

Aus dem Institut für
Hygiene und Technologie der Lebensmittel tierischen Ursprungs
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Lehrstuhl: Univ.-Prof. Dr. A. Stolle

**Mikrobiologische Untersuchung portionierter Fleischerzeugnisse und
Salatzubereitungen in Küchen sozialer Einrichtungen unter besonderer
Berücksichtigung der Lagerzeit und Temperatur**

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

von
Michael Schlegel
aus Stuttgart

München 2005

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

Dekan: Univ. - Prof. Dr. A. Stolle
Referent : Univ. - Prof. Dr. A. Stolle
Korreferent: Univ. – Prof. Dr. J. Peters

Tag der Promotion: 11. Februar 2005

Inhaltsverzeichnis

Einleitung

Literatur

1	<i>Mikrobiologische Aspekte bezüglich Wachstumsverhalten und Pathogenität</i>	7
1.1	Allgemeines	7
1.2	Wachstumsverhalten	11
1.3	Einteilung der pathogenen Bakterien in drei Gruppen	17
2	<i>Spektrum der untersuchten Bakterien</i>	20
2.1	Gesamtkeimzahl	20
2.1.1	Allgemeines	20
2.1.2	Bedeutung als Indikator	20
2.2	Enterobakteriazeen	22
2.2.1	Allgemeines	22
2.2.2	Bedeutung	22
2.3	<i>E. coli</i>	23
3	<i>Einfluss des pH-Werts auf Lebensmittel</i>	26
4	<i>Lebensmittelhygiene – gesetzliche Grundlagen</i>	29
5	<i>Material und Methoden</i>	34
5.1	Kernfrage	34
5.2	Probenmaterial	35
5.3	Untersuchungsmaterial	37

5.4 Methoden	37
5.4.1 Bestimmung der aeroben Keimzahl bei +30,0 °C nach § 35 L 06.00-19	40
5.4.2 Bestimmung von <i>Enterobacteriaceae</i> nach § 35 L 06.00-25	42
5.4.3 Bestimmung von <i>E. coli</i> nach § 35 L 06.00-36	44
6 Ergebnisse	46
6.1 Untersuchungen zur Gesamtkeimzahl	46
6.1.1 Gesamtkeimzahl der Fleischerzeugnisse aus dem Einzelhandel	46
6.1.2 Gesamtkeimzahl der angekauften Salatproben	49
6.1.3 Gesamtkeimzahl der Fleischerzeugnisse aus Versorgungseinrichtungen	52
6.1.4 Gesamtkeimzahl der Salatproben aus Versorgungseinrichtungen	55
6.2 Untersuchungen auf <i>Enterobacteriaceae</i>	58
6.2.1 Gehalt der Fleischerzeugnisse aus dem Einzelhandel an Enterobakteriazeen	58
6.2.2 Gehalt der angekauften Salatproben an Enterobakteriazeen	61
6.2.3 Gehalt der Fleischerzeugnisse aus Versorgungseinrichtungen an Enterobakteriazeen	62
6.2.4 Gehalt der Salatproben aus Versorgungseinrichtungen an Enterobakteriazeen	64
6.3 Untersuchung auf <i>E. coli</i>	67
6.4 pH-Werte der Salatproben und ihre statistische Verteilung	68
6.5 Zusammenhang zwischen Lagerungstemperatur und Bakterienwachstum	71
7 Diskussion	73
7.1 Gesamtkeimzahl der Fleischerzeugnisse	74
7.2 Gehalt der Fleischerzeugnisse an Enterobakteriazeen	77
7.3 Gehalt der Fleischerzeugnisse an <i>E. coli</i>	78
7.4 Gesamtkeimzahl der Salatproben	79
7.5 Zusammenhang zwischen pH-Wert und Gesamtkeimzahl der Salatproben	80
7.6 Gehalt der Salatproben an Enterobakteriazeen im Zusammenhang mit ihrem pH-Wert	81

7.7	Gehalt der Salatproben an <i>E. coli</i>	84
7.8	Schlussfolgerungen	85
8	Zusammenfassung	86
9	Summary	88
10	Anhang	90
10.1	Nährmedien	90
10.1.1	Medien zur Bestimmung der aeroben Gesamtkeimzahl bei +30,0 °C	90
10.1.2	Medien zur Bestimmung von <i>Enterobacteriaceae</i>	91
10.1.3	Medien zur Bestimmung von <i>E. coli</i>	93
10.2	Geräte und Hilfsmittel	95
11	Literaturverzeichnis	99
12	Tabellenverzeichnis	111
13	Abbildungsverzeichnis	112
14	Danksagung	114
15	Lebenslauf	115

Einleitung

Ein Lebensmittel soll wertbestimmende und substantielle Eigenschaften wie Qualität und Genusswert aufweisen. Des Weiteren sollte es keine Gefahr für den Verbraucher darstellen. Gerade im Bereich der Gemeinschaftsverpflegung wird auf den letztgenannten Aspekt besonderer Wert gelegt. Zahlreiche Bevölkerungsgruppen, wie beispielsweise Kinder und ältere Menschen, sind immungeschwächt. Dies erhöht ihre Empfindlichkeit gegenüber Infektionen, auch solcher, die durch suboptimale hygienische Umstände ausgelöst werden. Ein besseres Verständnis über die Faktoren, die für die Ernährung älterer Menschen eine Rolle spielen, sollte die Entwicklung von angemessenen Präventions- und Handlungsstrategien ermöglichen, um so die Gesundheit älterer Menschen zu erhalten.

Die Ausgangsfragestellung dieses Modellversuchs war, inwieweit sich die Lagerung von nicht erhitzten Fleischerzeugnissen und Salatzubereitungen bei Raumtemperatur auf eine Keimzahlvermehrung auswirkt. Erschwerend kommt hinzu, dass in der Praxis in einigen Fällen angerichtete und verzehrfertige Speiseplatten/-teller bis zur Erlangung einer für die Bewohner angenehmen Verzehrtemperatur vom Personal oder den Bewohnern selbst außerhalb des Kühlschranks gelagert werden. Dies stellt eine hygienische Problematik dar, welche zu einer Beeinträchtigung der Gesundheit führen kann. Es wurde ein Modellversuch mit dem Ziel erarbeitet, eine Aussage über das Wachstumsverhalten des Keimgehalts verzehrfertiger Fleischerzeugnisse und Salatzubereitungen bei Raumtemperatur (ca. +24 °C) zu erhalten. Da unter Praxisbedingungen die Zeiträume bis zum Verzehr eines Abendessens von wenigen Minuten bis hin zu Stunden dauern können, wurden exemplarisch die Untersuchungszeitpunkte von 0, 2, 4, und 20 Stunden Lagerung bei Raumtemperatur gewählt.

Literatur

1 Mikrobiologische Aspekte bezüglich Wachstumsverhalten und Pathogenität

1.1 Allgemeines

Mikroorganismen wie z. B. Enterobakteriazeen oder *Escherichia coli* (*E. coli*) die in Fleischerzeugnissen und Salatzubereitungen nachweisbar sind kommen in der gesamten Umwelt vor. Sie sind in der Regel heterotroph, sie benötigen also sowohl Kohlenstoff als auch Stickstoff für die Vermehrung. Sie leben hauptsächlich als Saprophyten in Lebensmitteln, d.h. sie beziehen die Nährstoffe überwiegend aus totem organischem Material und parasitieren nicht (ROLLE und MAYR 1993). Dabei lassen sich drei Gruppen unterscheiden. Unter Zuhilfenahme von entsprechenden Enzymen spalten lipolytisch tätige Mikroorganismen Fett, saccharolytische Kohlenhydrate und proteolytische Eiweiße. Hinsichtlich der Temperaturansprüche werden bei Bakterien thermophile, mesophile und psychrophile Arten unterschieden. Die mesophilen Spezies, zu welchen die ersten beiden Gruppen zählen, haben ihr Optimum zwischen +20,0 °C und +45,0 °C. Zu dieser Gruppe zählt die Mehrzahl der Bakterienarten. Die proteolytischen Bakterien sind zusätzlich oft psychrotroph, d.h. sie bilden bei Temperaturen von +7,0 °C bis +/-1,0 °C innerhalb von sieben bis zehn Tagen auf festen Nährböden sichtbare Kolonien, bzw. sorgen für eine Trübung flüssiger Nährmedien (BAUMGART et al. 1993, ROLLE und MAYR 1993, SINELL 2004).

Mikroorganismen können Fleischerzeugnisse sowohl positiv als auch negativ beeinflussen. Zu den ersteren, technologisch erwünschten, gehören Starterkulturen die zur Herstellung von Rohwurst und Pökelware erforderlich sind. Die wichtigsten Starterkulturen sind Milchsäurebakterien, Mikrokokken, Hefen und Schimmelpilze (FISCHER 1988, FEHLHABER 1992). Die Verderbsorganismen bedingen den mikrobiellen Verderb eines Lebensmittels, zu dieser Gruppe zählt man die enzymaktiven Mikroorganismen. Bei den Mikroben der zweiten Gruppe kann zwischen pathogenen und nichtpathogenen unterschieden werden. Folgende Hauptkontaminationsquellen kommen in Betracht: Im Erdboden finden die Mikroorganismen ausreichend Nährstoffe und Wasser, was eine optimale Voraussetzung für ihre Vermehrung ist. Tiere und Menschen sind selbst ebenfalls Quellen für Verunreinigungen. Die Mikroorganismen, welche im Verdauungstrakt, auf der Haut und den Schleimhäuten von Säugetieren leben, können in Lebensmitteln als Verderbniserreger wirken. Diese Mikroorganismen können zum anderen aber auch Krankheitserreger für den Menschen sein. Über die Düngung der Felder gelangt die Fäkalflora wiederum in den Erdboden. Insekten, Wild- Haus- und Nagetiere fungieren zusätzlich als sog. „lebende Vektoren“, d.h. sie sind Überträger von Mikroorganismen. Bei der Gewinnung und Verarbeitung kann es durch o.g. Quellen zur Kontamination kommen. In der Luft befinden sich ebenfalls Mikroben, diese sind jedoch aufgrund ihrer geringen Anzahl von untergeordneter Bedeutung (BAUMGART et al. 1993, SINELL 2004).

Der Nachweis von Mikroorganismen kann qualitativ oder quantitativ erfolgen. Beim qualitativen Nachweis wird nur das Vorhandensein oder die Abwesenheit bestimmter Mikroben untersucht. Dieses Verfahren findet bei obligat pathogenen Mikroorganismen wie Salmonellen oder Listerien Anwendung, welche nicht in Lebensmitteln vorkommen dürfen. Der quantitative Nachweis beinhaltet die Angabe des Gehalts an

vermehrungsfähigen Mikroorganismen. Er wird in Kolonien bildende Einheiten pro Gramm Untersuchungsmaterial (KbE/g) angegeben. Jedoch sind Mikroben mitunter erst ab einer bestimmten Menge krankheitserregend (BAUMGART et al. 1993).

Für die Beurteilung des Gehaltes an vermehrungsfähigen Mikroorganismen in Salat oder Wurstwaren gibt es keine gesetzlichen Vorschriften, lediglich Empfehlungen mit Gesetzescharakter. Der Arbeitskreis lebensmittelhygienischer tierärztlicher Sachverständiger (ALTS) hat für ausgewählte Fleischerzeugnisse Richtwerte einiger mikrobiologischer Parameter erarbeitet, die jedoch lediglich als Orientierungshilfe und nicht als Rechtsvorschrift gelten sollen. Dazu gehören unter anderem die Gesamtkeimzahl und der Gehalt an Enterobakteriaceen. Der Gehalt an Mikroorganismen variiert je nach Produktgruppe. Obligate pathogene Mikroorganismen werden hierbei jedoch nicht berücksichtigt. Die Einzelwerte sind in **Tabelle 1** gelistet.

Tabelle 1: Mikrobiologische ALTS-Richtwerte (modifiziert nach BABBEL 2001)

Mikrobiologische ALTS-Richtwerte [KbE/g]		
Produkt	Gesamtkeimzahl	Enterobakteriazeen
Brühwürste		
Stückware	/	$1,0 \times 10^2$
Aufschnitt	/	$1,0 \times 10^3$
Würstchen		
Stückware	$1,0 \times 10^5$	$< 1,0 \times 10^2$
Rohwurst schnittfest		
Stückware	$1,0 \times 10^8$	/
Aufschnitt	$1,0 \times 10^8$	$1,0 \times 10^3$
Rohwurst streichfähig		
Stückware	$1,0 \times 10^8$	$1,0 \times 10^3$
Kochwürste		
Kochstreichwürste		
Stückware	$1,0 \times 10^4$	$< 1,0 \times 10^2$
Blutwürste		
Stückware	$1,0 \times 10^4$	$< 1,0 \times 10^2$
Aufschnitt	$1,0 \times 10^6$	$1,0 \times 10^2$
Rotwürste		
Stückware	$1,0 \times 10^4$	$< 1,0 \times 10^2$
Aufschnitt	$1,0 \times 10^6$	$1,0 \times 10^2$
Sülzen und Aspikwaren		
Stückware	$1,0 \times 10^4$	$< 1,0 \times 10^2$
Aufschnitt	$1,0 \times 10^7$	$< 1,0 \times 10^2$
Pökelfleischerzeugnisse		
Kockpökelfleisch		
Stückware	/	$1,0 \times 10^2$
Aufschnitt	/	$1,0 \times 10^3$
Rohpökelfleisch		
Stückware	$1,0 \times 10^6$	$1,0 \times 10^3$
Aufschnitt	$1,0 \times 10^7$	$1,0 \times 10^3$

Außerdem hat die Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM) Warnwerte für Salate herausgegeben, wobei dieser einen aeroben mesophilen Gesamtkeimgehalt von $5,0 \times 10^7$ KbE/g nicht überschreiten sollte (DGHM 1992). Weiterhin besteht noch die Möglichkeit der Bewertung der Ergebnisse nach Angaben der schweizerischen Hygieneverordnung für vakuum-verpackten Brühwurstaufschnitt, nach der die aerobe mesophile Gesamtkeimzahl einen Wert von $1,0 \times 10^6$ KbE/g nicht überschreiten sollte. Dieselben Grenzwerte werden auch von EISGRUBER und STOLLE 2003 empfohlen.

1.2 Wachstumsverhalten

Einzelne Bakterien können zwar als Spezialisten extreme Umweltbedingungen aushalten, die Masse der Arten aber ist an die gemäßigten Bedingungen unserer Umwelt und an die Situation auf und in anderen Organismen angepasst. Dies bedeutet, dass die größte Zahl der Mikroorganismen, die im Lebensmittelbereich bedeutend sind, ihr Wachstumsoptimum zwischen $+30,0$ °C bis $+35,0$ °C haben. Bis auf wenige Gattungen benötigen die meisten Mikroorganismen Sauerstoff (JAWETZ et al. 1977, ROLLE und MAYR 1993).

Suboptimale Temperaturen oder mangelnde Nahrung können zu einer geringeren Aktivität bis hin zum Ruhen (Stase) der Bakterien führen. Die Bakterien vermehren sich dann nicht mehr und versuchen mit gedrosseltem Stoffwechsel ungünstige Bedingungen zu überleben. Werden die Reserven vorher aufgebraucht, stirbt die Zelle. Ändern sich die Bedingungen aber rechtzeitig positiv, so steigt der Stoffwechsel der Bakterienzelle sprunghaft wieder an. Nach einer zeitlich relativ kurzen Anpassungs-

phase kommt es dann auch wieder zur Vermehrung (JAWETZ et al. 1977, ROLLE und MAYR 1993, BRAUN und MAYER 2002). Bei einem spontanen Wechsel der Umweltbedingungen, z.B. bei einem Übertragen von Bakterien von einer Schneidbrettoberfläche auf ein Lebensmittel oder Transport eines Lebensmittels aus der Kühlung in die Wärme kommt es nach einer Anpassungsphase zu einem sprunghaften Anstieg des Stoffwechsels und der Vermehrungsrate (BARTELS et al. 1973). In Ruhe befindliche Bakterienzellen zeigen, wenn sich ihre Umweltbedingungen optimieren, zunächst diese Anpassungsphase. Obwohl sie an den Kontaminationsort oder besser die Matrix „Lebensmittel“ gewöhnt sind, beginnt die Vermehrungsphase z.B. bei plötzlicher Temperaturerhöhung oder andere Veränderungen der Lebensbedingungen erst frühestens ca. eine Stunde danach. Innerhalb von zwei bis drei Zellteilungszyklen wird dann die höchste Teilungsrate erreicht. Umgekehrt reagiert die Bakterienzelle auch auf eine Abkühlung mit einer Zeitverzögerung (BRAUN und MAYER 2002).

Grund für diese Schwankungen im Stoffwechsel der Bakterien sind deren spezifische Enzymmuster. Jede Bakterienart hat ihr eigenes Enzymmuster, wodurch deren Art der Ernährung festgelegt wird. Die Enzyme selbst sind wiederum in ihrer Aktivität ebenso von den Umwelteinflüssen Temperatur und Wasser abhängig. Ein Maß für das für die Mikroorganismen verfügbare Wasser ist die Wasseraktivität und wird durch den a_w -Wert (Verhältnis des Wasserdampfdruckes des Lebensmittels zu jenem von reinem Wasser) ausgedrückt. Der a_w -Wert stellt ein wichtiges Merkmal bezüglich der Haltbarkeit und der mikrobiologischen Aktivität dar. Mikroorganismen sind unterschiedlich tolerant bezüglich niedriger Wasseraktivität. Hieraus erklärt sich die wachsende Aktivität bei höheren Temperaturen und die Stase bei Unterschreiten der

unteren Temperaturgrenzen (JAWETZ et al. 1977, ROLLE und MAYR 1993, BRAUN und MAYER 2002, SINELL 2004).

Das Charakteristikum, bei optimalen Bedingungen ein Höchstmaß an Stoffwechselaktivität und Vermehrungsrate entwickeln zu können, bei schlechten Bedingungen im entgegengesetzten Ruhezustand lange ausharren zu können, unterscheidet die Bakterien von den höher entwickelten Lebewesen, die nicht so leistungsaktiv und adaptionsfähig sind. Die größte Leistung dieser Kleinstorganismen ist dabei ihre ungeheure Vermehrungsfähigkeit (JAWETZ et al. 1977, ROLLE und MAYR 1993).

Diese rasante Art der Vermehrung erklärt den Umstand, warum sich Bakterien in einem Lebensmittel geradezu explosionsartig vermehren können und Keimzahlen von mehreren Millionen Mikroorganismen pro Gramm Lebensmittel entstehen. Die normale Lebenserwartung einer Bakterienzelle beträgt nur wenige Tage bis Wochen. Bei einer Kontamination eines Lebensmittels kommt es z.B. zunächst am Kontaminationsort zu einem Anhaften von Bakterienzellen. Nach der bereits erwähnten Phase der Anpassung an das neue Umgebungsmilieu, welche Minuten bis wenige Stunden dauern kann, beginnen die Zellen dann mit der Vermehrung. Diese Vermehrungsphase kann bei optimalen Bedingungen mehrere Tage andauern (BAUMGART et al. 1993, SINELL 2004).

Die beweglichen Bakterienarten haben zudem die Chance sich durch Fortbewegung in der Breite und der Tiefe neue Lebensräume zu erschließen. Irgendwann kommt es jedoch in einer Kolonie zu einem Gleichgewicht zwischen Zuwachs durch Vermehrung und Minderung durch natürliches Absterben. Schließlich werden die Nährstoffe aufgebraucht und die Bakterien sterben endgültig ab. Manche Bakterien verändern ihre Umgebung durch ihre Stoffwechselprodukte derart, dass sie letztendlich ihre ei-

genen Lebensbedingungen verschlechtern und zum Schluss die Absterberate höher ist als die Zuwachsrate. Diesen Effekt kann man z.B. bei der Rohwurstreifung feststellen. Milchsäurebakterien, welche als Starterkultur zugesetzt werden, produzieren Milchsäure, welche den pH-Wert im Milieu absenkt und damit die Konkurrenzflora unterdrückt oder absterben lässt. Durch die starke Vermehrung der Milchsäurebakterien wird soviel Milchsäure produziert, dass der pH-Wert schließlich soweit absinkt, dass diese Umweltbedingungen auch für die Milchsäurebakterien selbst „unakzeptabel“ werden und die Absterberate größer wird als die Vermehrungsrate (TERPLAN 1969, LEISTNER 1985).

Wie bereits erwähnt, gibt es Bakterien, die sich an extreme Hitze oder Kälte gewöhnt haben. In der Regel liegt ihr Optimum für die Vermehrung aber in gemäßigten Temperaturbereichen. Für die Lebensmittelherstellung sind hitzeresistente Keime ebenso von Bedeutung wie die an die niedrigen Temperaturen angeglichenen Bakterien der Kühlschranksflora. Neben pH-Wert und Temperatur kann auch der Sauerstoffgehalt einen entscheidenden Einfluß auf das Wachstum der Bakterien haben. z. B. auf sogenannte Anaerobier (an = nicht/kein, aeros = die Luft), für welche Sauerstoff sogar bakterizid wirken kann. Die „mikroaerophilen Arten“ (mikro = gering, klein, wenig; aerophil = Luft liebend) dagegen haben ihren Stoffwechsel zum Beispiel so ausgerichtet, dass sie zwar grundsätzlich Sauerstoffanwesenheit als Optimum ansehen, aber mit geringerer Sauerstoffkonzentration besser leben und auch meist ohne Sauerstoff weiter leben können. Manche Arten sterben bei normalem, atmosphärischem Sauerstoffgehalt sogar schnell. Letztendlich gibt es daher nur eine sichere Möglichkeit in Lebensmitteln Bakterien abzutöten, nämlich durch Hitze. Bakterienzellen können eine Erhitzung auf Dauer nicht überleben (JAWETZ et al. 1977, ROLLE und MAYR 1993).

Für den Bereich der Lebensmittelproduktion (außer bei der Vollkonservenproduktion) ist der Grenzwert, der die Annahme der sicheren Abtötung ggf. vorhandener Keime zulässt, die Temperatur von +72,0 °C mit einer Einwirkzeit im Kern des Lebensmittels für mindestens zwei Minuten. Alle natürlich in den Rohstoffen vorkommenden Keime sterben bei dieser Temperatur und Einwirkzeit ab, d.h. ihre zelleigenen Eiweißkörper werden zerstört und die Bakterienzelle stirbt (BAUMGART et al. 1993). Jedoch muss man auch bei dieser Vorgehensweise nur von einer Keimreduktion nicht aber von einer absoluten Keimabtötung ausgehen. Biomathematische Rechenmodelle zeigen, dass insbesondere die Größe der Keimzahl entscheidend ist, wie viele Zellen in dieser Zeitspanne von zwei Minuten absterben bzw. überleben. Von einer optimalen Abtötung mit theoretisch 99% abgetöteten Mikroorganismen ausgehend, blieben trotz der Hitzeeinwirkung 1% der Bakterien am Leben. 1% von 100 Keimen wäre nur eine harmlose Bakterie, 1% von 1 Million Keimen wären aber immerhin noch 10.000 Bakterien, was bei manchen Mikroorganismen durchaus für die Auslösung einer Erkrankung ausreichend sein könnte. Bei sporenbildenden Bakterienarten können aber unter Umständen auch die wesentlich Hitze resistenteren Sporen überleben. Ebenso können die teilweise Hitze resistenten Bakterientoxine noch vorhanden sein (BRAUN und MAYER 2002).

Kommt eine Erhitzung nicht in Frage, kann durch Kühlung unter mindestens +7,0 °C, besser +4,0 °C (als untere Temperaturgrenze der Enzymaktivität) ein „Status quo“ der Nichtvermehrung und enzymatischen Niedrigaktivität erreicht werden. Das bedeutet, dass die unter Umständen gefährlichen Keime weiter anwesend sind und der enzymatische Abbau der Speisen durch die Bakterien, wenn auch sehr verlangsamt, weiter erfolgt. Auch Wasserentzug, erhöhte Kochsalzkonzentration oder Verschiebung des pH-Wertes unter 5,0 können genutzt werden, um eine Stase der Bakterien-

zelle herbei zu führen. Die Einwirkzeiten der geänderten physikalisch/chemischen Einflüsse müssen aber erheblich länger sein, um über die Stase der Bakterienzellen hinaus auch deren Abtötung zu bewirken. Da diese Änderungen jedoch nur indirekt über eine Beeinflussung des Stoffwechsels der Bakterienzellen wirken, ist man nicht in der Lage eine Aussage über die tatsächliche Abtötung von Keimen zu treffen. Chemikalien, starke Säuren und Laugen greifen dagegen jeweils an verschiedenen Positionen die Zellwände der Bakterienzellen selbst an. Da diese Zellwände sehr unterschiedlich aufgebaut sind, ergibt sich daraus auch eine große Varianz der Empfindlichkeit verschiedener Bakterienarten auf derartige Einflüsse (BAUMGART et al. 1993, BRAUN und MAYER 2002).

Neben der Zeit spielen für die Überlebensrate der Bakterien unter Umständen auch vor Hitze schützende Bestandteile von Speisen eine Rolle, sozusagen als Hitzeschild. Von großer Bedeutung für das Durchdringen der Hitze durch ein Lebensmittel, ist dessen Wassergehalt. Je höher die Wasseraktivität und damit der a_w -Wert eines Lebensmittels, desto besser und schneller kann es von Hitze durchdrungen werden (SINELL 2004).

Sehr wichtig ist die Einhaltung des Hürdenprinzips. Hierbei sind alle Faktoren, welche dem Wachstum der Mikroorganismen entgegenwirken zusammengefasst, und tragen so gemeinsam zum Schutz des Lebensmittels vor Mikroorganismen bei. In der Praxis werden deshalb häufig verschiedene Hygienekonzepte kombiniert, um eine optimale Wirkung zu erzielen (LEISTNER und RÖDEL 1976, WALSER et al. 2001 und 2004).

