

Wissenschaftliche Einrichtungen Veterinary Public Health
Institut für Fleischhygiene und –technologie
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Modell-Untersuchungen zum Verhalten von *Salmonella* Typhimurium
auf Fleischoberflächen unter verschiedenen Temperatur- und
Zeitbedingungen und unter Berücksichtigung der Konkurrenzmikroflora

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Vera Kyselova
Tierärztin
aus Hlinsko/ Tschechische Republik

Berlin 2009

Journal Nr.: 3294

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. L. Brunnberg
Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. R. Fries
Zweiter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. G. Hildebrandt
Dritter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. L. H. Wieler

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

meat hygiene, psychrotrophic bacteria, *Salmonella* Typhimurium,
Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis, microbial contamination,
temperature, cooling, sampling, bacterial count

Tag der Promotion: 24.09.2009

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <<http://dnb.ddb.de>> abrufbar.

ISBN: 978-3-86664-696-4

Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2009

Dissertation, Freie Universität Berlin

D 188

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdruckes und der Vervielfältigung des Buches, oder Teilen daraus, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen, usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürfen.

This document is protected by copyright law.

No part of this document may be reproduced in any form by any means without prior written authorization of the publisher.

alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© mensch und buch verlag 2009

choriner str. 85 - 10119 berlin

verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

Meinen Eltern

In Liebe und Dankbarkeit

Inhalt

1.	Einleitung	1
2.	Literatur	2
2.1.	Kühlverfahren und mikrobiologische Untersuchungen zur Kühlung und zum Transport von Tierkörperhälften	2
2.1.1.	Das Kühlen	2
2.1.1.1.	Kühlverfahren	3
2.1.1.2.	Kühlagerung	5
2.1.2.	Transport	7
2.2.	Mikrobiologischer Status von Frischfleisch	9
2.3.	Bakterielle Lebensmittelvergiftungen durch Frischfleisch	13
2.3.1.	Salmonellose	13
2.4.	Rechtsvorschriften zur Kühlung und zum Transport von Fleisch	15
2.5.	Metabolismus von Mikroorganismen	16
2.5.1.	Faktoren des mikrobiellen Metabolismus	16
2.6.	Allgemeine Wachstums- und Vermehrungsbedingungen für Mikroorganismen	18
2.6.1.	Temperatur	18
2.6.2.	pH-Wert	21
2.6.3.	a_w -Wert	22
2.7.	<i>Salmonella</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> und <i>Bacillus subtilis</i> als mikrobiologische Taxa	24
2.7.1.	<i>Salmonella</i>	24
2.7.2.	<i>Staphylococcus aureus</i>	26
2.7.3.	<i>Bacillus subtilis</i>	27
3.	Eigene Untersuchungen	29
3.1.	Material	29
3.1.1.	Arbeitsmaterial	29
3.1.2.	Die Testkeime	29
3.1.3.	Medien	30
3.2.	Methodik	30
3.2.1.	Grundtechniken	30
3.2.1.1.	Identifizierung der Teststämme	30
3.2.1.2.	Verfahren zur Bestimmung der Keimzahl (quantitativ)	31
3.2.2.	Anwendung	32
3.2.2.1.	Herstellung der 18 h Kulturen (Teststämme)	32
3.2.2.2.	Zusammensetzung und Herstellung der Keimmischungen für die Beimpfung der Fleischoberflächen	32
3.2.2.3.	Ermittlung der mikrobiologischen Assoziationen auf den zu prüfenden Fleischoberflächen	34
3.2.3.	Labortechnische Einflussnahme auf die Oberfläche	35
3.2.4.	Aufarbeitung der Oberflächen und Auswertung der Ergebnisse nach dem labortechnischen Eingriff	36
3.2.4.1.	Feststellung der GKZ auf den beprobten Oberflächen	36
3.2.4.2.	Ermittlung der gewachsenen <i>Salmonella</i> -Kolonien ("Rohwerte"), <i>Staphylococcus</i> - und <i>Bacillus</i> -Kolonien	36

3.2.4.3.	Der resultierende Tagesansatz	38
4.	Ergebnisse	40
4.1.	Ergebnisse der Probenvorbereitung und Verifizierung der Auftragung	44
4.1.1.	Ausgangsbesiedlung auf den Fleischoberflächen	44
4.1.2.	Die Testkeime	45
4.1.3.	Die resultierende Keimmischung	46
4.2.	Quantitativer Keimstatus vor und nach der vorgesehenen technischen Behandlung	51
4.2.1.	GKZ vor dem jeweiligen technischen Eingriff	51
4.2.2.	GKZ nach dem jeweiligen technischen Eingriff	53
4.3.	Ergebnisse der Untersuchungen auf <i>Salmonella</i> unter den gewählten Lagerungsbedingungen	58
4.3.1.	Ergebnisse der qualitativen Untersuchungen	58
4.3.1.1.	<i>Salmonella</i> in niedriger Konzentration	58
4.3.1.2.	<i>Salmonella</i> in hoher Konzentration	59
4.3.2.	Ergebnisse der quantitativen Untersuchungen	61
4.3.2.1.	<i>Salmonella</i> in niedriger Konzentration	61
4.3.2.2.	<i>Salmonella</i> in hoher Konzentration	63
4.3.3.	Berechnete MPN – Werte	65
4.3.3.1.	Niedrige <i>Salmonella</i> Zahlen	65
4.3.3.2.	Hohe <i>Salmonella</i> Zahlen	66
4.4.	Quantitative Ergebnisse nach den labortechnischen Eingriffen im Einzelnen	67
4.5.	Ergebnisse zur aufgetragenen Begleitflora	92
5.	Diskussion und Schlussfolgerungen	97
5.1.	Die Zielsetzung	97
5.2.	Material und Methodik	97
5.2.1.	Probenmaterial	97
5.2.2.	Temperatur und pH-Wert des Fleisches	97
5.2.3.	Eingesetzte Methodik	98
5.2.4.	Teststämme	99
5.2.5.	Labortechnische Einflussnahme auf die Oberfläche	99
5.3.	Qualitative Untersuchungen	100
5.3.1.	<i>Salmonella</i> in niedriger Konzentration	100
5.3.2.	<i>Salmonella</i> in hoher Konzentration	100
5.4.	Quantitative Untersuchungen (MPN)	101
5.5.	Vergleich der quantitativen Untersuchungen für beide <i>Salmonella</i> - Konzentrationen und der GKZ vor- und nach dem labortechnischen Eingriff	102
5.5.1.	Dynamik der Keimflora bei 30 °C	102
5.5.2.	Dynamik der Keimflora bei 15 °C	102
5.5.3.	Dynamik der Keimflora bei 10 °C	107
5.5.4.	Dynamik der Keimflora bei 7 °C	107
5.6.	Die Begleitflora	116
5.7.	Schlussfolgerungen	117

6.	Zusammenfassung	118
7.	Summary	119
8.	Literaturverzeichnis	120
9.	Anhang A	129
9.1.	Medien für die Grundansätze nach Kapitel 3.2.1.	129
9.1.1.	Standard-I- Nähragar	129
9.1.2.	Blutagar	129
9.1.3.	Hirn-Herz-Bouillon (BHI- Brain Heart Infusion)	129
9.1.4.	NaCl-Pepton	130
9.2.	Morphologische und biochemische mikrobiologische Tests	130
9.2.1.	Gram-Färbung	130
9.2.2.	KOH Test	131
9.2.3.	Anaerocult® A	131
9.2.4.	Voges- Proskauer (VP) Medium	131
9.2.5.	Harnstoff-Agar nach Christensen	132
9.2.6.	BBL Enterotube II 273176	132
9.2.7.	Eisen Dreizucker Agar (TSI- Triple Sugar Iron Agar)	133
9.2.8.	L-Lysin-Decarboxylase-Medium	134
9.2.9.	Indol-Reaktion	134
9.2.10.	Enteroclon Anti-Salmonella I (A-E)	135
9.2.11.	Bactident® Oxidase Test	135
9.2.12.	DNase- Testagar	135
9.2.13.	Bactident® Coagulase	136
	Anhang B	137
9.3.	Ergebnisse der Untersuchungen	137
9.3.1.	Einzelwerte der Ergebnisse aus dem Ergebnissteil 4.1.2	137
9.3.2.	Zusammensetzung der Keimmischung und analytisch ermittelte Einzelwerte der Teststämme für die Herstellung der resultierenden Keimmischung der Ergebnisse aus dem Ergebnissteil 4.1.3	138
9.3.3.	Einzelwerte der Ergebnisse aus dem Ergebnissteil 4.1.3.1.	141
9.3.4.	Einzelwerte der Ergebnisse aus dem Ergebnissteil 4.2.1.	142
9.3.5.	Einzelwerte der Ergebnisse aus dem Ergebnissteil 4.2.2.	148
9.3.6.	Einzelwerte der Ergebnisse aus dem Ergebnissteil 4.5.	154
	Danksagung	160
	Selbständigkeitserklärung	161

Abkürzungen

Abb.	Abbildung
ATCC	American Type Culture Collection
a _w -Wert	Activity of water (Wasseraktivität)
B.	Bacillus
BfR	Bundesinstitut für Risikobewertung
bzw.	beziehungsweise
C.	Campylobacter
°C	Grad Celsius
ca.	circa
cm ²	Quadratcentimeter
DFD	Dark Firm Dry
d.h.	das heißt
E.	Escherichia
et al.	et alii
Fa.	Firma
g	Gramm
GKZ	Gesamtkeimzahl
h	Stunde
Hsg.	Herausgeber
KbE	Koloniebildende Einheiten
KOH	Kaliumhydroxid
log	Logarithmus zur Basis 10
max.	maximal
min.	minimal
ml	Milliliter
MPN	Most Probable Number
NaCl	Natriumchlorid
Nr.	Nummer
RKI	Robert-Koch-Institut
S.	<i>Salmonella</i>
St.	Staphylococcus
SCVPH	Scientific Committee on Veterinary Measures relating to Public Health
Tab.	Tabelle
u.a.	unter anderem
VO	Verordnung
z.B.	zum Beispiel
%	Prozent
§	Paragraph
Ø	Durchschnitt
∑	Summe
±	plus-minus
+	plus
-	minus
<	kleiner
>	größer

1. Einleitung

Die Salmonellose des Menschen ist die klassische zoonotische Lebensmittelinfektion. Salmonellen sind weltweit verbreitet und haben eine große epidemiologische und somit auch wirtschaftliche Bedeutung. Deshalb spielen hygienische Maßnahmen zur Verbesserung der Fleisch- und Lebensmittelhygiene eine große Rolle.

Der Oberflächenkeimgehalt von Fleisch wird als Indikator für die Betriebshygiene oder als Maß für die Qualität und die Haltbarkeit des Fleisches sowie dessen Erzeugnisse angesehen. Kühlung ist ein zentraler Punkt zur Aufrechterhaltung der Hygiene und Qualität von Frischfleisch.

Die rechtlichen Grundlagen für die Kühlung von Tierkörpern nach der Fleischgewinnung sind im Kapitel VII (Anhang III, Besondere Anforderungen, Abschnitt I) der VO (EG) 853/ 2004 festgelegt. Bei der dort geforderten Temperatur von + 7 °C ist die Hygiene durch das Sistieren der Stoffwechselforgänge bei zahlreichen Keimen gewährleistet. Dieser Wert orientiert sich am Metabolismus der Keime, die auf Fleisch als relevant angesehen werden. Die rechtlich fixierte Obergrenze von + 7 °C bei der Kühlung von Schlachttierkörpern ist häufig Gegenstand von (Rechts-) Auseinandersetzungen, wenn Überschreitungen festgestellt werden.

Die Überwachung von Lebensmitteln muss sich auf naturwissenschaftliche Daten stützen. So ist von Interesse, wieweit sich die in dieser Phase auftretende Zoonoseerreger – sofern vorhanden – vermehren können. Als Vertreter wurde *Salmonella* gewählt. Allerdings ist nur wenig über die quantitative Verteilung von *Salmonella* bekannt.

Zielsetzung der vorliegenden Arbeit war es, die Entwicklung von experimentell aufgebrachten *Salmonella* Typhimurium auf der Fleischoberfläche bei verschiedenen Temperaturen und Zeiten darzustellen. Es wurden zwei Szenarien zugrunde gelegt, eine geringe und eine hohe quantitative Besiedlung mit Salmonellen.

Zu berücksichtigen ist auch, dass auch die Begleitflora einen Einfluss auf den Metabolismus eines Keimes ausüben kann. Daher wurde auch eine Begleitflora experimentell verwendet. Eingesetzt wurden hierfür die Mikrobenarten *Staphylococcus aureus* und *Bacillus subtilis*.

Die Fragestellungen diese Arbeit waren somit wie folgt:

1. Wie verhalten sich Salmonellen quantitativ auf der Fleischoberfläche bei Kühltemperaturen (7 °C)?
2. Wie verläuft die Vermehrung von Salmonellen bei höheren Temperaturen?
3. Wird das Verhalten von Salmonellen durch die Begleitflora beeinflusst?

2. Literatur

2.1. Kühlverfahren und Einflüsse mikrobiologischer Untersuchungen zur Kühlung und zum Transport von Tierkörpern

2.1.1. Das Kühlen

Die Anwendung von Temperaturen des Kühl- und Gefrierbereiches auf Fleisch und Fleischerzeugnisse erfolgt zu dem Zweck, mikrobielle Reaktionen zu verlangsamen oder vollständig zum Stillstand zu bringen. Dies wird bei Kühltemperaturen erreicht, auch wenn kältetolerante Mikroorganismen sich bei niedrigen Temperaturen noch vermehren können (ZRENNER und HAFFNER 1999). Deshalb sollte die Kühlkette möglichst nicht oder nur kurz unterbrochen werden. Die Haltbarkeitsdauer eines Lebensmittels ist umso kürzer, je höher der Anfangskeimgehalt ist.

Das bakterielle Wachstum auf der Fleischoberfläche wird von der Temperatur und dem Feuchtigkeitsgehalt der oberflächlichen Gewebeschichten des Fleisches (a_w -Wert) entscheidend beeinflusst. Eine gute Schlacht- und Produktionshygiene hat neben gesundheitlichen Aspekten auch eine wirtschaftliche Bedeutung. Nach ZRENNER und HAFFNER (1999) sollen Fleischoberflächen zuerst mit niedrigerer relativer Luftfeuchtigkeit (85-90 %) und erhöhter Luftgeschwindigkeit (1-4 m/sec.) mäßig und erwünscht abtrocknen. Um größere, unerwünschte Gewichtsverluste zu vermeiden sowie die mikrobielle Aktivität effektiv unter Kontrolle zu halten, sollte danach mit höherer relativer Luftfeuchtigkeit (90-95 %) und geringerer Luftgeschwindigkeit (0,1-0,3 m/sec.) gefahren werden. Tabelle 2.1 gibt Kombinationen für Temperatur- und Luftfeuchtigkeiten wieder.

Im Bereich des Nullpunktes kann sich die Generationszeit von Mikroorganismen auf mehrere Tage ausdehnen. Bei diesen Temperaturen setzen aber auch schon Absterbe-Vorgänge ein. Die Kühlung und das Gefrieren von Lebensmitteln üben auf Inhaltstoffe und Struktur der Lebensmittel sowie auf das Verhalten der Mikroorganismen unterschiedliche Effekte aus. Daraus resultieren auch verschiedene Haltbarkeiten (SINELL 1992). Tab. 2.2 gibt Beispiele minimaler Wachstumstemperatur wieder.

Tabelle 2.1: Erwünschtes Verhältnis von Temperatur und Luftfeuchtigkeit bei der Kühlung frischen Fleisches (ZRENNER und HAFFNER 1999)

Kühlraumtemperatur °C	max. relative Luftfeuchtigkeit %
+ 4	75
+ 3	78
+ 2	81
+ 1	85
± 0	90
- 1	90

Tabelle 2.2: Minimale Wachstumstemperatur bei einigen Mikroorganismen (SINELL 1992)

	Genus bzw. Spezies	Minimale Wachstumstemperatur °C
Pathogene bzw. potentiell pathogene Keime	<i>Salmonella</i>	5,3
	<i>Yersinia enterocolitica</i>	0
	<i>Listeria monocytogenes</i>	1 bis 3
	<i>Staphylococcus aureus</i>	6,7 und 10*
	<i>Clostridium perfringens</i>	6,5
	<i>Bacillus cereus</i>	7
Index- und Indikatorkeime	<i>Escherichia coli</i>	8 bis 10
	<i>Enterococcus faecalis</i>	± 0
Verderbniserreger	<i>Bacillus subtilis</i>	12
	<i>Lactobacillus spp.</i>	1
	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	- 3
	Hefen	- 12

* Enterotoxinbildung

2.1.1.1. Kühlverfahren

a) Schnellkühlung, einphasiges Schnellkühlverfahren

Das schlachtwarm eingebrachte Fleisch soll in einer Phase auf Kerntemperaturen von etwa +4 °C oder weniger gekühlt werden (ZRENNER und HAFFNER 1999). Die Kühldauer beim Schwein beträgt ca. 12 bis 16 h (WENZEL et al. 1984). Technisch werden Kühl tunnel oder Schnellkühlkammern benutzt. Ziel ist es, die das Wachstum fördernde Feuchtigkeit der Fleischoberflächen möglichst rasch zu beseitigen und die Kühldauer bis zur Transportfähigkeit des Fleisches zu verkürzen. Die Kühlung ist jedoch zeitlich so zu steuern, dass vor Eintritt der Totenstarre nach der Schlachtung die Fleischtemperaturen nicht unter 10 °C erreicht werden, da sich sonst die Muskelfasern unumkehrbar verkürzen ("cold shortening") und das Fleisch zäh bleibt. Beim Schwein tritt die Totenstarre nach etwa 2 - 4 Stunden, beim Rind nach etwa 10 - 14 Stunden ein (ZRENNER und HAFFNER 1999). Vollständig eingetreten ist die Totenstarre nach BEUTLING (2004) beim Schwein nach etwa 4 - 7 Stunden post mortem, beim Rind nach 15 - 24 Stunden. Die Auflösung der durch die Totenstarre verursachten Erstarrung der Muskulatur erfolgt beim Schwein nach etwa 60 h, beim Rind nach 14 Tagen (BEUTLING 2004).

b) Zweiphasige Schnellkühlung (Schockkühlung)

Bei diesem Verfahren werden die Tierkörper teile in einem Durchlauftunnel gekühlt.

Phase 1: Die Raumtemperatur beträgt -5 bis -8 °C (manchmal auch bis - 12 °C) für Schweine, zwischen -3 °C und -5 °C für Rinder. Die Tierkörper teile werden bei hoher relativer Luftfeuchtigkeit bis auf eine Oberflächentemperatur von - 1 °C gekühlt (HEINZ et al. 1977; ZRENNER und HAFFNER 1999).

Die Durchlaufzeit bei Schweinen beträgt 1,5 h, bei Rindern 3 h (FEHLHABER und JANETSCHKE 1992). Nach etwa zwei Stunden müssen die Temperaturen erhöht werden (Gefahr des Anfrierens).

Phase 2: Die Raumtemperatur beträgt ± 0 °C bis +2 °C. Es kommt zu einem Temperatúrausgleich zwischen äußeren und inneren Fleischschichten, bis die innere Temperatur von etwa +4 °C erreicht ist (HEINZ 1977; ZRENNER und HAFFNER 1999). Nach WENZEL et al. (1984) handelt es sich um eine wirksame Oberflächenkühlung mit hoher Luftgeschwindigkeit, wodurch eine ausreichende Abtrocknung in kürzerer Zeit erreicht wird. Der Kälteschock führt zu zeitweiligem oder völligem Verlust der Vermehrungsfähigkeit der Mikroflora auf der Oberfläche (STOLLE 2004).

c) Intensiv-Schnellstkühlung (FEHLHABER und JANETSCHKE 1992)

Die Raumtemperatur (Tunneltemperatur) beträgt -25 °C bis -30 °C. Diese Kühlmethode wird ausschließlich für Schweine eingesetzt. Die Durchlaufzeit beträgt 1,2 bis 1,5 h. Das Fleisch wird an der Oberfläche bis zu einer Tiefe von ca. 5 mm gefroren. Anschließend wird das Fleisch in Ausgleichsräume bei ca. 4 – 6 °C für mindestens 8 h gebracht.

SMITH (1995) untersuchte die Auswirkung von Kühlung und Gefrieren auf das Wachstum von *E. coli* und *Salmonella* Typhimurium. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass Bakterienzellen in der frühen Wachstumsphase am anfälligsten gegen Kühlung und Einfrierung sind. Zusatz von Magnesium zu dem Nährmedium bewirkte, dass nach der Kühlung (0 °C) sowie Einfrierung (-30 °C) eine größere Anzahl an Bakterienzellen überlebte als ohne Magnesiumzusatz.

CHANG et al. (2003) verglichen die konventionelle Kühlung (1 bis 4 °C/ 18 - 24 h, bei Luftgeschwindigkeit von 0,457 - 0,914 m/s) und eine "Blast-Kühlmethode" (-20 bis -40 °C/ 1 – 3 h, bei Luftgeschwindigkeit von 3,05 – 4,88 m/s) miteinander. Hierbei wurden Schweinekörperhälften mit pathogenen Keimen kontaminiert (*Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* Typhimurium und *Campylobacter coli*). Bei nicht vollzogener Kühlung war für alle untersuchten Stämme eine höhere Keimbelastung zu beobachten. Die Effektivität der konventionellen Kühlung sowie der "Blast-Kühlmethode" auf die mikrobielle Keimzahl zeigt Tab. 2.3.

Die gram-positiven Bakterien (wie z.B. *Listeria monocytogenes*) waren weniger empfindlich gegen Kühlung als gram-negative Bakterien (wie z. B. *S. Typhimurium*, *C. coli* und *E. coli*). Die "Blast-Kühlmethode" war deutlich effektiver als die konventionelle Kühlung, denn diese Methode bewirkte eine rasche Abkühlung, wodurch ein "Kälteschock" erzielt wurde.

CARR et al. (1998) haben die Auswirkung der konventionellen Kühlung (2°C/ 24 h) und Schockkühlung (-10 °C bis -25 °C/ 45 - 60 min., gefolgt von einer Kühlung bei 2 °C/ 23 h) auf Schweinekörperhälften getestet. Das Trimmen von ungekühltem Fleisch hatte keine Auswirkungen auf die Mikroflora (aerobe GKZ, *Lactobacillus*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, Coliforme). Bei beiden Methoden wurde eine aerobe Gesamtkeimzahl von 5,5 log/cm² ermittelt. Von insgesamt 60 getesteten Proben war nur eine Probe *Salmonella*-positiv. Zur Reduzierung von *Lactobacillus*, *Staphylococcus* sowie Coliformen hat sich die Schockkühlung am effektivsten erwiesen.

Tabelle 2.3: Bakterienpopulationen auf Schweineoberflächen unter verschiedenen Kühlbedingungen (CHANG et al. 2003)

Keime	Kühlarten	KbE/ cm ²			
		Geringe Inokulation (mit Haut)	Geringe Inokulation (ohne Haut)	Hohe Inokulation (mit Haut)	Hohe Inokulation (ohne Haut)
Aerobe GKZ	ungekühlt	3,65 ± 0,29	3,43 ± 0,34	5,41 ± 0,16	5,50 ± 0,34
	Blast	2,23 ± 0,78	2,64 ± 0,30	3,31 ± 0,35	3,27 ± 0,19
	konventionell	1,34 ± 0,13	2,26 ± 0,31	3,76 ± 0,31	3,78 ± 0,38
Coliforme	ungekühlt	2,39 ± 0,17	1,78 ± 0,14	4,90 ± 0,16	4,60 ± 0,09
	Blast	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,93 ± 0,71	1,20 ± 0,11
	konventionell	0,00 ± 0,00	0,75 ± 0,13	2,18 ± 0,11	1,29 ± 0,31
E. coli	ungekühlt	2,06 ± 0,23	1,46 ± 0,32	4,40 ± 0,24	4,39 ± 0,16
	Blast	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,49 ± 0,53	0,88 ± 0,11
	konventionell	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	1,22 ± 0,13	1,10 ± 0,32
Listeria monocytogenes	ungekühlt	3,30 ± 0,03	3,31 ± 0,09	5,70 ± 0,14	5,79 ± 0,07
	Blast	2,95 ± 0,06	3,13 ± 0,07	5,03 ± 0,13	5,18 ± 0,06
	konventionell	3,16 ± 0,04	3,23 ± 0,06	5,19 ± 0,12	5,40 ± 0,10
Salmonella Typhimurium	ungekühlt	3,29 ± 0,10	3,73 ± 0,13	5,75 ± 0,07	5,77 ± 0,12
	Blast	2,46 ± 0,11	2,71 ± 0,11	4,61 ± 0,12	4,46 ± 0,16
	konventionell	2,62 ± 0,04	2,80 ± 0,12	4,71 ± 0,02	4,64 ± 0,17
Campylobacter coli	ungekühlt	3,23 ± 0,12	3,09 ± 0,05	5,08 ± 0,08	5,18 ± 0,08
	Blast	1,30 ± 0,00	1,30 ± 0,00	1,81 ± 0,15	1,63 ± 0,27
	konventionell	1,30 ± 0,00	1,30 ± 0,00	2,13 ± 0,07	2,06 ± 0,11

2.1.1.2. Kühlung

Durch Kühlen allein kann die Vermehrung von Verderbnis- und Krankheitserregern zwar verlangsamt, aber nicht verhindert werden (STOLLE 2004).

Um Fleisch frisch zu halten, soll die Raumtemperatur ständig zwischen – 1 °C und + 2 °C liegen. Im Kühlraum sollen eine geringe Luftbewegung und eine hohe relative Luftfeuchtigkeit vorliegen, um ein Abtrocknen der ungeschützten Fleischoberflächen zu vermeiden. Die Fleisch-Gewebestruktur der einzelnen Tierarten beeinflusst die Lagerungszeitspanne, in der die Reifung erfolgt und begrenzt die Haltbarkeitsdauer bei der Kühlung. Bei Schweinefleisch ist die Lagerungszeitspanne wesentlich kürzer als bei Rindfleisch (ZRENNER und HAFFNER 1999). In Tab. 2.4 sind Angaben zu Lagerfähigkeit frischen Fleisches wiedergegeben.

Jedes verderbliche Lebensmittel muss beim Verkauf eine Haltbarkeitsreserve aufweisen. Dabei handelt es sich um die Lagerzeit in Tagen, die ein Produkt bis zum ersten Auftreten sinnfällig wahrnehmbarer Verderberscheinungen ab dem Zeitpunkt des Verpackens besitzt (STOLLE 2004).

Tabelle 2.4: Durchschnittliche Lagerfähigkeit frischen Fleisches unter Kühlagerungsbedingungen (ZRENNER und HAFFNER 1999)

Fleischart	Raumtemperatur 0 – 2 °C relative Luftfeuchtigkeit 85 – 90%
Rindfleisch (Hälften, Viertel)	3 – 4 Wochen
Kalbfleisch (ganze Tierkörper)	1 - 3 Wochen
Hammelfleisch (ganze Tierkörper)	1 - 2 Wochen
Schweinefleisch (Hälften)	10 – 14 Tagen
Innereien	3 Tage

Kontinuierliches Kühlen und Vermeiden sekundärer Verunreinigung können Haltbarkeit und Dauer der Kühlagerung verlängern.

HOOPER-KINDER et al. (2002) haben das Wachstum von *E. coli*, *S. Typhimurium* und *L. monocytogenes* in DFD Rinder-Hackfleisch bei 10 °C und 22 °C untersucht. Verglichen wurde die Anfälligkeit auf Verderbsbakterien zwischen dem "normalen" (pH-Wert von 5,64) und dem DFD (pH-Wert von 6,45). Folgende Kombinationen wurden getestet: 100 % DFD-Fleisch, 50 % DFD-Fleisch (Mischung 1 : 1), 0 % DFD (100 % "normales" Fleisch). Die Beprobung erfolgte nach 0, 48, 96 und 144 Stunden bei einer Lagertemperatur von 10 °C. Bei allen drei Keimen wurden nur geringe Unterschiede zwischen den verschiedenen Hackfleisch-Kombinationen festgestellt. Tab. 2.5 gibt das Wachstum von *S. Typhimurium* bei einer Lagertemperatur von 10 °C wieder.

Tabelle 2.5: Wachstum von *S. Typhimurium* in 50 % und 100 % DFD Rinderhackfleisch bei 10 °C, Daten logarithmiert (HOOPER-KINDER et al. 2002)

Zeit/ h	GKZ pro g Rinderhackfleisch			
	0	48	96	144
0 % DFD	2,45	3,70	7,23	7,91
50 % DFD	2,45	3,96	6,57	8,43
100 % DFD	2,49	4,42	6,80	7,95

BYUN et al. (2003) haben die Entwicklung mehrerer bakteriologischer Parameter bei Kühltemperaturen von 0 ± 1 °C und 4 ± 1 °C auf Rind- und Schweinefleisch getestet. Unter anderem wurde die Entwicklung der GKZ und der psychrotrophen Keimzahl dargestellt. Den Verlauf der Keimzahlen unter verschiedenen Bedingungen gibt für Rindfleischoberflächen die Tab. 2.6 und für Schweinefleischoberflächen die Tab. 2.7 wieder.

Tabelle 2.6: Mikrobielle Besiedlung auf Rindfleisch bei Lagerung unter verschiedenen Temperaturen (BYUN et al. 2003), Daten logarithmiert

Temperatur (°C)	Lagerung (Tage)										
	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	22
GKZ (KbE/cm²)											
0	2,34	2,88	2,90	3,37	4,27	5,49	5,32	6,00	6,98	7,41	8,71
4	2,34	2,91	3,18	4,88	5,35	7,24	7,79	-	-	-	-
Psychrotrophe Keime (KbE/cm²)											
0	2,46	3,10	3,48	4,08	5,13	5,31	5,34	6,49	6,75	7,15	8,42
4	2,46	3,78	3,88	5,72	6,51	7,45	8,02	-	-	-	-

Tabelle 2.7: Verlauf der Keimzahl auf Schweinefleisch bei Lagerung unter verschiedenen Temperaturen (BYUN et al. 2003), Daten logarithmiert

Temperatur (°C)	Lagerung (Tage)										
	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	22
GKZ (KbE/cm²)											
0	2,06	2,90	3,13	3,50	4,73	4,88	6,09	6,42	6,98	7,71	8,11
4	2,06	3,00	3,16	4,94	5,41	6,11	7,31	-	-	-	-
Psychrotrophe Keime (KbE/cm²)											
0	2,81	3,26	2,30	4,18	5,72	5,96	6,50	6,58	7,00	7,68	8,55
4	2,81	3,26	3,86	5,02	5,64	6,79	7,73	-	-	-	-

2.1.2. Transport

Oft liegt das Problem der steigenden Keimbelastung nicht nur bei der stationären Kühlung, sondern auch bei den Temperaturen während des Transports. Beim Befördern von frischem Fleisch sowie leichtverderblichen Fleischerzeugnissen müssen daher die vorgeschriebene Temperatur und andere Hygienevorschriften eingehalten werden. Die Kühlkette darf während des Transportes nicht unterbrochen werden.

Neben der Kontrolle der Fleischtemperatur beim Be- und Entladen ist bei längeren Transporten auch eine Kontrolle der Temperatur im Laderaum während des Beförderns erforderlich (ZRENNER und HAFFNER 1999).

BABEL et al. (2001) prüften die Oberflächen von Tierkörperhälften vom Schwein mittels Stanzproben. Die Hälften wurden einerseits schlachtwarm transportiert bzw. nach einer stationären Kühlung (Kontrollgruppe) kurz transportiert (Transport 20 Minuten bei ± 0 °C). Während des Untersuchungsablaufs kam neben konventioneller Kühlung ein Kühlsystem zur Anwendung, das auf dem gleichmäßigen Auftragen von Wasser mittels Nebelkühlungskabinen während des Kühlvorgangs beruht.

Der Transport der schlachtwarmen Tierkörperhälften erbrachte vor und nach dem Transport eine gleich bleibende Keimbelastung von $10^4 - 10^5$ KbE/cm². Das stationäre Kühlen erbrachte Werte um $10^4 - 10^6$ KbE/cm² vor dem Transport und danach ebenfalls Werte zwischen 10^4 und 10^6 KbE/cm². Das beschriebene Nebelkühlverfahren erbrachte $10^2 - 10^3$ KbE/cm² vor dem Transport und 10^4 KbE/cm² nach dem Transport (Tab 2.8).

Tabelle 2.8: Mittelwerte von Keimzahlen bei unterschiedlichen Kühlbedingungen vor und nach dem Transport [KbE/cm²] (BABBEL et al. 2001)

Gruppe	GKZ		Enterobakteriazeen	
	vor Transport	nach Transport	vor Transport	nach Transport
schlachtwarmer Transport	10 ⁴ - 10 ⁵	10 ⁴ - 10 ⁵	0 - 10 ³	0 - 10 ³
stationäre Kühlung (Kontrollgruppe)	10 ⁴ - 10 ⁶	10 ⁴ - 10 ⁶	0 - 10 ⁴	0 - 10 ⁴
Nebel-Kühlverfahren	10 ² - 10 ³	10 ⁴	10 ¹ - 10 ²	0 - 10 ²

Je nach Transport-Temperatur ist die Generationszeit von Salmonellen unterschiedlich lang. Das SCVPH (1999) hat die Keimbelastung von gekühltem Fleisch bei Transporttemperaturen untersucht und Daten zusammengestellt. Tab. 2.9 zeigt die Generationszeit bei verschiedenen Temperaturen nach einem 8-stündigen Transport. Mit dem Sinken der Temperatur verlängert sich die Generationszeit der Salmonellen. Bis zu einer Temperatur von 18°C stiegen die Keimzahlen an, danach sanken sie auf die Ausgangskeimzahl ab.

Tabelle 2.9: Generationszeit von *Salmonella* auf Rinderschlachtkörpern nach einem 8-stündigen Transport bei verschiedenen Temperaturen bei einer Ausgangskonzentration an Salmonellen von 10 KbE/ cm² (SCVPH 1999)

Temperatur °C	Generationszeit (Minuten)
22	50
20	70
18	100
16	130 – 160
15	174
14	190 – 250
12	300 – 400
10	600 – 700
7	Kein Wachstum

Tab. 2.10 zeigt ein Beispielhaft, wie lange es bei verschiedenen Temperaturen dauert, bis die Salmonellen-Konzentration von 1 auf 10 KbE/ cm² ansteigt.

Tabelle 2.10: Zeitdauer, in der eine Verzehnfachung der Salmonellen-Konzentration (Rindfleischoberfläche) bei verschiedenen Temperaturen stattfindet, Angaben in Stunden (Auszug, SCVPH 1999)

Temperatur /°C	5	7	10	12	14	16	18	20
Salmonellen-Verzehnfachung in Stunden	N.Z.	N.Z.	27	16	10	6,4	4,5	3,2

N. Z.: nicht zutreffend, nur begrenzte Daten vorhanden

Die Untersuchungen wurden mit USDA Pathogen Modelling Program, Version 5.1, bei pH-Wert von 6,8, NaCl-Konzentration von 0,9 durchgeführt. Das steigende Gesundheitsrisiko für die Menschen wurde nicht miteinbezogen.

2.2. Mikrobiologischer Status von Frischfleisch

Die Körperflora der Schlachttiere bestimmt ganz wesentlich die Zusammensetzung und die Entwicklung der Fleischmikroflora. Die Mikroflora auf frisch gewonnenen Schlachttierkörpern besteht einerseits aus Keimgruppen, die aus der originären Mikroflora der Tiere stammen, andererseits aus der Mikroflora der Betriebe einschließlich der Körperflora des Personals (WEBER 1996).

Nicht immer sind Mikroorganismen in der Lebensmittelhygiene unerwünscht, verleihen sie doch vielen Produkten durch ihre Stoffwechselaktivität charakteristische Eigenschaften und können deren originäre Mikroflora beeinflussen. Die Nutzung von Mikroorganismen (z.B. bei Herstellung von Rohwurst und anderen fermentierten Pökelfleischerzeugnissen) ist ein wichtiger Zweig der Lebensmittelmikrobiologie (KLEER 2004). Im Allgemeinen aber ist mikrobielle Kontamination in Lebensmitteln unerwünscht oder schädlich.

Die initiale Kontamination sowie die einwirkenden technologischen Faktoren prägen die Mikroflora eines Produktes (SINELL 1992). Dabei entsteht ein "mikrobiologisches Profil", das für viele Produktgruppen charakteristisch ist. Man spricht von mikrobiellen Assoziationen, wie zum Beispiel der Pseudomonas-Acinetobacter-Moraxella-Assoziation auf den Oberflächen von frischem Fleisch und von Organen von warmblütigen Schlachttieren. Dies sind gram-negative psychrotrophe Organismen, die für den initialen Verderb bei Kühltemperaturen typisch sind.

Zu den unerwünschten Mikroorganismen gehören (potentiell) pathogene Erreger, die die Gesundheit der Konsumenten gefährden, und saprophytäre Keime, die die Haltbarkeit und sensorische Eigenschaften des Lebensmittels einschränken (UPMANN 1996).

Tab. 2.11 gibt eine Übersicht potentiell pathogener Mikroorganismen und toxinogener Bakterienspezies wieder.

Tabelle 2.11: Potentiell pathogene und toxinogene Bakterienspezies auf oder in Fleisch
(WEBER 1996)

Gram-negative Keime	1. <i>Salmonella</i> ^{t)}
	2. <i>Escherichia coli</i> und andere <i>Enterobacteriaceae</i> ^{p)}
	3. <i>Campylobacter jejuni/ coli</i> ^{t)}
	4. <i>Yersinia enterocolitica</i>
	5. <i>Pseudomonas</i> spp. ^{p)}
	6. <i>Aeromonas</i> spp.
Gram-positive Keime	1. <i>Staphylococcus aureus</i> ^{p)}
	2. <i>Listeria monocytogenes</i>
	3. <i>Clostridium perfringens</i> A ^{p)}
	4. <i>Bacillus cereus</i> , <i>subtilis</i> ^{p)} , <i>licheniformis</i> , <i>pumilus</i>
	5. <i>Clostridium botulinum</i> ^{t)} , <i>novyi</i> , <i>sordellii</i> ^{p)} , <i>perfringens</i> ^{t)}
	6. <i>Streptococcus</i> A ^{t)}

p) : potentiell pathogene Bakterienspezies

t) : toxinogene Bakterienspezies

SINELL (1992) beschrieb die Wichtigkeit der Lagertemperaturen. Bei offener Lagerung mit abnehmender Wasseraktivität sorgten Bazillen, Hefen und Schimmelpilze für den Verderb des Fleisches. Bazillen, Mikrokokken und Enterobakteriaceen beherrschten das Bild der mikrobiellen Tätigkeit auf Oberflächen bei mittleren Lagertemperaturen, bei denen sich Salmonellen bereits in den allerersten Stadien der Lagerung besonders gut vermehrten.

Die hygienische Behandlung von Lebensmitteln in Verarbeitung, Lagerung und Transport wird durch Prüfung auf Anwesenheit und Anzahl von Indikator-Organismen überwacht. Als Indikator zur Beurteilung der Lagerfähigkeit und Verderbnisanfälligkeit eignen sich psychrotrophe Pseudomonaden und die Familie der *Enterobacteriaceae* (UPMANN 1996).

Kontamination des Fleisches kann sowohl prä- als auch postmortal erfolgen. Prämortale Belastungen können bei Schlachttieren zur Translokation von Mikroorganismen aus den besiedelten Körperregionen – wie z.B. dem Darm oder von infizierten lokalen Herden in die normalerweise keimfreien Organe und Muskulatur führen. ALTER (1999) und FEHLHABER (2000) haben zu prämortalen Belastungen bei Schlachtschweinen Untersuchungen durchgeführt. ALTER (1999) hat den Einfluss spezifischer Stressoren auf die Serumbakterizidie im Fleischsaft untersucht. Außerdem prüfte er den Einfluss der Stressoren auf die hämolytische Komplementaktivität und die bakteriziden Faktoren des Fleischsaftes. Die Ergebnisse zeigten, dass prämortale Belastungen zur Beeinträchtigung der Serumbakterizidie führen und die immunologischen Faktoren in der Muskulatur nach der Schlachtung noch einige Stunden wirksam bleiben. Ihre Wirksamkeit jedoch rasch innerhalb von 10 bis 20 Stunden verloren. FEHLHABER (2000) hat die mikrobiellen Folgen prämortaler Belastungen bei Schlachtschweinen beschrieben und festgestellt, dass bei gestressten Tieren die Keimabwehrleistung reduziert ist.

Gemäß Fleischhygieneverordnung ist eine Verunreinigung des Tierkörpers durch Magen-Darm-Inhalt bei allen Schlachttierarten grundsätzlich zu vermeiden. Der Enddarm sollte bei Rind stets mit einer Hülle verschlossen werden (Bagging). Beim Rind ist die Speiseröhre von der Luftröhre zu lösen und zu verschließen (Rodding). Bei zu großem Abstand des Ringes vom Pansen kann sich die Speiseröhre bis zum Verschluss mit regurgitiertem Panseninhalt füllen. Infolgedessen wird sie an dieser Stelle stark gedehnt und kann bei Entnahme des Magen-Darm-Paketes leicht einreißen (SCHÜTT-ABRAHAM 1999).

GILL und NEWTON (1980) prüften die Oberflächen von Rindfleisch unter aeroben und anaeroben Bedingungen bei 25 °C (3 d) und 30 °C (24 d). Alle zum Anfang vorhandenen Keime waren am Ende der Untersuchung noch vorhanden. *S. Typhimurium* wurde in Anwesenheit von Verderbsflora weder bei 20 °C noch bei 30 °C unterdrückt.

SCHÜTT-ABRAHAM und THRAN (1999) beschrieben als Schwerpunkt der Beanstandungen (Schweinefleischgewinnung) fehlende und unzureichende Ausstattung mit Einrichtungen zur Reinigung und Desinfektion der Hände und Arbeitsgeräte. Ein weiterer Punkt ist der Kontakt zwischen Tierkörpern oder Organen und Einrichtungsgegenständen oder gegenseitiges Berühren der Tierkörper vor Abschluss der Fleischuntersuchung.

SAIDE-ALBORNOZ et al. (1995) untersuchten die Kontamination von Fleischoberflächen sowie von entbeinten Fleischteilen von Schweinekörpern während der Fleischgewinnung, Verarbeitung und Kühlung. Es wurden insgesamt 15 Schlachttierkörper vom Schwein aus 3 verschiedenen Schlachthöfen untersucht. Insgesamt wurden fünf pathogene Keime isoliert, am häufigsten *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* und *Listeria monocytogenes*, seltener *Yersinia enterocolitica* und *Clostridium perfringens*. Die Untersuchungen ergaben hoch signifikante ($P= 0,039$) Anstiege von *Staphylococcus aureus* von der Schlachtung bis zum Zerlegen (Tab.2.5 von A bis C). In vakuumverpacktem Fleisch (36 Tage/ 2 °C) wurden *L. monocytogenes* und *Yersinia enterocolitica* gefunden. Salmonellen wurden nach 36 Tagen Lagerung bei 2 °C nicht gefunden (SAIDE-ALBORNOZ et al. 1995).

Die Tab. 2.12 gibt die prozentuelle Darstellung der fünf positiv isolierten Keime von Schweinefleisch und Fleischoberflächen während der Fleischgewinnung, Verarbeitung und Kühlung wieder.

Tabelle 2.12: Mikroflora auf Fleischoberflächen in Prozent (SAIDE-ALBORNOZ et al. 1995)

	Fleischoberflächen (Schinken- und Lendenbereich) ^b			entbeintes Lendenfleisch	
	Abflammen (%)	Letzte Waschreinigung (%)	24 h Kühlagerung (%)	Vor der Verpackung ^c (%)	36 Tage Lagerung bei 2 °C ^d (%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	4,4	7,4	12,6	2,6	4,4
<i>Salmonella spp.</i>	4,4	1,1	0,4	0,7	-
<i>Listeria monocytogenes</i>	1,5	1,9	1,9	-	4,4
<i>Yersinia enterocolitica</i>	-	0,4	-	-	4,4
<i>Clostridium perfringens</i>	-	-	-	0,7	-

^b Prozentsatz Isolate von 270 Proben (Schinken- und Lendenoberflächen)

^c Prozentsatz Isolate von 135 Proben (Lendenbereich)

^d Prozentsatz von 45 isolierten Proben (Lendenbereich)

- negativ (kein Befund)

Die Kontamination der Oberflächen der Tierkörper kann durch Abflammen beeinflusst werden. THIELKE et al. (2002) untersuchten den mikrobiologischen Status von Schweine-Schlachttierkörpern vor und nach dem Abflammen. Es wurde festgestellt, dass die GKZ durch den Abflammprozess reduziert wurde, es nach der abschließenden Bürstenwäsche jedoch wieder zu einem Anstieg der GKZ kam. Salmonellen wurden nach dem Abflammen nicht nachgewiesen.

BOLTON et al. (2003) prüften die Temperatur-Grenzen im Brühwasser, die zur Reduzierung von Salmonellen notwendig sind. Die Brühwasserproben wurden aus dem Brühtank eines kommerziellen Schlachthofs entnommen. Es wurden zwei unterschiedliche Kombinationen mit verschiedenen *Salmonella*-Serovaren hergestellt. Das Brühwasser wurde in Wasserbädern bei 50 °C, 55 °C und 60 °C jeweils für 20 min. erhitzt. Bei jeder getesteten Temperatur wurden vor dem Erhitzen aus dem Brühwasser zwei Proben entnommen und jeweils mit einer *Salmonella*-Kombination beimpft. Anschließend wurden die so beimpften Proben abgekühlt und das Vorhandensein von Salmonellen untersucht. Es wurde festgestellt, dass eine Zeit-Temperatur-Kombination von 1,4 min. bei 60 °C erforderlich war um eine Salmonellenreduktion von 1 log im Brühtankwasser zu erzielen.

UPMANN (1996) untersuchte die mikrobiologische Belastung von Schweinefleisch vor und nach dem Zerlegeprozess unter Berücksichtigung des Kontaminationsgrades der Betriebseinrichtung. Die Zahl der Enterobacteriaceae lag überwiegend an oder unterhalb der Nachweisgrenze von 1,6 log (Fleisch) bzw. 1,3 log Kbe/cm² (Betriebseinrichtung). Es wurde ein Einfluss der Umgebungs- bzw. Raumtemperatur auf die Oberflächenkeimzahl der Einrichtungsgegenstände und des Fleisches ermittelt. Die Untersuchungen ergaben einen höheren Oberflächenkeimgehalt des zur Zerlegung anstehenden Fleisches. Dies spricht für eine höhere Keimbelastung des Fleisches in den Prozessschritten, die der Zerlegung vorausgehen. Eine nachteilige Beeinflussung der Oberflächenkeimzahlen von Fleisch und Betriebseinrichtung durch die vorgeschriebenen Temperaturen von 7 °C und 12 °C wurde nicht nachgewiesen.

GILL und BRYANT (1992) untersuchten den Keimstatus von Schweinefleisch während der verschiedenen Fleischgewinnungsphasen in drei Schlachtbetrieben mit unterschiedlicher Produktionskapazität. Auf den Oberflächen der Schlacht tierkörper wurden nach dem Brühen hauptsächlich gram-positive Keime nachgewiesen (10³ Kbe/ cm²), nach Entborsten waren es hauptsächlich gram-negative Keime (10⁴ Kbe/ cm²). Tabelle 2.13 gibt die Ergebnisse wieder.

Tabelle 2.13: Kontamination der Fleischoberfläche an verschiedenen Positionen während der Fleischgewinnung (Auszug) (GILL und BRYANT 1992)

Oberfläche	Betrieb	GKZ/ cm ²	Zusammensetzung (%)			
			Micrococcus	Staphylococcus	Bacillus	Enterobac.
Haut	A	10 ² - 10 ⁴	15 - 42	0 - 29	2 - 7	< 1 - 3
	B	10 ² - 10 ⁴	22 - 64	0 - 24	2 - 10	1 - 10
	C	10 ⁴	68 - 97	0 - 7	-	< 1
Fett	A	10 ²	41	-	-	8
	B	10 ³	41	-	-	3
	C	10 ²	30	-	-	-
Serosen	A	10 ² - 10 ³	28 - 38	< 1 - 2	-	8 - 9
	B	10 - 10 ³	43 - 91	-	-	1
	C	10 ² - 10 ³	36 - 98	-	-	< 1 - 2

-: kein Nachweis

A und B: Betriebe mit 300 – 500 Tierkörperproduktion/ Tag, Brühwassertemperatur: 60 °C für 6,5 min.

C: Betrieb mit 20 – 80 Tierkörperproduktion/ Tag, Brühwassertemperatur: 63 – 66 °C für 2 – 3 min.

2.3. Bakterielle Lebensmittelvergiftungen durch Frischfleisch

Lebensmittelvergiftungen sind akute Erkrankungen des Menschen, die nach dem Verzehr von Lebensmitteln auftreten und durch Bakterien, ihre Toxine oder bakteriell gebildete Abbauprodukte von Lebensmittelbestandteilen verursacht werden. Sie werden in zwei Gruppen untergliedert (FEHLHABER und JANETSCHKE 1992; SINELL 1992; KRÄMER 1997):

- Lebensmittelinfektionen werden von invasiven Bakterien und deren Vermehrung im Körper hervorgerufen. Typische Vertreter dieser Gruppe sind z.B. *Brucella*, *Campylobacter jejuni*.

- Lebensmittelintoxikationen werden durch toxinbildende Bakterien ausgelöst, unabhängig davon, ob die Toxine in Lebensmitteln präformiert oder erst im Darm des Menschen produziert werden. Typische Vertreter dieser Gruppe sind Endotoxin-bildende Bakterien, die als Lipopolysaccharide natürliche Komponenten der Zellwand gramnegativer Bakterien sind, oder Exotoxin-bildende Bakterien, die bereits im Lebensmittel (z.B. durch *Staphylococcus aureus* und *Clostridium botulinum*) oder erst im Menschen (z. B. durch *Clostridium perfringens*) gebildet werden.

- Toxi-Infektionen werden definiert als Erkrankungen, die mit dem Erscheinungsbild einer Intoxikation einhergehen, d.h. es treten Symptome der Vergiftung auf, kombiniert mit denen der Infektion. Die Grenze zwischen Infektion und Intoxikation ist nicht immer eindeutig, denn viele Mikroorganismen produzieren Toxine und sind gleichzeitig invasiv. Das gilt für z.B. Enteritis-erregende Salmonellen, Shigellen, enteropathogene *Escherichia coli* oder *Vibrio cholerae*.

Bakterielle Gastroenteritiden zählen zu den häufigsten in Deutschland gemeldeten Infektionskrankheiten, die hauptsächlich durch kontaminierte Nahrungsmittel übertragen werden. Die klassische Lebensmittelinfektion ist die Salmonellose (SINELL 1992). Gefährdet sind Personen, die häufigen Umgang mit Tieren und tierischen Produkten haben (KRAUSS et al. 1997). Salmonellose zählt zu den am häufigsten gemeldeten lebensmittelbedingten Infektionen (JANSEN et al. 2005).

Bei den Schlachttieren treten die meisten Zoonoseerreger latent auf. Prämortale Schlachttierbelastungen kommen vor allem z. B. beim Transport zum Schlachthof vor. Beispielsweise konnten im Rahmen eines 1996 durchgeführten bundesweiten *Salmonella*-monitorings bei 6,2 % der gesund erscheinenden und tauglich beurteilten Schlachtschweine Salmonellen gefunden werden (FEHLHABER 2000).

2.3.1. Salmonellose

Im Infektionsepidemiologischen Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2004 sind die Zahlen der Meldungen für die Salmonellose seit 1992 stark rückläufig (JANSEN et al. 2005). Salmonellose ist aber weiterhin die am häufigsten gemeldete lebensmittelbedingte Infektion. An erste Stelle werden *S. Enteritidis* und *S. Typhimurium* genannt, gefolgt von *S. Infantis* (Tab. 2.14) (RKI 2005).

Tabelle 2.14: Übermittelte *Salmonella*-Infektionen in den Jahren 2001 bis 2006 mit den häufigsten Serovaren von *S. enterica* (RKI 2005, RKI 2007)

	Erreger	2001 ¹⁾	2002 ¹⁾	2003 ¹⁾	2004 ¹⁾	2005 ²⁾	2006 ²⁾
	Salmonellen*	77.084	72.425	63.066	56.947	52.257	52.319
Häufigste Serovare	S. Typhimurium	16.299	12.454	12.106	11.272	-	-
	S. Enteritidis	46.797	49.461	42.050	36.529	-	-
	S. Infantis	770	568	532	750	-	-

1): RKI, Stand: 01. 03. 2005

2): RKI, Stand: 17. 01. 2007

* : alle *Salmonella*-Serovare

- : keine Angaben

Laut Zoonosetrendbericht des BfR (2004) ist nach wie vor bei humanen Erkrankungsfällen *S. Enteritidis* die häufigste Ursache für Salmonellosen mit 67 % (2002: 68 %), gefolgt von *S. Typhimurium* mit 19 % (2002: 17 %) der Salmonellen-Fälle. Die höchste altersspezifische Inzidenz zeigte sich wie in den Vorjahren bei Säuglingen, Kleinkindern und Kindern (BfR 2004).

Bei Schweinen in Deutschland wurde am häufigsten die Serovar *S. Typhimurium* nachgewiesen (116 von 139 *Salmonella*- positive Herden/ Gehöften im Jahr 2003). *S. Enteritidis* wurde bei Schweinen nur in wenigen Fällen nachgewiesen (BfR 2004).

Im Jahr 2004 wurden 1.991 Salmonellose-Ausbrüche mit insgesamt 8.430 Fällen an das Robert-Koch-Institut (RKI) übermittelt. Am häufigsten wurden *S. Enteritidis* und *S. Typhimurium* genannt. Von den durch die Studie erfassten Lebensmitteln zeigte der Verzehr von rohem Schweinehackfleisch, Zwiebelmettwurst und kurzfermentierter Rohwurst einen signifikanten Zusammenhang mit der Erkrankung (JANSEN et al. 2005).

Im selben Jahr (2004) stellte *S. Typhimurium* bei humanen Erkrankungen mit 21 % aller Isolate und über 10.000 Erkrankungen die zweithäufigste nachgewiesene Serovar dar. Häufigste nachgewiesene Serovar war *S. Enteritidis* mit 67 % aller Isolate und über 36.000 Erkrankungen (BfR 2006).

Im Jahr 2005 war die Salmonellose nach der *Campylobakter*-Enteritis die am zweithäufigsten übermittelte Erkrankung. Die häufigsten Serovare von *Salmonella enterica* waren *S. Enteritidis* (68 %), gefolgt von *S. Typhimurium* (25 %) (RKI 2006).

Im Mittel aller Bakteriologischen Untersuchungen (BU) bei Schlachttieren ergaben im Jahr 2005 in 0,72 % der Proben positive Salmonellenbefunde (2004: 0,73 %) (BfR 2007).

Bei den Mitteilungen über die bakteriologischen Untersuchungen im Rahmen der Fleischuntersuchungen ergaben die BU-Ergebnisse bei Rindern in 0,49 % der Proben positive Salmonellen (2004: 0,62 %) und bei Schweinen in 0,96 % der Proben positive Salmonellen (2004: 0,91 %). Es wurde überwiegend *S. Typhimurium* isoliert (BfR 2007).

Im Jahr 2006 wurde wieder *S. Enteritidis* mit einem Anteil von 43,94 %, gefolgt von *S. Typhimurium* mit einem Anteil von 24,81 % am häufigsten diagnostiziert. Diese beiden Serovaren bestimmen seit Jahren das epidemiologische Geschehen in Deutschland (RKI 2007).

2.4. Rechtsvorschriften zur Kühlung und zum Transport von Fleisch

Die rechtlichen Grundlagen zur Kühlung sind im Kapitel VII (Anhang III, Besondere Anforderungen, Abschnitt I, Fleisch von als Haustiere gehaltenen Huftieren) der VO (EG) 853/ 2004 niedergelegt:

- “1. a) Sofern in anderen spezifischen Vorschriften nichts anderes bestimmt ist, muss das Fleisch unverzüglich nach der Fleischuntersuchung im Schlachthof in allen Teilen gekühlt werden, um eine Temperatur sicherzustellen, die im Falle von Nebenprodukten der Schlachtung 3 °C und im Falle von sonstigem Fleisch 7 °C nicht übersteigt, und zwar nach einer Abkühlungskurve, die eine kontinuierliche Temperatursenkung gewährleistet.
Fleisch darf jedoch während des Abkühlens (...) zerlegt und entbeint werden.
b) Während der Kühlung muss eine angemessene Belüftung gewährleistet sein, um die Bildung von Kondenswasser auf der Fleischoberfläche zu verhindern.
2. Fleisch muss auf 7 °C Kerntemperatur (im Falle von Nebenprodukten der Schlachtung 3 °C) abgekühlt werden, die während der Lagerung beibehalten werden muss.
3. Fleisch muss vor der Beförderung auf 7 °C (im Falle von Nebenprodukten der Schlachtung 3 °C) abgekühlt werden, die während der Beförderung beibehalten werden muss. Allerdings kann die Beförderung mit Genehmigung der zuständigen Behörde auch durchgeführt werden, (...), wenn
 - a) dieser Transport (...) von einem gegebenen Betrieb zu einem anderen erfolgt und
 - b) das Fleisch den Schlachthof oder Zerlegungsraum, (...), unmittelbar verlässt und der Transport nicht mehr als zwei Stunden dauert.“

Die rechtlichen Grundlagen zur Zerlegungs- und Entbeinungshygiene sind im Kapitel V (Anhang III, Besondere Anforderungen, Abschnitt I, Fleisch von als Haustiere gehaltenen Huftieren) der VO (EG) 853/ 2004 niedergelegt:

“Lebensmittelunternehmer müssen sicherstellen, dass Fleisch von als Haustieren gehaltenen Huftieren nach folgenden Vorschriften zerlegt und entbeint wird:

1. (...)
2. Das Fleisch muss so bearbeitet werden, dass eine Kontamination verhindert oder so weit wie möglich unterbunden wird. Insbesondere müssen Lebensmittelunternehmer folgendes sicherstellen:
 - a) (...)
 - b) beim Zerlegen, Entbeinen, Zurichten, Zerschneiden in Scheiben oder Würfel, Umhüllen und Verpacken werden mittels einer Raumtemperatur von höchstens 12 °C oder eines alternativen System mit gleicher Wirkung Nebenprodukte der Schlachtung auf nicht mehr als 3 °C und anderes Fleisch auf nicht mehr als 7 °C gehalten, und
 - c) (...)
3. Fleisch kann jedoch gemäß Kapitel VII Nummer 3 vor Erreichen der vorgeschriebenen Temperatur von max. 3 °C für Nebenprodukte und 7 °C für anderes Fleisch entbeint und zerlegt werden
4. Fleisch kann zudem vor Erreichen der vorgeschriebenen Temperatur von max. 3 °C für Nebenprodukte und 7 °C für anderes Fleisch entbeint und zerlegt werden, wenn sich der Zerlegungsraum am gleichen Ort wie die Schlachthanlage befindet. (...) Nach abgeschlossener Zerlegung und gegebenenfalls Verpackung muss das Fleisch auf die

festgelegte Temperatur von max. 3 °C für Nebenprodukte und 7 °C für anderes Fleisch abgekühlt werden.“

Die rechtlichen Grundlagen für Fleischzubereitungen sind im Kapitel III (Anhang III, Besondere Anforderungen, Abschnitt V, Hackfleisch/Faschiertes, Fleischzubereitungen und Separatorenfleisch) der VO (EG) 853/ 2004 niedergelegt:

“Lebensmittelunternehmer, die Hackfleisch/Faschiertes, Fleischzubereitungen und Separatorenfleisch herstellen, müssen folgende Vorschriften erfüllen:

1. (...)
2. Für die Herstellung von Hackfleisch/Faschiertem, Fleischzubereitungen gelten folgende Vorschriften:
 - a) (...)
 - b) (...)
 - c) Unmittelbar nach der Herstellung müssen Hackfleisch/ Faschiertes, Fleischzubereitungen umhüllt oder verpackt, und
 - i) auf eine Kerntemperatur von nicht mehr als 2 °C im Falle von Hackfleisch/ Faschiertem und nicht mehr als 4 °C im Falle von Fleischzubereitungen gekühlt, oder
 - ii) auf eine Kerntemperatur von – 18 °C oder darunter gefroren werden.Diese Temperaturen müssen auch bei der Lagerung und Beförderung eingehalten werden.“

2.5. Metabolismus von Mikroorganismen

Zum Wachstum benötigen Bakterien Makroelemente (Kohlenstoff, Sauerstoff, Wasserstoff, Stickstoff, ferner Schwefel, Phosphor, Calcium, Magnesium und Eisen), Mikroelemente (z.B. Mangan, Molybdän, Zink): Außerdem benötigen sie ein angemessenes Wasserstoffionenpotential (im allgemein vertragen Bakterien pH-Schwankungen von 6,0-9,0 ohne Verlust der Entwicklungsfähigkeit) und eine optimale Temperatur. Weiterhin sind Aminosäuren, Vitamine und Spurenelemente als Wachstumsfaktoren erforderlich (ROLLE und MAYR 1993).

