fleischwaren

Habil. Vet. med. Gerhard Röttger Verlag, München

TERPLAN, G. (1989)

Listerien- Vorkommen und lebensmittelhygienische Bedeutung

In: Heeschen, W. (Hrsg.): Pathogene Mikroorganismen und deren Toxine in Lebensmitteln tierischer Herkunft

Behr's Verlag, 81- 95

TIMM, M.; KLIE, H.; RICHTER, H.; GALLIEN, P.; PERLBERG, K.; LEHMANN, S.; PROTZ, D. (1998)

Verfahren zum qualitativen Nachweis von Verotoxin- produzierenden *Escherichia coli* (VTEC) in Lebensmitteln und Fäzes

Bundesgesundhbl. Sonderheft Oktober 1998, 20- 25

TIMM, H.; KLIE, H.; RICHTER, H.; GALLIEN, P.; PERLBERG, K.-W.; LEHMANN, S.; PROTZ, D. (1999)

Untersuchungen zum Nachweis und Vorkommen von Verotoxin-bildenden

Escherichia coli (VTEC) in Rohwurst

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. **112**, 385-389

TROLLER, J. (1986)

Water relations and foodborne bacterial pathogens- an updated review

J. Food. Prot. **49**, 656-670

TROLLER, J. u. CHRISTIAN, JHB (1978)

Water Activity and Food

Academic press, New York, London, Toronto, Sydney, San Francisco

TSCHÄPE, H. (1998)

Neue Aufgaben für den ÖGD: Enterohämorrhagische E.coli Bakterien

Bundesgesundhbl. Sonderheft Oktober 1998, S.1

UPTON, P. und COIA, J.E. (1994)

Outbreak of *Escherichia coli* O157 infection associated with pasteurised milk supply

Lancet **344**, 1015

VAN DONKERSGOED, J.; BERG, J.; POTTER, A.; HANCOCK, D.; BESSER, T.;
LEJEUNE, J.; KLASHINSKY, S. (2001)

Environmental sources of transmission of *Escherichia coli* in feedlot cattle

Can. Vet. J. **42**, 714- 720

WALLHÄUSER, K.H. (1990)

Lebensmittel und Mikroorganismen: Frischware, Konservierungsmethoden, Verderb

Steinkopf Verlag, Darmstadt

WATANABE, H.; WADA, A.; INAGAKI, Y.; ITOH, K.; TAMBURA, K. (1996)

Outbreaks of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 infection by two different
genotype strains in Japan 1996

Lancet **348**, 831-832

WEBER, H. (1996)

Mikrobiologie der Rohwurst in Fleisch- und Fleischerzeugnissen

Behr's Verlag, Hamburg, S. 313-338

WEBER, A.; POTEL, J.; SCHÄFER- SCHMIDT, R.; PRELL, A.; DATZMANN, C.
(1996)

Vorkommen von *Listeria monocytogenes* in Kotproben von Haus- und Heimtieren
Zbl. Hyg. **198**, 117-123

WEBER, A. u. SCHWARZKOPF, A. (2003)

Heimtierhaltung- Chancen und Risiken für die Gesundheit
GEB Heft **19**,1-23

WEINSTEIN, D.L.; JACKSON, M.P.; SAMUEL, J.E.; HOLMES, R.K.; O'BRIEN, A.D.
(1988)

Cloning and sequencing of a shiga- like toxin type II variant from an *Escherichia coli*
strain responsible for Edema disease of swine
J. Bact. **170**, 4223- 4225

WILLIAMS, R.C.; ISAACS, S.; DECOU, M.L.; RICHARDSON, E.A.; BUFFETT, M.C.;
SLINGER, R.W.; BRODSKY, M.H.; CIEBIN, B.W.; ELLIS, A.; HOCKIN, J.; and the
E.coli O157:H7 Working Group (2000)

Illness outbreak associated with *Escherichia coli* O157:H7 in Genoa salami
Can. Med. Assoc. J. **16 (5)**, 1409-1413