1.3 Einteilung der pathogenen Bakterien in drei Gruppen

Im Sinne des HACCP-Systems stehen nur die krankmachenden (pathogenen) Mikroorganismen im Mittelpunkt der Betrachtung. Keime, welche als „gesundheitsschädlich“ und damit als „hohes Risiko“ zu bezeichnen sind, können in drei verschiedene Gruppen unterteilt werden:

Gruppe 1: obligat pathogene Keime

Die erste Gruppe umfasst die obligat pathogenen Keime, Bakterien, die grundsätzlich als krank machend für den Menschen eingestuft sind. Zu dieser Gruppe gehören z.B. Salmonellen, Shigellen, *Campylobacter spp.*, Yersinien, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens* sowie *Clostridium botulinum*. Schon die mögliche Anwesenheit von Keimen dieser Gruppe ist stets als sehr hohes Risiko einzustufen. Das Risiko kann aber während der Produktion durch die bereits angesprochenen chemisch/physikalischen Einflüsse deutlich minimiert werden (BAUMGART et al. 1993, ROLLE und MAYR 1993).

Gruppe 2: fakultativ pathogene Keime

Die zweite Gruppe sind Mikroorganismen, die nur bei Ausbildung bestimmter Eigenschaften Menschen krank machen. Man spricht daher von fakultativ pathogen. Dabei gibt es Keime, die, genetisch bedingt, vom harmlosen Bakterium zum obligat pathogenen Keim mutieren können, sowie solche Keime, die nur unter bestimmten (teilweise noch gar nicht bekannten) Umständen Toxine (Gift) produzieren (JAWETZ et al. 1977, ROLLE und MAYR 1993, BRAUN und MAYER 2002)

Zu dieser Gruppe 2 gehört *E. coli*, ein nicht pathogener Darmbewohner bei Mensch und Tier mit seinen pathogenen mutierten Typen EHEC, EPEC, ETEC und EIEC, auf die in einem späteren Kapitel näher eingegangen wird (ROLLE und MAYR 1993, SINELL 2004). Auch z.B. nicht pathogene auf der Haut lebende Keime haben pathogene Vertreter. Während *Staphylococcus epidermidis*, wie der Name schon sagt, lediglich unsere Haut besiedelt, ist sein Verwandter *Staphylococcus aureus* bei eitrigen Entzündungen häufig die bakterielle Ursache. Im Lebensmittel produziert dieser Keim u.U. verschiedene Gifte. Wann die überall vorkommenden *Bacillus cereus* Bakterien zu Toxinproduzenten werden ist noch nicht gänzlich geklärt. Sie gehören aber auf jeden Fall in diese Gruppe fakultativ pathogener Keime (JAWETZ et al. 1977).

Bei der statistischen Auswertung tatsächlich stattgefundener, Lebensmittel bedingter Erkrankungen werden Keime dieser Gruppe 2 wie die Keime der Gruppe 1 als sehr häufige Ursache angegeben. Die Anwesenheit von Keimen dieser Gruppe stellt daher immer ein Risiko dar. Die Abschätzung einer hohen oder niedrigen Keimzahl ist hierbei oftmals nur schwer möglich und muss insbesondere im Zusammenhang mit den Produktionsumständen vorgenommen werden (BAUMGART et al. 1993).

Gruppe 3: Opportunistische Keime

Die dritte Gruppe stellt eine Vielzahl von Bakterienarten dar, denen zumindest eine wegbereitende Rolle für Erkrankungen zugesprochen wird. Als Beispiel sind für diese Gruppe einige Arten der Familie der *Enterobacteriaceae* zu nennen. Da diese Keime wie *Hafnia alvei* und *Enterobacter cloacae* mit den *Salmonellen* und *E. coli* verwandt sind, liegt die Vermutung nahe, dass sie auch im Darm des Menschen pathogen wirken können oder zumindest den Organismus schwächen. Eine grundsätzliche Risi-

koeinschätzung ist für diese Gruppe 3 kaum möglich. Es empfiehlt sich aber, bei der hygienischen Bewertung einer Lebensmittelproduktion im Sinne des HACCP-Konzeptes hinsichtlich mikrobiologischer Gefahren, die mögliche Anwesenheit von Keimen dieser Gruppe so zu werten wie das Risikopotential von Keimen der Gruppe 2 (JAWETZ et al. 1977, BAUMGART et al. 1993, ROLLE und MAYR 1993, BRAUN und MAYER 2002).

2 Spektrum der untersuchten Bakterien

2.1 Gesamtkeimzahl

2.1.1 Allgemeines

Unter dem Begriff „Gesamtkeimzahl“ versteht man alle lebenden Mikroorganismen in einer definierten Menge an Probenmaterial. Sie dient dazu, den mikrobiologischen Status eines Produktes zu ermitteln, ohne jedoch eine konkrete Differenzierung in einzelne Arten vorzunehmen (PRÄNDL et al. 1988). Deßweiteren gibt sie die Anzahl aerober, „lebensfähiger Mikroorganismen in einer bestimmten Probenmenge“ an (SCHMIDHOFER 1988). Jedoch gibt diese Methode keine Auskunft über die Zusammensetzung der einzelnen Genera und Spezies der Mikroorganismen im Lebensmittel (MARRIOTT 1992).

2.1.2 Bedeutung als Indikator

Laut FEHLHABER 1992 gilt zu beachten, dass je höher die Gesamtkeimzahl ist, es umso wahrscheinlicher wird, dass pathogene Mikroorganismen, toxische mikrobielle Stoffwechselprodukte und Verderbniserreger vorkommen. Außerdem besteht bei hoher Gesamtkeimzahl der Verdacht auf Hygienemängel bzw. Herstellungsfehler. Die Beurteilung anhand der Gesamtkeimzahl muss unter Berücksichtigung der Art und Herstellungsweise des Lebensmittels erfolgen. So sind z.B. bei Rohwurst und Hackfleisch Werte zwischen 10^5 und 10^7 KbE/g durchaus akzeptabel (FEHLHABER 1992). Laut SINELL 1985 und 2004 ist die Gesamtkeimzahl ab einer Konzentration

von 10^8 KbE/g als erhöht anzusehen und kann in diesem Fall ein Hinweis auf mangelnde Hygiene im gesamten Fleischgewinnungs- und Verarbeitungsprozess sein. Fehler bei der Lagerung, wie z.B. zu langes Lagern, zu hohe Temperaturen oder Beschädigung der Verpackung begünstigen hierbei die Vermehrung von Mikroorganismen im Produkt. Es muss jedoch immer der technologische Hintergrund mit berücksichtigt werden. So enthalten beispielsweise erhitzte Produkte wie Brühwürste weniger Mikroben als Rohwurstzeugnisse, denen in der Regel noch Starterkulturen zugesetzt werden (SINELL 1985 und 2004). Zusammenfassend kann man sagen, dass der Gesamtkeimgehalt lediglich eine Indikatorfunktion besitzt und keine gezielten Aussagen über z.B. pathogene Mikroorganismen ermöglicht. Deshalb ist es bei der mikrobiologischen Untersuchung von Lebensmittel sinnvoll auf einzelne relevante Erreger, je nach Fragestellung, einzugehen (ROLLE und MAYR 1993, SINELL 2004).

2.2 Enterobakteriazeen

2.2.1 Allgemeines

Enterobakteriazeen sind gramnegative, fakultativ anaerobe Stäbchen, die keine Sporen ausbilden und anaerob Kohlenhydrate, hauptsächlich Glucose, unter Bildung von Säuren und Gas abbauen. Ferner reduzieren sie Nitrat zu Nitrit und besitzen das Enzym Katalase. An ihre Umgebung stellen sie hohe Ansprüche: Bei niedrigen pH-Werten vermehren sie sich nicht mehr. Sie sind nicht resistent gegenüber hohen Temperaturen und nur bedingt gegenüber tiefen Temperaturen (Gefriertemperaturen), Trockenheit und Bestrahlung. In der Regel leben sie im Darmkanal von Mensch und Tier, einige Gattungen findet man auch auf Pflanzen, im Erdboden und in Gewässern. Die Familie der Enterobakteriazeen umfasst mindestens 30 verschiedene Gattungen, darunter *Escherichia*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Citrobacter*, *Shigella*, *Yersinia* und *Enterobacter* als die wichtigsten Vertreter (BAUMGART et al. 1993, ROLLE und MAYR 1993, SINELL 2004).

2.2.2 Bedeutung

Enterobakteriazeen gehören zu den unerwünschten Mikroorganismen, die Lebensmittel negativ beeinflussen. Sie sind am Verderb von Lebensmitteln beteiligt und verursachen beispielsweise eine schmierig-schleimige Oberfläche, graugrünliche Farbveränderungen sowie fauligen Geruch und Geschmack (SCHREITER 1981). Sie werden außerdem als Umweltindikatoren herangezogen. Aufgrund der beschriebenen Eigenschaften weisen sie auf fehlerhafte Behandlungsverfahren und mangelnde

Hygiene in einem Herstellungsverfahren von Lebensmitteln hin (FERRY 1999). In den ALTS-Richtlinien finden sich ebenfalls entsprechende Bewertungsgrundlagen (**Tabelle 1**).

2.3 *E. coli*

Die Spezies *E. coli* gehört zur Gattung *Escherichia* in der Familie der Enterobakteriaceen. *E. coli* ist ein gramnegatives, aerobes oder fakultativ anaerobes Stäbchen, welches keine Sporen ausbildet und meist eine Kapsel besitzt. Ein großer Teil produziert Schleim und besitzt Fimbrien (von lat. fimbria = Franse), Pili (von lat. pilus = Haar) oder Geißeln, mit Hilfe derer sie sich fortbewegen können. Ferner haben 95% der Spezies die Fähigkeit, Kohlenhydrate, und zwar neben Glucose, Maltose, Mannit und Sorbit vor allem Lactose unter Bildung von Säuren und Gas zu spalten. Diese wird als biochemisches Nachweiskriterium herangezogen. Aufgrund der Antigenstruktur kann *E. coli* in Serotypen differenziert und somit genauer identifiziert werden. Dadurch ist eine Unterscheidung von pathogenen und nichtpathogenen *E. coli* möglich. Oberflächenantigene (O-Antigene) sind hitzestabile Lipopolysaccharide. Kapsel- oder Hüllenantigene (K-Antigene) kommen in Form von Polysacchariden in der Kapsel und in den Fimbrien vor. Bei beweglichen Stämmen findet man in den Geißeln hitzelabile Eiweißkörper als H-Antigene. Vergleichbar dazu sind die Antigene auf den Fimbrien und Pili, die entsprechend Fimbrien- oder Pilusantigene bzw. Haftantigene genannt werden. Sie dienen dazu, dem Bakterium einen festen Halt an den Epithelzellen des Darmes zu verleihen. *E. coli* ist Bestandteil der natürlichen Dickdarmflora bei Mensch und Tier (ULLRICH et al. 1985, WIESNER und RIBBECK 1991, BAUMGART et al. 1993, ROLLE und MAYR 1993).

Daneben sind einige *E. coli* Serotypen Krankheitserreger, die ihre pathogenen Eigenschaften hauptsächlich im Darmtrakt entfalten. So verursachen beispielsweise enteropathogene *E. coli* (EPEC) Durchfall, enteroinvasive *E. coli* (EIEC) geschwürige Veränderungen und enterotoxigene *E. coli* (ETEC) den sogenannten „Reise-Durchfall“ im Urlaub. Letztere findet man meist auf rohem Gemüse, in Wasser oder auf Speiseeis. Der Infektionsweg erfolgt vom Mensch auf das Lebensmittel und von dort wieder zurück zum Menschen. Seit 1982 wurden weitere Serovaren bekannt und sind von erheblicher Bedeutung. Enterohämorrhagische *E. coli* (EHEC) kommen hauptsächlich auf rohem Fleisch und in Rohwürsten vor, und führen ebenfalls zu Durchfall sowie zu systemischen Erkrankungen. Gemeinsames Merkmal aller EHEC ist die Fähigkeit zur Produktion von Shiga Toxinen (Synonym: Verotoxine) (SINELL 2004). Verotoxin bildende *E. coli* (VTEC) sind ein EHEC-Stamm der das Toxin Verotoxin bildet. Dieses zerstört die Endothelzellen der Blutgefäße, was zum Austritt von Flüssigkeit in das Gewebe führt. Ödeme sind die Folge (ROLLE und MAYR 1993). BÜLTE et al. (1996) untersuchten das Vorkommen von VTEC bei 1089 Lebensmitteln tierischen Ursprungs und bei 87 schlachtfrischen Lammtierkörpern. Bei 53,4 % der Proben von Hackfleisch sowie Koch- und Brühwürsten und bei 68,7 % der Proben von Schweine-, Rind-, Geflügel-, Wild- und Lammfleisch konnte eine Kontamination mit *E. coli* von 10^1 bis 10^3 KbE/g festgestellt werden. Davon waren jedoch nur 0,42 % VTEC positiv. Trotz eines hohen Vorkommens von *E. coli* ist der EHEC-Stamm VTEC als Lebensmittelvergifter weniger bedeutend.

STIEBING (1999) fand heraus, dass die Anfangskontamination mit EHEC in schnittfesten Rohwürsten um zwei bis fünf Zehnerpotenzen, in streichfähigen Rohwürsten um eine Zehnerpotenz und nach einer Lagerung von 28 Tagen um 10^2 KbE/g vermindert werden kann, wenn Säuerung und Abtrocknung schnell und umfassend statt-

finden und der Nitritgehalt nicht zu niedrig ist. Ferner zeigt eine Druckbehandlung mit 5000 bar über 20 Minuten am Ende der Reifezeit ähnliche Effekte.

Schließlich ist *E. coli* als Bestandteil der Enterobakteriaceen am Verderb von Lebensmitteln beteiligt und verursacht die dort beschriebenen Veränderungen. *E. coli* spielt also in Lebensmitteln eine wichtige Rolle als Indikatorkeim für fäkale Kontamination. Seine Anwesenheit weist auf eine schlechte Betriebs,- und/oder Personalhygiene hin (SINELL 2004).

3 Einfluss des pH-Werts auf Lebensmittel

Der pH-Wert ist definiert als

„[...] der negativ dekadische Logarithmus [...] der Wasserstoffionenkonzentration“
(HOFFMANN 1986).

Das bedeutet, dass beispielsweise ein pH-Wert von 7 einer Wasserstoffionenkonzentration von $0,0000001 (= 10^{-7})$ g pro Liter Wasser entspricht. Je mehr Wasserstoffionen sich in einem Medium befinden, desto kleiner ist der pH-Wert und umgekehrt. Der pH-Wert von 7,0 wird als neutral bezeichnet, Werte darunter als sauer und Werte darüber als alkalisch (HOFFMANN 1986).

Die pH-Werte von Fleischerzeugnissen oder Salat und Mikroorganismen beeinflussen sich gegenseitig. Laktobazillen bilden aus Kohlenhydraten Säuren, was zu einer Erniedrigung des pH-Wertes im Produkt von ca. 6,3 auf bis zu ca. 4,8 führen kann. Diese Eigenschaft ist z.B. bei Rohwürsten und Rohpökelfleisch erwünscht, bei anderen Erzeugnissen wie Brühwürsten ein Zeichen für den Verderb (SCHREITER 1981). Das bedeutet, dass schnellgereifte Produkte, die bereits nach 24 Stunden pH-Werte von 5,3 bis 5,2 erreichen, eine weniger ausgeprägte Umrötung und einen höheren Säuregrad aufweisen, als langsam gereifte Erzeugnisse (KNAUF 1998). Bei diesen steigt der pH-Wert nach Abschluss der Säuerung und während der Reifezeit wieder bis auf 6,8 an. Dies liegt vor allem an den alkoholischen Stoffwechselprodukten der Mikroorganismen. Unerwünschte Mikroben wie gramnegative Enterobakteriaceen

sind gegenüber niedrigen pH-Werten empfindlich, Hefen und Schimmelpilze jedoch weniger. Schimmelpilze bilden bei pH-Werten zwischen 2,0 und 3,0 und $> 6,5$ keine Mykotoxine mehr (SINELL 2004). Je weiter der pH-Wert sinkt, umso mehr setzt sich eine grampositive Flora, hauptsächlich Laktobazillen, durch (SCHREITER 1981). Staphylokokken zum Beispiel werden in ihren Starterkultureigenschaften ab einem pH-Wert von 5,0 gehemmt. *Staphylococcus (S.) aureus* und Salmonellen werden ab einem pH-Wert von 4,5 in ihrem Wachstum gehemmt (PRÄNDL et al. 1988). EL-KHATEIB (1995) stellte fest, dass sich die Konzentration von pathogenen *E. coli* in „Egyptian fresh Sausages“ bei einem pH-Wert von 5,8 nach neun Stunden um $1,3 \times 10^1$ KbE/g, bei einem pH-Wert von 4,5 und einer Lagerung über neun Stunden bei $+35,0 \text{ }^\circ\text{C}$ um $1,0 \times 10^3$ KbE/g verringerte.

Rind und Schweinefleisch erreichen nach Abschluss der Fleischreifung einen pH-Wert zwischen 5,6 und 6,2. Fleischerzeugnisse, die keinen Säuerungsprozess durchlaufen, liegen ungefähr im selben Bereich. Eine Ausnahme bilden Blutwürste. Deren pH-Wert nähert sich dem neutralen Bereich an, da Blut als wesentlicher Inhaltsstoff einen pH-Wert von 7,4 hat (KRIEG 1990). Sülzwürsten wird meist Essig zugesetzt, daher sinkt der pH-Wert bei dieser Gruppe bis auf 4,5 ab (HOFMANN 1986, GIACCONNE et al. 1987, PRÄNDL et al. 1988).

STOJANOWIC und FLEMMIG (1988) untersuchten vorverpackten Kochschinkenaufschnitt. Sie stellten fest, dass ein niedriger pH-Wert nicht unbedingt mit einer sinnfälligen Veränderung im Geschmack korreliert. Die gleiche Beobachtung machte GIACCONNE (1987) im Zusammenhang mit Haltbarkeitsuntersuchungen bei vakuumverpacktem Roh- und Brühwurstaufschnitt.

Der pH-Wert ist somit ein wesentlicher Parameter, um die Haltbarkeit eines Produktes zu beeinflussen. Aber als alleiniges technologisches Hilfsmittel ist er nicht ausreichend.

4 Lebensmittelhygiene – gesetzliche Grundlagen

Gemäß der Lebensmittelhygieneverordnung besteht seit 5. August 1997 eine grundlegende rechtliche Basis für die Etablierung von Eigenkontrollsystemen in Lebensmittelbetrieben. Dies bezieht Küchen sozialer Einrichtungen, wie z.B. Alten-, - und Pflegeheimen, und den Lebensmittel liefernden Einzelhandel mit ein. Deren Umsetzung verläuft jedoch schleppend (BACH 2000). Ebenso existiert eine Reihe von Richtlinien, welche Eigenkontrollen EU-weit verpflichtend vorschreiben, eine Übersicht stellt **Tabelle 2** dar (HARTIG 1996). Ab dem Jahre 2006 gilt folgende neue EU-Richtlinie: Verordnung (EG) NR. 853/2004 des europäischen Parlaments und des Rates vom 29. April 2004 über Lebensmittelhygiene. Die Anforderungskataloge dieser Verordnung für die Umsetzung in den einzelnen Betriebsstrukturen werden derzeit in den einzelnen Mitgliedsländern erarbeitet. Ab 2006 werden dann die bisher geltenden Verordnungen und Richtlinien im gesamten Lebensmittelbereich aufgehoben und durch neue Verordnungen ersetzt.

Tabelle 2: Rechtliche Grundlagen für betriebliche Eigenkontrollen

Rechtsvorschrift	Richtlinie	Geforderte Maßnahmen
Fleischerzeugnisse	77/99/EWG Art. 7 Abs. 2	<p>Durchführung von Eigenkontrollen nach folgenden Grundsätzen:</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Ermittlung von kritischen Punkten ▪ Überwachungsverfahren für kritische Punkte ▪ Untersuchung von entnommenen Proben durch zugelassene Labors ▪ Verpflichtung zu Aufzeichnungen ▪ Rückruf der Ware bei Gefahr ▪ Schulungsprogramm
Lebensmittelhygiene	93/43/EWG Art. 3 Abs. 2	<p>Festlegung der kritischen Punkte im Prozessablauf, Anwendung der bei der Ausgestaltung des HACCP-Systems verwendeten Grundsätze:</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Analyse der potentiellen Risiken für Lebensmittel in den Prozessen ▪ Festlegung der „kritischen Punkte“ ▪ Überprüfung der Gefährdungsanalyse für Lebensmittel, der kritischen Kontrollpunkte und der Prüf- und Überwachungsverfahren in regelmäßigen Abständen und bei jeder Änderung der Prozesse in dem Lebensmittelunternehmen.

Die Problematik der Umsetzung dieser Vorschriften basiert laut BACH (2000) überwiegend auf folgenden vier Faktoren:

- Mangelnde Einsicht der Gewerbetreibenden und fehlende rechtliche Verankerung eines Ausbildungs- und Sachkundenachweises. In vielen Großküchen wird überwiegend mit angelerntem Personal gearbeitet, bei gleichzeitig hoher Fluktuation. § 4 Abs. 2 der Lebensmittelhygiene-Verordnung verlangt zwar eine angemessene Ausbildung jedes Mitarbeiters auf dem Gebiet der Lebensmittelhygiene, aber in der Praxis wird dies meist nicht durchgesetzt. Die Motivation der Betriebsleiter, Schulungen und Ausbildung der Mitarbeiter zu unterstützen, ist oftmals gering.
- Kostendruck, der für Aufwendungen im Hygienebereich kaum Spielraum lässt. Für Schulungsmaßnahmen, Probenahme und Laboruntersuchungen sind in Kleinbetrieben nicht die nötigen finanziellen Mittel vorhanden, bzw. werden nicht dafür verwendet.
- Sprachprobleme bei Gewerbetreibenden bzw. Mitarbeitern ausländischer Herkunft.
- Fehlen der Pflicht zur Dokumentation. Solange der überwachenden Behörde keine schriftlichen Beweise über durchgeführte Hygienemaßnahmen und deren Überprüfung erbracht werden müssen, wird es schwierig sein, fehlende Eigenkontrollen nachzuweisen.

Die Lebensmittelüberwachung verlagert den Schwerpunkt der amtlichen Kontrollen auf die Überwachung der Eigenkontrollen, welche somit aus Gründen der Produkthaftung dokumentiert werden sollten. Nach diesem Konzept sind die komplexen und bisweilen starren Vorschriften der Mitgliedsstaaten durch ein präventives System der „In-Prozess-Sicherung“ ersetzt worden, das heißt anstatt der Zwischen- und Endproduktkontrolle wird eine präventive Risikoanalyse angestrebt (HARTIG 1996). Es kann davon ausgegangen werden, dass kleinere Unternehmen in der Lage sein werden,

den Vorschriften zu genügen, ohne hierfür komplizierte Risikomanagementsysteme einrichten zu müssen. Laut BACH (2000) haben derartige Konzepte nur Praxiseignung, wenn sie geringen Kostenaufwand verursachen, fachlich einleuchtend, begründbar, leicht vermittelbar und absolut unverzichtbar sind. Des Weiteren müssen sie sich relativ störungsfrei in bereits bestehende und gut funktionierende Betriebsabläufe integrieren lassen und in jeder Hinsicht auch für Laien leicht verständlich sein.

Die Lebensmittelherstellung und- vermarktung muss sich in jedem Fall nach dem Grundsatz richten, dass jedes Lebensmittel einerseits nicht die Gesundheit des Verbrauchers gefährden darf und andererseits so beschaffen sein muss, dass der Verbraucher nicht getäuscht wird. Ein Verbraucher darf durch Lebensmittel weder in seiner physischen (körperlichen) noch in seiner psychischen (geistigen) Integrität geschädigt werden (BRAUN und MAYER 2002).

Das LMBG trägt diesem Grundsatz wie folgt Rechnung:

§8 LMBG Verbote zum Schutz der Gesundheit

Es ist verboten, Lebensmittel für andere derart herzustellen oder zu behandeln, dass ihr Verzehr geeignet ist, die Gesundheit zu schädigen.

§17 LMBG Verbote zum Schutz vor Täuschung

Es ist verboten, zum Verzehr nicht geeignete Lebensmittel, als Lebensmittel gewerbsmäßig in Verkehr zu bringen;

Diese grundlegenden gesetzlichen Voraussetzungen stellen die Basis für den Verbraucherschutz dar. Dieser Verbraucherschutz wird in Lebensmittel liefernden

Betrieben z. B. durch Umsetzung und Einhaltung der Basishygiene, Einführung von HACCP- Konzepten und Überwachung dieser Eigenkontrollen durch eine staatliche Kontrolle gesichert.

Eigene Untersuchungen

5 Material und Methoden

5.1 Kernfrage

Die Kernfrage ist, eine Aussage über das Wachstumsverhalten des Keimgehalts angerichteter und verzehrfertiger Produkte bei Raumtemperatur (hier durchschnittlich ca. +24,4 °C) zu erhalten. Es soll ein Überblick über die Gefährdungslage sogenannter „Risikogruppen“, d.h. Menschen mit geschwächtem Immunsystem, in diesen Fall Bewohner sozialer Versorgungseinrichtungen wie z.B. Alten- und Pflegeheimen, geschaffen werden. Da diese Frage besonders häufig von Betreibern von Küchen sozialer Einrichtungen gestellt wird, liegt es nahe Proben aus eben solchen Küchen zu untersuchen und als Vergleich dazu Proben aus normalen Versorgungseinrichtungen wie Imbißständen, Metzgereien oder Supermärkten heranzuziehen.

Um einen Überblick über die Keimzahlen zu erhalten sind die Proben in einem Modellversuch nach den gesetzlich vorgeschriebenen Methoden untersucht worden. Die Untersuchungsmethoden für Fleisch und Fleischerzeugnisse wurden auf die Salatproben übertragen, da für Salat keine einheitlichen Untersuchungsnormen existieren. Unter Praxisbedingungen können die Zeiträume des Verzehrs eines angerichteten Abendessens von wenigen Minuten bis zum nächsten Morgen dauern. Aus diesem Grund wurden exemplarisch die Untersuchungszeitpunkte von 0, 2, 4, und 20 Stunden Lagerung bei Raumtemperatur gewählt. Untersuchungskriterien waren die aero-

be mesophile Gesamtkeimzahl, der Gehalt an Enterobakteriazeen und *E. coli*. Hierbei wurde jeweils auch die Temperatur der Probe gemessen. Bei Salatproben war zusätzlich der pH- Wert von Bedeutung. Um möglichst nahe an der Realität der sozialen Versorgungseinrichtungen zu bleiben wurden die Proben auf handelsüblichem, gereinigtem und desinfizierten Geschirr angerichtet und mit Folie abgedeckt.