Vitamine sind für das Wachstum mancher Mikroorganismen essentiell. Das bessere Wachstum von Staphylococcus aureus auf schweinefleischhaltigen Produkten soll mit dem höheren Thiamingehalt von Schweinefleisch zusammenhängen. Andererseits soll sich S. aureus in Konkurrenz mit der üblichen Fleischverderbsflora nicht behaupten können, weil diese das zum Wachstum von Staphylococcus aureus unerlässliche Thiamin entziehen (FEHLHABER 2004).

Aerobe Mikroorganismen benötigen für die zellulären Abläufe Sauerstoff (ROLLE und MAYR 2007).

2.5.1. Faktoren des mikrobiellen Metabolismus

Der Metabolismus von Mikroorganismen ist reproduzierbar und damit voraussagbar. Verschiedene Faktoren (Tab. 2.15) haben fördernde oder hemmende Wirkung auf den mikrobiellen Metabolismus.

Tabelle 2.15: Faktoren von Einfluss auf den mikrobiellen Metabolismus (MOSSEL 1982; FRIES 1992; ICMSF 1996 und 1998; MAN and JONES 1996; ESKIN and ROBINSON 2000; MOIR et al. 2001; RAY 2001)

Intrinsic Factors (innere Faktoren)	Nährstoffzusammensetzung Stukturelle Barrieren wie Faszien Antimikrobielle Substanzen wie Lysozym oder zugefügte Stoffe Inhaltsstoffe und Struktur bzw. Textur des Lebensmittels a_w des Milieus („Wasseraktivität“, zur Verfügung stehende Feuchtigkeit) pH des Milieus E_h des Milieus (Redoxpotential) Menge und Art der vorliegenden Initialflora
Process Faktors	Lebensmitteltechnologische Verfahren
Extrinsic Factors (äußere Faktoren)	Umgebungstemperatur Ggf. Art der Verpackung (Vakuum, N_2 , CO_2) Dauer der Exposition
Implicit Factors (spezifische Wachstumseigentümlichkeiten) Mikrobielle Enzyme	Antagonismen und Synergismen der Mikroflora Generationszeit der vorherrschenden Mikroflora Proteasen, Lipasen, Oxidoreduktasen, Carbohydrasen

Je nach Nutzungsfähigkeit werden die Mikroorganismen eingeteilt in Proteolyten, Lipolyten und Glykolyten. Sie beeinflussen sich gegenseitig im Sinne unspezifischer Wechselwirkungen, die das Auftreten oder die Dominanz bestimmter Taxa verhindern, hemmen oder fördern können (FRIES 1992). FRIES (1992) fasst die antagonistischen und synergistischen Wechselwirkungen zwischen Bakterienspezies folgendermaßen zusammen:

1. Aktivitätsförderung durch

- Nutzbarmachung nicht allgemein zugänglicher Stoffe: Kollagen durch Kollagenasen
- Alkalisierung durch Proteolyse, E_h -Erniedrigung durch Atmung, Förderung anaerober Atmer
- Abbau antimikrobieller Stoffe, wie Säuren oder H_2O_2
- Abbau biologischer Barrieren, wie Faszien

2. Aktivitätsbeeinträchtigung durch:

- Konkurrenz um allgemein abbaubare Stoffe (Zucker)
- Säurebildung durch Glykolyse und Selektion auf säuretolerante Mikroorganismen
- Bildung hemmender Stoffe
- Vorhandensein biologischer Barrieren
- Lysis durch Bakteriophagen

RUTTLOFF et al. (1996) nennen zusätzlich die Bildung antimikrobieller Wirkstoffe (z.B. Bakteriocine).

2.6. Allgemeine Wachstums- und Vermehrungsbedingungen für Mikroorganismen

2.6.1. Temperatur

Die Temperatur ist ein wichtiger physikalischer Faktor. Nach der Temperaturabhängigkeit werden Mikroorganismen in vier Kategorien unterteilt (Tab. 2.16): psychrophil, psychrotroph, meso- und thermophil wachsende Mikroorganismen (BURKHARD 1992; KRÄMER 1997; PICHHARDT 1998).

Als psychrophile (kälteliebende) Bakterien werden Mikroorganismen bezeichnet, die für das optimale Wachstum Temperaturen zwischen 15-20 °C benötigen (BURKHARD 1992). Psychrotrophe (kältetoleranten) Mikroorganismen haben das Wachstumsoptimum im mesophilen Bereich (25-30 °C), sie können sich auch noch bei oder unter 0 °C (bis +5 °C) vermehren (KRÄMER 1997; PICHHARDT 1998). Gerade diese Keime tragen zum Lebensmittelverderb bei (SINELL 1992). Zu den psychrotrophen (psychrotoleranten) Bakterien gehören außer bestimmten Lactobacillus-Arten vor allem Stämme gramnegativer Stäbchenbakterien wie Pseudomonaden, Acinetobacter, Moraxella, Aeromonas und Vibrio, Brochothrix thermospacta, Serratia und andere Enterobacteriaceae-Gattungen. Sie sind für den Verderb von kühl gelagerten Produkten verantwortlich. Hinzu kommen auch wenige pathogene Bakterienarten, wie z.B. Yersinia enterocolica, Listeria monocytogenes und Clostridium botulinum-Stämme. Extrem psychrotroph sind Hefen und Schimmelpilze (FEHLHABER und JANETSCHKE 1992; KRÄMER 1997).

Mesophile Bakterien bevorzugen Wachstumsbereiche zwischen 25 °C und 40 °C bis 47 °C (KRÄMER 1997; PICHHARDT 1998). In diese Kategorie gehören wichtige Lebensmittelvergifter, wie z.B. Salmonella, Clostridium botulinum, Staphylococcus aureus und einige Pilze. Thermophile Bakterien benötigen hohe Temperaturen und haben ihr optimales Wachstum zwischen 45 °C und 60 °C, manche Arten über 60 °C. KRÄMER (1997) sowie PICHHARDT (1998) ordneten dieser Kategorie auch einige Bacillus- und Clostridium-Arten zu, z.B. Bacillus stearothermophilus, Bacillus coagulans und Clostridium jejuni.

Tabelle 2.16: Temperaturansprüche von Bakterien (KRÄMER 1997)

Gruppe	Temperatur (°C)		
	Minimum	Optimum	Maximum
Psychrophil	(-) 5 – (+) 5	12 – 15	15 – 20
Psychrotroph	(-) 5 – (+) 5	25 – 30	30 – 35
Mesophil	5 – 15	30 – 40	35 – 47
Thermophil	40 - 45	55 – 75	60 – 90

Kälte-Behandlung hat keine destruktive Wirkung, kann jedoch je nach gewählter Temperatur m.o.w. hemmend wirken bis hin zum weitgehenden Sistieren des Metabolismus.

Für das Tiefgefrieren ist eine kontinuierliche Abnahme der vermehrungsfähigen Mikroorganismen bekannt (STOLLE 2004).

KÖPKE (2002) untersuchte die Gesamtbelastung psychrotropher Hackfleischmikroflora in vier verschiedenen Hackfleischsorten (Rindergehacktes, Schabefleisch, Schweinegehacktes und gemischtes Hackfleisch von Rind und Schwein). Die Gesamtbelastung des Hackfleisches aller vier Sorten mit psychrotrophen Mikroorganismen war in etwa gleich stark. Die gram-positive psychrotrophe Hackfleischmikroflora wurde wesentlich von dem Verderbniserreger

Brochothrix thermosphacta sowie anderen Milchsäurebakterien bestimmt. Von der gram-negativen psychrotrophen Flora dominierten Pseudomonas fragi und Pseudomonas fluorescens.

Metabolismus von *Salmonella* unter dem Einfluss der Temperatur:

Salmonellen gehören zu den mesophilen Mikroorganismen: die Wachstumstemperatur für Salmonellen liegt bei 37 °C (Optimum), 48 °C (Maximum) und bei < 7 °C (Minimum) (KRÄMER 1997).

Die Feststellung der Vermehrungsgeschwindigkeit erfolgt über die Bestimmung der Generationszeit. Die Angaben zur Generationszeiten bei unterschiedlichen Taxa der Familie Enterobacteriaceae (Salmonellen, Shigellen, Yersinia enterocolitica, Escherichia coli und andere) wurden von MUSCHKOWITZ (1997) untersucht. Die Untersuchungen wurden mittels Impedanztechnik (Messung der Leitfähigkeitsänderung) ermittelt. Die Autorin konnte eine eindeutige Beziehung zwischen der Länge der Generationszeit und der Temperatur feststellen. Bei 35 °C bzw. 37 °C war der Mittelwert der Generationszeiten der untersuchten Modellstämme, ausgenommen die Yersinia spp., mit ca. 22 min. am kürzesten. Erst Temperaturen unter 25 °C und saure Initial-pH-Werte, wie pH 5,0 und zum Teil pH 5,5, führten zur Verlangsamung der Wachstums- und Vermehrungsvorgänge.

Ähnliche Angaben zur Generationszeiten gaben FEHLHABER und KRÜGER (1998) an (Tab. 2.17).

Tabelle 2.17: Generationszeiten für *Salmonella* Enteritidis in Abhängigkeit von der Temperatur

Spezies	FEHLHABER und KRÜGER (1998)		MUSCHKOWITZ (1997)	
	Temperatur in °C	GZ in min	Temperatur in °C	GZ in min
<i>Salmonella</i> Enteritidis	42	24,0	40	18,0
	37	20,4	37	21,6
	32	24,7	30	29,7
	27	38,1	25	40,5
	22	65,0	20	69,3
	17	129	18	108
	12	349	12	-
	7	747	10	-

D'AOUST (1991) stellte Literaturangaben zum minimalen Zeitrahmen zusammen, der für das Wachstum von Salmonellen notwendig ist. Bei 2 °C lag dieser Zeitrahmen zwischen 1 und 6 Tagen, bei 6 – 7 °C zwischen 1 und 4 Tagen und bei 8 °C zwischen 3 und 14 Tagen.

Nach KRÄMER (1997) erhöht sich die Hitzeresistenz der Salmonellen in Lebensmitteln bei steigender Konzentration an Fett, Eiweiß und Kohlenhydraten sowie bei erniedrigten a_w -Werten signifikant.

AIROLDI et al. (1988) untersuchten den Metabolismus von *S. Typhimurium* in einem nährstoffarmen Medium bei 7 °C. Die Kulturen wurden bei 37 °C, 24 °C oder 7 °C in tryptischer Sojabouillon vermehrt und anschließend bei 7 °C weiter gelagert. Zahlenmäßig verringerte sich die bei 37 °C vor-inkubierte Flora bei 7 °C, während eine derartige

Anfangsverringering bei den Kulturen, die bei 24 °C bzw. 7 °C angesetzt worden waren, nicht beobachtet wurde.

MANN et al. (2004) prüften die Vermehrung von *S. Typhimurium* und *S. Enteritidis* in Schweinehackfleisch und entbeintem Schweinefleisch bei unterschiedlichen Temperaturen (4,4 °C, 7,2 °C, 10 °C und bei Zimmertemperatur. Bei einer Temperatur von 4,4 °C wurde in keinem Falle Wachstum festgestellt. Im Hackfleisch vermehrten sich die Salmonellen schneller. Die Hintergrundflora vermehrte sich in Hackfleisch nach 10 h bei Zimmertemperatur signifikant, und nach 12 h lag eine signifikante Vermehrung auch bei Proben vor, die bei 10 °C und 7,2 °C gelagert worden waren. Im entbeinten Fleisch stieg die Hintergrundflora erst nach 24 h bei 10 °C und 4,4 °C an.

MACKEY et al. (1980) untersuchten die Wachstumsraten von Salmonellen (9 Serovaren), die auf Rindfleisch bei verschiedenen Kühlraumtemperaturen aufgetragen worden waren. Die Lagerung des Fleisches erfolgte bei 7,5 °C, 10 °C, 12,5 °C und 15 °C. Die relative Luftfeuchte während des Versuches betrug ca. 98 %. Der pH-Wert lag vor der Inokulation zwischen 5,6 und 6,5. Nach 6, 24, 30, 48, 54 und 72 h wurde die Keimzahl bestimmt. Die minimale Generationszeit betrug 8,1 h bei 10 °C, 5,2 h bei 12,5 °C und 2,9 h bei 15 °C. Bei 7 – 8 °C erfolgte kein erkennbares Salmonellenwachstum. Bei 12,5 °C und bei 15 °C war kein Effekt des pH auf Salmonellenwachstum erkennbar, bei 10 °C wurden höhere Wachstumsraten auch bei niedrigerem pH-Wert (unter pH 5,8) beobachtet.

Tabelle 2.18: Einfluss von pH-Wert, Salzgehalt und Temperatur auf Wachstum und Überlebensfähigkeit von 23 *Salmonella*-Serovaren in Bouillon (ALFORD und PALUMBO 1969)

Temp.	Wachstum oder Tage überlebt	Anzahl der Stämme								
		pH-Wert 5,0			pH-Wert 5,8*			pH-Wert 6,5		
		2 % NaCl	5 % NaCl	8 % NaCl	2 % NaCl	5 % NaCl	8 % NaCl	2 % NaCl	5 % NaCl	8 % NaCl
10 °C	Wachstum > 84 d	1	-	-	23	1	-	23	1	-
		20	10	1	-	10	7	-	13	7
	> 20, < 70 < 14	2	13	21	-	12	16	-	9	15
		-	-	-	-	-	-	-	-	-
20 °C	Wachstum > 30	23	3	-	23	23	6	23	23	12
		-	15	16	-	-	11	-	-	8
	> 4, < 30	-	5	7	-	-	6	-	-	3
30 °C	Wachstum > 14	22	5	-	23	23	15	23	23	23
		-	4	-	-	-	2	-	-	-
	> 2, < 7 < 2	1	14	20	-	-	6	-	-	-
		-	-	3	-	-	-	-	-	-

* in Fleisch und Fleischprodukten meist gemessener pH-Wert

ALFORD und PALUMBO (1969) untersuchten den Zusammenhang von Salzgehalt, pH-Wert und Temperatur auf das Wachstum von Salmonellen (23 Serovaren) in Bouillon und in Hackfleisch vom Schwein (Tab. 2.18). Die Bouillon-Ergebnisse sind den Autoren zufolge auf Hackfleisch-Ergebnisse übertragbar. Bei 30 °C (Bouillon) war Salmonellenwachstum bei einer weiten Spanne aus Kombinationen von NaCl und pH möglich. Bei 10 °C (Bouillon) hingegen war es auf wenige Kombinationen limitiert (2 % NaCl mit pH 5,8 und 6,5). Stämme, die sich bei 10 °C nicht vermehrten, blieben über lange Zeit lebensfähig, während Stämme, die bei 30 °C nicht wuchsen, nur für kurze Zeit überlebten. Als Fazit wurde

formuliert, dass ein niedriger pH-Wert in Verbindung mit einem hohen Salzgehalt eine Wachstumshemmung bei Salmonellen bewirkt.

2.6.2. pH Wert

Fleisch hat nach Beendigung des Reifeprozesses einen pH-Wert im Bereich von 5,6 bis 6,2. Auf das Wachstum von Verderbsorganismen wirken sich diese Werte nicht nennenswert aus. Immerhin verzögert sich die Wachstumsrate von Enterobakteriaceen und Psychrotrophen unterhalb von pH 5,8 (ICMSF 1980).

Der sogenannte „End-pH-Wert“ (der speziesabhängig bei pH 5,3 – 5,8 liegt) ist nach etwa 24 h nach Eintritt der Totenstarre beim Schwein erreicht (BEUTLING 2004). WEBER (1996) beschreibt als End-pH der Glykolyse des Fleisches unter normalen Bedingungen bei Schlachttieren Werte um 5,6 (Rind) bis 5,4 (Schwein). Bei Wild und Kaninchen werden pH-Werte von 6,0 bis 5,8 erreicht.

Nach KRÄMER (1997) liegt der pH-Wert bei Frischfleisch (schlachtwarm) bei 7,2, bei Schweinefleisch (gereift) im Bereich von 6,0 bis 5,6 und bei Rindfleisch (gereift) im Bereich von 5,8 bis 5,4. Deshalb dominieren beim Verderb Mikroorganismen, die ihr Wachstumsoptimum nahe pH 7,0 haben und in einem Bereich von pH 6,0 bis 8,0 gut wachsen können. Bei den meisten Verderbnis erregenden Bakterien liegt das pH-Minimum bei 4,4 bis 4,5 (viele Enterobacteriaceae, Bacillus-Arten), das pH-Maximum durchschnittlich bei Werten von 8 bis 9 (Bakterien, Pilzen und Hefen), das pH-Optimum liegt im schwach sauren (pH 6,8) bis neutralen pH-Bereich. *Salmonella* Typhi oder *Staphylococcus aureus* sind unempfindlicher gegen Säure (KRÄMER 1997). Lebensmittel-Vergifter, wie z.B. *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum* und *Pseudomonas aeruginosa* sind säureempfindlicher.

AVENS et al. (1996) prüften den Einfluss von heißem Essigsäure-Spray auf Oberflächenkeime (GKZ, *Lactobacillus*, Coliforme, *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus* und *Salmonella*) auf Rinderschlachtkörpern. Die Ergebnisse ergaben keine signifikante Reduktion bei GKZ, Coliformen und *Streptococcus*. *Lactobacillen* wurden um 0,05 log reduziert. Salmonellen wurden in keiner der Proben gefunden.

Metabolismus von *Salmonella* und der pH-Wert:

Bei Salmonellen liegt das pH-Minimum bei pH 4,0 bis 4,5; das Maximum bei pH 9,0 und das Optimum zwischen pH 6,5 und 7,5 (KRÄMER 1997). Nach GRAU (1983) wächst *Salmonella* Typhimurium bei 25 °C bei einem pH-Wert >6 besser als bei einem pH-Wert < 5,7. ALFORD und PALUMBO (1969) haben bei niedrigeren pH-Werten (pH 5,0) und hohem Salzgehalt (NaCl 8 %) eine Wachstumshemmung von Salmonellen festgestellt (Tab. 2.18).

FERREIRA und LUND (1987) prüften 12 Serovaren in nährstoffreichem Medium bei unterschiedlichen pH-Werten und bei einer Temperatur von 30 °C, 20 °C und 10 °C. Bei einer Bebrütungstemperatur von 30 °C kam es bei einem pH-Wert von 3,8 - 4,0 innerhalb von 1 - 3 Tagen zum Salmonellenwachstum. Bei gleichen pH-Werten und einer Temperatur von 20 °C war das Wachstum erst in 2 - 3 Tagen erkennbar. Bei 10 °C war bei einem Minimal-pH-Wert von 4,4 - 4,8 Wachstum erst nach 10 bis 19 Tagen erkennbar (Tab. 2.19). Die Werte geben anschaulich die kombinierten Effekte zweier Impact Faktoren wieder: Erkennbar ist der wachstumsfördernde Effekt der Temperatur auch bei einem niedrigeren pH-Wert.

Tabelle 2.19: Auswirkungen von Temperatur und Zeit auf den minimalen pH-Wert, der Wachstum von *S. Typhimurium* noch zulässt (FERREIRA und LUND 1987)

	Temperatur °C	Wachstum (d)	pH-Wert
<i>Salmonella</i> Typhimurium (NC1B 10248)	30	1	4,0
	20	2	4,2
	10	10 – 11	4,6
<i>Salmonella</i> Typhimurium (S. 81754/84)	30	1	4,0
	20	3	4,0
	10	14	4,6

CASTILLO et al. (2000) untersuchten die Auswirkung von Milchsäure auf Suspensionen von *E.coli* und *Salmonella* Typhimurium auf ungekühlten und gekühlten Rinderschlachttierkörpern. Die ungekühlten Fleischoberflächen wurden vor dem Kühlen einmal nur mit Wasser gewaschen und einmal mit Wasser und einem 15 sec. Milchsäurespray (250 ml 2 %-ige Milchsäure, 55 °C) behandelt. Eine Reinigung nur mit Wasser bewirkte eine Reduzierung der Testkeime um 3,3 bis 3,4 log und bei der Reinigung mit Wasser und anschließender Behandlung mit Milchsäurespray um 5,2 log. Die Kühlung erfolgte bei 4 °C/ 24 h. Danach wurde die Fleischoberfläche erneut mit 4 %iger Milchsäure (500 ml) bei 55 °C für 30 sec. besprüht. Es wurde eine Keimreduktion bei *E. coli* von 2,0 bis 2,4 log und bei *S. Typhimurium* von 1,6 bis 1,9 log ermittelt. Die Daten zeigen, dass organische Säuren, wie Milchsäure, bei Rinderschlachttierkörpern nach dem Kühlen zur Reduktion pathogener Keime führen. Antimikrobiologische Effekte wurden sowohl bei Milchsäure als auch bei Essigsäure beobachtet. Ähnliche Ergebnisse wurden für *E.coli*, *Listeria innocua* und *Clostridium sporogenes* erzielt (AVENS et al. 1996; CASTILLO et al. 2000).

BASTI und RAZAVILAR (2004) haben die Auswirkung verschiedene Parameter (pH, NaCl, Kalium Sorbat und Temperatur) auf das Wachstum von *S. Typhimurium* untersucht. Tab. 2.20 zeigt, dass das Wachstum von *S. Typhimurium* gehemmt wird durch niedrige Temperaturen (15 °C), niedrige pH-Werte (5,0 und 5,75) und NaCl und Kalium Sorbat-Gehalt von 0,3 %.

2.6.3. a_w -Wert

Neben Temperatur und pH-Wert wird das bakterielle Wachstum auch vom Feuchtigkeitsgehalt des Milieus (a_w -Wert) beeinflusst (ZRENNER und HAFFNER 1999). Bei Abwesenheit von Wasser ruht der Stoffwechsel von Mikroorganismen. Der a_w -Wert wird definiert als das Verhältnis des Wasserdampfdrucks über dem Lebensmittel zum Wasserdampfdruck des reinen Wassers bei gleicher Temperatur (KRÄMER 1997). Eine luft- und gasdichte Verpackung schafft konstante Wasseraktivitätsbedingungen, die bei Fleisch zu einer angepassten Mikroflora führen (WEBER 1996).

KOUTSOUMANIS et al. (2004) haben die Wachstumsgrenzen von *S. Typhimurium* in Nährbouillon bei verschiedenen Kombinationen von Temperatur (10 bis 35 °C), Wasseraktivität (a_w -Wert von 0,913 bis 0,990) und pH-Wert (3,76 bis 6,44) untersucht. Der minimale a_w -Wert, bei dem *Salmonella*-Wachstum beobachtet werden konnte, betrug 0,942 bzw. 3,94.

Bei a_w -Werten zwischen 0,990 und 0,955 war der pH-Wert für das Wachstum von *Salmonella* Typhimurium nicht temperaturabhängig. Bei einem a_w -Wert von 0,942 beeinflusste die Temperatur (10 °C und 15 °C) deutlich den für das Salmonellenwachstum nötigen pH-Wert (Tab.2.21).

Tabelle 2.20: Verschiedene Kombinationen und die Zeitdauer (Tage) bis zum Wachstumsnachweis von *Salmonella* Typhimurium (BASTI und RAZAVILAR 2004)

Temperatur °C	Parameter		pH-Werte			
	NaCl (%)	Kalium sorbat (%)	5,0	5,75	6,5	7,4
35	0,5	0,0	0,14	0,09	0,09	0,05
	1,5	0,0	0,14	0,12	0,09	0,09
	3,0	0,0	0,17	0,17	0,15	0,13
	0,5	0,15	> 43	0,83	0,16	0,14
	1,5	0,15	> 43	1	0,24	0,14
	3,0	0,15	> 43	2,87	0,42	0,19
	0,5	0,30	> 43	4,16	0,33	0,17
	1,5	0,30	> 43	9	0,42	0,19
	3,0	0,30	> 43	9	0,5	0,27
25	0,5	0,0	0,87	0,45	0,39	0,17
	1,5	0,0	0,67	0,46	0,45	0,34
	3,0	0,0	0,67	0,46	0,45	0,34
	0,5	0,15	> 43	1,5	0,75	0,34
	1,5	0,15	> 43	3,92	0,83	0,33
	3,0	0,15	> 43	> 43	1,08	0,83
	0,5	0,30	> 43	23	0,97	0,37
	1,5	0,30	> 43	> 43	1,08	0,87
	3,0	0,30	> 43	> 43	2,04	1,45
15	0,5	0,0	1,46	0,83	0,87	0,46
	1,5	0,0	1,87	0,96	0,921	0,8
	3,0	0,0	1,91	1,62	1,41	1,12
	0,5	0,15	> 43	2,91	1,01	0,95
	1,5	0,15	> 43	> 43	1,91	0,95
	3,0	0,15	> 43	> 43	2,96	2,12
	0,5	0,30	> 43	> 43	1,95	0,97
	1,5	0,30	> 43	> 43	2,96	2,14
	3,0	0,30	> 43	> 43	18	3,04

Tabelle 2.21: Minimale pH-Werte, bei denen Wachstum von Salmonellen beobachtet wurde bei verschiedenen Temperatur- und a_w -Wert-Kombinationen (KOUTSOUMANIS et al. 2004)

a_w -Wert	Temperatur (°C) / pH-Wert				
	10 °C	15 °C	25 °C	30 °C	35 °C
0,990	4,76	4,24	3,94	3,94	3,94
0,980	4,96	4,76	4,45	4,45	4,45
0,967	5,47	4,96	4,76	4,76	4,76
0,955	6,44	5,47	4,76	4,76	4,76
0,942	-	-	5,19	4,96	5,47

- : nicht getestet

2.7. *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* und *Bacillus subtilis* als mikrobiologische Taxa

2.7.1. *Salmonella*

Salmonellen (benannt nach dem amerikanischen Bakteriologen D.E. Salmon) sind in der Natur bei einer Vielzahl warm- und kaltblütiger Tiere weit verbreitet (BURKHARDT 1992). Sie treten ubiquitär auf. Lebensmittel können den Erreger bereits enthalten oder aber sekundär kontaminiert sein.

Salmonellosen des Menschen sind zumeist lebensmittelbedingte Erkrankungen und treten weltweit als sporadische Fälle, Familienerkrankungen oder als Epidemien auf. Primäre Infektionsquellen sind besonders von Geflügel, Rindern und Schweinen stammende Lebensmittel.

Die Inkubationszeit beträgt 12 bis 36 Stunden (SINELL 1992), als Orientierung ist eine Inkubationszeit von 5 bis 72 h (max. 7 Tage) angegeben, die von der Infektionsdosis abhängig ist (RKI 2002).

Taxonomie, Pathogenität und Nomenklatur der Gattung *Salmonella*

Die Serovariät *Salmonella* Typhimurium wird der Subspezies *enterica*, Spezies *enterica*, Gattung *Salmonella*, Familie Enterobacteriaceae zugeordnet.

Die Familie der Enterobacteriaceae besteht aus stäbchenförmigen Mikroorganismen, deren wichtigste Vertreter ihren natürlichen Standort im Darm des Menschen und vorwiegend der warmblütigen Tiere haben, aber auch aus Boden, Wasser, Pflanzen, poikilothermen (wechselwarmen) Vertebraten und wirbellosen Tieren nachweisbar sind (SELBITZ 1992). Es handelt sich um gramnegative Stäbchen, die fast immer durch peritriche Begeißelung beweglich sind (SINELL 1992).

Innerhalb des Genus werden serologisch mehr als 2500 verschiedene Serovarietäten unterschieden (KRÄMER 2002).

Aufgrund neuerer taxonomischer Untersuchungen wurden die Bakterien der Gattung *Salmonella* in zwei Spezies [*Salmonella enterica* (sieben Subspezies) und *S. bongori*] untergliedert. Abb. 2.1 zeigt schematisch die weitere Unterteilung und Benennung der Mikroorganismen des Genus. Beide Spezies sind für Mensch und Tier pathogen (WIELER und BAUERFEIND 1999).

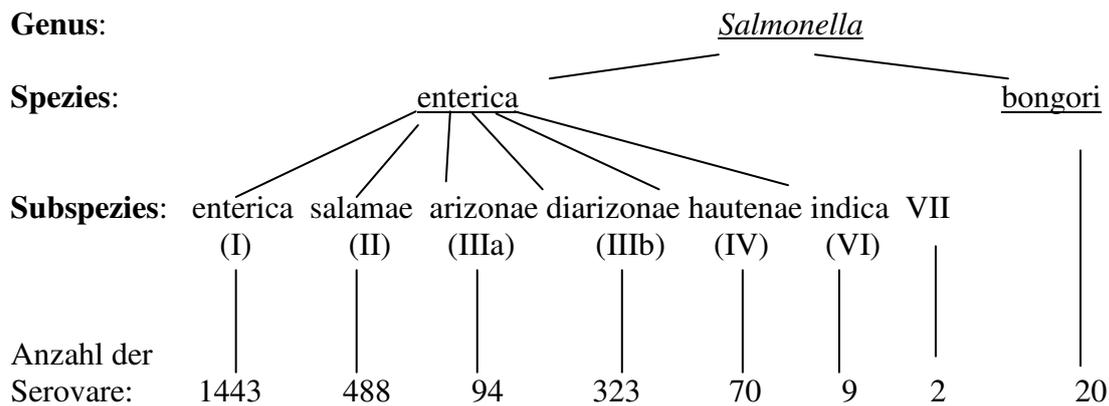


Abb. 2.1: Taxonomie und Nomenklatur der Gattung *Salmonella* (WIELER und BAUERFEIND 1999)

Häufig wird für eine auftretende Serovar eine binominale Bezeichnung verwendet, bei der auf die Genusbezeichnung *Salmonella* direkt der Name der Serovar folgt. Zur Erkennung dieser Bezeichnungsform beginnt die Serovarbezeichnung mit Großbuchstaben: z.B. wird *Salmonella enterica* subspezies enterica Serovar Typhimurium als *Salmonella* Typhimurium bezeichnet (SINELL 1992; KRÄMER 2002).

Mit Hilfe einer Antigen-Einordnungen (Kauffman-White-Schema) kann nach Bestimmung der O- und H-Antigene die endgültige Bestimmung der Serovar erfolgen (KRÄMER 1997). Das Kauffman-White-Schema gilt als Klassifizierungssystem für Vertreter der Enterobakterien-Gattung *Salmonella*. Tab. 2.22 zeigt einige *Salmonella*-Serovare (ROLLE und MAYR 2002).

Die Antigenstruktur wird folgendermaßen beschrieben (KRÄMER 1997): Die hitzeresistenten Oberflächen- oder O-Antigene der Salmonellen sind Bestandteil des Protein-Lipopolysaccharid-Komplexes der Zellwand. Die Lipopolysaccharide bestehen aus einem Lipid-Teil (Lipoid A) und einer Polysaccharid-Kette, die in eine Kernzone und in eine Seitenkette unterteilt ist. In der Seitenkette sind von Serotyp zu Serotyp unterschiedliche spezifische O-Antigene lokalisiert, die serologisch mit Hilfe der Objektträger-Agglutination unterscheidbar sind. Zur endgültigen Identifizierung des Serotyps müssen neben den O-Antigenen auch die für den Serotyp spezifischen H-Antigene (Geißelantigene) bestimmt werden.

Tabelle 2.22: Beispiel einer diagnostischen Klassifizierung nach dem Kauffman-White-Schema (ROLLE und MAYR 2002)

Gruppe	Serovar	O-Antigene	H-Antigene	
			Phase I	Phase II
A	S. Paratyphi A	<u>1</u> , 2, 12	A	1, 5
B	S. Typhimurium	<u>1</u> , 4, 5, 12	I	1, 2
C	S. Paratyphi C	6, 7	C	1, 5
D 1	S. Enteritidis	<u>1</u> , 9, 12	g, m, p	1, 7
E 1	S. Meleagridis	3, 10	e, h	1, w

1 : O-Ag, die nur infolge Phagenkonversion ausgebildet werden

Bei der serologischen Differenzierung ist zu beachten, dass die meisten *Salmonella*-Serovare bezüglich ihrer H-Antigene diphasisch sind, das heißt, sie enthalten die spezifische Phase I

und die unspezifische Phase II. Die Phasen sind oft quantitativ unterschiedlich ausgebildet (ROLLE und MAYR 1993).

Die Mehrzahl der zur Subspezies enterica gehörenden Stämme weist Charakteristika auf, wie sie in der Tabelle 2.23 wiedergegeben sind.

Tabelle 2.23: Charakteristika von Isolaten von *Salmonella enterica enterica* (BURKHARDT 1992; PICHHARDT 1993; HOLT et al. 1994)

Morphologie	gramnegative bewegliche Stäbchen
	Wachstum auf festen Medien
	glatt, grauweiß
	flache bis leichtgewölbte Kolonien
	Fakultativ anaerobes Wachstum
	nicht hämolysierend
Biochemie	POSITIV
	Katalase
	Säure und Gasbildung aus Glukose, Maltose und Sorbitol
	Methylrottest
	Simmonsiträt-Test
	Lysin- und Ornithindecaboxylase
	H ₂ S Bildung aus Thiosulfat
	L- Arabinose, Maltose, D-Mannitol, D-Mannose, L-Rhamnose, D-Sorbitol, Trehalose, D-Xylose
	NEGATIV
	fehlende Säurebildung aus Adonitol, Sacharose, Salicin und Lactose
	Oxidase
	Indol und Voges-Proskauer-Reaktion
	Harnstoffspaltung
	Gelatine- Hydrolyse
	Phenylalanin Desaminase
	Wachstum mit KCN (Kaliumcyanid)

2.7.2. Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus-Stämme können sehr häufig bei Mensch und Tier als physiologische Komponente nachgewiesen werden.

S. aureus ist ein gram-positives kugelförmiges Bakterium, das keine Sporen bildet, unbeweglich ist und einen Wachstumsbereich von 6,5 bis 46 °C aufweist (optimal bei 30 °C bis 37 °C) (KRÄMER 1997; SCHLEIFER und KLOOS 1994). Stamm-abhängig können fünf unterschiedliche hitzeresistente Enterotoxine (A bis E) gebildet werden (MORSE et al. 1986).

Nach SINELL (1992) müssen zwei Voraussetzungen erfüllt sein, damit sich Staphylokokken-Enterotoxine in einem Lebensmittel bilden können:

1. Kontamination des Lebensmittels mit dem Erreger:

beispielsweise durch intravitale Infektion eines lebensmittelliefernden Tieres, oder aber der Mensch, der direkt (Körper-Sekrete) oder indirekt (Berührung mit kontaminierter, ungeschützter Hand) das Lebensmittel verunreinigt.

2. Vermehrung des Erregers im Lebensmittel:

S. aureus stellt keine großen Nährstoffansprüche. Günstige Wachstumsbedingungen sind bei hohem Eiweiß- und Wassergehalt und mittleren Temperaturen gegeben. Toxinbildung ist im Bereich zwischen 6,7 und 45,5 °C möglich. Der Erreger toleriert eine Verminderung der Wasseraktivität, auch die Säuretoleranz ist erheblich. Bei einem pH-Wert von 4,0 wurde noch Toxinbildung beobachtet, das optimale Wachstum liegt zwischen pH 6,5 und 7,3.

SMITH et al. (1983) und BUCHANAN et al. (1993) berichteten, dass das Vorhandensein von Sauerstoff das Wachstum von *Staphylococcus aureus* signifikant ($P < 0,05$) beeinflusst. Das mikrobielle Wachstum erfolgt schneller und umfangreicher unter aeroben Bedingungen. Tab. 2.24 gibt die typischen Eigenschaften des Keimes wieder.

Tabelle 2.24: Charakteristika von *Staphylococcus aureus* (PETERS und SCHUMACHER-PERDREAU 1992; SELBITZ 1992; HOLT et al. 1994):

Morphologie	Traubenförmige Anordnung im mikroskopischen Bild	
	Unbeweglich	
	Wachstum auf festen Medien	
	Koloniebeschreibung: gelbe, manchmal weißliche Kolonien	
	Hämolisierend	
	fakultativ anaerobes Wachstum bei 15-45 °C	
Biochemie	POSITIV	
	Katalase	
	anaerobe Glukosespaltung	
	Nitratreduktionstest	
	Hyaluronidase	
	Empfindlichkeit für Lysostaphin und Furazolidon	
	Koagulase	} Pathogenitätsmerkmale
	Clumpingfaktor	
	Dnase	
	NEGATIV	
	KOH (Kalilauge)-Reaktion	
	Oxidase	

2.7.3. *Bacillus subtilis*

Die Gattung *Bacillus* gehört zu den aeroben Sporenbildnern. Die Keime sind psychrotroph bis thermophil. Die Sporen sind unter anderem aufgrund ihres geringen Wassergehaltes (etwa 15 %) thermoresistent (SEELIGER 1978; RIEMELT 1996). Die Bakterien wachsen in einem Temperaturbereich zwischen 15 und 50 °C (Optimum 28 bis 35 °C). Das Wachstumsminimum liegt bei einem pH-Wert von 4,3 bis 4,9 und einem a_w -Wert von 0,91 bis 0,95 (KRÄMER 1997). Für Mensch und Tier sind einige Vertreter dieser Gattung

pathogen (*Bacillus anthracis*), einige Species, wie *B. subtilis*, werden industriell zur Gewinnung von Enzymen (z.B. Proteasen) eingesetzt (MÜLLER 1992). *Bacillus*-Erreger sind ubiquitär verbreitet. Aerobe Sporenbildner sind in erster Linie Erdbodenkeime (SINELL 1992). *Bacillus cereus* ist als Erreger von Lebensmittelinfektionen zu beachten. Seltener werden bei Lebensmittelinfektionen *B. subtilis*, *B. laterosporus*, *B. sphaericus*, *B. licheniformis* und andere Species gefunden, wobei ihre Rolle als Pathogene nicht gesichert werden kann (ROLLE und MAYR 2007). Tab. 2.25 gibt die Angaben zur Bedeutung einzelner Species. Tab. 2.26 gibt typische Eigenschaften des Keimes *Bacillus subtilis* wieder.

Tabelle 2.25: Bedeutung wichtiger *Bacillus*-Arten (ROLLE und MAYR 2007)

Spezies	Bedeutung
B. anthracis	Milzbrand
B. cereus	„Pseudomilzbrandbacillus“, Mastitiden bei Kühen, Lebensmittelvergiftungen bei Menschen, Nutzung als Probiotikum
B. subtilis	vorkommen in Lebensmittel, Bekämpfung von Bodenpilzen in Gewächshäusern
B. licheniformis	Bildet Antibiotikum Bacitracin
B. sphaericus	Einsatz zur Vernichtung von Larven der Anopheles-Mücke
B. thuringiensis	Biologische Schädlingsbekämpfung im Pflanzenschutz und zur Vernichtung von Mückenlarven

Tabelle 2.26: Charakteristika von *Bacillus subtilis* (BURKHARD 1992; SELBITZ 1992; HOLT et al. 1993):

Morphologie	grampositive bis gramlabile Stäbchen
Wachstum auf festen Medien	große, raue, trockene, grau-weiße Kolonie aerobes Wachstum bei 5-55 °C
Biochemie	POSITIV
	Katalase
	Voges-Proskauer-Reaktion
	Nitratreduktionstest
	Stärkeabbau
	Wachstum in NaCl (7 %)
	Gas/Säure aus Glukose
	Zitratabbau
	NEGATIV
	H ₂ S-Bildung
	Lezithinabbau
	Laktosevergärung

3. Eigene Untersuchungen

3.1. Material

Das Probenmaterial stammte aus zwei Schlachtbetrieben mit baugleichen Kühlsystemen. 80 % des Materials wurden von einem Betrieb in Sachsen-Anhalt bezogen, die restlichen Materialien stammten aus einem Betrieb in Brandenburg. Es handelte sich in jedem Falle um Muskulatur des *M.longissimus dorsi* von Schweinehälften mit einem Schlachtgewicht von 85 – 90 kg, die (nach einer Zwischenlagerung in den Betrieben von max. 4 – 5 Tagen) gekühlt angeliefert wurden. Das Fleisch war wegen substanzieller Mängel untauglich beurteilt worden. Der Transport erfolgte bei einer Umgebungstemperatur von max. + 8 °C im Instituts-eigenen Kühl-LKW, nach der Ankunft wurde das Material bei einer Umgebungstemperatur von + 2 °C gelagert.

3.1.1. Arbeitsmaterial

Für die Aufarbeitung der Proben und die Vorbereitung der Ansätze wurden folgende Geräte eingesetzt:

- Tablett
- Pinzetten
- Scheren
- Stanzen (aus korrosionsbeständigem, leicht zu reinigendem und desinfizierbarem Material mit einer Fläche von 5 cm²)
- Drigalskispatel
- Schablonen (20 cm² Fläche)
- Homogenisierbeutel für Stomacher 400
- Autoklav (Fa. Medizin und Labortechnik KG, Fritz Gössner GmbH & CO)
- Wasserbad (Fa. Medizin und Labortechnik KG, Fritz Gössner GmbH & CO)
- Brutschränke
 - 30°C (Fa. Ehret)
 - 37°C (Fa. Melag)
- Klimaschrank (Fa. Rumed, Rubarth Apparate GmbH, Version D/30-35/9-90)
- Stomachergerät 400 (Coloworth, Modell Nr. BA 6021, Serien Nr. 2012)
- pH-Meter (HANNAinstruments, HI 9025)

3.1.2. Die Testkeime

Als Zielkeim wurde *Salmonella* Typhimurium ausgewählt, als Begleitflora wurden *Staphylococcus aureus* und *Bacillus subtilis* verwendet. Die Charakteristika der Stämme sind im Anhang A niedergelegt. Folgende Typstämme fanden Anwendung:

<i>Salmonella</i> Typhimurium	BGA 85
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633

3.1.3. Medien

Die nachfolgend aufgeführten Medien und Lösungen wurden eingesetzt:

- Hirn-Herzbouillon (BHI)
- Standard I Agar
- Standard I Agar unter 5 % Schafblutzusatz, defibriniert („Blutagar“)
- Physiologische Kochsalzlösung

Zusammensetzung und Zubereitung der Medien können dem Anhang A entnommen werden.

3.2. Methodik

Labortechnische Ansätze

Es wurde der Einfluss unterschiedlicher Temperatur-/ Zeitkombinationen auf eine bekannte Mikroflora auf der Oberfläche von Schweinemuskulatur durch Untersuchungen vor und nach der Behandlung geprüft.

Methodische Absicherung des Versuchsdesigns

In der methodischen Absicherung erfolgten eine quantitative mikrobiologische Untersuchung der eingesetzten Fleischoberflächen, die quantitative Verifizierung der Keimzahl der bereits mischfertigen Bouillon der Teststämmen sowie die Verifizierung der Menge der jeweils auf die Fleischflächen aufzubringenden Testbouillon. Parallel zu den laufenden Untersuchungen wurden die Teststämmen regelmäßig auf ihre Identität überprüft.

Mikrobiologische Aufarbeitung der bearbeiteten Fragestellungen

In der mikrobiologischen Aufarbeitung wurde der Einfluss der vorgesehenen Temperatur-/ Zeitkombinationen auf die vorher präparierten mikrobiologischen Assoziationen reflektiert.

3.2.1. Grundtechniken

3.2.1.1. Identifizierung der Teststämmen

Die eingesetzten Stämme wurden zunächst vollständig charakterisiert und im Laufe der Untersuchungen regelmäßig auf ihre Identität überprüft. Zusammensetzung, Zubereitung und Eigenschaften der Keime sind im Anhang A wiedergegeben.

Wochenweise wurde die Identität der Teststämmen mittels Gram- Färbung, KOH Test, Oxidase und Hämolyse verifiziert. Die restlichen erforderlichen biochemischen Tests zur Identifizierung der Teststämmen erfolgten in zwei bzw. drei Wochen-Abständen (Anhang A).

Pro Tagesansatz wurde eine Kolonie, die morphologisch auf *Salmonella* hindeutete, durch serologische Untersuchung verifiziert. Getestet wurde *Salmonella* auf Selbstagglutination in physiologischer Kochsalzlösung (negativ) sowie auf Anwesenheit von *Salmonella*-Antigenen durch Agglutination mit Enteroclon Anti-Salmonella I (A-E).

Insgesamt dreimal während des gesamten Versuches wurde der *Salmonella*-Stamm mittels BBL Enterotube II vollständig überprüft.

Tabelle 3.1. gibt die angewandten Methoden zur Identifizierung der Teststämmen wieder.

Tabelle 3.1: Identifizierung der Teststämme

<i>Salmonella Typhimurium</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
Gram-Färbung: <i>gram- negative Stäbchen</i>	Gram-Färbung: <i>gram-positive Kokken</i>	Gram-Färbung: <i>gram-positive Stäbchen</i>
KOH-Test: <i>positiv</i>	KOH-Test: <i>negativ</i>	Sporennachweis: <i>aerobe Sporenbildner</i>
Voges-Proskauer-Reaktion: <i>negativ</i>	Wachstum (aerob/ anaerob): <i>fakultativ anaerob</i>	Voges-Proskauer-Reaktion: <i>positiv</i>
BBL Enterotube II: <i>Auswertung in Anhang A</i>	Hämolyse: <i>Vollständige Hämolysebildung</i>	Wachstum (aerob/ anaerob): <i>aerob</i>
Dreizucker-Eisen-Agar: <i>Auswertung in Anhang A</i>	Dnase: <i>positiv</i>	-
Harnstoff-Abbau: <i>negativ</i>	Plasmakoagulase: <i>positiv</i>	-
Lysin-Decarboxylase: <i>positiv</i>	Oxidase-Test: <i>negativ</i>	-
Indol-Reaktion: <i>negativ</i>	-	-
Enteroclon Anti-Salmonella I (A-E): <i>sichtbare Agglutination</i>	-	-

3.2.1.2. Verfahren zur Bestimmung der Keimzahl (quantitativ)

Für alle quantitativen Erhebungen wurde als Grundansatz eine Bestimmung der Gesamtkeimzahl (GKZ) mittels Spatelverfahren durchgeführt (LFGB § 64). Die jeweilig erforderlichen Modifikationen sind an der entsprechenden Stelle beschrieben. Der Grundansatz war wie folgt:

Die zu untersuchende Keimsuspension (10^0) wurde zunächst in dezimalen Schritten mit NaCl- Pepton-Lösung verdünnt:

1 ml der gut durchmischten Keimsuspension wurde in ein Röhrchen mit 9 ml Verdünnungsflüssigkeit gegeben (10^{-1}). Aus diesem wurde nach gründlicher Durchmischung 1 ml entnommen und in ein weiteres Röhrchen mit steriler 9 ml Verdünnungsflüssigkeit pipettiert (10^{-2}). Die Zahl der weiterhin benötigten Verdünnungsstufen richtete sich nach dem zu erwartenden Keimgehalt der Suspension.

Aus jeder der benötigten Verdünnungsstufe wurden 0,1 ml in sterile Petrischalen mit Standard-I Nähragar überführt, wobei für jede Stufe zwei Petrischalen parallel (Doppelansatz) angelegt wurden. Die aufgetragenen Teilmengen auf den Petrischalen wurden mit Spateln in kreisender Bewegung gleichmäßig verteilt.

Insgesamt wurden zwei Standard-I Platten pro Verdünnungsstufe eingesetzt. Die so beimpften Platten wurden für 48 Stunden bei 30°C im Brutschrank mit dem Boden nach oben bebrütet. Nach Ablauf der Bebrütungszeit wurden alle sichtbaren Kolonien der Platten zweier

aufeinander folgender Verdünnungsstufen ausgezählt, deren Kolonienzahlen zwischen 1 und 300 lagen.

Die Berechnung des gewichteten Mittelwertes (GKZ) erfolgte aus den Kolonienzahlen der niedrigeren und der nächst höheren auswertbaren Verdünnungsstufen (der vier ausgezählten Platten):

$$\bar{C} = \frac{\sum c}{(n_1 \times 1) + (n_2 \times 0,1)} \times 10$$

\bar{C} : der gewichtete Mittelwert der Kolonienzahlen

$\sum c$: Summe der Kolonien aller Platten, die zur Berechnung herangezogen werden

n_1 : Anzahl der Platten der niedrigsten auswertbaren Verdünnungsstufe

n_2 : Anzahl der Platten der nächst höheren auswertbaren Verdünnungsstufe

Beim Oberflächenspatelverfahren ergibt sich der Wert pro ml durch Multiplikation des errechneten gewichteten Mittelwertes mit 10 (es wurden 0,1 ml ausgespatelt) und anschließende Multiplikation mit dem Verdünnungsfaktor, bezogen auf die niedrigere Verdünnungsstufe.

3.2.2. Anwendung

3.2.2.1. Herstellung der 18 h Kulturen (Teststämme)

Pro Tagesansatz wurde für jeden der gewählten Stämme individuell die GKZ ermittelt, um für jeden Versuchstag eine quantitativ reproduzierbare Keimkonzentration gewährleisten zu können. Die in Reinkultur vorliegenden Stämme wurden in BHI-Bouillon überimpft und einheitlich für 18 h bei 37°C bebrütet (Keimsuspension 10^0). Anschließend wurden die Gesamtkeimzahlen dieser Kulturen mittels Spatelverfahren bestimmt. Bezugseinheit war in diesem Falle 1 ml.

3.2.2.2. Zusammensetzung und Herstellung der Keimmischungen für die Beimpfung der Fleischoberflächen

Die aufzutragende Keimmischung („Mix“) wurde pro Tagesansatz aus den Teststämmen *Salmonella* Typhimurium, *Staphylococcus aureus* und *Bacillus subtilis* zusammengestellt.

Zunächst wurde für jeden Stamm eine dezimale Verdünnungsreihe aus den 18 h-Kulturen der einzelnen Stämme hergestellt. Dazu wurde von jedem Testkeim 1 ml aus dem Röhrchen, in dem die erwünschte Keimzahl/ml erwartet wurde, in ein steriles Röhrchen pipettiert (Abb.3.1). Im Ergebnis entstand aus allen drei Suspensionen unterschiedlicher Konzentration eine „Mix-Kultur“ von insgesamt 3 ml in einem sterilen Röhrchen mit einem reproduzierbaren Keimgehalt jeden Inokulates, die für die Untersuchungen herangezogen wurden („Originalröhrchen“= 10^0).

Im Anschluß daran wurde aus den drei 18 h-Kulturen die GKZ ermittelt, um sicherzustellen, dass die am Untersuchungstag unterstellte Keimdichte auch wirklich vorgelegen hatte.

Je nach der beabsichtigten Zusammensetzung war die „Mix-Kultur“ unterschiedlich zusammengesetzt. Es wurden zwei Konzentrationen, die auf die *Salmonella*-Konzentration bezogen waren, zusammengestellt:

Salmonella in niedriger Zahl im Vergleich zu der Begleit-Testflora

- *Salmonella*: 1 ml aus der Verdünnungsstufe 10^{-7}
- *Staphylococcus*: 1 ml aus der Verdünnungsstufe 10^{-6}
- *Bacillus*: 1 ml aus der Verdünnungsstufe 10^{-5}

Salmonella in hoher Zahl im Vergleich zu der Begleit- Testflora

- *Salmonella*: 1 ml aus der Verdünnungsstufe 10^{-6}
- *Staphylococcus*: 1 ml aus der Verdünnungsstufe 10^{-7}
- *Bacillus*: 1 ml aus der Verdünnungsstufe 10^{-5}

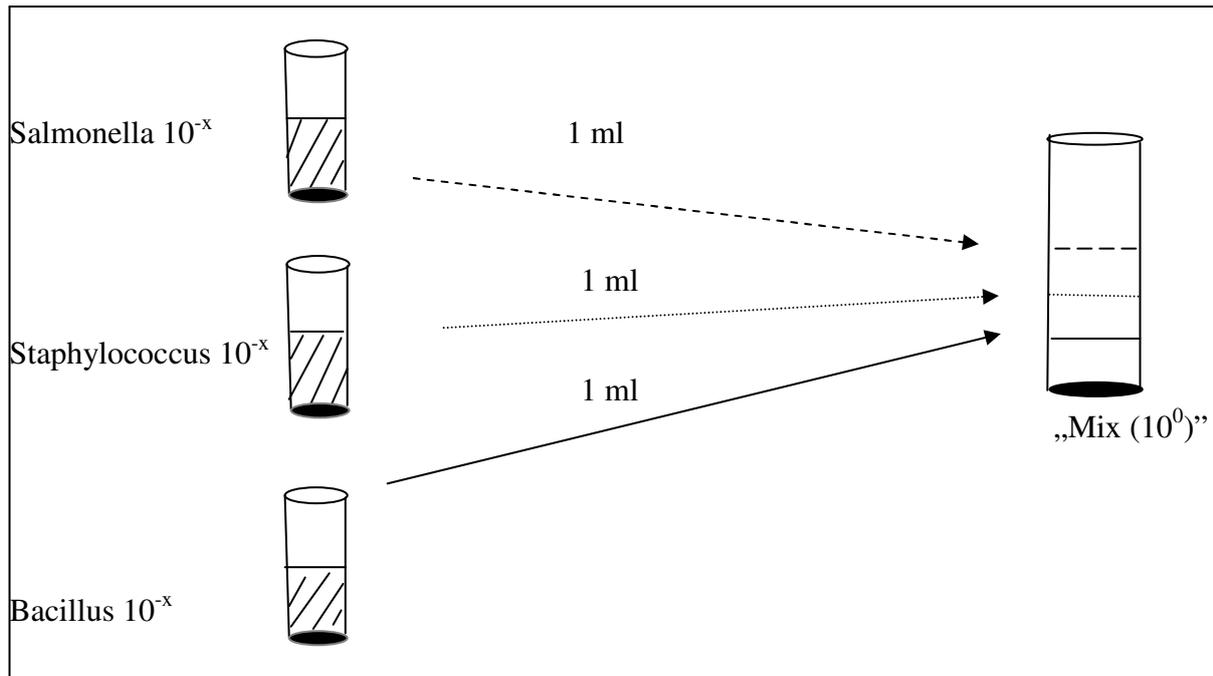


Abb. 3.1: Herstellung der Inokulationsflüssigkeit („Mix-Kultur“)

Aus der so erarbeiteten und quantifizierbaren Keimmischung, die ein neues Original (10^0) darstellte, wurden zwei Blutagar-Platten und eine Standard-I-Platte zur nachträglichen Verifizierung der in der Mischung tatsächlich vorhandenen Keimzahlen beimpft und hieraus die tatsächliche GKZ ermittelt. Dazu wurden nach Ablauf der Bebrütungszeit (48 Stunden bei 30°C) die (morphologisch unterscheidbaren) *Salmonella*-, *Staphylococcus*- und *Bacillus* KbE für jeden Stamm auf den Blutagar-Platten sowie die gesamte Keimzahl ausgezählt. Bezugseinheit in diesem Falle war 1 ml.

Im Gegensatz zu der bereits beschriebenen Grundrückrechnung erfolgte in diesem Falle die Berechnung für die einzelnen Keime wie folgt:

<i>Salmonella</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>Bacillus</i>
$c_1 = \frac{n_1 + n_2}{2}$	$c_2 = \frac{n_1 + n_2}{2}$	$c_3 = \frac{n_1 + n_2}{2}$

n_1 : KbE auf Platte 1
 n_2 : KbE auf Platte 2

Aus beiden Platten wurde für jeden der drei Teststämme bei der jeweiligen Verdünnungsstufe das Mittel gebildet und nach dem oben angegebenen Schema zurückgerechnet. Bezugseinheit

war 1 ml. Die Tabellen 9.3. - 9.4. des Anhanges 9 B geben die rechnerisch vorgesehenen Ergebnisse aus den Einzelbouillons und die Tabellen 9.5. – 9.6. die analytisch ermittelten Ergebnisse aus dem Keim-Mix an den jeweiligen Untersuchungstagen wieder.

Aus der Keimmischung wurde auch die Anzahl den vorhandenen *Salmonella*-Kolonien ermittelt. Die Tabellen 9.7. und 9.8. des Anhanges 9 B geben die Einzelwerte der in 0,1 ml vorhandenen Salmonellen wieder. Mit 0,1 ml der so beschriebenen Inokulationsflüssigkeit wurden die 20 cm² Fleischflächen beimpft.

3.2.2.3. Ermittlung der mikrobiologischen Assoziationen auf den zu prüfenden Fleischoberflächen

Vorbereitung der Fleischoberfläche

Für jeden einzelnen Tagesansatz wurden drei etwa 60 cm lange oder zwei etwa 70 cm Fleischstücke verwendet.

Die Muskulatur wurde mit sterilem Instrumentarium von Haut, Unterhaut und Fettansatz frei präpariert, anschließend wurde jedes Fleischstück je nach der vorliegenden Fläche und Größe aufgeteilt.

- bei 60 (± 5) cm Länge in zwei Teile
- bei 70 (± 5) cm Länge in drei Teile

Bestimmung der GKZ auf der Fleischoberfläche vor dem technischen Eingriff

Vor der Aufteilung und weiteren Bearbeitung wurden von jedem Fleischstück Stanzproben für die Gesamtkeimzahl-Bestimmung des Fleisches (insgesamt 20 cm² Fläche) entnommen. Gleichzeitig wurden die Temperatur (innen) und der pH-Wert des Fleisches gemessen und dokumentiert.

Von jedem frei präparierten Fleischstück wurden an verschiedenen Stellen mit Hilfe einer sterilen Stanze 4 Proben (eine Probe entspricht 5 cm²) entnommen (geprüfte Oberfläche pro Fleischstück: 20 cm²). Die zu entnehmenden Flächen wurden jeweils mit einer Pinzette und einer sterilen Schere von der Unterlage abgetrennt und in einen sterilen Homogenisierbeutel gegeben. Der Homogenisierbeutel wurde anschließend mit 40 ml NaCl-Pepton Flüssigkeit gefüllt (das Verhältnis der Verdünnungslösung zu der Probenahme fläche (20 cm² + 40 ml) entsprach somit einem Verdünnungsverhältnis 1:2 (Fläche zu Volumen).