WILLSHAW, G.A.; THIRLHELL, J.; JONES, A.P.; PARRY, S.; SALMON, R.L.;
HICKEY, M. (1994)

Vero cytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 in beefburgers linked to an outbreak
of diarrhoea, haemorrhagic colitis and haemolytic uraemic syndrome in Britain
Lett. Appl. Microbiol. **19**, 304-307

WIRTH, F.; LEISTNER, L.; RÖDEL, W. (1990)

Richtwerte der Fleischtechnologie
Deutscher Fachverlag GmbH, Frankfurt am Main

ZSCHÖCK, M.; HAMANN, H.P.; KLOPPERT, B.; WOLTER, W. (2000)

Shiga- toxin- producing *Escherichia coli* in faeces of healthy dairy cows, sheep and goats: prevalence and virulence properties

Lett. Appl. Microbiol. **31**, 203- 208

Gesetze, Verordnungen, Richtlinien und Leitlinien

AMTLICHE SAMMLUNG VON UNTERSUCHUNGSVERFAHREN NACH § 64 LFBG

Untersuchung von Lebensmitteln, Methode L. 07.18

Nachweis, Isolierung und Charakterisierung Verotoxin- bildender *Escherichia coli* (VTEC) in Hackfleisch mittels PCR und DNA- Hybridisierungstechnik

Beuth, Berlin

AMTLICHE SAMMLUNG VON UNTERSUCHUNGSVERFAHREN NACH § 64 LFBG

Untersuchung von Lebensmitteln, Methode L. 06.00-3

Messung des pH- Wertes in Fleisch- und Fleischerzeugnissen

Beuth, Berlin

AMTLICHE SAMMLUNG VON UNTERSUCHUNGSVERFAHREN NACH § 64 LFBG

Untersuchung von Lebensmitteln, Methode L. 06.00-24

Bestimmung von *Enterobacteriaceae* in Fleisch

Tropfplattenverfahren

Beuth, Berlin

AMTLICHE SAMMLUNG VON UNTERSUCHUNGSVERFAHREN NACH § 64 LFBG

Untersuchung von Lebensmitteln, Methode L. 06.00-35

Bestimmung von aerob wachsenden Milchsäurebakterien in Fleisch- und Fleischerzeugnissen- Spatelverfahren (Referenzverfahren)

Beuth, Berlin

AMTLICHE SAMMLUNG VON UNTERSUCHUNGSVERFAHREN NACH § 64 LFBG

Untersuchung von Lebensmitteln, Methode L. 06.00-36

Bestimmung von *Escherichia coli* in Fleisch- und Fleischerzeugnissen

Fluoreszenzoptisches Koloniezählverfahren unter Verwendung von Membranfiltern- Spatelverfahren (Referenzverfahren)

Beuth, Berlin

AMTLICHE SAMMLUNG VON UNTERSUCHUNGSVERFAHREN NACH § 64 LFGB
Untersuchung von Lebensmitteln, Methode L. 06.00-31

Bestimmung von Laktobazillen in Fleisch- und Fleischerzeugnissen

Spatelverfahren (Referenzverfahren)

Beuth, Berlin

DEUTSCHES LEBENSMITTELBUCH (LmB) (2003)

Leitsätze für Fleisch und Fleischerzeugnisse, in der Fassung der Bekanntmachung vom 23.1.2003

BAnz. Nr. 46b vom 7.3.2003

GESETZ ZU VERHÜTUNG UND BEKÄMPFUNG VON INFEKTIONSKRANKHEITEN
BEIM MENSCHEN (IfSG)

Vom 20. Juli 2000

Bundesgesetzblatt I, 1045

DGHM (2004)

DGHM Richt- und Warnwerte

www.lm-mibi.uni-bonn.de/DGHM.html#25

LEBENSMITTEL- BEDARFSGEGENSTÄNDE UND FUTTERMITTELGESETZBUCH

Vom 1. September 2005

Bundesgesetzblatt I, 2618 (3007)