Aus den vorliegenden Empfehlungen mit zumeist Gesetzescharakter wurden die jeweils niedrigsten Keimzahlen als Bewertungskriterium und Grenzwert herangezogen. Dies bedeutete eine Festlegung des Grenzwerts für die aerobe mesophile Gesamtkeimzahl auf $1,0 \times 10^6$ KbE/g bei Fleischerzeugnissen und auf $5,0 \times 10^7$ KbE/g bei Salatproben. Der niedrigste empfohlene und somit für Fleischerzeugnisse und Salatproben verwendete Wert für Enterobakteriazeen liegt bei $1,0 \times 10^2$ KbE/g. Da *E. coli* ein fakultativ pathogener Keim mit sehr gefährlichen Mutationen ist, wurde der Grenzwert hierfür bei 0 festgelegt.

5.2 Probenmaterial

Die untersuchten Proben teilen sich in zwei Gruppen auf, und zwar:

1. Externe Proben aus ausgewählten Küchen von Altenheimen
2. Ankaufproben aus dem Einzelhandel wie beispielsweise Metzgereien und Imbißständen

Die Probennahmen und Untersuchungen erfolgten im Zeitraum zwischen dem 20.03.2003 und dem 02.02.2004. Gegenstand der Untersuchung waren jeweils ein

Fleischerzeugnis, bestehend aus handelsüblicher Aufschnittwurst, und eine Salatprobe mit handelsüblichem Dressing. Es wurden 10 Ankaufs- und 11 Proben aus Versorgungseinrichtungen jeweils im Doppelansatz, aufgeteilt nach Salatproben und Fleischerzeugnissen untersucht. Die Untersuchungen fanden jeweils nach 0 Stunden, nach 2 Stunden, nach 4 Stunden und nach 20 Stunden Lagerung bei Raumtemperatur statt.

Somit wurden für die Ankaufproben 80 Untersuchungen und für die Proben aus Versorgungseinrichtungen 88 Proben untersucht, was einer Gesamtzahl von 168 Untersuchungen entspricht. Die externen Proben wurden jeweils direkt vor Ort aus der Kühlung der jeweiligen Großküche vor der Portionierung mittels sterilisierten Gerätschaften in sterile Plastikbeutel verpackt, und daraufhin in eine Kühlbox verbracht. In dieser Kühlbox erfolgte dann auch der Transport in das Labor, um jegliche Fremdkontamination oder Temperaturschwankungen zu vermeiden. Die Ankaufproben wurden nach dem Kauf in ihrer handelsüblichen Verpackung in Kühlboxen direkt in das Institut für Hygiene und Technologie der Lebensmittel tierischen Ursprungs gebracht. Danach fand die Weiterbehandlung der externen Proben aus ausgewählten Küchen von Altenheimen und der Ankaufproben aus dem Einzelhandel wie beispielsweise Metzgereien und Imbißständen in gleicher Weise statt.

Die Fleischerzeugnisse wurden sofort mit sterilen Instrumenten auf vorher gereinigten und desinfizierten Tellern angerichtet, wie dies in Altenheimen die Regel ist, und nach Entnahme der ersten Probe als Mischprobe aus allen vorliegenden Wurstscheiben mit handelsüblicher Alufolie abgedeckt. Ebenso wurden die Salatproben sofort mit dem dazugehörigen Dressing in vorher gereinigten und desinfizierten Salatschüsseln mit sterilen Instrumenten vermischt, und nach Entnahme der ersten Probe ebenfalls mit Alufolie abgedeckt. Von beiden Proben wurden jeweils ca. 60 bis 80 Gramm eingewogen. Die weiteren Probenentnahmen aus den so vorbereiteten Pro-

ben erfolgten jeweils nach 2, 4 und 20 Stunden Lagerung bei Raumtemperatur (durchschnittlich +24,1 °C für die 2 Stunden, +24,8 °C für die 4 Stunden und +24,2 °C für die 20 Stunden Untersuchung), ebenfalls mit sterilen Instrumenten.

5.3 Untersuchungsmaterial

Die verwendeten Untersuchungsmaterialien und Geräte sind im Anhang aufgeführt.

5.4 Methoden

Vor jeder Probenentnahme der verzehrsfertig angerichteten Proben erfolgte eine Temperaturmessung der Proben mit Hilfe eines Infrarottemperaturmessers, welcher aus ca. 20 cm Entfernung auf die zu messenden Proben gerichtet wurde. Bei den Salatproben erfolgte zusätzlich eine Messung des pH- Wertes mittels eines pH-Meters mit Temperatenausgleich, welches direkt in den verzehrsfertig angerichteten Salat gehalten wurde.

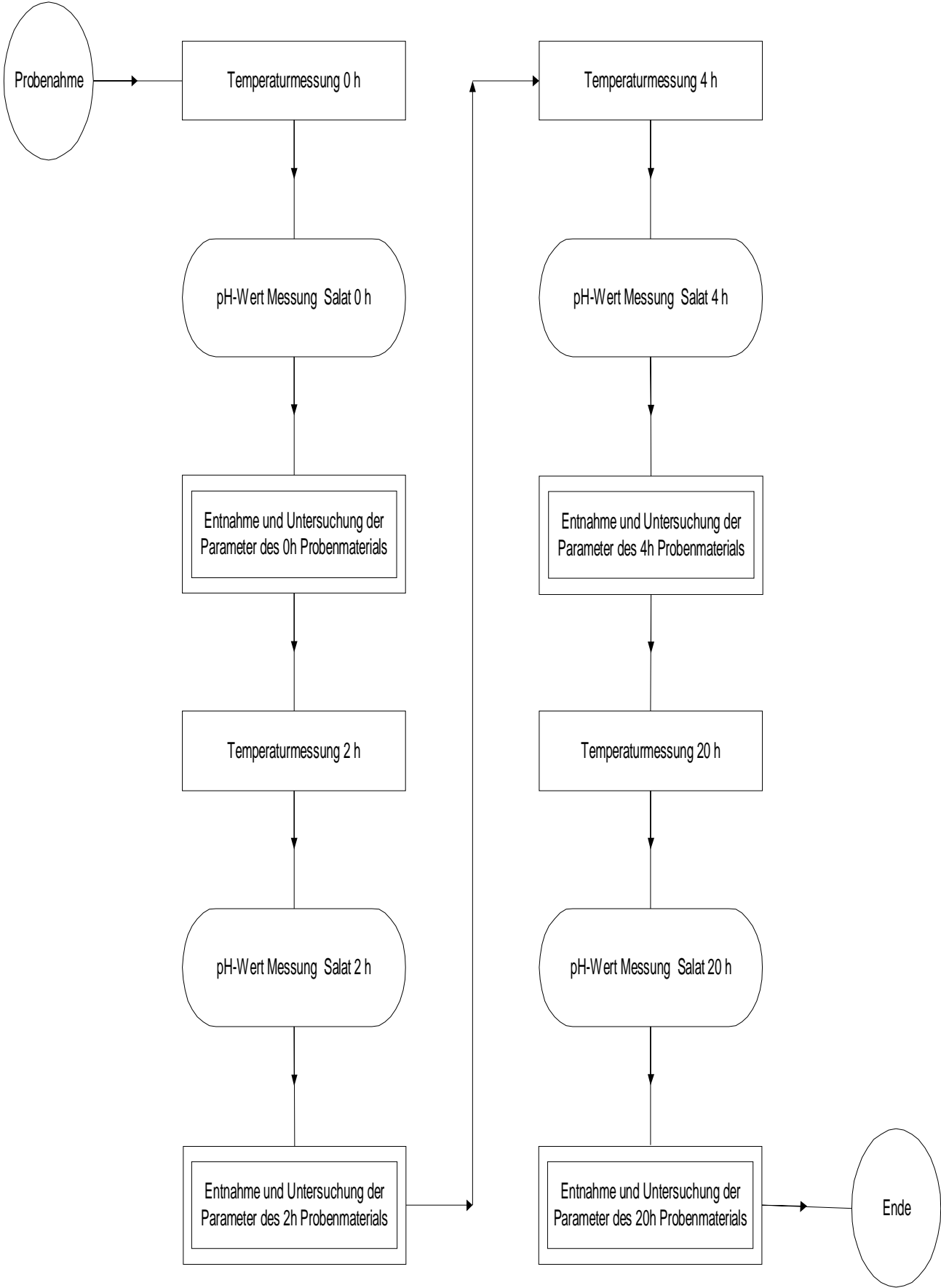
Die Untersuchungsmethoden richteten sich aufgrund der Reproduzierbarkeit der Ergebnisse nach den Methoden der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren (§ 35 LMBG).

Für jedes der drei Untersuchungskriterien existiert eine eigene Untersuchungsmethode. Folgende Kriterien flossen in die Untersuchung mit ein:

- 1.: Gesamtkeimzahl
- 2.: Gehalt an *Enterobacteriaceae*
- 3.: Gehalt an *E. coli*

Die Untersuchungsschritte erfolgten wie in **Abbildung 1** ersichtlich:

Abbildung 1: Untersuchungsschritte



5.4.1 Bestimmung der aeroben Keimzahl bei +30,0 °C nach § 35 L 06.00-19

Bestimmung der aeroben Keimzahl bei +30,0 °C nach § 35 L 06.00-19

Beschreibung

Agarplatten mit einem nicht selektiven Plate Count Nährboden werden in sechs Sektoren aufgeteilt, die mit Teilmengen von jeweils 0,05 ml der unverdünnten, homogenisierten Probe oder der Erstverdünnung und der weiteren Verdünnungen tropfenweise beimpft werden. Beim Direktausstrich wird 1ml der unverdünnten Probenlösung auf einer Agarplatte mit einem nicht selektiven Nährboden ausgestrichen. Bei einer Temperatur von +30,0 °C wird unter aeroben Bedingungen 48 h lang bebrütet. Die Kolonien je Plattenausschnitt werden gezählt (aerobe Koloniezahl) und auf die Anzahl der koloniebildenden Einheiten je g oder ml umgerechnet (aerobe Keimzahl).

Formel:

$$c = \frac{Sc}{n1 \times 1 + n2 \times 0,1}$$

c = Mittelwert

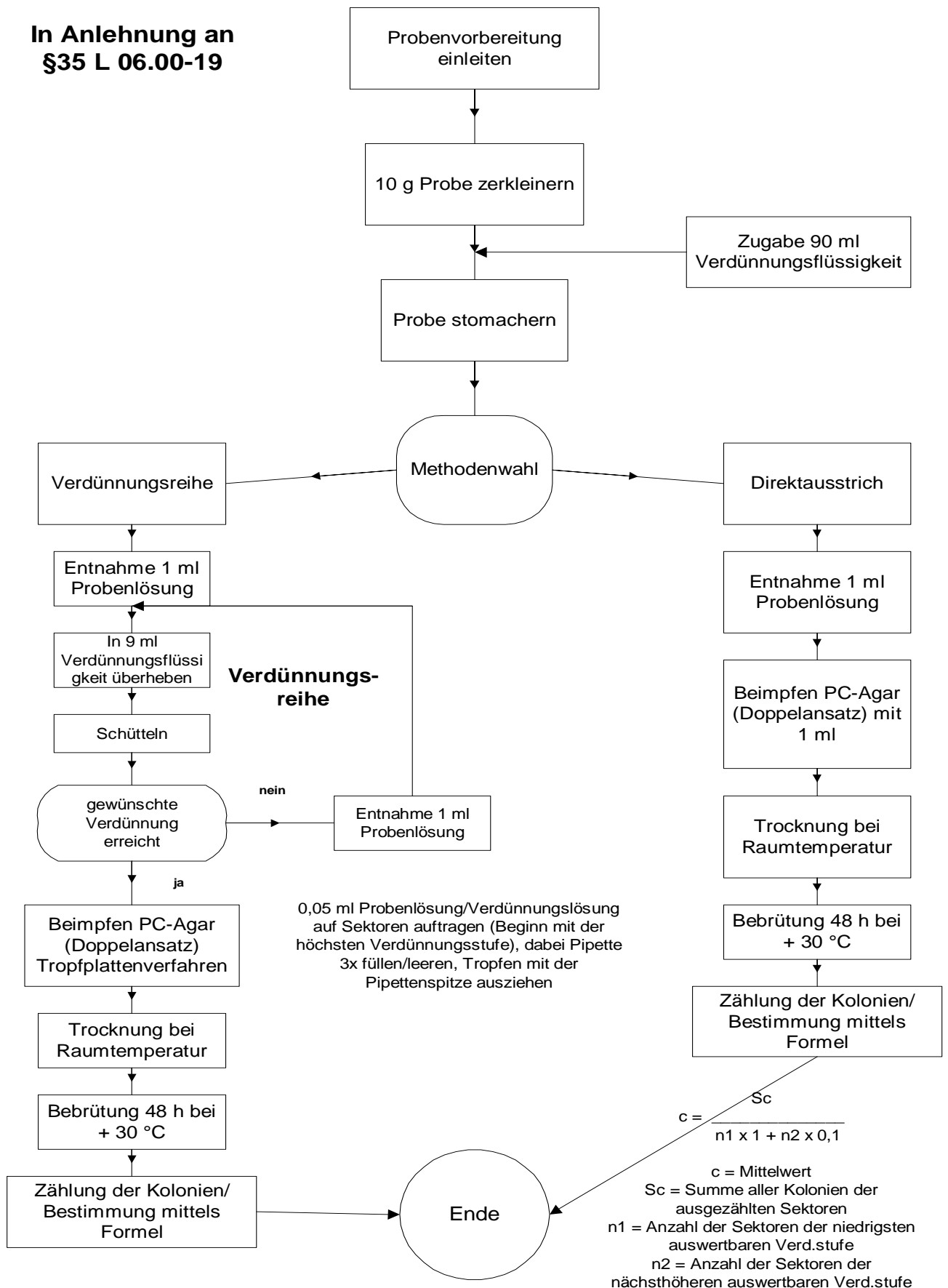
**Sc = Summe aller Kolonien der
ausgezählten Sektoren**

**n1 = Anzahl der Sektoren der niedrigsten
auswertbaren Verd.stufe**

**n2 = Anzahl der Sektoren der
nächsthöheren auswertbaren Verd.stufe**

Abbildung 2: Bestimmung der aeroben Keimzahl bei +30,0 °C

In Anlehnung an
§35 L 06.00-19



5.4.2 Bestimmung von *Enterobacteriaceae* nach § 35 L 06.00-25

Bestimmung von *Enterobacteriaceae* nach § 35 L 06.00-25

Beschreibung

Agarplatten mit einem selektiven VRBG Nährboden werden in sechs Sektoren aufgeteilt, die mit Teilmengen von jeweils 0,05 ml der unverdünnten, homogenisierten Probe oder der Erstverdünnung und der weiteren Verdünnungen tropfenweise beimpft werden. Bei einer Temperatur von +30,0 °C wird unter anaeroben Bedingungen 48 h lang bebrütet. Aus der Anzahl der auf den Sektoren gewachsenen roten Kolonien mit Präzipitalhof wird die Anzahl der *Enterobacteriaceae* je g oder ml der Probe berechnet.

Formel:

$$c = \frac{Sc}{n1 \times 1 + n2 \times 0,1}$$

c = Mittelwert

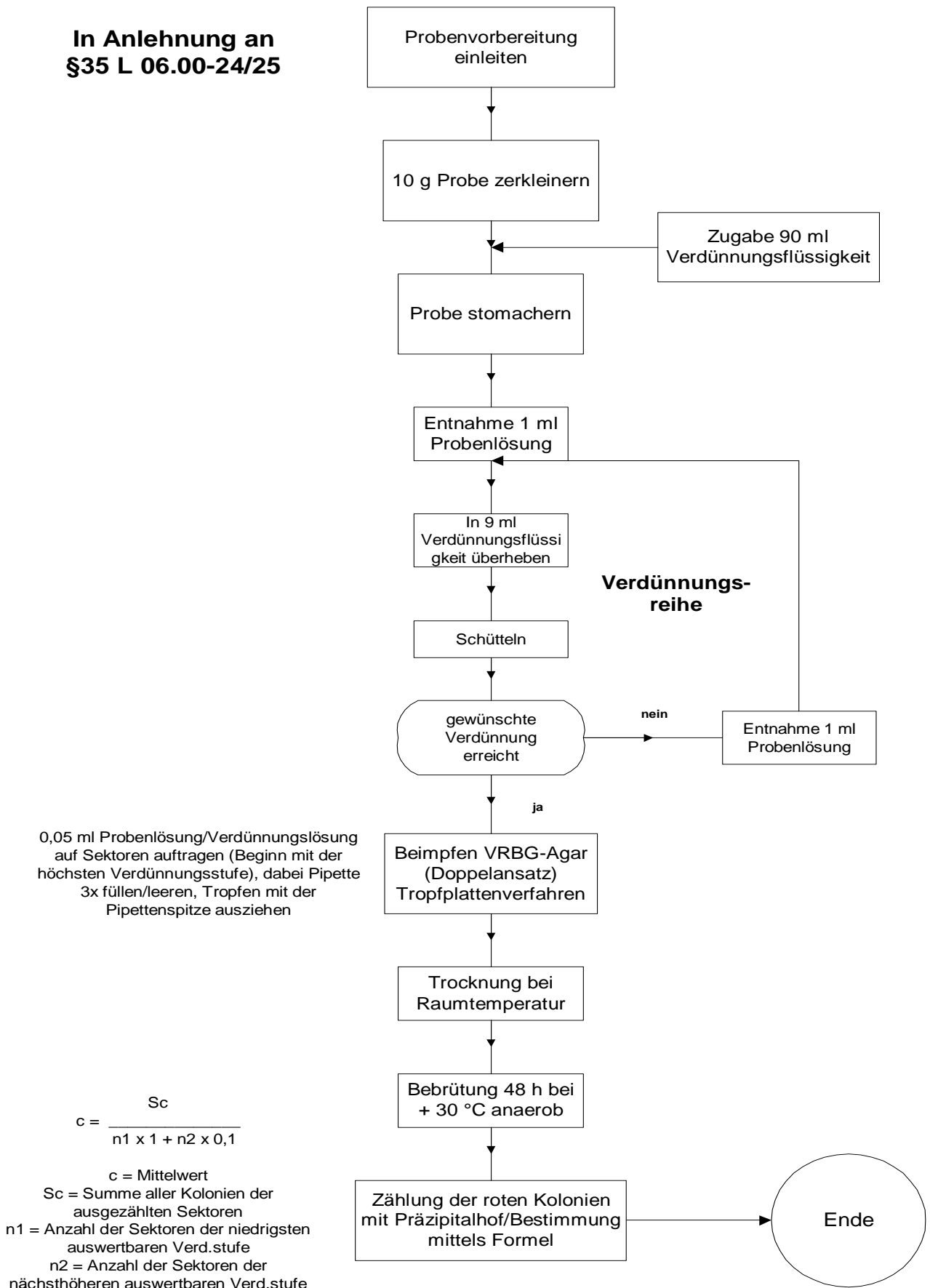
Sc = Summe aller Kolonien der
ausgezählten Sektoren

n1 = Anzahl der Sektoren der niedrigsten
auswertbaren Verd.stufe

n2 = Anzahl der Sektoren der
nächsthöheren auswertbaren Verd.stufe

Abbildung 3: Bestimmung von *Enterobacteriaceae*

**In Anlehnung an
§35 L 06.00-24/25**



5.4.3 Bestimmung von *E. coli* nach § 35 L 06.00-36

Beschreibung

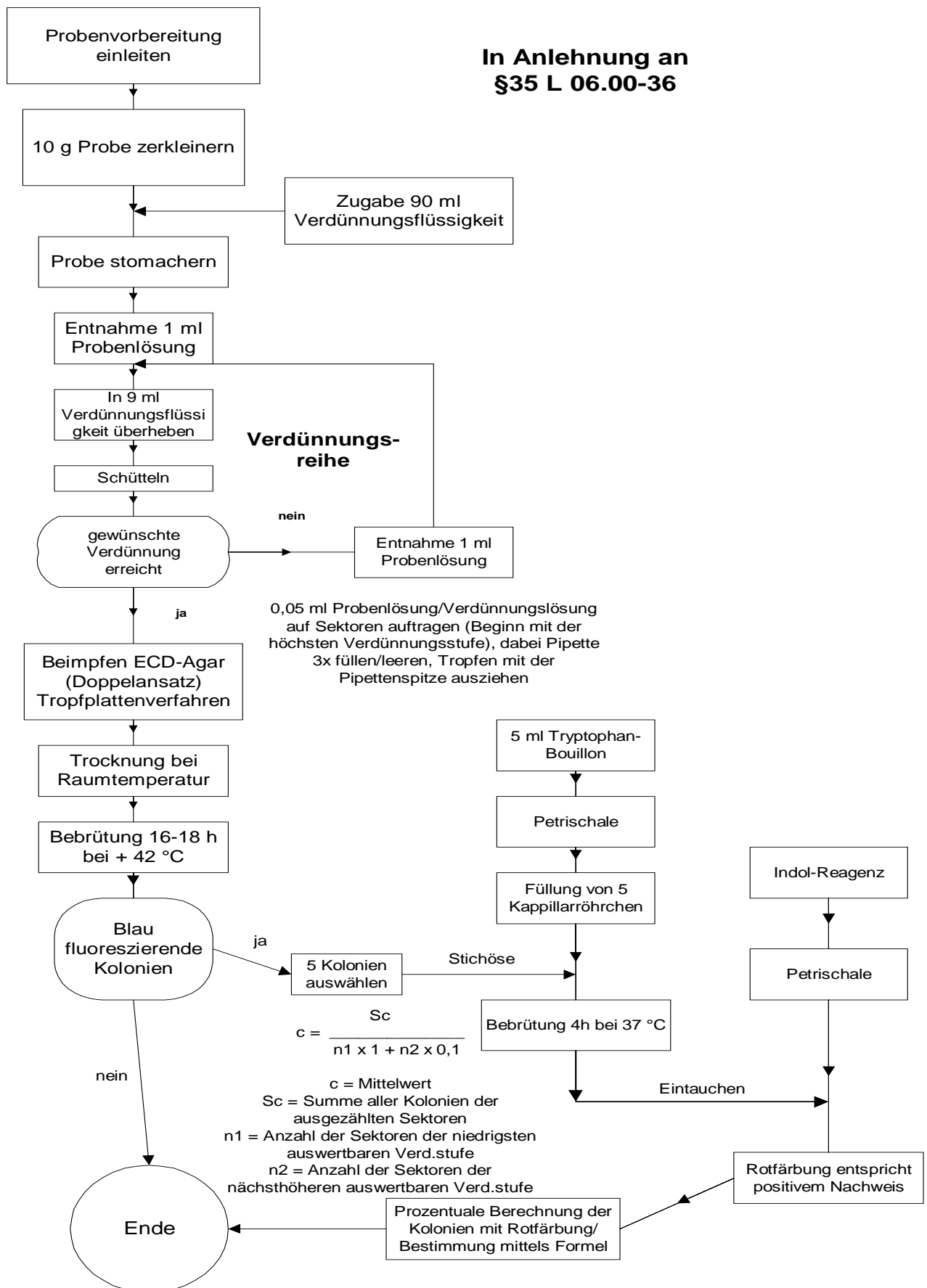
Agarplatten mit einem selektiven ECD Nährboden werden in sechs Sektoren aufgeteilt, die mit Teilmengen von jeweils 0,05 ml der unverdünnten, homogenisierten Probe oder der Erstverdünnung und der weiteren Verdünnungen tropfenweise beimpft werden. Bei einer Temperatur von +42,0 °C wird unter aeroben Bedingungen 16 bis 18 Stunden lang bebrütet. Jetzt werden die Petrischalen unter einer UV-Lampe betrachtet, und die blau fluoreszierenden Kolonien gezählt und gekennzeichnet. Fünf dieser blau fluoreszierenden Kolonien werden zum Indol-Test ausgewählt und jeweils in ein mit Tryptophan-Bouillon gefülltes Hämatokrit-Kapillarröhrchen überführt und vier Stunden bei +37,0 °C bebrütet. Daraufhin wird das Kapillarröhrchen kurz in Indolnachweisreagenz getaucht. Eine positive Indolreaktion wird durch Rosa- bzw. Rotfärbung innerhalb von 10 Sekunden angezeigt. Bei der Berechnung der Keimzahl wird der Anteil der im Indol-Test positiven Kolonien berücksichtigt. Erweisen sich sämtliche 5 Kolonien als indolpositiv, werden zur Berechnung der Anzahl an *E. coli* alle blau -fluoreszierenden Kolonien zugrunde gelegt. Reagieren weniger Kolonien indolpositiv, wird die Anzahl an *E. coli* nach den prozentualen Anteil der positiven Indol -Nachweisreaktionen berechnet.