Die erhaltene Suspension (10⁰) wurde mittels eines Stomachergerätes gut homogenisiert und anschließend in einem dezimalen Schritt mit NaCl-Pepton Flüssigkeit verdünnt. 1 ml der so durchmischten Suspension wurde mit einer sterilen Pipette in das erste Röhrchen mit 9 ml einer sterilen Verdünnungsflüssigkeit gegeben (10⁻¹). Die Flüssigkeiten wurden mit einem Schüttler durch mehrmaliges Aufsetzen je 3 bis 5 sec. vermischt. Aus der Suspension (10⁰) und der erste Verdünnungsstufe (10⁻¹) wurde 0,1 ml in zwei sterile Petrischalen mit Standard-I-Nähragar pipettiert und die aufgetragene Teilmenge mittels Spatel in kreisender Bewegung gleichmäßig verteilt. Die so beimpften Platten wurden im Brutschrank mit dem Boden nach oben bebrütet.

Nach der Bebrütungszeit von 48 h bei 30°C wurden alle Keime ausgezählt, rechnerisch auf 1 ml bezogen (Kap. 3.2.1.2.), das Ergebnis mit 40 multipliziert (40 ml Verdünnungsflüssigkeit) und somit die mikrobielle Besiedlung auf den untersuchten 20 cm² Fleischfläche ermittelt. Die ermittelte Mikroflora wurde als "originäre Flora" bezeichnet.

Beimpfung der Fleischoberfläche mit Testkeimen

Die zur Beimpfung vorbereiteten Fleischteile wurden auf ein steriles Tablett gebracht. Es wurden Schablonen mit einer Fläche von 20 cm² aufgelegt. Aus der „Mix“-Kultur des jeweiligen Tagesprogramms wurde 0,1 ml mit einer sterilen Pipette entnommen, auf die markierten Flächen aufgebracht und über die 20 cm² Fläche mit einem sterilen Spatel gleichmäßig verteilt. Es wurde darauf geachtet, dass vorher beprobte Flächen nicht für die neue Inokulation verwendet wurden. Die angesetzten Schablonen verblieben bis zu Ende des Versuchs, um die erneut zu beprobende Fläche nach dem technologischen Eingriff markieren zu können.

3.2.3. Labortechnische Einflussnahme auf die Oberfläche

Nach Auftragen der vorgesehenen Inokulationsmenge wurden die beimpften und nicht abgedeckten Fleischoberflächen im Klimaschrank mit Umluft über die in dem Versuch vorgesehenen Zeit und Temperatur bebrütet.

Je nach Tagesprogramm wurden verschiedene Temperatur-/ Zeitkombinationen durchgeführt (Abb. 3.2). Insgesamt wurde jede Temperatur-/ Zeitkombination dreimal durchgeführt, dies jeweils in zwei *Salmonella* Konzentrationen (niedrig / hoch).

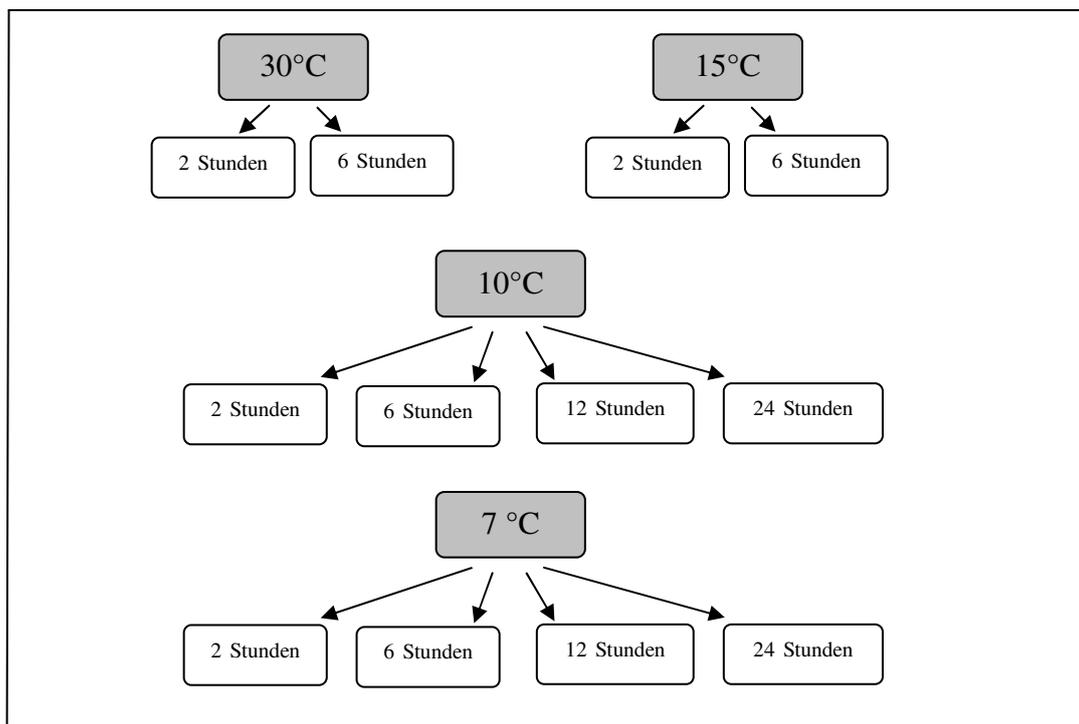


Abb. 3.2: Für die experimentellen Durchführungen ausgewählte Temperatur/ Zeit-Kombinationen

3.2.4. Aufarbeitung der Oberflächen und Auswertung der Ergebnisse nach dem labortechnischen Eingriff

Vor der Aufteilung des Fleisches und der Beimpfung entstandenen Flächen war die Gesamtkeimzahl der unbehandelten Fleischstücke ermittelt worden ("originäre Flora"). Es folgten die Beimpfung der Flächen und die labortechnologische Behandlung. Nach Ablauf der jeweiligen Temperatur/ Zeit- Kombination wurden mit Hilfe einer sterilen Stanze Proben von den beimpften Fleischoberflächen entnommen und es erfolgte erneute Ermittlung der Gesamtkeimzahl pro Fläche. Aus den einzelnen GKZ-Ergebnissen nach der labortechnologischen Behandlung wurde für das entsprechende Fleischstück ein Mittelwert errechnet, so dass die GKZ vor der Behandlung mit der entsprechenden GKZ (Mittelwert) nach der Behandlung verglichen werden konnte.

3.2.4.1. Feststellung der GKZ auf den beprobten Oberflächen

Die Oberfläche wurde mittels einer Stanze entnommen, insgesamt auf 20 cm² zu einer Probe vereinigt und in einen sterilen Homogenisierbeutel mit 40 ml NaCl- Pepton Flüssigkeit aufgefüllt. Das Verhältnis der Verdünnungslösung zu der Probennamefläche entsprach dem Verdünnungsverhältnis 1:2 (20 cm² + 40 ml, Fläche zu Volumen).

Die Suspension (10⁰) wurde mit dem Stomachergerät gut homogenisiert und anschließend mit NaCl- Pepton Flüssigkeit verdünnt. 1 ml der gut durchmischten Suspension wurde mit einer sterilen Pipette in das erste Röhrchen mit 9 ml steriler Verdünnungsflüssigkeit überführt (10⁻¹). Die Flüssigkeiten wurden mit einem Schüttler durch mehrmaliges Aufsetzen je 3 bis 5 sec. vermischt.

Aus der Suspension (10⁰) und der ersten Verdünnungsstufe (10⁻¹) wurden je 0,1 ml in zwei sterilen Petrischalen mit Standard I überführt und mit einem Spatel auf der Oberfläche gleichmäßig verteilt.

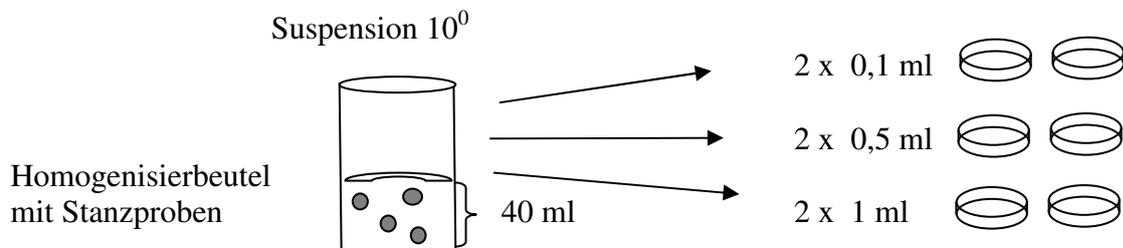


Abb. 3.3: Beimpfung der Blutplatten aus der Suspension im Stomacherbeutel nach dem technischen Eingriff

3.2.4.2. Ermittlung der gewachsenen *Salmonella* Kolonien ("Rohwerte") sowie der Staphylococcus- und Bacillus-Kolonien

Zusätzlich wurden aus der Suspension (Ausgangsverdünnung 10⁰) mit einer sterilen Pipette Teilmengen von 0,1 ml, 0,5 ml und 1 ml jeweils im Doppelansatz auf Blutagar-Platten aufgetragen und mit einem Spatel gleichmäßig verteilt (Abb. 3.3). Die so beimpften Platten wurden im Brutschrank 48 Stunden bei 30°C bebrütet und quantitativ auf das Vorkommen von *Salmonella*-typischen Kolonien geprüft, typische KbE wurden ausgezählt. *Salmonella*-verdächtige Kolonien wurden in physiologischer Kochsalzlösung auf Selbstagglutination

getestet sowie auf Anwesenheit von *Salmonella*-Antigenen durch Agglutination mit Enteroclon Anti-Salmonella I.

Die Verifizierung von Staphylococcus und Bacillus konnte auf Blutmedien ebenfalls auf morphologischer Basis durchgeführt werden.

Anhand der ermittelten *Salmonella* KbE pro Platte war es möglich, das Vorhandensein von Salmonella nach dem Eingriff quantitativ und qualitativ festzuhalten.

Nach der Inkubation wurden die auf den Platten gewachsenen *Salmonella*-ähnlichen Kolonien ausgezählt und auf 20 cm² Fleischoberfläche hochgerechnet.

Durch die unterschiedlichen Inokulationsmengen auf den Platten war eine quantitative Einschätzung des Salmonellenwachstums möglich.

a) Rückrechnung bei einem Inokulat von 0,1 ml pro Platte

$$\bar{C} = \frac{\sum c}{2} \times 10 \times 40$$

\bar{C} : der gewichtete Mittelwert der Kolonienzahlen

$\sum c$: Summe der *Salmonella*-ähnlichen Kolonien beider Platten

Für den Bezug auf 1 ml der Stomacherflüssigkeit wurde der Wert mit 10 multipliziert.

Das Endergebnis wurde mit 40 multipliziert (40 ml Verdünnungsflüssigkeit) und die *Salmonella*-verdächtigen Kolonien auf den untersuchten 20 cm² Fleischfläche ermittelt.

b) Rückrechnung bei einem Inokulat von 0,5 ml pro Platte

$$\bar{C} = \frac{\sum c}{2} \times 2 \times 40$$

\bar{C} : der gewichtete Mittelwert der Kolonienzahlen

$\sum c$: Summe der *Salmonella*-ähnlichen Kolonien beider Platten

Für den Bezug auf 1 ml der Stomacherflüssigkeit wurde der Wert mit 10 multipliziert.

Anschließend wurde mit 40 multipliziert (40 ml Verdünnungsflüssigkeit) und somit wurden die *Salmonella*-verdächtigen Kolonien auf den untersuchten 20 cm² Fleischfläche ermittelt.

c) Rückrechnung bei einem Inokulat von 1 ml pro Platte

$$\bar{C} = \frac{\sum c}{2} \times 40$$

\bar{C} : der gewichtete Mittelwert der Kolonienzahlen

$\sum c$: Summe der *Salmonella*-ähnlichen Kolonien beider Platten

Für den Bezug auf 1 ml der Stomacherflüssigkeit wurde der Wert mit 10 multipliziert.

Das in 1 ml berechnete Ergebnis wurde mit 40 multipliziert (40 ml Verdünnungsflüssigkeit) und die Anzahl der *Salmonella*-verdächtigen Kolonien auf den untersuchten 20 cm² Fleischfläche ermittelt.

A) Qualitativer Nachweis von *Salmonella* auf den geprüften Fleischoberflächen.

War auf einer der ausgestrichenen Blutagar-Platten *Salmonella* nachweisbar, galt der betreffende Ansatz zudem als „*Salmonella* positiv nach dem labortechnischen Einfluss“. Diese zusätzliche qualitative Auswertung (positiv / negativ) basiert auf Ergebnissen aus allen drei Ansätzen (0,1 ml, 0,5 ml, 1 ml).

B) Ermittlung der gewachsenen *Salmonella* Keime nach einem MPN-adaptierten Verfahren

Die Ermittlung der *Salmonella* nach einem MPN-adaptierten Verfahren diene dem quantitativen sowie dem indirekten qualitativen Nachweis von *Salmonella* auf den geprüften Fleischoberflächen. War auf eine der ausgestrichenen Blutagar-Platte *Salmonella* nachweisbar, galt der betreffender Ansatz zudem als „*Salmonella* positiv nach dem labortechnischen Einfluss“.

Das Verfahren reflektiert auf statistischem Wege die “wahrscheinlichste Keimzahl“.

Nach Auszählung der *Salmonella*-typischen KbE auf den Platten (inokuliert mit jeweils 0,1 ml, 0,5 ml, 1 ml) wurde aus den einzelnen Ergebnissen rechnerisch ein Gesamtergebnis ermittelt (Abb. 3.5). Dies erfolgte in Anlehnung an das MPN-Verfahren (Most Probable Number).

Inokula-Menge:	0,1 ml (2x)	0,5 ml (2x)	1 ml (2x)	= 0,2+1+2=3,2 ml
Platte 1 und 2:	 	 	 	
Anzahl der <i>Salmonella</i> :	1 0	2 1	3 0	
KbE Insgesamt:	1	+ 3	+ 3	= 7 KbE in 3,2 ml
In 1 ml	$\frac{7}{3,2} = 3,1875 \text{ KbE}$			
In 40 ml	$3,1875 * 40 = 127,5 \text{ KbE}$			

Abb. 3.5: Beispiel für die Berechnung des quantitativen Gehaltes von Salmonellen auf den behandelten Fleischoberflächen

Es wurden alle *Salmonella*-typischen KbE aus den o. a. Ansätzen addiert, diese Zahl auf die Menge des gesamt aufgebrauchten Inokulats [(0,1 + 0,5 + 1 ml) * 2 = 3,2 ml] bezogen und anschließend auf 1 ml umgerechnet. Danach wurde auf die betrachtete Quadratfläche zurückgerechnet.

3.2.4.3. Der resultierende Tagesansatz

Pro Tagesansatz ergibt sich folgender Analysegang (Tab. 3.2):

Pro Tagesansatz wurden für eine Fleischoberfläche insgesamt zwei GKZ-Analysen (eine GKZ vor- und je nach Größe des Fleischstückes eine, zwei oder drei GKZ-Bestimmungen nach dem labortechnischen Einfluss) durchgeführt. Die GKZ auf den Fleischoberflächen vor

der Behandlung sind im Ergebnisteil (Tab. 4.12. und 4.13.) wiedergegeben, desgleichen die nach der technologischen Behandlung ermittelten Werte (Tab. 4.15 und 4.16).

Tabelle 3.2: Durchgeführte Analysen pro Tagesansatz

GKZ Fleisch vor dem Einfluss	1
GKZ Fleisch nach dem Einfluss (je nach Größe des Fleischstückes)	1, 2 bzw.3
Bouillon der 3 Teststämme	3
Mischung aus den 3 Stämmen	1
S.Typhimurium in der Mischung	1
Salmonella MPN	1

Abbildung 3.4 demonstriert die Probeentnahmen vor und nach der labortechnischen Bearbeitung an zwei Beispielen. Die Stanzproben (I) geben die Ermittlung der originären Keimzahl wieder, die Stanzproben (II) stehen für die Keimzahl der Oberfläche nach dem technischen Eingriff.

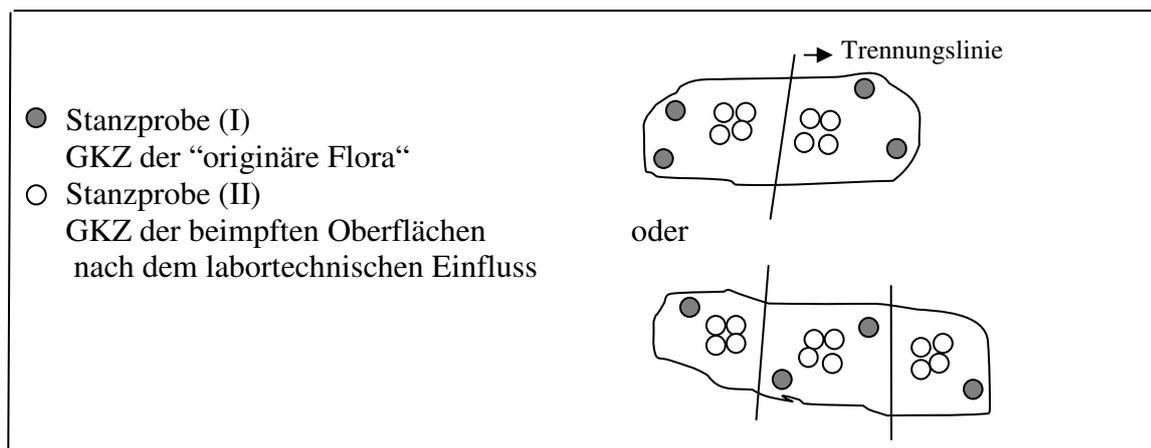


Abb. 3.4: Probeentnahmen vor und nach dem labortechnischem Einfluss

4. Ergebnisse

Ziel der Arbeit war es, eine experimentell aufgebrauchte Flora von *Salmonella* Typhimurium auf einer Fleischoberfläche bei verschiedenen Temperaturen über unterschiedliche Zeitintervalle zu verfolgen, dies in Konkurrenz zu der bereits vorhandenen Fleischflora und einer zusätzlich aufgebrauchten definierten Begleitflora.

Bei den Fleischproben handelte sich um Material vom *M. longissimus dorsi* vom Schwein. Insgesamt wurden 209 Fleischstücke beprobt, die in 432 individuelle Oberflächen geteilt und einer unterschiedlichen labortechnologischen Behandlung ausgesetzt wurden.

Bedingt durch die Kapazität des Klimaschranks war die Lagerung bei einer jeweils gewählten Temperatur/ Zeit-Kombination nur für 6 beimpfte Fleischoberflächen möglich. Aus diesem Grunde wurden die technischen Durchführungen dreimal durchgeführt. Eine *Salmonella*-Konzentration wurde somit bei einer gegebenen Temperatur/ Zeit- Kombination insgesamt 18mal geprüft.

Abb. 4.1 gibt ein Beispiel für die Untersuchungen während eines Untersuchungsansatzes mit ihren einzelnen Stationen wieder:

„Die eingehende Originaloberfläche“:

Zur Bestimmung der vorhandenen Mikroflora des eingehenden Fleisches wurde an jeweils 4 Stellen (insgesamt 20 cm²) Material entnommen und anschließend gepoolt, sodass für jede pro Tag zur Verfügung stehende Oberfläche ein Analyseergebnis vorlag.

104 Fleischstücke (Tab. 4.1) wurden für die Bedingung „*Salmonella* in niedriger Konzentration“, weitere 105 Teile (Tab. 4.2) für die Bedingung „*Salmonella* in hoher Konzentration“ eingesetzt (die Gesamtübersicht auf der Basis aller ermittelten Angaben für beide Konzentrationen sind in Tab. 4.3 wiedergegeben).

„Die aufzutragende Mikroflora“:

Für jeden Untersuchungstag wurde für die jeweils angezüchteten Teststämme in Bouillon zunächst rechnerisch von einer angenommenen Keimzahl auf die beabsichtigte Keimzahl herunterverdünnt. Zur Verifizierung wurde die GKZ der Ausgangsansätze geprüft (Tab. 4.4.), an Hand der dort ermittelten Ergebnisse wurde auf die Keimzahl für *Salmonella*, *St.aureus* und *B.subtilis* zurückgeschlossen (Schätzwerte), die auf die Oberflächen aufgetragen worden waren (Tab. 4.5 bis Tab. 4.7).

Aus der Natur des Ansatzes folgt, dass am Tage des technischen Einflusses die finale Zusammensetzung der aufzubringenden Suspension nicht bekannt sein konnte.

Zuletzt wurde die Zusammensetzung der final aufzutragenden Inokulationsbouillon auch analytisch erfasst (Tab. 4.8 bis Tab. 4.10). Dies diente der Verifizierung, dass die aufgetragene Mikroflora der vorgesehenen Menge tatsächlich auch entsprach.

Getestet wurden zwei *Salmonella*-Konzentrationen: Die Ansätze für „*Salmonella* in niedriger Konzentration“ erfolgten insgesamt an 21 Tagen, für „*Salmonella* in hoher Konzentration“ erfolgten die Ansätze insgesamt an 20 Tagen. Aus den vorliegenden Fleischstücken wurden für jede *Salmonella*-Konzentration je 216 Oberflächen vorbereitet. Die Konzentration der Salmonellen in den Keimmischungen betrug 0,91 (lg) in niedriger und 1,88 (lg) in hoher Konzentration (Tab. 4.11).

„Der Keimstatus vor dem technischen Einfluss“ (rechnerisch ermittelt):

Durch Addition der „originären Flora“ und der „aufzubringenden Flora“ wurde der mikrobiologische Status der Testoberfläche vor dem labortechnischen Einfluss (Tab. 4.12 bis 4.14) ermittelt.

„Der labortechnische Einfluss“ und „nach dem labortechnischen Einfluss“

Nach Auftragung der vorgesehenen Menge auf die dafür vorgesehene Fläche erfolgt der „labortechnische Eingriff“, woran sich erneut eine Analyse der Oberflächen-GKZ (Tab. 4.15 bis 4.17) anschloss.

Um den Wert vor dem Eingriff (1 GKZ) mit den Werten nach dem Eingriff (1, 2 bzw. 3 GKZ-Werte) vergleichen zu können, wurden die durch Analyse ermittelten zwei oder drei Werte nach dem technischen Einfluss gemittelt (Tab. 4.18 bis 4.20).

„Die spezielle *Salmonella*-Auswertung“:

Es schloss sich eine qualitative (Tab. 4.21 bis 4.23, Abb. 4.2, 4.3) und eine quantitative (Tab. 4.24 bis 4.31) Überprüfung des Salmonellen-Status auf den Oberflächen an.

Der nachfolgende Ergebnisteil ist somit wie folgt strukturiert:

Im Kapitel 4.1. [Ergebnisse der Probenvorbereitung und Verifizierung der Auftragung] werden zunächst die Ergebnisse unabhängig von der Fragestellung, d.h. ohne Berücksichtigung der labortechnologischen Gesichtspunkte dargestellt.

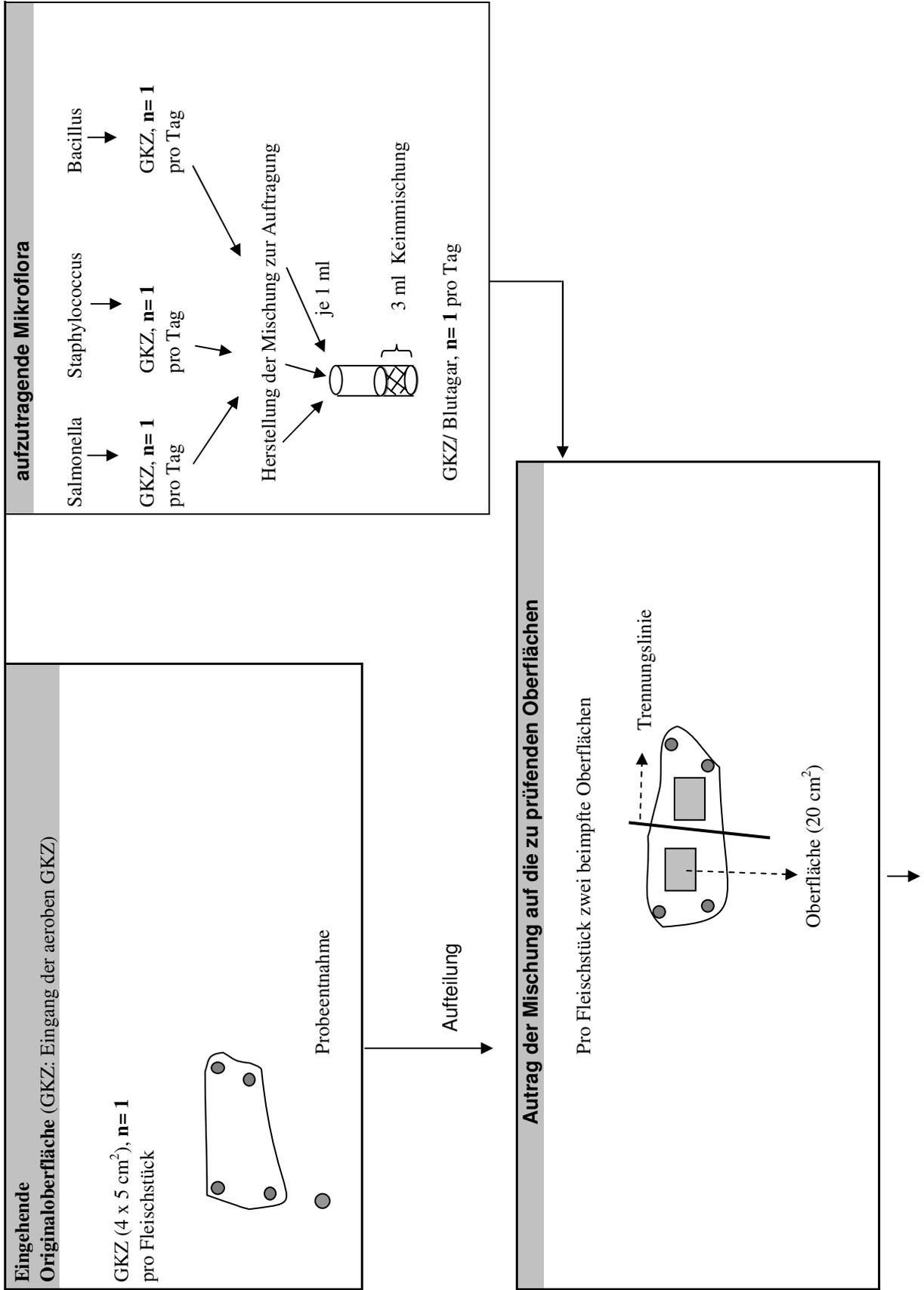
Im Kapitel 4.2. [Quantitativer Keimstatus vor und nach der vorgesehenen Behandlung] erfolgt die Darstellung der Ergebnisse unter Berücksichtigung des technischen Eingriffes.

Im Kapitel 4.3. [Ergebnisse der Untersuchungen auf *Salmonella* unter den gewählten Lagerungsbedingungen] werden qualitative und quantitative Daten der Untersuchungen auf Salmonellen dargestellt.

Im Kapitel 4.4. [Quantitative Ergebnisse nach den labortechnischen Eingriffen in Einzel] wird die Änderung der Mikroflora auf den Oberflächen während des labortechnischen Einflusses wiedergegeben.

Im Kapitel 4.5. [Ergebnisse der aufgetragenen Begleitflora] werden die qualitativen und quantitativen Daten der Untersuchungen auf *Staphylococcus aureus* und *Bacillus subtilis* dargestellt.

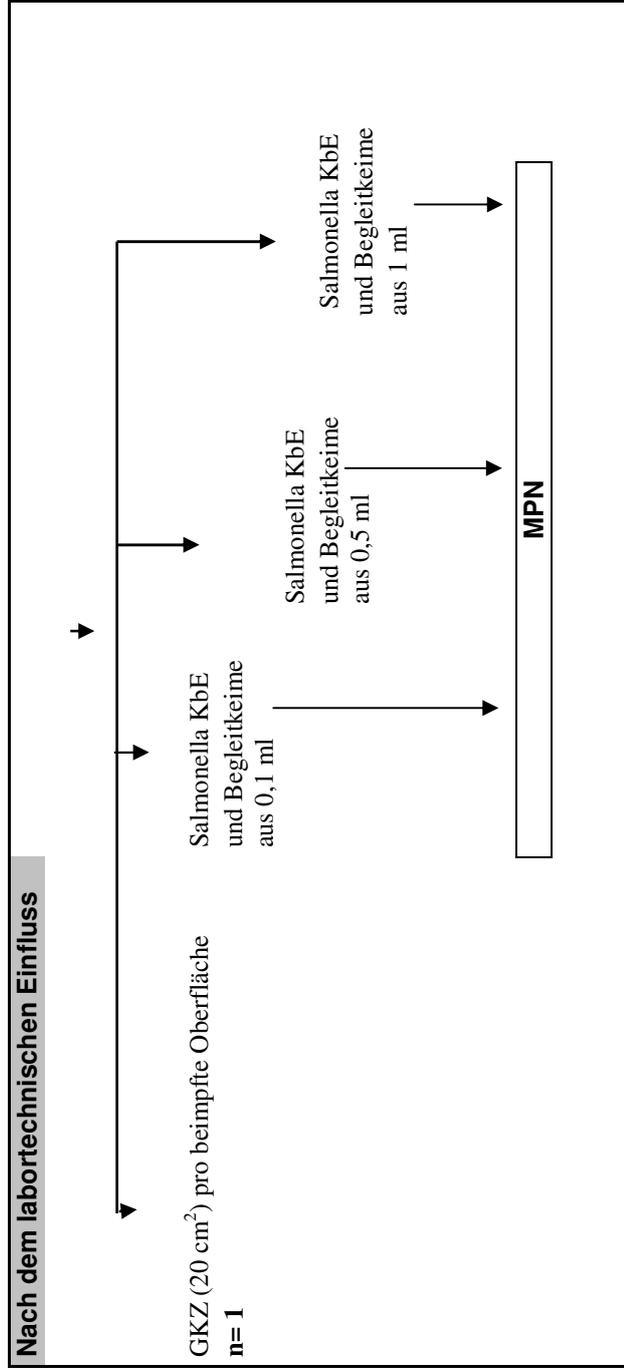
Abb. 4.1: Mikrobiologischer Untersuchungsansatz am Beispiel eines Untersuchungstages



Fortsetzung Abb. 4.1 Mikrobiologischer Untersuchungsansatz am Beispiel eines Untersuchungstages

Labortechnischer Einfluss			
Temperatur			
30°C	2 h	10°C	7°C
	6 h	2 h	2 h
Zeit	6 h	6 h	6 h
	12 h	12 h	12 h
	24 h	24 h	24 h

Jeweils entnommene Probe gestomacht und die gewonnene Flüssigkeit als Original zur Verarbeitungen



4.1. Ergebnisse der Probenvorbereitung und Verifizierung der Auftragung

4.1.1. Ausgangsbesiedlung auf den eingelieferten Fleischoberflächen

Insgesamt wurden 12 labortechnische Einflüsse (Temperatur-/ Zeitkombinationen) geprüft, dies bei zwei unterschiedlichen *Salmonella*-Konzentrationen:

- 104 Fleischoberflächen (*Salmonella* in niedriger Konzentration)
- 105 Fleischoberflächen (*Salmonella* in hoher Konzentration)

Tab. 4.1 gibt die GKZ der Oberflächen wieder, die für den Untersuchungsabschnitt „*Salmonella* in niedriger Konzentration“ eingesetzt worden waren. Die ermittelten Einzelergebnisse lagen zwischen log 2,60 und log 5,06; die Durchschnittswerte (\bar{x}) zwischen log 3,38 und log 4,40.

Tab. 4.2 gibt entsprechend die Ergebnisse der Ausgangskeimzahlen an den Oberflächen wieder, die für die Untersuchungen „*Salmonella* in hoher Konzentration“ eingesetzt worden waren. Die ermittelten Einzelwerte lagen zwischen log 2,60 und log 5,03, die Durchschnittswerte (\bar{x}) zwischen log 3,42 und log 3,96.

Tabelle 4.1: Originäre Flora auf den eingelieferten Oberflächen (20 cm²): Untersuchungssequenz „*Salmonella* in niedriger Konzentration“, Daten logarithmiert

	30°C		15°C		10°C				7°C			
	2h	6h	2h	6h	2h	6h	12h	24h	2h	6h	12h	24h
	4,73	4,96	3,06	3,08	3,85	3,08	5,01	2,60	3,60	4,05	3,46	2,60
	4,46	4,21	3,80	3,06	3,00	2,60	4,44	2,98	3,75	4,52	3,48	4,03
	4,34	4,34	3,12	3,79	3,08	2,78	4,21	4,16	4,57	3,67	3,20	3,43
	4,88	3,82	3,79	3,23	2,90	3,30	4,23	4,28	2,88	4,63	3,80	4,94
	3,81	2,88	3,75	3,46	3,36	3,28	3,88	4,56	3,41	4,25	3,46	4,32
	3,64	4,55	3,74	3,43	3,10	4,36	3,98	3,62	3,18	4,42	3,93	3,74
	4,29	3,71	3,44	2,60	4,48	4,29	5,06	4,59	4,68	4,98	3,84	4,15
	4,34	4,11	4,02	3,36	4,50	4,94	4,36	4,27	4,47	4,57	3,44	3,20
		4,51	3,64	3,62	4,73	4,39		4,46				
			3,74	4,17								
\bar{x}	4,31	4,12	3,61	3,38	3,67	3,67	4,40	3,95	3,82	4,39	3,58	3,80
s	0,42	0,60	0,31	0,43	0,73	0,83	0,44	0,72	0,68	0,40	0,25	0,73
min.	3,64	2,88	3,06	2,60	2,90	2,60	3,88	2,60	2,88	3,67	3,20	2,60
max.	4,88	4,96	4,02	4,17	4,73	4,94	5,06	4,59	4,68	4,98	3,93	4,94

Tabelle 4.2: Originäre Flora auf den eingelieferten Oberflächen (20 cm²): Untersuchungssequenz „*Salmonella* in hoher Konzentration“, Daten logarithmiert

	30°C		15°C		10°C				7°C			
	2h	6h	2h	6h	2h	6h	12h	24h	2h	6h	12h	24h
	2,86	3,74	3,51	2,88	3,10	3,06	3,32	3,12	3,69	4,79	2,60	4,25
	3,06	2,88	3,46	3,44	3,72	3,58	4,04	3,23	3,99	4,32	3,37	3,56
	3,12	3,28	2,78	3,12	3,30	3,54	3,41	4,15	3,78	3,87	3,64	3,82
	2,78	2,98	3,28	3,49	3,67	3,58	3,78	5,03	3,00	3,88	4,11	3,39
	3,49	2,60	3,08	3,23	3,76	3,49	3,98	4,09	2,88	3,64	3,99	2,60
	3,96	3,75	3,30	3,56	3,28	3,87	3,67	3,98	3,48	3,91	3,23	3,00
	4,61	4,07	4,09	4,33	2,88	4,35	4,45	3,86	4,03	3,28	3,66	3,12
	4,46	3,62	4,62	4,61	3,62	4,13	4,22	3,20	3,87		3,18	3,34
	3,18	4,62	3,60	4,20	3,46	4,16		3,28	4,14		3,79	3,54
\bar{x}	3,50	3,50	3,52	3,65	3,42	3,75	3,86	3,77	3,65	3,96	3,51	3,40
s	0,68	0,63	0,55	0,59	0,30	0,41	0,39	0,63	0,45	0,48	0,47	0,48
min.	2,78	2,60	2,78	2,88	2,88	3,06	3,32	3,12	2,88	3,28	2,60	2,60
max.	4,61	4,62	4,62	4,61	3,76	4,35	4,45	5,03	4,14	4,79	4,11	4,25

Tabelle 4.3 gibt eine Gesamtübersicht auf der Basis aller ermittelten Angaben wieder. Insgesamt wurden durchschnittliche Werte zwischen log 3,51 und 4,19 ermittelt.

Tabelle 4.3: Originäre Flora auf den beprobten Oberflächen, beide Konzentrationen Daten logarithmiert

	30°C		15°C		10°C				7°C			
	2h	6h	2h	6h	2h	6h	12h	24h	2h	6h	12h	24h
n	17	18	19	19	18	18	16	18	17	15	17	17
\bar{x}	3,88	3,81	3,57	3,51	3,55	3,71	4,13	3,86	3,73	4,19	3,54	3,59
s	0,69	0,68	0,43	0,52	0,56	0,64	0,48	0,66	0,56	0,48	0,37	0,62
min	2,78	2,60	2,78	2,60	2,88	2,60	3,32	2,60	2,88	3,28	2,60	2,60
max	4,88	4,96	4,62	4,61	4,73	4,94	5,06	5,03	4,68	4,98	4,11	4,94

4.1.2. Die Testkeime

Die quantitative Konstanz war Voraussetzung für den Ansatz einer reproduzierbaren Mischung in der letztlich aufzubringenden Suspension. Aus diesem Grund wurde für jeden Untersuchungstag die GKZ der angesetzten Testkeime neu ermittelt (18 h-Kulturen, Tab. 4.4). Insgesamt wurden an 41 Tagen Ansätze für die Vorbereitung der unterschiedlichen Temperatur- Zeit Kombinationen angelegt:

- 21 Ansätze für jeden Testkeim „*Salmonella* in niedriger Konzentration“ und
- 20 Ansätze für jeden Testkeim „*Salmonella* in hoher Konzentration“.

Die Einzelwerte sind in den Tabellen 9.1 und 9.2 des Anhanges 9 B niedergelegt.

Tabelle 4.4: Aerobe GKZ für die Testkeime nach 18 h / 37°C, Daten logarithmiert

	<i>Salmonella</i>	<i>St.aureus</i>	<i>B.subtilis</i>
n	41	41	41
\bar{x}	9,41	9,48	7,60
s	0,12	0,14	0,19
min	9,19	9,23	7,16
max	9,79	9,81	7,95

n: Zahl der Ansätze

Die Standardabweichungen der an den unterschiedlichen Tagen angesetzten 18h- Kulturen und ihre Mittelwerte zeigen, dass alle drei Testkeime konstant auf den vorgesehenen Keimstatus eingestellt werden konnten:

- *Salmonella* und Staphylococcus auf eine GKZ von > 9 KbE/ ml (log)
- Bacillus auf eine GKZ von > 7 KbE/ ml (log)

4.1.3. Die resultierende Keimmischung

Pro Tagesansatz wurde aus den 18h-Kulturen aus den Testkeimen *Salmonella*, Staphylococcus und Bacillus eine "finale Keimmischung" (aufzubringende Flora) hergestellt. Alle drei Suspensionen wurden auf die vorgesehene Mischung herunterverdünnt und entsprechende Aliquots zusammengegeben. Parallel zu den Tagesuntersuchungen (Temperatur-Zeit Einwirkungen) wurde der Keimgehalt auf der Verdünnungsstufe durch Ausplattieren überprüft und zu einer Gesamtsumme addiert (Tab. 4.5 bis 4.7 sowie die Tabellen 9.3 und 9.4 des Anhanges 9 B). Dieser Wert galt als vorgesehener Wert für die Auftragungen. Auch die durch Mischung entstandene "finale Keimmischung" wurde quantitativ und qualitativ überprüft. Somit wurde bei allen 41 Tagesansätzen die Keimzahl der Ausgangssuspensionen als auch der Endmischung ermittelt.

Tabelle 4.7.gibt eine Gesamtübersicht der rechnerisch erwartete Ergebnisse für die beiden Varianten der *Salmonella*-Konzentration wieder.

Die Tabellen 4.8 bis 4.10 (sowie Tab. 9.5 und 9.6 des Anhanges 9 B) geben die tatsächlich vorliegenden Verhältnisse für die drei Testkeime in dem jeweiligen Ansatz wieder. Hier wurden die Daten zu Bestätigung des Ansatzes analytisch ermittelt.

Tab. 4.10 gibt eine Gesamtübersicht der analytisch ermittelten Ergebnisse für die beiden Varianten der *Salmonella*-Konzentration wieder. Insgesamt liegen die faktischen Ergebnisse ca ein halben Logarithmus unterhalb der errechneten Werte.

Tabelle 4.5: Rechnerisch erwartete Zusammensetzung der resultierenden Keimmischung, *Salmonella* in niedriger Konzentration, Angaben pro 1 ml, Daten logarithmiert

Ansätze	<i>Salmonella</i>	Staphylococcus	Bacillus	insgesamt
1	2,37	3,39	2,67	3,50
2	2,36	3,37	2,52	3,46
3	2,33	3,50	2,67	3,59
4	2,43	3,41	2,90	3,56
5	2,60	3,40	2,78	3,55
6	2,47	3,43	2,95	3,59
7	2,26	3,35	2,62	3,46
8	2,26	3,41	2,76	3,52
9	2,53	3,31	2,66	3,45
10	2,48	3,28	2,58	3,41
11	2,81	3,41	2,82	3,59
12	2,40	3,39	2,47	3,47
13	2,36	3,37	2,39	3,45
14	2,54	3,37	2,41	3,47
15	2,51	3,38	2,40	3,47
16	2,34	3,40	2,65	3,50
17	2,57	3,38	2,53	3,50
18	2,50	3,57	2,61	3,65
19	2,45	3,51	2,78	3,62
20	2,51	3,56	2,69	3,64
21	2,41	3,43	2,16	3,49
\bar{x}	2,45	3,41	2,62	3,52
s	0,13	0,07	0,19	0,07
min.	2,26	3,28	2,16	3,41
max.	2,81	3,57	2,95	3,65

Tabelle 4.6: Rechnerisch erwartete Zusammensetzung der resultierenden Keimmischung, *Salmonella* in hoher Konzentration, Angaben pro 1 ml, Daten logarithmiert

Ansätze	<i>Salmonella</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>Bacillus</i>	insgesamt
1	3,19	2,28	2,95	3,42
2	3,36	2,49	2,75	3,50
3	3,36	2,61	2,76	3,51
4	3,33	2,38	2,53	3,43
5	3,30	2,41	2,63	3,43
6	3,25	2,51	2,44	3,38
7	3,34	2,31	2,50	3,43
8	3,41	2,47	2,73	3,53
9	3,37	2,53	2,58	3,49
10	3,23	2,53	2,84	3,44
11	3,23	2,20	2,63	3,36
12	3,53	2,24	2,82	3,62
13	3,19	2,58	2,77	3,40
14	3,22	2,43	2,23	3,32
15	3,33	2,42	2,65	3,46
16	3,38	2,54	2,53	3,49
17	3,40	2,81	2,61	3,55
18	3,46	2,53	2,78	3,58
19	3,35	2,69	2,69	3,51
20	3,39	2,56	2,16	3,47
\bar{x}	3,33	2,48	2,63	3,47
s	0,09	0,15	0,20	0,08
min.	3,19	2,20	2,16	3,32
max.	3,53	2,81	2,95	3,62

Tabelle 4.7: Rechnerisch erwartete Zusammensetzung der resultierenden Keimmischung, beide *Salmonella*-Konzentrationen, Daten logarithmiert

	<i>Salmonella</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>Bacillus</i>	insgesamt
\bar{x}	2,88	2,96	2,62	3,49
s	0,46	0,49	0,19	0,08
min.	2,26	2,20	2,16	3,32
max.	3,53	3,57	2,95	3,65

Tabelle 4.8: Analytisch ermittelte Gesamtkeimzahl der resultierenden Keimmischung, *Salmonella* in niedriger Konzentration, Angaben in ml, Daten logarithmiert

Ansätze	Salmonella	Staphylococcus	Bacillus	insgesamt
1	1,70	2,76	2,15	2,88
2	1,88	2,73	2,16	2,88
3	1,81	2,85	2,19	2,96
4	1,93	2,76	2,49	2,99
5	2,11	2,82	2,38	3,01
6	1,78	2,77	2,46	2,98
7	1,90	2,65	2,02	2,80
8	1,88	2,86	2,27	3,00
9	1,95	2,88	2,16	2,99
10	1,95	2,72	2,10	2,87
11	1,98	2,83	2,16	2,96
12	1,85	2,68	1,95	2,80
13	1,70	2,69	1,74	2,78
14	2,02	2,71	1,90	2,84
15	1,93	2,81	1,93	2,91
16	1,74	2,78	2,18	2,91
17	1,88	2,74	2,04	2,87
18	1,88	3,00	2,20	3,09
19	2,02	2,71	2,43	2,95
20	2,02	2,95	2,33	3,09
21	2,19	2,88	1,85	2,99
\bar{x}	1,91	2,79	2,15	2,93
S	0,13	0,09	0,20	0,09
min.	1,70	2,65	1,74	2,78
max.	2,19	3,00	2,49	3,09

Tabelle 4.9: Analytisch ermittelte Gesamtkeimzahl der resultierenden Keimmischung, *Salmonella* in hoher Konzentration, Angaben in ml, Daten logarithmiert

Ansätze	<i>Salmonella</i>	Staphylococcus	Bacillus	insgesamt
1	2,67	1,54	2,48	2,90
2	2,91	1,93	2,23	3,03
3	3,00	2,16	2,40	3,15
4	2,88	1,81	2,38	3,03
5	2,72	1,65	1,88	2,81
6	2,85	1,74	1,81	2,92
7	2,99	1,78	2,15	3,07
8	2,97	2,83	2,38	3,26
9	2,90	1,88	2,16	3,01
10	2,67	1,74	2,32	2,87
11	2,70	1,48	2,04	2,81
12	2,95	1,85	2,23	3,06
13	2,57	1,60	2,11	2,74
14	2,76	1,88	1,65	2,84
15	2,87	1,88	2,18	2,98
16	3,00	1,95	1,85	3,06
17	2,98	2,13	2,32	3,11
18	3,00	2,32	2,33	3,16
19	2,94	1,98	2,28	3,06
20	3,11	1,78	1,54	3,14
\bar{x}	2,87	1,90	2,14	3,00
S	0,14	0,30	0,26	0,14
min.	2,57	1,48	1,54	2,74
max.	3,11	2,83	2,48	3,26

Tabelle 4.10: Analytisch ermittelte Ergebnisse der aufzubringenden Keimmischung, beide *Salmonella*-Konzentrationen Daten logarithmiert

	<i>Salmonella</i>	Staphylococcus	Bacillus	insgesamt
\bar{x}	2,38	2,35	2,14	2,96
s	0,51	0,50	0,23	0,12
min.	1,70	1,48	1,54	2,74
max.	3,11	3,00	2,49	3,26

Bestimmung des *Salmonella*-Gehaltes in der resultierenden Keimmischung

Nach Zusammenstellung der Keimmischung und Feststellung des Gesamtkeimgehaltes der Suspension wurde auch der finale Keimgehalt des Zielkeimes *Salmonella* durch gleichzeitige Auszählung der morphologisch typischen KbE festgestellt.

Tabelle 4.11 gibt die absolute Zahl von *Salmonella* in der oben angegebenen finalen Keimmischung wieder, dies für die *Salmonella*-Konzentrationen in niedriger (a) und in hoher (b) Konzentration. In der niedrigeren „*Salmonella*-Mischung“ war eine Menge von log 0,9, in der hohen eine Menge von log 1,9 Salmonellen-Kolonien vorhanden. Der Wert bezieht sich auf 0,1 ml, da 0,1 ml auf die Testflächen (20 cm²) aufgetragen wurden. Die Einzelergebnisse sind in Tabellen 9.7 und 9.8 des Anhanges 9 B niedergelegt.

Tabelle 4.11: *Salmonella* Typhimurium in den finalen Mischungen beider *Salmonella*-Konzentrationen pro 0,1 ml aufzutragenden Bouillon (in log)

	a	b
n	21	20
\bar{x}	0,91	1,88
s	0,14	0,14
min.	0,70	1,57
max.	1,19	2,11

a: *Salmonella* in niedrigerer Konzentration

b: *Salmonella* in hoher Konzentration

4.2. Quantitativer Keimstatus vor und nach der vorgesehenen technischen Behandlung

Für *Salmonella* in niedriger und in hoher Konzentration wurden nach der Bestimmung der Ausgangsbesiedlung auf der Fleischoberfläche für jede Variante des Temperatur-Zeit-Einflusses insgesamt jeweils 18 Fleischoberflächen vorbereitet und für die labortechnische Bearbeitung bei 12 verschiedenen Temperatur/ Zeit-Kombinationen mit resultierender Keimmischung beimpft. Insgesamt wurden für beide *Salmonella*-Konzentrationen 432 Fleischoberflächen beimpft.

4.2.1. GKZ vor dem jeweiligen technischen Eingriff

Die letztlich vorhandene GKZ vor dem technischen Eingriff setzte sich zusammen aus

- der originären Flora (auf 20 cm² Fleischoberfläche, analytisch bestimmt)
- der Menge der zusammengesetzten Keimmischung (aufzubringende Flora 0,1 ml pro 20cm², analytisch bestimmt).

Die rechnerisch ermittelte Summe aus beiden Analysenergebnissen stellt die quantitative mikrobiologische Besiedlung der Oberflächen vor der Lagerung im Klimaschrank bei der jeweils angegebenen Temperatur-Zeit-Kombination dar.

Die jeweils aufgetragene Inokulationsmenge betrug 0,1 ml (auf 20 cm²), die Addition ("originäre Flora" + aufgetragene Inokulationskultur) macht einen nur minimalen logarithmischen Unterschied aus zwischen den Tabellen 4.1 und 4.2 und 4.12 und 4.13.

Die genauen Wertangaben sind in Anhang 9 B wiedergegeben.

Tab. 4.12 gibt die errechnete Summe aus "originärer Flora" (GKZ/ 20 cm²) der Oberflächen und analytisch bestimmter GKZ (0,1 ml) der aufgetragenen Inokulationskultur auf 20 cm² Fläche wieder, dies für den Untersuchungsabschnitt „*Salmonella* in niedriger Konzentration“. Die Einzelwerte lagen zwischen log 2,67 und log 5,06, die Durchschnittswerte (\bar{x}) zwischen 3,40 und 4,40.

Die errechneten Einzelergebnisse für *Salmonella* in niedriger Konzentration gibt die Tabelle 9.9 bis 9.11 des Anhanges 9 B wieder.

Tabelle 4.12: Übersicht der vollständigen Ausgangskeimzahl vor dem „technischen“ Einfluss, 20 cm²(log), *Salmonella* mit niedriger Konzentration, Daten logarithmiert

	30°C		15°C		10°C				7°C			
	2h	6h	2h	6h	2h	6h	12h	24h	2h	6h	12h	24h
	4,73	4,96	3,09	3,11	3,86	3,11	5,01	2,68	3,61	4,06	3,47	2,67
	4,46	4,22	3,80	3,09	3,04	2,69	4,44	3,01	3,76	4,52	3,50	4,03
	4,34	4,34	3,15	3,80	3,11	2,84	4,22	4,16	4,57	3,68	3,23	3,44
	4,88	3,82	3,81	3,26	2,95	3,31	4,23	4,28	2,92	4,63	3,81	4,94
	3,82	2,93	3,76	3,47	3,38	3,29	3,89	4,56	3,42	4,25	3,47	4,32
	3,65	4,55	3,75	3,44	3,13	4,36	3,98	3,63	3,20	4,43	3,93	3,74
	4,29	3,71	3,46	2,70	4,48	4,29	5,06	4,59	4,69	4,98	3,84	4,15
	4,34	4,11	4,02	3,38	4,50	4,94	4,36	4,27	4,47	4,57	3,45	3,23
		4,51	3,65	3,63	4,73	4,39		4,46				
			3,75	4,18								
\bar{x}	4,31	4,13	3,62	3,40	3,69	3,69	4,40	3,96	3,83	4,39	3,59	3,81
s	0,42	0,59	0,30	0,41	0,72	0,81	0,43	0,70	0,67	0,39	0,24	0,71
min	3,65	2,93	3,09	2,70	2,95	2,69	3,89	2,68	2,92	3,68	3,23	2,67
max	4,88	4,96	4,02	4,18	4,73	4,94	5,06	4,59	4,69	4,98	3,93	4,94

Tab. 4.13 gibt die errechnete Summe aus „originärer Flora“ (GKZ/ 20 cm²) der Oberflächen und analytisch bestimmter GKZ (0,1 ml) der aufgetragenen Inokulationskultur auf 20 cm² Fläche wieder, dies für den Untersuchungsabschnitt „*Salmonella* in hoher Konzentration“. Die Einzelwerte lagen zwischen log 2,67 und log 5,03, die Durchschnittswerte (\bar{x}) zwischen 3,43 und 3,97.

Die errechneten Einzelergebnisse für *Salmonella* in hoher Konzentration gibt die Tabelle 9.12 bis 9.14 des Anhangs 9 B wieder.

Tabelle 4.13: Übersicht der vollständigen Ausgangskeimzahl vor dem „technischen“ Einfluss, 20 cm²(log), *Salmonella* mit hoher Konzentration, Daten logarithmiert

	30°C		15°C		10°C				7°C			
	2h	6h	2h	6h	2h	6h	12h	24h	2h	6h	12h	24h
	2,92	3,75	3,52	2,92	3,13	3,10	3,34	3,15	3,70	4,79	2,71	4,25
	3,10	2,94	3,47	3,45	3,73	3,59	4,04	3,25	4,00	4,32	3,39	3,57
	3,16	3,30	2,82	3,15	3,32	3,55	3,43	4,15	3,79	3,88	3,65	3,82
	2,89	3,06	3,30	3,50	3,68	3,59	3,79	5,03	3,04	3,89	4,11	3,41
	3,52	2,77	3,10	3,25	3,77	3,50	3,99	4,09	2,94	3,66	4,00	2,67
	3,97	3,76	3,32	3,57	3,29	3,87	3,68	3,99	3,50	3,92	3,25	3,03
	4,61	4,07	4,09	4,33	2,94	4,35	4,45	3,87	4,04	3,31	3,67	3,17
	4,46	3,63	4,62	4,61	3,63	4,14	4,22	3,23	3,88		3,22	3,36
	3,22	4,62	3,62	4,21	3,48	4,17		3,31	4,14		3,80	3,55
\bar{x}	3,54	3,54	3,54	3,66	3,44	3,76	3,87	3,79	3,67	3,97	3,53	3,43
s	0,66	0,59	0,54	0,58	0,29	0,40	0,38	0,62	0,43	0,47	0,44	0,46
min	2,89	2,77	2,82	2,92	2,94	3,10	3,34	3,15	2,94	3,31	2,71	2,67
max	4,61	4,62	4,62	4,61	3,77	4,35	4,45	5,03	4,14	4,79	4,11	4,25

Tab. 4.14 gibt für beide *Salmonella*-Konzentrationen die Ausgangskeimzahl auf den Fleischoberflächen vor dem technischen Einfluss wieder. Die Werte schwanken zwischen log 2,67 und log 5,06.

Tabelle 4.14: „Ausgangskeimzahl“ für beide *Salmonella*-Konzentrationen, Bezug 20 cm² (log), auf Basis aller Ansätze, Daten logarithmiert

	30°C		15°C		10°C				7°C			
	2h	6h	2h	6h	2h	6h	12h	24h	2h	6h	12h	24h
n	17	18	19	19	18	18	16	18	17	15	17	17
\bar{x}	3,90	3,84	3,58	3,53	3,56	3,73	4,13	3,87	3,75	4,19	3,56	3,61
s	0,67	0,65	0,42	0,50	0,54	0,62	0,48	0,65	0,54	0,47	0,35	0,60
min	2,89	2,77	2,82	2,70	2,94	2,69	3,34	2,68	2,92	3,31	2,71	2,67
max	4,88	4,96	4,62	4,61	4,73	4,94	5,06	5,03	4,69	4,98	4,11	4,94

4.2.2. GKZ nach dem jeweiligen technischen Eingriff

Nach dem vorgesehenen Temperatur/ Zeiteinfluss wurde jede beimpfte Fleischoberfläche erneut beprobt und die GKZ analytisch bestimmt.

Die Tabellen 4.15 und 4.16 geben die GKZ-Werte jeder beimpften Oberfläche (insgesamt 18/ Temperatur-Zeit-Kombination, siehe 4.2.) nach der Behandlung wieder.

Insgesamt wurde bei 432 Fleischoberflächen die GKZ bestimmt. Die Zahl setzt sich zusammen aus 216 beimpften Oberflächenproben der Gruppe „*Salmonella* in niedriger Konzentration“ (die Werte lagen zwischen log 2,30 und log 6,00, die Durchschnittswerte (\bar{x}) zwischen 3,32 und 4,84) und aus 216 beimpften Oberflächenproben mit der Gruppe „*Salmonella* in hoher Konzentration“ (die Werte lagen zwischen log 2,60 und log 5,73, die Durchschnittswerte (\bar{x}) zwischen 3,32 und 3,93).

Tab. 4.17 gibt eine Gesamtübersicht wieder, die die Einzelwerte beider *Salmonella*-Konzentrationen den Fleischoberflächen (GKZ/ 20 cm²) nach dem labortechnischen Einfluss berücksichtigt.

Zusammengefasst wurde das Fleisch auf seinen Eingangskeimgehalt geprüft, anschließend beimpft und einem labortechnischen Einfluss unterworfen. Danach wurden aus den jeweils analysierten 2 bzw. 3 Einzelwerten (Tab. 4.15, 4.16) für *Salmonella* in niedriger sowie hoher Konzentration arithmetische Mittelwerte errechnet (Tab. 4.18, 4.19) und diese mit der dazugehörigen Ausgangsflora verglichen. Somit konnten die mikrobiologischen Entwicklungen auf der Fleischoberfläche festgestellt werden. Die quantitativen Ergebnisse nach den labortechnischen Eingriffen im Einzelnen sowie die dazu entsprechende Differenzen sind in den Tabellen 4.32 bis 4.55 dargestellt.

Die Einzelergebnisse und die Berechnungen der Mittelwerte sind in Anhang 9 B, Tabelle 9.15 bis 9.17 für *Salmonella* in niedriger Konzentration und in der Tabelle 9.18 bis 9.20 für *Salmonella* in hoher Konzentration niedergelegt.

Tabelle 4.20 gibt eine Gesamtübersicht aus den Werten für beide *Salmonella* Konzentrationen der Mittelwerte auf den Fleischoberflächen (GKZ/ 20 cm²) nach dem labortechnischen Einfluss wieder.