LEBENSMITTEL-HYGIENEVERORDNUNG

vom 5. August 1997

Bundesgesetzblatt I, 2008

MINISTERIUM FÜR DEN LÄNDLICHEN RAUM BADEN WÜRTTEMBERG

Baden- Württembergische Leitlinie für eine Gute Hygienepraxis in Schlacht- Zerle-
gungs- und Verarbeitungsbetrieben

www.mlr.baden-wuerttemberg.de/mlr/bse/leitlinien03-05-04.pdf

RICHTLINIE 95/2/EG DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES
VOM 20. FEBRUAR 1995 ÜBER ANDERE LEBENSMITTELZUSATZSTOFFE ALS
FARBSTOFFE UND SÜßUNGSMITTEL

ABI. Nr. L. 61, S. 1

VERORDNUNG (EG) NR. 2092/91 DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND
DES RATES VOM 24. JUNI 1991 ÜBER DEN ÖKOLOGISCHEN LANDBAU UND
DIE ENTSPRECHENDE KENNZEICHNUNG DER LANDWIRTSCHAFTLICHEN ER-
ZEUGNISSE UND LEBENSMITTEL

ABI. L198, S. 1

VERORDNUNG (EG) NR. 852/2004 DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND
DES RATES VOM 29. APRIL 2004 ÜBER LEBENSMITTELHYGIENE

ABI. L139, S. 206

Internet

AGÖL (1999):

Pressemitteilung.

http://www.naturland.de/n5/pressemeldung/archiv/1999/20_august_1999.html

BMELV (2007)

Ökologischer Landbau in Deutschland

www.bmelv.de

DGHM (2004)

DGHM Richt- und Warnwerte

www.lm-mibi.uni-bonn.de/DGHM.html#25

HECHELMANN, H.; GAREIS, M.; PICHNER, R.; STEINRÜCK, H. (2005)

EHEC in Rohwürsten

www.lgl-bayern.de

HEIßENHUBER, A. (2005)

EHEC (enterohämorrhagische *Escherichia- coli*- Bakterien)

www.lgl-bayern.de

HUMMERJOHANN, J. (2004)

Reduktion oder Ersatz von Nitrit in fermentierten Fleischprodukten

Technisch- wissenschaftliche Informationen

ALP science 2004, Nr. 84

www.sb.alp.admin.ch/de/publikationen/docs/pub_hummerjohann.j/2004-15662.pdf

ISSN 1660-7855 (online)

JAKOB, H. (2003)

Reifung der Rohwurst

www.bvel.de

PICHNER, R.; HECHELMANN, H.; GAREIS, M. (2005)

Vorkommen und Überleben von Shigatoxin bildenden

E. coli (STEC) in konventionell und ökologisch

hergestellten Salamiprodukten

Bundeforschungsanstalt für Ernährung und Lebensmittel

Jahresbericht 2005

http://www.bfel.de/nn_784936/SharedDocs/Publikationen/Jahresbericht__BfEL/jahresbericht2005,templateId=raw,property=publicationFile.pdf/jahresbericht2005.pdf

PROTZ, D.; PERLBERG, K.; RICHTER, H. (1999)

Verotoxinogene (shiga-like-toxin-producing) *E. coli*-Stämme (VTEC/SLT-EC) bei

Schlachtieren und in Lebensmitteln tierischen Ursprungs - Bestandsaufnahme und

Aufklärung von Infektionsketten beim Menschen mit immunologischen und molekularbiologischen Verfahren

www.bmg.bund.de/cIn_041/nn_599776/DE/Themenschwerpunkte/Ressortforschung/Kurzberichte-Archiv/Forschungsbericht-11-10-1999-2512,param=.html__nnn=true

RKI (2004)

Epidemiologisches Bulletin Nr.50

www.rki.de

RKI (2006, 1)

Epidemiologisches Bulletin Nr. 41

Zur Situation der wichtigsten Infektionskrankheiten in Deutschland

Ausgewählte Zoonosen im Jahr 2005: Durch Lebensmittel übertragbare gastrointestinale Infektionen

www.rki.de

RKI (2006,2)

Infektionspidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2005

www.rki.de

RÖDEL, W.; u. SCHEUER, R. (2001)

Untersuchung zur gezielten Hemmung von *Escherichia coli* in Teewurst

Jahresbericht 2001

Bundesanstalt für Fleischforschung, Kulmbach

www.bfa-fleisch.de

SPERNER, B.; FORSTER, S.; HOHENESTER, S. (2006)

Rohwurst Technologie

www.lmhyg.de

VERBRAUCHERZENTRALE NRW (2006)

Fleisch und Geflügel

www.verbraucherzentrale-nrw.de

ZEHEL, P.; BUCHER, M.; STOLLE, A. (2006)

Handbuch zur Einführung und Umsetzung betrieblicher Eigenkontrollsysteme für handwerklich strukturierte Metzgereien

www.lmhyg.de

DANKSAGUNG

Abschliessend möchte ich mich bei Herrn Univ. Prof. Dr. Dr. hc. Andreas Stolle für die freundliche Überlassung dieses interessanten Themas, die Bereitstellung des Arbeitsplatzes, die jederzeit gewährte Unterstützung, insbesondere aber für die konstruktive Kritik und die zügige Korrektur der Dissertation und die angenehme Arbeitsatmosphäre bedanken.

Bei Frau PhD Dr. Maria- Fredriksson Ahomaa und Frau Dr. Caroline Mahler bedanke ich mich für die jederzeit gewährte Unterstützung, und überaus freundliche Betreuung während der gesamten Arbeit.

Bedanken möchte ich mich auch bei Frau Dr. Ute Messelhäuser für die zeitaufwendige Einführung in die Labortechnik.

Ganz besonders danke ich auch den Mitarbeiterinnen der Mikrobiologie Frau Hanna Dietz, Frau Ulrike Demuth, Frau Sybille Holzmann, Frau Ute Scheffler und Frau Ilona Fitzek für die freundliche Aufnahme ins Laborsteam, jederzeit gewährte kompetente Hilfe bei meiner Arbeit und freundliches Hinweisen auf meine gerade zu Beginn dieser Arbeit manchmal etwas rustikalen Arbeitsmethoden.

Herrn Dr. Heinrich Sturm danke ich für Arbeitsentlastung in den wichtigen Phasen der Dissertation, auch wenn gerade in der Praxis viel Arbeit war. Frau Waltraud Lehner danke ich für die nicht selbstverständliche Unterstützung im logistischen Bereich und für das humorvolle Hinnehmen meines Hanges zur Unordnung.

Den Inhabern und Mitarbeitern beider Betriebe danke ich für die Bereitstellung der Proben und für die praktischen Ratschläge.

Ganz besonderer Dank gilt meinen Eltern Renate Brinkmann und Hans Brinkmann für die jederzeit gewährte Unterstützung und eigentlich für alles. Meiner Mutter danke ich im Zusammenhang mit dieser Dissertation besonders für ihre Unterstützung während meiner Trostberger Zeit und meinem Vater für das Korrekturlesen und für die Hilfe bei der Übersetzung.

Meinen Freundinnen und Freunden danke ich für die Unterstützung und für das Ertragen meiner sinusoiden Stimmungskurve während der Dissertation. Frau Britta Claudia Freiin von Berchem danke ich für Aufnahme in schwieriger privater Situation und für Ablenkungen vom Schreibtisch zu passender Zeit.. Frau Bettina Ballmes danke ich für dringend benötigte logistische Hilfe gerade am Ende dieser Dissertation. Frau Julia Vollmann danke ich für das anstrengende wie wichtige Korrekturlesen meiner Arbeit. Frau Isabel Strehlow danke ich für wertvolle Gespräche und als wie Wochenenden voller Esprit. Herrn Andreas Michael Grabmann danke ich für das stoische Ertragen meiner etwas wechselnden Wohnsituationen und die damit verbundene immer humorvoll getragene Hilfe bei meinen diversen Umzügen.