Formel:

$$c = \frac{Sc}{n1 \times 1 + n2 \times 0,1}$$

c = Mittelwert
Sc = Summe aller Kolonien der ausgezählten Sektoren
n1 = Anzahl der Sektoren der niedrigsten auswertbaren Verd.stufe
n2 = Anzahl der Sektoren der nächsthöheren auswertbaren Verd.stufe

Abbildung 3: Bestimmung von *E. coli*



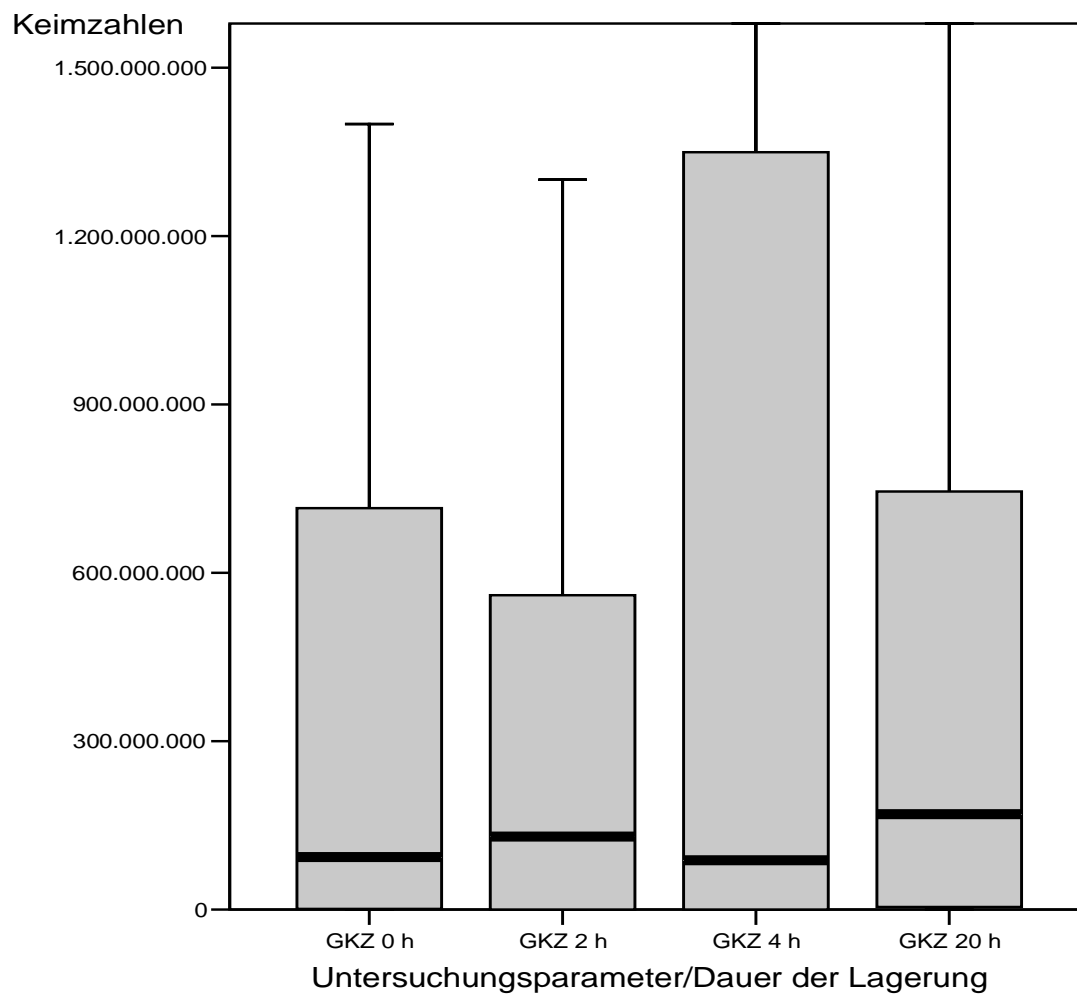
6 Ergebnisse

6.1 Untersuchungen zur Gesamtkeimzahl

6.1.1 Gesamtkeimzahl der Fleischerzeugnisse aus dem Einzelhandel

Bei Betrachtung der **Abbildung 5** wird deutlich, dass der Gesamtkeimgehalt der angekauften Fleischerzeugnisse sich zu jedem Untersuchungszeitpunkt auf einem hohen Niveau (ca. 10^6 KbE/g) befand.

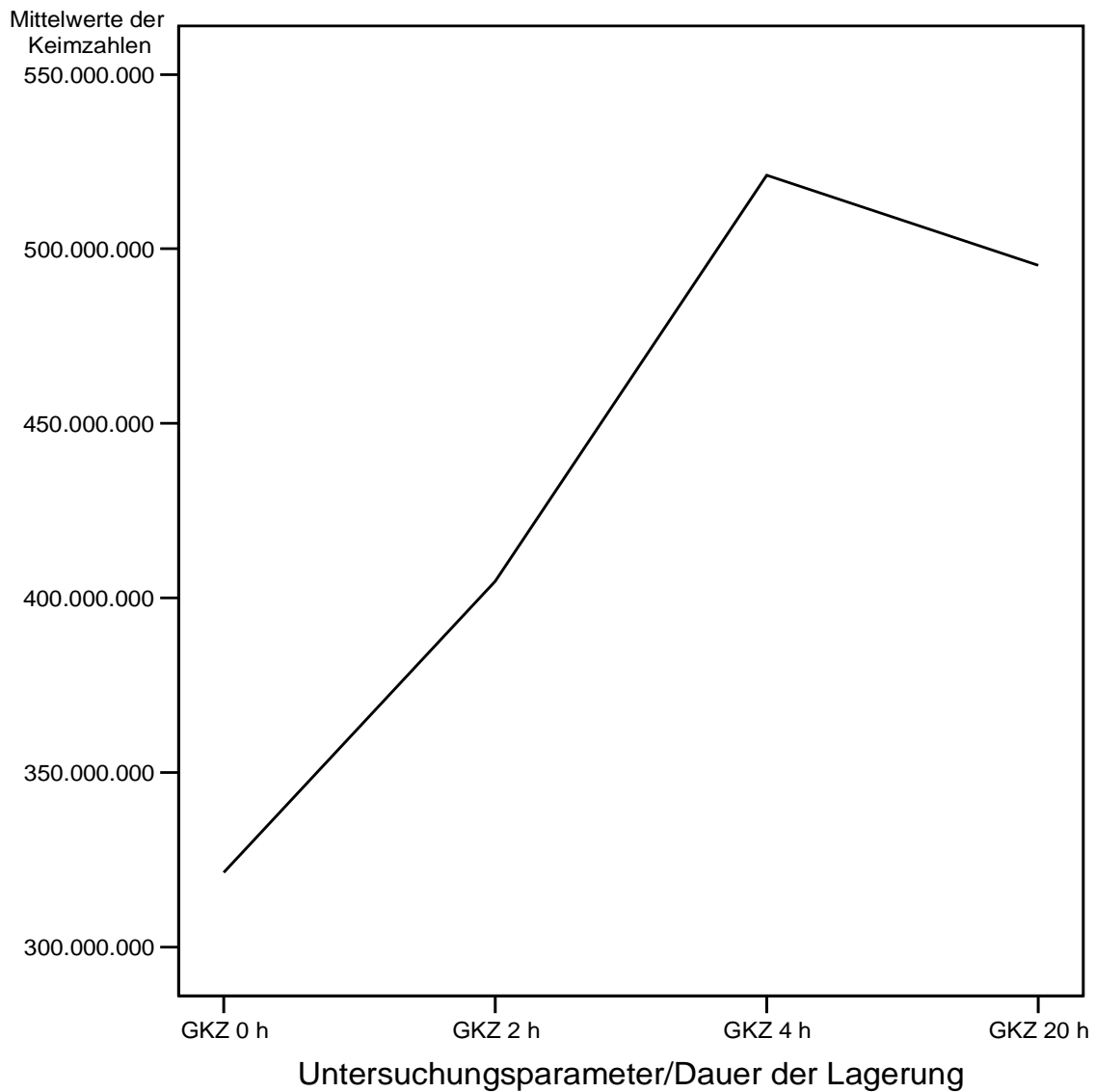
Abbildung 5: Ergebnis der Untersuchung der Fleischerzeugnisse aus dem Handel



GKZ: Gesamtkeimzahl

Betrachtet man den Verlauf der durchschnittlichen Gesamtkeimzahl der Fleischerzeugnisse aus dem Einzelhandel (**Abbildung 6**), so wird deutlich, dass, ausgehend von einer relativ hohen Anfangskeimzahl, die Gesamtkeimzahl bis zu einem Maximalwert nach 4 Stunden Lagerung ansteigt und daraufhin bis zu ihrem 20 Stunden Wert leicht absinkt.

Abbildung 6: Verlauf der durchschnittlichen Gesamtkeimzahl der Fleischerzeugnisse aus dem Einzelhandel



GKZ: Gesamtkeimzahl

Wie in **Tabelle 3** ersichtlich, wird hier deutlich, dass bei den Fleischerzeugnissen aus dem Einzelhandel die Anzahl der Proben, welche die Koloniezahl von 10^6 KbE/g überschreiten mit 7 von jeweils 10 Proben hoch, d.h. bei 70 %, liegen.

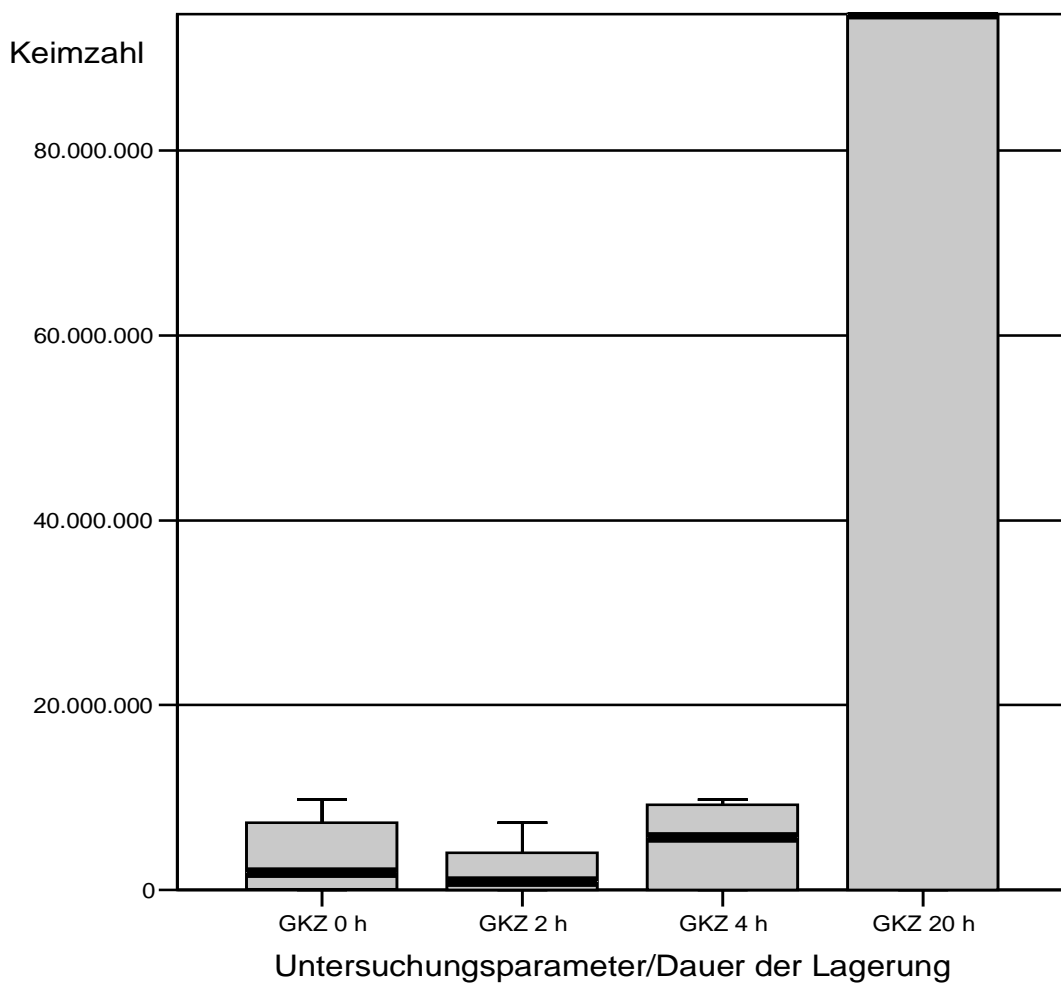
Tabelle 3: Anzahl der Fleischerzeugnisse aus dem Einzelhandel mit Gesamtkeimzahlen über 10^6 KbE/g und deren Durchschnittswerte

	GKZ 0h	GKZ 2h	GKZ 4h	GKZ 20h
Anzahl Fleischerzeugnisse aus dem Einzelhandel	10	10	10	10
Anzahl > 10^6 KbE/g	7	7	7	7
Durchschnittliche Keimzahl in KbE/g	$4,6 \times 10^8$	$5,8 \times 10^8$	$7,4 \times 10^8$	$6,6 \times 10^8$

6.1.2 Gesamtkeimzahl der angekauften Salatproben

Betrachtet man **Abbildung 7** und **8**, so wird deutlich, dass bei den angekauften Salatproben die totale und durchschnittliche Gesamtkeimzahl bis zu 4 Stunden Lagerung bei Raumtemperatur relativ konstant bleibt, danach jedoch stark ansteigt.

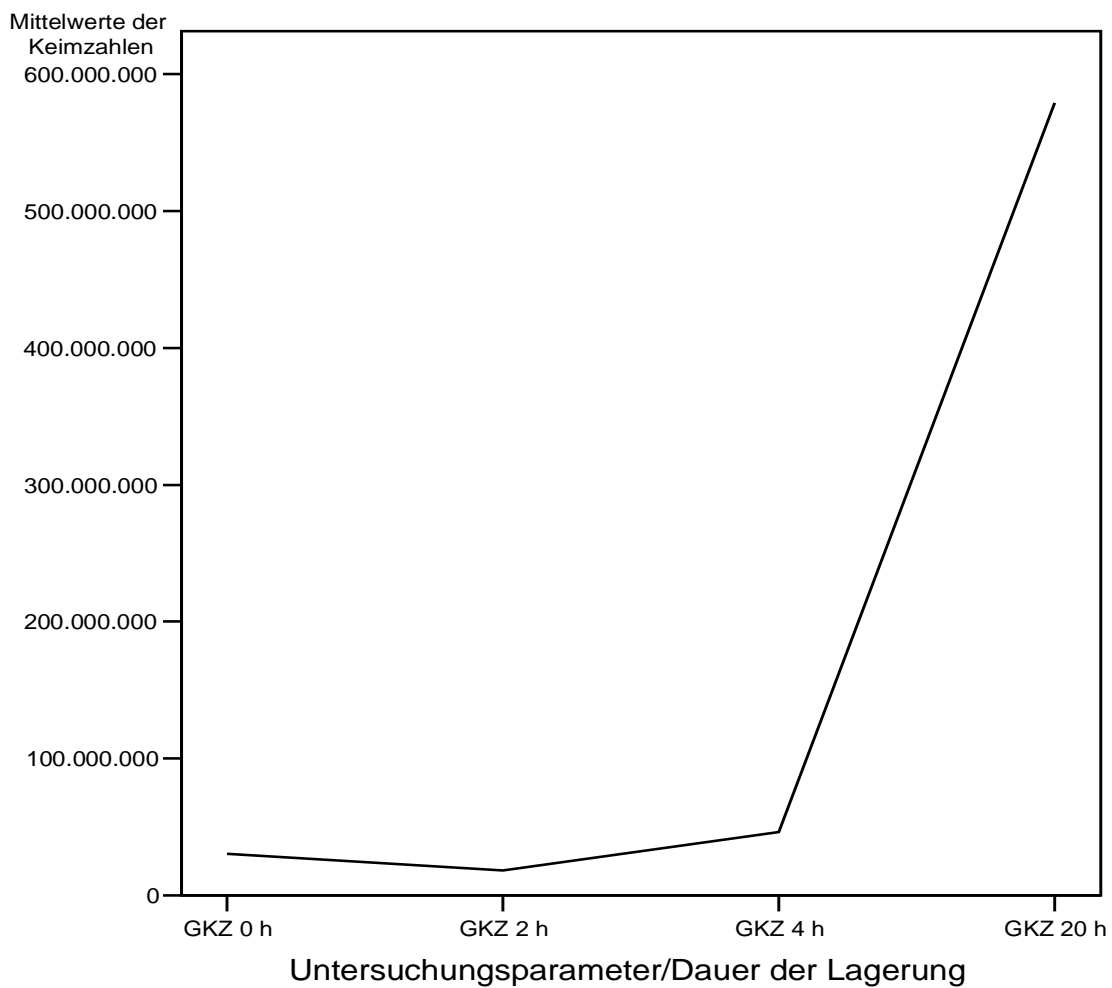
Abbildung 7: Untersuchung der angekauften Salatproben auf ihre Gesamtkeimzahl



GKZ: Gesamtkeimzahl

In **Abbildung 8** erkennt man ein Absinken der Gesamtkeimzahl von ihrem Anfangswert bei 0 Stunden Lagerung auf ihren Wert nach 2 Stunden Lagerung, woraufhin sie dann wieder ansteigt.

Abbildung 8: Verlauf der durchschnittlichen Gesamtkeimzahl der angekauften Salatproben



GKZ Gesamtkeimzahl

In **Tabelle 4** sieht man, dass bis zu einer Lagerung von 4 Stunden nur jeweils eine Probe den von der DGHM empfohlenen kritischen Grenzwert einer Koloniezahl von 5×10^7 KbE/g überschreitet, nach 20 Stunden jedoch 6 Proben, d.h. 60% den Grenzwert überschreiten.

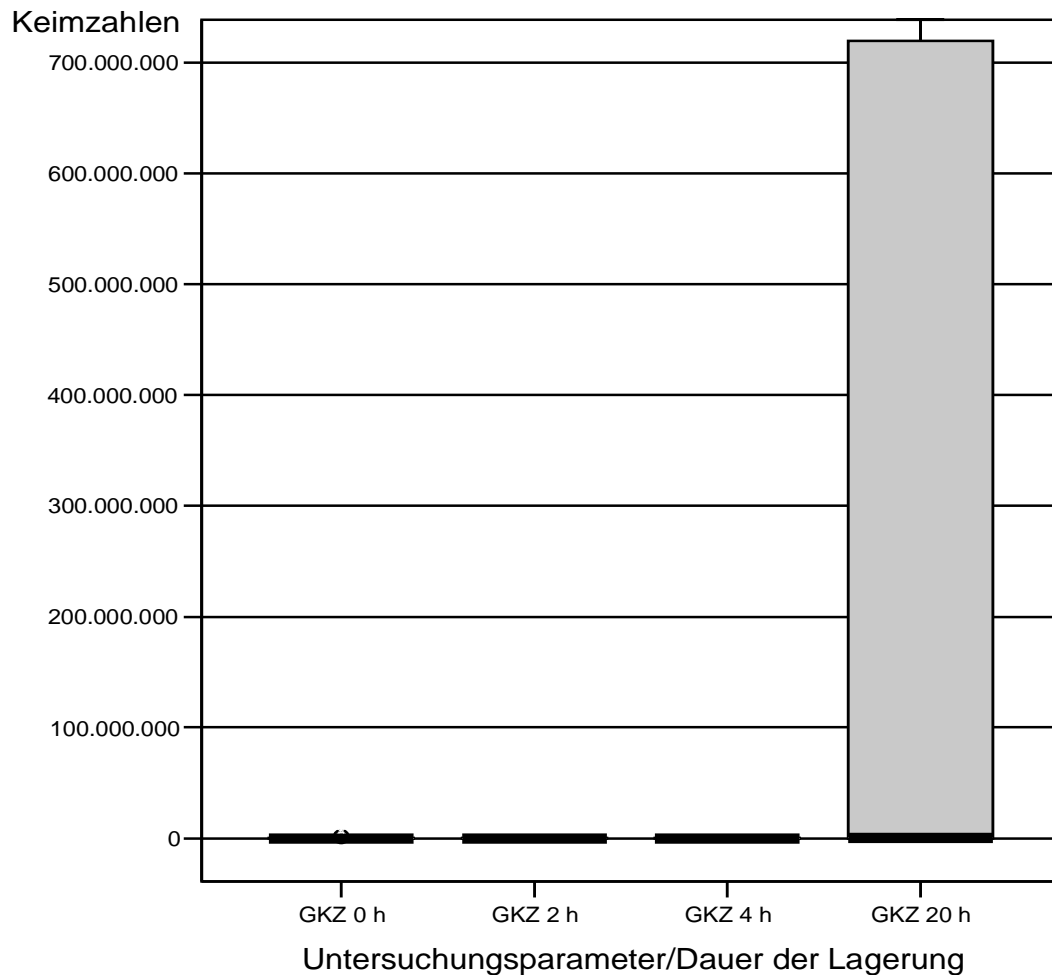
Tabelle 4: Anzahl der angekauften Salatproben mit Gesamtkeimzahlen über $5,0 \times 10^7$ KbE/g und deren Durchschnittswerte

	GKZ 0h	GKZ 2h	GKZ 4h	GKZ 20h
Anzahl angekaufter Salatproben	10	10	10	10
Anzahl $> 5 \times 10^7$ KbE/g	1	1	1	6
Durchschnittliche Keimzahl in KbE/g	$1,9 \times 10^8$	$1,7 \times 10^8$	$2,8 \times 10^8$	$9,6 \times 10^8$

6.1.3 Gesamtkeimzahl der Fleischerzeugnisse aus Versorgungseinrichtungen

Bei der Betrachtung von **Abbildung 9** fällt auf, dass bei den Fleischerzeugnissen aus Versorgungseinrichtungen die Gesamtkeimzahl bis zu 4 Stunden Lagerung bei Raumtemperatur relativ konstant und niedrig bleibt, danach jedoch stark ansteigt.

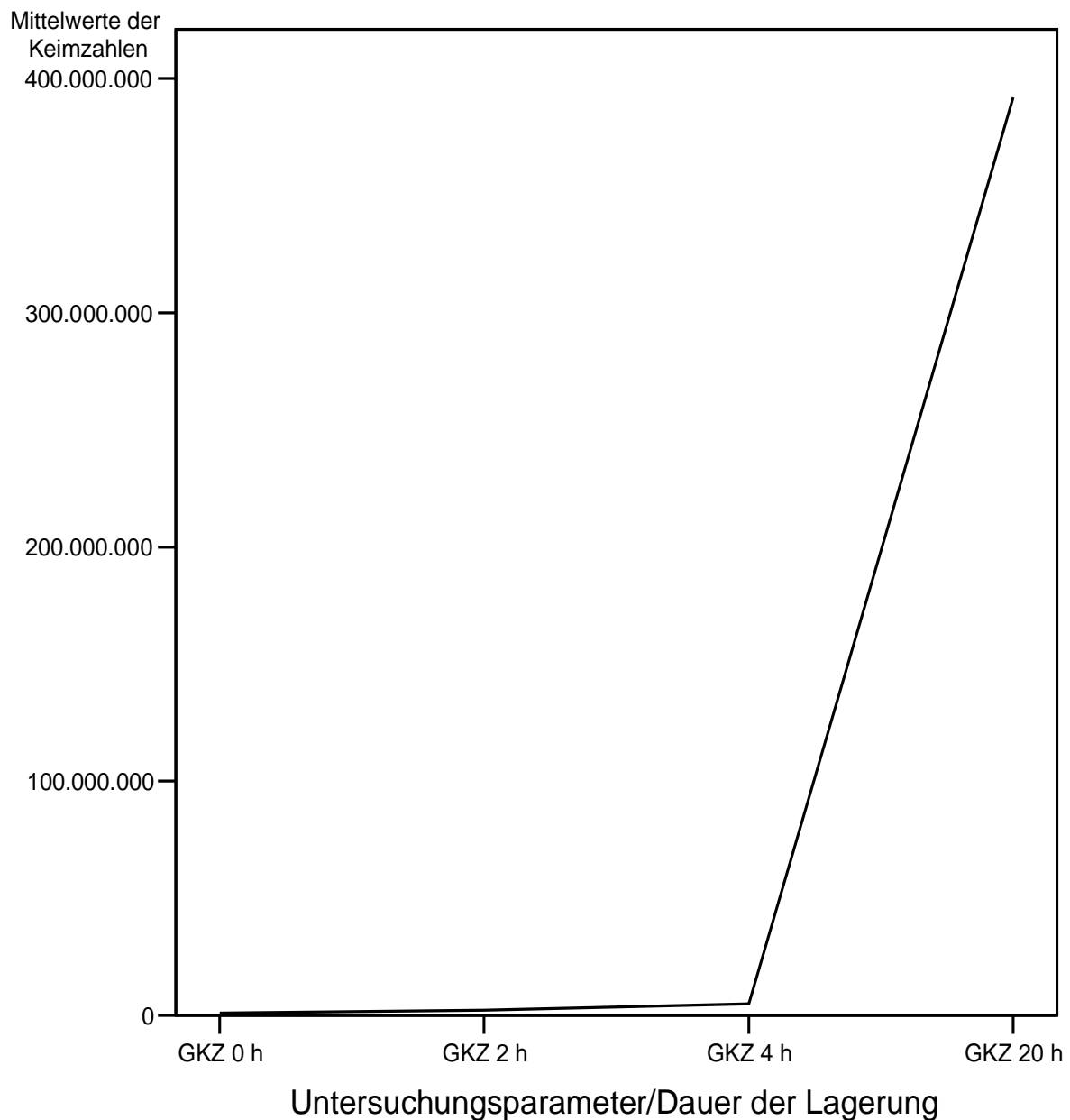
Abbildung 9: Untersuchung der Fleischerzeugnisse aus Versorgungseinrichtungen auf ihre Gesamtkeimzahl



GKZ: Gesamtkeimzahl

Die durchschnittliche Gesamtkeimzahl, wie in **Abbildung 10** ersichtlich, erhöht sich bis zur 4 Stunden Untersuchung kaum, um daraufhin stark anzusteigen.

Abbildung 10: Verlauf der durchschnittlichen Gesamtkeimzahl der Fleischerzeugnisse aus Versorgungseinrichtungen



GKZ: Gesamtkeimzahl

Tabelle 5 zeigt, dass bis zu einer Lagerung von 4 Stunden nur jeweils 1 Probe den kritischen empfohlenen Grenzwert einer Koloniezahl von 10^6 KbE/g überschritt, nach 20 Stunden waren es bereits 5 Proben, d.h. 50%.