Tabelle 4.15 GKZ der beimpften Oberflächen (20 cm²) nach dem technischen Einfluss, *Salmonella* in niedriger Konzentration, Daten logarithmiert

n	30°C		15°C		10°C				7°C			
	2h	6h	2h	6h	2h	6h	12h	24h	2h	6h	12h	24h
1	4,15	4,57	2,88	3,00	3,20	2,60	4,79	2,60	4,60	4,14	3,51	2,60
2	4,28	3,85	3,04	2,98	4,00	3,08	5,79	* 0,00	3,60	3,79	3,82	2,60
3	4,51	3,38	2,30	2,78	3,41	2,60	5,94	2,60	3,60	4,24	3,86	3,62
4	4,52	3,89	3,08	3,28	3,41	2,60	5,62	2,60	4,04	4,35	3,15	4,04
5	4,01	4,18	3,34	3,45	2,98	2,60	4,35	3,51	4,36	3,66	3,15	3,86
6	3,98	4,16	3,76	3,26	2,86	3,26	4,36	3,39	3,90	3,74	3,28	3,00
7	4,90	3,64	3,66	3,71	2,98	2,60	4,32	3,99	2,88	5,04	4,41	4,62
8	4,51	3,26	3,71	3,36	3,06	2,98	4,44	5,15	3,04	4,13	3,23	4,95
9	4,03	* 0,00	4,15	3,69	3,26	3,43	3,88	5,16	3,16	4,02	3,74	3,83
10	3,95	2,90	3,80	2,90	3,00	2,78	4,10	5,20	2,96	4,17	3,51	4,22
11	3,58	4,02	3,66	3,00	3,00	3,58	3,41	3,48	3,23	4,30	4,21	3,75
12	3,51	4,48	3,38	3,00	3,04	4,05	4,11	4,78	2,78	3,97	3,48	4,12
13	4,90	3,91	3,64	3,28	3,91	5,67	5,70	5,12	5,07	5,75	3,92	4,51
14	4,56	4,22	3,49	3,36	4,53	4,47	5,78	4,58	4,27	6,00	4,74	3,97
15	4,63	3,84	3,43	3,62	4,07	4,64	5,74	4,02	4,80	4,88	3,83	4,27
16	4,22	4,48	3,15	3,26	4,66	4,68	4,84	4,58	4,66	4,84	4,02	3,28
17	5,08	4,41	3,23	3,18	4,67	4,91	5,40	4,81	4,29	4,71	4,05	3,08
18	4,23	4,76	3,75	4,57	4,18	4,38	4,46	5,02	4,45	5,63	4,58	4,07
\bar{x}	4,31	4,00	3,41	3,32	3,57	3,61	4,84	4,15	3,87	4,52	3,81	3,80
s	0,43	0,50	0,42	0,41	0,64	0,98	0,79	0,96	0,73	0,71	0,48	0,66
min	3,51	2,90	2,30	2,78	2,86	2,60	3,41	2,60	2,78	3,66	3,15	2,60
max	5,08	4,76	4,15	4,57	4,67	5,67	5,94	5,20	5,07	6,00	4,74	4,95

* Zwei negative Ergebnisse sind auf eine fehlerhafte technische Bearbeitung zurückzuführen. In Frage kommt eine unterlassene Übertragung des Inokulums in der Feststellung der GKZ. Die Werte gingen nicht in die Berechnung ein.

Tabelle 4.16: GKZ der beimpften Oberflächen (20 cm²) nach dem technischen Einfluss, *Salmonella* in hoher Konzentration, Daten logarithmiert

n	30°C		15°C		10°C				7°C			
	2h	6h	2h	6h	2h	6h	12h	24h	2h	6h	12h	24h
1	2,90	3,79	3,67	3,20	3,30	3,83	3,23	3,82	4,19	4,88	2,86	4,57
2	3,28	4,43	3,23	2,90	3,18	3,26	2,78	3,49	4,36	4,68	2,88	4,28
3	3,18	3,12	3,36	3,56	3,12	3,00	4,06	3,20	4,02	4,10	2,98	4,16
4	2,78	3,41	3,41	3,89	3,16	3,64	4,57	3,66	4,20	3,91	2,98	4,90
5	3,54	3,73	2,98	3,72	2,78	3,58	3,91	4,07	4,22	4,20	3,37	4,19
6	2,88	3,43	2,98	2,60	3,08	3,26	3,56	3,95	3,49	3,60	4,04	3,60
7	2,90	3,49	3,32	3,41	3,64	3,80	3,64	4,56	2,96	4,20	3,60	3,72
8	3,23	3,49	3,48	3,73	2,90	3,83	* 0,00	4,46	3,04	4,15	4,15	2,60
9	4,14	3,62	3,41	3,06	2,88	3,20	3,69	3,54	3,08	3,76	4,02	2,90
10	3,94	3,39	2,98	3,21	4,29	3,60	3,71	3,54	3,54	3,46	4,55	* 0,00
11	4,03	3,67	2,76	3,08	3,54	3,36	3,32	3,98	3,06	4,65	3,08	3,00
12	3,41	3,58	3,56	3,28	3,60	3,75	3,28	3,51	2,98	3,85	3,43	3,08
13	4,36	3,49	3,91	4,24	3,16	3,92	4,51	4,75	4,13	2,90	3,97	3,37
14	3,95	3,21	4,26	4,44	3,04	4,02	3,74	4,32	3,97	3,66	3,12	3,12
15	3,77	4,00	4,40	5,73	3,28	3,72	3,66	4,60	3,74	3,69	3,28	3,00
16	3,30	4,07	4,01	4,28	3,41	3,96	4,43	3,64	3,76	3,54	3,98	2,90
17	3,08	3,87	3,32	4,88	3,78	3,08	3,96	4,02	4,07	2,98	3,34	3,18
18	3,00	4,95	3,56	4,12	3,54	4,37	3,87	3,66	4,36	3,98	3,43	3,78
\bar{x}	3,43	3,71	3,48	3,74	3,32	3,62	3,76	3,93	3,73	3,90	3,50	3,55
s	0,49	0,44	0,45	0,78	0,37	0,36	0,47	0,45	0,51	0,53	0,50	0,67
min	2,78	3,12	2,76	2,60	2,78	3,00	2,78	3,20	2,96	2,90	2,86	2,60
max	4,36	4,95	4,40	5,73	4,29	4,37	4,57	4,75	4,36	4,88	4,55	4,90

* Die zwei aufgeführten negativen Ergebnisse sind auf fehlerhafte technische Bearbeitung zurückzuführen (unterlassene Inokulierung der Agaroberfläche in der GKZ- Bestimmung). Die Werte gingen nicht in die Berechnung ein.

Tabelle 4.17: GKZ der beimpften Oberflächen nach dem technischen Einfluss, *Salmonella* in niedriger sowie hoher Konzentration, Daten logarithmiert

n	30°C		15°C		10°C				7°C			
	2h	6h	2h	6h	2h	6h	12h	24h	2h	6h	12h	24h
n	36	36	36	36	36	36	36	36	36	36	36	36
\bar{x}	3,87	3,85	3,45	3,53	3,44	3,61	4,31	4,04	3,80	4,21	3,65	3,68
s	0,64	0,72	0,43	0,65	0,53	0,73	0,84	0,98	0,63	0,69	0,51	0,66
min	2,78	2,90	2,30	2,60	2,78	2,60	2,78	2,60	2,78	2,90	2,86	2,60
max	5,08	4,95	4,40	5,73	4,67	5,67	5,94	5,20	5,07	6,00	4,74	4,95

Insgesamt wurden durchschnittliche Werte (\bar{x}) zwischen log 3,44 bis 4,31 ermittelt.

Tabelle 4.18: Mittelwerte aus der GKZ nach dem technischen Einfluss, „*Salmonella* in niedriger Konzentration“, Daten logarithmiert (bis auf vier Ausnahmen* basieren die Werte auf 2 bzw. 3 Analyseergebnissen)

n	30°C		15°C		10°C				7°C			
	2h	6h	2h	6h	2h	6h	12h	24h	2h	6h	12h	24h
1	4,22	4,35	2,88*	2,99	3,76	2,90	5,53	2,30	4,34	4,00	3,69	2,60
2			3,76*									
3	4,51	3,71	2,81	2,78*	3,41	2,60	5,81	2,60	3,88	4,30	3,64	3,88
4				3,28*								
5	3,99	4,17	3,23	3,36	2,92	3,04	4,35	3,46	4,19	3,70	3,22	3,62
6												
7	4,75	3,49	3,69	3,57	3,02	2,83	4,39	4,87	2,97	4,79	4,13	4,81
8												
9	3,99	2,60	4,01	3,46	3,15	3,21	4,01	5,18	3,07	4,10	3,64	4,07
10												
11	3,55	4,31	3,54	3,00	3,02	3,88	3,89	4,50	3,06	4,17	3,98	3,97
12												
13	4,72	4,09	3,57	3,32	4,32	5,40	5,74	4,92	4,83	5,74	4,37	4,30
14								4,38				
15	4,71	4,62	3,57	4,29	4,49	4,72	5,07	4,93	4,50	5,26	4,30	3,69
16								4,38				
17	4,71	4,62	3,57	4,29	4,49	4,72	5,07	4,93	4,50	5,26	4,30	3,69
18								4,38				
\bar{x}	4,35	3,96	3,45	3,39	3,62	3,69	4,91	4,13	3,94	4,62	3,92	3,88
S	0,42	0,59	0,36	0,40	0,64	0,98	0,74	1,04	0,71	0,71	0,39	0,59
min	3,55	2,60	2,81	2,78	2,92	2,60	3,89	2,30	2,97	3,70	3,22	2,60
max	4,75	4,62	4,01	4,29	4,49	5,40	5,81	5,18	4,83	5,74	4,37	4,81

* Das eingehende Fleisch wurde nicht gepoolt, sodass dieser Wert mit der Ausgangsflora direkt verglichen werden konnte, deshalb fand keine Mittelwertbildung statt.

Tabelle 4.19: Mittelwerte aus der GKZ der beimpften Oberflächen (20 cm²) nach dem technischen Einfluss, „*Salmonella* in hoher Konzentration“, Daten logarithmiert (die Werte basieren auf 2 bzw. 3 Analyseergebnissen)

n	30°C		15°C		10°C				7°C				
	2h	6h	2h	6h	2h	6h	12h	24h	2h	6h	12h	24h	
1	3,13	4,22	3,51	3,08	3,25	3,63	3,06	3,68	4,28	4,66	2,87	4,45	
2													
3	3,03	3,29	3,38	3,76	3,14	3,43	4,38	3,49	4,12		3,97	2,98	4,67
4													
5	3,32	3,60	2,98	3,45	2,95	3,45	3,77	4,02	4,00	3,97	3,83	3,99	
6													
7	3,10	3,49	3,41	3,60	3,41	3,82	3,34	4,51	3,00	4,07	3,96	3,45	
8													
9	4,05	3,52	3,24	3,14	4,01	3,45	3,70	3,54	3,36		4,07	4,36	2,60
10													
11	3,82	3,63	3,32	3,19	3,57	3,60	3,30	3,81	3,02	4,26	3,29	3,04	
12													
13	4,20	3,37	4,12	4,35	3,10	3,97	4,15	4,59	4,06		4,26	3,43	3,72
14													
15	3,60	4,04	4,25	5,44	3,35	3,86	4,16	4,35	3,75	4,26	3,62	3,75	2,95
16													
17	3,04	4,69	3,46	4,65	3,67	4,09	4,16	3,87	4,24	4,26	3,72	3,39	3,58
18													
\bar{x}	3,48	3,76	3,52	3,85	3,38	3,70	3,78	3,98	3,76	4,02	3,57	3,56	
s	0,44	0,45	0,40	0,78	0,32	0,24	0,45	0,40	0,49	0,39	0,47	0,67	
min	3,03	3,29	2,98	3,08	2,95	3,43	3,06	3,49	3,00	3,43	2,87	2,60	
max	4,20	4,69	4,25	5,44	4,01	4,09	4,38	4,59	4,28	4,66	4,36	4,67	

Tabelle 4.20: Mittelwerte aus der GKZ der beimpften Oberflächen (20 cm²) nach dem technischen Einfluss, *Salmonella* in niedriger sowie hoher Konzentration, Daten logarithmiert

n	30°C		15°C		10°C				7°C			
	2h	6h	2h	6h	2h	6h	12h	24h	2h	6h	12h	24h
n	36	36	36	36	36	36	36	36	36	36	36	36
\bar{x}	3,91	3,86	3,48	3,62	3,50	3,70	4,35	4,06	3,85	4,32	3,75	3,72
s	0,61	0,53	0,37	0,66	0,51	0,70	0,83	0,78	0,61	0,64	0,46	0,65
min	3,03	2,60	2,81	2,78	2,92	2,60	3,06	2,30	2,97	3,43	2,87	2,60
max	4,75	4,69	4,25	5,44	4,49	5,40	5,81	5,18	4,83	5,74	4,37	4,81

Insgesamt wurden durchschnittliche Werte (\bar{x}) von log 3,48 bis 4,35 ermittelt.

4.3. Ergebnisse der Untersuchungen auf *Salmonella* unter den gewählten Lagerungsbedingungen

4.3.1. Ergebnisse der qualitativen Untersuchungen

4.3.1.1. *Salmonella* in niedriger Konzentration

Tabelle 4.21 gibt eine Gesamtübersicht über die Wiederfindungsrate des auf der Fleischoberfläche (20cm²) aufgetragenen *S. Typhimurium*-Stammes unter Bezugnahme auf Temperatur und Zeit (*Salmonella* Konzentration in niedriger Zahl) wieder.

Insgesamt wurde *Salmonella* in niedriger Zumischung von 216 der untersuchten Oberflächen 85mal isoliert. Bei den Temperaturen 30°C und 15°C (jeweils zwei verschiedenen Zeit-Bedingungen) wurde *Salmonella* 38mal, bei den Temperaturen 10°C und 7°C (jeweils vier verschiedenen Zeit- Bedingungen) 47mal isoliert. Je niedriger die jeweilige Temperatur, desto weniger Nachweise waren möglich.

Die qualitativen Untersuchungen ergaben eine niedrigere Quote der Proben bei 10 °C (nach 2h, 6 h, 12 h und 24 h) im Vergleich zu den restlichen Temperaturen. Bei 7 °C lag das Verhältnis der Nachweisquote von Salmonellen nach 12 Stunden bei 1 : 1 (9 von 18 getesteten Oberflächen). Bei Temperaturen von 30 °C (nach 2 und 6 h) und 15 °C (nach 6 h) gelangen mehr Salmonellen-Nachweise.

Tabelle 4.21: *S. Typhimurium* in niedriger Zumischung, qualitativ (n = 18 pro Temperatur/ Zeit-Kombination)

n	30°C		15°C		10°C				7°C			
	2h	6h	2h	6h	2h	6h	12h	24h	2h	6h	12h	24h
1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
2	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
3	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
4	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0
5	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0
6	1	1	0	0	1	1	0	0	1	1	1	1
7	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	1
8	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	1
9	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
10	1	1	1	1	0	0	1	1	0	0	1	1
11	0	1	1	0	0	0	0	0	1	1	1	0
12	0	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0
13	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0
14	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
15	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0
16	1	0	1	1	0	0	0	1	0	1	1	0
17	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0
18	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	1	0
n	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18
+	10	11	7	10	5	4	4	6	6	7	9	6
-	8	7	11	8	13	14	14	12	12	11	9	12

1= *Salmonella* nachgewiesen, 0= *Salmonella* nicht nachgewiesen

n= gesamte Probenzahl, + = positive Proben, - = negative Proben

4.3.1.2. *Salmonella* in hoher Konzentration

Tabelle 4.22 beinhaltet eine Gesamtübersicht über die Wiederfindung des *S. Typhimurium*-Stammes auf der Fleischoberfläche (20cm²) bei einer *Salmonella*-Konzentration in hoher Zahl.

Insgesamt wurde *Salmonella* in hoher Zumischung von 216 Fleischoberflächen 212mal isoliert. Bei den Temperaturen 30°C und 15°C (jeweils zwei verschiedenen Zeit-Bedingungen) wurde *Salmonella* 72mal, bei den Temperaturen 10°C und 7°C (jeweils vier verschiedenen Zeit-Bedingungen) 140mal isoliert. Angesichts der hohen Wiederfindungsrate sind Temperatur-bedingte Schwerpunkte nicht erkennbar.

Hier konnten Salmonellen unabhängig von Temperatur und Zeit in fast jedem Falle nachgewiesen werden (Kapitel 4.3.1, Abb.4.3 dieser Arbeit). Nur bei vier Proben (1x bei 10 °C/ 6 h, 1x bei 10 °C/ 24 h, 2x bei 7 °C/ 12 h) wurden keine Salmonellen gefunden.

Tabelle 4.22: *S. Typhimurium* in hoher Zumischung, qualitativ (n = 18 pro Temperatur/ Zeit-Kombination)

n	30°C		15°C		10°C				7°C			
	2h	6h	2h	6h	2h	6h	12h	24h	2h	6h	12h	24h
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
6	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
7	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
8	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1
9	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
10	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1
11	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
12	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
13	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
14	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
15	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1
16	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
17	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
18	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
n	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18
+	18	18	18	18	18	17	18	17	18	18	16	18
-	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	2	0

1= *Salmonella* nachgewiesen, 0= *Salmonella* nicht nachgewiesen

n= gesamte Probenzahl, + = positive Proben, - = negative Proben

Tab. 4.23 gibt die Gesamtzahl der *Salmonella*-Funde aus den Tabellen 4.21. und 4.22. wieder.

Tabelle 4.23: *Salmonella*-Nachweis bei unterschiedlichen Temperaturen, ausgedrückt in absoluten Zahlen und in % der Gesamtzahl

Temperatur	n	A		b	
		positiv	%	positiv	%
30°C	36	21	58,3	36	100
15°C	36	17	47,2	36	100
10°C	72	19	26,4	70	97,2
7°C	72	28	38,9	70	97,2

a: isolierte *Salmonella*-Stämme (*Salmonella* in niedriger Konzentration)

b: isolierte *Salmonella*-Stämme (*Salmonella* in hoher Konzentration)

Abbildung 4.2 zeigt die Auswertung der qualitativen Daten aus Tab. 4.21 Für jede Lagerungsbedingung wurden 18 beprobte Oberflächen ausgewertet.

Abbildung 4.3 zeigt die Auswertung der qualitativen Daten aus der Tab. 4.22 Für jede Lagerungsbedingung wurden 18 beprobte Oberflächen ausgewertet.

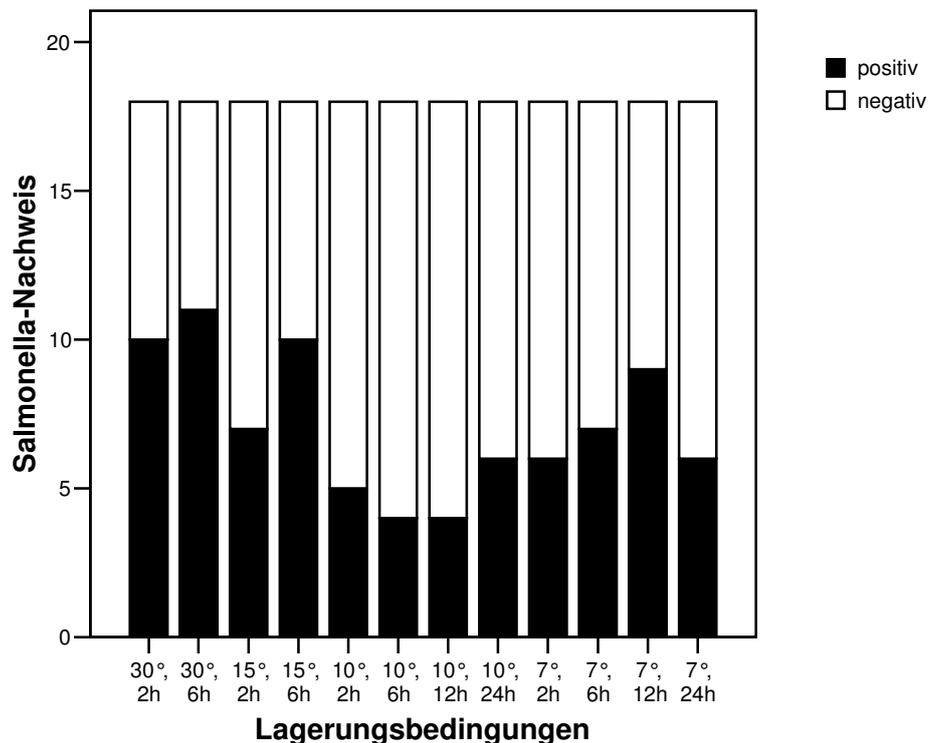


Abb. 4.2: Nachweisquote des *Salmonella* Typhimurium-Stammes in niedriger Konzentration

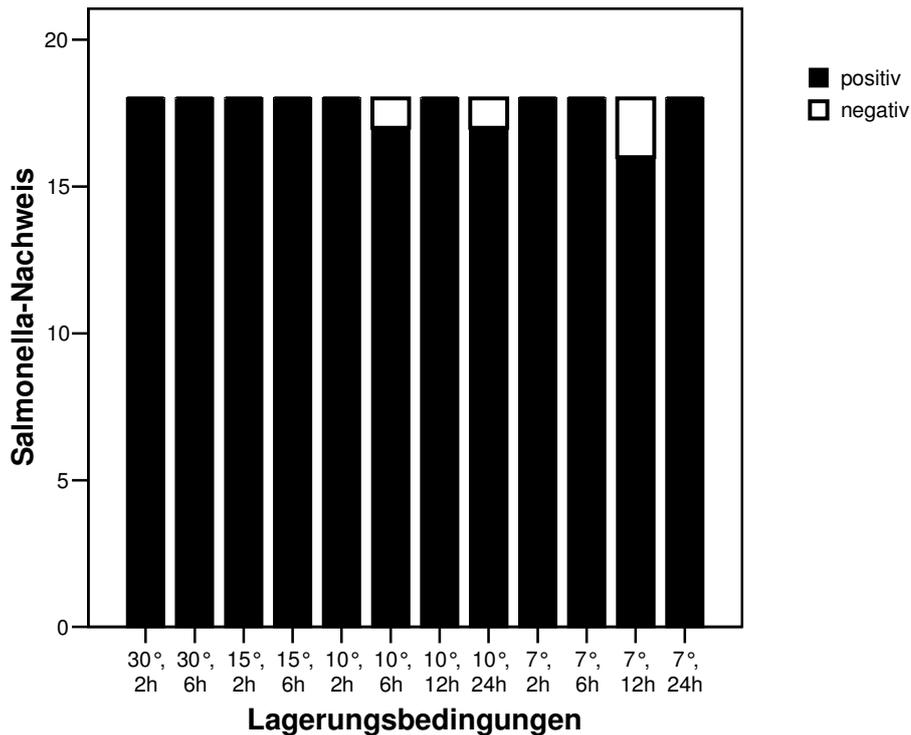


Abb. 4.3: Nachweisquote des *Salmonella* Typhimurium-Stammes in hoher Konzentration

4.3.2. Ergebnisse der quantitativen Untersuchungen

Für die quantitativen Untersuchungen wurden aus den homogenisierten Probenansätzen Mengen von 0,1 ml, 0,5 ml und 1 ml auf jeweils zwei Blutagar-Platten ausgespatelt.

Die auf den Platten morphologisch erkennbaren *Salmonella* Kolonien wurden gezählt und jeweils auf 20 cm² Oberfläche hochgerechnet (Kap. 3.2.4.2.). Dies erklärt die geraden Zahlen in den Tabellen 4.24 bis 4.29.

4.3.2.1. *Salmonella* in niedriger Konzentration

In der Tab. 4.24 sind die Ergebnisse der quantitativen Untersuchungen auf *Salmonella* bei 30°C und 15°C, in der Tab. 4.25 die Ergebnisse bei 10°C und in der Tab. 4.26 die Ergebnisse bei 7°C wiedergegeben. Positive Ergebnisse sind dunkel unterlegt.

Aus den Ergebnissen der Auszählungen von *Salmobnella*-Kolonien bei den jeweiligen Inokulationsmengen ist offensichtlich, dass bei 0,1 ml in allen Temperatur- und Zeitkombinationen nur wenige Salmonellen nachgewiesen wurden: bei 15 °C/ 2 h, 10 °C/ 2 h und 6 h und bei 7 °C/ 2 h, 6 h, 12 h und 24 h wurde bei 0,1 ml keine *Salmonella* festgestellt. *Salmonella*-Nachweis in 0,5 ml und 1 ml Inokulationsmengen: Es wurde festgestellt, dass Salmonellen in niedriger Konzentration bei 30 °C/ 2 h und 6 h (in 0,5 ml und 1 ml) sowie bei 15 °C/ 6 h (in 1 ml) am meisten gewachsen sind. Bei 7 °C nach 12 Stunden Bebrütung wurde das Salmonellen-Wachstum bei 9 von 18 Proben festgestellt im Gegensatz zu den restlichen Bebrütungszeiten, wo nach 2 h bei 6 von 18 Proben, nach 6 h bei 7 von 18 Proben und nach 24 h bei 5 von 18 Proben *Salmonella* gefunden wurde.

Tabelle 4.24: Ergebnisse der Auszählungen von *Salmonella*-Kolonien bei den jeweiligen Inokulationsmengen, Temperatur bei 30°C und 15°C, *Salmonella* in niedriger Konzentration

n	30°C / 2h			30°C / 6h			15°C / 2h			15°C / 6h		
	0,1 ml	0,5 ml	1 ml	0,1 ml	0,5 ml	1 ml	0,1 ml	0,5 ml	1 ml	0,1 ml	0,5 ml	1 ml
1	0	0	40	0	0	20	0	0	0	0	0	0
2	0	40	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	200	0	0	0	0	60	0	0	0	0	40	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	40	20
5	0	80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	80	60	200	80	0	0	0	0	0	0	0
7	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20
8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	40	20
9	0	0	40	0	0	60	0	0	0	0	0	80
10	0	40	0	0	40	0	0	0	40	0	40	20
11	0	0	0	0	40	0	0	80	20	0	0	0
12	0	0	0	0	0	20	0	40	0	0	40	60
13	0	40	20	0	0	0	0	0	20	0	0	0
14	0	0	0	0	40	20	0	0	40	0	0	0
15	0	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0	20
16	0	40	20	0	0	0	0	0	20	400	560	480
17	0	0	0	200	0	20	0	80	0	0	0	0
18	0	0	0	0	0	20	0	0	0	200	0	60
+	2	6	6	2	4	8	0	3	5	2	5	9
-	16	12	12	16	14	12	0	15	13	16	13	9

+: positiv -: nega

Tabelle 4.25: Ergebnisse der Auszählungen von *Salmonella*-Kolonien bei den jeweiligen Inokulationsmengen, Temperatur bei 10°C, *Salmonella* in niedriger Konzentration

n	10°C / 2h			10°C / 6h			10°C / 12h			10°C / 24h		
	0,1 ml	0,5 ml	1 ml	0,1 ml	0,5 ml	1 ml	0,1 ml	0,5 ml	1 ml	0,1 ml	0,5 ml	1 ml
1	0	0	40	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	40	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20
5	0	0	0	0	0	0	0	40	0	0	0	20
6	0	0	20	0	0	20	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	200	0	0	200	0	40
11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0	20	0	0	80	0	80	0
13	0	0	20	0	0	60	0	0	0	0	0	0
14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20
17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18	0	40	0	0	0	40	0	0	0	0	0	0
+	0	2	3	0	0	4	1	1	2	1	2	4
-	0	16	15	0	0	14	17	17	16	17	16	14

+: positiv -: negativ

Tabelle 4.26: Ergebnisse der Auszählungen von *Salmonella*-Kolonien bei den jeweiligen Inokulationsmengen, Temperatur bei 7°C, *Salmonella* in niedriger Konzentration

n	7°C / 2h			7°C / 6h			7°C / 12h			7°C / 24h		
	0,1 ml	0,5 ml	1 ml	0,1 ml	0,5 ml	1 ml	0,1 ml	0,5 ml	1 ml	0,1 ml	0,5 ml	1 ml
1	0	40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	120	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20
4	0	0	40	0	0	20	0	0	0	0	0	0
5	0	0	20	0	0	20	0	0	0	0	0	0
6	0	0	20	0	0	20	0	0	20	0	0	60
7	0	0	0	0	0	20	0	0	20	0	0	20
8	0	40	0	0	0	0	0	0	40	0	0	40
9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0	80	40	0	40	0
11	0	40	40	0	0	20	0	0	20	0	0	0
12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14	0	0	0	0	0	0	0	40	0	0	0	0
15	0	0	0	0	0	0	0	40	0	0	0	0
16	0	0	0	0	0	20	0	40	0	0	0	0
17	0	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0
18	0	0	0	0	0	0	0	40	0	0	0	0
+	0	3	4	0	0	7	0	5	5	0	2	4
-	0	15	14	0	0	11	0	13	13	0	16	14

+: positiv -: negativ

4.3.2.2. *Salmonella* in hoher Konzentration

In der Tab. 4.27 sind Ergebnisse der Untersuchungen an *Salmonella* (quantitativ) bei 30°C und 15°C, in der Tab. 4.28 die Ergebnisse bei 10°C und in der Tab. 4.29 diejenigen bei 7°C wiedergegeben. Negative Ergebnisse sind hier dunkel schattiert.

Die Ergebnisse der Auszählungen von *Salmonella*-Kolonien bei den jeweiligen Inokulationsmengen zeigen in allen Temperatur- und Zeitkombinationen ein hohes Salmonellen-Wachstum. In Inokulationsmengen von 0,1 ml zeigen die meisten Proben dennoch negative Salmonellen-Nachweise.

Deutlich reduziertes Salmonellen-Wachstum wurde bei 15 °C/ 6 h (0,1 ml) und 10 °C/ 2 h, 6 h, 12 h und 24 h (in jeweils 0,1 ml) und 7 °C/ 2 h, 6 h, 12 h und 24 h (in jeweils 0,1 ml) festgestellt. Restliche Temperatur/ Zeitkombinationen sowie Inokulationsmengen von 0,5 ml und 1 ml weisen relativ hohen Wachstumsgrad auf.

Gute *Salmonella*-Wachstumsbedingungen zeigten sich bei 30 °C. Hier sind nach 2 h (0,1 ml) nur zwei Ergebnisse negativ, nach 6 h war *Salmonella* in allen durchgeführten Kombinationen nachgewiesen.

Tabelle 4.27: Ergebnisse der Auszählungen von *Salmonella*-Kolonien bei den jeweiligen Inokulationsmengen, Temperatur bei 30°C und 15°C, *Salmonella* in hoher Konzentration

n	30°C / 2h			30°C / 6h			15°C / 2h			15°C / 6h		
	0,1 ml	0,5 ml	1 ml	0,1 ml	0,5 ml	1 ml	0,1 ml	0,5 ml	1 ml	0,1 ml	0,5 ml	1 ml
1	400	120	220	1400	560	1120	0	120	40	0	40	200
2	400	120	120	2600	920	1140	200	0	80	0	40	140
3	800	200	80	600	480	940	200	80	200	0	80	60
4	200	200	160	1600	760	920	0	40	40	0	200	100
5	200	120	180	2600	560	1100	0	0	80	0	160	60
6	200	240	140	1400	1520	1820	200	120	40	0	0	80
7	0	80	80	800	960	940	200	0	20	0	40	60
8	200	160	60	1600	1240	1000	0	40	20	0	80	40
9	600	120	140	600	960	1120	200	160	100	0	0	60
10	200	80	60	600	680	860	0	160	80	0	0	20
11	400	240	120	1200	1480	1440	0	120	160	0	80	20
12	0	80	100	200	960	1100	200	120	100	0	200	360
13	200	200	120	400	200	140	200	80	120	200	200	100
14	400	280	180	400	400	300	200	80	80	0	120	40
15	200	120	180	400	480	360	200	120	100	200	0	60
16	200	80	200	400	360	220	0	0	140	1200	280	260
17	400	80	120	400	240	420	0	160	100	400	240	40
18	200	40	80	200	360	240	200	40	160	0	80	140
+	16	18	18	18	18	18	10	14	18	4	14	18
-	2	0	0	0	0	0	8	4	0	14	4	0

+: positiv -: negativ

Tabelle 4.28: Ergebnisse der Auszählungen von *Salmonella*-Kolonien bei den jeweiligen Inokulationsmengen, Temperatur bei 10°C, *Salmonella* in hoher Konzentration

n	10°C / 2h			10°C / 6h			10°C / 12h			10°C / 24h		
	0,1 ml	0,5 ml	1 ml	0,1 ml	0,5 ml	1 ml	0,1 ml	0,5 ml	1 ml	0,1 ml	0,5 ml	1 ml
1	0	40	20	0	40	80	200	40	60	0	240	60
2	0	0	40	200	40	60	0	80	20	0	40	20
3	400	40	20	200	80	40	0	0	80	0	360	140
4	0	80	20	200	120	80	200	0	120	0	240	100
5	0	120	80	200	40	60	200	40	40	0	40	160
6	200	200	60	0	40	40	0	80	40	0	80	0
7	0	80	100	0	40	40	200	40	60	0	0	20
8	0	0	200	0	0	40	0	40	40	200	0	0
9	200	160	140	200	40	100	200	0	60	0	0	80
10	0	0	120	0	120	220	200	120	20	0	40	40
11	0	40	80	0	0	160	0	0	20	200	80	20
12	0	40	120	200	120	120	0	80	80	0	120	0
13	200	40	80	200	0	0	0	0	20	400	120	40
14	200	160	140	200	280	280	200	200	80	0	0	20
15	0	80	80	0	120	100	0	160	100	0	0	0
16	0	0	40	0	0	0	0	80	60	0	80	40
17	200	120	20	0	40	100	0	0	60	0	120	120
18	0	120	100	0	40	80	0	40	20	0	0	60
+	6	14	18	9	14	16	7	13	18	3	12	15
-	12	4	0	9	4	2	11	5	0	15	6	3

+: positiv -: negativ

Tabelle 4.29: Ergebnisse der Auszählungen von *Salmonella*-Kolonien bei den jeweiligen Inokulationsmengen, Temperatur bei 7°C, *Salmonella* in hoher Konzentration

n	7°C / 2h			7°C / 6h			7°C / 12h			7°C / 24h		
	0,1 ml	0,5 ml	1 ml	0,1 ml	0,5 ml	1 ml	0,1 ml	0,5 ml	1 ml	0,1 ml	0,5 ml	1 ml
1	0	80	140	0	40	120	0	120	180	200	80	20
2	0	40	100	0	40	40	200	80	60	200	40	40
3	0	80	140	0	80	140	0	80	20	200	120	140
4	0	160	140	0	120	200	0	80	60	0	40	40
5	0	0	80	0	0	100	0	120	60	0	200	100
6	200	200	240	0	0	80	0	40	100	0	120	200
7	0	80	80	0	80	40	400	0	60	0	0	20
8	400	80	120	0	40	40	0	0	0	0	40	0
9	200	240	40	0	40	120	200	0	0	0	0	40
10	200	240	100	0	120	80	0	0	0	0	120	20
11	200	80	60	0	80	40	0	40	0	0	0	40
12	0	120	100	200	40	100	0	80	40	0	80	80
13	0	40	0	0	160	140	200	120	180	0	240	60
14	0	80	40	0	0	60	0	280	200	200	80	80
15	200	40	40	0	0	60	400	160	220	0	40	80
16	200	0	60	0	120	80	200	40	240	0	160	60
17	400	0	80	0	40	20	400	40	140	400	80	220
18	0	80	40	200	80	100	600	80	220	0	200	60
+	8	15	17	2	14	18	9	14	14	5	16	17
-	10	3	1	16	4	0	9	4	4	13	2	1

+: positiv -: negativ

4.3.3. Berechnete MPN – Werte

Die Auswertung der Zählergebnisse auf *S. Typhimurium* wurde auf Basis der Rohwerte bei 0,1 ml, 0,5 ml und 1 ml in Anlehnung an das MPN Verfahren durchgeführt. Nach Auszählung der *Salmonella*-typischen Kbe auf allen Platten wurde das Gesamtergebnis rechnerisch ermittelt und auf 20 cm² Fläche zurückgerechnet (Kap.3.2.4.3.).

4.3.3.1. Niedrige *Salmonella* Zahlen

Die Ergebnisse mittels des MPN-Verfahrens zeigen eine niedrigere Wachstumsquote der *Salmonella*-Kombinationen bei 10 °C nach 2 h, 6 h, 12 h und 24 h. Die Temperaturen bei 7 °C zeigen keinen negativen Einfluss auf das *Salmonella*-Wachstum. Zwar wurde *Salmonella* bei dieser Temperatur nach 2 h, 6 h und 24 h reduziert, aber nach 12 h ist der *Salmonella*-Gehalt bei der Hälfte getesteten Proben in fast gleichen Zahlen vorhanden.

In der Tab. 4.30 sind die errechneten Werte, die aus den Daten des Kap.4.3.2 als Grundlage für diese Werte vorlagen. Die negativen Ergebnisse sind dunkel schattiert. Die qualitative Auswertung (positiv/ negativ, Tab.4.21) basiert auf diesen Ergebnissen.

Tabelle 4.30: Ergebnisse der *Salmonella*-Kolonien nach modifizierten MPN-Verfahren, *Salmonella* in niedriger Konzentration (absolute Zahlen an Kolonien)

n	30°C		15°C		10°C				7°C			
	2h	6h	2h	6h	2h	6h	12h	24h	2h	6h	12h	24h
1	25,0	12,5	0,0	0,0	25,0	0,0	0,0	0,0	12,5	0,0	0,0	0,0
2	25,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	12,5	0,0	0,0	0,0	37,5
3	12,5	37,5	0,0	12,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	12,5
4	0,0	0,0	0,0	25,0	12,5	0,0	0,0	12,5	25,0	12,5	0,0	0,0
5	25,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	12,5	12,5	12,5	12,5	0,0	0,0
6	62,5	37,5	0,0	0,0	12,5	12,5	0,0	0,0	12,5	12,5	12,5	37,5
7	12,5	0,0	0,0	12,5	0,0	0,0	12,5	0,0	0,0	12,5	12,5	12,5
8	0,0	0,0	0,0	25,0	0,0	0,0	0,0	0,0	12,5	0,0	25,0	25,0
9	25,0	37,5	0,0	50,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
10	12,5	12,5	25,0	25,0	0,0	0,0	12,5	37,5	0,0	0,0	50,0	12,5
11	0,0	12,5	37,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	37,5	12,5	12,5	0,0
12	0,0	12,5	12,5	50,0	0,0	12,5	50,0	25,0	0,0	0,0	0,0	0,0
13	25,0	0,0	12,5	0,0	12,5	37,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
14	0,0	25,0	25,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	12,5	0,0
15	0,0	12,5	0,0	12,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	12,5	0,0
16	25,0	0,0	12,5	500,0	0,0	0,0	0,0	12,5	0,0	12,5	12,5	0,0
17	0,0	25,0	25,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	12,5	0,0	0,0
18	0,0	12,5	0,0	50,0	12,5	25,0	0,0	0,0	0,0	0,0	12,5	0,0
+	10	11	7	10	5	4	4	6	6	7	9	6
-	8	7	11	8	13	14	14	12	12	11	9	12

4.3.3.2. Hohe *Salmonella* Zahlen

In der Tab. 4.31 sind die errechneten Werte auf Grundlage der Daten des Kap. 4.3.2 niedergelegt. Die negativen Ergebnisse sind dunkel unterlegt. Die qualitative Auswertung (positiv/ negativ, Tab. 4.22) basiert auf diesen Ergebnissen.

Die Auswertung des Durchsetzungsgrades der *Salmonella*-Kolonien, bezogen auf die Temperatur weist eine leichte Reduzierung bei 10 °C nach 12 h und 24 h auf. Ebenso konnte eine Reduzierung bei 7 °C nach 2 h, 6 h und 24 h festgestellt werden.

Tabelle 4.31: Ergebnisse der *Salmonella*-Kolonien nach modifizierten MPN- Verfahren, *Salmonella* in hoher Konzentration (absolute Zahlen an Kolonien)

n	30°C		15°C		10°C				7°C			
	2h	6h	2h	6h	2h	6h	12h	24h	2h	6h	12h	24h
1	200,0	962,5	62,5	137,5	25,0	62,5	62,5	112,5	112,5	87,5	150,0	50,0
2	137,5	1162,5	62,5	100,0	25,0	62,5	37,5	25,0	75,0	37,5	75,0	50,0
3	162,5	775,0	162,5	62,5	50,0	62,5	50,0	200,0	112,5	112,5	37,5	137,5
4	175,0	912,5	37,5	125,0	37,5	100,0	87,5	137,5	137,5	162,5	62,5	37,5
5	162,5	1025,0	50,0	87,5	87,5	62,5	50,0	112,5	50,0	62,5	75,0	125,0
6	175,0	1700,0	75,0	50,0	112,5	37,5	50,0	25,0	225,0	50,0	75,0	162,5
7	75,0	937,5	25,0	50,0	87,5	37,5	62,5	12,5	75,0	50,0	62,5	12,5
8	100,0	1112,5	25,0	50,0	125,0	25,0	37,5	12,5	125,0	37,5	0,0	12,5
9	162,5	1037,5	125,0	37,5	150,0	87,5	50,0	50,0	112,5	87,5	12,5	25,0
10	75,0	787,5	100,0	12,5	75,0	175,0	62,5	37,5	150,0	87,5	0,0	50,0
11	175,0	1437,5	137,5	37,5	62,5	100,0	12,5	50,0	75,0	50,0	12,5	25,0
12	87,5	1000,0	112,5	287,5	87,5	125,0	75,0	37,5	100,0	87,5	50,0	75,0
13	150,0	175,0	112,5	137,5	75,0	12,5	12,5	87,5	12,5	137,5	162,5	112,5
14	225,0	337,5	87,5	62,5	150,0	275,0	125,0	12,5	50,0	37,5	212,5	87,5
15	162,5	400,0	112,5	50,0	75,0	100,0	112,5	0,0	50,0	37,5	212,5	62,5
16	162,5	275,0	87,5	325,0	25,0	0,0	62,5	50,0	50,0	87,5	175,0	87,5
17	125,0	362,5	112,5	125,0	62,5	75,0	37,5	112,5	75,0	25,0	125,0	187,5
18	75,0	275,0	125,0	112,5	100,0	62,5	25,0	37,5	50,0	100,0	200,0	100,0
+	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18
-	18	18	18	18	18	18	18	1	18	18	2	18

4.4. Quantitative Ergebnisse nach den labortechnischen Eingriffen im Einzelnen

Für den unmittelbaren Vergleich des Einflusses wurden die Ausgangsoberflächenflora vor dem technischen Einfluss (Tab.4.12 und 4.13) mit dem Mittelwert (Tab. 4.18 und 4.19) der unabhängigen Analysen nach dem labortechnischen Einfluss verglichen.

Jeder Ansatz ist optisch dargestellt als Differenz zwischen beiden Vergleichszahlen. Die Flora kann entweder angestiegen oder abgesunken sein.

In den Tabellen 4.32 bis 4.55 sind die experimentell ermittelte Werte vor der Lagerung, die experimentell ermittelten Keimzahlen und deren Mittelwerte nach der Lagerung im Vergleich wiedergegeben sowie dementsprechende Differenzen für die jeweiligen Ansätze zwischen der GKZ vor und nach dem labortechnischen Einfluss.

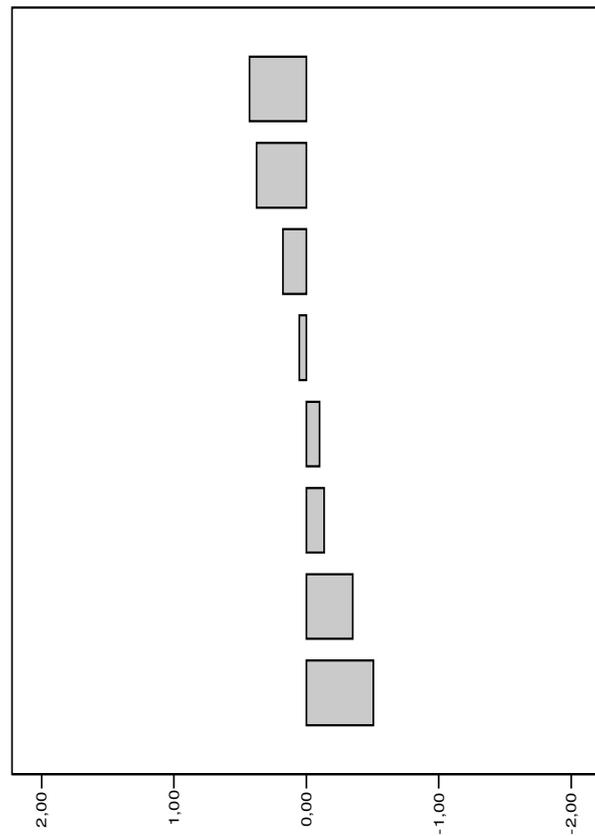
Die Tabellen beinhalten:

- die Analysenwerte der Ausgangsoberflächenflora nach der Beimpfung mit hergestellten Keimmischung „GKZ vor Lagerung“ (Tab. 4.12 und 4.13)
- Temperatur- und pH-Werte des Fleisches vor dem labortechnischen Eingriff
- den Keimgehalt nach dem jeweiligen labortechnischen Einfluss: 1 bis 2 bzw. 3 unabhängige Analysen (Tab. 4.15 und 4.16) sowie den daraus resultierenden Mittelwert (Tab. 4.18 und 4.19).

Tabelle 4.32: Dynamik der mikrobiologischen Besiedlung (*Salmonella* Konzentration: niedrig), Temperatur/ Zeit: 30°C/ 2h
 Ergebnisse der GKZ vor und nach der Lagerung, Daten logarithmiert

n	vor Lagerung			nach Lagerung		Diff.
	GKZ pro 20 cm ²	Fleischtemp. °C	pH Wert (Fleisch)	GKZ pro 20 cm ²	Mittelw.	
1	4,73	13,0	5,97	4,15	4,22	- 0,51
2				4,28		
3	4,46	13,0	5,7	4,51	4,51	0,05
4				4,52		
5	4,34	12,4	5,65	4,01	3,99	- 0,35
6				3,98		
7	4,88	7,3	6,3	4,90	4,75	- 0,13
8				4,51		
9	3,82	8,2	6	4,03	3,99	0,17
10				3,95		
11	3,65	8,0	6	3,58	3,55	- 0,10
12				3,51		
13				4,90		
14	4,29	7,70	5,6	4,56	4,72	0,43
15				4,63		
16				4,22		
17	4,34	8,50	5,4	5,08	4,71	0,37
18				4,23		

n: Untersuchungsansätze



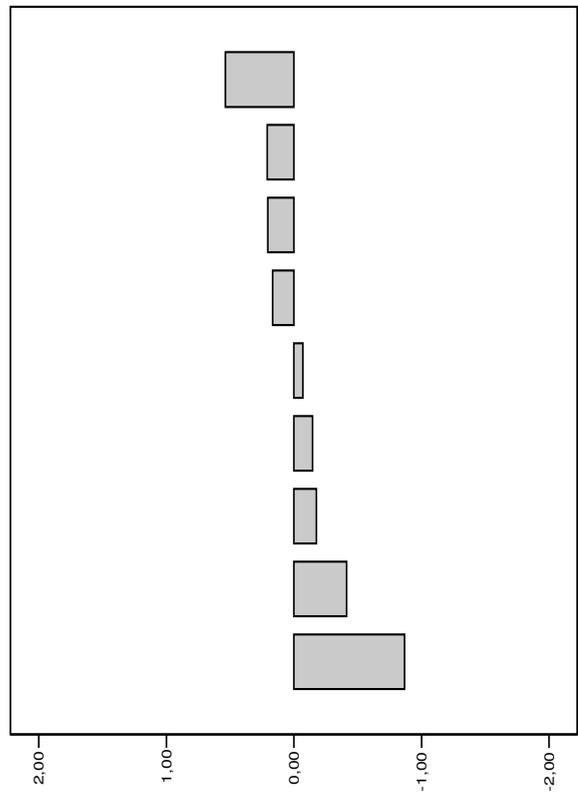
Ermittelte Differenz zwischen der GKZ vor und nach der Lagerung

Die Differenz errechnet sich aus den Werten vor und nach der Lagerung. Sie dokumentiert in diesem Falle vier niedrigere und vier höhere GKZ-Werte nach dem labortechnischen Eingriff. Hohe und niedrige Werte halten sich die Waage.

Tabelle 4.33: Dynamik der mikrobiologischen Besiedlung (*Salmonella* Konzentration: hoch), Temperatur/ Zeit: 30°C/ 2h
Ergebnisse der GKZ vor und nach der Lagerung, Daten logarithmiert

n	vor Lagerung			nach Lagerung		Diff.
	GKZ pro 20 cm ²	Fleischtemp. °C	pH Wert (Fleisch)	GKZ pro 20 cm ²	Mittelw.	
1	2,92	6,4	5,8	2,90	3,13	0,21
2	3,10	6,7	5,7	3,18	3,03	- 0,07
3	3,16	6,7	5,4	3,54	3,32	0,16
4	2,89	8,6	5,65	2,88	3,10	0,21
5	3,52	9,0	5,4	2,90	4,05	0,53
6	3,97	9,0	5,5	3,23	3,82	- 0,15
7	4,61	10,0	5,8	4,14	4,20	- 0,41
8	4,46	13,0	5,55	3,94	3,60	- 0,86
9	3,22	10,0	5,7	4,03	3,08	- 0,18
10				3,41	3,00	
11				4,36		
12				3,95		
13				3,77		
14				3,30		
15				3,08		
16				3,00		
17						
18						

n: Untersuchungsansätze



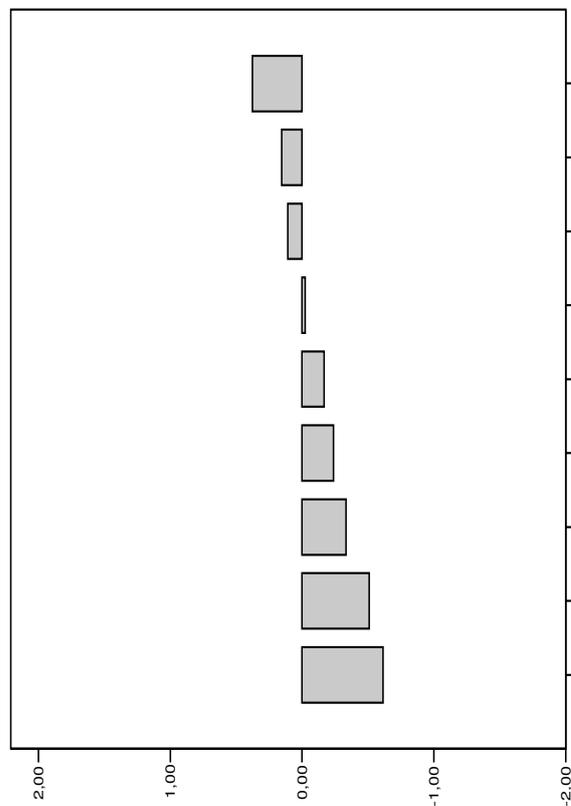
Ermittelte Differenz zwischen der GKZ vor und nach der Lagerung

Die Differenz dokumentiert sowohl niedrigere (5x) als auch höhere (4x) GKZ-Werte nach dem labortechnischen Eingriff.

Tabelle 4.34: Dynamik der mikrobiologischen Besiedlung (*Salmonella* Konzentration: niedrig), Temperatur/ Zeit: 30°C/ 6h
 Ergebnisse der GKZ vor und nach der Lagerung, Daten logarithmiert

n	vor Lagerung			nach Lagerung		diff.
	GKZ pro 20 cm ²	Fleischtemp. °C	pH Wert (Fleisch)	GKZ pro 20 cm ²	Mittelw.	
1	4,96	11,0	5,56	4,57	4,35	-0,61
2	4,22	9,7	5,6	3,85	3,71	-0,51
3	4,34	10,4	5,65	3,38	4,17	-0,17
4	3,82	7,2	5,9	3,89	3,49	-0,33
5	2,93	6,7	5,78	4,18	2,60	-0,33
6	3,82	7,2	5,9	4,16	3,49	-0,33
7	3,82	7,2	5,9	3,64	3,49	-0,33
8	2,93	6,7	5,78	3,26	2,60	-0,33
9	2,93	6,7	5,78	0,00	2,60	-0,33
10	4,55	7,8	5,8	2,90	4,31	-0,24
11	4,55	7,8	5,8	4,02	4,31	-0,24
12	4,55	7,8	5,8	4,48	4,31	-0,24
13	3,71	7,6	5,58	3,91	4,09	0,38
14	4,11	7,0	5,3	4,22	4,27	0,16
15	4,11	7,0	5,3	3,84	4,27	0,16
16	4,11	7,0	5,3	4,48	4,27	0,16
17	4,51	7,0	5,5	4,41	4,62	0,11
18	4,51	7,0	5,5	4,76	4,62	0,11

n: Untersuchungsansätze

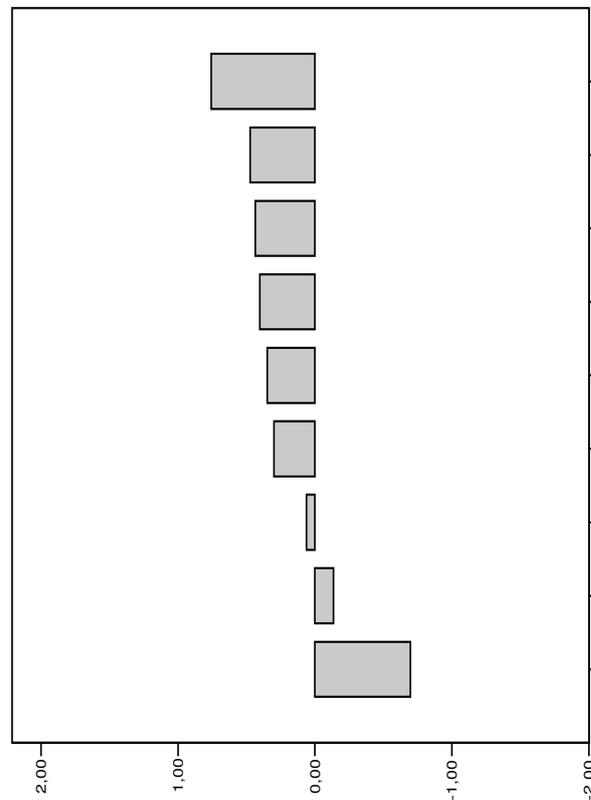


Ermittelte Differenz zwischen der GKZ vor und nach der Lagerung

Die dokumentierte Differenz zeigt eine Reduzierung (6x) der GKZ-Werte und in drei Fällen eine Erhöhung der GKZ-Werte.

Tabelle 4.35: Dynamik der mikrobiologischen Besiedlung (*Salmonella* Konzentration: hoch), Temperatur/ Zeit: 30°C/ 6h
 Ergebnisse der GKZ vor und nach der Lagerung, Daten logarithmiert

n	vor Lagerung			nach Lagerung		Diff.
	GKZ pro 20 cm ²	Fleischtemp. °C	pH Wert (Fleisch)	GKZ pro 20 cm ²	Mittelw.	
1	3,75	7,0	5,42	3,79	4,22	0,47
2				4,43		
3	2,94	7,0	5,3	3,12	3,29	0,35
4				3,41		
5	3,30	7,0	5,25	3,73	3,60	0,30
6				3,43		
7	3,06	8,7	5,21	3,49	3,49	0,43
8				3,49		
9	2,77	8,4	5,18	3,62	3,52	0,75
10				3,39		
11	3,76	9,0	5,35	3,67	3,63	- 0,13
12				3,58		
13	4,07	10,3	5,6	3,49	3,37	- 0,70
14				3,21		
15	3,63	9,7	5,8	4,00	4,04	0,41
16				4,07		
17	4,62	10,3	5,8	3,87	4,69	0,07
18				4,95		



Ermittelte Differenz zwischen der GKZ vor und nach der Lagerung

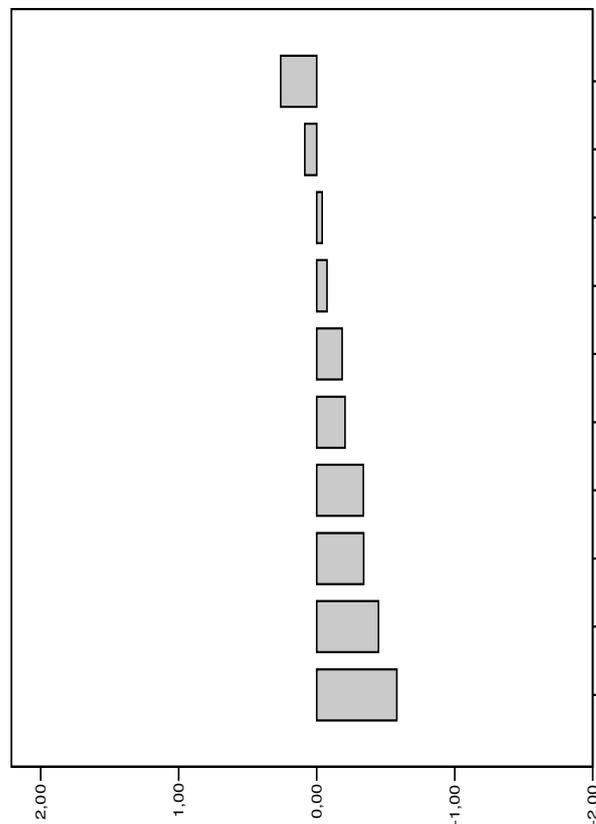
n: Untersuchungsansätze

Die Differenz dokumentiert eine deutliche Erhöhung der GKZ-Werte (7x).
 Bei dieser Lagerungs-Kombination und hoher *Salmonella*-Konzentration wurde *Salmonella* häufig festgestellt (siehe Tab. 4.27.).

Tabelle 4.36: Dynamik der mikrobiologischen Besiedlung (*Salmonella* Konzentration: niedrig), Temperatur/ Zeit: 15°C/ 2 h
 Ergebnisse der GKZ vor und nach der Lagerung, Daten logarithmiert

n	vor Lagerung			nach Lagerung		Diff.
	GKZ pro 20 cm ²	Fleischtemp. °C	pH Wert (Fleisch)	GKZ pro 20 cm ²	Mittelw.	
1	3,09	8,0	5,2	2,88	2,88	- 0,21
2	3,80	9,0	5,28	3,76	3,76	- 0,04
3	3,15	8,3	5,3	3,04	2,81	- 0,34
4				2,30		
5	3,81	8,4	5,17	3,08	3,23	- 0,58
6				3,34		
7	3,76	10,1	5,6	3,66	3,69	- 0,07
8				3,71		
9	3,75	8,9	5,6	4,15	4,01	0,26
10				3,80		
11	3,46	8,7	5,45	3,66	3,54	0,08
12				3,38		
13	4,02	8,3	5,48	3,64	3,57	- 0,45
14				3,49		
15	3,65	8,0	5,37	3,43	3,31	- 0,34
16				3,15		
17	3,75	7,4	5,36	3,23	3,57	- 0,18
18				3,75		

n: Untersuchungsansätze

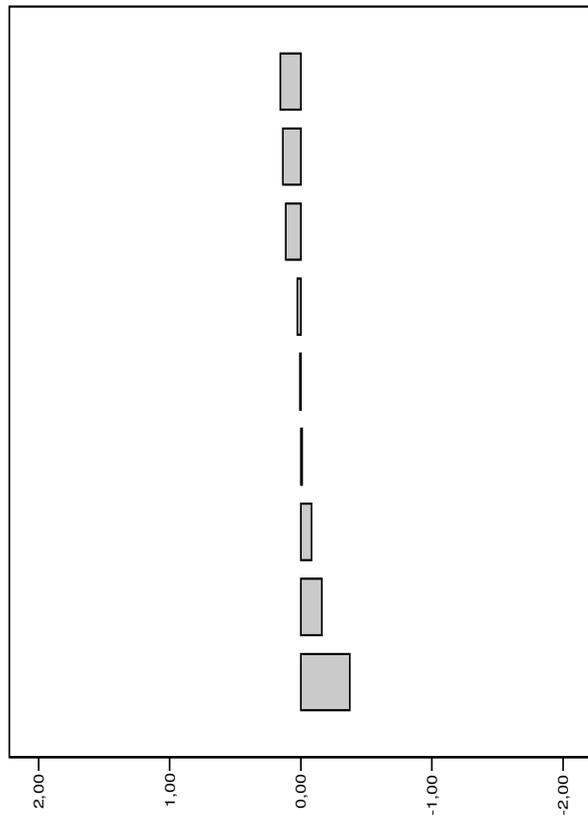


Ermittelte Differenz zwischen der GKZ vor und nach der Lagerung

Die Differenz dokumentiert eine deutliche Reduzierung (8x) der GKZ-Werte nach dem labortechnischen Eingriff, in zwei Fällen erhöht sich die Mikroflora (0,08 und 0,26).

Tabelle 4.37: Dynamik der mikrobiologischen Besiedlung (*Salmonella* Konzentration: hoch), Temperatur/ Zeit: 15°C/ 2 h
 Ergebnisse der GKZ vor und nach der Lagerung, Daten logarithmiert

n	vor Lagerung			nach Lagerung		Diff.
	GKZ pro 20 cm ²	Fleischtemp. °C	pH Wert (Fleisch)	GKZ pro 20 cm ²	Mittelw.	
1	3,52	9,0	5,12	3,67	3,51	- 0,01
2				3,23		
3	3,47	7,4	5,4	3,36	3,38	- 0,09
4				3,41		
5	2,82	8,2	4,96	2,98	2,98	0,16
6				2,98		
7	3,30	8,3	5	3,32	3,41	0,11
8				3,48		
9	3,10	8,5	5	3,41	3,24	0,14
10				2,98		
11	3,32	9,0	4,8	2,76	3,32	0,00
12				3,56		
13	4,09	8,3	5,67	3,91	4,12	0,03
14				4,26		
15	4,62	7,6	5,3	4,40	4,25	- 0,37
16				4,01		
17	3,62	7,0	5,46	3,32	3,46	- 0,16
18				3,56		



Ermittelte Differenz zwischen der GKZ vor und nach der Lagerung

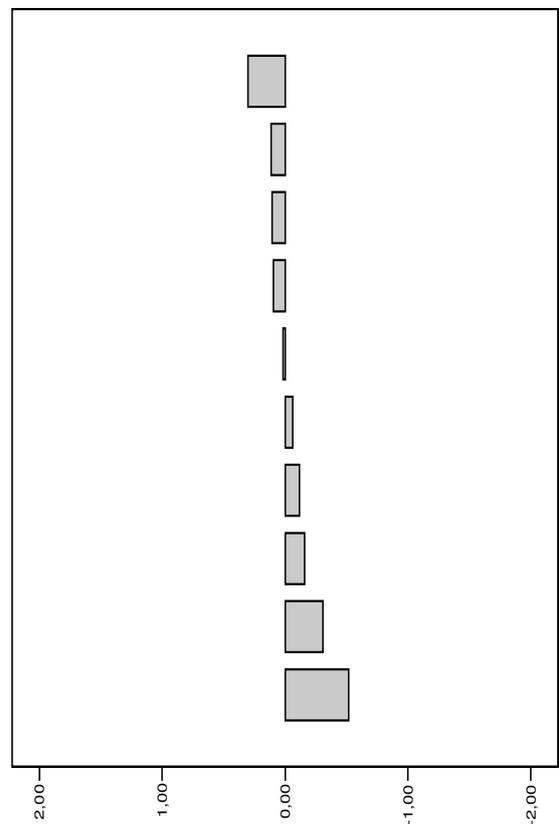
n: Untersuchungsansätze

Die dokumentierten GKZ-Werte halten sich die Waage.

Tabelle 4.38: Dynamik der mikrobiologischen Besiedlung (*Salmonella* Konzentration: niedrig), Temperatur/ Zeit: 15°C/ 6 h
 Ergebnisse der GKZ vor und nach der Lagerung, Daten logarithmiert

n	vor Lagerung			nach Lagerung		Diff.
	GKZ pro 20 cm ²	Fleischtemp. °C	pH Wert (Fleisch)	GKZ pro 20 cm ²	Mittelw.	
1	3,11	9,0	5,22	3,00	2,99	- 0,12
2	3,09	8,0	5,2	2,98		
3	3,80	9,0	5,28	2,78	2,78	- 0,31
4	3,26	7,3	5,15	3,28	3,28	- 0,52
5	3,47	8,7	5,56	3,45	3,36	0,10
6	3,44	7,9	5,63	3,26		
7	2,70	9,6	5,57	3,71	3,57	0,10
8	3,38	10,0	5,48	3,36		
9	3,63	9,7	5,71	3,69	3,46	0,02
10	4,18	10,2	5,6	2,90		
11	3,11	9,0	5,22	3,00	3,00	0,30
12	3,09	8,0	5,2	3,00		
13	3,80	9,0	5,28	3,28	3,32	- 0,06
14	3,26	7,3	5,15	3,62	3,48	- 0,15
15	3,47	8,7	5,56	3,26		
16	3,44	7,9	5,63	3,71	4,29	0,11
17	2,70	9,6	5,57	3,36		
18	3,38	10,0	5,48	3,00		

n: Untersuchungsansätze

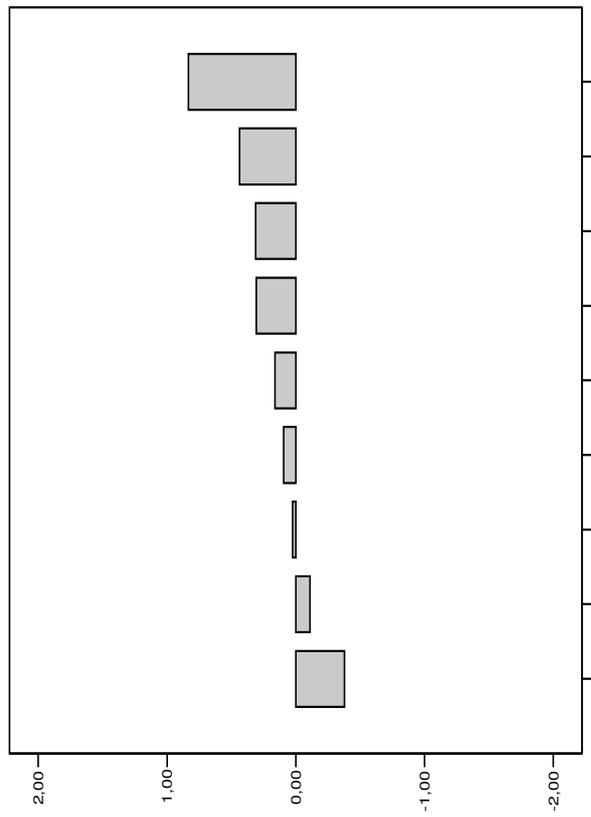


Ermittelte Differenz zwischen der GKZ vor und nach der Lagerung

Nach dieser labortechnischen Behandlung dokumentiert die Differenz sowohl niedrigere (5x) als auch erhöhte (5x) GKZ-Werte.

Tabelle 4.39: Dynamik der mikrobiologischen Besiedlung (*Salmonella* Konzentration: hoch), Temperatur/ Zeit: 15°C/ 6 h
 Ergebnisse der GKZ vor und nach der Lagerung, Daten logarithmiert

n	vor Lagerung			nach Lagerung		Diff.
	GKZ pro 20 cm ²	Fleischtemp. °C	pH Wert (Fleisch)	GKZ pro 20 cm ²	Mittelw.	
1	2,92	8,7	5,8	3,20	3,08	0,16
2				2,90		
3	3,45	8,6	5,6	3,56	3,76	0,31
4				3,89		
5	3,15	8,7	5,55	3,72	3,45	0,30
6				2,60		
7	3,50	7,1	5,28	3,41	3,60	0,10
8				3,73		
9	3,25	7,7	5,46	3,06	3,14	- 0,11
10				3,21		
11	3,57	8,0	5,15	3,08	3,19	- 0,38
12				3,28		
13	4,33	8,2	5,65	4,24	4,35	0,02
14				4,44		
15	4,61	7,4	5,7	5,73	5,44	0,83
16				4,28		
17	4,21	8,1	5,68	4,88	4,65	0,44
18				4,12		



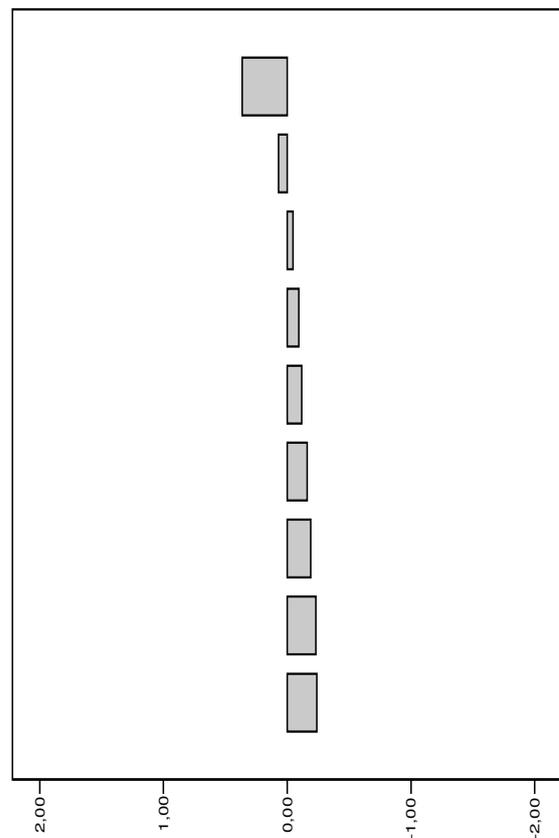
Ermittelte Differenz zwischen der GKZ vor und nach der Lagerung

n: Untersuchungsansätze

Die Differenz dokumentiert eine Erhöhung GKZ-Werte (7x) nach der Behandlung. Zweimal wurde die Mikroflora reduziert.

Tabelle 4.40: Dynamik der mikrobiologischen Besiedlung (*Salmonella* Konzentration: niedrig), Temperatur/ Zeit: 10°C/ 2 h
Ergebnisse der GKZ vor und nach der Lagerung, Daten logarithmiert

n	vor Lagerung			nach Lagerung		Diff
	GKZ pro 20 cm ²	Fleischtemp. °C	pH Wert (Fleisch)	GKZ pro 20 cm ²	Mittelw.	
1	3,86	8,5	5,32	3,20	3,76	- 0,10
2				4,00		
3	3,04	8,5	5,24	3,41	3,41	0,37
4				3,41		
5	3,11	8,5	5,27	2,98	2,92	- 0,19
6				2,86		
7	2,95	8,7	5,6	2,98	3,02	0,07
8				3,06		
9	3,38	8,0	5,66	3,26	3,15	- 0,23
10				3,00		
11	3,13	8,0	5,45	3,00	3,02	- 0,11
12				3,04		
13	4,48	8,4	5,7	3,91	4,32	- 0,16
14				4,53		
15	4,50	6,4	5,65	4,07	4,46	- 0,04
16				4,66		
17	4,73	8,9	5,64	4,67	4,49	- 0,24
18				4,18		



Ermittelte Differenz zwischen der GKZ vor und nach der Lagerung

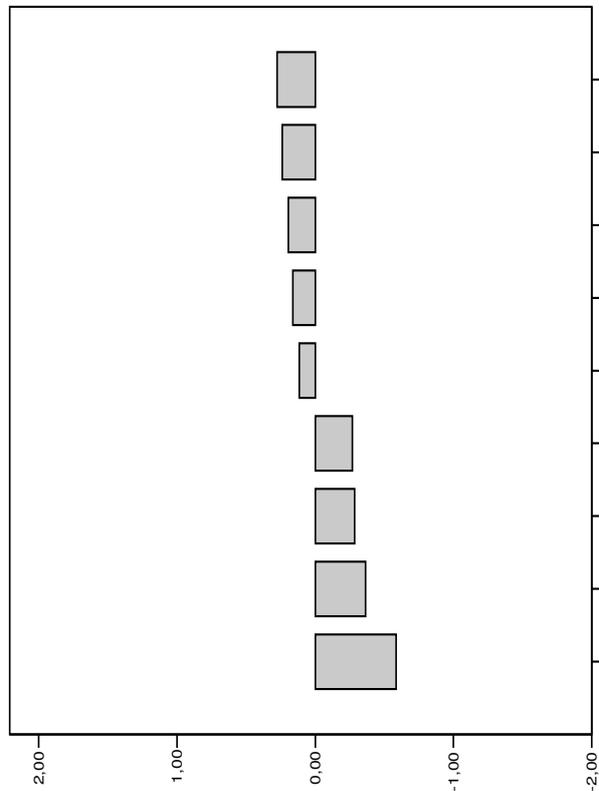
n: Untersuchungsansätze

Die Differenz dokumentiert eine Keim-Reduzierung nach dieser labortechnischen Behandlung, in zwei Fällen eine GKZ-Erhöhung.

Tabelle 4.41: Dynamik der mikrobiologischen Besiedlung (*Salmonella* Konzentration: hoch), Temperatur/ Zeit: 10°C/ 2 h
 Ergebnisse der GKZ vor und nach der Lagerung, Daten logarithmiert

n	vor Lagerung			nach Lagerung		Diff.
	GKZ pro 20 cm ²	Fleischtemp. °C	pH Wert (Fleisch)	GKZ pro 20 cm ²	Mittelw.	
1	3,13	10,2	5,2	3,30	3,25	0,12
2				3,18		
3	3,73	10,0	5,25	3,12	3,14	- 0,59
4				3,16		
5	3,32	11,0	5,28	2,78	2,95	- 0,37
6				3,08		
7	3,68	8,2	5,22	3,64	3,41	- 0,27
8				2,90		
9	3,77	8,2	5,2	2,88	4,01	0,24
10				4,29		
11	3,29	7,0	5,76	3,54	3,57	0,28
12				3,60		
13	2,94	6,7	5,13	3,16	3,10	0,16
14				3,04		
15	3,63	6,5	5,3	3,28	3,35	- 0,28
16				3,41		
17	3,48	7,2	5,09	3,78	3,67	0,19
18				3,54		

n: Untersuchungsansätze



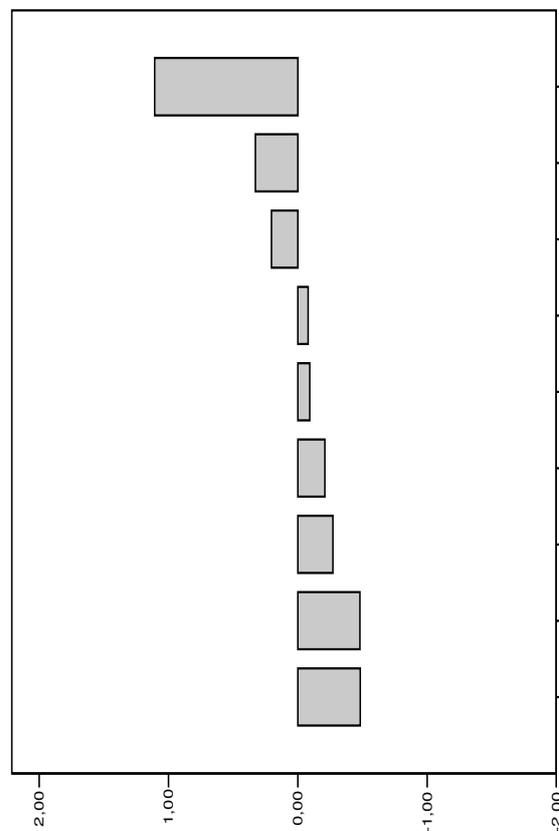
Ermittelte Differenz zwischen der GKZ vor und nach der Lagerung

Höhere und niedrigere Werte für den GKZ in den ermittelten Differenz-Werten halten sich die Waage.

Tabelle 4.42: Dynamik der mikrobiologischen Besiedlung (*Salmonella* Konzentration: niedrig), Temperatur/ Zeit: 10°C/ 6 h Ergebnisse der GKZ vor und nach der Lagerung, Daten logarithmiert

n	vor Lagerung			nach Lagerung		Diff.
	GKZ pro 20 cm ²	Fleischtemp. °C	pH Wert (Fleisch)	GKZ pro 20 cm ²	Mittelw.	
1	3,11	9,0	5,3	2,60	2,90	- 0,21
2				3,08		
3	2,69	7,5	5,16	2,60	2,60	- 0,09
4				2,60		
5	2,84	8,0	5,24	2,60	3,04	0,20
6	3,31	8,3	5,74	3,26		
7				2,60	2,83	- 0,48
8				2,98		
9	3,29	6,9	5,75	3,43	3,21	- 0,08
10				2,78		
11	4,36	7,3	5,6	3,58	3,88	- 0,48
12				4,05		
13	4,29	9,0	6,03	5,67	5,40	1,11
14				4,47		
15	4,94	7,0	5,96	4,64	4,60	- 0,34
16				4,68		
17	4,39	8,2	5,6	4,91	4,72	0,33
18				4,38		

n: Untersuchungsansätze

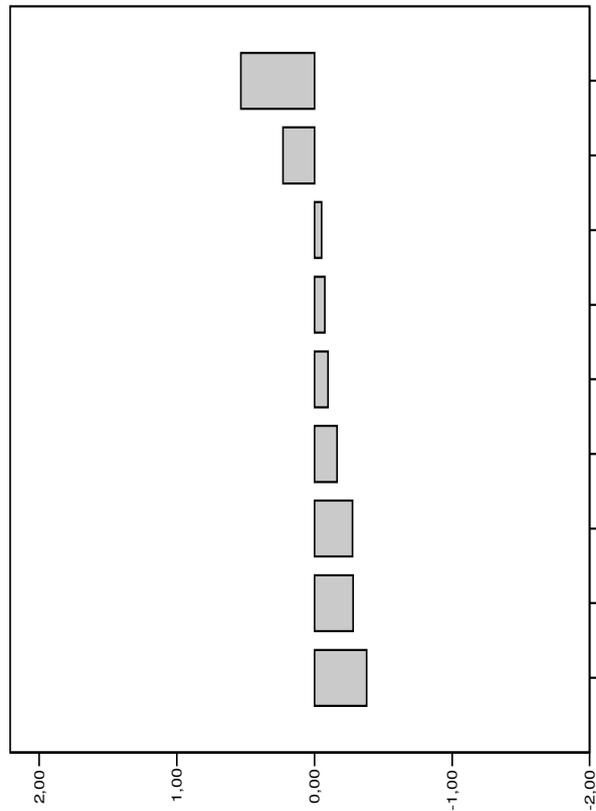


Ermittelte Differenz zwischen der GKZ vor und nach der Lagerung

Die Differenz dokumentiert bis auf einen deutlich erhöhten GKZ-Wert (1,11) relativ gleichmäßige niedrigere und höhere Verteilung der GKZ-Werte.

Tabelle 4.43: Dynamik der mikrobiologischen Besiedlung (*Salmonella* Konzentration: hoch), Temperatur/ Zeit: 10°C/ 6 h
 Ergebnisse der GKZ vor und nach der Lagerung, Daten logarithmiert

n	vor Lagerung			nach Lagerung		Diff.
	GKZ pro 20 cm ²	Fleischtemp. °C	pH Wert (Fleisch)	GKZ pro 20 cm ²	Mittelw.	
1	3,10	9,0	5,25	3,83	3,63	0,53
2				3,26		
3	3,59	7,0	5,15	3,00	3,43	- 0,16
4				3,64		
5	3,55	8,0	4,88	3,58	3,45	- 0,10
6				3,26		
7	3,59	7,7	5,38	3,80	3,82	0,23
8				3,83		
9	3,50	6,6	5,3	3,20	3,45	- 0,05
10				3,60		
11	3,87	7,5	5,25	3,36	3,60	- 0,27
12				3,75		
13	4,35	8,3	5,67	3,92	3,97	- 0,38
14				4,02		
15	4,14	9,8	5,6	3,72	3,86	- 0,28
16				3,96		
17	4,17	8,5	5,52	3,08	4,09	- 0,08
18				4,37		



Ermittelte Differenz zwischen der GKZ vor und nach der Lagerung

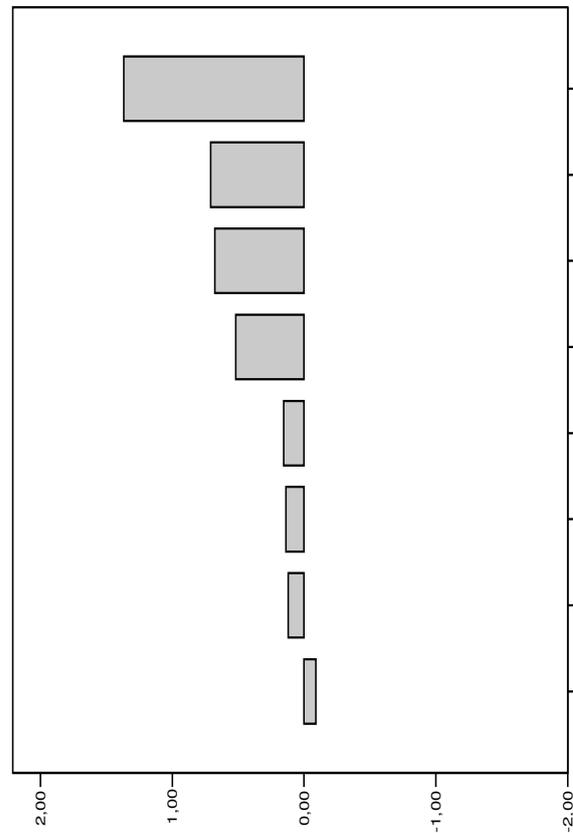
n: Untersuchungsansätze

Die Differenz dokumentiert eine Keim-Reduzierung nach dem labortechnischen Einfluss. Auf zwei Fleischoberflächen wurde der GKZ-Wert erhöht (0,23 und 0,53).

Tabelle 4.44: Dynamik der mikrobiologischen Besiedlung (*Salmonella* Konzentration: niedrig), Temperatur/ Zeit: 10°C/ 12 h
Ergebnisse der GKZ vor und nach der Lagerung, Daten logarithmiert

n	vor Lagerung			nach Lagerung			Diff.
	GKZ pro 20 cm ²	Fleischtemp. °C	pH Wert (Fleisch)	GKZ pro 20 cm ²	Mittelw.		
1	5,01	9,0	5,35	4,79	5,53		0,52
2				5,79			
3	4,44	9,0	5,34	5,94	5,81		1,37
4				5,62			
5	4,22	8,0	4,9	4,35	4,35		0,13
6				4,36			
7	4,23	7,8	5,4	4,32	4,39		0,16
8				4,44			
9	3,89	8,4	5,91	3,88	4,01		0,12
10				4,10			
11	3,98	9,7	6	3,41	3,89		- 0,09
12				4,11			
13	5,06	10,8	5,48	5,70	5,74		0,68
14				5,78			
15				5,74			
16	4,36	10,3	5,5	4,84	5,07		0,71
17				5,40			
18				4,46			

n: Untersuchungsansätze

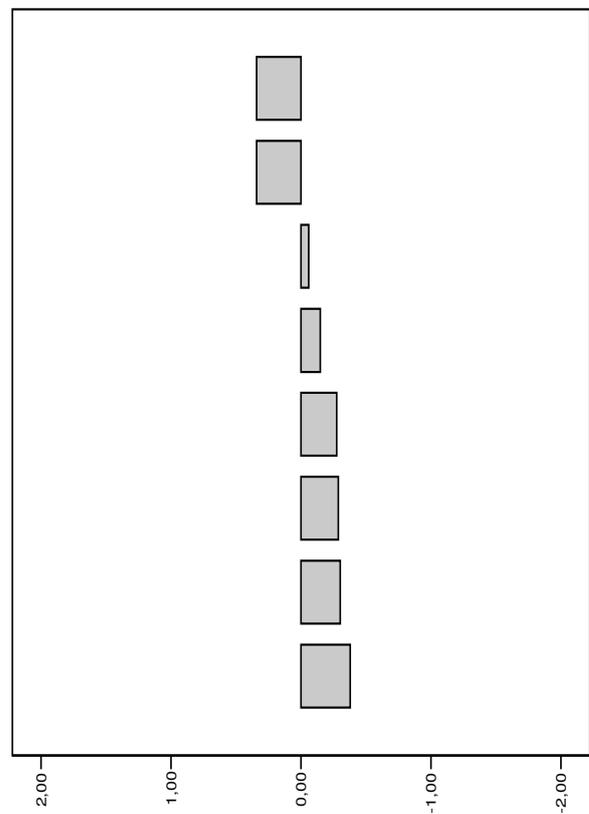


Ermittelte Differenz zwischen der GKZ vor und nach der Lagerung

Die Differenz dokumentiert eine deutliche Erhöhung der GKZ-Werte (7x) nach dem labortechnischen Eingriff, in einem Fall wurde eine schwache Reduzierung (-0,09) festgestellt.

Tabelle 4.45: Dynamik der mikrobiologischen Besiedlung (*Salmonella* Konzentration: hoch), Temperatur/ Zeit: 10°C/ 12 h
Ergebnisse der GKZ vor und nach der Lagerung, Daten logarithmiert

n	vor Lagerung			nach Lagerung		Diff.
	GKZ pro 20 cm ²	Fleischtemp. °C	pH Wert (Fleisch)	GKZ pro 20 cm ²	Mittelw.	
1	3,34	9,0	5,55	3,23	3,06	- 0,28
2	4,04	9,0	5,5	2,78	4,38	0,34
3	3,43	9,0	5,6	3,91	3,77	0,34
4	3,79	6,7	5,16	3,56	3,34	- 0,45
5	3,99	5,5	5	3,64	3,70	- 0,29
6	3,68	6,0	5,1	0,00	3,30	- 0,38
7	4,45	10,0	5,94	3,32	4,15	- 0,30
8	4,22	10,2	5,4	3,28	4,16	- 0,06
9				4,51		
10				3,74		
11				3,66		
12				4,43		
13				3,96		
14				3,87		



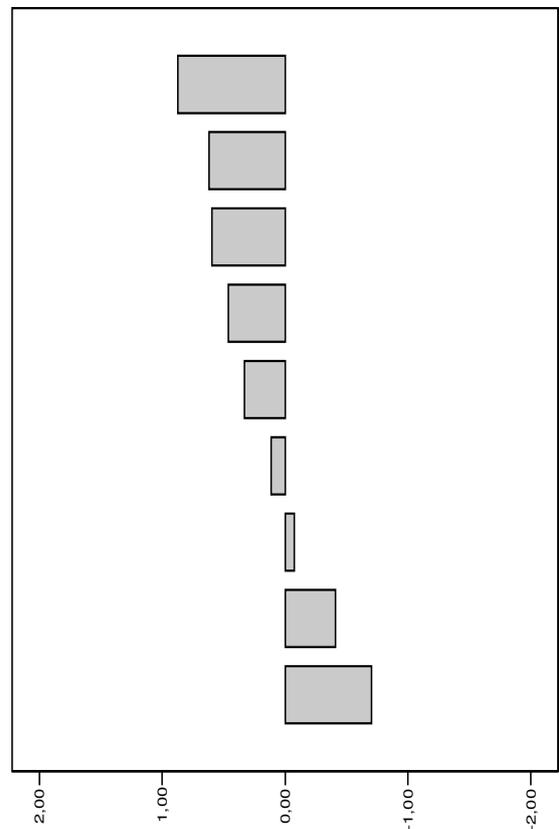
Ermittelte Differenz zwischen der GKZ vor und nach der Lagerung

n: Untersuchungsansätze

Die Differenz dokumentiert bis auf zwei gleichwertig erhöhten GKZ-Werte Reduzierungen der GKZ (6x) nach dem labortechnischen Einfluss.

Tabelle 4.46: Dynamik der mikrobiologischen Besiedlung (*Salmonella* Konzentration: niedrig), Temperatur/ Zeit: 10°C/ 24 h
Ergebnisse der GKZ vor und nach der Lagerung, Daten logarithmiert

n	vor Lagerung			nach Lagerung		Diff.
	GKZ Pro 20 cm ²	Fleischtemp. °C	pH Wert (Fleisch)	GKZ pro 20 cm ²	Mittelw.	
1	2,68	7,0	4,95	2,60	2,30	- 0,38
2				0,00		
3	3,01	7,3	5,2	2,60	2,60	- 0,41
4				2,60		
5	4,16	8,0	5	3,51	3,46	- 0,70
6				3,39		
7	4,28	8,0	5,5	3,99	4,87	0,59
8				5,15		
9	4,56	7,4	5,6	5,16	5,18	0,62
10				5,20		
11	3,63	7,4	5,6	3,48	4,50	0,87
12				4,78		
13	4,59	6,4	6,14	5,12	4,92	0,33
14				4,58		
15	4,27	5,1	6,05	4,02	4,38	0,11
16				4,58		
17	4,46	6,1	6,14	4,81	4,93	0,47
18				5,02		



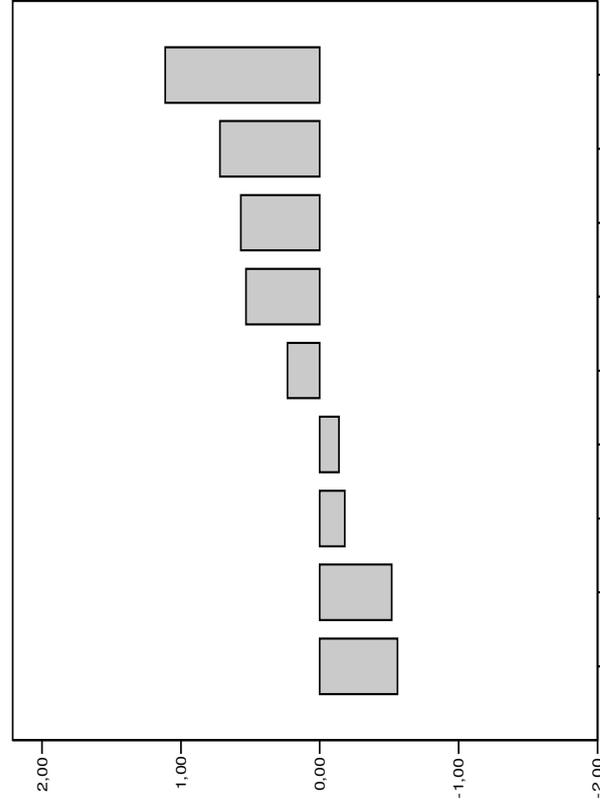
Ermittelte Differenz zwischen der GKZ vor und nach der Lagerung

n: Untersuchungsansätze

Nach dieser Lagerungskombination dokumentiert die Differenz 6x höhere GKZ-Werte und 3x reduzierte GKZ-Werte.

Tabelle 4.47: Dynamik der mikrobiologischen Besiedlung (*Salmonella* Konzentration: hoch), Temperatur/ Zeit: 10°C/ 24 h
 Ergebnisse der GKZ vor und nach der Lagerung, Daten logarithmiert

n	vor Lagerung			nach Lagerung		Diff.
	GKZ pro 20 cm ²	Fleischtemp. °C	pH Wert (Fleisch)	GKZ pro 20 cm ²	Mittelw.	
1	3,15	8,1	5,7	3,82	3,68	0,53
2				3,49		
3	3,25	7,3	5,9	3,20	3,49	0,24
4				3,66		
5	4,15	7,5	5,4	4,07	4,02	- 0,13
6				3,95		
7	5,03	6,0	5,5	4,56	4,51	- 0,52
8				4,46		
9	4,09	7,0	5,45	3,54	3,54	- 0,55
10				3,54		
11	3,99	7,3	5,42	3,98	3,81	- 0,18
12				3,51		
13	3,87	6,8	5,75	4,75	4,59	0,72
14				4,32		
15	3,23	8,0	5,73	4,60	4,35	1,12
16				3,64		
17	3,31	6,8	5,56	4,02	3,87	0,56
18				3,66		



Ermittelte Differenz zwischen der GKZ vor und nach der Lagerung

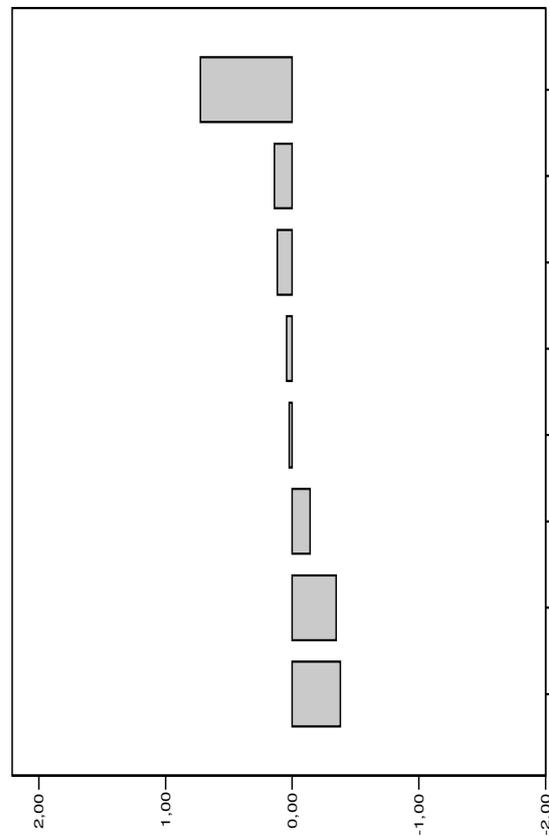
n: Untersuchungsansätze

Die Differenz dokumentiert hier deutlich erhöhte GKZ-Werte (5x) und in 4 Fällen eine Rückbildung der Keime unter diesem labortechnischen Bedingungen.

Tabelle 4.48: Dynamik der mikrobiologischen Besiedlung (*Salmonella* Konzentration: niedrig), Temperatur/ Zeit: 7°C/ 2 h
Ergebnisse der GKZ vor und nach der Lagerung, Daten logarithmiert

n	vor Lagerung			nach Lagerung			Diff.
	GKZ pro 20 cm ²	Fleischtemp. °C	pH Wert (Fleisch)	GKZ pro 20 cm ²	Mittelw.		
1	3,61	7,0	5,2	4,60	4,34		0,73
2				3,60			
3	3,76	8,0	5,39	3,60	3,88		0,12
4				4,04			
5	4,57	7,0	5,35	4,36	4,19		-0,38
6				3,90			
7	2,92	8,2	5,28	2,88	2,97		0,05
8				3,04			
9	3,42	7,8	5,18	3,16	3,07		-0,35
10				2,96			
11	3,20	8,0	5,2	3,23	3,06		-0,14
12				2,78			
13				5,07			
14	4,69	9,0	5,65	4,27	4,83		0,14
15				4,80			
16				4,66			
17	4,47	8,7	5,46	4,29	4,50		0,03
18				4,45			

n: Untersuchungsansätze

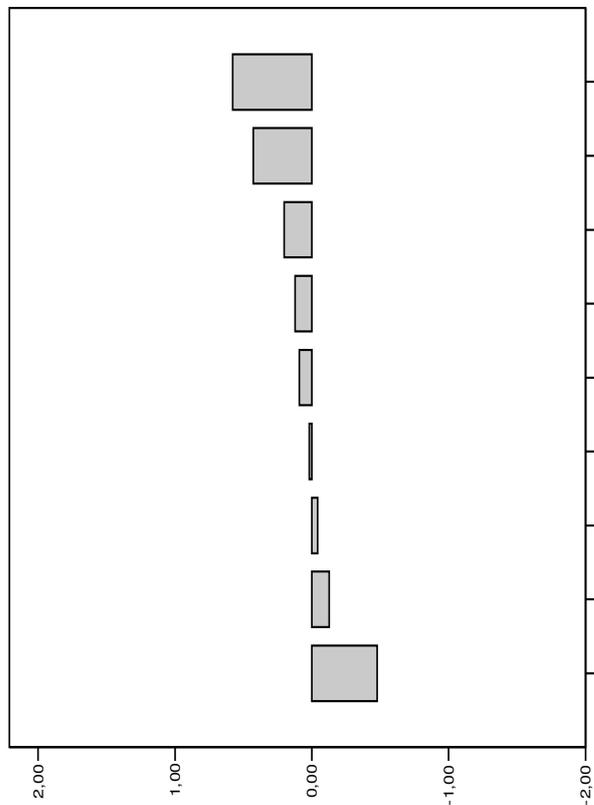


Ermittelte Differenz zwischen der GKZ vor und nach der Lagerung

Die Differenz dokumentiert 1 mal eine deutliche (0,73) und vier geringere Erhöhungen der GKZ im Gegensatz zu den drei niedrigeren GKZ-Werten.

Tabelle 4.49: Dynamik der mikrobiologischen Besiedlung (*Salmonella* Konzentration: hoch), Temperatur/ Zeit: 7°C/ 2 h
 Ergebnisse der GKZ vor und nach der Lagerung, Daten logarithmiert

n	vor Lagerung			nach Lagerung		Diff.
	GKZ pro 20 cm ²	Fleischtemp. °C	pH Wert (Fleisch)	GKZ pro 20 cm ²	Mittelw.	
1	3,70	7,6	5,1	4,19	4,28	0,58
2	4,00	6,8	5,25	4,36	4,12	0,12
3	3,79	6,9	5,32	4,02	4,00	0,21
4	3,04	8,3	5,6	4,20	3,00	- 0,04
5	2,94	8,0	5,37	4,22	3,36	0,42
6	3,50	7,6	5,43	3,49	3,02	- 0,48
7	4,04	8,8	5,74	2,96	4,06	0,02
8	3,88	7,4	5,7	3,04	3,75	- 0,13
9	4,14	8,1	5,64	3,08	4,24	0,10
10				3,54		
11				3,06		
12				2,98		
13				4,13		
14				3,97		
15				3,74		
16				3,76		
17				4,07		
18				4,36		



Ermittelte Differenz zwischen der GKZ vor und nach der Lagerung

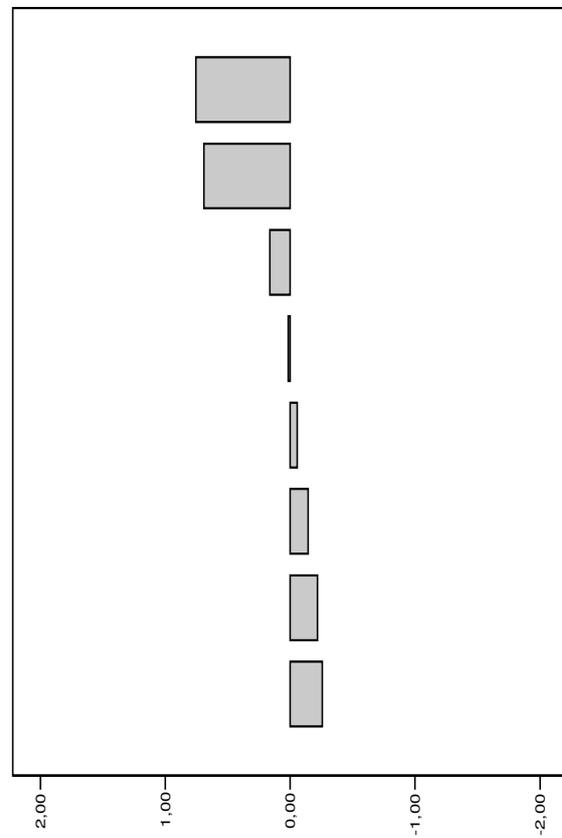
n: Untersuchungsansätze

Die Differenz dokumentiert nach der Behandlung erhöhte GKZ-Werte (6x).

Tabelle 4.50: Dynamik der mikrobiologischen Besiedlung (*Salmonella* Konzentration: niedrig), Temperatur/ Zeit: 7°C/ 6 h
Ergebnisse der GKZ vor und nach der Lagerung, Daten logarithmiert

n	vor Lagerung			nach Lagerung			Diff.
	GKZ pro 20 cm ²	Fleischtemp. °C	pH Wert (Fleisch)	GKZ pro 20 cm ²	Mittelw.		
1	4,06	8,5	5,14	4,14	4,00		-0,06
2				3,79			
3	4,52	8,6	5,15	4,24	4,30		-0,22
4				4,35			
5	3,68	8,5	5,11	3,66	3,70		0,02
6				3,74			
7	4,63	7,7	5,4	5,04	4,79		0,16
8				4,13			
9	4,25	6,5	5,55	4,02	4,10		-0,15
10				4,17			
11	4,43	7,1	5,44	4,30	4,17		-0,26
12				3,97			
13				5,75			
14	4,98	9,8	5,8	6,00	5,74		0,76
15				4,88			
16				4,84			
17	4,57	10,0	5,9	4,71	5,26		0,69
18				5,63			

n: Untersuchungsansätze

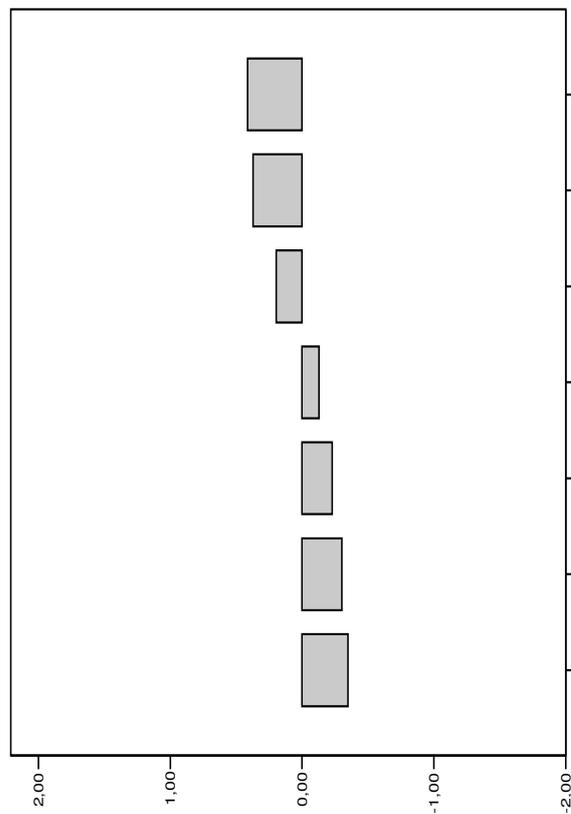


Ermittelte Differenz zwischen der GKZ vor und nach der Lagerung

Die Differenz zwischen der GKZ vor und nach der Bebrütung zeigt sowohl eine GKZ Erhöhung (4x) als auch Reduzierung (4x) der GKZ-Werte.

Tabelle 4.51: Dynamik der mikrobiologischen Besiedlung (*Salmonella* Konzentration: hoch), Temperatur/ Zeit: 7°C/ 6 h
Ergebnisse der GKZ vor und nach der Lagerung, Daten logarithmiert

n	vor Lagerung			nach Lagerung		Diff.
	GKZ pro 20 cm ²	Fleischtemp. °C	pH Wert (Fleisch)	GKZ pro 20 cm ²	Mittelw.	
1	4,79	7,7	5,2	4,88	4,66	- 0,13
2	4,79	7,7	5,2	4,68		
3	4,79	7,7	5,2	4,10		
4	4,32	7,8	5	3,91	3,97	- 0,35
5	4,32	7,8	5	4,20		
6	4,32	7,8	5	3,60		
7	3,88	7,4	4,73	4,20	4,07	0,19
8	3,88	7,4	4,73	4,15		
9	3,88	7,4	4,73	3,76		
10	3,89	6,5	4,8	3,46	4,26	0,37
11	3,89	6,5	4,8	4,65		
12	3,89	6,5	4,8	3,85		
13	3,66	8,8	6	2,90	3,43	- 0,23
14	3,66	8,8	6	3,66		
15	3,92	8,3	5,9	3,69	3,62	- 0,30
16	3,92	8,3	5,9	3,54		
17	3,31	8,3	5,9	2,98	3,72	0,41
18	3,31	8,3	5,9	3,98		



Ermittelte Differenz zwischen der GKZ vor und nach der Lagerung

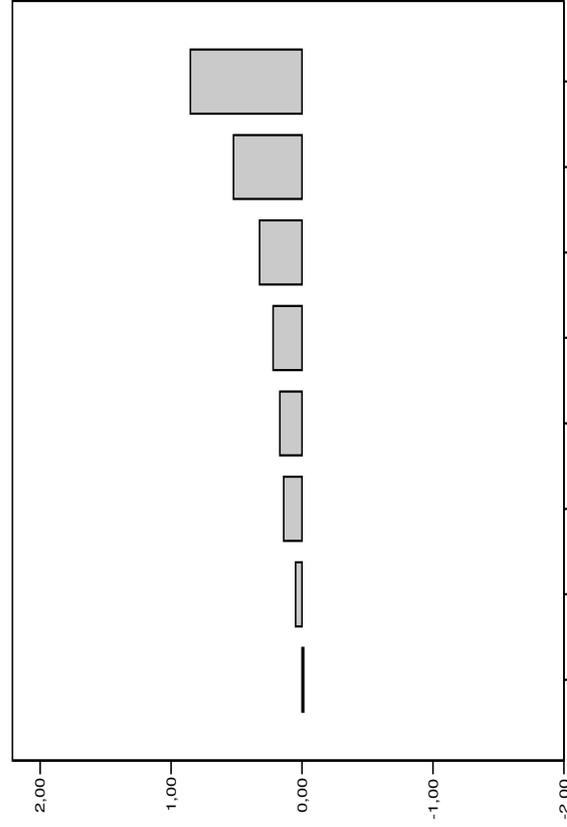
n: Untersuchungsansätze

Hier sind sowohl niedrigere (4x) als auch höhere (3x) GKZ-Werte nach dem Einfluss dokumentiert. Die Werte halten sich die Waage.

Tabelle 4.52: Dynamik der mikrobiologischen Besiedlung (*Salmonella* Konzentration: niedrig), Temperatur/ Zeit: 7°C/ 12 h
Ergebnisse der GKZ vor und nach der Lagerung, Daten logarithmiert

n	vor Lagerung			nach Lagerung			Diff.
	GKZ pro 20 cm ²	Fleischtemp. °C	pH Wert (Fleisch)	GKZ pro 20 cm ²	Mittelw.		
1	3,47	8,8	5,23	4,14	3,69		0,22
2				3,79			
3	3,50	8,3	5,28	4,24	3,64		0,14
4				4,35			
5	3,23	8,8	5,21	3,66	3,22		-0,01
6				3,74			
7	3,81	11,3	5,67	5,04	4,13		0,32
8				4,13			
9	3,47	9,5	5,62	4,02	3,64		0,17
10				4,17			
11	3,93	9,8	5,47	4,30	3,98		0,05
12				3,97			
13				5,75			
14	3,84	6,9	6	6,00	4,37		0,53
15				4,88			
16				4,84			
17	3,45	7,3	5,36	4,71	4,30		0,85
18				5,63			

n: Untersuchungsansätze



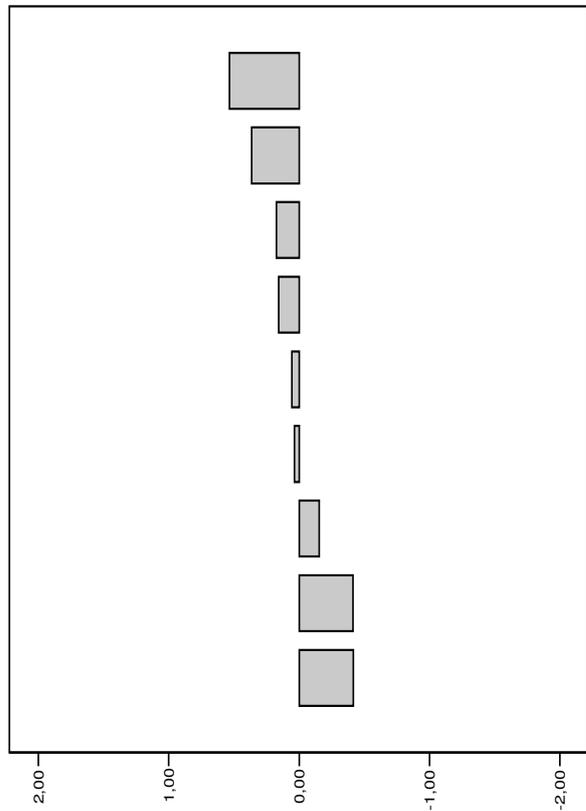
Ermittelte Differenz zwischen der GKZ vor und nach der Lagerung

Die Differenz dokumentiert häufig höhere GKZ-Werte nach dem labortechnischen Einfluss, ein GKZ-Wert zeigt eine schwache Reduzierung (-0,01) der Keime.

Tabelle 4.53: Dynamik der mikrobiologischen Besiedlung (*Salmonella* Konzentration: hoch), Temperatur/ Zeit: 7°C/ 12 h
 Ergebnisse der GKZ vor und nach der Lagerung, Daten logarithmiert

n	vor Lagerung			nach Lagerung		Diff.
	GKZ pro 20 cm ²	Fleischtemp. °C	pH Wert (Fleisch)	GKZ pro 20 cm ²	Mittelw.	
1	2,71	8,0	5,3	2,86	2,87	0,16
2				2,88		
3	3,39	7,7	5	2,98	2,98	-0,41
4				2,98		
5	3,65	7,9	5	3,37	3,83	0,18
6				4,04		
7	4,11	8,4	5,3	3,60	3,96	-0,15
8				4,15		
9	4,00	7,8	6,3	4,02	4,36	0,36
10				4,55		
11	3,25	7,9	6,35	3,08	3,29	0,04
12				3,43		
13	3,67	8,5	5,49	3,97	3,72	0,05
14				3,12		
15	3,22	8,4	5,6	3,28	3,75	0,53
16				3,98		
17	3,80	9,7	5,6	3,34	3,39	-0,41
18				3,43		

n: Untersuchungsansätze



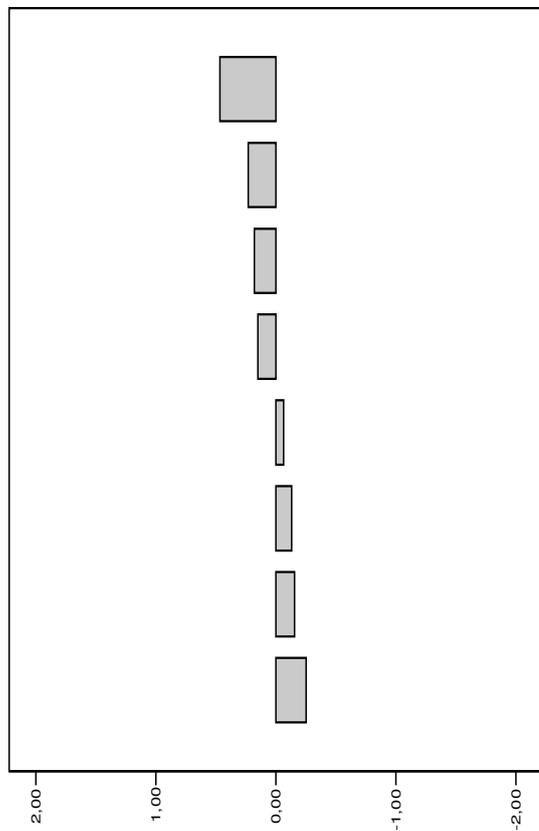
Ermittelte Differenz zwischen der GKZ vor und nach der Lagerung

Nach diesem labortechnologischen Einfluss dokumentiert die Differenz in 6 Fällen eine Erhöhung der GKZ-Werte.

Tabelle 4.54: Dynamik der mikrobiologischen Besiedlung (*Salmonella* Konzentration: niedrig), Temperatur/ Zeit: 7°C/ 24 h
Ergebnisse der GKZ vor und nach der Lagerung, Daten logarithmiert

n	vor Lagerung			nach Lagerung			Diff.
	GKZ pro 20 cm ²	Fleischtemp. °C	pH Wert (Fleisch)	GKZ pro 20 cm ²	Mittelw.		
1	2,67	8,9	5,4	2,60	2,60		-0,07
2				2,60			
3	4,03	8,6	6,23	3,62	3,88		-0,15
4				4,04			
5	3,44	9,0	6,22	3,86	3,62		0,18
6				3,00			
7	4,94	8,8	5,33	4,62	4,81		-0,13
8				4,95			
9	4,32	7,8	5,48	3,83	4,07		-0,25
10				4,22			
11	3,74	8,2	5,41	3,75	3,97		0,23
12				4,12			
13				4,51	4,30		0,15
14	4,15	7,6	6,27	3,97			
15				4,27			
16				3,28	3,69		0,46
17	3,23	6,9	6	3,08			
18				4,07			

n: Untersuchungsansätze

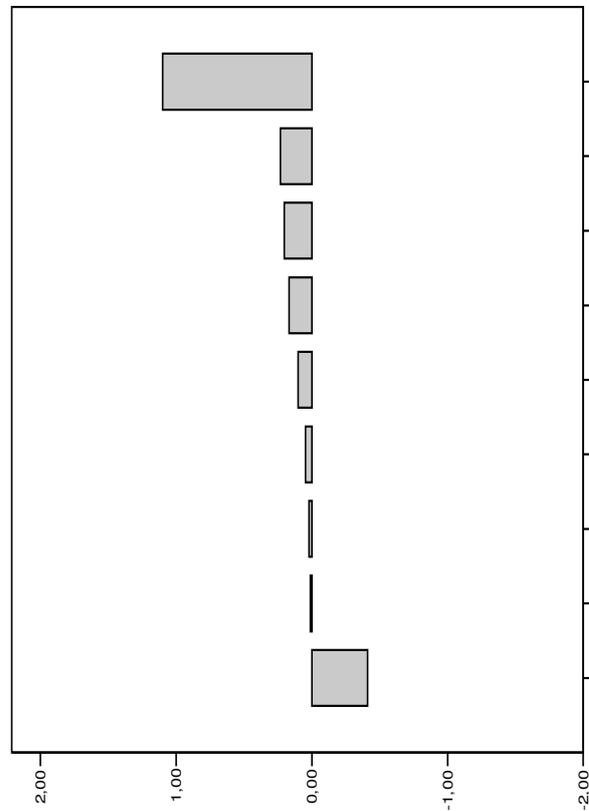


Ermittelte Differenz zwischen der GKZ vor und nach der Lagerung

Die Differenz dokumentiert sowohl niedrigere (4x) als auch höhere (4x) GKZ-Werte nach dem labortechnischen Eingriff.

Tabelle 4.55: Dynamik der mikrobiologischen Besiedlung (*Salmonella* Konzentration: hoch), Temperatur/ Zeit: 7°C/ 24 h
 Ergebnisse der GKZ vor und nach der Lagerung, Daten logarithmiert

n	vor Lagerung			nach Lagerung		Diff.
	GKZ pro 20 cm ²	Fleischtemp. °C	pH Wert (Fleisch)	GKZ pro 20 cm ²	Mittelw.	
1	4,25	7,6	5,7	4,57	4,45	0,20
2				4,28		
3	3,57	6,9	5,1	4,16	4,67	1,10
4				4,90		
5	3,82	7,6	5	4,19	3,99	0,17
6				3,60		
7	3,41	9,0	5,33	3,72	3,45	0,04
8				2,60		
9	2,67	8,7	5,35	2,90	2,60	- 0,07
10				0,00		
11	3,03	9,0	5,65	3,00	3,04	0,01
12				3,08		
13	3,17	8,1	5,8	3,37	3,27	0,10
14				3,12		
15	3,36	8,2	5,74	3,00	2,95	- 0,41
16				2,90		
17	3,55	8,4	5,6	3,18	3,58	0,03
18				3,78		



Ermittelte Differenz zwischen der GKZ vor und nach der Lagerung

n: Untersuchungsansätze

Die Differenz dokumentiert (bis auf zwei GKZ-Reduzierungen: -0,07 und -0,41) meist eine Erhöhung des Keimgehaltes, in einem Fall eine starke Erhöhung der GKZ um 1,10 log.

4.5. Ergebnisse zur aufgetragenen Begleitflora

Die Auszählung der Kolonien (*Staphylococcus aureus* und *Bacillus subtilis*) erfolgte aus Blutagar-Platten, die auch für die Auszählung von *Salmonellen* ausgespatelt waren (Kap. 4.3.2.).

Insgesamt wurden 432 Oberflächen untersucht: 216 Oberflächen für *Salmonella* in niedriger Konzentration und 216 Oberflächen für *Salmonella* in hoher Konzentration. Für die Analysen wurden morphologisch erkennbare *Staphylococcus* Kolonien sowie *Bacillus* Kolonien gezählt und jeweils auf 20 cm² Oberfläche hochgerechnet (Kap. 3.2.4.2.). Die Ergebnisse sind in Tabelle 9.21 und 9.22 des Anhanges 9 B niedergelegt.

Der qualitative Nachweis der *Staphylococcus*- und *Bacillus*-Kolonien erfolgte anhand der morphologischen Merkmale.

Niedrige *Salmonella* Zumischung:

Die Tabellen 4.56 und 4.57 geben eine Gesamtübersicht über die Wiederfindungsrate des auf der Fleischoberfläche aufgetragenen *Staphylococcus aureus* und *Bacillus subtilis* unter Bezugnahme auf Temperatur und Zeit (*Salmonella*-Konzentration in niedriger Zahl) wieder. Positive Ergebnisse sind dunkel schattiert.

Staphylococcus aureus wurde 177mal identifiziert. Bei den Temperaturen 30 °C und 15 °C (jeweils zwei verschiedenen Zeit-Bedingungen) wurde *Staphylococcus* 71mal, bei 10 °C und 7 °C (jeweils vier verschiedenen Zeit-Bedingungen) 106mal nachgewiesen.

Ein *Bacillus subtilis*-Nachweis erfolgte insgesamt 72mal. Bei den Temperaturen 30 °C und 15 °C wurde *Bacillus* 30mal, bei 10 °C und 7 °C 42mal nachgewiesen.

Hohe *Salmonella* Zumischung:

Die Tabellen 4.58 und 4.59 geben eine Gesamtübersicht über die Wiederfindungsrate des aufgetragenen *Staphylococcus aureus* und *Bacillus subtilis* unter Bezugnahme auf Temperatur und Zeit (*Salmonella* in hoher Konzentration) wieder. Positive Ergebnisse sind dunkel schattiert.

Staphylococcus aureus wurde 71mal identifiziert. Bei den Temperaturen 30 °C und 15 °C (jeweils zwei verschiedenen Zeit-Bedingungen) wurde *Staphylococcus* 32mal, bei 10 °C und 7 °C (jeweils vier verschiedenen Zeit-Bedingungen) 39mal nachgewiesen.

Ein *Bacillus subtilis*-Nachweis erfolgte in niedriger *Salmonella* Zumischung insgesamt 80mal. Bei den Temperaturen 30 °C und 15 °C wurde *Bacillus* 35mal, bei 10 °C und 7 °C 45mal nachgewiesen.