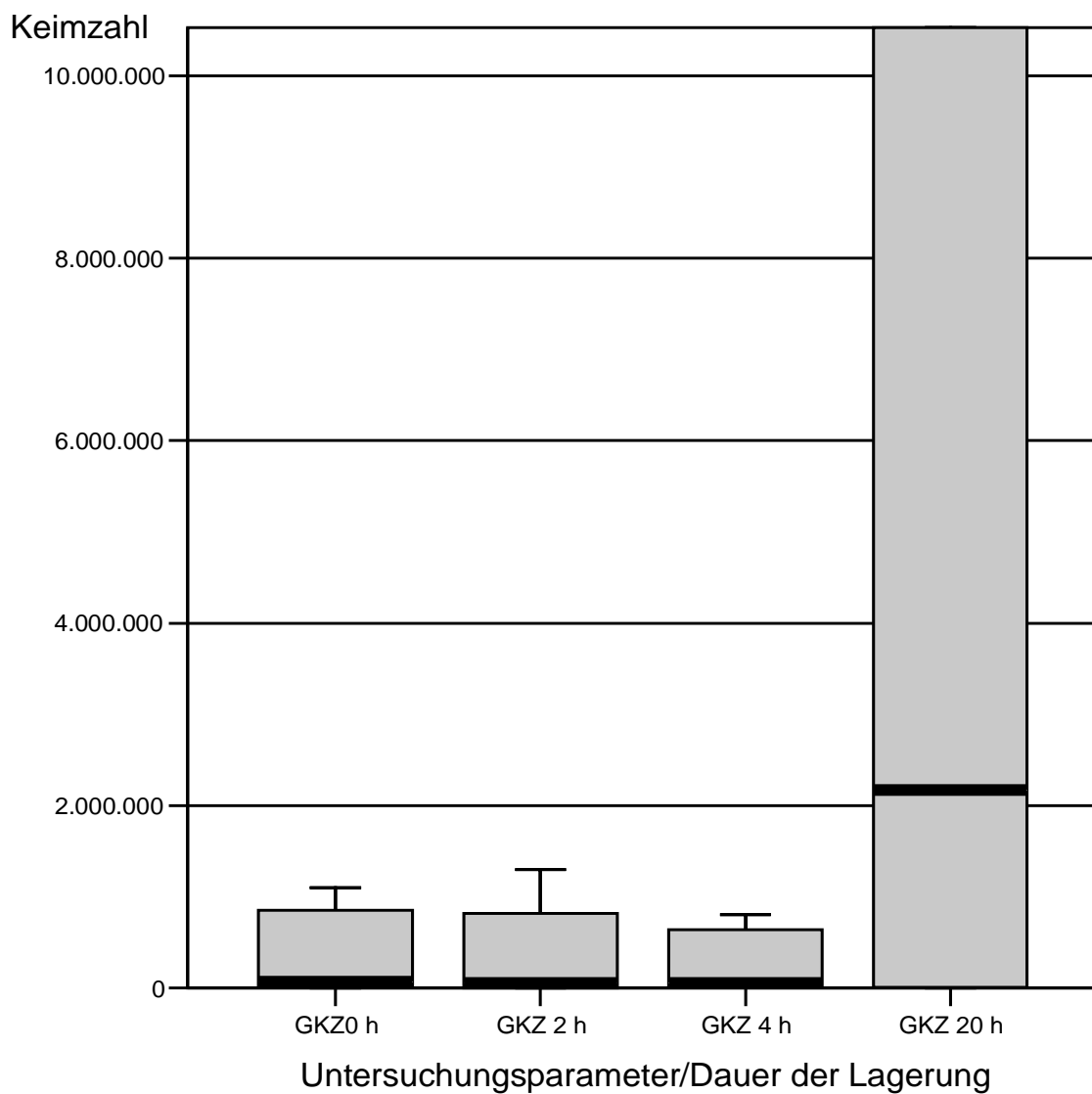
Tabelle 5: Anzahl der Fleischerzeugnisse aus Versorgungseinrichtungen mit Gesamtkeimzahlen über 10^6 KbE/g und deren Durchschnittswerte

	GKZ 0h	GKZ 2h	GKZ 4h	GKZ 20h
Anzahl Fleischerzeugnisse aus Versorgungseinrichtungen	11	11	11	11
Anzahl > 10^6 KbE/g	1	1	1	5
Durchschnittliche Keimzahl in KbE/g	$5,9 \times 10^6$	$2,0 \times 10^7$	$5,1 \times 10^7$	$8,6 \times 10^8$

6.1.4 Gesamtkeimzahl der Salatproben aus Versorgungseinrichtungen

Wie in **Abbildung 11** ersichtlich bewegt sich die Gesamtkeimzahl der Salatproben aus Versorgungseinrichtungen auf einem relativ niedrigen Niveau, verglichen mit den empfohlenen DGHM Grenzwerten.

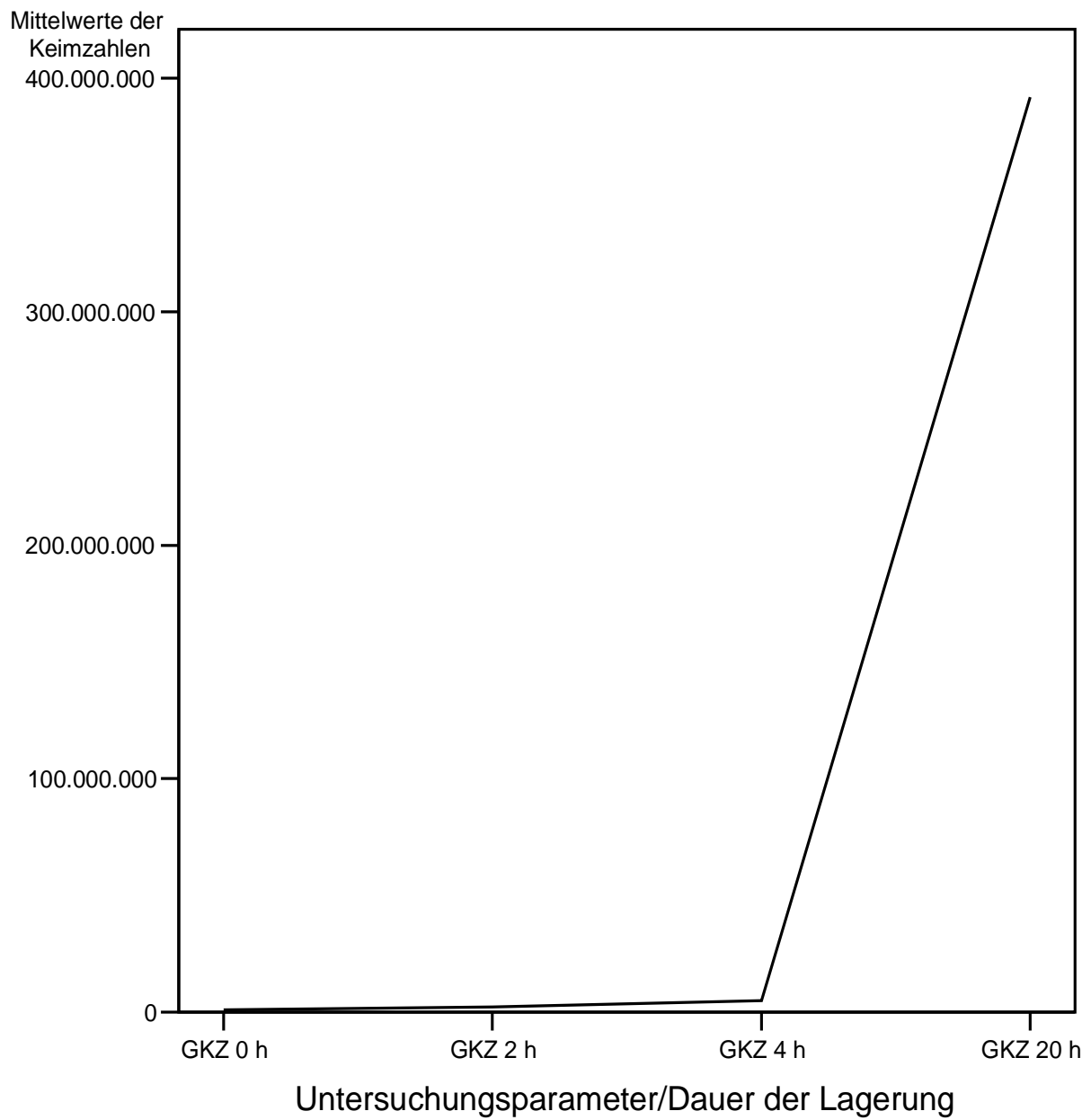
Abbildung 11: Untersuchung der Salatproben aus Versorgungseinrichtungen auf ihre Gesamtkeimzahl



GKZ: Gesamtkeimzahl

In **Abbildung 12** erkennt man einen starken Anstieg der durchschnittlichen Keimzahl nach einer Lagerung von mehr als 4 Stunden.

Abbildung 12: Verlauf der durchschnittlichen Gesamtkeimzahl der Salatproben aus Versorgungseinrichtungen



GKZ: Gesamtkeimzahl

Wie in **Tabelle 6** ersichtlich übersteigen bei den Salatproben aus Versorgungseinrichtungen jedoch nur eine nach 0 Stunden Lagerung, eine nach 4 Stunden Lagerung und zwei nach 20 Stunden Lagerung den von der deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM) empfohlenen kritischen Grenzwert einer Koloniezahl von $5,0 \times 10^7$ KbE/g.

Tabelle 6: Anzahl der Salatproben aus Versorgungseinrichtungen mit Gesamtkeimzahlen über $5,0 \times 10^7$ KbE/g und deren Durchschnittswerte

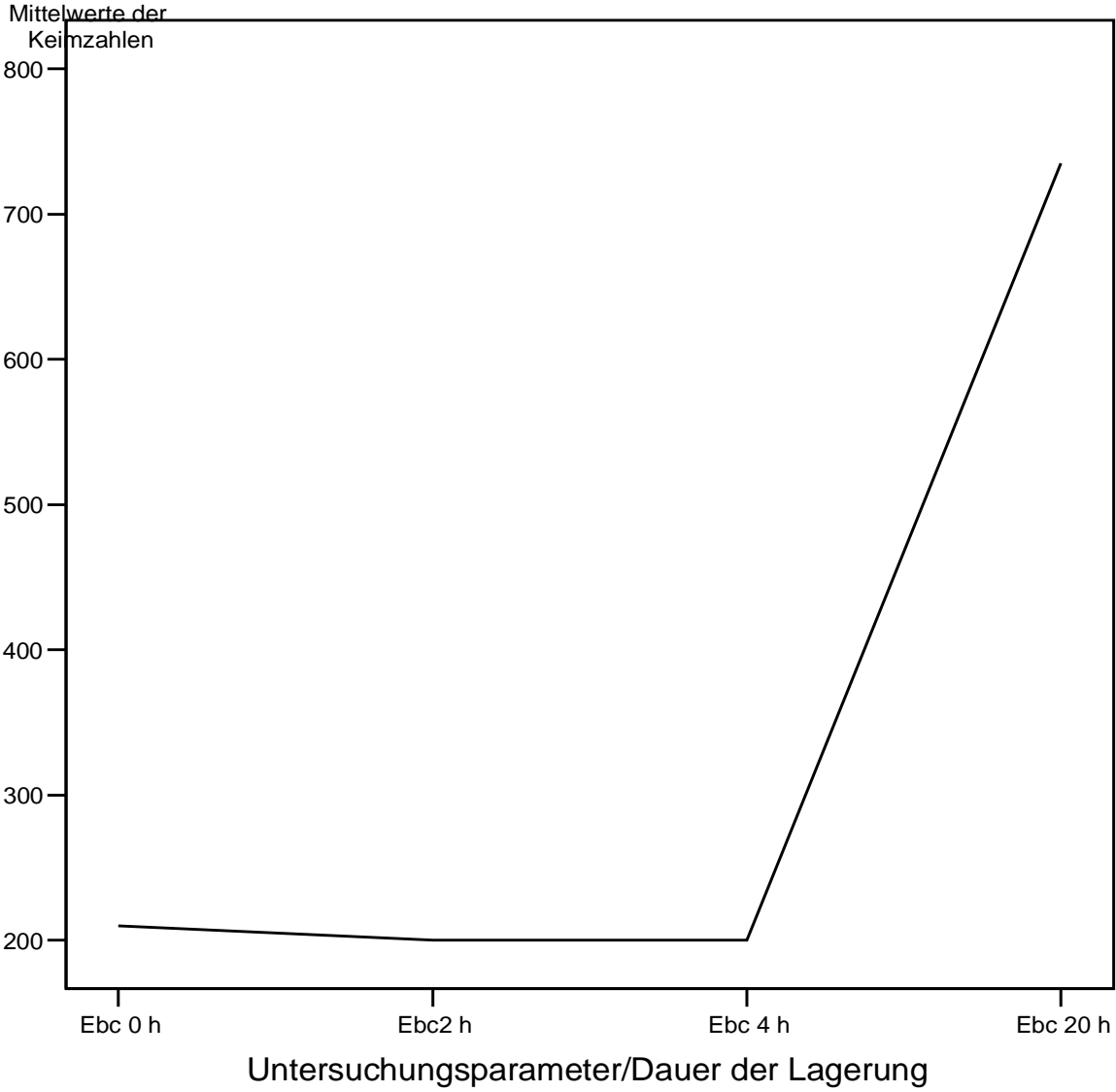
	GKZ 0h	GKZ 2h	GKZ 4h	GKZ 20h
Anzahl Salatproben aus Versorgungseinrichtungen	10	10	10	10
Anzahl $> 5,0 \times 10^7$ KbE/g	1	-	1	2
Durchschnittliche Keimzahl in KbE/g	$7,6 \times 10^8$	-	$3,8 \times 10^8$	$2,7 \times 10^8$

6.2 Untersuchungen auf *Enterobacteriaceae*

6.2.1 Gehalt der Fleischerzeugnisse aus dem Einzelhandel an Enterobakteria- zeen

Abbildung 13 zeigt, dass der durchschnittliche Gehalt an Enterobakteriazeen in Fleischerzeugnissen aus dem Handel bei einer Lagerung bei Raumtemperatur von bis zu 4 Stunden sehr gering ist, bzw. unter der Nachweisgrenze von 10^2 KbE/g liegt. Nach einer Lagerung von 20 Stunden bei Raumtemperatur ist hier ein deutlicher Anstieg zu beobachten.

Abbildung 13: Verlauf des durchschnittlichen Gehalts an Enterobakteriazeen in Fleischerzeugnissen aus dem Einzelhandel



Ebc: *Enterobacteriaceae*

Nur 1 von insgesamt 10 untersuchten Proben enthielt, wie in **Tabelle 7** dargestellt, überhaupt nachweisbare Enterobakteriazeen.

Anzumerken gilt, dass der empfohlene ALTS-Grenzwert von 10^2 KbE/g auch gleichzeitig die unterste Nachweisgrenze für Enterobakteriazeen bei dieser Untersuchungsmethode nach § 35 LMBG darstellt!

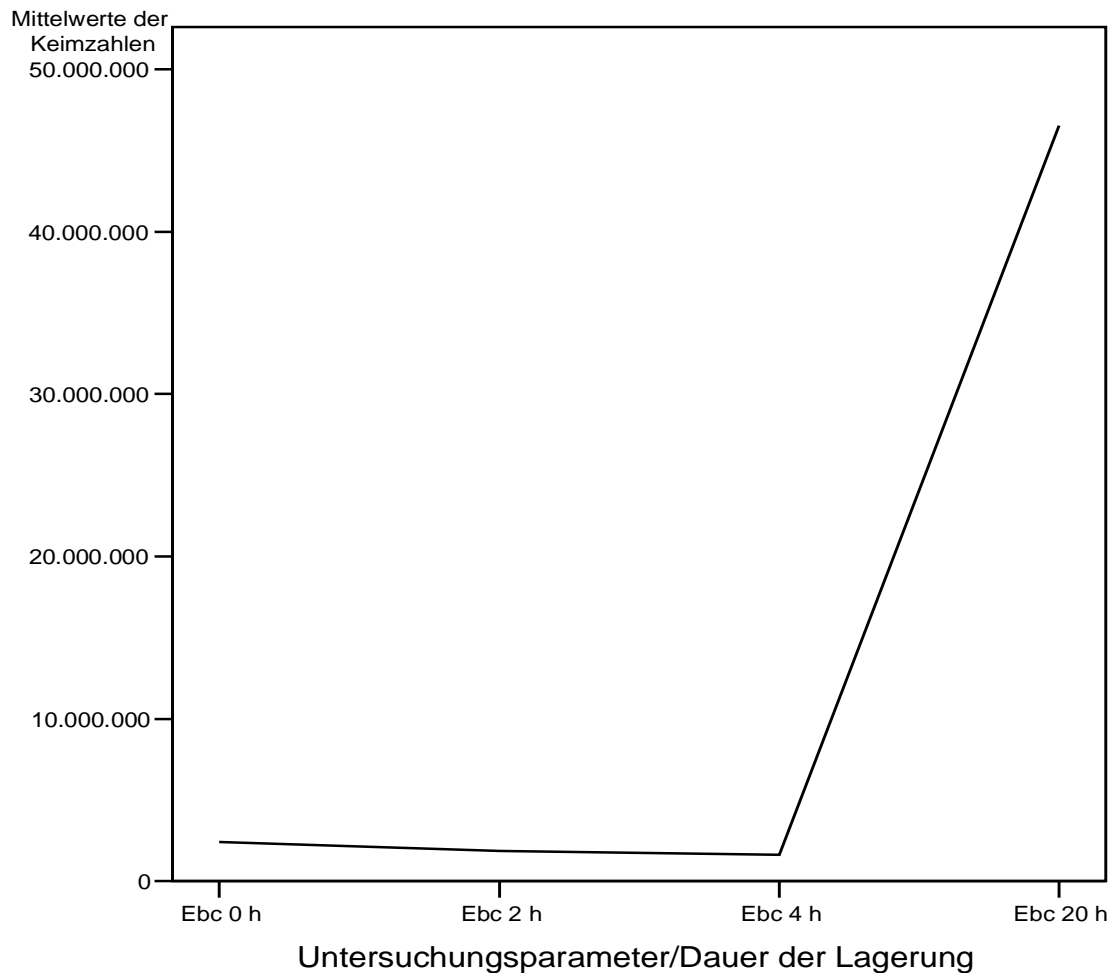
Tabelle 7: Anzahl der Fleischerzeugnisse aus dem Einzelhandel mit einem Enterobakteriazeengehalt über 10^2 KbE/g und deren Durchschnittswerte

	GKZ 0h	GKZ 2h	GKZ 4h	GKZ 20h
Anzahl Fleischerzeugnisse aus dem Handel	10	10	10	10
Anzahl > 10^2 KbE/g	-	-	-	1
Durchschnittliche Keimzahl in KbE/g	-	-	-	$3,8 \times 10^3$

6.2.2 Gehalt der angekauften Salatproben an Enterobakteriäzen

In **Abbildung 14** erkennt man, dass nach 4 Stunden Lagerung bei Raumtemperatur ein deutlicher Anstieg des durchschnittlichen Gehaltes an Enterobakteriäzen zu verzeichnen ist.

Abbildung 14: Verlauf des durchschnittlichen Gehalts an Enterobakteriäzen in angekauften Salatproben



Ebc: *Enterobacteriaceae*

Tabelle 8 verdeutlicht, dass die Kontamination mit Enterobakteriaceen über dem kritischen empfohlenen ALTS-Grenzwert einer Koloniezahl von 10^2 KbE/g mit 80% für den 0, 2, und 4 Stunden-Wert und 70% für den 20 Stunden-Wert sehr hoch ist.

Tabelle 8: Anzahl der angekauften Salatproben mit einem Enterobakteriaceengehalt über 10^2 KbE/g und deren Durchschnittswerte

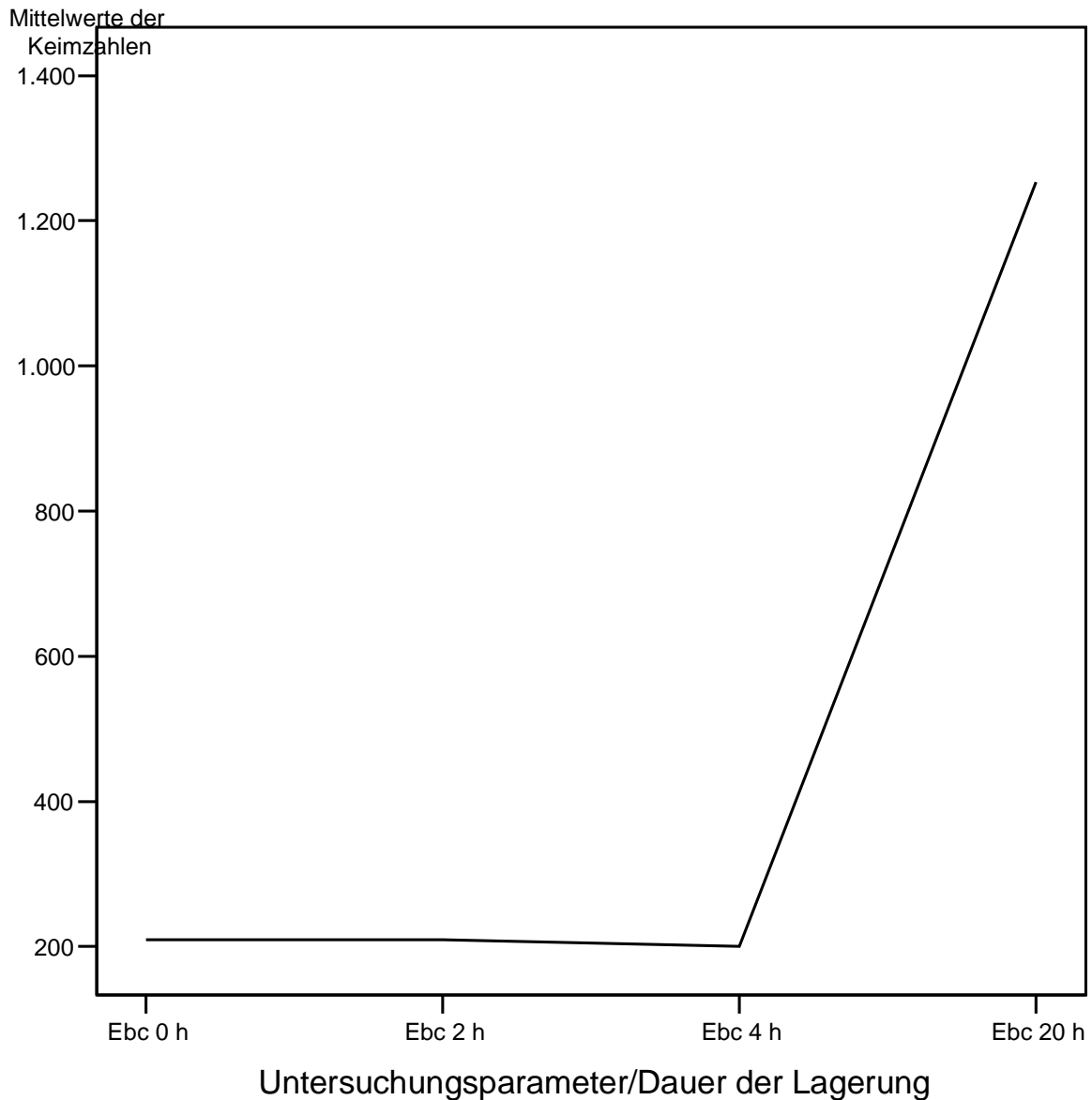
	GKZ 0h	GKZ 2h	GKZ 4h	GKZ 20h
Anzahl angekaufter Salatproben	10	10	10	10
Anzahl > 10^2 KbE/g	8	8	8	7
Durchschnittliche Keimzahl in KbE/g	$3,0 \times 10^6$	$2,3 \times 10^6$	$2,0 \times 10^6$	$6,6 \times 10^7$

6.2.3 Gehalt der Fleischerzeugnisse aus Versorgungseinrichtungen an Enterobakteriaceen

Wie bereits erwähnt, ist der empfohlene ALTS-Grenzwert einer Koloniezahl von 10^2 KbE/g auch gleichzeitig die unterste Nachweisgrenze für Enterobakteriaceen bei dieser Untersuchungsmethode nach § 35 LMBG. Bei den Fleischerzeugnissen aus Versorgungseinrichtungen sind nur 2 von 11 untersuchten Proben, also 18,2 % der Proben überhaupt positiv auf den Nachweis von Enterobakteriaceen. Bei diesen Proben,

wie in **Abbildung 15** deutlich, steigt der Gehalt an Enterobakteriaceen ebenfalls nach 4 Stunden stark an.

Abbildung 15: Verlauf des durchschnittlichen Gehalts an Enterobakteriaceen in Fleischerzeugnissen aus Versorgungseinrichtungen



Ebc: *Enterobacteriaceae*

Betrachtet man die Fleischerzeugnisse aus Versorgungseinrichtungen in Bezug auf den ALTS- Grenzwert (**Tabelle 9**), zeigt sich, dass nur sehr wenige Proben über diesem liegen, nach 20 Stunden aber bereits doppelt so viele wie zuvor.

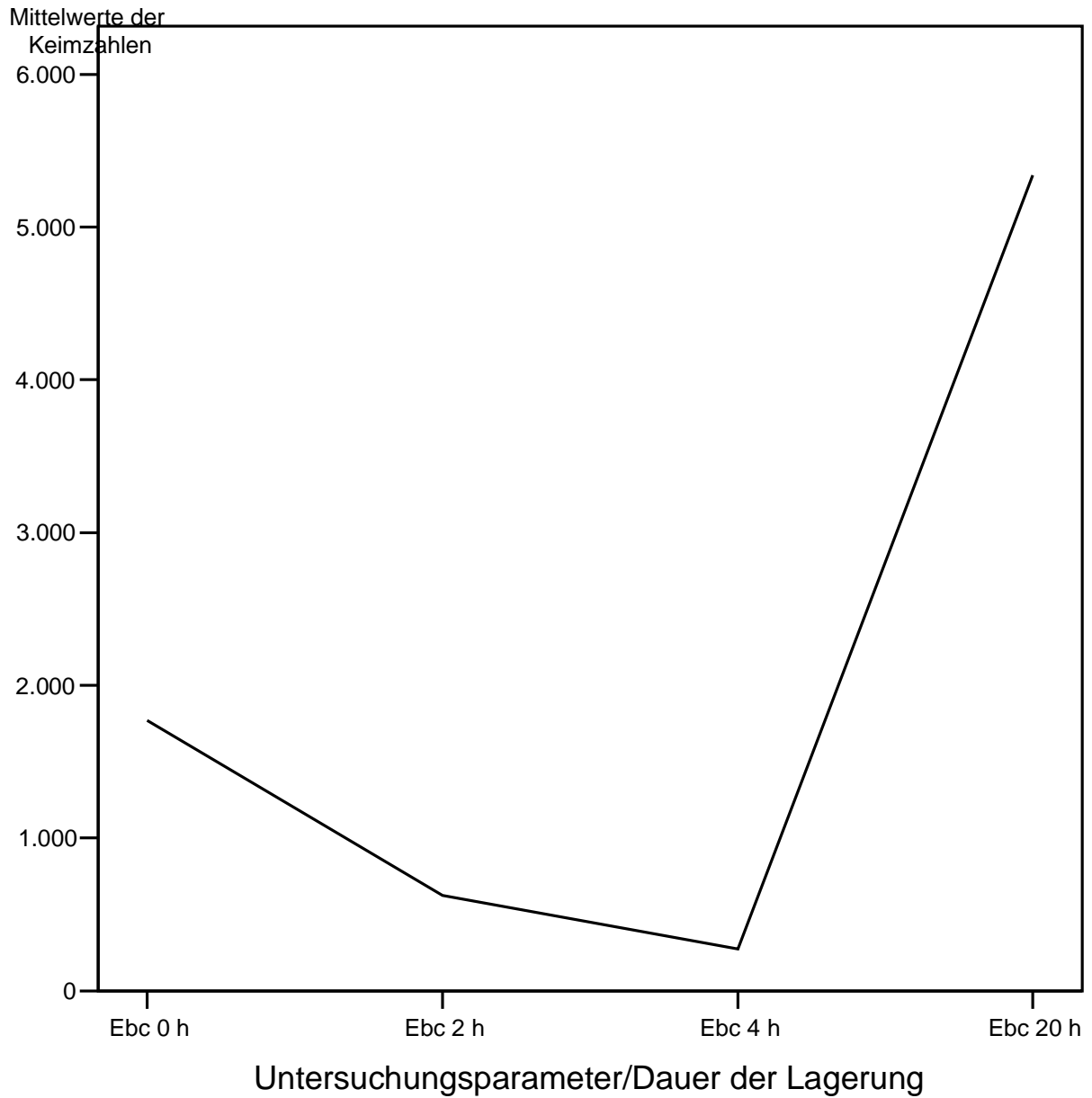
Tabelle 9: Anzahl der Fleischerzeugnisse aus Versorgungseinrichtungen mit einem Enterobakteriazeengehalt über 10^2 KbE/g und deren Durchschnittswerte

	GKZ 0h	GKZ 2h	GKZ 4h	GKZ 20h
Anzahl Fleischerzeugnisse aus Versorgungseinrichtungen	11	11	11	11
Anzahl $> 10^2$ KbE/g	1	1	-	2
Durchschnittliche Keimzahl in KbE/g	$3,0 \times 10^2$	$3,0 \times 10^2$	-	$4,8 \times 10^3$

6.2.4 Gehalt der Salatproben aus Versorgungseinrichtungen an Enterobakteri- azeen

In **Abbildung 16** erkennt man eine leichte Abnahme des durchschnittlichen Enterobakteriazeengehaltes von seinem 0 Stunden-Wert auf seinen 4 Stunden-Wert, nach welchem er deutlich ansteigt.