Tabelle 4.56: Staphylococcus aureus-Nachweis, qualitativ (n = 18 pro Temperatur/ Zeit-Kombination), niedrige *Salmonella*-Konzentration

n	30 °C		15 °C		10 °C				7 °C			
	2h	6h	2h	6h	2h	6h	12h	24h	2h	6h	12h	24h
1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	0
2	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1
3	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1
4	0	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	0
5	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1
6	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1
7	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0
8	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
9	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1
10	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
11	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
12	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
13	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	0
14	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1
15	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1
16	1	1	1	1		0	0	0	0	1	1	1
17	1	1	1	1	1	0	0	1	0	1	1	1
18	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1
n	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18
+	17	18	18	18	17	15	6	13	10	13	18	14
-	1	0	0	0	1	3	12	5	8	5	0	4

1= Staphylococcus nachgewiesen
0= Staphylococcus nicht nachgewiesen
n= Gesamte Probenzahl
+ = positive Proben
- = negative Proben

Tabelle 4.57: Bacillus subtilis-Nachweis, qualitativ (n = 18 pro Temperatur/ Zeit/ Kombination), niedrige Salmonella-Konzentration

n	30 °C		15 °C		10 °C				7 °C			
	2h	6h	2h	6h	2h	6h	12h	24h	2h	6h	12h	24h
1	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0
2	1	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	0
3	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1
4	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1
5	1	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	1
6	1	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	1
7	0	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0
8	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	1
9	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	0	1
10	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1
11	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
12	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
13	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0
14	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
15	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0
16	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	1
17	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0
18	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
n	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18
+	9	3	8	10	8	6	5	2	6	2	5	8
-	9	15	10	8	10	12	13	16	12	16	13	10

1= Bacillus nachgewiesen

0= Bacillus nicht nachgewiesen

n= Gesamte Probenzahl

+ = positive Proben

- = negative Proben

Tabelle 4.58: Staphylococcus aureus-Nachweis, qualitativ (n = 18 pro Temperatur/ Zeit-Kombination), hohe *Salmonella*-Konzentration

n	30 °C		15 °C		10 °C				7 °C			
	2h	6h	2h	6h	2h	6h	12h	24h	2h	6h	12h	24h
1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
2	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
3	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
4	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0
5	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
6	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1
7	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0
8	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
9	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
10	1	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
11	1	1	1	0	0	1	0	1	0	0	0	1
12	1	1	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0
13	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0
14	1	1	1	0	1	1	0	0	0	1	0	0
15	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0
16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
17	0	1	1	0	1	1	0	0	0	1	0	0
18	1	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0
n	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18
+	10	15	7	0	6	7	2	3	3	9	7	2
-	8	3	11	18	12	11	16	15	15	9	11	16

1= Staphylococcus nachgewiesen
0= Staphylococcus nicht nachgewiesen
n= Gesamte Probenzahl
+ = positive Proben
- = negative Proben

Tabelle 4.59: Bacillus subtilis-Nachweis, qualitativ (n = 18 pro Temperatur/ Zeit-Kombination), hohe Salmonella-Konzentration

n	30 °C		15 °C		10 °C				7 °C			
	2h	6h	2h	6h	2h	6h	12h	24h	2h	6h	12h	24h
1	0	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1
3	1	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0
4	0	1	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0
5	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0
6	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1
7	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0
8	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
9	1	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0
10	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	0	0
11	0	1	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0
12	0	0	1	1	1	1	0	0	1	1	0	0
13	1	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0
14	0	1	1	0	0	1	1	0	1	0	0	0
15	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0
16	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
17	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1
18	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0	0
n	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18
+	5	9	12	9	10	7	5	3	13	3	1	3
-	13	9	6	9	8	11	13	15	5	15	17	15

1= Bacillus nachgewiesen

0= Bacillus nicht nachgewiesen

n= Gesamte Probenzahl

+ = positive Proben

- = negative Proben

5. Diskussion und Schlussfolgerungen

5.1. Die Zielsetzung

Mit der Anwendung von Temperaturen des Kühlbereiches auf Fleisch und Fleischerzeugnissen ist der Ablauf mikrobieller und chemischer Reaktionen verlangsamt oder sistiert vollständig. Das Einhalten der Kühlkette ist in der Fleischbe- und Verarbeitung notwendig, allerdings kann sich eine Wachstumsnische für psychrotolerante Keime bilden. Die unverzügliche Kühlung von frischem Fleisch nach der Schlachtung auf eine Temperatur von maximal +7 °C sowie das Einhalten dieser Temperatur während der Beförderung ist rechtlich durch die VO (EG) 853/2004 geregelt.

Für die vorliegende Arbeit ergaben sich Fragestellungen hinsichtlich der hygienischen Konsequenzen für den mikrobiellen Stoffwechsel auf den Fleischoberflächen bei Abweichungen von der vorgeschriebenen Temperatur. Untersucht wurde das Verhalten von experimentell aufgetragenen Salmonellen vor dem Hintergrund einer ebenfalls aufgetragenen Begleitflora (*Staphylococcus aureus* und *Bacillus subtilis*) sowie der vorhandenen Keimbesiedlung auf den beprobten Fleischoberflächen bei verschiedenen Temperatur- und Zeitbedingungen. Hierzu wurden eine niedrige und eine hohe Salmonellen-Inokulationsrate zusammengestellt.

Die Fragestellungen dieser Arbeit lauteten:

1. Wie verhalten sich Salmonellen quantitativ auf der Fleischoberfläche bei Kühltemperaturen (7 °C)?
2. Wie verläuft die Vermehrung von Salmonellen bei höheren Temperaturen“?
3. Wird das Verhalten von Salmonellen durch die Begleitflora beeinflusst?

5.2. Material und Methodik

5.2.1. Probenmaterial

Postmortal kann es zur Besiedlung der Tiefe der Muskulatur und einer sich anschließenden Konkurrenz verschiedener Bakterientaxa kommen. In den hier beschriebenen Untersuchungen wurde die Muskulatur gekühlter Schweine-Tierkörperhälften verwendet, das Material entsprach somit dem der herkömmlichen Fleischproduktion. Für die zur Beprobung vorbereiteten Fleischoberflächen wurden Schablonen aus korrosionsbeständigem Material angefertigt, jeweils mit einer Fläche von 20 cm².

5.2.2. Temperatur und pH-Wert des Fleisches

Das Einhalten der Kühlkette ist ein wichtiger Kontrollpunkt. In der Literatur (BURKHARD 1992; KRÄMER 1997; PICHHARDT 1998) wird das Wachstumsoptimum für psychrotolerante Keime zwischen 12 – 30 °C beschrieben, diese Keime können sich aber noch bei oder unter 0 °C (bis +5 °C) vermehren.

Verschiedene Autoren (FEHLHABER 1992, GRACEY und COLLINS 1992, LAWRIE 1998) beschreiben unterschiedliche Bereiche des gruppenspezifischen Temperaturoptimums. In der Tab. 5.1 sind die optimalen Temperaturen für das Wachstum von *Salmonella* spp.

Staphylococcus spp. und Bacillus spp. beschrieben, die in diesen Untersuchungen getestet wurden.

Tabelle 5.1: Temperaturoptima der in dieser Untersuchung eingesetzten Keimgruppen

Keimgruppe	FEHLHABER (1992)	GRACEY und COLLINS (1992)	LAWRIE (1998)
<i>Salmonella</i> spp. <i>Staphylococcus</i> spp	30 – 40 °C	15 – 45 °C	10 – 40 °C
<i>Bacillus</i> spp.	40 – 50 °C	45 – 60 °C	43 – 60 °C

Das zu beprobende Fleisch war gekühlt angeliefert worden. Vor jeder Bearbeitung erfolgte eine Temperatur- und pH-Messung. Der niedrigste Temperaturmesswert bei der Anlieferung betrug 5,1 °C und der höchste Wert 13 °C (Tab. 5.2).

Tabelle 5.2: Temperatur des Fleisches vor der Bearbeitung (Mittelwert), Daten logarithmiert

Temperatur (°C)				
n	x	min	max	s
432	8,27	5,1	13	1,27

Die postmortalen Abläufe im Fleisch haben ein Absinken des pH-Wertes zur Folge. Ca. 24 Stunden nach Eintritt der Totenstarre liegt der pH-Wert zwischen 5,3 – 5,8 (BEUTLING 2004, WEBER 1996). PRÄNDL (1988) gibt für gereiftes Fleisch Werte von 5,6 – 6,2 an. Die in der vorliegenden Arbeit gemessenen pH-Mittelwerte für beide *Salmonella*-Konzentrationen sind in Tab. 5.3 zusammen gestellt. Der niedrigste pH-Wert betrug 4,73 und der höchste pH-Wert 6,35.

Tabelle 5.3: pH-Werte des Fleisches vor der Bearbeitung (Mittelwert)

pH-Werte				
n	x	min	max	s
432	5,49	4,73	6,35	0,31

Durch eine Senkung des pH-Wertes kann Salmonellenwachstum reduziert werden (GRAU 1983). Ähnliche Ergebnisse haben auch ALFORD und PALUMBO (1969) beobachtet. Dabei betrug der Salzgehalt 8 % und der pH-Wert war 5,0.

FERREIRA und LUND (1987) haben bei pH-Werten von 3,8 – 4,8 in Kombination mit Temperaturen bei 30 °C, 20 °C und 10 °C einen wachstumsfördernden Effekt der Temperatur auch bei niedrigeren pH-Werten festgestellt.

5.2.3. Eingesetzte Methodik

Die Methode war so angelegt, dass der Vergleich eine Abschätzung des Einflusses der Technik ermöglichte.

Die Gesamtanalyse der angewandten Mikroflora bei verschiedenen Temperatur- und Zeitkombinationen erfolgte hauptsächlich quantitativ. Die Ergebnisse der Salmonellenuntersuchungen wurden qualitativ und quantitativ ermittelt. Die Identität der vorhandenen Mikroflora auf den gelieferten Fleischoberflächen wurde nicht geprüft. Auch wurde das Vorhandensein von Salmonellen vor der Beimpfung mit hergestellter Keimmischung nicht geprüft und kann somit nicht ausgeschlossen werden.

5.2.4. Teststämme

Als Zielstamm wurde *S. Typhimurium* verwendet, ein ubiquitär vorkommender Erreger und eine der am häufigsten nachgewiesenen Serovaren bei Schweinen. Als Begleitflora dienten *Staphylococcus aureus* und *Bacillus subtilis*. Bei jedem Tagesansatz erfolgte die Herstellung einer zusammengesetzten Keimmischung mit zwei unterschiedlichen Salmonellen-Konzentrationen. Da die Inokulationsmenge bekannt war, konnte die Dynamik der Vermehrung der Salmonellen nachvollzogen werden.

Es wurden Keime gewählt, die morphologisch gut erkennbar sind und auf Fleischoberflächen vorkommen (*Salmonella*, *Staphylococcus* und *Bacillus*). Die drei Teststämme sind auf optischer Basis klar voneinander unterscheidbar. Auf diese Weise war der Zielkeim *Salmonella* identifizierbar und auszählbar.

5.2.5. Labortechnische Einflussnahme auf die Oberfläche

Je nach Tagesprogramm wurden verschiedene Temperatur/ Zeit-Kombinationen durchgeführt. Diese waren so ausgewählt, wie sie in der Praxis der Kühltransporte vorkommen können (Kühltemperaturen bei 7 °C (VO (EG) 853/2004, Kapitel VII) und 10 °C sowie Temperaturen bei 30 °C und 15 °C). Laut Verordnung 853/2004, Kapitel VII, darf ein Transport von ungekühltem Fleisch allerdings lediglich innerhalb von zwei Stunden erfolgen.

Im Versuch wurden deshalb vier unterschiedliche Kombinationen gewählt. Die Probenentnahmen erfolgten bei Temperaturen von 7 °C und 10 °C nach 2 h, 6 h, 12 h und 24 h. Bei Temperaturen von 15 °C und 30 °C nur nach 2 h und 6 h, weil bei diesen höheren Temperaturen eine längere Transport- bzw. Lagerungszeit eher unwahrscheinlich sind.

Zum Salmonellenwachstum bei verschiedenen Temperaturen und Zeiten werden in der Literatur einige Untersuchungen beschrieben:

ALFORD und PALUMBO (1969) untersuchten den Zusammenhang von verschiedenen chemischen Parametern sowie Temperatur auf das Wachstum von Salmonellen. Bei 30 °C (Bouillon) war Salmonellenwachstum bei einer weiten Spanne aus Kombinationen von NaCl und pH möglich. Bei 10 °C (Bouillon) hingegen war es auf wenige Kombinationen limitiert (2 % NaCl mit pH 5,8 und 6,5). Stämme, die sich bei 10 °C nicht vermehrten, blieben über lange Zeit lebensfähig, während Stämme, die bei 30 °C nicht wuchsen, nur für kurze Zeit überlebten.

Als Fazit wurde formuliert, dass ein niedriger pH-Wert in Verbindung mit einem hohen Salzgehalt bei Salmonellen Wachstumshemmung bewirkt.

MACKEY et al. (1980) untersuchten das Salmonellenwachstum bei 7,5 °C, 10 °C, 12,5 °C und 15 °C. Die Keimzahl wurde nach 6, 24, 30, 48, 54 und 72 h bestimmt. Bei 7 – 8 °C erfolgte kein erkennbares Salmonellenwachstum. Bei 10 °C wurden höhere Wachstumsraten auch bei niedrigerem pH-Wert (unter pH 5,8) beobachtet.

AIROLDI et al. (1988) untersuchten das Wachstum von Salmonellen in vor-inkubierter Kultur bei 37 °C, 24 °C oder 7 °C und anschließender Lagerung bei 7 °C. Die vor-inkubierte Flora bei 7 °C verringerte sich bei 37 °C, während eine Anfangsverringering bei den Kulturen, die bei 24 °C bzw. 7 °C angesetzt worden waren, nicht beobachtet wurde.

D' Aoust (1991) hat Literaturangaben zum minimalen Zeitrahmen für das Salmonellenwachstum verglichen. Bei 2 °C lag der Zeitrahmen für *Salmonella*-Wachstum zwischen 1 und 6 Tagen, bei 6 – 7 °C zwischen 1 und 4 Tagen und bei 8 °C zwischen 3 und 14 Tagen.

MANN et al. (2004) prüften die Vermehrung von Salmonellen in Schweinehackfleisch und entbeintem Schweinefleisch bei Temperaturen von 4,4 °C, 7,2 °C, 10 °C und bei Zimmertemperaturen. Bei einer Temperatur von 4,4 °C wurde in keinem Falle das *Salmonella*-Wachstum festgestellt. Im Hackfleisch vermehrten sich die Salmonellen schneller.

5.3. Qualitative Untersuchungen

In der Literatur gibt es mehrere Angaben zu Wachstum von Salmonellen unter dem Einfluss verschiedener Temperaturen (Tab. 5.4). Allerdings gibt es nur wenigen Angaben zur Durchsetzungsrate von Salmonellen gegenüber der Begleitflora. Hierzu wurden in dieser Arbeit Untersuchungen durchgeführt.

Tabelle 5.4: *Salmonella*-Nachweise bei verschiedenen Temperaturen (Schweinefleisch), Zeitunabhängig

Autor	Temperaturbereich mit <i>Salmonella</i> Nachweis
GILL und NEWTON 1980	20 °C, 25 °C, 30 °C
MACKEY et al. 1980	10 °C, 12,5 °C, 15 °C
FERREIRA und LUND 1987	10 °C, 20 °C, 30 °C
AIROLDI et al. 1988	7 °C (mit vor-inkubierter Flora bei 37 °C, 24 °C und 7 °C)
D'AUGUST 1991	2 °C, 6-7 °C, 8 °C
SEIDE-ALBORNOZ 1995	während der gesamten Fleischgewinnung bis zur Kühllagerung
BOLTON et al. 2003	Brühwasser (50 °C, 55 °C)
MANN et al. 2004	7,2 °C, 10 °C

5.3.1. *Salmonella* in niedriger Konzentration

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass selbst bei niedrigen Temperaturen, nach kurzer Zeit (2 h) sowie bei geringeren Konzentrationen Salmonellen auf Fleischoberflächen überleben und nachweisbar bleiben.

Bei niedriger Salmonellen-Inokulationsmenge war die Quote der Proben, bei denen sich Salmonellen durchsetzen konnten und in der Analyse wiedergefunden wurden, niedriger als in den Ansätzen, in denen eine hohe *Salmonella*-Menge gefahren wurde. Bei hoher Quote gelang der *Salmonella*-Nachweis fast immer. Die niedrigere *Salmonella*-Inokulationsmenge in Relation zu der Begleitflora bewirkte eine niedrige Nachweisquote.

5.3.2. *Salmonella* in hoher Konzentration

Eine Unterdrückung des *Salmonella*-Wachstums bei niedrigeren oder höheren Temperaturen wurde nicht festgestellt. Ursächlich dürfte die höhere *Salmonella*-Konzentration in der aufgetragenen Inokulationsmenge sein, denn bei niedrigeren Konzentrationen war eine niedrigere Salmonellen-Nachweis-Quote feststellbar. Insgesamt hatte die vorhandene sowie aufgetragene Begleitflora auf das *Salmonella*-Wachstum keinen Einfluss.

Es ist deutlich ablesbar, dass *Salmonella* in höherer Menge häufiger zu Nachweisen Anlass gegeben hat. Drei der bei dieser Konzentration festgestellten vier *Salmonella*-negativen Ergebnisse können mit einem erhöhten Wachstum der Begleitflora erklärt werden mit den Folgen, dass ggf. vorhandene Salmonellen optisch nicht in Erscheinung treten konnten.

In diesen Fällen wurden in der Tat nach dem labortechnischen Einfluss höhere Begleitkeimzahlen festgestellt: bei 10 °C/ 24 h von log 3,23 (Fleischoberfläche vor Bebrütung) auf log 4,60 (Oberfläche nach Bebrütung) und bei 7 °C/ 12 h von log 4,11 (vor Bebrütung) auf log 4,15 (nach Bebrütung) und von log 4,00 (vor Bebrütung) auf log 4,55 (nach Bebrütung).

5.4. Quantitative Untersuchungen (MPN)

Anhand der auf morphologischer Grundlage ermittelten Zahl der Salmonellen-KbE pro Platte war es möglich, hinsichtlich der Salmonellen nach dem labortechnischen Eingriff auch eine quantitative Feststellung vorzunehmen. In beiden geprüften *Salmonella*-Konzentrationen wurden Salmonellen bei allen Temperatur-Zeit-Bedingungen wiedergefunden. Allerdings variierte das Ergebnis je nach vorhandener Menge. Es zeigt sich im Wesentlichen eine konstant bleibende Flora mit leichten Auf- und Abschlügen, ohne dass ein spezielles Muster erkennbar gewesen wäre.

Der Vergleich der aufgetragenen Salmonellen mit den quantitativen Werten nach dem Eingriff zeigt die Wachstums-Dynamik von Salmonellen vor- und nach der Bebrütung.

Ein wichtiger Aspekt zum Wachstum von Salmonellen ist ihre Generationszeit. Die kürzesten Generationszeiten gehen mit dem jeweiligen Temperaturoptimum eines Mikroorganismus einher. FEHLHABER und KRÜGER (1998) haben ein Beispiel der Generationszeit von *Salmonella* Enteritidis bei verschiedener Temperatur beschrieben. Bei 7 °C beträgt die Generationszeit 747 Minuten (12,5 h). Über 30 °C nimmt die Generationszeit kontinuierlich ab, was auch MUSCHKOWITZ (1997) gezeigt hat.

In dieser Arbeit erfolgte die Keimzählung (inkl. *Salmonella*) bei 7 °C nach 2 h, 6 h, 12h und 24 h. Dass heißt, eine Vermehrung von Salmonellen bei dieser Temperatur sollte erst nach 12 h feststellbar sein. In der Tat war erst nach 12 h und 24 h bei niedriger *Salmonella*-Konzentration sowie nach 12 h bei hoher *Salmonella*-Konzentration eine leichte positive Reaktion erkennbar (siehe Tab. 5.5 und 5.6).

Die Mittelwerte des *Salmonella*-Gehaltes bei niedriger Konzentration zeigen nach der Behandlung bei 10 °C sowie bei 7 °C nach 2 h und 6 h niedrigere Werte (Tab. 5.5).

Tabelle 5.5: Salmonellen quantitativ vor und nach dem Eingriff bei Salmonellen in niedriger Konzentration, Mittelwerte (n= 18), (Daten logarithmiert)

Stunden	30 °C		15 °C		10 °C				7 °C			
	2 h	6 h	2 h	6 h	2 h	6 h	12 h	24 h	2 h	6 h	12 h	24 h
\bar{x} vor Bebrüten	0,91	0,99	0,97	0,99	0,99	0,86	0,86	0,88	0,99	0,99	0,82	0,83
\bar{x} nach Bebrüten	1,14	1,12	0,92	1,16	0,62	0,69	0,69	0,80	0,80	0,62	0,96	0,88
Differenz	0,23	0,13	-0,05	0,17	-0,37	-0,17	-0,17	-0,09	-0,20	-0,31	0,13	0,05

Bei *Salmonella* in hoher Konzentration zeigen die Differenzen der Werte bei 10 °C/ 12 h und 24 h sowie bei 7 °C/ 2 h, 6 h und 24 h jeweils negative Werte (Tab. 5.6). Auch hier ist teilweise eine niedrigere Quote von Salmonellen KbE erkennbar.

Tabelle 5.6: Salmonellen quantitativ vor und nach dem Eingriff bei Salmonellen in hoher Konzentration, (Daten logarithmiert)

Stunden	30 °C		15 °C		10 °C				7 °C			
	2 h	6 h	2 h	6 h	2 h	6 h	12 h	24 h	2 h	6 h	12 h	24 h
\bar{x} vor Bebrüten	1,94	1,94	1,88	1,88	1,79	1,86	1,84	1,81	1,97	1,96	1,92	1,92
\bar{x} nach Bebrüten	2,16	2,91	1,95	2,01	1,89	1,91	1,75	1,79	1,96	1,87	1,98	1,89
Differenz	0,21	0,97	0,07	0,13	0,10	0,05	-0,09	-0,02	-0,01	-0,09	0,05	-0,03

5.5. Vergleich der quantitativen Untersuchungen für beide *Salmonella*-Konzentrationen und der GKZ vor- und nach dem labortechnischen Eingriff

Zur Bewertung der Dynamik der Keimflora wurden die Ergebnisse vor dem labortechnischen Einfluss mit den Ergebnissen nach dem labortechnischen Einfluss verglichen (Abbildungen 5.1 bis 5.24). Die entsprechenden Mittelwerte (logarithmiert) der Keimflora auf der Fleischoberfläche vor und nach dem labortechnischen Einfluss sind jeweils hinzugefügt. Die Mittelwerte waren von allen 18 Proben je Kombination und Zeit rechnerisch ermittelt worden.

5.5.1. Dynamik der Keimflora bei 30 °C

Die Abbildungen 5.1 – 5.4 zeigen Ergebnisse der Untersuchungen für beide *Salmonella*-Konzentrationen bei 30 °C.

Die Untersuchungen nach 2 und 6 Stunden der Behandlung weisen auf eine gute Durchsetzungsrate der *Salmonella* hin. Nach 2 Stunden reflektieren die Salmonellen-Koloniezahlen eine mögliche Salmonellen-Vermehrung beim Befördern von frischem Fleisch, was nicht länger als 2 Stunden dauern soll (VO (EG) 853/2004). Dies gilt für beide Konzentrationen.

Deutlicher gewachsen ist *Salmonella* nach 6 Stunden in höherer Inokulationsmenge. Die Gesamtkeimzahl ist bis auf die erhöhten Werte nach der Bebrütung bei hoher *Salmonella*-Konzentration nach 6 Stunden gleich geblieben. GILL und NEWTON (1980) haben die Keimdynamik auf Fleischoberflächen (Rind) unter aeroben und anaeroben Bedingungen bei 25 °C und 30 °C untersucht und festgestellt, dass *S. Typhimurium* in Anwesenheit von Begleitflora weder bei 20 °C noch bei 30 °C unterdrückt wurde. Dies entspricht den hier erarbeiteten Ergebnissen.

5.5.2. Dynamik der Keimflora bei 15 °C

Die Abbildungen 5.5 – 5.8 zeigen die Ergebnisse der Untersuchungen bei 15 °C.

Die Gesamtkeimzahl ist stabil geblieben, was auf das Vorhandensein einer kälteliebenden Keimflora hindeuten kann.

Die *Salmonella*-Werte sind bei 15 °C/ 2 Stunden (*Salmonella* in niedriger Konzentration) erniedrigt, nicht dagegen bei hoher *Salmonella*-Konzentration. Grund für die Reduzierung kann die niedrige *Salmonella*-Konzentration sein. FEHLHABER und KRÜGER (1998) haben bei Salmonellen eine Generationszeit von 129 min. (2,15 h) bei einer Temperatur von 17 °C und 349 min. (5,82 Stunden) bei einer Temperatur von 12 °C festgestellt.

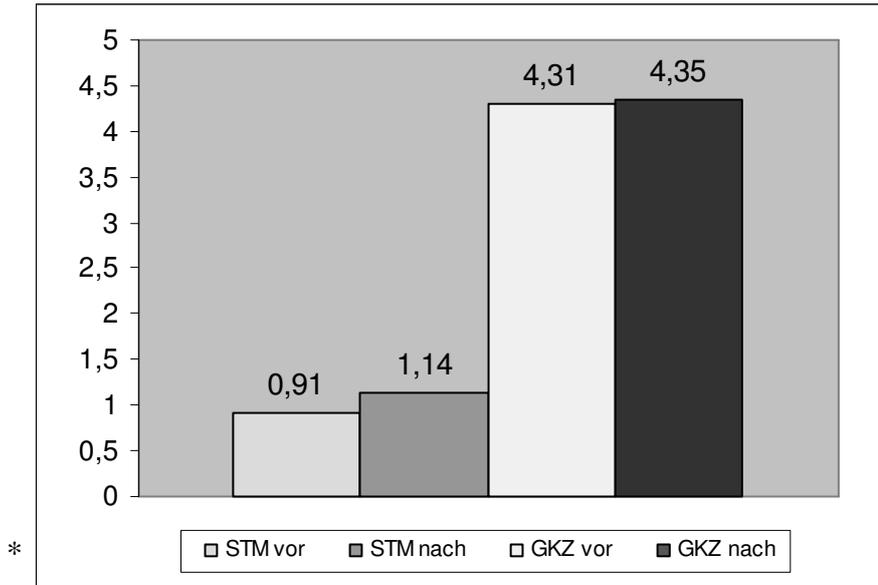


Abbildung 5.1: *Salmonella* und GKZ vor und nach der Lagerung, *Salmonella* in niedriger Konzentration, 30°C/ 2h, logarithmierte Werte

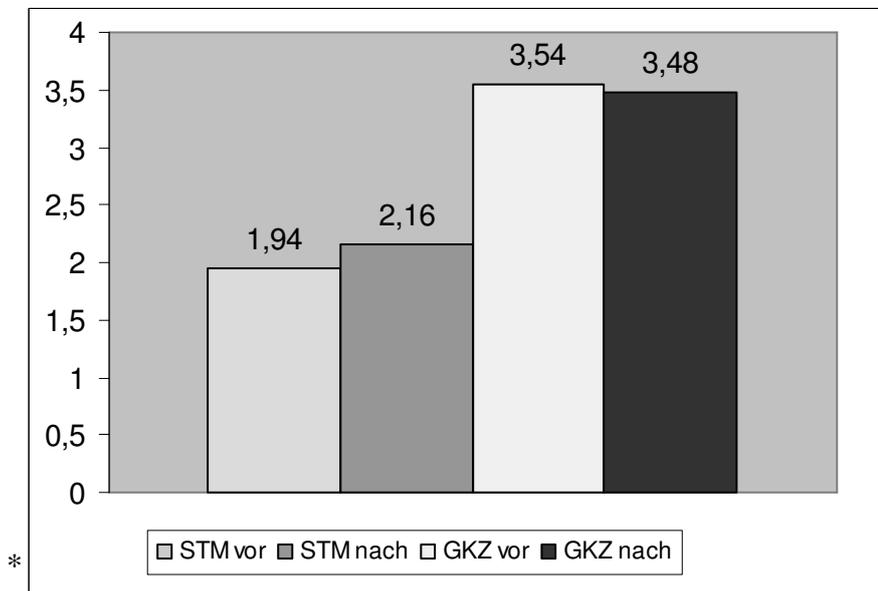


Abbildung 5.2: *Salmonella* und GKZ vor und nach der Lagerung, *Salmonella* in hoher Konzentration, 30 °C/ 2h, logarithmierte Werte

*STM: *Salmonella* Typhimurium
 GKZ: Gesamtkeimzahl

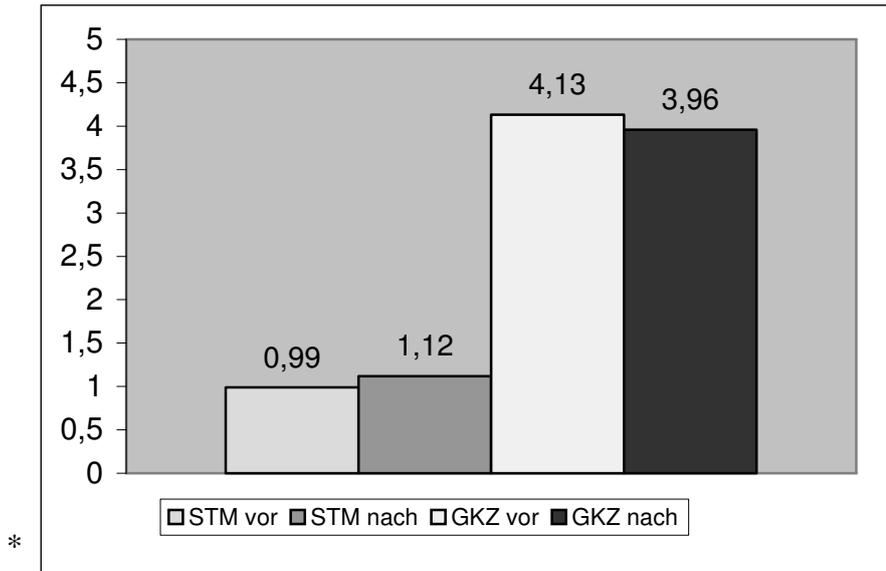


Abbildung 5.3: *Salmonella* und GKZ vor und nach der Lagerung, *Salmonella* in niedriger Konzentration, 30 °C/ 6h, logarithmierte Werte

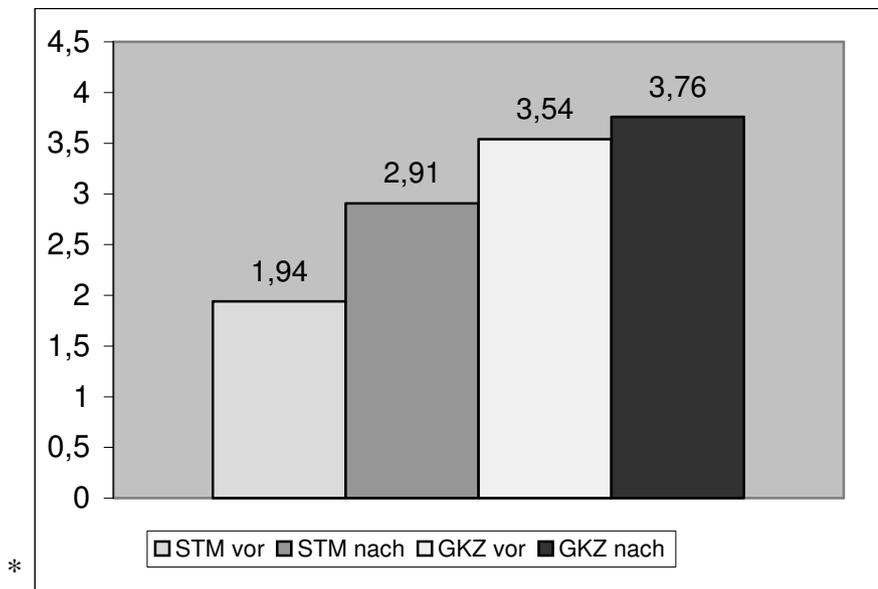


Abbildung 5.4: *Salmonella* und GKZ vor und nach der Lagerung, *Salmonella* in hoher Konzentration, 30 °C/ 6h, logarithmierte Werte

*STM: *Salmonella* Typhimurium
 GKZ: Gesamtkeimzahl

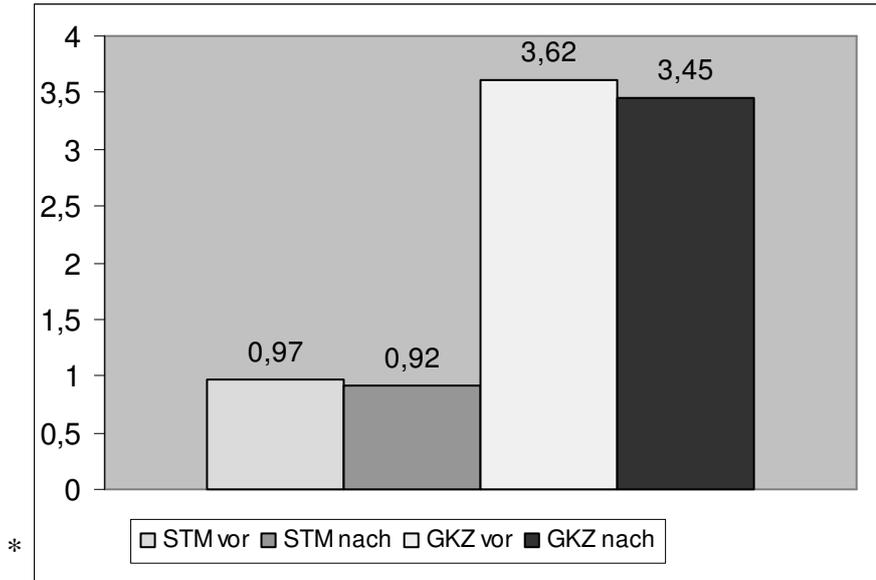


Abbildung 5.5: *Salmonella* und GKZ vor und nach der Lagerung, *Salmonella* in niedriger Konzentration, 15 °C/ 2h, logarithmierte Werte

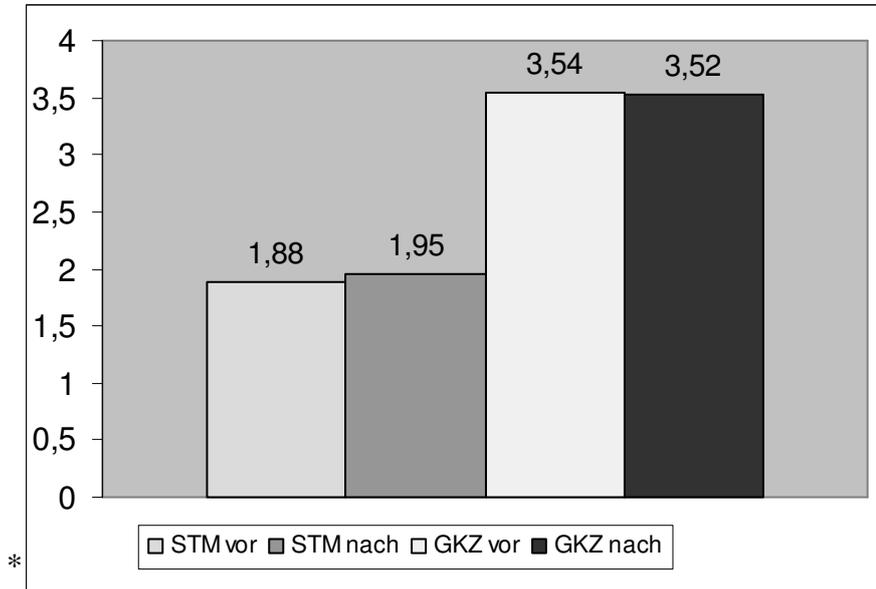


Abbildung 5.6: *Salmonella* und GKZ vor und nach der Lagerung, *Salmonella* in hoher Konzentration, 15 °C/ 2h, logarithmierte Werte

*STM: *Salmonella* Typhimurium
 GKZ: Gesamtkeimzahl

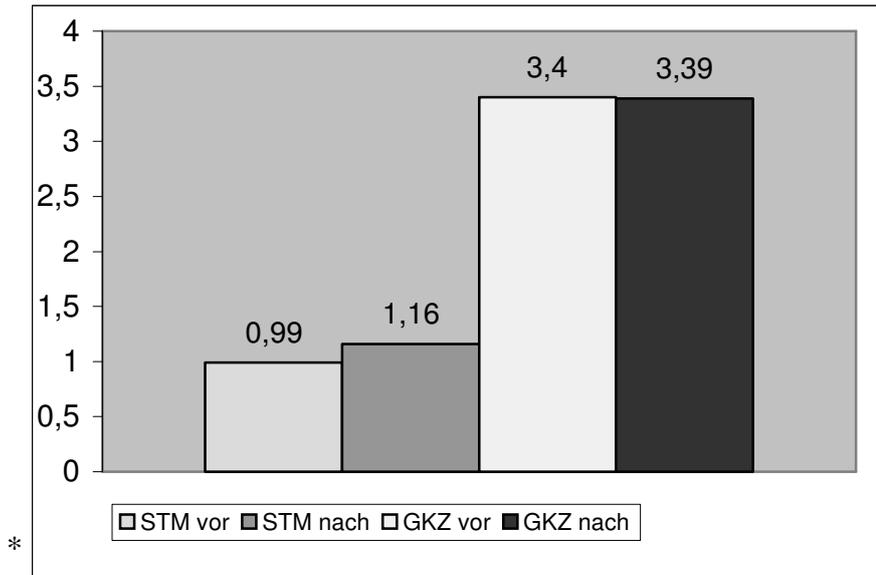


Abbildung 5.7: *Salmonella* und GKZ vor und nach der Lagerung, *Salmonella* in niedriger Konzentration, 15 °C/ 6h, logarithmierte Werte

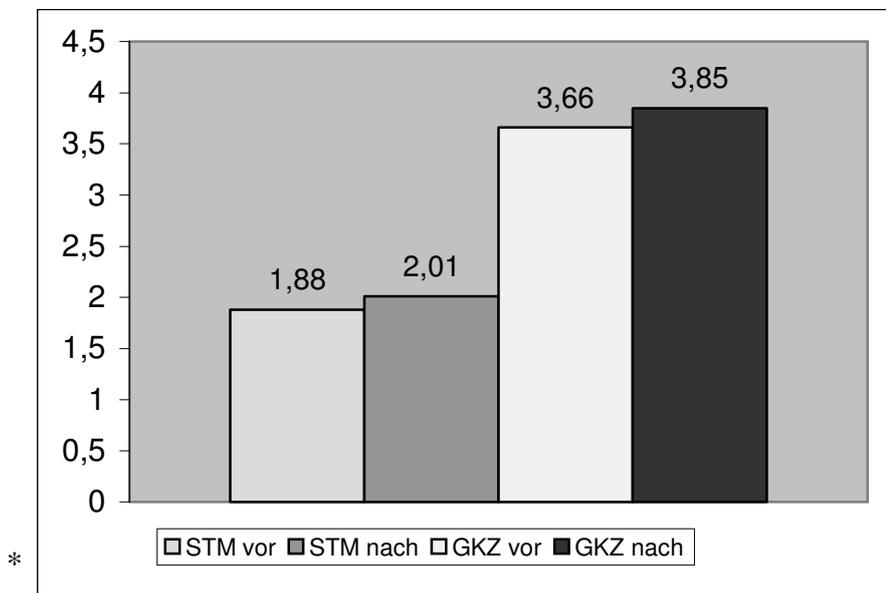


Abbildung 5.8: *Salmonella* und GKZ vor und nach der Lagerung, *Salmonella* in hoher Konzentration, 15 °C/ 6h, logarithmierte Werte

*STM: *Salmonella* Typhimurium
GKZ: Gesamtkeimzahl

5.5.3. Dynamik der Keimflora, Temperatur bei 10 °C

Die Abbildungen 5.9 – 5.16 zeigen die Ergebnisse der Untersuchungen bei 10 °C.

Die niedriger liegenden quantitativen Daten für Salmonellen vor allem bei niedrigerer Inokulationsmenge weisen auf eine bessere Durchsetzungsrate der GKZ hin, vor allem nach 12 und 24 Stunden Behandlungszeit.

Möglicherweise reagiert *Salmonella* bei dieser Temperatur durch Sistierung bzw. Reduktion des Wachstums. ALFORD und PALUMBO (1969) haben festgestellt, dass bei 10 °C Salmonellen zur Begleitflora kompetitiv wuchsen, auch wenn der Salmonellenanteil weniger als 5 % ausmachte und dass die Salmonellen, die sich bei 10 °C nicht vermehrten, lange lebensfähig blieben. Diese Untersuchungen wurden in Bouillon und in Hackfleisch vom Schwein vorgenommen. Ebenfalls haben MACKEY et al. (1980) bei 10 °C nach 6, 24, 30, 48, 54 und 72 h höhere *Salmonella*-Wachstumsrate festgestellt. Die Generationszeit betrug bei dieser Temperatur 8,1 h (Rindfleisch). FERREIRA und LUND (1987) haben bei 10 °C und pH-Wert von 4,4 – 4,8 Salmonellenwachstum in nährstoffreichem Medium erst nach 10 bis 19 Tagen festgestellt.

5.5.4. Dynamik der Keimflora bei 7 °C

Die Abbildungen 5.17 – 5.24 zeigen die Ergebnisse der Untersuchungen bei 7 °C.

Diese Temperatur ist in der VO (EG) 853/2004 für die Lagerung und den Transport vorgeschrieben. In der vorliegenden Arbeit waren Salmonellen bei 7°C/ 2 h und 6 h nachweisbar, gegenüber der Einsaatmenge, aber mengenmäßig reduziert. Dieses Ergebnis weist auf Anpassungsprobleme der Keime an die niedrige Temperatur hin. Nach 24 h war ebenfalls keine deutliche Keimvermehrung festzustellen. Das bedeutet, dass sich die Generationszeit deutlich verlängert hat. FEHLHABER und KRÜGER (1998) stellten bei 7 °C für *S. Enteritidis* 12,5 h Generationszeit fest.

Die eigenen Ergebnisse stimmen ebenfalls mit Angaben von MACKEY et al. (1980) überein, die bei 7 – 8 °C keine Salmonellenvermehrung feststellen konnten. Sie haben nach 6, 24, 30, 48, 54 und 72 h bei 7 – 8 °C kein erkennbares *Salmonella*-Wachstum auf Rindfleisch beobachtet. In den eigenen Untersuchungen konnte ein Salmonellenwachstum auf Schweinefleischoberflächen bei 7 °C nach 12 und 24 Stunden schon in niedriger *Salmonella*-Konzentration gezeigt werden.

AIROLDI und ZOTTOLA (1988) haben festgestellt, dass sich Salmonellen bei 7 °C zahlenmäßig verringern, wenn sie zuvor bei 37 °C inkubiert und vermehrt waren. Dieses Ergebnis kann durch die eigenen Untersuchungen bestätigt werden.

Bei den Salmonellen, die sich bei 7 °C vermehrt haben und anschließend bei 7 °C weiter gehalten wurden, war eine derartige Anfangsverringering nicht zu beobachten (AIROLDI und ZOTTOLA 1988).

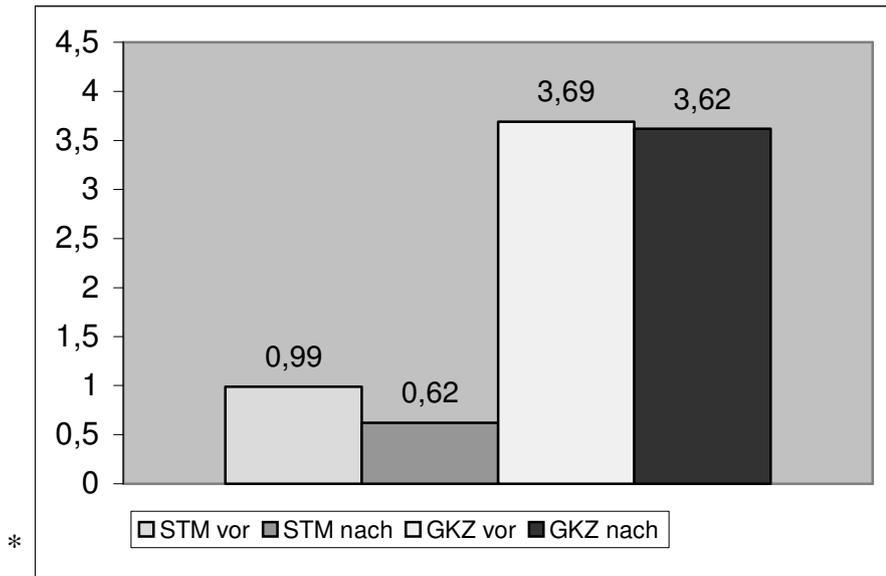


Abbildung 5.9: *Salmonella* und GKZ vor und nach der Lagerung, *Salmonella* in niedriger Konzentration, 10 °C/ 2h, logarithmierte Werte

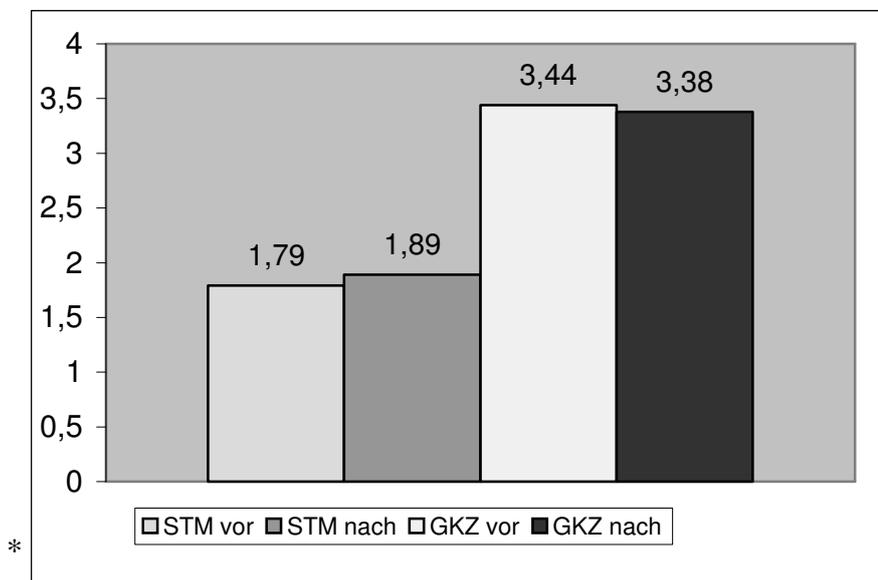


Abbildung 5.10: *Salmonella* und GKZ vor und nach der Lagerung, *Salmonella* in hoher Konzentration, 10 °C/ 2h, logarithmierte Werte

*STM: *Salmonella* Typhimurium
 GKZ: Gesamtkeimzahl

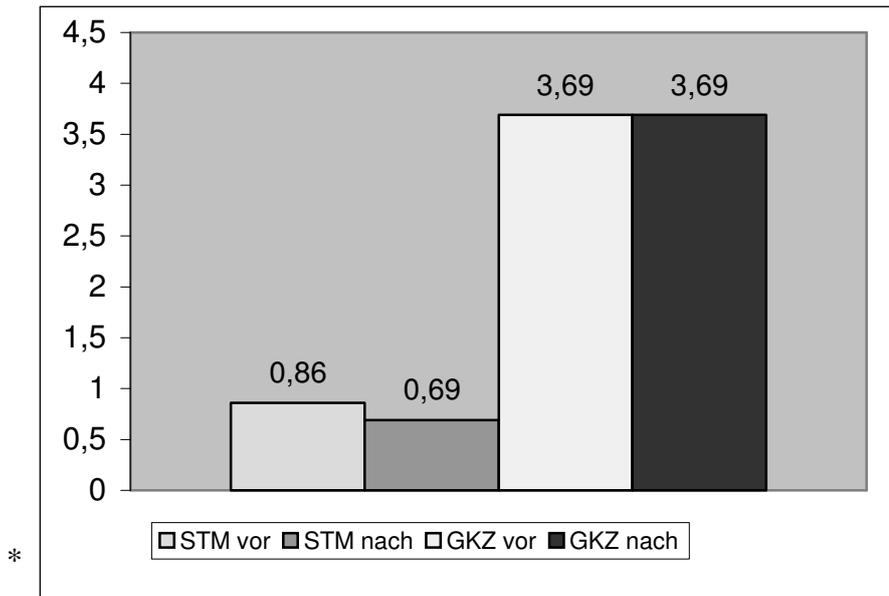


Abbildung 5.11: *Salmonella* und GKZ vor und nach der Lagerung, *Salmonella* in niedriger Konzentration, 10 °C/6h, logarithmierte Werte

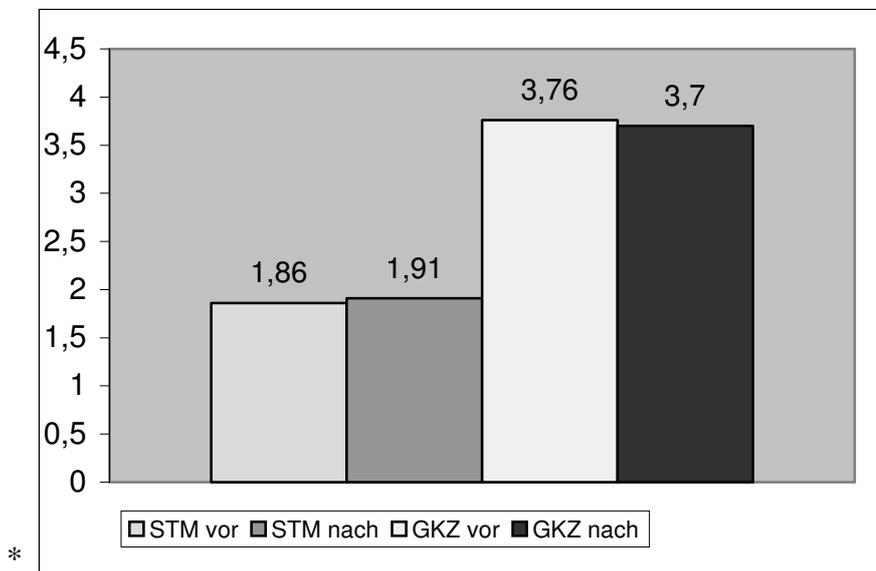


Abbildung 5.12: *Salmonella* und GKZ vor und nach der Lagerung, *Salmonella* in hoher Konzentration, 10 °C/ 6h, logarithmierte Werte

*STM: *Salmonella* Typhimurium
GKZ: Gesamtkeimzahl

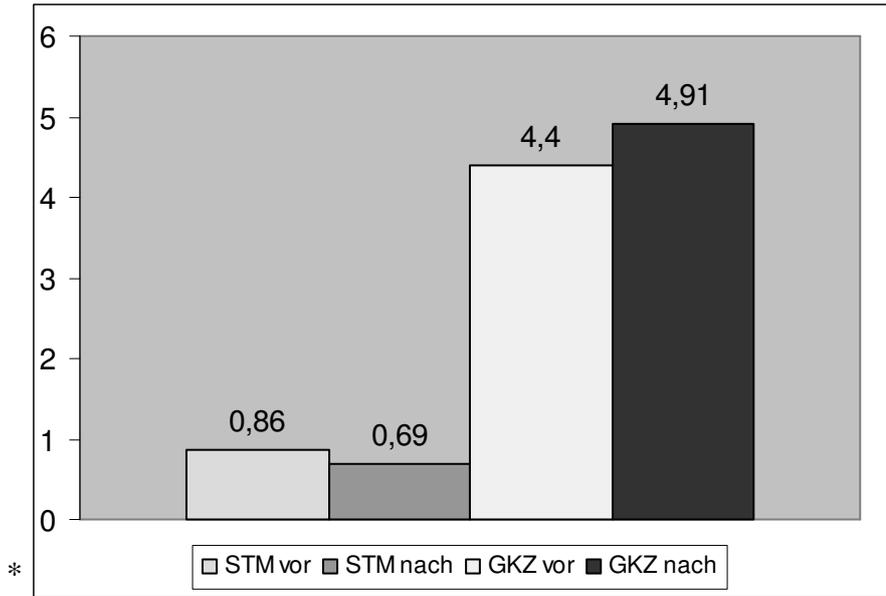


Abbildung 5.13: *Salmonella* und GKZ vor und nach der Lagerung, *Salmonella* in niedriger Konzentration, 10 °C/ 12h, logarithmierte Werte

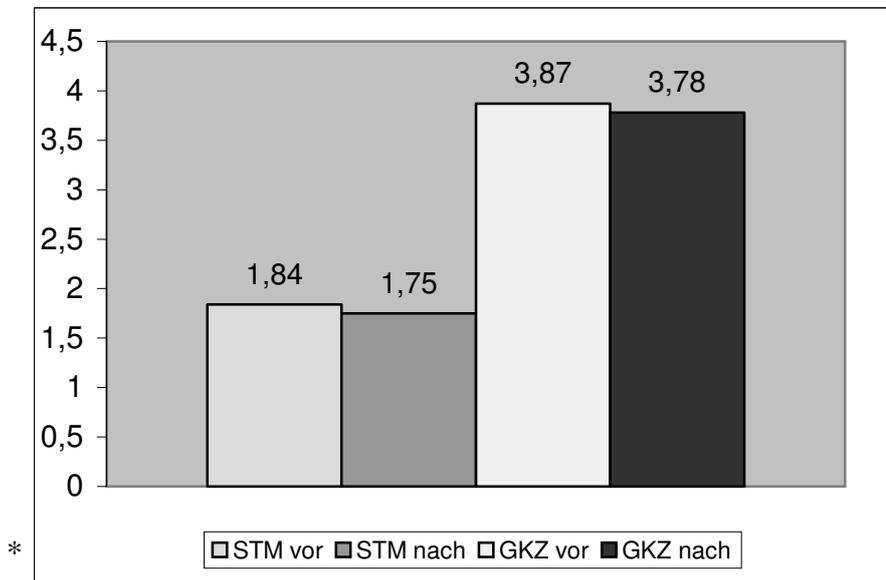


Abbildung 5.14: *Salmonella* und GKZ vor und nach der Lagerung, *Salmonella* in hoher Konzentration, 10 °C/ 12h, logarithmierte Werte

*STM: *Salmonella* Typhimurium
 GKZ: Gesamtkeimzahl

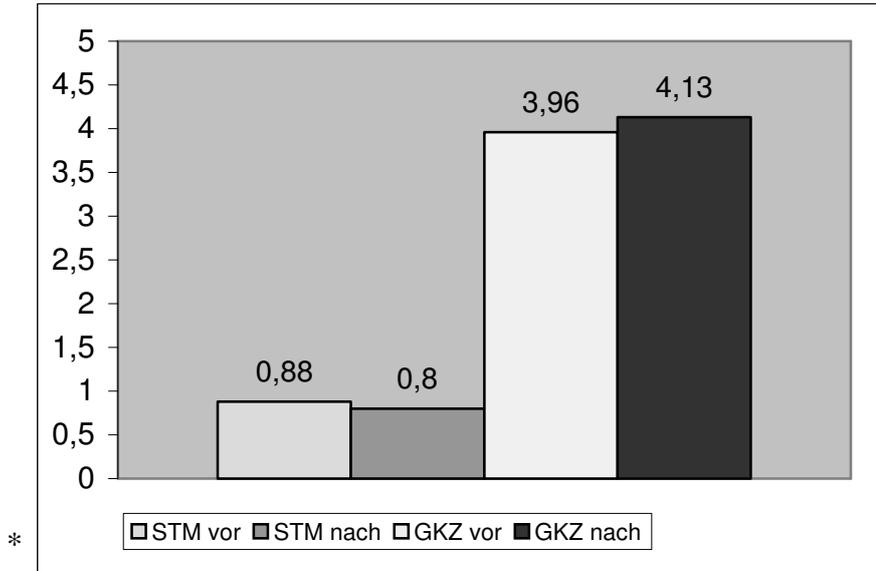


Abbildung 5.15: *Salmonella* und GKZ vor und nach der Lagerung, *Salmonella* in niedriger Konzentration, 10 °C/ 24 h, logarithmierte Werte

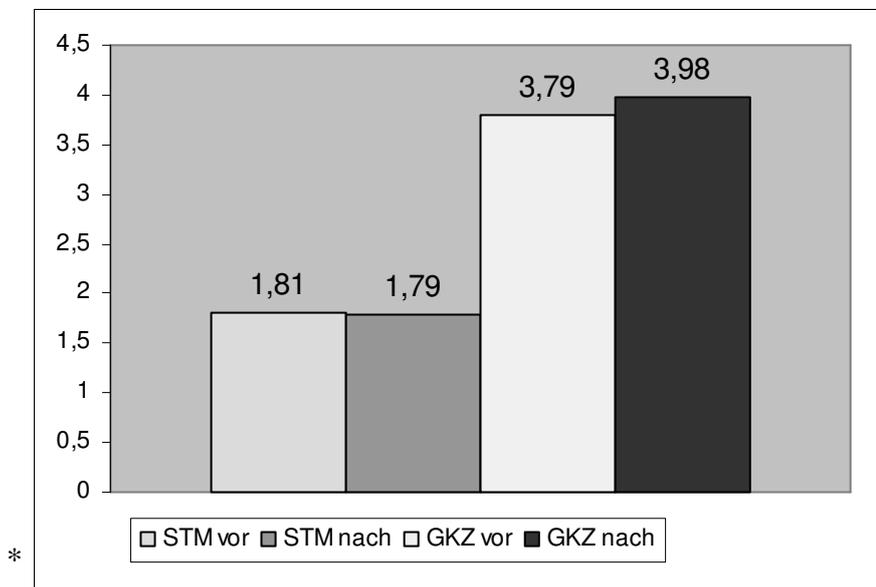


Abbildung 5.16: *Salmonella* und GKZ vor und nach der Lagerung, *Salmonella* in hoher Konzentration, 10 °C/ 24h, logarithmierte Werte

*STM: *Salmonella* Typhimurium
GKZ: Gesamtkeimzahl

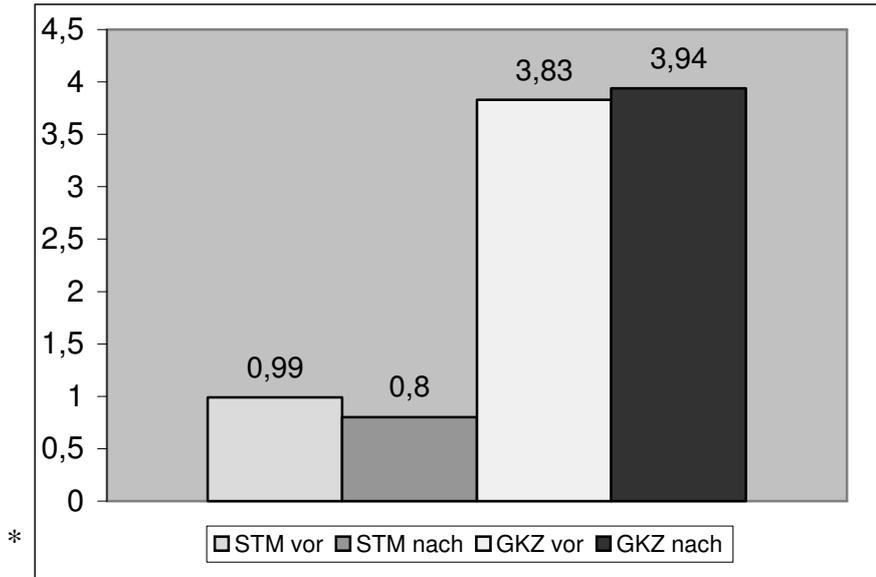


Abbildung 5.17: *Salmonella* und GKZ vor und nach der Lagerung, *Salmonella* in niedriger Konzentration, 7 °C/ 2h, logarithmierte Werte

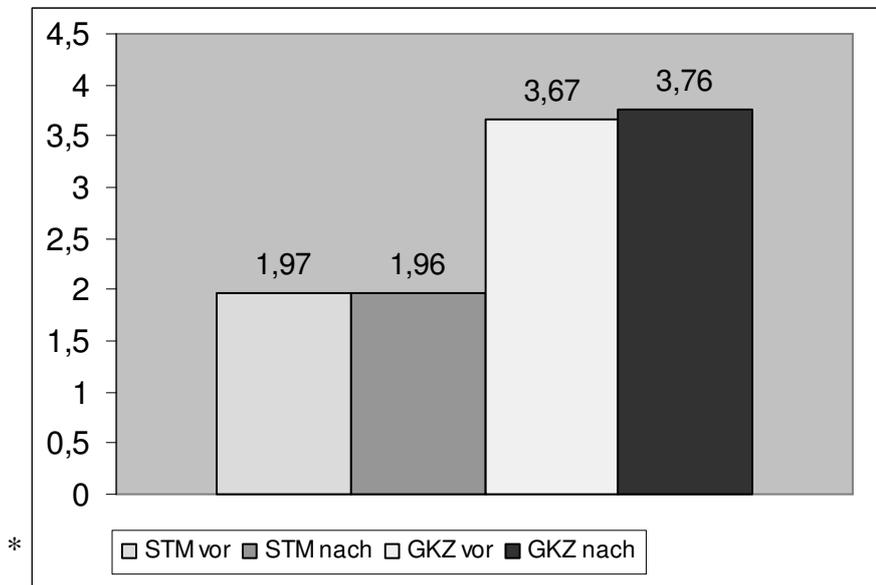


Abbildung 5.18: *Salmonella* und GKZ vor und nach der Lagerung, *Salmonella* in hoher Konzentration, 7 °C/ 2h, logarithmierte Werte

*STM: *Salmonella* Typhimurium
 GKZ: Gesamtkeimzahl

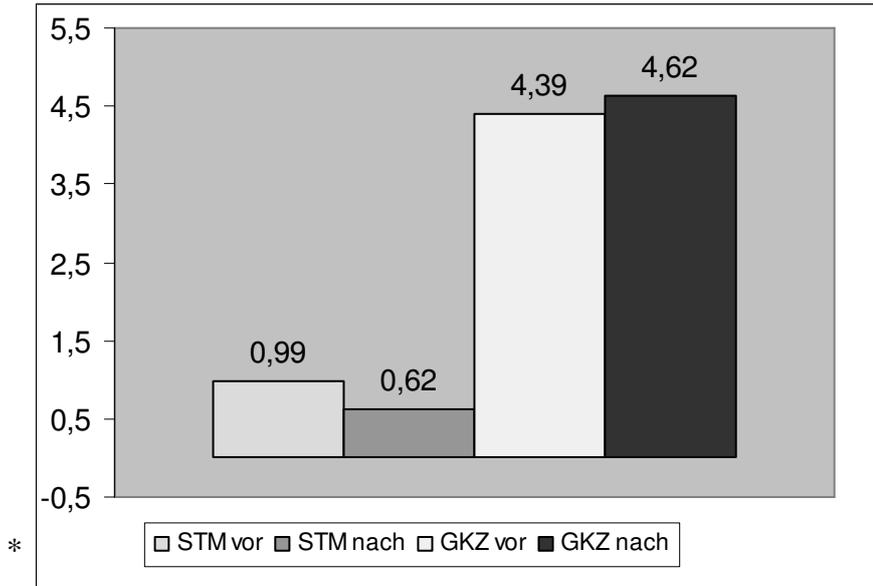


Abbildung 5.19: *Salmonella* und GKZ vor und nach der Lagerung, *Salmonella* in niedriger Konzentration, 7 °C/ 6h, logarithmierte Werte

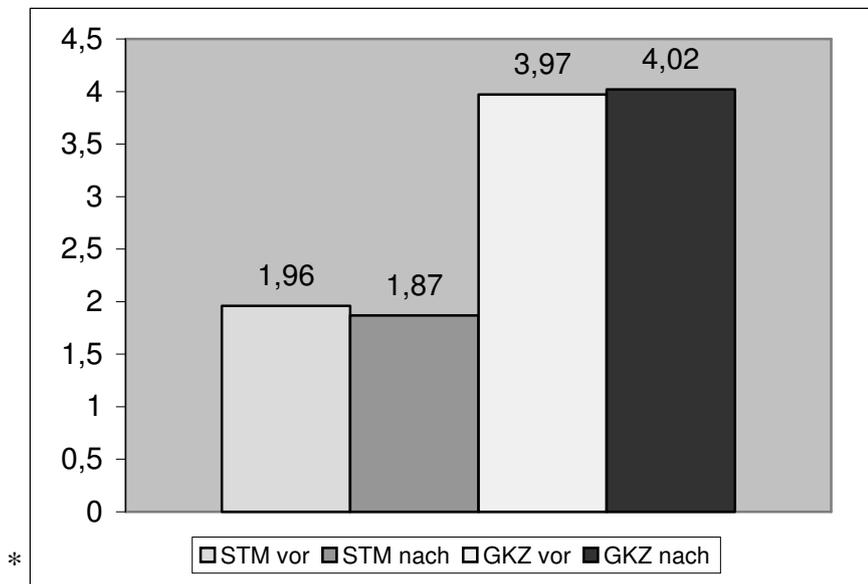


Abbildung 5.20: *Salmonella* und GKZ vor und nach der Lagerung, *Salmonella* in hoher Konzentration, 7 °C/ 6h, logarithmierte Werte

*STM: *Salmonella* Typhimurium
 GKZ: Gesamtkeimzahl

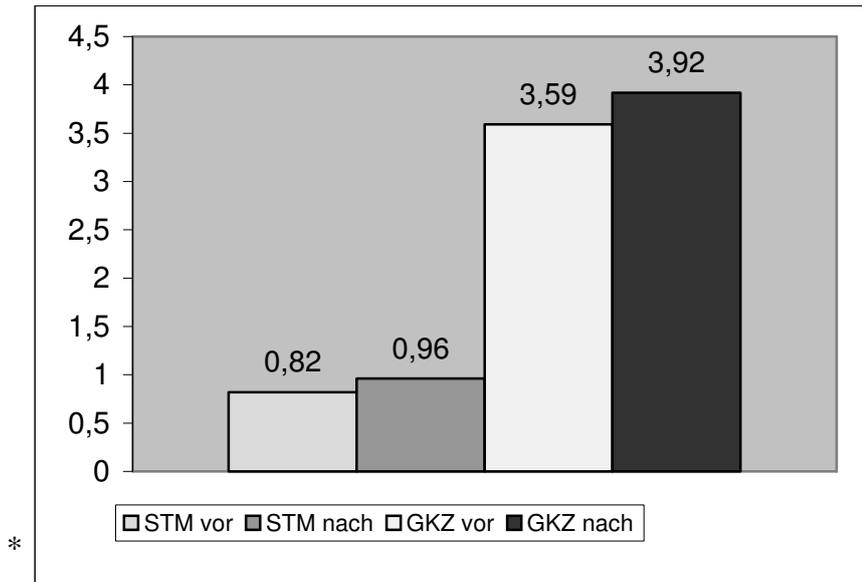


Abbildung 5.21: *Salmonella* und GKZ vor und nach der Lagerung, *Salmonella* in niedriger Konzentration, 7 °C/ 12h, logarithmierte Werte

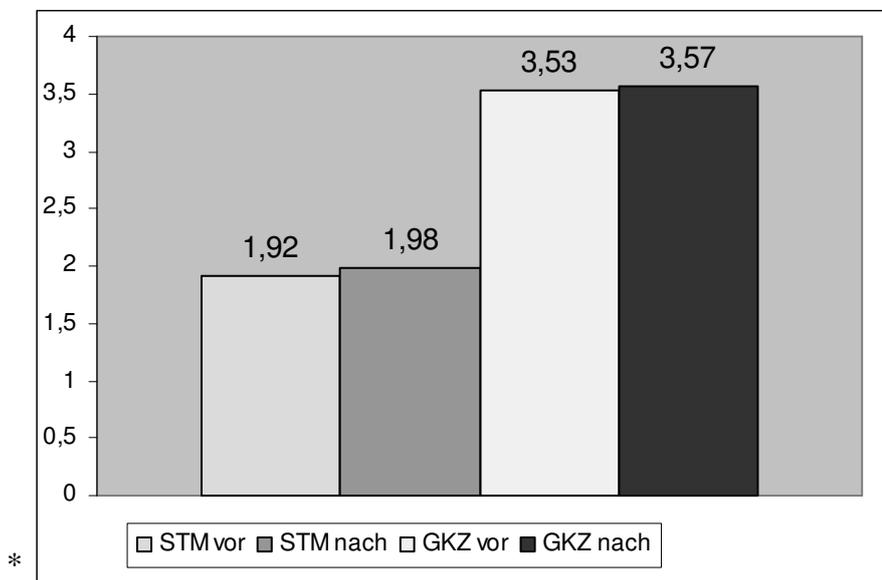


Abbildung 5.22: *Salmonella* und GKZ vor und nach der Lagerung, *Salmonella* in hoher Konzentration, 7 °C/ 12 h, logarithmierte Werte

*STM: *Salmonella* Typhimurium
 GKZ: Gesamtkeimzahl

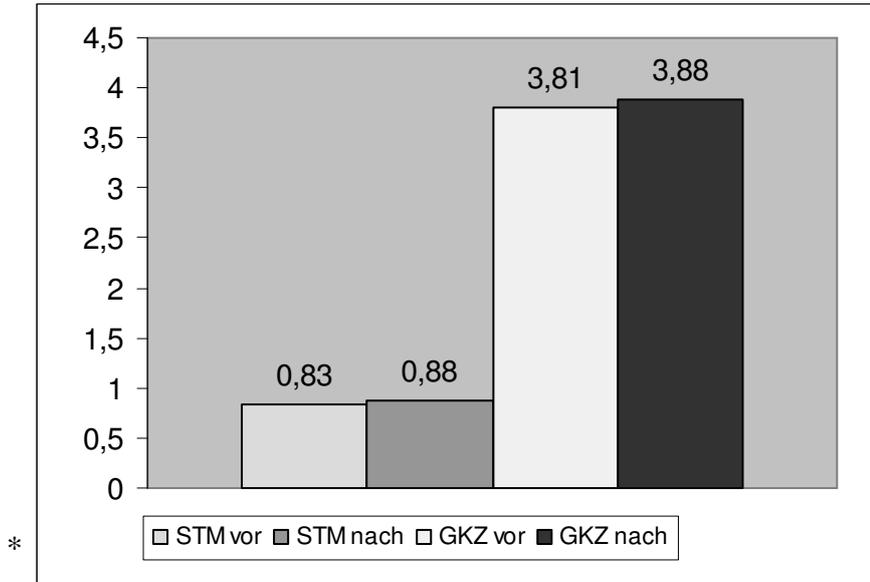


Abbildung 5.23: *Salmonella* und GKZ vor und nach der Lagerung, *Salmonella* in niedriger Konzentration, 7 °C/ 24h, logarithmierte Werte

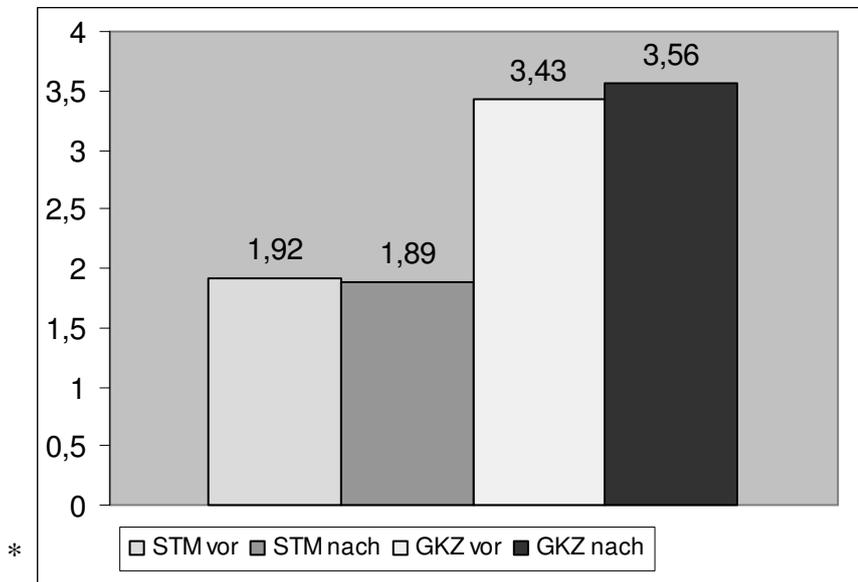


Abbildung 5.24: *Salmonella* und GKZ vor und nach der Lagerung, *Salmonella* in hoher Konzentration, 7 °C/ 24h, logarithmierte Werte

*STM: *Salmonella* Typhimurium
 GKZ: Gesamtkeimzahl

5.6. Die Begleitflora

Bei der Planung der Versuche war erwartet worden, dass sich die GKZ bei höheren Temperaturen erhöht und bei niedrigeren Temperaturen verringert oder konstant bleibt. Gefunden wurden dagegen eine Reduzierung der GKZ bei einer Behandlung bei höheren Temperaturen (30 °C und 15 °C) sowie eine Konstanz oder eine leichte Erhöhung bei niedriger Lagerungs-Temperatur (10 °C und 7 °C). Das Vorhandensein einer psychroadaptierten Anfangs-Begleitflora kann daher nicht ausgeschlossen werden. HILBERT und SMULDERS (2000) beschreiben diese Anpassungsphase nicht nur bei psychrotoleranten, sondern auch bei mesophilen Bakterien (Latenzphase nach HORSCH 1987). Erst nachdem sich Mikroorganismen auf diese neue Situation eingestellt haben, kommt es zu einer Wiederaufnahme des Wachstums. Es folgt eine schnelle Vermehrung (logarithmische Wachstumsphase), was das Wachstum psychrotoleranter Keime bei tiefen Temperaturen erklären kann (HILBERT und SMULDERS 2000). Während der nachfolgenden stationären Phase bedingen einsetzender Nährstoffmangel und toxische Stoffwechselprodukte eine Stagnation der Zahl der lebenden Keime. In der anschließenden Absterbephase kommt es zu einem vermehrten Absterben der Keime (HORSCH 1987).

Der bereits auf dem Fleisch vorhandene Keimbefall dürfte als potentiell psychroadaptiert anzusehen sein, während die aufgebraute Keimmischung keinem Kälte-Einfluss ausgesetzt war und somit eher die mesophile Flora repräsentieren dürfte.

Aus der Logik des experimentellen Ansatzes erschließt sich weiterhin, dass die primäre Analyse der Oberfläche an einer anderen Stelle als dort, wo letztlich die Versuchsflora aufgebracht wurde, stattgefunden hat. Dies ist bei einem mikrobiologischen Vergleich von Oberflächen Versuchs-immament (FRIES 2004). Somit kann nicht davon ausgegangen werden, dass beide Stellen im Ansatz quantitativ die identische Menge aufgewiesen haben. Nach der Bebrütung wurde die Begleitflora anhand der morphologischen Merkmale ausgezählt. Auch die vorhandene Mikroflora kann morphologisch Ähnlichkeit mit *Staphylococcus* und *Bacillus* aufgewiesen haben. Die erhaltenen Ergebnisse sind jedoch erklärbar.

Tab. 5.7 und 5.8 geben die aufgetragene Keimflora bei den unterschiedlichen Temperaturen, *Salmonella*-Konzentrationen (niedrig/ hoch) ausgedrückt in absoluter Zahl und in % der Gesamtzahl wieder.

Tabelle 5.7: Auswertung der Ergebnisse von der aufgetragenen Keimflora bei unterschiedlichen Temperaturen, *Salmonella* in niedriger Konzentration (absolute Zahl, % der Gesamtzahl)

	n	Salmonella		Staphylococcus		Bacillus	
		positiv	%	positiv	%	positiv	%
30 °C	36	21	58,3	35	97,2	12	33,3
15 °C	36	17	47,2	36	100	18	50
10 °C	72	19	26,4	51	70,8	21	29,2
7 °C	72	28	38,9	55	76,4	21	29,2

Tabelle 5.8: Auswertung der Ergebnisse von der aufgetragenen Keimflora bei unterschiedlichen Temperaturen, *Salmonella* in hoher Konzentration (absolute Zahl, % der Gesamtzahl)

	n	Salmonella		Staphylococcus		Bacillus	
		positiv	%	positiv	%	positiv	%
30 °C	36	36	100	25	69,4	14	38,9
15 °C	36	36	100	7	19,4	21	58,3
10 °C	72	70	97,2	18	25	25	34,7
7 °C	72	70	97,2	21	29,2	20	27,8

5.7. Schlussfolgerungen

Ein wichtiger Aspekt dieser Arbeit war es, die geltende vorgeschriebene Temperatur von +7 °C in Relation zu setzen zu der Entwicklung von experimentell aufgetragenen *Salmonella* Typhimurium und von Begleitflora auf der Fleischoberfläche. Die Ergebnisse haben gezeigt, dass *Salmonella* auch bei 7 °C nicht überwuchert wird, unabhängig von der Konzentration. Dies bestätigt die Generationszeit von Salmonellen, die nach FEHLHABER (1998) 12,5 h bei 7 °C beträgt. Bei den restlichen Zeitkombinationen zeigten sich recht konstante Zahlen mit leichten Auf- und Abschlügen bei beiden *Salmonella*-Konzentrationen.

Die Begleitflora als möglicherweise psychroadaptierte Flora beeinflusste das *Salmonella*-Wachstum nicht: Bei allen geprüften Temperatur/ Zeitkombinationen sowie bei beiden Konzentrationen zeigten die Ergebnisse Salmonellennachweise. Nachteilige Beeinflussung der Oberflächenkeimzahlen von Fleisch durch Temperatur von 7 °C sind auch von UPMAN (1996) nicht festgestellt worden. Bei 10 °C war die Salmonellen-Nachweisquote vor allem bei niedriger *Salmonella*-Konzentration reduziert. Bei höheren Temperaturen (15 °C, 30 °C) zeigte sich ein Salmonellen-Wachstum nach 6 h Bebrütung. In der Literatur gibt es ähnliche Feststellungen: MACKAY et al. (1980) haben bei 15 °C minimale Generationszeit von 2,9 h beobachtet, FERREIRA und LUND 1987 haben bei niedrigen pH-Werten (3,8 – 4,0) und einer Temperatur von 30 °C Salmonellenwachstum innerhalb von 1 – 3 Tagen nachgewiesen und bei 20 °C (gleiche Bedingungen) war das Wachstum erst in 2 – 3 Tagen sichtbar. Bei 10 °C war das *Salmonella* Wachstum relativ eingeschränkt vor allem bei niedriger *Salmonella* Konzentration (ALFORD und PALUMBO 1969).

Insgesamt konnten bei qualitativen Untersuchungen unabhängig von allen Temperatur- und Zeitkombinationen Salmonellennachweise bei niedriger und hoher *Salmonella*-Konzentration realisiert werden. Die quantitativen Ergebnisse zeigten mäßigen Ausschlägen der aufgetragenen Salmonellen nach oben oder nach unten, dies für beide Salmonellen-Konzentrationen. Es ist bekannt, dass Bakterien ein hohes Anpassungsvermögen an die Umgebungstemperaturen besitzen. Dies gilt auch für Salmonellen, die sich vor allem bei höheren Temperaturen (30°C) gut durchsetzen können.

Es folgert, dass die Keimflora, auch pathogene Keime, allein durch die Kühlung nicht gestoppt werden kann. Um eine Vermehrung von Salmonellen auf den Fleischoberflächen zu minimieren, soll nicht nur bei max. +7 °C gelagert werden, sondern auch der hygienische Status des Ablaufs der Fleischgewinnung beachtet werden. Für eine wirksame Heraushaltung von Salmonellen aus den Erzeugnissen muss vor allem die Quelle der *Salmonella*-Kontamination verschlossen werden.

6. Zusammenfassung

Die VO (EG) 853/2004 fordert eine unverzügliche Kühlung von Fleisch in allen Teilen nach der Schlachtung auf mindestens +7 °C in allen Teilen.

Um festzustellen, welche Auswirkungen unterschiedliche Temperatur/ Zeit-Kombinationen auf die Keimflora von Fleisch haben, wurden Fleischoberflächen mit Salmonellen und einer bekannten Begleitflora aus *Staphylococcus aureus* und *Bacillus subtilis* beimpft und mit 12 verschiedenen Temperatur-Zeitkombinationen (30 °C und 15 °C bei jeweils 2 h und 6 h, 10 °C und 7 °C bei jeweils 2 h, 6 h, 12 h und 24 h) konfrontiert. Ziel der Untersuchungen war, festzustellen, ob Begleitflora in der Lage ist, Salmonellen unter bestimmten Bedingungen zu unterdrücken.

Es wurden zwei Keimmischungen mit unterschiedlichen Salmonellen-Konzentrationen zusammengestellt:

- Salmonellen in niedriger Konzentration im Vergleich zu der Begleit-Testflora
- Salmonellen in hoher Konzentration im Vergleich zu der Begleit-Testflora

Beprobt wurde Muskulatur des *M. longissimus dorsi* von gekühlten Schweine-Tierkörperhälften. Nach Beimpfung (jeweils 20 cm²) mit der jeweils hergestellten Keimmischung wurden diese bei den genannten Temperatur- und Zeitkombinationen gelagert. Anschließend erfolgten die Bestimmung der GKZ sowie ein qualitativer und quantitativer Nachweis von Salmonellen. Insgesamt wurden 432 Fleischoberflächen beimpft und ausgewertet. Die quantitative Auswertung des festgestellten *Salmonella* Wachstums erfolgte mittels eines MPN-adaptierten Verfahrens. Sowohl bei niedriger als auch hoher Salmonellenkonzentration und unter allen Temperatur- und Zeit-Kombinationen wurden die aufgetragenen Salmonellen wieder aufgefunden.

Salmonella in niedriger Konzentration: insgesamt wurden Salmonellen von 216 der untersuchten Oberflächen 85mal isoliert. Die qualitativen Ergebnisse (Mittelwerte) ergaben eine niedrigere Nachweisquote bei 10 °C im Vergleich zur Wachstumsquote bei Temperaturen 30 °C, 15 °C und 7 °C.

Salmonella in hoher Konzentration: die Auswertung der qualitativen Untersuchungen zeigte Salmonellennachweise auf 212 von insgesamt 216 Fleischoberflächen, dies unabhängig von Temperatur und Zeit.

Die Begleitkeimflora hatte keinen Einfluss auf das Salmonellenwachstum. Bei niedriger sowie hoher Salmonellenkonzentration wurden Salmonellen bei allen Temperatur- und Zeitkombinationen wiedergefunden, selbst bei niedrigeren Temperaturen (7 °C, 10 °C) konnte der Salmonellen-Nachweis erbracht werden. Die Begleitflora auf der Fleischoberfläche war nach der Bebrütung bei höheren Temperaturen reduziert, was auf eine psychroadaptierte Begleitflora hinweist.

Die Ergebnisse zeigen, dass keine der geprüften Temperaturen in der Lage war, den Erreger zu stoppen.

7. Summary

Model study on the behaviour of *Salmonella* Typhimurium on meat surfaces at different temperature/ time- conditions and in consideration of the competitive flora

According to Regulation (EC) No. 853/2004 meat must be chilled immediately after slaughter to a temperature throughout the meat of not more than 7°C.

To find out the effects of different temperature/ time- combinations on the bacterial flora on meat surfaces, meat surfaces were inoculated with *Salmonella* and a known accompanying flora of *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis* and incubated with 12 different temperature/ time- combinations (30°C and 15°C for 2 h and 6 h, 10°C and 7°C for 2 h, 6 h, 12 h and 24 h, respectively). The aim of this study was to discover if the accompanying flora is able to suppress *Salmonella* under certain circumstances.

Two bacterial mixtures with different *Salmonella*- concentrations were prepared:

- *Salmonella* in low concentration compared to the accompanying flora
- *Salmonella* in high concentration compared to the accompanying flora

The surface of *M. longissimus dorsi* of chilled pig carcasses was used for the tests. After inoculation (in each case 20 cm²) with the respective bacterial mixtures the samples were stored at the mentioned temperature and time- combinations. Afterwards the total bacterial counts and *Salmonella* detection were performed qualitatively and quantitatively.

Totally 432 meat surfaces were inoculated and evaluated. The quantitative *Salmonella* detection was performed with a modified MPN- procedure. *Salmonella* was found in all temperature/ time- combinations with low as well as with high *Salmonella* concentrations.

Salmonella in low concentration: overall *Salmonella* was detected in 85 out of 216 surface samples. The quantitative results (means) showed a lower growth rate at 10°C compared to the growth rate at 30°C, 15°C and 7°C.

Salmonella in high concentration: qualitative analysis showed positive *Salmonella* detection in 212 out of 216 surface samples, independently of temperature and time.

The accompanying flora had no negative effects on the *Salmonella* growth. With low as well as high *Salmonella* concentrations *Salmonella* was detected at all temperature and time combinations, even at low temperatures (7°C, 10°C) *Salmonella* detection was positive. After incubation at higher temperatures the bacterial flora on the meat surface was reduced, which indicated on a psychro- adaptive accompanying flora.

The results show that none of the tested temperatures were able to suppress *Salmonella*.

8. Literaturverzeichnis

ALTER, T. (1999):

Einfluß spezifischer Stressoren auf die Serumbakterizidie und die hämolytische Komplementaktivität von Schlachtschweinen sowie auf bakterizide Faktoren des Fleischsaftes und dessen C3c-Konzentration.

Vet. Med. Diss., Universität Leipzig, S. 20 - 24

AIROLDI, A., and E. ZOTTOLA (1988):

Growth and survival of *Salmonella* Typhimurium at low temperature in nutrient deficient media.

J. Food Sci. **53**, 1511 - 1513

ALFORD, A. A., and S. A. PALUMBO (1969):

Interaction of salt, pH, and temperature on the growth and survival of *Salmonella* in ground pork.

Appl. Microbiol. **17**, 528 - 532

AVENS, J. S., P. CLAYTON, D. K. JONES, R. BOLIN, W. LLOYD, and D. JANKOW (1996):

Acetic acid spray ineffective on beef carcasses with low bacteria counts.

Lebensm.-Wiss. Technol. **29**, 28 - 32

BABEL, I., M. NIENHOFF, K.- W. PASCHERTZ, A. von BRIETENBUCH, H. DRECKMANN und A. STOLLE (2001):

Einfluss von Transporttemperaturen und Kühlsystemen auf den Keimgehalt von Schlachtierkörpern.

Proc. 42. Arbeitstagung des AG Lebensmittelhygiene der DVG vom 25. - 28.09.2001 in Garmisch- Partenkirchen, S. 813 – 817

BASTI, A. A., and V. RAZAVILAR (2004):

Growth response and modelling of the effects of selected factors on the time-to-deletion and probability of growth initiation of *Salmonella* Typhimurium.

Food Microbiol. **21**, 431 - 438

BERG, Ch., und G. HILDEBRANDT (1996):

Repräsentanz mikrobiologischer Untersuchungsergebnisse von Lebensmitteln.

Deutsche Lebensmittel-Rundschau, **10**, 307 - 316

BEUTLING, D. M. (2004):

Lehrbuch der Schlachtier- und Fleischuntersuchung.

Parey Verlag, Stuttgart, S. 117

BOLTON, D.J., R. PEARCE, J.J. SHERIDAN, D.A. McDOWELL, and I.S. BLAIR (2003):

Decontamination of pork carcasses during scalding and the prevention of *Salmonella* cross-

contamination.

Appl. Microbiol. **94**, 1036 - 1042

BUCHANAN, R. L., J. L. SMITH, C. McColgan, B. S. MARMER, M. GOLDEN, and B. DELL (1993):

Response surface models for the effects of temperature, pH, sodium chloride and sodium nitrite on the aerobic and anaerobic growth of *Staphylococcus aureus* 196E.
J. Food Safety **13**, 159 – 175

BUNDESINSTITUT FÜR RISIKOBEWERTUNG (BfR) (2004):

Epidemiologische Situation der Zoonosen in Deutschland im Jahr 2003.
(<http://www.bfr.bund.de>), (eingesehen: Februar 2007), 28 – 77

BUNDESINSTITUT FÜR RISIKOBEWERTUNG (BfR) (2006):

Epidemiologische Situation der Zoonosen in Deutschland im Jahr 2004.
(<http://www.bfr.bund.de>), (eingesehen: März 2007), 17 - 20

BUNDESINSTITUT FÜR RISIKOBEWERTUNG (BfR) (2007):

Epidemiologische Situation der Zoonosen in Deutschland im Jahr 2005.
(<http://www.bfr.bund.de>), (eingesehen: April 2008), 32

BURKHARDT, F. (1992):

Mikrobiologische Diagnostik
Verlag Georg Thieme, Stuttgart, S. 6, 68, 138, 252 - 254

BYUN, J.-S., J. S. MIN, I. S. KIM, J.-W. KIM, and M.-S. CH., M. LEE (2003):

Comparison of indicators of microbial quality of meat during aerobic cold storage.
J. Food Prot. **66**, 1733 - 1737

CARR, M. A., L. D. THOMPSON, M. F. MILLER, C. B. RAMSEY, and C. S. KASTER (1998):

Chilling and trimming effects on the microbial populations of pork carcasses.
J. Food Prot. **61**, 487 - 489

CASTILLO, A., L.M. LUCIA, D. B. ROBERSON, T. H. STEVENSON, I. MERCADO, and G. R. ACUFF (2000):

Lactic acid sprays reduce bacterial pathogens on cold beef carcass surfaces and in subsequently produced ground beef.
J. Food Prot. **64**, 58 - 62

CHANG, V. P., E. W. MILLS, and C. N. CUTTER (2003):

Reduction of bacteria on pork carcasses associated with chilling method.
J. Food Prot. **66**, 1019 - 1024

D'AOUST, J. - Y. (1991):

Psychrotrophy and foodborne *Salmonella*.
Int. J. Food Microbiol. **13**, 207 - 216

- FEHLHABER, K. (2000):
Einflüsse auf die Schlachttiergesundheit unter besonderer Berücksichtigung prämortaler Belastungen.
in: Ellebroek, L. (Hsg.) (2000): Fleischuntersuchung und Verbraucherschutz/ Klassische Konzepte und neue Ansätze
Berlin 2000 (BgVV-Hefte 05/2000), S. 53 - 62
- FEHLHABER, K. (2004):
Faktoren, die mikrobiellen Verderb bestimmen.
in: H.- J. Sinell: Einführung in die Lebensmittelhygiene
Parey Verlag, Stuttgart, S. 110 - 114
- FEHLHABER, K., und P. JANETSCHKE (1992):
Veterinärmedizinische Lebensmittelhygiene.
Gustav Fischer Verlag Jena, Stuttgart, S. 23, 32, 58,59, 148 - 150
- FEHLHABER, K., und G. KRÜGER (1998):
The Study of *Salmonella*-Enteritidis growth kinetics using Rapid Automated Bakterial Impedance Technique.
Appl. Mikrobiol. **84**, 945 – 949
- FERREIRA, M. A. S. S., and B. M. LUND (1987):
The influence of pH and temperature on initiation of growth of *Salmonella* spp.
Lett. Appl. Microbiol. **5**, 67 – 70
- FRIES, R. (1992):
Fleischhygiene und Lebensmitteluntersuchung.
Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart, S. 158 - 164
- FRIES, R. (2004):
Quantitative mikrobiologische Analyse- einflussnehmende Faktoren am Beispiel der aeroben Keimzahl.
Dtsch. Tierärztl. Wochenschr. **111**, 188 - 192
- GILL, C. O., and J. BRYANT (1992):
The contamination of pork with spoilage bacteria during commercial dressing, chilling and cutting of pig carcasses.
Int. J. Food Microbiol. **16**, 51-62
- GILL, C. O., and G. NEWTON (1980):
Growth of bakteria on meat at room temperatures.
J. Appl. Bacteriol. **49**, 315 – 323
- GRACEY, J. F., and D. S. COLLINS (1992):
Meat Hygiene.9th ed.
Bailliere Tindall, London, pp 294 - 295
- GRAU, F. H. (1983):
Growth of *Escherichia coli* and *Salmonella* Typhimurium on beef tissue at 25 °C.
J. Food Sci. **48**, 1700 - 1704

- HEINZ, G. (1977):
Kühlen und Gefrieren von Fleisch aus neuer Sicht.
Fleischwirtschaft **57**, 21 – 29
- HILBERT, F., und F. J. M. SMULDERS (2000):
Kälte ist kein vollständiger Schutz.
Fleischwirtschaft **12**, 26 - 28
- HILDEBRANDT, G., und H. WICHMANN-SCHAUER (2005):
Grenzwerte, Probenstreuung und Messungenauigkeit.
Fleischwirtschaft **12**, 111 - 114
- HOLT, J. G., N. R. KRIEG, P. H. A. SNEATH, J. T. STALEY, and S. T. WILLIAMS (1994):
Bergey's manual® of determinative bacteriology.
Ninth Edition
Williams & Wilkins, Baltimore, pp 186, 559
- HOOPER-KINDER, C. A., P. M. DAVIDSON, and S. K. DUCKETT (2002):
Growth of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium DT104, and *Listeria monocytogenes* in dark cutting beef at 10 or 22 °C.
J. Food Prot. **65**, 196 - 198
- HORSCH, F. (1987):
Allgemeine Mikrobiologie und Tierseuchenlehre.
Veb Gustav Fischer Verlag Jena, S. 34 - 36
- JANSEN A., Ch. FRANK und K. ALPERS (2005):
Bakterielle Gastroenteritiden - Focus Salmonellosen und Schweinefleisch-assoziierte Ausbrüche (2001 - 1. Halbjahr 2005).
Epidem. Bull. 33/2005, 295 - 299
(<http://www.rki.de>) (eingesehen: Februar 2007)
- KLEER, J. (2004):
Mikroorganismen in Lebensmittel.
in: H.- J. Sinell: Einführung in die Lebensmittelhygiene
Parey Verlag, Stuttgart, S. 9 - 10
- KOUTSOUMANIS, K. P. P. A. KENDALL, and J. N. SOFOS (2004):
Modelling the boundaries of growth of *Salmonella* Typhimurium in broth as a function of temperature, water activity and pH.
J. Food Prot. **67**, 53 – 59
- KÖPKE, U. (2002):
Zusammensetzung der psychrotrophen Hackfleischmikroflora “industrieller“ Herstellung mit mikroökologischer und hygienischer Bewertung ihrer Hauptkomponenten.
Vet. med. Diss., Freie Universität Berlin
Journal- Nr.2654, Berlin, 173 - 176

- KRÄMER, J. (1997):
Lebensmittel-Mikrobiologie.
Verlag Eugen Ulmer Stuttgart, S. 28 – 133
- KRÄMER, J. (2002):
Lebensmittel-Mikrobiologie.
Verlag Eugen Ulmer Stuttgart, S. 33 – 46
- KRAUS, H., A. WEBER, B. ENDERS, H. G. SCHIEFER, W. SLENCZKA und H. ZAHNER (1997):
Zoonosen. Von Tier zu Mensch übertragbare Infektionskrankheiten.
Deutsche Ärzte-Verlag, Köln, S. 76
- LAWRIE, R. A. (1998):
Meat Science.
Woodhead Publishing Ltd., Cambridge, 6th ed., pp 128 - 130
- MACKEY, B.M., T.A. ROBERTS, J. MANSFIELD, and G. FARKAS (1980):
Growth of *Salmonella* on chilled meat.
J. Hyg. **85**, 115 - 124
- MANN, J. E., L. SMITH, and M. M. BRASHEARS (2004):
Validation of time and temperature values as critical limits for *Salmonella* and background flora growth during the production of fresh ground and boneless pork products.
J. Food Prot. **67**, 1389 - 1393
- MORSE, D. L., J. J. GUZWICH, J. P. HANRAHAN, R. STRICOF, M. SHAYETGANI, R. DEIBEL, J. C. GRABAU, N. A. NOWAK, J. E. HERRMANN, G. CUKOR, N. R. BLACK-LOW (1996):
Staphylococcus aureus.
in : H. Weber (Hrsg.) (1996): Fleisch und Fleischerzeugnisse
B. Behr's Verlag GmbH & Co, Hamburg, S. 236
- MOSSEL, D. (1982), ICMSF (1996, 1998), C. MAN, and A. JONES (1996), N. ESKIN, and D. ROBINSON (2000), C.-J. MOIR et al. (2001); B. RAY (2001):
Faktoren, die mikrobiellen Verderb bestimmen.
in: H.-J. Sinell (2004): Einführung in die Lebensmittelhygiene
Parey Verlag, Stuttgart, S. 109 - 121
- MÜLLER, E. (1992):
Bacilliaceae.
in: F. Burkhard (Hrsg.) (1992): Mikrobiologische Diagnostik.
Verlag Georg Thieme, Stuttgart, S. 251 - 254
- MÜLLER, G., H. WEBER und C. MÜLLER (1996):
Mikrobiologie der Lebensmittel.
Behr's Verlag GmbH & Co, Hamburg, 8. Auflage, S. 56 – 57

- MUSCHKOWITZ, Ch. (1997):
 Impedimetrische Bestimmung von Generationszeiten bei Stämmen lebensmittelhygienisch
 relevanter Enterobacteriaceaespezies und –genera
 Vet. Med. Diss., Freie Universität Berlin
 Journal-Nr. 2113, Berlin, S. 82 - 87
- PETERS, G., und F. SCHUMACHER-PERDREAU (1992):
 Microcaceae.
 in: F. Burkhard (Hrsg.) (1992): Mikrobiologische Diagnostik
 Verlag Georg Thieme, Stuttgart, S. 68 - 69
- PICHHARD, K. (1993):
 Lebensmittel-Mikrobiologie.
 Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 3. Auflage, S. 144 - 155
- PICHHARD, K. (1998):
 Lebensmittel-Mikrobiologie.
 Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 4. Auflage, S. 8 - 9
- ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods of the
 International Union of Microbiological Societies) (1980):
 Bedingungen für die Vermehrung von Mikroorganismen auf Fleisch.
- PRÄNDL, O. (1988):
 in: Prändl, Fischer, Schmidhofer, Sinell (Hrsg.) (1988): Handbuch der Lebensmittel-
 Technologie, Fleisch Technologie und Hygiene der Gewinnung und Verarbeitung.
 Verlag Eugen Ulmer, S. 188
- RIEMELT, I. (1996):
 Milchwirtschaftliche Mikrobiologie.
 Johann Ambrosius Barth, Leipzig, S. 111 - 112
- ROBERT- KOCH - INSTITUT (RKI) (2002):
 Merkblätter für Ärzte.
 Salmonellose, Stand: 01.12.2002
- ROBERT-KOCH-INSTITUT (RKI) [Hrg.] (2005):
 Epidemiologisches Bulletin 33/ 05, 295 - 299
- ROBERT-KOCH-INSTITUT (RKI) [Hrg.] (2006):
 Epidemiologisches Bulletin 41/ 06, 352 - 354
- ROBERT-KOCH-INSTITUT (RKI) [Hrg.] (2007):
 Epidemiologisches Bulletin 3/ 07, 15 - 22
- ROLLE, M., und A. MAYR, (1993):
 Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre.
 Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, 6. Auflage, S. 486 - 600

ROLLE, M., und A. MAYR, (2002):
Salmonella.

in: A. Mayr (Hrsg.): Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre
Enke Verlag, Stuttgart, 7. Auflage, S. 462 - 466

ROLLE, M., und A. MAYR, (2007):
Wachstumsfaktoren.

in: A. Mayr (Hrsg.): Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre
Enke Verlag, Stuttgart, 8. Auflage, S. 367 – 369

RUTTLOFF, H., J. PROLL und A. LEUCHTENBERGER (1996):

Lebensmittel-Biotechnologie und Ernährung: Probleme und Lösungsansätze.

Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, S. 134

SAIDE-ALBORNOZ, J. J., C. LYNN KNIPE, E.A. MURANO, and G.W. BERAN (1995):

Contamination of pork carcasses during slaughter, fabrication, and chilled storage.

J. Food Prot. **58**, 993 – 997

SCHLEIFER, and KLOOS (1994):

Genus Staphylococcus.

in: HOLT, J. G., N. R. KRIEG, P. H. A. SNEATH, J. T. STALEY, and S. T. WILLIAMS

(Hrsg.): Bergey's manual® of determinative bacteriology

Williams & Wilkins, Baltimore, p 532

SCHÜT-ABRAHAM, I. (1999):

Rodding.

in: Tierärztliche Überwachung der Schlachthygiene bei Rind und Schwein und der

Kennzeichnung von Schlachttieren und Fleisch

BgVV, Berlin, S. 24

SCHÜTT-ABRAHAM, I., und V. THRAN (1999):

Beanstandungen der Schweineschlachtung bei EG-Kontrollen.

in: Schütt-Abraham (Hsg.): Tierärztliche Überwachung der Schlachthygiene bei Rind und

Schwein und der Kennzeichnung von Schlachttieren und Fleisch

BgVV, Berlin, S. 84 - 87

SCIENTIFIC COMMITTEE ON VETERINARY MEASURES RELATING TO PUBLIC
HEALTH (SCVPH) (1999):

European Commission Directorate- General XXIV, Consumer policy and consumer health
protection

Directorate B – Scientific health opinions, Unit B3 – Management of scientific committees II

SEELIGER, H. P. R. (1978):

Taschenbuch der medizinischen Bakteriologie.

Johann Ambrosius Barth, Leipzig, S. 111 - 112

SELBITZ, H.-J. (1992):

Lehrbuch der veterinärmedizinischen Bakteriologie

Gustav Fischer Verlag, Jena, S. 77, 106, 152 – 155, 172 - 178

- SINELL, H.-J. (1992):
Einführung in die Lebensmittelhygiene.
3., überarb. Aufl.
Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg, S. 2, 30 - 31, 55, 63, 101 – 105, 119
- SINELL, H.-J. (2004):
Einführung in die Lebensmittelhygiene.
4., neu bearb. Aufl.
Parey Verlag, Stuttgart, S. 9, 10, 110 – 114, 138, 141
- SMITH, D. D., R. L. BUCHANAN, and S. A. PALUMBO (1983):
Effect of food environment on staphylococcal enterotoxin synthesis: a review.
J. Food Prot. **46**, 545 – 555
- SMITH, M. G. (1995):
Survival of E. coli and Salmonella after chilling and freezing in liquid media.
J. Food Sci. **60**, 509 - 512
- STOLLE, A. (2004):
Physikalische Verfahren zur Haltbarmachen.
in: H.-J. Sinell: Einführung in die Lebensmittelhygiene, 4., neu bearb. Aufl.
Parey Verlag, Stuttgart, S. 136 - 149
- THIELKE, S., H. IRSIGLER, K. PISKE und R. FRIES (2002):
Mikrobiologischer Status von Schweine-Schlachttierkörper vor und nach dem Abflammen.
Proc. 43. Arbeitstagung der AG Lebensmittelhygiene der DVG vom 24-27. September 2002
in Garmisch-Partenkirchen, S. 707 - 712
- UPMANN, M. (1996):
Der Oberflächenkeimgehalt des Schweinefleisches vor und nach dem Zerlegeprozess sowie
Beobachtungen zur Betriebshygiene und deren Überprüfung mit dem Nass-Trocken-
Tupfverfahren.
Vet. med. Diss., Freie Universität Berlin
Journal-Nr. 1962, Berlin, S. 174 - 176
- WEBER, H. (1996):
Fleisch und Fleischerzeugnisse.
B. Behr's Verlag GmbH & Co, Hamburg, S. 15 - 30
- WENZEL, S., D.MURMANN, R. FRIES und F.-C. LENZ (1984):
Einfluss von Temperaturen und Zeit auf den Hygienestatus von Schweine-
Schlachttierkörpern.
2. Mitteilung: Erarbeitung des Hygienestatus unter simulierten Praxisbedienungen.
Fleischwirtschaft **64**, 1463 – 1468
- WIELER, L.H., und R. BAUERFEIND (1999):
Salmonella-Infektion beim Tier und deren Bedeutung für die Human- und Tiergesundheit.
[http:// www.animal-health-online.de/drms/klein/Salmonella.htm](http://www.animal-health-online.de/drms/klein/Salmonella.htm) (eingesehen: Januar 2009)

WINKLE, S. (1979):
Mikrobiologische und serologische Diagnostik.
VEB Gustav Fischer Verlag, Jena, 3. Auflage, S. 30 - 39

ZRENNER, K. M., und R. HAFFNER (1999):
Lehrbuch für Fleischkontrolleure.
Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, S. 301 – 308

Rechtsvorschriften

VERORDNUNG (EG) Nr. 853/ 2004 DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES
RATES vom 29.04.2004 mit spezifischen Hygienevorschriften für Lebensmittel tierischen
Ursprungs i. d. berichtigten F. vom 25.06.2004,
Amtsblatt der EG L 226/ 44, L 226/45, L 226/54

AMTLICHE SAMMLUNG VON UNTERSUCHUNGSVERFAHREN NACH § 35 LMBG,
durch die aktuelle Fassung des Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuch (§ 64, LFGB) vom
25.04.2006 abgelöst,

Untersuchung von Lebensmitteln – Vorbereitung der Proben (L06 00 – 16)

Untersuchung von Lebensmitteln – Bestimmung der aeroben Gesamtkeimzahl bei 30°C in
Fleisch- und Fleischerzeugnissen (L06 00 – 18)

Untersuchung von Lebensmitteln – Nachweis von Salmonellen (L00 00 – 20)

9. Anhang A

9.1. Medien für die Grundansätze nach Kapitel 3.2.1.

9.1.1. Standard-I- Nähragar

Merck Art. 1.07881.0500

Zusammensetzung (g):

15,0 Peptone
3,0 Hefeextrakt
6,0 Natriumchlorid
1,0 D(+)- Glukose
12,0 Agar-Agar

Zubereitung:

Es werden 37 g Standard I- Nähragar in 1l Aqua dest. gelöst und nach vollständigem Lösen 15 min. bei 121°C autoklaviert.

9.1.2. Blutagar

Zusammensetzung (g):

Standard-I-Nähragar
Defibriniertes Schafsblut

Zubereitung:

Es werden 37 g Standard I- Nähragar in 1l Aqua dest. gelöst und nach vollständigem Lösen 15 min. bei 121°C autoklaviert.

Zum Basisnährboden: 1000 ml Zusatz von 5% defibriniertem Schafsblut

9.1.3. Hirn-Herz-Bouillon (BHI- Brain Heart Infusion)

Merck Art. 1.10493

Zusammensetzung (g):

27,5 Nährsubstrat (Hirn-, Herzextrakt und Peptone)
2,0 D(+)- Glukose
5,0 Natriumchlorid
2,5 di- Natriumhydrogenphosphat
15,0 Agar-Agar (fehlt der Bouillon)

Zubereitung:

Es werden 37 g BHI in 1l Aqua dest. gelöst und nach vollständigem Lösen 15 min. bei 121°C autoklaviert.

9.1.4. NaCl-Pepton

NaCl Merck Art. 1.06404.1000

Pepton Merck Art. 1.07213.1000

Verdünnungslösung nach § 64 LFGB

Zusammensetzung (g):

1,0 Pepton (Casein, tryptisch verdaut)

8,5 Natriumchlorid (NaCl)

1000,0 ml Aqua dest.

7,0 +/- 0,1 pH- Wert

Zubereitung:

Die einzelnen Bestandteile werden in Aqua dest. gelöst. Der pH- Wert wird so eingestellt, dass er nach dem Sterillisieren bei 7,0 +/-0,1 liegt.

9,0 ml werden in die Röhrchen abgefüllt und bei 121°C/ 15 min. autoklaviert.

9.2. Morphologische und biochemische mikrobiologische Tests

9.2.1. Gram-Färbung

Eizelreagenzien:

Kristallviolettlösung	Merck 1.09218.0500
Lugols Lösung	Merck 1.09261.0500
Safraninlösung	Merck 1.09217.0500
Ethanol (95%)	Merck 1.00972.1000

Technik:

Hitzefixation: eine Kolonie mit einer Impföse in einem Tropfen physiologischer Kochsalzlösung verreiben und lufttrocknen. Anschließend den Objektträger 3x durch eine Bunsenbrennerflamme ziehen.

- Objektträger vollständig mit Grams Kristallviolettlösung bedecken, 3 min. färben, abgießen ohne abzuspülen
- Objektträger vollständig mit Lugols Lösung bedecken, 2 min. einwirken lassen, abgießen ohne abzuspülen
- Objektträger vollständig mit Ethanol bedecken und schwenken, bis keine Farbwolken mehr abgehen und der Ausstrich blaugrau erscheint
- Mit destilliertem Wasser etwa 5 Sekunden abspülen
- Objektträger vollständig mit 1:10 verdünnter Safraninlösung bedecken, 1 min. färben, abgießen
- Mit destilliertem Wasser etwa 5 Sekunden abspülen und trocknen lassen

Auswertung:

Grampositive Bakterien erscheinen dunkelblau-violett, gramnegative Bakterien erscheinen rot.

9.2.2 KOH Test

3% Kalilauge

Technik

1-2 Tropfen 3%iger Kalilauge werden auf einem sauberen Objektträger mit einer Kolonie verrieben. Nach etwa 5-10 Sekunden hebt man die Impföse, mit der verrieben wurde, vorsichtig vom Tropfen ab.

Auswertung:

Kommt es zur Schleimbildung (Fadenziehen), so liegt eine positive Reaktion vor. Die aufgenommene Kolonie ist gramnegativ oder zumindest verdächtig, gramnegativ zu sein.

9.2.3. Anaerocult® A

Merck Art. 1.13829.0001

Zusammensetzung:

Kieselgur
Eisenpulver
Citronensäure
Natriumcarbonat

Technik:

Die beimpften Petrischalen werden in den Plattenkorb gestapelt und in den Anaerobentopf gesetzt. Ein Anaerocult® A wird mit 35 ml Wasser befeuchtet und in den Anaerobentopf neben den Plattenkorb gestellt. Ein Teststäbchen Anaerotest® wird beigegeben und der Topf verschlossen und bebrütet.

Auswertung:

Staphylococcus aureus wächst in anaerobem Milieu. Bacillus subtilis wächst nicht.

9.2.4. Voges- Proskauer (VP) Medium

Merck Art. 1.05712.0500

Zusammensetzung (g):

7,0 Pepton aus Fleisch
5,0 D+/- Glucose
5,0 Phosphatpuffer oder NaCl
pH: 6,9 +/- 0,2 bei 25°C

Zubereitung:

Es werden 17 g des Mediums in 1l Aqua dest. gelöst und in 5 ml Röhren abgefüllt und 15 min. bei 121°C autoklaviert.

Beimpfung:

Mit der zu untersuchenden Reinkultur werden 2 Röhren VP-Medium beimpft.

Bebrütung:

Bis zu 4 Tagen bei 37°C.

Auswertung:

Dem 2. Röhrchen werden 3 ml Barritt-Reagenz und 1 ml Kalilauge (40%) zugesetzt. Die Bildung einer rosafarbenen bis leicht roten Färbung innerhalb 15 min zeigt eine positive Reaktion (z.B. *Bacillus subtilis*). Negative Reaktion weist eine gelb-bräunliche Verfärbung aus.

9.2.5. Harnstoff-Agar nach CHristensen

Merck Art. 1.08492.0500

Zusammensetzung (g):

1,0 Pepton aus Fleisch
1,0 D+/- Glucose
5,0 Natriumchlorid
2,0 Kaliumdihydrogenphosphat
0,012 Phenolrot
12,0 Agar- Agar

Zusatz: 20,0 g Harnstoff / Liter (40%)

pH: 6,8 +/- 0,2 bei 25°C

Zubereitung:

Es werden 21 g Harnstoffagar in 1l Aqua dest. gelöst und 15 min. bei 121°C autoklaviert. Nach der Abkühlung auf 45 bis 55°C werden 50 ml einer sterilfiltrierten 40% Harnstofflösung eingemischt (d.h.: 20,0 g Harnstoff in 50 ml Aqua dest.). Das Röhrchen wird als Schrägagar hergestellt.

Beimpfung:

Die zu untersuchende Reinkultur wird im Oberflächenausstrich massiv verimpft.

Bebrütung:

24 Stunden bei 37°C.

Auswertung:

Positive Reaktion zeigt einen roten Farbumschlag an. Negative Reaktion zeigt gelben Farbumschlag an (z.B. *Salmonella Typhimurium*).

9.2.6. BBL Enterotube II 273176

Das Testsystem identifiziert innerhalb der Familie Enterobacteriaceae. Alle Kammern wurden durch Stich gleichzeitig mit 1 KbE beimpft und nach 24stündiger Bebrütung ausgewertet.

Auswertung:

Zur Auswertung werden für positive Reaktionen die entsprechenden Zahlen auf dem Auswertungsblock markiert und die markierten Zahlen addiert. Die so

erhaltene fünfstellige Schlüsselzahl erlaubt es, den Keim durch Nachschlagen im zugehörigen Handbuch zu bestimmen.

Glukose: *Salmonella* zeigt im Feld einen gelben Farbumschlag an, negative Reaktion weist ein rotes Feld aus.

Lysin und Ornithin: *Salmonella* zeigt in den Feldern einen violetten Farbumschlag, negative Reaktion weisen gelbe Felder aus.

H₂S: *Salmonella* zeigt im Feld einen schwarzen Streifen an.

Lactose, Arabinose, Sorbitol: *Salmonella* zeigt in den Feldern einen gelben Farbumschlag an, negative Reaktion weisen rote Felder aus.

Dulcitol: *Salmonella* zeigt im Feld einen gelben Farbumschlag an, negative Reaktion weist ein grünes Feld aus.

Zitrat: *Salmonella* zeigt im Feld einen blauen Farbumschlag an, negative Reaktion weist ein grünes Feld aus.

9.2.7. Eisen Dreizucker Agar (TSI- Triple Sugar Iron Agar)

Merck Art. 1.03915.0500

Zusammensetzung (g):

15,0 Pepton aus Casein
5,0 Pepton aus Fleisch
3,0 Fleischextrakt
3,0 Hefeextrakt
5,0 Natriumchlorid
10,0 Lactose
10,0 Sahcarose
1,0 D+/- Glucose
0,5 Ammonium-eisen(III)-citrat
0,5 Natriumthiosulfat
0,024 Phenolrot
12,0 Agar- Agar
pH-Wert: 7,4 +/- 0,2 bei 25°C

Zubereitung:

Es werden 65 g TSI in 1l Aqua dest. gelöst, in Röhrcchen abgefüllt und bei 121°C 15 min autoklavieren. Danach als Schrägagar erstarren lassen. Der abgefüllte und zubereitete Nährboden ist klar rot.

Beimpfung:

Die zu untersuchende Reinkultur wird sowohl auf der Schrägfläche ausgestrichen als auch in die Hochschicht durch senkrechten Stich verimpft.

Bebrütung:

Der Agar wird 24 Stunden bei 37°C bebrütet.

Auswertung:

- Schrägfläche rot, Hochschicht gelb: Abbau (nur) von Glukose.
- Schrägfläche gelb, Hochschicht gelb: Abbau von Glukose und Laktose (und auch/oder Sacharose).
- Schrägfläche rot, Hochschicht rot: kein fermentativer Glukose-, Laktose- (und Sacharose-) Abbau.

- Schwarzfärbung der Hochschicht: Bildung von H₂S.

- Blasen oder Risse: Gasbildung aus Glucose.

Salmonella Typhimurium, positive Reaktion: Umschlag nach gelb in der Hochschicht. Schrägfläche: keine Änderung der originalen Nährbodenfarbe oder rot durch Alkalibildung. Hochschicht: schwarz durch H₂S Bildung.

9.2.8. L-Lysin-Decarboxylase-Medium

Amtliche Sammlung § 64 LFGB, L 00.00-20

Zusammensetzung (g):

5,0 L-Lysin-monohydrochlorid

3,0 Hefeextrakt

Merck Art.1.03753.0500/9025

1,0 D+/- Glucose

Merck Art. 1.08337.0250

0,015 Bromkresolpurpur

pH: 6,8 +/- 0,2 bei 25°C

Zubereitung:

Bestandteile werden in 1l Aqua dest. gelöst. Der Nährboden wird in 2 bis 5 ml Portionen in Röhrchen überführt und 15 min. bei 121°C autoklaviert.

Beimpfung:

Das flüssige Medium wird unter der Oberfläche beimpft.

Bebrütung:

24 Stunden bei 37°C.

Auswertung

Positive Reaktion zeigt einen violetten Farbumschlag (z.B. *S. Typhimurium*).

Negative Reaktion zeigt gelbe (unveränderte) Farbe.

9.2.9. Indol-Reaktion

Amtliche Sammlung § 64 LFGB, L 00.00-20

Kovacs-Indolreagens Merck Art. 1.09293.0100

Zusammensetzung (g):

20,0 Pepton aus Casein tryptisch verdaut

5,0 NaCl

15,0 Tryptone (Difco)

pH: 7,2 +/- 0,2

Reagenzien werden in 1l Aqua dest. gelöst und in Kulturröhrchen abgefüllt (ml) und 15 min. bei 121°C autoklaviert.

Beimpfung:

Die zu untersuchende Reinkultur wird in das vorgegebene Medium eingimpft.

Bebrütung:

24 Stunden bei 37°C. Die bewachsene Bouillon wird mit 0,5 ml Kovacs-Reagenz überschichtet.

Auswertung:

Die Bildung eines roten Ringes zeigt eine positive Reaktion an. Ein gelb-brauner Ring zeigt eine negative Reaktion an (z.B. *S. Typhimurium*).

9.2.10. Enteroclon Anti-Salmonella I (A-E)

Hersteller: Sifin: Institut für Immunpräparate und Nährmedien Berlin

Zusammensetzung:

Es handelt sich um Mischungen von monoklonalen Antikörpern (Maus).
Konservierungsmittel: Natriumazid 0,9 mg/ ml

Untersuchungsmaterial und Methodik:

Von einer verdächtigen Kolonie wird etwas Bakterienmasse auf einen Objektträger in einen Tropfen Testreagens zu einer homogenen, leicht milchigen Suspension eingerieben.

Auswertung:

Nur möglich, wenn die Negativkontrolle milchig trüb bleibt. Positiv: Sichtbare Agglutination nach 1 bis 20 Schwenkungen. Negativ: Eine milchig- trüb bleibende Suspension. *Salmonella Typhimurium* zeigt eine Agglutination an.

9.2.11. Bactident® Oxidase Test

Merck Art. 1.13300.0001, Teststäbchen

Zusammensetzung:

N,N- Dimethyl-1,4- Phenylendiammoniumchlorid,
Naphthol-(1)

Technik:

Getestet werden jeweils die auf einem Nährboden gewachsenen Einzelkolonien bzw. bei Reinkulturen. Mit der Impföse wird eine einzeln liegende, gut gewachsene Kolonie dem Nährboden entnommen, auf die Reaktionszone aufgebracht und mit der Impföse verrieben. Nach ca. 20-60 Sekunden mit beiliegender Farbskala vergleichen.

Auswertung:

Bei Cytochromoxidase-positiven Keimen färbt sich die Reaktionszone blau bis violett.