Abbildung 16: Verlauf des durchschnittlichen Gehalts an Enterobakteriäen in Salatproben aus Versorgungseinrichtungen



Ebc: *Enterobacteriaceae*

Tabelle 10 zeigt, dass nur 2 von 10 untersuchten Proben (10%) den kritischen ALTS-Grenzwert einer Koloniezahl von 10^2 KbE/g überschreiten.

Tabelle 10: Anzahl der Salatproben aus Versorgungseinrichtungen mit einem Enterobakteriazeengehalt über 10^2 KbE/g und deren Durchschnittswerte

	GKZ 0h	GKZ 2h	GKZ 4h	GKZ 20h
Anzahl Salatproben aus Versorgungseinrichtungen	10	10	10	10
Anzahl > 10^2 KbE/g	2	1	1	1
Durchschnittliche Keimzahl in KbE/g	$8,0 \times 10^3$	$4,4 \times 10^3$	$9,5 \times 10^2$	$5,1 \times 10^4$

6.3 Untersuchung auf *E. coli*

Es wurden 10 angekaufte und 11 Proben aus Versorgungseinrichtungen jeweils im Doppelansatz, aufgeteilt nach Salatproben und Fleischerzeugnissen untersucht. Somit wurden für die angekauften Proben 80 Untersuchungen und für die Proben aus Versorgungseinrichtungen 88 Proben untersucht, was einer Gesamtzahl von 168 Untersuchungen auf *E. coli* entspricht, wobei dieser jedoch nicht nachgewiesen werden konnte.

6.4 pH-Werte der Salatproben und ihre statistische Verteilung

Wie in **Tabelle 11** und **Abbildung 17** dargestellt, lag der pH-Wert der angekauften Salatproben zum größten Teil zwischen pH 4,0 und 5,0. Im Gegensatz dazu lag, wie in **Tabelle 11** und **Abbildung 18** ersichtlich, der pH-Wert der Salatproben aus Versorgungseinrichtungen bei den meisten Proben unter pH 4,0.

Tabelle 11: pH-Werte der Salatproben und ihre Verteilung

Selbsterworbene Proben	0h	2h	4h	20h
Anzahl gesamt	10	10	10	10
Anzahl mit pH-Wert ≤ 4	2	2	1	2
Anzahl mit pH-Wert $> 4 \leq 5$	7	6	6	7
Anzahl mit pH-Wert ≤ 5	1	2	3	1
Proben aus Versorgungs-				
einrichtungen				
Anzahl gesamt	10	10	10	10
Anzahl mit pH-Wert ≤ 4	7	7	7	7
Anzahl mit pH-Wert $> 4 \leq 5$	1	1	1	1
Anzahl mit pH-Wert ≤ 5	2	2	2	2

Abbildung 17: pH-Werte der angekauften Salatproben

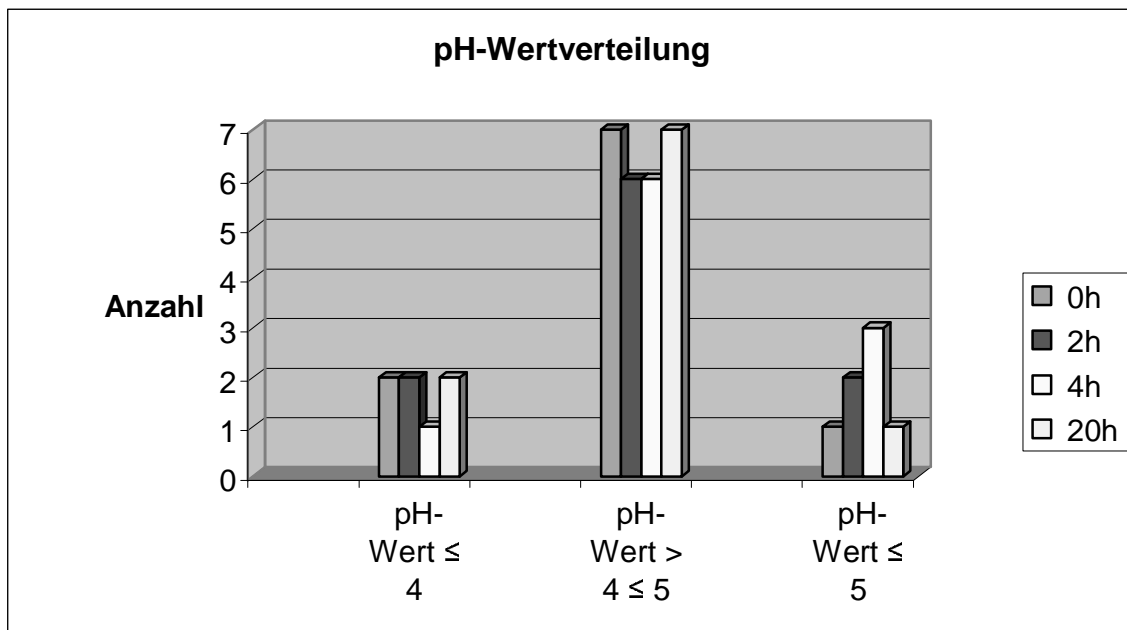


Abbildung 18: pH-Werte der Salatproben aus Versorgungseinrichtungen

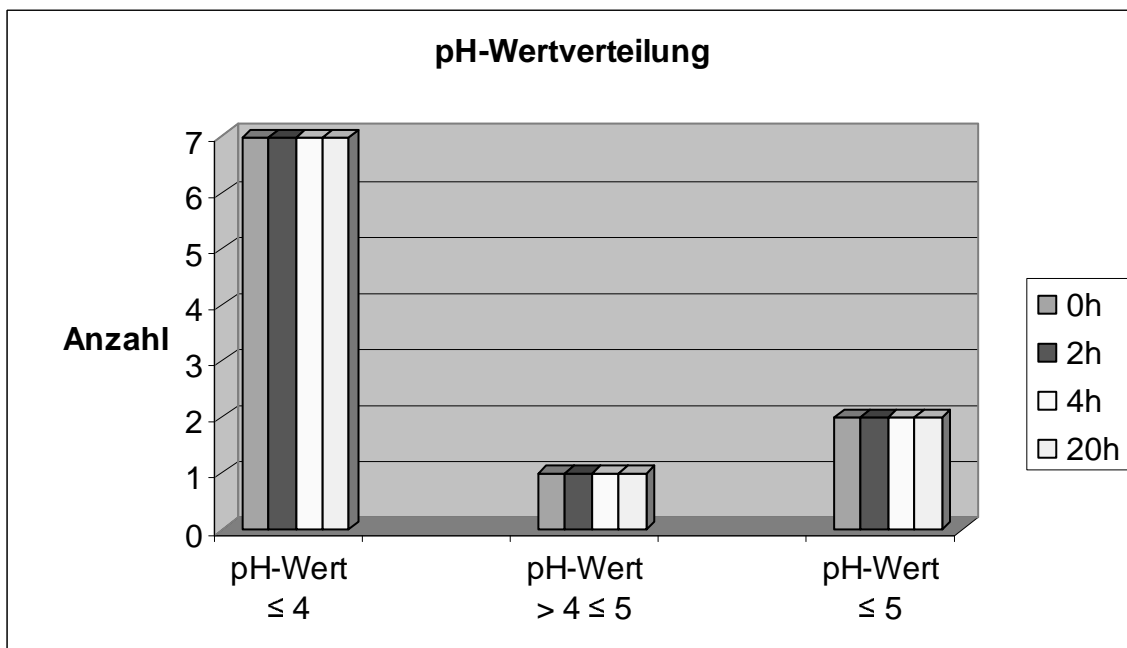


Tabelle 12 vermittelt einen Überblick über die Verteilungshäufigkeit der pH-Werte im Zusammenhang mit allen Keimzahlen, auch der Keimzahlen, welche nicht über den Grenzwerten lagen.

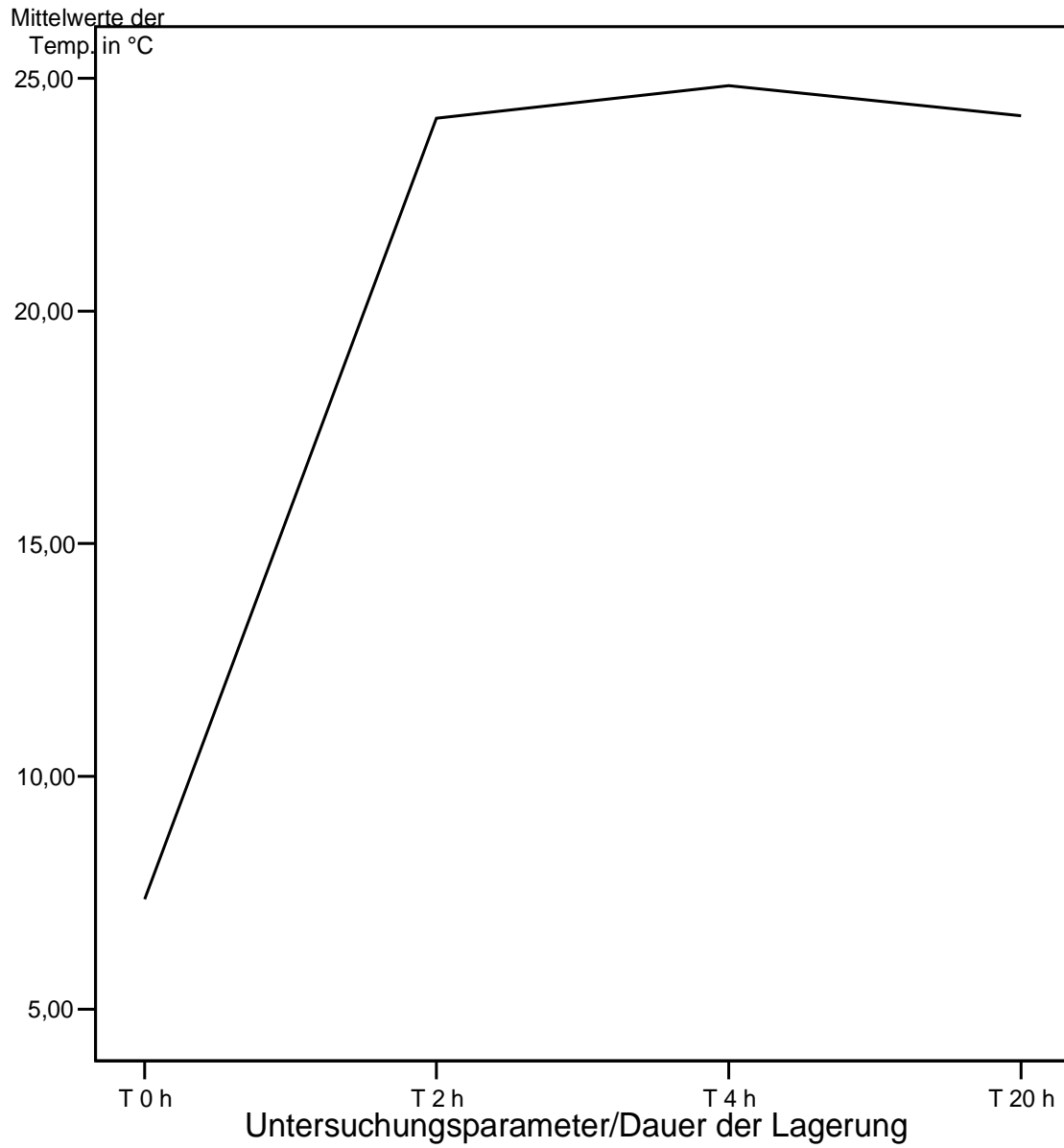
Tabelle 12: Salatproben mit Wachstum, deren pH-Werte und Durchschnittskeimzahlen

Seלבsterworbene Proben	GKZ 0h	GKZ 2h	GKZ 4h	GKZ 20h	Ebc 0h	Ebc 2h	Ebc 4h	Ebc 20h
Anzahl gesamt	10	10	10	10	10	10	10	10
Anzahl mit pH-Wert ≤ 4	2	2	1	2	2	2	1	2
Durchschnittliche Keimzahl in KbE/g	$5,3 \times 10^3$	$3,5 \times 10^3$	$5,8 \times 10^3$	$4,7 \times 10^3$	Unterhalb der Nachweisgrenze	Unterhalb der Nachweisgrenze	Unterhalb der Nachweisgrenze	Unterhalb der Nachweisgrenze
Anzahl mit pH-Wert $> 4 \leq 5$	7	6	6	7	7	6	6	7
Durchschnittliche Keimzahl in KbE/g	$8,3 \times 10^6$	$1,9 \times 10^6$	$9,2 \times 10^6$	$7,4 \times 10^8$	$8,0 \times 10^5$	$3,5 \times 10^5$	$1,8 \times 10^5$	$5,6 \times 10^5$
Anzahl mit pH-Wert ≤ 5	1	2	3	1	1	2	3	1
Durchschnittliche Keimzahl in KbE/g	$2,5 \times 10^8$	$8,4 \times 10^7$	$1,4 \times 10^8$	$6,3 \times 10^8$	$1,8 \times 10^7$	$8,2 \times 10^6$	$5,0 \times 10^6$	$4,6 \times 10^8$
Proben aus Versorgungs-								
einrichtungen								
Anzahl gesamt	10	10	10	10	10	10	10	10
Anzahl mit pH-Wert ≤ 4	7	7	7	7	7	7	7	7
Durchschnittliche Keimzahl in KbE/g	$1,1 \times 10^8$	$7,3 \times 10^6$	$5,4 \times 10^7$	$2,5 \times 10^7$	$3,2 \times 10^3$	Unterhalb der Nachweisgrenze	Unterhalb der Nachweisgrenze	Unterhalb der Nachweisgrenze
Anzahl mit pH-Wert $> 4 \leq 5$	1	1	1	1	1	1	1	1
Durchschnittliche Keimzahl in KbE/g	$5,0 \times 10^4$	$9,8 \times 10^4$	$2,7 \times 10^4$	$2,7 \times 10^4$	$1,3 \times 10^4$	$4,4 \times 10^3$	$9,5 \times 10^2$	$5,1 \times 10^4$
Anzahl mit pH-Wert ≤ 5	2	2	2	2	2	2	2	2
Durchschnittliche Keimzahl in KbE/g	$8,7 \times 10^5$	$7,4 \times 10^5$	$7,1 \times 10^5$	$2,2 \times 10^8$	Unterhalb der Nachweisgrenze	Unterhalb der Nachweisgrenze	Unterhalb der Nachweisgrenze	Unterhalb der Nachweisgrenze

6.5 Zusammenhang zwischen Lagerungstemperatur und Bakterienwachstum

Die Raumtemperatur war bei der Lagerung zum Teil großen Schwankungen unterworfen, bedingt durch die Probenuntersuchung sowohl im Sommer als auch im Winter. Die maximale Raumtemperatur während der Lagerung betrug +30,4 °C und die minimale +18,2 °C. Die Temperatur zum Zeitpunkt der ersten Untersuchung lag im Durchschnitt bei +7,3 °C, bedingt durch die Kühllagerung und den Transport in Kühlboxen. Die Durchschnittliche Temperatur der 2 Stunden Messung lag bei +24,1 °C, die der 4 Stunden Messung bei +24,8 °C und die der 20 Stunden Messung bei +24,2 °C. Es war keine Korrelation zwischen den Temperaturen der untersuchten Proben und ihrer Keimzahl zu erkennen.

Abbildung 19: Verlauf der durchschnittlichen Temperatur zu den Probenahmezeitpunkten



T: Temperatur

7 Diskussion

Die Ausgangsfragestellung inwieweit sich die Lagerung von Fleischerzeugnissen und Salatzubereitungen bei Raumtemperatur auf eine Keimzahlvermehrung auswirkt, ergab sich aus der Anfrage von Betreibern von Altenheimen. Dort werden in einigen Fällen angerichtete und verzehrsfertige Speiseplatten/-teller bis zur Erlangung einer für die Bewohner angenehmen Verzehrstemperatur vom Personal oder den Bewohnern selbst außerhalb des Kühlschranks gelagert. Dies stellt möglicherweise eine gesundheitliche Problematik dar.

Es wurde ein Modellversuch mit dem Ziel erarbeitet, eine Aussage über das Wachstumsverhalten des Keimgehalts verzehrsfertiger Produkte bei Raumtemperatur (hier durchschnittlich ca. +24,4 °C) zu erhalten. Da unter Praxisbedingungen die Zeiträume bis zum Verzehr eines Abendessens von wenigen Minuten bis hin zu Stunden dauern können, wurden exemplarisch die Untersuchungszeitpunkte von 0, 2, 4, und 20 Stunden Lagerung bei Raumtemperatur gewählt.

7.1 Gesamtkeimzahl der Fleischerzeugnisse

Da der deutsche Gesetzgeber keine gesetzlichen Grenzwerte oder Normen für die höchst zulässige aerobe mesophile Gesamtkeimzahl in Wurstwaren vorschreibt, wurden zur Beurteilung der Untersuchungsergebnisse diverse Angaben verschiedener Autoren als Richtwerte genommen. So empfahl SINELL (1985 und 2004) eine aerobe mesophile Gesamtkeimzahl von 10^8 KbE/g als kritischen Grenzwert für Lebensmittel im Allgemeinen, in der schweizerischen Verordnung über die hygienisch mikrobiologischen Anforderungen an Lebensmittel, Gebrauchs- und Verbrauchsgegenstände (1991) wird hingegen ein Grenzwert von 10^6 KbE/g bereits als kritisch angesehen. In den ALTS-Empfehlungen gibt es Grenzwerte für einzelne Wurstarten und deren Darreichungsform (**Tabelle 1**). Die Aufgabe dieses Modellversuchs war jedoch die Untersuchung einer Mischprobe, wie sie in den Alten- und Pflegeheimen angerichtet wird. In solchen Mischproben können aufgrund der Herstellungsweise, z. B. aufgrund der Art und Menge der Starterkulturen der verschiedenen Wurstwaren unterschiedliche Gesamtkeimzahlen erwartet werden. Durch die geringe Immunkompetenz der Zielgruppe dieser Studie in den Altenheimen wurde der niedrigste in der Literatur beschriebene Grenzwert von 10^6 KbE/g für diesen Modellversuch verwendet.

Auffallend war, dass bei den angekauften Fleischerzeugnissen aus dem Einzelhandel zu allen Untersuchungszeitpunkten, d.h. sowohl nach 0, 2, 4, als auch nach 20 Stunden Lagerung bei Raumtemperatur 70% der Proben über dem für diese Untersuchung festgelegten Grenzwert von 10^6 KbE/g lagen (**Tabelle 3**). Bei den Fleischerzeugnissen aus den Versorgungseinrichtungen hingegen waren zum Untersu-

chungszeitpunkt nach 0, 2 und 4 Stunden Lagerung bei Raumtemperatur lediglich 9% über dem kritischen Grenzwert, nach 20 Stunden jedoch 45% (**Tabelle 5**).

MONTVILLE und SCHAFFNER (2004) untersuchten über einen Zeitraum von 10 Jahren verschiedenste Nahrungsmittel, hauptsächlich Frühstückswurst und Feinkostsalate, aus einer Universitätsmensa auf ihre aerobe mesophile Gesamtkeimzahl und fanden hier durchschnittlich zwischen 10^2 und 10^4 KbE/g. Diese Untersuchung ist jedoch nur bedingt zum direkten Vergleich geeignet, da die Autoren Proben aus den verschiedensten Lebensmitteln nahmen. Bei einer 3 Jahre dauernden Untersuchung des Bundesministeriums für Gesundheit (BMG) (BÖHME et al 1999), durchgeführt durch die Bundesforschungsanstalt für Ernährung (BE), über den hygienischen Status von Bedienungskühltheken bei gleichzeitiger Beschickung mit Fleisch und Fleischerzeugnissen fanden BÖHME et al. (1999) heraus, dass 66% der Brühwurst unter dem kritischen Grenzwert von 10^6 KbE/g lagen. 44% der Produkte hatten einen durchschnittlichen aeroben mesophilen Keimgehalt zwischen $1,8 \times 10^6$ und $2,2 \times 10^7$ KbE/g. In der vorliegenden Studie wiesen die Fleischerzeugnisse aus dem Handel, welche über dem Grenzwert von 10^6 KbE/g lagen (70%) je nach Untersuchungszeitpunkt (**Tabelle 3**), eine durchschnittliche Gesamtkeimzahl zwischen $4,6 \times 10^8$ und $7,4 \times 10^8$ KbE/g auf. Der Hauptgrund für die höhere durchschnittliche Keimzahl und die größere Anzahl an Proben über dem Grenzwert der im Rahmen dieses Projektes angekauften Proben liegt wahrscheinlich daran, dass hier jeweils verschiedenste Wurstsorten, wie bei dem Anrichten eines Aufschnittes für ein Abendessen üblich, miteinander kombiniert wurden, und nicht nur, wie in der Untersuchung des BMG, Brühwurst untersucht wurde. Diese verschiedenen Wurstsorten, wie beispielsweise Roh –oder Kochwurst können, wie auch in **Tabelle 1** ersichtlich, im Vergleich zu Brühwurst eine wesentlich höhere Gesamtkeimzahl haben. Dies wird durch das Herstellungsverfahren wie z.B. durch die Verwendung von Starterkulturen bei der Roh-

wurstherstellung, die Anwendung des Pökelf Verfahrens oder Haltbarmachung über Räuchern verursacht.

Die Proben aus den Alten- und Pflegeheimen, welche über dem Grenzwert von 10^6 KbE/g lagen (9% bis zum 4 Stunden Messwert, 45% zum 20 Stunden Messwert), hatten je nach Untersuchungszeitpunkt (**Tabelle 5**), eine durchschnittliche Gesamtkeimzahl zwischen $5,9 \times 10^6$ zur 0 Stunden Untersuchung und $8,6 \times 10^8$ zur 20 Stunden Untersuchung auf. Bei den Keimzahlen der Proben aus den Alten- und Pflegeheimen ist deutlich ersichtlich, dass sich der 0 Stunden Wert im Bereich der Ergebnisse der Untersuchung des BMG befindet, der 20 Stunden Wert jedoch deutlich darüber. Dies zeigt, dass die Gesamtkeimzahl durch die Lagerung bei Raumtemperatur wie zu erwarten zugenommen hat. Wie in **Abbildung 10** ersichtlich, steigt der durchschnittliche Keimgehalt bis zur Lagerung von 4 Stunden bei Raumtemperatur nur sehr langsam an, um daraufhin bis zum 20 Stunden Messwert stark anzusteigen. Daraus lässt sich ableiten, dass eine kurzzeitige Lagerung von verzehrfertigen abgedeckten Wurstplatten außerhalb des Kühlschranks akzeptabel ist, diese Zeit jedoch so kurz wie möglich zu halten ist. Auf keinen Fall sollte eine Lagerung außerhalb des Kühlschranks länger als vier Stunden andauern, da erste Anstiege der Keimzahl bereits hier deutlich erkennbar sind. Weiterhin erkennt man die bessere hygienische Qualität der untersuchten Fleischerzeugnisse aus den Alten- und Pflegeheimen im Vergleich zu den Proben aus dem Einzelhandel. Zu jedem Untersuchungszeitpunkt lagen 70% der Proben aus dem Einzelhandel über dem für die Altenheime festgelegten Grenzwert. Daher ist von einem erhöhten Ausgangskeimgehalt der Proben auszugehen. Ob das Produkt selbst, oder die Herrichtung an der Wursttheke dafür verantwortlich gemacht werden müssen, bleibt abzuwägen. In jedem Fall sollten Eigenkontrollmaßnahmen und Hygienekonzepte in ähnlicher Form wie die der Altenheime durchgeführt werden.

7.2 Gehalt der Fleischerzeugnisse an Enterobakteriazeen

Da es lediglich in den ALTS- Richtwerten (**Tabelle 1**) Empfehlungen über den maximalen Gehalt an Enterobakteriazeen in verschiedenen Wurstwaren gibt und diese je nach Wurstsorte zwischen 10^2 und 10^3 KbE/g schwanken, wurde aufgrund der Tatsache, dass die Untersuchung hauptsächlich im Bereich von Risikogruppen wie Altenheimbewohnern stattgefunden hat, ebenfalls der niedrigste empfohlene Grenzwert von 10^2 KbE/g als Grenzwert genommen. Dies ist zugleich die unterste Nachweisgrenze für Enterobakteriazeen nach der in der Amtlichen Sammlung nach § 35 LMBG vorgeschriebenen Methode.

Auffällig war, dass zum Untersuchungszeitpunkt nach 20 Stunden Lagerung bei Raumtemperatur bei den Proben aus dem Einzelhandel nur eine von zehn Proben (10%) und bei den Proben aus den sozialen Einrichtungen lediglich zwei von elf Proben (18,2%), mit Keimzahlen von $3,8 \times 10^3$ bzw. durchschnittlich $4,8 \times 10^3$ über dem Grenzwert und damit sehr nahe beieinander lagen (**Tabellen 7 und 9**). Aus diesem Grund lässt sich keine signifikante Unterscheidung zwischen den Einzelhandelsproben und den Proben aus den sozialen Einrichtungen machen. Die zeitliche Wachstumsverzögerung deutet darauf hin, dass sich die fakultativ anaeroben Enterobakteriazeen erst eine gewisse Zeit an das Milieu anpassen müssen, bzw. die reinen Anaerobier inaktiviert werden. Bei der bereits erwähnten Studie des BMG (BÖHME et al. 1999) stellte sich heraus, dass Enterobakteriazeen nur in geringer Anzahl oder gar nicht nachgewiesen werden konnten. Dies deckt sich mit den Ergebnissen der im Rahmen dieses Projektes untersuchten Proben. Da die Gruppe der Enterobakteriazeen jedoch sehr viele pathogene Keime beinhaltet, sollten gerade in sozialen Einrichtungen, aber auch im Einzelhandel, eigentlich alle Proben unterhalb der Nach-

weissgrenze liegen. Denn wie PRESSER et al. (1998) beschrieben haben, besteht auch bei einem Kontaminationsgrad, welcher durch Routinemethoden nicht festgestellt werden kann, trotzdem immer ein Gesundheitsrisiko durch pathogene Keime. Wie in **Abbildung 13** und **Abbildung 15** ersichtlich verändern sich die Keimzahlen bis zu ihrem 4 Stunden Messwert wenig, um bis zu ihrem 20 Stunden Messwert dann stark anzusteigen. Dies zeigt wiederum, wie in **7.1** bereits erwähnt, dass Lebensmittel außerhalb des Kühlschranks nur so kurz wie möglich gelagert werden sollten.

7.3 Gehalt der Fleischerzeugnisse an *E. coli*

Obwohl insgesamt 168 Untersuchungen auf *E. coli* durchgeführt wurden, konnte dieser Keim nicht nachgewiesen werden.

MONTVILLE und SCHAFFNER (2004) führten über einen Zeitraum von 10 Jahren Untersuchungen in einer Universitätsmensa an allen Nahrungsmitteln, hauptsächlich an Frühstückswurst (Mischproben) und Feinkostsalaten, durch und konnten coliforme Bakterien lediglich in 7% des Weißkohlsalates nachweisen. Da sie in Wurst ebenfalls keine *E. coli* nachweisen konnten, lässt dies darauf schließen, dass *E. coli* durch den Verfahrenshergang der Herstellung vieler Wurstwaren zum Großteil abgetötet wird. Ein gewisses Restrisiko bleibt jedoch immer, da nach der Nachweismethode nach der Amtlichen Sammlung § 35 LMBG die unterste Nachweisgrenze bei 10 *E. coli* pro Gramm Probe liegt. Um genauere Ergebnisse zu erhalten, könnte man die Proben mit modernen Methoden, wie z. B. PCR oder Fluoreszenz-in-situ-Hybridisation (FISH) untersuchen, wobei auch einzelne Keime nachweisbar wären. Ebenso gilt zu berücksichtigen, dass bei einem Fleischerzeugnis nie das gesamte Erzeugnis zur Untersuchung gelangt, sondern nur ein kleiner Teil.

7.4 Gesamtkeimzahl der Salatproben

Als Bewertungsgrundlage wurde hier der von der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM) empfohlene kritische Grenzwert von $5,0 \times 10^7$ KbE/g für die aerobe mesophile Gesamtkeimzahl in Mischsalaten herangezogen.

In einer Untersuchung von BECKER et al. (2004) über die mikrobiologische Qualität von fertigverpackten, vorzerkleinerten Mischsalaten wurde der kritische DGHM Grenzwert von $5,0 \times 10^7$ KbE/g in 37,5% der untersuchten Proben (27 von 72 Proben) überschritten. Dies ist ein wesentlich höherer Prozentsatz als bei den im Rahmen dieses Projektes analysierten Proben. Jedoch waren die Salate ohne die Zugabe von Dressing. Durch die Zugabe von Dressing sinkt meist der pH-Wert der Salate und die Lebensbedingungen für Mikroorganismen verschlechtern sich. PETERSON et al. (1989) und SHELEF (1994) weisen beide darauf hin, dass pH-Reduktion eine wichtige Technik darstellt, um hygienisch einwandfreies Essen zu produzieren. Da im Rahmen dieses Projektes nur mit Dressing angerichtete Salate untersucht wurden, ist dies ein möglicher Grund für den niedrigeren Prozentsatz an Proben, welche den Grenzwert überschritten. Anhand der 20 Stunden Messwerte der Proben aus dem Einzelhandel, welche zu 60% über dem Grenzwert lagen (nach 0, 2, und 4 Stunden jeweils nur zu 10%) (**Tabelle 4**), und auch anhand der Wachstumskurve der Einzelhandelsproben (**Abbildung 8**) wird deutlich, dass eine kurzzeitige Lagerung von angemachtem Salat außerhalb des Kühlschranks akzeptabel ist. BECKER et al. (2004) weisen darauf hin, dass eine ununterbrochene Kühlkette von $+4,0$ °C für Salat unbedingt erforderlich ist. In einer Untersuchung von mit Dressing versetzten Feinkostsalaten fanden BECKER et al. (2001) eine durchschnittliche aerobe mesophile Gesamtkeimzahl zwischen $2,5 \times 10^4$ und $2,5 \times 10^8$ KbE/g. Diese Keimzahlen ent-

sprechen ungefähr den durchschnittlichen Keimzahlen der im Rahmen dieses Projektes analysierten Proben.

7.5 Zusammenhang zwischen pH-Wert und Gesamtkeimzahl der Salatproben

Der pH-Wert bei den angekauften Proben lag zu den Probenahmezeitpunkten insgesamt zu 60 bzw. 70% zwischen pH 4,0 und pH 5,0 (**Tabelle 11** und **Abbildung 17**) bei den Proben aus den Versorgungseinrichtungen jedoch zu 70% unter pH 4,0 und zu 20% über pH 5,0 (**Tabelle 11** und **Abbildung 18**). PRESSER et al. (1997) stellten in einer Untersuchung fest, dass *E. coli* zwar bei einem pH-Wert von 4,0 geringgradiges Wachstum aufwies, bei einem pH-Wert von 3,7 jedoch das Wachstum eingestellt hat. In einer weiteren Untersuchung von PRESSER et al. (1998) fanden diese heraus, dass *E. coli* bei einem pH-Wert unter 3,9, unabhängig von der Temperatur zwischen +15,0 °C und +37,0 °C, nicht wachsen kann. Ähnliches beschreiben DOYLE et al. (1982) in einer ihrer Untersuchungen. Dort verringerten sich die Anzahlen von *Listeria monocytogenes* und Salmonellen in Mayonnaise mit einem pH-Wert unter 4,1 sehr schnell. Es wurden über 10^7 /g innerhalb von 72 Stunden bei +23,9 °C inaktiviert. ABDUL-RAOUF et al. (1993) stellten fest, dass ein niedriger pH-Wert sofort die Gesamtpopulation von Bakterien vermindert. Dies lässt sich jedoch nicht für die Gesamtkeimzahl bei den im Rahmen dieses Projektes untersuchten Proben bestätigen, da die Proben aus den Versorgungseinrichtungen, welche zu 70% unter pH 4,0 lagen, im Durchschnitt eine relativ hohe Gesamtkeimzahl aufwiesen (**Tabelle 12**). Der Grund hierfür ist wahrscheinlich, dass mit der Gesamtkeimzahl alle Keime, also auch solche, welche unter pH 4,0 sehr gut wachsen, erfasst werden. In dieser Studie lies sich kein Einfluss des pH-Wertes auf die Gesamtkeimzahl feststellen.

7.6 Gehalt der Salatproben an Enterobakteriaseen im Zusammenhang mit ihrem pH-Wert

Da es für Salat keine empfohlenen Grenzwerte für Enterobakteriaseen gibt, wurde der für Wurstwaren niedrigste empfohlene Grenzwert von 10^2 KbE/g für die Untersuchung der Salatproben übernommen,

Es lagen 80% der angekauften Salatproben bei ihrer Untersuchung nach 0, 2, und 4 Stunden Lagerung bei Raumtemperatur über dem Grenzwert von 10^2 KbE/g. Nach 20 Stunden Lagerung bei Raumtemperatur überschritten 70% der Proben den Grenzwert (**Tabelle 8**). Dies lässt darauf schließen, dass in einigen Proben der Grenzwert nach 20 Stunden nicht mehr überschritten wird. In diesen Fällen konnte jedoch keine Korrelation mit dem pH- Wert festgestellt werden. Wahrscheinlich hatten in diesem Modellversuch nicht untersuchte Bedingungen einen negativen Einfluss auf die fakultativ anaeroben Enterobakteriaseen. Der Großteil der Enterobakteriaseen hatte sich jedoch gut an die pH-Werte, welche meist zwischen 4,0 und 5,0 lagen, und die aeroben Bedingungen angepasst. Bei der Betrachtung der durchschnittlichen Keimzahl ist ersichtlich, dass bei den 70% der grenzüberschreitenden Proben ein Anstieg nach 4 Stunden Lagerung bei Raumtemperatur zu beobachten war (**Abbildung 14**). Dies lässt den Schluss zu, dass sich nach 4 Stunden oder längerer Lagerung bei Raumtemperatur einige Enterobakteriaseen an das vorliegende pH- Milieu und die aeroben Bedingungen des Salates angepasst hatten und sich daraufhin stark vermehrten. Bei den Salatproben aus den Versorgungseinrichtungen lagen nur zwei von zehn (20%) der untersuchten Proben über der Nachweisgrenze für Enterobakteriaseen von 10^2 KbE/g. Zum Untersuchungszeitpunkt nach 0 Stunden Lagerung lagen nur zwei Proben über dem Grenzwert von 10^2 KbE/g. Nach 2, 4 und

20 Stunden Lagerung bei Raumtemperatur war es lediglich noch eine Probe (10%) (**Tabelle 10**). Die durchschnittliche Keimzahl der Salatproben aus Versorgungseinrichtungen nahm bis zu ihrer Untersuchung nach 4 Stunden Lagerung bei Raumtemperatur ab, um dann bis zur Untersuchung nach 20 Stunden anzusteigen (**Abbildung 16**). Da die Salatproben aus den Versorgungseinrichtungen zu 70% einen pH-Wert unter 4,0 aufwiesen (**Tabelle 11** und **Abbildung 18**), lässt dies den Schluss zu, dass bei einem pH-Wert unter 4,0 nur sehr wenige Keime aus der Gruppe der Enterobakteriazeen überleben. Es wurde eine Zeitspanne von mehr als 4 Stunden bei Raumtemperatur benötigt bis sich einzelne Keime an das Milieu angepasst hatten und sich vermehren konnten. Wie in **7.5** beschrieben, kamen DOYLE et al. (1982) und ABDUL-RAOUF et al. (1993) zu ähnlichen Ergebnissen. Da das pH-Milieu bei den angekauften Proben zu 60 bzw. 70% zwischen pH 4,0 und pH 5,0 lag (**Tabelle 11** und **Abbildung 17**), legt dies die Vermutung nahe, dass Enterobakteriazeen sich in diesem pH-Bereich geringfügig vermehren können. Zwischen 70 und 80% der Proben überschritten den Grenzwert von 10^2 KbE/g (**Tabelle 8**). Sie hatten durchschnittlich Keimzahlen zwischen $2,0 \times 10^6$ und $6,6 \times 10^7$ KbE/g. Zwischen dem 0 Stunden und dem 20 Stunden Messwert fand jedoch kein signifikantes Keimwachstum statt. Dies lässt auf eine hohe Ausgangskontamination schließen. Hingegen liegt die durchschnittliche Keimzahl bei den wenigen Proben aus Versorgungseinrichtungen welche über der Nachweisgrenze lagen (**Tabelle 10**) lediglich zwischen $9,5 \times 10^2$ und $5,1 \times 10^4$ KbE/g. Bei diesen Proben über der Nachweisgrenze lag der pH-Wert zu 80% ebenfalls, wie beim Großteil der angekauften Proben, zwischen pH 4,0 und pH 5,0. Ähnliches berichten auch PRESSER et al. (1997) und (1998), bei deren Untersuchungen *E. coli* bei Temperaturen zwischen +15,0 °C und +37,0 °C und einem pH-Wert unter 3,9 nicht mehr wachsen konnte. Da Salmonellen und *E. coli* ebenfalls zur Gruppe der Enterobakteriazeen gehören, und diese in den Untersuchungen von

DOYLE et al. (1982) und PRESSER et al. (1997) und (1998) bei einem pH-Wert über 4,0 nicht inaktiviert wurden lässt dies, wie bereits erwähnt, darauf schließen, dass Enterobakteriaceen sich bei einem pH-Wert zwischen 4,0 und 5,0, auf jeden Fall aber über 4,0 zumindest geringfügig vermehren können. In einer Untersuchung von BECKER et al. (2004) wurde festgestellt, dass 80 bis 90% der aeroben mesophilen Gesamtkeimzahl aus Enterobakteriaceen und Pseudomonaden bestand. Die durchschnittliche Keimzahl für diese lag zwischen $2,3 \times 10^4$ und $2,4 \times 10^9$ KbE/g. Diese durchschnittlichen Keimzahlen sind zwar wesentlich höher wie diejenigen der im Rahmen dieses Projektes analysierten Proben, jedoch gilt zu beachten, dass bei BECKER et al. (2004) nicht angemachter Salat untersucht wurde, und somit das in gewisser Hinsicht durch seinen meist niedrigen pH-Wert bakterizid wirkende Dressing im Salat fehlte. In einer Untersuchung von Feinkostsalaten fanden BECKER et al. (2001) einen durchschnittlichen Enterobakteriaceengehalt zwischen $1,0 \times 10^2$ und $5,0 \times 10^3$ KbE/g. Dies ist ein wesentlich niedrigerer Gehalt an Enterobakteriaceen, als bei den im Rahmen dieses Projektes analysierten Proben. Jedoch sollte man bedenken, dass Feinkostsalatdressing auf der Basis von Mayonnaise hergestellt wird, welches einen niedrigen pH-Wert um ca. 4,0 hat, was wie von DOYLE et al. (1982) bereits beschrieben zur Keimzahlreduktion führt. Dies erklärt die niedrigeren Keimzahlen, welche BECKER et al. (2001) gefunden haben, im Vergleich zu dem höheren durchschnittlichen Enterobakteriaceengehalt, in der vorliegenden Studie, welche vermutlich durch die höheren pH-Werte verursacht wurden.

7.7 Gehalt der Salatproben an *E. coli*

Obwohl insgesamt 168 Untersuchungen auf *E. coli* durchgeführt wurden, konnte dieser Keim auch in den Salatproben nicht nachgewiesen werden. SAGOO et al. (2003) untersuchten im September und Oktober 2001 offenen angemachten sogenannten „ready-to-eat“ Salat von Cateringfirmen auf seine hygienische Beschaffenheit und stellten in 3% der Untersuchungen eine nicht ausreichende hygienische Qualität aufgrund der Anwesenheit von *E. coli* fest. Dieser kam in durchschnittlichen Keimzahlen zwischen 10^2 und 10^5 KbE/g vor. Wie in 7.3 beschrieben, konnten MONTVILLE und SCHAFFNER (2004) in ihrer Untersuchung coliforme Bakterien lediglich in 7% des Weißkohlsalates nachweisen. In einer Untersuchung von BECKER et al. (2004) über die mikrobiologische Qualität von fertigverpackten, vorzerkleinerten Mischsalaten, konnte *E. coli* lediglich in einer von 72 Proben (1,4%) nachgewiesen werden. In der Untersuchung von BECKER et al. (2004) und in derjenigen von SAGOO et al. (2003) wurde der pH-Wert nicht gemessen. Aus diesem Grund kann hier kein direkter Vergleich mit der vorliegenden Studie angestellt werden. Jedoch untersuchten SAGOO et al. (2003) und BECKER et al. (2004) rohen, gewaschenen, verpackten Salat ohne Dressing. Da bei den im Rahmen dieses Projektes analysierten Proben jedoch nur mit Dressing angerichtete Salatproben untersucht wurden, welches den pH-Wert senkt, könnte dies eine Erklärung sein, warum hier keine *E. coli* gefunden wurden.

7.8 Schlussfolgerungen

Nach Abwägung der Literatur und der Diskussion können folgende übergreifende Sachverhalte festgestellt werden:

- Lagerung von Lebensmitteln außerhalb des Kühlschranks sollte so kurz wie möglich dauern, eine maximale Zeit von vier Stunden aber auf keinen Fall überschreiten
- Reduktion des pH- Wertes bei angemachten Salaten, falls vom Endverbraucher akzeptiert, auf einen pH- Wert unter 4,0, auf jeden Fall aber so niedrig wie möglich
- Verwendung von Fleischerzeugnissen mit möglichst geringer Ausgangskontamination wie z. B. Brühwurst
- Vermeidung von gemischten Wurstplatten mit Fleischerzeugnissen mit herstellungsbedingt hohem Ausgangskeimgehalt wie z. B. Rohwurst aufgrund der Gefahr einer Kreuzkontamination
- Anlehnung an das sogenannte „Hürden“-Konzept (LEISTNER und RÖDEL 1976), wobei alle Faktoren, welche dem Wachstum der Mikroorganismen entgegenwirken, zur schützenden Wirkung beitragen. In der Praxis sollten deshalb verschiedene Hygienekonzepte kombiniert werden, um eine optimale Wirkung zu erzielen
- Garantie des bestmöglichen Verbraucherschutzes durch praxisrelevante und durchführbare Hygienekonzepte, wie z. B. dem HACCP-Konzept

8 Zusammenfassung

Die Fragestellung dieses Modellversuchs war, welchen Einfluss eine Lagerung von Lebensmitteln außerhalb des Kühlschranks auf den Keimgehalt hat. Im Zeitraum vom 20. März 2003 bis zum 2. Februar 2004 wurden insgesamt 41 Proben aus zehn ausgewählten Alten-, -und Pflegeheimen und von zehn Einzelhandelsgeschäften, wie beispielsweise Imbißständen oder Metzgereien gesammelt. Gegenstand der Untersuchung war jeweils ein Fleischerzeugnis, bestehend aus handelsüblicher Aufschnittwurst, und eine Salatprobe mit handelsüblichem Dressing. Die Proben wurden nach der Probenahme auf gereinigten und desinfizierten Tellern mittels sterilen Instrumenten verzehrfertig angerichtet und nach der ersten Untersuchung mit Alufolie abgedeckt. Weitere Untersuchungen fanden nach 2, 4, und 20 Stunden Lagerung bei Raumtemperatur statt. Die Proben wurden auf ihre Gesamtkeimzahl, ihren Gehalt an Enterobakteriaceen und auf *E. coli* untersucht. Als Nachweismethoden wurden die in der Amtlichen Sammlung nach § 35 LMBG beschriebenen Nachweismethoden verwendet. Desweiteren wurde vor jeder Probenentnahme die Temperatur des Probenmaterials, sowie der pH-Wert des Salates gemessen.

Bei der Untersuchung der Gesamtkeimzahl ($n = 168$) fiel auf, dass zu allen Untersuchungszeitpunkten 70% der Fleischerzeugnisse aus dem Einzelhandel über dem für diese Studie festgelegten Grenzwert von 10^6 KbE/g lagen. Bei den Fleischerzeugnissen aus den Versorgungseinrichtungen hingegen lagen zum Untersuchungszeitpunkt nach 0, 2 und 4 Stunden Lagerung bei Raumtemperatur lediglich 9% über dem kritischen Grenzwert, nach 20 Stunden 45%. Zur Untersuchung der Salatproben auf ihre Gesamtkeimzahl wurde der von der DGHM empfohlene Grenzwert von $5,0 \times 10^7$ KbE/g als Maßstab genommen. Zum Untersuchungszeitpunkt nach 0, 2, und 4 Stun-

den Lagerung lagen nur 10% der Proben aus dem Einzelhandel über diesem Grenzwert, nach 20 Stunden jedoch bereits 60%. Bei den Proben aus den Versorgungseinrichtungen lagen im Schnitt nur 10% der 0, 2 und 4 Stunden Messwerte über dem Grenzwert und nur 20% der 20 Stunden Messung. Der pH-Wert der Proben aus dem Einzelhandel lag zu den Probenahmezeitpunkten 0 und 20 Stunden zu 70% und bei 2 und 4 Stunden zu 60% zwischen pH 4,0 und pH 5,0, bei den Proben aus den Versorgungseinrichtungen jedoch zu 70% unter pH 4,0 und zu 20% über pH 5,0. Für die Untersuchung auf Enterobakteriaceen (n = 168) wurde ein Grenzwert von 10^2 KbE/g gewählt. Bei den Fleischerzeugnissen aus dem Einzelhandel lagen lediglich 10% nach 20 Stunden Lagerung bei Raumtemperatur über diesem Grenzwert. Bei den Fleischerzeugnissen aus den Alten- und Pflegeheimen lagen maximal 18,2% zur 20 Stunden Messung über diesem Grenzwert. Die Salatproben aus dem Einzelhandel lagen zum Zeitpunkt der 0, 2 und 4 Stunden Messung zu 80% über dem Grenzwert von 10^2 KbE/g, zum Zeitpunkt der 20 Stunden Messung zu 70%. Salatproben aus den Alten- und Pflegeheimen lagen zur 0 Stunden Messung zu 20% über dem Grenzwert, bei den anderen Messungen nur zu 10%. Dies kann mit den bereits oben beschriebenen pH-Werten des Salates oder mit der fakultativ anaeroben Lebensweise der meisten Enterobakteriaceen zusammenhängen. In allen durchgeführten Untersuchungen (n = 168) konnten keine *E. coli* nachgewiesen werden.

Übergreifend kann herausgestellt werden, dass die in Alten- und Pflegeheimen meist bessere und strengere Überwachung der Hygiene zu einer niedrigeren Ausgangskontamination beitragen kann. Ein deutlicher Anstieg der Keimzahlen nach einer Lagerung der Lebensmittel bei Raumtemperatur von über 4 Stunden zeigt das mögliche Gefahrenpotential auf. Sehr wichtig ist, dass, soweit akzeptiert, die Kühlkette eingehalten wird, und bei Salaten der pH-Wert möglichst unter 4,0 liegen sollte.

9 Summary

Microbiological examination of portioned meat products and ready-to-eat salads in kitchens of social institutions paying special respect to storage time and temperature

Between March 20th 2003 and February 2nd 2004, 41 samples were taken from 10 selected nursing homes and residential homes for the elderly and 10 retail shops, e.g. luncheonettes or butcher's shops. In each case, the objects of analysis were one meat product sample, consisting of commercially available cold cuts, and one salad sample with customary dressing. After sampling, the samples were arranged for consumption on cleaned and disinfected plates using sterilised instruments. After the first analysis, the samples were covered with aluminium foil. The subsequent examinations were carried out after 2, 4 and 20 hours storage at room temperature. The following criteria were determined: total microbial count, enterobacteriaceae count and *E. coli*. The microbiological methods of the Official Collection of Examination Methods according to §35 LMBG were used. Furthermore, the temperatures as well as the pH values of the salad samples were measured before taking out a piece of the samples prior to microbiological analysis.

The determination of the total microbial counts showed that 70% of the meat product samples (n = 168) from the retail shops lay above the microbiological limits of 10^6 KbE/g, which were chosen for this survey. On the contrary, only 9% of the meat product samples from the nursing homes analysed after 0, 2, and 4 hours exceeded the critical value, but after 20 hours a percentage of 45 was reached. For the analysis of the total microbial count of the salad samples a limit of 5.0×10^7 KbE/g, as recommended by the DGHM, was used. After 0, 2 and 4 hours storage only 10% of the samples taken in the retail shops lay above the limit, though after 20 hours already

60% of the samples exceeded the critical value. In case of the samples from the nursing homes, in average only 10% of the values determined after 0, 2 and 4 hours and 20% of the samples examined after 20 hours lay above the limiting value. The pH of the salad samples from the retail industry was between pH 4.0 and pH 5.0 at analysis after 0 and 20 hours in 70% of the samples and remained within these limits in 60% of the samples after 2 and 4 hours. In case of the samples from the nursing homes, though, 70% showed pH values beneath 4.0 and 20% values above 5.0. For the enterobacteriaceae counts a limit of 10^2 KbE/g was chosen. In case of the samples of cold cuts from the retail shops merely 10% lay above this limiting value after storage at room temperature for 20 hours. For the samples from the nursing homes, the maximum amount of samples exceeding the limit (18.2%) was determined at the analysis after 20 hours. At the time of the 0, 2 and 4 hour measurements 80% of the salad samples from the retail shops were above the value of 10^2 KbE/g, analysis after 20 hours resulted in 70% of the samples exceeding the limit. As far as the salad samples from the nursing homes are concerned, 20% were above the critical value at the time of the 0 hour measurement, only 10% exceeded the limits in the subsequent analyses. Reasons for this might be the already described low pH of the salad or the facultative anaerobic requirements of most of the enterobacteriaceae. In none of the samples (n = 168) *E. coli* could be detected.

In summary, it was clearly visible that the generally more intensive hygiene measures in canteen kitchens might lead to a lower initial contamination. The clear increase of the microbial count of food after storage of more than 4 hours at room temperature showed the possible risk potential. Therefore, it is very important to continuously store food at sufficiently low temperatures and, in the case of salad, to keep the pH beneath 4.0, if this is accepted by the consumers.

10 Anhang

10.1 Nährmedien

10.1.1 Medien zur Bestimmung der aeroben Gesamtkeimzahl bei +30,0 °C

Verdünnungslösung für die Erstverdünnung

Zusammensetzung

Pepton (Casein, tryptisch verdaut) (MERCK 107213) 1,0 g

Natriumchlorid, NaCl (MERCK 106404) 8,5g

Destilliertes Wasser ad 1000 ml

- Bestandteile in Wasser lösen
- Einstellen des pH-Wertes bei ca. 7,0
- Sterilisieren 15 min bei + 121,0°C

Verdünnungslösung für weitere Dezimalverdünnungen

Zusammensetzung

Pepton (Casein, tryptisch verdaut) (MERCK 107213) 1,0 g

Natriumchlorid, NaCl (MERCK 106404) 8,5g

Agar (MERCK 101613) 0,75 g

Destilliertes Wasser ad 1000 ml

- Bestandteile in Wasser lösen
- Einstellen des pH-Wertes bei ca. 7,0

- Verteilung von jeweils 9 ml in Verdünnungsröhrchen
- Sterilisieren 15 min bei + 121,0 °C

Nährboden

Plate-Count-Agar

(Caseinpepton-Glucose-Hefeextrakt-Agar)

Caseinpepton-Glucose-Hefeextrakt-Agar (Plate-Count-Agar) (MERCK 105463)

22,5 g

Destilliertes Wasser ad 1000 ml

- mischen und Bestandteile durch Kochen lösen
- abfüllen in 1000 ml Erlenmeyerkolben
- Sterilisieren 15 min bei + 121,0 °C

10.1.2 Medien zur Bestimmung von *Enterobacteriaceae*

Verdünnungslösung für die Erstverdünnung

Zusammensetzung

Pepton (Casein, tryptisch verdaut) (MERCK 107213) 1,0 g

Natriumchlorid, NaCl (MERCK 106404) 8,5g

Destilliertes Wasser ad 1000 ml

- Bestandteile in Wasser lösen
- Einstellen des pH-Wertes bei ca. 7,0

- Sterilisieren 15 min bei + 121,0 °C

Verdünnungslösung für weitere Dezimalverdünnungen

Zusammensetzung

Pepton (Casein, tryptisch verdaut) (MERCK 107213) 1,0 g

Natriumchlorid, NaCl (MERCK 106404) 8,5g

Agar (MERCK 101613) 0,75 g

Destilliertes Wasser ad 1000 ml

- Bestandteile in Wasser lösen
- Einstellen des pH-Wertes bei ca. 7,0
- Verteilung von jeweils 9 ml in Verdünnungsröhrchen
- Sterilisieren 15 min bei + 121,0 °C

Nährboden

VRBD-Agar

(Kristallviolett-Neutralrot-Galle-Glucose-Agar nach Mossel)

Kristallviolett-Neutralrot-Galle-Glucose-Agar nach Mossel (VRBD)

(MERCK 110275) 40 g

Destilliertes Wasser ad 1000 ml

- mischen und Bestandteile durch Kochen lösen
- abfüllen in 1000 ml Erlenmeyerkolben
- Einstellen des pH-Wertes bei ca. +45,0 °C auf ca. 7,4

- Der Nährboden darf nicht im Autoklaven sterilisiert werden und ist jeweils frisch herzustellen!

10.1.3 Medien zur Bestimmung von *E. coli*

Verdünnungslösung für die Erstverdünnung

Zusammensetzung

Pepton (Casein, tryptisch verdaut) (MERCK 107213) 1,0 g

Natriumchlorid, NaCl (MERCK 106404) 8,5g

Destilliertes Wasser ad 1000 ml

- Bestandteile in Wasser lösen
- Einstellen des pH-Wertes bei ca. 7,0
- Sterilisieren 15 min bei + 121,0 °C

Verdünnungslösung für weitere Dezimalverdünnungen

Zusammensetzung

Pepton (Casein, tryptisch verdaut) (MERCK 107213) 1,0 g

Natriumchlorid, NaCl (MERCK 106404) 8,5g

Agar (MERCK 101613) 0,75 g

Destilliertes Wasser ad 1000 ml

- Bestandteile in Wasser lösen
- Einstellen des pH-Wertes bei ca. 7,0
- Verteilung von jeweils 9 ml in Verdünnungsröhrchen

- Sterilisieren 15 min bei + 121,0 °C

Nährboden

ECD-Agar

(Escherichia-Coli-Direkt-Agar)

Escherichia-Coli-Direkt-Agar (ECD) (MERCK 104038) 53,1 g

Destilliertes Wasser ad 1000 ml

- Bestandteile in Wasser lösen
- Einstellen des pH-Wertes bei ca. 7,0
- Sterilisieren 15 min bei + 121,0 °C

Tryptophan-Bouillon (MERCK 110694)

- Bestandteile in Wasser lösen
- Sterilisieren 15 min bei + 121,0 °C

Kovacs-Indol-Reagenz (MERCK 109293)

10.2 Geräte und Hilfsmittel

Waagen

Laborwaage MC1 Typ LC 6200 D	SARTORIUS
Laborwaage Typ L 2200 P	SARTORIUS
Laborwaage BABA 200	SARTORIUS

Magnetrührer mit Heizplatte

Typ RCT	JANKE & KUNKEL	IKA-LABORTECHNIK
Typ RCH	JANKE & KUNKEL	IKA-LACORTECHNIK
Magnetrührwerk MR 2002		HEIDOLPH

Pipetten

Reference [®] fix 1000 µl	EPPENDORF
Reference [®] variabel 10-100 µl	EPPENDORF
Reference [®] variabel 100-1000 µl	EPPENDORF
Transferpipette 1000 µl	BRAND

Pipettenspitzen

Standartips 50 µl	EPPENDORF
Standartips 100 µl	EPPENDORF
Standartips 1000 µl	EPPENDORF

Pipettierhilfe

pipetus[®]-akku HIRSCHMANN

Dispensierhilfe

Dispensette[®] 0-10 ml BRAND

Reagenzgläser

Reagenzgläser 160x16 mm SCHOTT

Wattestopfen

STERI-Wattestopfen Nr. 14 SCHUBERT

Messzylinder

Messzylinder 20 ml BRAND

Messzylinder 100 ml BRAND

Messzylinder 500 ml BRAND

Messzylinder 1000 ml BRAND

Aufbewahrungsgefäße

Erlenmeyerkolben 100 ml MERCK

Erlenmeyerkolben 200 ml MERCK

Erlenmeyerkolben 500 ml MERCK

Erlenmeyerkolben 1000 ml MERCK

Aludeckel

Aludeckel Ø 8 cm MERCK

Aludeckel Ø 10 cm MERCK

Aludeckel Ø 13 cm MERCK

Kühlschränke

Kühl-Gefrier-Kombination Typ „Premium“ LIEBHERR

FKS 5000 Index 10C Typ 200071 LIEBHERR

Brutschränke

Typ B 6060 HERAEUS INSTRUMENTS

Typ B 6200 HERAEUS INSTRUMENTS

Typ B 6420 HERAEUS INSTRUMENTS

Autoklav

Tischautoklav Typ 3850EL TUTTNAUER SYSTEC

Hochdruckdampf-Sterilisator Typ 112 KSG STERILISATOREN GMBH

Petrischalen

sterile Petrischalen Nr. 100 WALDECK

Sicherheitsbrenner

Fireboy S 1000 TECNOMARA AG

Gasi Fabrik-Nr.: 94113 SCHÜTT

Sterilbank

Sterilbank BSB GELAIRE®

Mikrobank

Microbank™ Product Code PL.160

PRO-LAB DIAGNOSTICS

pH-Meter

pH 535 Miltical mit Temperaturabgleich

WTW

Handschuhe

Einmal-Handschuhe PE gehämmert

MERCK

Plastikbeutel

- sterile Kunststoffbeutel (Stomacher '400' Bags) SEWARD

Infrarottemperaturmesser

- Raynger ST

RAYTEK

11 Literaturverzeichnis

ABDUL-RAOUF, U. M., L. R. BEUCHAT, M. S. AMMAR (1993)

Survival and Growth of *Escherichai coli* O157:H7 in Ground, Roasted Beef as Affected by pH, Acidulants, and Temperature

Applied Environmental Microbiology 1993 Aug; p 2364-2368

ARBEITSKREIS LEBENSMITTELHYGIENISCHER TIERÄRZTLICHER SACHVERSTÄNDIGER (ALTS) (1991)

Mikrobiologische Richtwerte

Ergebnissprotokoll; Tagung vom 11.6 1991 bis 13.6 1991 in Berlin

BABEL, I (2001)

Die Spezifikation im deutschen Lebensmittelrecht – Sensorische, mikrobiologische und physikalisch-chemische Untersuchungen zur Beurteilung der Qualität von Fleischerzeugnissen in Herstellung und Handel

Diss. Vet.-med. LMU München

BACH, R. (2000)

Umsetzung der Lebensmittelhygieneverordnung unter Mitwirkung tierärztlicher Sachverständiger

Amtstierärztlicher Dienst und Lebensmittelkontrolle; 7, 266-272

BARTELS, H., H.J. KLARE, H.P. WÖHNER und W. HOSPER (1973)

Prüfung von Kunststoffschneidbrettern auf ihre Eignung in Fleisch verarbeitenden Betrieben

Fleischwirtschaft 53, 1071-1072

BAUMGART, J. (Hrsg.) (1993)

Mikrobiologische Untersuchung von Lebensmitteln

3. Auflage

Behrs Verlag, Hamburg

BECKER, B., B. TRIERWEILER, J. FECHLER, W.-H. HOLZAPFEL (2001)

Untersuchungen zum hygienischen Status von verschiedenen Kühltheken des Lebensmitteleinzelhandels bei gleichzeitiger Beschickung mit Fleisch, Fleischerzeugnissen sowie weiteren Lebensmitteln

Institut für Hygiene und Toxikologie der Bundesforschungsanstalt für Ernährung, Karlsruhe

Poster, Suhl 2004

BECKER, B., LOHNEIS, M., SHULER, S., MURPHY, J. (2004)

Mikrobiologische Qualität von fertigverpackten vorzerkleinerten Mischsalaten

Institut für Hygiene und Toxikologie der Bundesforschungsanstalt für Ernährung und Lebensmittel

Poster, Suhl 2004

BÖHME, T., B. TRIERWEILER, J. FECHLER, B. BECKER, W.E.L. SPIEß, W.-H.
HOLZAPFEL (1999)

Hygienischer Status von Bedienungskühltheken

Bundesministerium für Gesundheit (BMG) (Hrsg.)

Bundesforschungsanstalt für Ernährung (BFE)

Homepage des Bundesministeriums für Gesundheit und soziale Sicherung

BRAUN, R., J. MAYER (Autoren) (2002)

REICHE, TH., K. WUTZ (Hrsg.)

Praxishandbuch GV Hygiene in Großküchen

Behrs Verlag, Hamburg, Kapitel 3

BÜLTE, M. und A. STOLLE (1996)

Die Einsatzfähigkeit moderner mikrobiologischer Schnellmethoden zur Untersuchung
von Lebensmitteln tierischen Ursprungs

Fleischwirtschaft 69, 1459-1463

DOYLE M.P., N. J. BAINS, J. L. SCHOENI, and E. M. FOSTER (1982)

Fate of *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus* in meat salads prepared
with mayonnaise.

Journal of Food Protection 45:152-156

EISGRUBER, H. und A. STOLLE (2003)

Mikrobiologische Kriterien für Lebensmittel

Behrs Verlag Hamburg 1. Auflage , 20-25, 63-65

EL-KHATEIB, T. (1995)

Einfluß und Wechselwirkung von Temperatur, pH-Wert und Natriumchlorid

Fleischwirtschaft 75, 191-195

FEHLHABER, K. (1992)

Anforderungen an ein Lebensmittel

Lebensmittelverderb

In: FEHLHABER K. ET JAHNETSCHKE P.

Veterinärmedizinische Lebensmittelhygiene

Gustav Fischer Verlag, Jena, Stuttgart, 19-22, 126-137

FERRY, M. (1999)

Facteurs et déterminants des comportements alimentaires du sujet âgé -- aspects physiopathologiques et cliniques.

Nutrition et Vieillesse, ed. by M.C. Bertière, H. Payette, Y. Guigoz, and B. Vellas.

Edition Serdi 1999.

FISCHER A. (1988)

Produktbezogene Technologie – Herstellung von Fleischerzeugnissen

In: PRÄNDL, O., FISCHER, A., SCHMIDHOFER T. ET SINELL H.-J.

Handbuch der Lebensmitteltechnologie

Fleisch – Technologie und Hygiene der Gewinnung und Verarbeitung

Ulmer Verlag, Stuttgart, 488-494

GIACCONE, V., S. PARISI, E. PARISI, (1987)

Aufgeschnittene, vakuumverpackte italienische Roh- und Brühwürste – Mikrobiologische Vorgänge und Haltbarkeit

Fleischwirtschaft 67, 1032-1037

HARTIG, M. (1996)

Rechtliche Grundlagen für betriebliche Eigenkontrollen und HACCP-Anwendungen

Fleischwirtschaft 76, 1279-1282

HOFMANN, K. (1986)

Der pH- Wert – Ein Qualitätskriterium für Fleisch

In: Institut für Chemie und Physik; Bundesanstalt für Fleischforschung, Kulmbach (Hrsg.)

Chemisch- physikalische Merkmale der Fleischqualität

Kulmbacher Reihe, 6, 134-155

JAWETZ, E., J. L. MELNICK, E. A. ADELBERG (Hrsg.) (1977)

Medizinische Mikrobiologie

Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York

KNAUF, H. (1998)

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

Fleischwirtschaft 78, 312-314

KRIEG, B. (Hrsg.) (1990)

Chemie für Mediziner

De Gruyter Verlag, Berlin/New York, 5. Auflage, 98

LEISTNER, L., W. RÖDEL (1976)

Inhibition of micro-organisms in food by water activity

In: SKINNER, F. A., W. B. HUGO (eds.) Inhibition and Inactivation of Vegetative Microbes

Academic Press, New York-London-Toronto-Sydney-San Francisco

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, 1-29

MARRIOTT N. G. (1992)

Mikroorganismen und Hygiene

Grundlagen der Lebensmittelhygiene

Behrs Verlag, Hamburg, Seite 37-74

MONTVILLE, R., SCHAFFNER, D.W. (2004)

Statistical distributions describing microbial quality of surfaces and foods in food service operations.

Journal of Food Protection 2004 Jan;67(1):162-7.

PETERSON, W. L., P. A. MACKOWIAK, C. C. BARNETT, M. MARLING-CASON, M. L. HALEY (1989)

The human gastric bactericidal barrier: mechanisms action, relative antibacterial activity, and dietary influences

Journal of Infectious Diseases. 159:979-983

PRÄNDL, O., A. FISCHER, T. SCHMIDHOFER, H.J. SINELL, (Hrsg.) (1988)

Fleisch – Technologie und Hygiene der Gewinnung und Verarbeitung

Ulmer Verlag, Stuttgart

PRESSER, K. A., D. A. RATHOWSKY, T. ROSS (1997)

Modelling the growth rate of Escherichia coli as a function of pH and lactic acid concentration.

Applied Environmental Microbiology. 1997 Jun;63(6):2355-60.

PRESSER, K. A., D. A. RATHOWSKY, T. ROSS (1998)

Modelling the growth limits (growth/no growth interface) of Escherichia coli as a function of temperature, pH, lactic acid concentration, and water activity.

Applied Environmental Microbiology 1998 May;64(5):1773-9.

ROLLE, M. und MAYER, A. (Hrsg.) (1993)

Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre

Enke Verlag, Stuttgart, 6. Auflage

SAGOO, SK., CL. LITTLE, RT. MITCHELL (2003)

Microbiological quality of open ready-to-eat salad vegetables: effectiveness of food hygiene training of management.

Journal of Food Protection 2003 Sep;66(9):1581-6.

SCHMIDHOFER, T. (1988)

Untersuchungsmethoden

In: PRÄNDL, O., FISCHER, A., SCHMIDHOFER T. ET SINELL H.-J.

Handbuch der Lebensmitteltechnologie

Fleisch – Technologie und Hygiene der Gewinnung und Verarbeitung

Ulmer Verlag, Stuttgart, 679-753

SCHREITER, M. (1981)

Mikrobiologie des Fleisches und der Fleischerzeugnisse

in: Münch H.-D., Saupe, C., Wegner, K., Zickrick, K.

Mikrobiologie tierischer Herkunft – Eine Einführung

Deutsch, Leipzig

SHELEF, L. A. (1994)

Antimicrobial effects of lactates: a review

Journal of Food Protection 57:445-450

SINELL, H.-J. (1985)

Mikrobiologische Normen in Lebensmitteln aus hygienischer Sicht

Fleischwirtschaft 65, 672-677

SINELL, H.-J. (2004)

Einführung in die Lebensmittelhygiene

Parey Verlag, Berlin und Hamburg, 3. Auflage

STIEBING, A. (1999)

Reifen und Lagern senken Keimzahl – Untersuchung zur Überlebensfähigkeit von EHEC in rohen Fleischerzeugnissen

Fleischwirtschaft 79, 52-53

STOJANOWIC, V., R. FLEMMIG (1988)

Untersuchungen zur Mindesthaltbarkeit von vorverpacktem Kochschinkenaufschnitt aus dem Handel

Fleischwirtschaft 68, 958-963

TERPLAN, G. (1969)

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

Habil. Vet. med. Gerhard Röttger Verlag, München

ULLRICH, K., W. JAKSCH, E. GLAWISCHNIG (1985)

Grundriss der speziellen Pathologie und Therapie der Haustiere

Enke Verlag, Stuttgart, 11. Auflage, Band 1

WALSER, P., S. PFENNINGER, CH. SPINNER (2001, Teilrevision 2004)

Chemische Konservierungsmittel in Lebensmitteln

Projektgruppe Konservierungsmittel

Schweizerisches Lebensmittelbuch, Kapitel 44, 1-5

WIESNER, E., RIBBECK, R. (Hrsg.) (1991)

Wörterbuch der Veterinärmedizin

Fischer Verlag, Stuttgart, Jena, 3. Auflage

Rechtsvorschriften, Gesetze, Normen und Empfehlungen

AMTLICHE SAMMLUNG VON UNTERSUCHUNGSVERFAHREN NACH § 35

LMBG (1984)

Untersuchung von Lebensmittel, Methode L 06.00 – 19:

Bestimmung der aeroben Keimzahl bei +30,0 °C in Fleisch und Fleischerzeugnissen,

Tropfplattenverfahren

Beuth Verlag, Berlin

AMTLICHE SAMMLUNG VON UNTERSUCHUNGSVERFAHREN NACH § 35

LMBG (1987)

Untersuchung von Lebensmittel, Methode L 06.00 – 25:

Bestimmung von Enterobakteriäzen in Fleisch, Tropfplattenverfahren

Beuth Verlag, Berlin

AMTLICHE SAMMLUNG VON UNTERSUCHUNGSVERFAHREN NACH § 35

LMBG (1996)

Untersuchung von Lebensmittel, Methode L 06.00 – 36:

Bestimmung von *Escherichia coli* in Fleisch und Fleischerzeugnissen (Fluoreszenz-optisches Koloniezählverfahren unter Anwendung von Membranfiltern – Spatelverfahren)

Beuth Verlag, Berlin

Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM) (1992)

Warnwerte für Salate.

Lebensmitteltechnik 35, 5, 12-13

GESETZ ÜBER DEN VERKEHR MIT LEBENSMITTELN, TABAKERZEUGNISSEN,
KOSMETISCHEN MITTELN UND SONSTIGEN BEDARFSGEGENSTÄNDEN

(Lebensmittel- und Bedarfsgegenstände- Gesetz – LMBG)

i. d. F. vom 9. September 1997

Bundesgesetzblatt 1, 2296

LEBENSMITTELHYGIENE- VERORDNUNG (LMHV)

Vom 5. August 1997

Bundesgesetzblatt 1, 2008

Schweizerische Verordnung über die hygienisch-mikrobiologischen Anforderungen
an Lebensmittel, Gebrauchs- und Verbrauchsgegenstände vom 14.09.1991

VERORDNUNG ÜBER DIE KENNZEICHNUNG VON LEBENSMITTELN

(Lebensmittel-Kennzeichnungs-Verordnung– LMKV)

i. d. F. vom 6. September 1984

Bundesgesetzblatt 1, 1221

Verordnung (EG) NR. 852/2004 des europäischen Parlaments und des Rates vom
29. April 2004 über Lebensmittelhygiene

12 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Mikrobiologische ALTS-Richtwerte, modifiziert nach BABBEL 2001

Tabelle 2: Rechtliche Grundlagen für betriebliche Eigenkontrollen

Tabelle 3: Anzahl der Fleischerzeugnisse aus dem Einzelhandel mit Gesamtkeimzahlen über 10^6 und deren Durchschnittswerte

Tabelle 4: Anzahl der angekauften Salatproben mit Gesamtkeimzahlen über 5×10^7 und deren Durchschnittswerte

Tabelle 5: Anzahl der Fleischerzeugnisse aus Versorgungseinrichtungen mit Gesamtkeimzahlen über 10^6 und deren Durchschnittswerte

Tabelle 6: Anzahl der Salatproben aus Versorgungseinrichtungen mit Gesamtkeimzahlen über 5×10^7 und deren Durchschnittswerte

Tabelle 7: Anzahl der Fleischerzeugnisse aus dem Einzelhandel mit einem Enterobakteriazeengehalt über 10^2 und deren Durchschnittswerte

Tabelle 8: Anzahl der angekauften Salatproben mit einem Enterobakteriazeengehalt über 10^2 und deren Durchschnittswerte

Tabelle 9: Anzahl der Fleischerzeugnisse aus Versorgungseinrichtungen mit einem Enterobakteriazeengehalt über 10^2 und deren Durchschnittswerte

Tabelle 10: Anzahl der Salatproben aus Versorgungseinrichtungen mit einem Enterobakteriazeengehalt über 10^2 und deren Durchschnittswerte

Tabelle 11: pH-Werte der Salatproben und ihre Verteilung

Tabelle 12: Proben mit Wachstum, deren pH-Werte und Durchschnittskeimzahlen

13 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Untersuchungsschritte

Abbildung 2: Bestimmung der aeroben Gesamtkeimzahl bei +30,0 °C

Abbildung 3: Bestimmung von *Enterobacteriaceae*

Abbildung 4: Bestimmung von *E. Coli*

Abbildung 5: Ergebnis der Untersuchung der Fleischerzeugnisse aus dem Einzelhandel

Abbildung 6: Verlauf der durchschnittlichen Gesamtkeimzahl der Fleischerzeugnisse aus dem Einzelhandel

Abbildung 7: Untersuchung der angekauften Salatproben auf ihre Gesamtkeimzahl

Abbildung 8: Verlauf der durchschnittlichen Gesamtkeimzahl der angekauften Salatproben

Abbildung 9: Untersuchung der Fleischerzeugnisse aus Versorgungseinrichtungen auf ihre Gesamtkeimzahl

Abbildung 10: Verlauf der durchschnittlichen Gesamtkeimzahl der Fleischerzeugnisse aus Versorgungseinrichtungen

Abbildung 11: Untersuchung der Salatproben aus Versorgungseinrichtungen auf ihre Gesamtkeimzahl

Abbildung 12: Verlauf der durchschnittlichen Gesamtkeimzahl der Salatproben aus Versorgungseinrichtungen

Abbildung 13: Verlauf des durchschnittlichen Gehalts an Enterobakteriazeen in Fleischerzeugnissen aus dem Einzelhandel

Abbildung 14: Verlauf des durchschnittlichen Gehalts an Enterobakteriazeen in angekauften Salatproben

Abbildung 15: Verlauf des durchschnittlichen Gehalts an Enterobakteriazeen in Fleischzeugnisse aus Versorgungseinrichtungen

Abbildung 16: Verlauf des durchschnittlichen Gehalts an Enterobakteriazeen in Salatproben aus Versorgungseinrichtungen

Abbildung 17: pH-Werte der angekauften Salatproben

Abbildung 18: pH-Werte der Salatproben aus Versorgungseinrichtungen

Abbildung 19: Verlauf der durchschnittlichen Temperatur zu den Probenahmezeitpunkten

14 Danksagung

Abschließend möchte ich mich bei **Herrn Prof. Dr. Andreas Stolle** für die Überlassung des Themas, die jederzeit gewährte Unterstützung, die freundliche Aufnahme am Institut und die Korrektur dieser Arbeit bedanken

Mein besonderer Dank gilt **Herrn Dr. Michael Bucher** für die kompetente und überaus freundliche Betreuung, die Korrektur meiner Arbeit sowie für Rat und Hilfe während der gesamten Erstellung.

Frau Dr. Sonja Forster danke ich für die Beratung und die Korrektur der Datenauswertung.

Mein Dank gilt weiterhin **Frau Dr. B. Sperner**, die mir bei der Korrektur der Arbeit und der Übersetzung der Zusammenfassung ins Englische stets sehr hilfsbereit mit Rat und Tat zur Seite gestanden hat.

Nicht zuletzt möchte ich **Frau H. Dietz, Frau C. Wendt da Cruz, Frau S. Holzmann, Frau I. Fitzek, Frau U. Scheffler und Frau A. Fendel** ganz herzlich für die Geduld, die nette Atmosphäre, und die jederzeit gewährte Hilfe im Bereich der Mikrobiologie bedanken.

Ganz besonders möchte ich meinen **Eltern** danken, die mir durch ihre Unterstützung überhaupt erst mein Studium und dieses Projekt ermöglicht haben und mir immer hilfreich zur Seite standen. Ein Dankeschön geht auch an meine **Freundin Anja**, die mich, wo immer möglich, sehr unterstützt hat.

15 Lebenslauf

Name: Michael Georg Schlegel
Adresse: Stoßäckerstr.37
70563 Stuttgart
Mobil: 01727515010

Geboren: 05.10.1975 in Stuttgart
Staatsangehörigkeit: deutsch
Familienstand: ledig
Eltern: Jörg Bruno Schlegel und Linda Schlegel

Schulbildung:

1982-1986 Pestalozzischule Stuttgart Rohr, Grundschulabschluss
1986-1996 Hegel-Gymnasium Stuttgart-Vaihingen, Abitur 1996

Beruflicher Werdegang

1997-2003 Studium der Tiermedizin an der LMU München
14.02.2003 Abschluss mit Approbation zum Tierarzt
17.02.2003 Beginn der Doktorarbeit am Institut für Hygiene und
Technologie der Lebensmittel tierischen Ursprungs
Seit 01.04.2003 Nichtvollbeschäftigter Fleischkontrolleur am Schlacht-
und Viehhof München