9.2.12. DNase- Testagar

Merck Art. 1.10449.0500

Zusammensetzung(g/Liter):

20,0 Tryptose
5,0 Natriumchlorid
2,0 Desoxyribonucleinsäure
15,0 Agar-Agar
pH: 7,3 +/- 0,2 bei 25°C

Zubereitung:

Es werden 42g DNase- Testagars in 1l Aqua dest. gelöst und 15 min. bei 121°C autoklaviert.

Beimpfung:

Von der zu untersuchenden Reinkultur wird Material auf der Oberfläche des Testagars als Impfstrich aufgebracht.

Bebrütung:

Bis zu 24 Stunden bei 37°C.

Auswertung:

DNase bildende Kolonien hydrolysieren in ihrer nächsten Umgebung die im Nährboden enthaltene DNA. Wird danach der Nährboden durch Überfluten mit 1 N HCl angesäuert, so fällt die noch vorhandene DNA aus (Trübung), während um die DNase- positiven Kolonien (Abbau erfolgt) Aufhellungshöfe in Erscheinung treten.

9.2.13. Bactident® Coagulase

Merck Art. 1.13306.0001

Zusammensetzung (ein Fläschchen):

3 ml lyophilisiertes Kaninchenplasma mit EDTA

Zubereitung:

Jede der zu prüfenden Kolonien wird mit einer sterilen Impfüse in je ein Kulturröhrchen überführt und 20-24 Stunden bei 37°C bebrütet.

Durchführung:

Das gefriergetrocknete EDTA- Kaninchenplasma wird durch Zugabe von 3 ml destillierten Wasser aufgelöst. 0,3 ml hiervon werden mit einer sterilen Pipette in ein steriles Kulturröhrchen gegeben und mit 0,1 ml der Bouillonkultur vermischt.

Bebrütung:

Bei 37°C wird stündlich auf Koagulation geprüft.

Auswertung:

Der Koagulase- Test wird als positiv beurteilt, wenn der Röhrcheninhalt zu mehr als Dreiviertel als zusammenhängender Klumpen vorliegt. Bei negativem Ausfall des Tests nach 4-6 h ist das Röhrchen weiter zu bebrüten und nach 24 h abschließend zu beurteilen.

9. Anhang B

9.3. Ergebnisse der Untersuchungen

9.3.1. Einzelwerte der Ergebnisse aus dem Ergebnissteil 4.1.2

Tabelle 9.1: Keimzahl der Testkeime nach 18 h/ 37C° KbE/ml, Ausgangsbouillon für “*Salmonella* in niedriger Konzentration“, Daten logarithmiert

Tag	Salmonella	Staphylococcus	Bacillus
07.09.2004	9,44	9,54	7,80
08.09.2004	9,50	9,40	7,51
16.09.2004	9,37	9,40	7,70
21.09.2004	9,50	9,70	7,70
22.09.2004	9,39	9,38	7,68
30.09.2004	9,49	9,81	7,61
12.10.2004	9,41	9,45	7,16
13.10.2004	9,44	9,41	7,89
14.10.2004	9,79	9,40	7,80
24.11.2004	9,54	9,38	7,40
14.12.2004	9,48	9,42	7,95
11.01.2005	9,40	9,40	7,39
12.01.2005	9,58	9,32	7,68
18.01.2005	9,58	9,39	7,51
19.01.2005	9,37	9,35	7,53
25.01.2005	9,65	9,44	7,83
26.01.2005	9,46	9,31	7,58
01.02.2005	9,39	9,39	7,51
02.02.2005	9,29	9,42	7,77
08.02.2005	9,37	9,40	7,70
09.02.2005	9,26	9,36	7,61

Tabelle 9.2: Gesamtübersicht der Keimzahl der Testkeime nach 18 h/ 37C°, KbE/ml, Ausgangsbouillon für “*Salmonella* in hoher Konzentration“, Daten logarithmiert

Tag	Salmonella	Staphylococcus	Bacillus
26.10.2004	9,33	9,39	7,60
02.11.2004	9,42	9,39	7,76
03.11.2004	9,41	9,81	7,61
09.11.2004	9,30	9,41	7,62
10.11.2004	9,23	9,51	7,86
16.11.2004	9,39	9,60	7,16
17.11.2004	9,19	9,41	7,95
23.11.2004	9,26	9,23	7,61
24.11.2004	9,79	9,31	7,80
07.12.2004	9,37	9,52	7,74
08.12.2004	9,37	9,70	7,70
14.12.2004	9,27	9,53	7,47
04.01.2005	9,21	9,65	7,78
05.01.2005	9,40	9,58	7,51
25.01.2005	9,37	9,60	7,76
26.01.2005	9,38	9,51	7,58
01.02.2005	9,46	9,54	7,80
02.02.2005	9,33	9,41	7,70
08.02.2005	9,35	9,31	7,48
09.02.2005	9,21	9,43	7,23

9.3.2. Zusammensetzung der Keimmischung und analytisch ermittelte Einzelwerte der Teststämme für die Herstellung der resultierenden Keimmischung der Ergebnisse aus dem Ergebnissteil 4.1.3

Tab. 9.3 und 9.4 geben die rechnerisch vorgesehenen Einzelwerte für *Salmonella* in niedriger/ hoher Konzentration wieder.

Tab. 9.5 und 9.6 geben die analytisch nachgewiesenen Einzelwerte für *Salmonella* in niedriger/ hoher Konzentration wieder.

Tabelle 9.3: Zu erwartender Keimgehalt der aufzubringenden Keimmischung
(*Salmonella* in niedriger Konzentration, Angaben pro 1 ml)

Datum	<i>Salmonella</i>	Staphylococcus	Bacillus	GKZ/ 1ml ^{a*}	log ^{b*}
07.09.2004	235,00	2440,00	465,00	3,14 x 10 ⁰³	3,50
08.09.2004	230,00	2325,00	330,00	2,89 x 10 ⁰³	3,46
16.09.2004	215,00	3190,00	465,00	3,87 x 10 ⁰³	3,59
21.09.2004	270,00	2560,00	790,00	3,62 x 10 ⁰³	3,56
22.09.2004	400,00	2535,00	605,00	3,54 x 10 ⁰³	3,55
30.09.2004	295,00	2715,00	895,00	3,91 x 10 ⁰³	3,59
12.10.2004	180,00	2260,00	420,00	2,86 x 10 ⁰³	3,46
13.10.2004	180,00	2575,00	575,00	3,33 x 10 ⁰³	3,52
14.10.2004	340,00	2040,00	460,00	2,84 x 10 ⁰³	3,45
24.11.2004	300,00	1910,00	380,00	2,59 x 10 ⁰³	3,41
14.12.2004	640,00	2570,00	655,00	3,87 x 10 ⁰³	3,59
11.01.2005	250,00	2440,00	295,00	2,99 x 10 ⁰³	3,47
12.01.2005	230,00	2365,00	245,00	2,84 x 10 ⁰³	3,45
18.01.2005	350,00	2365,00	255,00	2,97 x 10 ⁰³	3,47
19.01.2005	320,00	2385,00	250,00	2,96 x 10 ⁰³	3,47
25.01.2005	220,00	2520,00	445	3,19 x 10 ⁰³	3,50
26.01.2005	370,00	2425,00	335,00	3,13 x 10 ⁰³	3,50
01.02.2005	315,00	3745,00	405,00	4,47 x 10 ⁰³	3,65
02.02.2005	280,00	3240,00	605,00	4,13 x 10 ⁰³	3,62
08.02.2005	325,00	3600,00	485,00	4,41 x 10 ⁰³	3,64
09.02.2005	255,00	2720,00	145,00	3,12 x 10 ⁰³	3,49

Tabelle 9.4: Zu erwartender Keimgehalt der aufzubringenden Keimmischung
(*Salmonella* in hoher Konzentration, Angaben pro 1 ml)

Datum	<i>Salmonella</i>	Staphylococcus	Bacillus	GKZ/ 1ml ^{a*}	log ^{b*}
26.10.2004	1535,00	190,00	885,00	2,61 x 10 ⁰³	3,42
02.11.2004	2305,00	310,00	560,00	3,18 x 10 ⁰³	3,50
03.11.2004	2290,00	410,00	570,00	3,27 x 10 ⁰³	3,51
09.11.2004	2135,00	240,00	335,00	2,71 x 10 ⁰³	3,43
10.11.2004	2015,00	260,00	430,00	2,71 x 10 ⁰³	3,43
16.11.2004	1790,00	325,00	275,00	2,39 x 10 ⁰³	3,38
17.11.2004	2185,00	205,00	315,00	2,71 x 10 ⁰³	3,43
23.11.2004	2585,00	295,00	540,00	3,42 x 10 ⁰³	3,53
24.11.2004	2355,00	340,00	380,00	3,08 x 10 ⁰³	3,49
07.12.2004	1715,00	340,00	690,00	2,75 x 10 ⁰³	3,44
08.12.2004	1690,00	160,00	430,00	2,28 x 10 ⁰³	3,36
14.12.2004	3350,00	175,00	655,00	4,18 x 10 ⁰³	3,62
04.01.2005	1565,00	380,00	590,00	2,54 x 10 ⁰³	3,40
05.01.2005	1645,00	270,00	170,00	2,09 x 10 ⁰³	3,32
25.01.2005	2150,00	265,00	445,00	2,86 x 10 ⁰³	3,46
26.01.2005	2405,00	350,00	335,00	3,09 x 10 ⁰³	3,49
01.02.2005	2530,00	650,00	405	3,59 x 10 ⁰³	3,55
02.02.2005	2895,00	340,00	605,00	3,84 x 10 ⁰³	3,58
08.02.2005	2250,00	495,00	485,00	3,23 x 10 ⁰³	3,51
09.02.2005	2465,00	365,00	145,00	2,98 x 10 ⁰³	3,47

*a: GKZ in der resultierenden Keimmischung in 1 ml (addierte Wert)

b: Gesamtergebnis (a) logarithmiert

Tabelle 9.5: Analytisch ermittelte Ergebnisse der aufzubringenden Keimmischung
(*Salmonella* in niedriger Konzentration, Angaben pro 1 ml)

Datum	<i>Salmonella</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>Bacillus</i>	GKZ/ 1ml ^{a*}	log ^{b*}
07.09.2004	50,00	575,00	140,00	7,65 x 10 ⁰²	2,88
08.09.2004	75,00	540,00	145,00	7,60 x 10 ⁰²	2,88
16.09.2004	65,00	700,00	155,00	9,20 x 10 ⁰²	2,96
21.09.2004	85,00	580,00	310,00	9,75 x 10 ⁰²	2,99
22.09.2004	130,00	665,00	240,00	1,04 x 10 ⁰³	3,01
30.09.2004	60,00	595,00	290,00	9,45 x 10 ⁰²	2,98
12.10.2004	80,00	445,00	105,00	6,30 x 10 ⁰²	2,80
13.10.2004	75,00	730,00	185,00	9,90 x 10 ⁰²	3,00
14.10.2004	90,00	750,00	145,00	9,85 x 10 ⁰²	2,99
24.11.2004	90,00	520,00	125,00	7,35 x 10 ⁰²	2,87
14.12.2004	95,00	670,00	145,00	9,10 x 10 ⁰²	2,96
11.01.2005	70,00	475,00	90,00	6,35 x 10 ⁰²	2,80
12.01.2005	50,00	495,00	55,00	6,00 x 10 ⁰²	2,78
18.01.2005	105,00	510,00	80,00	6,95 x 10 ⁰²	2,84
19.01.2005	85,00	650,00	85,00	8,20 x 10 ⁰²	2,91
25.01.2005	55,00	600,00	150,00	8,05 x 10 ⁰²	2,91
26.01.2005	75,00	550,00	110,00	7,35 x 10 ⁰²	2,87
01.02.2005	75,00	1005,00	160,00	1,24 x 10 ⁰³	3,09
02.02.2005	105,00	515,00	270,00	8,90 x 10 ⁰²	2,95
08.02.2005	105,00	900,00	215,00	1,22 x 10 ⁰³	3,09
09.02.2005	155,00	755,00	70,00	9,80 x 10 ⁰²	2,99

Tabelle 9.6: Analytisch ermittelte Ergebnisse der aufzubringenden Keimmischung
(*Salmonella* in hoher Konzentration, Angaben pro 1 ml)

Datum	<i>Salmonella</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>Bacillus</i>	GKZ/ 1ml ^{a*}	log ^{b*}
26.10.2004	465,00	35,00	300,00	8,00 x 10 ⁰²	2,90
02.11.2004	805,00	85,00	170,00	1,06 x 10 ⁰³	3,03
03.11.2004	1010,00	145,00	250,00	1,41 x 10 ⁰³	3,15
09.11.2004	755,00	65,00	240,00	1,06 x 10 ⁰³	3,03
10.11.2004	520,00	45,00	75,00	6,40 x 10 ⁰²	2,81
16.11.2004	715,00	55,00	65,00	8,35 x 10 ⁰²	2,92
17.11.2004	980,00	60,00	140,00	1,18 x 10 ⁰³	3,07
23.11.2004	925,00	675,00	240,00	1,84 x 10 ⁰³	3,26
24.11.2004	795,00	75,00	145,00	1,02 x 10 ⁰³	3,01
07.12.2004	470,00	55,00	210,00	7,35 x 10 ⁰²	2,87
08.12.2004	500,00	30,00	110,00	6,40 x 10 ⁰²	2,81
14.12.2004	900,00	70,00	170,00	1,14 x 10 ⁰³	3,06
04.01.2005	375,00	40,00	130,00	5,45 x 10 ⁰²	2,74
05.01.2005	575,00	75,00	45,00	6,95 x 10 ⁰²	2,84
25.01.2005	740,00	75,00	150,00	9,65 x 10 ⁰²	2,98
26.01.2005	990,00	90,00	70,00	1,15 x 10 ⁰³	3,06
01.02.2005	950,00	135,00	210,00	1,30 x 10 ⁰³	3,11
02.02.2005	1005,00	210,00	215,00	1,43 x 10 ⁰³	3,16
08.02.2005	865,00	95,00	190,00	1,15 x 10 ⁰³	3,06
09.02.2005	1295,00	60,00	35,00	1,39 x 10 ⁰³	3,14

*a: GKZ in der resultierenden Keimmischung in 1 ml (addierte Wert)

b: Gesamtergebnis (a) logarithmiert

9.3.3. Einzelwerte der Ergebnisse aus dem Ergebnissteil 4.1.3.1.

Tab. 9.7 und 9.8 geben die Einzelwerte für *S. Typhimurium* in der aufzubringenden Keimmischung wieder (für jeden Versuchstag verifiziert).

Tabelle 9.7: Einzelwerte *S. Typhimurium* in der finalen Keimmischung, KbE/0,1 ml (log), *Salmonella* in niedriger Konzentration

Kombination	Datum	<i>Salmonella</i> Kolonien	log
30°C / 2h	02.02.2005	10,50	1,02
	19.01.2005	8,50	0,93
	25.01.2005	5,50	0,74
30°C / 6h	08.02.2005	10,50	1,02
	19.01.2005	8,50	0,93
	02.02.2005	10,50	1,02
15°C / 2h	07.09.2004	5,00	0,70
	01.02.2005	7,50	0,88
	09.02.2005	15,50	1,19
15°C / 6h	16.09.2004	6,50	0,81
	09.02.2005	15,50	1,19
	01.02.2005	7,50	0,88
10°C / 2h	21.09.2004	8,50	0,93
	14.12.2004	9,50	0,98
	18.01.2005	10,50	1,02
10°C / 6h	30.09.2004	6,00	0,78
	12.01.2005	5,00	0,70
	18.01.2005	10,50	1,02
10°C / 12h	14.10.2004	9,00	0,95
	12.01.2005	5,00	0,70
	26.01.2005	7,50	0,88
10°C / 24h	08.09.2004	7,50	0,88
	12.01.2005	5,00	0,70
	18.01.2005	10,50	1,02
7°C / 2h	22.09.2004	13,00	1,11
	24.11.2004	9,00	0,95
	26.01.2005	7,50	0,88
7°C / 6h	22.09.2004	15,00	1,18
	11.01.2005	7,00	0,85
	26.01.2005	7,50	0,88
7°C / 12h	13.10.2004	7,50	0,88
	11.01.2005	7,00	0,85
	25.01.2005	5,50	0,74
7°C / 24h	12.10.2004	8,00	0,90
	11.01.2005	7,00	0,85
	25.01.2005	5,50	0,74

Tabelle 9.8: Einzelwerte *S. Typhimurium* in der finalen Keimmischung, KbE/0,1 ml (log), *Salmonella* in hoher Konzentration

Kombination	Datum	<i>Salmonella</i> Kolonien	log
30°C / 2h	09.11.2004	75,50	1,88
	23.11.2004	92,50	1,97
	01.02.2005	95,00	1,98
30°C / 6h	09.11.2004	75,50	1,88
	23.11.2004	92,50	1,97
	01.02.2005	95,00	1,98
15°C / 2h	10.11.2004	52,00	1,72
	07.12.2004	47,00	1,67
	09.02.2005	129,50	2,11
15°C / 6h	10.11.2004	52,00	1,72
	07.12.2004	47,00	1,67
	09.02.2005	129,50	2,11
10°C / 2h	26.10.2004	46,50	1,67
	08.12.2004	50,00	1,70
	14.12.2004	90,00	1,95
10°C / 6h	02.11.2004	80,50	1,91
	08.12.2004	50,00	1,70
	08.02.2005	86,50	1,94
10°C / 12h	16.11.2004	71,50	1,85
	04.01.2005	37,50	1,57
	26.01.2005	99,00	2,00
10°C / 24h	16.11.2004	71,50	1,85
	04.01.2005	37,50	1,57
	08.02.2005	86,50	1,94
7°C / 2h	03.11.2004	101,00	2,00
	24.11.2004	79,50	1,90
	02.02.2005	100,50	2,00
7°C / 6h	03.11.2004	101,00	2,00
	25.01.2005	74,00	1,87
	02.02.2005	100,50	2,00
7°C / 12h	17.11.2004	98,00	1,99
	05.01.2005	57,50	1,76
	01.02.2005	95,00	1,98
7°C / 24h	17.11.2004	98,00	1,99
	05.01.2005	57,50	1,76
	01.02.2005	95,00	1,98

9.3.4. Einzelwerte der Ergebnisse aus dem Ergebnissteil 4.2.1.

Tabelle 9.9: Material für den Ansatz „*Salmonella* in niedriger Konzentration“, Einzelwerte der Originalbesiedlung und der finalen Ausgangskeimzahl vor dem technischen Einfluss, Angaben pro 20 cm² Fleischoberfläche, Temperatur bei 30°C und 15°C, Endwert logarithmiert

Kombination	Wdh.Nr.	GKZ vor dem technischen Einfluss				
	Datum	A	log	B	A+B	log
30°C / 2h	1 02.02.2005	53636,36	4,73	89,00	53725,36	4,73
		28727,27	4,46	89,00	28816,27	4,46
		22000,00	4,34	89,00	22089,00	4,34
	2 19.01.2005	76181,82	4,88	82,00	76263,82	4,88
		6476,19	3,81	82,00	6558,19	3,82
		4363,64	3,64	82,00	4445,64	3,65
	3 25.01.2005	19636,36	4,29	80,50	19716,86	4,29
		21636,36	4,34	80,50	21716,86	4,34
	30°C / 6h	1 08.02.2005	90909,09	4,96	122,00	91031,09
16363,64			4,21	122,00	16485,64	4,22
21818,18			4,34	122,00	21940,18	4,34
2 19.01.2005		6545,45	3,82	82,00	6627,45	3,82
		761,90	2,88	82,00	843,90	2,93
		35272,73	4,55	82,00	35354,73	4,55
3 02.02.2005		5090,91	3,71	89,00	5179,91	3,71
		12909,09	4,11	89,00	12998,09	4,11
		32181,82	4,51	89,00	32270,82	4,51
15°C / 2h	1 07.09.2004	1142,86	3,06	76,50	1219,36	3,09
		6181,82	3,79	92,00	6273,82	3,80
		1333,33	3,12	76,50	1409,83	3,15
		6363,64	3,80	92,00	6455,64	3,81
	2 01.02.2005	5636,36	3,75	124,00	5760,36	3,76
		5454,55	3,74	124,00	5578,55	3,75
		2727,27	3,44	124,00	2851,27	3,46
	3 09.02.2005	10363,64	4,02	98,00	10461,64	4,02
		4363,64	3,64	98,00	4461,64	3,65
5523,81		3,74	98,00	5621,81	3,75	
15°C / 6h	1 16.09.2004	1200,00	3,08	76,50	1276,50	3,11
		1142,86	3,06	76,50	1219,36	3,09
		6181,82	3,79	92,00	6273,82	3,80
		1714,29	3,23	92,00	1806,29	3,26
	2 09.02.2005	2857,14	3,46	98,00	2955,14	3,47
		2666,67	3,43	98,00	2764,67	3,44
		400,00	2,60	98,00	498,00	2,70
	3 01.02.2005	2285,71	3,36	124,00	2409,71	3,38
		4190,48	3,62	124,00	4314,48	3,63
14909,09		4,17	124,00	15033,09	4,18	

A: Ausgangsbesiedlung auf der Fleischoberfläche, Kbe/ 20 cm²

B: Keime in finaler Mischung (= aufzubringende Flora), Kbe/ 0,1 ml

A+B: Alle Keime auf der Fleischoberfläche vor dem labortechnischen Einfluss

Tabelle 9.10: Material für den Ansatz „*Salmonella* in niedriger Konzentration“, Einzelwerte der Originalbesiedlung und der finalen Ausgangskeimzahl vor dem technischen Einfluss, Angaben pro 20 cm² Fleischoberfläche, Temperatur bei 10°C, Endwert logarithmiert

Kombination	Wdh.Nr.	GKZ vor dem technischen Einfluss				
	Datum	A	log	B	A+B	log
10°C / 2h	1 21.09.2004	7090,91	3,85	97,50	7188,41	3,86
		1000,00	3,00	97,50	1097,50	3,04
		1200,00	3,08	97,50	1297,50	3,11
	2 14.12.2004	800,00	2,90	91,00	891,00	2,95
		2285,71	3,36	91,00	2376,71	3,38
		1272,73	3,10	91,00	1363,73	3,13
	3 18.01.2005	30363,64	4,48	69,50	30433,14	4,48
		31818,18	4,50	69,50	31887,68	4,50
		53272,73	4,73	69,50	53342,23	4,73
10°C / 6h	1 30.09.2004	1200,00	3,08	94,50	1294,50	3,11
		400,00	2,60	94,50	494,50	2,69
		600,00	2,78	94,50	694,50	2,84
	2 12.01.2005	2000,00	3,30	60,00	2060,00	3,31
		1904,76	3,28	60,00	1964,76	3,29
		22727,27	4,36	60,00	22787,27	4,36
	3 18.01.2005	19600,00	4,29	69,50	19669,50	4,29
		86181,82	4,94	69,50	86251,32	4,94
		24727,27	4,39	69,50	24796,77	4,39
10°C / 12h	1 14.10.2005	102545,45	5,01	98,50	102643,95	5,01
		27454,55	4,44	98,50	27553,05	4,44
		16363,64	4,21	98,50	16462,14	4,22
	2 12.01.2005	16909,09	4,23	60,00	16969,09	4,23
		7636,36	3,88	60,00	7696,36	3,89
		9454,55	3,98	60,00	9514,55	3,98
	3 26.01.2005	116000,00	5,06	73,50	116073,50	5,06
		22800,00	4,36	73,50	22873,50	4,36
	10°C / 24h	1 08.09.2004	400,00	2,60	76,00	476,00
952,38			2,98	76,00	1028,38	3,01
14363,64			4,16	76,00	14439,64	4,16
2 12.01.2005		18909,09	4,28	60,00	18969,09	4,28
		36545,45	4,56	60,00	36605,45	4,56
		4181,82	3,62	60,00	4241,82	3,63
3 18.01.2005		39090,91	4,59	69,50	39160,41	4,59
		18545,45	4,27	69,50	18614,95	4,27
		29090,91	4,46	69,50	29160,41	4,46

A: Ausgangsbesiedlung auf der Fleischoberfläche, KbE/ 20 cm²

B: Keime in finaler Mischung (= aufzubringende Flora), KbE/ 0,1 ml

A+B: Alle Keime auf der Fleischoberfläche vor dem labortechnischen Einfluss

Tabelle 9.11: Material für den Ansatz „*Salmonella* in niedriger Konzentration“, Einzelwerte der Originalbesiedlung und der finalen Ausgangskeimzahl vor dem technischen Einfluss, Angaben pro 20 cm² Fleischoberfläche, Temperatur bei 7°C, Endwert logarithmiert

Kombination	Wdh.Nr.	GKZ vor dem technischen Einfluss				
	Datum	A	log	B	A+B	log
7°C / 2h	1 22.09.2004	4000,00	3,60	103,50	4103,50	3,61
		5636,36	3,75	103,50	5739,86	3,76
		37090,91	4,57	103,50	37194,41	4,57
	2 24.11.2004	761,90	2,88	73,50	835,40	2,92
		2545,45	3,41	73,50	2618,95	3,42
		1523,81	3,18	73,50	1597,31	3,20
	3 26.01.2005	48400,00	4,68	73,50	48473,50	4,69
		29636,36	4,47	73,50	29709,86	4,47
	7°C / 6h	1 22.09.2004	11272,73	4,05	112,00	11384,73
32909,09			4,52	112,00	33021,09	4,52
4727,27			3,67	112,00	4839,27	3,68
2 11.01.2005		42545,45	4,63	63,50	42608,95	4,63
		17636,36	4,25	63,50	17699,86	4,25
		26545,45	4,42	63,50	26608,95	4,43
3 26.01.2005		95636,36	4,98	73,50	95709,86	4,98
		36800,00	4,57	73,50	36873,50	4,57
7°C / 12h		1 13.10.2004	2857,14	3,46	99,00	2956,14
	3047,62		3,48	99,00	3146,62	3,50
	1600,00		3,20	99,00	1699,00	3,23
	2 11.01.2005	6363,64	3,80	63,50	6427,14	3,81
		2909,09	3,46	63,50	2972,59	3,47
		8545,45	3,93	63,50	8608,95	3,93
	3 25.01.2005	6909,09	3,84	80,50	6989,59	3,84
		2727,27	3,44	80,50	2807,77	3,45
	7°C / 24h	1 12.10.2005	400,00	2,60	63,00	463,00
10727,27			4,03	63,00	10790,27	4,03
2666,67			3,43	63,00	2729,67	3,44
2 11.01.2005		88000,00	4,94	63,50	88063,50	4,94
		20727,27	4,32	63,50	20790,77	4,32
		5454,55	3,74	63,50	5518,05	3,74
3 25.01.2005		14181,82	4,15	80,50	14262,32	4,15
		1600,00	3,20	80,50	1680,50	3,23

A: Ausgangsbesiedlung auf der Fleischoberfläche, KbE/ 20 cm²

B: Keime in finaler Mischung (= aufzubringende Flora), KbE/ 0,1 ml

A+B: Alle Keime auf der Fleischoberfläche vor dem labortechnischen Einfluss

Tabelle 9.12: Material für den Ansatz „*Salmonella* in hoher Konzentration“ Einzelwerte der Originalbesiedlung und der finalen Ausgangskeimzahl vor dem technischen Einfluss, Angaben pro 20 cm² Fleischoberfläche, Temperatur bei 30°C und 15°C, Endwert logarithmiert

Kombination	Wdh.Nr.	GKZ vor dem technischen Einfluss				
	Datum	A	log	B	A+B	log
30°C / 2h	1 09.11.2004	727,27	2,86	106,00	833,27	2,92
		1142,86	3,06	106,00	1248,86	3,10
		1333,33	3,12	106,00	1439,33	3,16
	2 23.11.2004	600,00	2,78	184,00	784,00	2,89
		3090,91	3,49	184,00	3274,91	3,52
		9090,91	3,96	184,00	9274,91	3,97
	3 01.02.2005	40909,09	4,61	129,50	41038,59	4,61
		28909,09	4,46	129,50	29038,59	4,46
		1523,81	3,18	129,50	1653,31	3,22
30°C / 6h	1 09.11.2004	5454,55	3,74	106,00	5560,55	3,75
		761,90	2,88	106,00	867,90	2,94
		1904,76	3,28	106,00	2010,76	3,30
	2 23.11.2004	952,38	2,98	184,00	1136,38	3,06
		400,00	2,60	184,00	584,00	2,77
		5636,36	3,75	184,00	5820,36	3,76
	3 01.02.2005	11636,36	4,07	129,50	11765,86	4,07
		4181,82	3,62	129,50	4311,32	3,63
		41818,18	4,62	129,50	41947,68	4,62
15°C / 2h	1 10.11.2004	3238,10	3,51	64,00	3302,10	3,52
		2857,14	3,46	64,00	2921,14	3,47
		600,00	2,78	64,00	664,00	2,82
	2 07.12.2004	1904,76	3,28	73,50	1978,26	3,30
		1200,00	3,08	73,50	1273,50	3,10
		2000,00	3,30	73,50	2073,50	3,32
	3 09.02.2005	12181,82	4,09	139,00	12320,82	4,09
		41636,36	4,62	139,00	41775,36	4,62
		4000,00	3,60	139,00	4139,00	3,62
15°C / 6h	1 10.11.2004	761,90	2,88	64,00	825,90	2,92
		2727,27	3,44	64,00	2791,27	3,45
		1333,33	3,12	64,00	1397,33	3,15
	2 07.12.2004	3090,91	3,49	73,50	3164,41	3,50
		1714,29	3,23	73,50	1787,79	3,25
		3636,36	3,56	73,50	3709,86	3,57
	3 09.02.2005	21272,73	4,33	139,00	21411,73	4,33
		40545,45	4,61	139,00	40684,45	4,61
		16000,00	4,20	139,00	16139,00	4,21

A: Ausgangsbesiedlung auf der Fleischoberfläche, KbE/ 20 cm²

B: Keime in finaler Mischung (= aufzubringende Flora), KbE/ 0,1 ml

A+B: Alle Keime auf der Fleischoberfläche vor dem labortechnischen Einfluss

Tabelle 9.13: Material für den Ansatz „*Salmonella* in hoher Konzentration“ Einzelwerte der Originalbesiedlung und der finalen Ausgangskeimzahl vor dem technischen Einfluss, Angaben pro 20 cm² Fleischoberfläche, Temperatur bei 10°C, Endwert logarithmiert

Kombination	Wdh.Nr.		GKZ vor dem technischen Einfluss			
	Datum	A	log	B	A+B	log
10°C / 2h	1 26.10.2004	1272,73	3,10	80,00	1352,73	3,13
		5272,73	3,72	80,00	5352,73	3,73
		2000,00	3,30	80,00	2080,00	3,32
	2 08.12.2004	4727,27	3,67	64,00	4791,27	3,68
		5818,18	3,76	64,00	5882,18	3,77
		1904,76	3,28	64,00	1968,76	3,29
	3 14.12.2004	761,90	2,88	114,00	875,90	2,94
		4181,82	3,62	114,00	4295,82	3,63
		2909,09	3,46	114,00	3023,09	3,48
10°C / 6h	1 02.11.2004	1142,86	3,06	106,00	1248,86	3,10
		3809,52	3,58	106,00	3915,52	3,59
		3428,57	3,54	106,00	3534,57	3,55
	2 08.12.2004	3809,52	3,58	64,00	3873,52	3,59
		3090,91	3,49	64,00	3154,91	3,50
		7428,57	3,87	64,00	7492,57	3,87
	3 08.02.2005	22363,64	4,35	115,00	22478,64	4,35
		13636,36	4,13	115,00	13751,36	4,14
		14545,45	4,16	115,00	14660,45	4,17
10°C / 12h	1 16.11.2004	2095,24	3,32	83,50	2178,74	3,34
		10909,09	4,04	83,50	10992,59	4,04
		2600,00	3,41	83,50	2683,50	3,43
	2 04.01.2005	6095,24	3,78	54,50	6149,74	3,79
		9636,36	3,98	54,50	9690,86	3,99
		4727,27	3,67	54,50	4781,77	3,68
	3 26.01.2005	28000,00	4,45	115,00	28115,00	4,45
		16545,45	4,22	115,00	16660,45	4,22
10°C / 24h	1 16.11.2004	1333,33	3,12	83,50	1416,83	3,15
		1714,29	3,23	83,50	1797,79	3,25
		14181,82	4,15	83,50	14265,32	4,15
	2 04.01.2005	107272,73	5,03	54,50	107327,23	5,03
		12363,64	4,09	54,50	12418,14	4,09
		9636,36	3,98	54,50	9690,86	3,99
	3 08.02.2005	7272,73	3,86	115,00	7387,73	3,87
		1600,00	3,20	115,00	1715,00	3,23
		1904,76	3,28	115,00	2019,76	3,31

A: Ausgangsbesiedlung auf der Fleischoberfläche, KbE/ 20 cm²

B: Keime in finaler Mischung (= aufzubringende Flora), KbE/ 0,1 ml

A+B: Alle Keime auf der Fleischoberfläche vor dem labortechnischen Einfluss

Tabelle 9.14: Material für den Ansatz „*Salmonella* in hoher Konzentration“ Einzelwerte der Originalbesiedlung und der finalen Ausgangskeimzahl vor dem technischen Einfluss, Angaben pro 20 cm² Fleischoberfläche, Temperatur bei 7°C, Endwert logarithmiert

Kombination	Wdh.Nr.		GKZ vor dem technischen Einfluss			
	Datum	A	log	B	A+B	log
7°C / 2h	1 03.11.2004	4909,09	3,69	140,50	5049,59	3,70
		9818,18	3,99	140,50	9958,68	4,00
		6095,24	3,78	140,50	6235,74	3,79
	2 24.11.2004	1000,00	3,00	101,50	1101,50	3,04
		761,90	2,88	101,50	863,40	2,94
		3047,62	3,48	101,50	3149,12	3,50
	3 02.02.2005	10727,27	4,03	143,00	10870,27	4,04
		7428,57	3,87	143,00	7571,57	3,88
		13818,18	4,14	143,00	13961,18	4,14
7°C / 6h	1 03.11.2004	61272,73	4,79	140,50	61413,23	4,79
		20761,90	4,32	140,50	20902,40	4,32
	2 25.01.2005	7454,55	3,87	96,50	7551,05	3,88
		7636,36	3,88	96,50	7732,86	3,89
	3 02.02.2005	4380,95	3,64	143,00	4523,95	3,66
		8181,82	3,91	143,00	8324,82	3,92
		1904,76	3,28	143,00	2047,76	3,31
7°C / 12h	1 17.11.2004	400,00	2,60	118,00	518,00	2,71
		2363,64	3,37	118,00	2481,64	3,39
		4380,95	3,64	118,00	4498,95	3,65
	2 05.01.2005	12909,09	4,11	69,50	12978,59	4,11
		9818,18	3,99	69,50	9887,68	4,00
		1714,29	3,23	69,50	1783,79	3,25
	3 01.02.2005	4545,45	3,66	129,50	4674,95	3,67
		1523,81	3,18	129,50	1653,31	3,22
		6181,82	3,79	129,50	6311,32	3,80
7°C / 24h	1 17.11.2004	17636,36	4,25	118,00	17754,36	4,25
		3600,00	3,56	118,00	3718,00	3,57
		6545,45	3,82	118,00	6663,45	3,82
	2 05.01.2005	2476,19	3,39	69,50	2545,69	3,41
		400,00	2,60	69,50	469,50	2,67
		1000,00	3,00	69,50	1069,50	3,03
	3 01.02.2005	1333,33	3,12	129,50	1462,83	3,17
		2181,82	3,34	129,50	2311,32	3,36
		3454,55	3,54	129,50	3584,05	3,55

A: Ausgangsbesiedlung auf der Fleischoberfläche, Kbe/ 20 cm²

B: Keime in finaler Mischung (= aufzubringende Flora), Kbe/ 0,1 ml

A+B: Alle Keime auf der Fleischoberfläche vor dem labortechnischen Einfluss

9.3.5. Einzelwerte der Ergebnisse aus dem Ergebnissteil 4.2.2.

Die Mittelwerte wurden immer aus dem entlogarithmierten analysierten Einzelwerten errechnet.

Tabelle 9.15: Errechnete Mittelwerte aus der Tabelle 4.15 (Ergebnisse), *Salmonella* in niedriger Konzentration, Temperatur bei 30°C und 15°C

n	30°C/ 2h	Mittelw.	log	30°C/ 6h	Mittelw.	log	15°C/ 2h	Mittelw.	log	15°C/ 6h	Mittelw.	log
1	1,42 x 10 ⁴	1,67 x 10 ⁴	4,22	3,73 x 10 ⁴	2,22 x 10 ⁴	4,35	7,62 x 10 ²	7,62 x 10 ²	2,88	1,00 x 10 ³	9,76 x 10 ²	2,99
2	1,93 x 10 ⁴			7,09 x 10 ³			1,09 x 10 ³	6,45 x 10 ²	2,81	9,52 x 10 ²		
3	3,20 x 10 ⁴	3,25 x 10 ⁴	4,51	2,40 x 10 ³	5,10 x 10 ³	3,71	2,00 x 10 ²			6,00 x 10 ²	6,00 x 10 ²	2,78
4	3,29 x 10 ⁴			7,81 x 10 ³			1,20 x 10 ³	1,69 x 10 ³	3,23	1,90 x 10 ³	1,90 x 10 ³	3,28
5	1,02 x 10 ⁴	9,82 x 10 ³	3,99	1,53 x 10 ⁴	1,49 x 10 ⁴	4,17	2,18 x 10 ³			2,80 x 10 ³	2,30 x 10 ³	3,36
6	9,45 x 10 ³			1,45 x 10 ⁴			5,71 x 10 ³	5,71 x 10 ³	3,76	1,80 x 10 ³		
7	7,95 x 10 ⁴	5,60 x 10 ⁴	4,75	4,36 x 10 ³	3,08 x 10 ³	3,49	4,55 x 10 ³	4,84 x 10 ³	3,69	5,09 x 10 ³	3,69 x 10 ³	3,57
8	3,25 x 10 ⁴			1,80 x 10 ³			5,14 x 10 ³			2,29 x 10 ³		
9	1,07 x 10 ⁴	9,82 x 10 ³	3,99	0,00	4,00 x 10 ²	2,60	1,40 x 10 ⁴	1,02 x 10 ⁴	4,01	4,95 x 10 ³	2,88 x 10 ³	3,46
10	8,91 x 10 ³			8,00 x 10 ²			6,36 x 10 ³			8,00 x 10 ²		
11	3,82 x 10 ³	3,53 x 10 ³	3,55	1,05 x 10 ⁴	2,05 x 10 ⁴	4,31	4,55 x 10 ³	3,47 x 10 ³	3,54	1,00 x 10 ³	1,00 x 10 ³	3,00
12	3,24 x 10 ³			3,04 x 10 ⁴			2,40 x 10 ³			1,00 x 10 ³		
13	7,91 x 10 ⁴	5,29 x 10 ⁴	4,72	8,18 x 10 ³	1,24 x 10 ⁴	4,09	4,38 x 10 ³	3,74 x 10 ³	3,57	1,90 x 10 ³	2,10 x 10 ³	3,32
14	3,67 x 10 ⁴			1,65 x 10 ⁴			3,09 x 10 ³			2,29 x 10 ³		
15	4,29 x 10 ⁴			6,91 x 10 ³	1,85 x 10 ⁴	4,27	2,67 x 10 ³	2,03 x 10 ³	3,31	4,19 x 10 ³	3,00 x 10 ³	3,48
16	1,65 x 10 ⁴	5,16 x 10 ⁴	4,71	3,02 x 10 ⁴			1,40 x 10 ³			1,80 x 10 ³		
17	1,21 x 10 ⁵			2,56 x 10 ⁴	4,14 x 10 ⁴	4,62	1,71 x 10 ³	3,68 x 10 ³	3,57	1,52 x 10 ³	1,95 x 10 ⁴	4,29
18	1,69 x 10 ⁴			5,71 x 10 ⁴			5,64 x 10 ³			3,75 x 10 ⁴		

Tabelle 9.16: Errechnete Mittelwerte aus der Tabelle 4.15 (Ergebnisse), *Salmonella* in niedriger Konzentration, Temperatur bei 10°C

n	10°C/2h	Mittelwert	log	10°C/6h	Mittelwert	log	10°C/12h	Mittelwert	log	10°C/24h	Mittelwert	log
1	1,60 x 10 ³	5,80 x 10 ³	3,76	4,00 x 10 ²	8,00 x 10 ²	2,90	6,15 x 10 ⁴	3,39 x 10 ⁵	5,53	4,00 x 10 ²	2,00 x 10 ²	2,30
2	1,00 x 10 ⁴			1,20 x 10 ³			6,16 x 10 ⁵			0,00		
3	2,55 x 10 ³	2,55 x 10 ³	3,41	4,00 x 10 ²	4,00 x 10 ²	2,60	8,66 x 10 ⁵	6,42 x 10 ⁵	5,81	4,00 x 10 ²	4,00 x 10 ²	2,60
4	2,55 x 10 ³			4,00 x 10 ²			4,18 x 10 ⁵			4,00 x 10 ²		
5	9,52 x 10 ²	8,40 x 10 ²	2,92	4,00 x 10 ²	1,11 x 10 ³	3,04	2,24 x 10 ⁴	2,26 x 10 ⁴	4,35	3,24 x 10 ³	2,86 x 10 ³	3,46
6	7,27 x 10 ²			1,82 x 10 ³			2,29 x 10 ⁴			2,48 x 10 ³		
7	9,52 x 10 ²	1,05 x 10 ³	3,02	4,00 x 10 ²	6,76 x 10 ²	2,83	2,11 x 10 ⁴	2,43 x 10 ⁴	4,39	9,82 x 10 ³	7,48 x 10 ⁴	4,87
8	1,14 x 10 ³			9,52 x 10 ²			2,75 x 10 ⁴			1,40 x 10 ⁵		
9	1,80 x 10 ³	1,40 x 10 ³	3,15	2,67 x 10 ³	1,63 x 10 ³	3,21	7,64 x 10 ³	1,02 x 10 ⁴	4,01	1,44 x 10 ⁵	1,52 x 10 ⁵	5,18
10	1,00 x 10 ³			6,00 x 10 ²			1,27 x 10 ⁴			1,59 x 10 ⁵		
11	1,00 x 10 ³	1,05 x 10 ³	3,02	3,81 x 10 ³	7,54 x 10 ³	3,88	2,55 x 10 ³	7,73 x 10 ³	3,89	3,05 x 10 ³	3,17 x 10 ⁴	4,50
12	1,09 x 10 ³			1,13 x 10 ⁴			1,29 x 10 ⁴			6,04 x 10 ⁴		
13	8,18 x 10 ³	2,10 x 10 ⁴	4,32	4,72 x 10 ⁵	2,51 x 10 ⁵	5,40	5,06 x 10 ⁵			1,30 x 10 ⁵	8,41 x 10 ⁴	4,92
14	3,38 x 10 ⁴			2,96 x 10 ⁴			5,98 x 10 ⁵	5,51 x 10 ⁵	5,74	3,78 x 10 ⁴		
15	1,16 x 10 ⁴	2,87 x 10 ⁴	4,46	4,37 x 10 ⁴	4,60 x 10 ⁴	4,66	5,50 x 10 ⁵			1,04 x 10 ⁴	2,42 x 10 ⁴	4,38
16	4,58 x 10 ⁴			4,84 x 10 ⁴			6,85 x 10 ⁴			3,80 x 10 ⁴		
17	4,64 x 10 ⁴	3,08 x 10 ⁴	4,49	8,11 x 10 ⁴	5,26 x 10 ⁴	4,72	2,54 x 10 ⁵	1,17 x 10 ⁵	5,07	6,44 x 10 ⁴	8,47 x 10 ⁴	4,93
18	1,53 x 10 ⁴			2,42 x 10 ⁴			2,91 x 10 ⁴			1,05 x 10 ⁵		

Tabelle 9.17: Errechnete Mittelwerte aus der Tabelle 4.15 (Ergebnisse), *Salmonella* in niedriger Konzentration, Temperatur bei 7°C

n	7°C/2h	Mittelwert	log	7°C/6h	Mittelwert	log	7°C/12h	Mittelwert	log	7°C/24h	Mittelwert	log
1	3,96 x 10 ⁴	2,18 x 10 ⁴	4,34	1,38 x 10 ⁴	1,00 x 10 ⁴	4,00	3,27 x 10 ³	4,91 x 10 ³	3,69	4,00 x 10 ²	4,00 x 10 ²	2,60
2	4,00 x 10 ³			6,18 x 10 ³			6,55 x 10 ³			4,00 x 10 ²		
3	4,00 x 10 ³	7,55 x 10 ³	3,88	1,75 x 10 ⁴	2,00 x 10 ⁴	4,30	7,27 x 10 ³	4,34 x 10 ³	3,64	4,18 x 10 ³	7,55 x 10 ³	3,88
4	1,11 x 10 ⁴			2,25 x 10 ⁴			1,40 x 10 ³			1,09 x 10 ⁴		
5	2,31 x 10 ⁴	1,55 x 10 ⁴	4,19	4,57 x 10 ³	5,01 x 10 ³	3,70	1,40 x 10 ³	1,65 x 10 ³	3,22	7,27 x 10 ³	4,14 x 10 ³	3,62
6	8,00 x 10 ³			5,45 x 10 ³			1,90 x 10 ³			1,00 x 10 ³		
7	7,62 x 10 ²	9,26 x 10 ²	2,97	1,10 x 10 ⁵	6,20 x 10 ⁴	4,79	2,55 x 10 ⁴	1,36 x 10 ⁴	4,13	4,13 x 10 ⁴	6,51 x 10 ⁴	4,81
8	1,09 x 10 ³			1,36 x 10 ⁴			1,71 x 10 ³			8,89 x 10 ⁴		
9	1,45 x 10 ³	1,18 x 10 ³	3,07	1,05 x 10 ⁴	1,27 x 10 ⁴	4,10	5,52 x 10 ³	4,38 x 10 ³	3,64	6,73 x 10 ³	1,16 x 10 ⁴	4,07
10	9,09 x 10 ²			1,49 x 10 ⁴			3,24 x 10 ³			1,66 x 10 ⁴		
11	1,71 x 10 ³	1,16 x 10 ³	3,06	2,02 x 10 ⁴	1,48 x 10 ⁴	4,17	1,62 x 10 ⁴	9,61 x 10 ³	3,98	5,64 x 10 ³	9,36 x 10 ³	3,97
12	6,00 x 10 ²			9,33 x 10 ³			3,05 x 10 ³			1,31 x 10 ⁴		
13	1,19 x 10 ⁵			5,56 x 10 ⁵	5,47 x 10 ⁵	5,74	8,36 x 10 ³			3,24 x 10 ⁴		
14	1,87 x 10 ⁴	6,69 x 10 ⁴	4,83	1,01 x 10 ⁶			5,49 x 10 ⁴	2,33 x 10 ⁴	4,37	9,27 x 10 ³	2,01 x 10 ⁴	4,30
15	6,35 x 10 ⁴			7,56 x 10 ⁴			6,73 x 10 ³			1,87 x 10 ⁴		
16	4,62 x 10 ⁴			6,93 x 10 ⁴	1,81 x 10 ⁵	5,26	1,04 x 10 ⁴			1,90 x 10 ³		
17	1,96 x 10 ⁴	3,14 x 10 ⁴	4,50	5,13 x 10 ⁴			1,13 x 10 ⁴	2,00 x 10 ⁴	4,30	1,20 x 10 ³	4,91 x 10 ³	3,69
18	2,84 x 10 ⁴			4,22 x 10 ⁵			3,84 x 10 ⁴			1,16 x 10 ⁴		

Tabelle 9.18: Errechnete Mittelwerte aus der Tabelle 4.16 (Ergebnisse), *Salmonella* in hoher Konzentration, Temperatur bei 30°C und 15°C

n	30°C/2h	Mittelwert	log	30°C/6h	Mittelwert	log	30°C/6h	Mittelwert	log	15°C/2h	Mittelwert	log	15°C/6h	Mittelwert	log
1	8,00 x 10 ²	1,35 x 10 ³	3,13	6,18 x 10 ³	1,65 x 10 ⁴	4,22				4,73 x 10 ³	3,22 x 10 ³	3,51	1,60 x 10 ³	1,20 x 10 ³	3,08
2	1,90 x 10 ³			2,69 x 10 ⁴						1,71 x 10 ³			8,00 x 10 ²		
3	1,52 x 10 ³	1,06 x 10 ³	3,03	1,33 x 10 ³	1,94 x 10 ³	3,29				2,29 x 10 ³	2,42 x 10 ³	3,38	3,62 x 10 ³	5,72 x 10 ³	3,76
4	6,00 x 10 ²			2,55 x 10 ³						2,55 x 10 ³			7,82 x 10 ³		
5	3,45 x 10 ³	2,11 x 10 ³	3,32	5,33 x 10 ³	4,00 x 10 ³	3,60				9,52 x 10 ²	9,52 x 10 ²	2,98	5,27 x 10 ³	2,84 x 10 ³	3,45
6	7,62 x 10 ²			2,67 x 10 ³						9,52 x 10 ²			4,00 x 10 ²		
7	8,00 x 10 ²	1,26 x 10 ³	3,10	3,09 x 10 ³	3,09 x 10 ³	3,49				2,10 x 10 ³	2,57 x 10 ³	3,41	2,55 x 10 ³	3,94 x 10 ³	3,60
8	1,71 x 10 ³			3,09 x 10 ³						3,05 x 10 ³			5,33 x 10 ³		
9	1,38 x 10 ⁴	1,13 x 10 ⁴	4,05	4,19 x 10 ³	3,33 x 10 ³	3,52				2,55 x 10 ³	1,75 x 10 ³	3,24	1,14 x 10 ³	1,39 x 10 ³	3,14
10	8,73 x 10 ³			2,48 x 10 ³						9,52 x 10 ²			1,64 x 10 ³		
11	1,07 x 10 ⁴	6,64 x 10 ³	3,82	4,73 x 10 ³	4,27 x 10 ³	3,63				5,71 x 10 ²	2,10 x 10 ³	3,32	1,20 x 10 ³	1,55 x 10 ³	3,19
12	2,55 x 10 ³			3,81 x 10 ³						3,64 x 10 ³			1,90 x 10 ³		
13	2,27 x 10 ⁴	1,58 x 10 ⁴	4,20	3,09 x 10 ³	2,36 x 10 ³	3,37				8,19 x 10 ³	1,31 x 10 ⁴	4,12	1,75 x 10 ⁴	2,26 x 10 ⁴	4,35
14	8,91 x 10 ³			1,64 x 10 ³						1,80 x 10 ⁴			2,78 x 10 ⁴		
15	5,90 x 10 ³	3,95 x 10 ³	3,60	1,00 x 10 ⁴	1,09 x 10 ⁴	4,04				2,51 x 10 ⁴	1,76 x 10 ⁴	4,25	5,36 x 10 ⁵	2,78 x 10 ⁵	5,44
16	2,00 x 10 ³			1,18 x 10 ⁴						1,02 x 10 ⁴			1,93 x 10 ⁴		
17	1,20 x 10 ³	1,10 x 10 ³	3,04	7,45 x 10 ³	4,85 x 10 ⁴	4,69				2,10 x 10 ³	2,87 x 10 ³	3,46	7,51 x 10 ⁴	4,42 x 10 ⁴	4,65
18	1,00 x 10 ³			8,95 x 10 ⁴						3,64 x 10 ³			1,33 x 10 ⁴		

Tabelle 9.19: Errechnete Mittelwerte aus der Tabelle 4.16 (Ergebnisse), *Salmonella* in hoher Konzentration, Temperatur bei 10°C

n	10°C/2h	Mittelwert	log	10°C/6h	Mittelwert	log	10°C/12h	Mittelwert	log	10°C/24h	Mittelwert	log
1	2,00 x 10 ³	1,76 x 10 ³	3,25	6,73 x 10 ³	4,27 x 10 ³	3,63	1,71 x 10 ³	1,16 x 10 ³	3,06	6,55 x 10 ³	4,82 x 10 ³	3,68
2	1,52 x 10 ³			1,82 x 10 ³			6,00 x 10 ²			3,09 x 10 ³		
3	1,33 x 10 ³	1,39 x 10 ³	3,14	1,00 x 10 ³	2,68 x 10 ³	3,43	1,15 x 10 ⁴	2,42 x 10 ⁴	4,38	1,60 x 10 ³	3,07 x 10 ³	3,49
4	1,45 x 10 ³			4,36 x 10 ³			3,69 x 10 ⁴			4,55 x 10 ³		
5	6,00 x 10 ²	9,00 x 10 ²	2,95	3,82 x 10 ³	2,82 x 10 ³	3,45	8,18 x 10 ³	5,90 x 10 ³	3,77	1,18 x 10 ⁴	1,04 x 10 ⁴	4,02
6	1,20 x 10 ³			1,82 x 10 ³			3,62 x 10 ³			8,95 x 10 ³		
7	4,36 x 10 ³	2,58 x 10 ³	3,41	6,36 x 10 ³	6,55 x 10 ³	3,82	4,38 x 10 ³	2,19 x 10 ³	3,34	3,64 x 10 ⁴	3,26 x 10 ⁴	4,51
8	8,00 x 10 ²			6,73 x 10 ³			0,00			2,89 x 10 ⁴		
9	7,62 x 10 ²	1,02 x 10 ⁴	4,01	1,60 x 10 ³	2,80 x 10 ³	3,45	4,91 x 10 ³	5,00 x 10 ³	3,70	3,43 x 10 ³	3,43 x 10 ³	3,54
10	1,96 x 10 ⁴			4,00 x 10 ³			5,09 x 10 ³			3,43 x 10 ³		
11	3,45 x 10 ³	3,73 x 10 ³	3,57	2,29 x 10 ³	3,96 x 10 ³	3,60	2,10 x 10 ³	2,00 x 10 ³	3,30	9,64 x 10 ³	6,42 x 10 ³	3,81
12	4,00 x 10 ³			5,64 x 10 ³			1,90 x 10 ³			3,20 x 10 ³		
13	1,45 x 10 ³	1,27 x 10 ³	3,10	8,36 x 10 ³	9,36 x 10 ³	3,97	3,20 x 10 ⁴			5,64 x 10 ⁴	3,87 x 10 ⁴	4,59
14	1,09 x 10 ³			1,04 x 10 ⁴			5,52 x 10 ³	1,40 x 10 ⁴	4,15	2,11 x 10 ⁴		
15	1,90 x 10 ³	2,23 x 10 ³	3,35	5,27 x 10 ³	7,18 x 10 ³	3,86	4,55 x 10 ³			4,02 x 10 ⁴	2,23 x 10 ⁴	4,35
16	2,55 x 10 ³			9,09 x 10 ³			2,71 x 10 ⁴			4,36 x 10 ³		
17	6,00 x 10 ³	4,73 x 10 ³	3,67	1,20 x 10 ³	1,23 x 10 ⁴	4,09	9,09 x 10 ³	1,45 x 10 ⁴	4,16	1,04 x 10 ⁴	7,47 x 10 ³	3,87
18	3,45 x 10 ³			2,35 x 10 ⁴			7,45 x 10 ³			4,57 x 10 ³		

Tabelle 9.20: Errechnete Mittelwerte aus der Tabelle 4.16 (Ergebnisse), *Salmonella* in hoher Konzentration, Temperatur bei 7°C

n	7°C/2h	Mittelwert	log	7°C/6h	Mittelwert	log	7°C/12h	Mittelwert	log	7°C/24h	Mittelwert	log
1	1,55 x 10 ⁴	1,91 x 10 ⁴	4,28	7,67 x 10 ⁴			7,27 x 10 ²	7,45 x 10 ²	2,87	3,75 x 10 ⁴	2,84 x 10 ⁴	4,45
2	2,27 x 10 ⁴			4,78 x 10 ⁴	4,58 x 10 ⁴	4,66	7,62 x 10 ²			1,93 x 10 ⁴		
3	1,06 x 10 ⁴	1,32 x 10 ⁴	4,12	1,27 x 10 ⁴			9,52 x 10 ²	9,52 x 10 ²	2,98	1,45 x 10 ⁴	4,68 x 10 ⁴	4,67
4	1,58 x 10 ⁴			8,18 x 10 ³			9,52 x 10 ²			7,91 x 10 ⁴		
5	1,67 x 10 ⁴	9,91 x 10 ³	4,00	1,60 x 10 ⁴	9,39 x 10 ³	3,97	2,36 x 10 ³	6,73 x 10 ³	3,83	1,56 x 10 ⁴	9,82 x 10 ³	3,99
6	3,09 x 10 ³			4,00 x 10 ³			1,11 x 10 ⁴			4,00 x 10 ³		
7	9,09 x 10 ²	1,00 x 10 ³	3,00	1,58 x 10 ⁴			4,00 x 10 ³	9,09 x 10 ³	3,96	5,27 x 10 ³	2,84 x 10 ³	3,45
8	1,0 x 10 ³			1,40 x 10 ⁴	1,19 x 10 ⁴	4,07	1,42 x 10 ⁴			4,00 x 10 ²		
9	1,20 x 10 ³	2,31 x 10 ³	3,36	5,82 x 10 ³			1,05 x 10 ⁴	2,28 x 10 ⁴	4,36	8,00 x 10 ²	4,00 x 10 ²	2,60
10	3,43 x 10 ³			2,86 x 10 ³			3,51 x 10 ⁴			0,00		
11	1,14 x 10 ³	1,05 x 10 ³	3,02	4,47 x 10 ⁴	1,82 x 10 ⁴	4,26	1,20 x 10 ³	1,93 x 10 ³	3,29	1,00 x 10 ³	1,10 x 10 ³	3,04
12	9,52 x 10 ²			7,09 x 10 ³			2,67 x 10 ³			1,20 x 10 ³		
13	1,35 x 10 ⁴	1,14 x 10 ⁴	4,06	8,00 x 10 ²	2,67 x 10 ³	3,43	9,27 x 10 ³	5,30 x 10 ³	3,72	2,36 x 10 ³	1,85 x 10 ³	3,27
14	9,27 x 10 ³			4,55 x 10 ³			1,33 x 10 ³			1,33 x 10 ³		
15	5,46 x 10 ³	5,64 x 10 ³	3,75	4,91 x 10 ³	4,17 x 10 ³	3,62	1,90 x 10 ³	5,68 x 10 ³	3,75	1,00 +03	9,00 x 10 ²	2,95
16	5,82 x 10 ³			3,43 x 10 ³			9,45 x 10 ³			8,00 x 10 ²		
17	1,16 x 10 ⁴	1,73 x 10 ⁴	4,24	9,52 x 10 ²	5,29 x 10 ³	3,72	2,20 x 10 ³	2,43 x 10 ³	3,39	1,52 x 10 ³	3,76 x 10 ³	3,58
18	2,29 x 10 ⁴			9,64 x 10 ³			2,67 x 10 ³			6,00 x 10 ³		

9.3.6. Einzelwerte der Ergebnisse aus dem Ergebnissteil 4.5.

Ergebnisse der quantitativen Untersuchungen von *Staphylococcus aureus* und *Bacillus subtilis*.

Tabelle 9.21: Analytisch ermittelte aufgetragene Begleitflora nach der Bebrütung (*Salmonella* in niedriger Konzentration, Angaben pro 20 cm²), Temperatur bei 30°C und 15°C

n	30°C / 2h						30°C / 6h						15°C / 2h						15°C / 6h					
	0,1 ml		0,5 ml		1 ml		0,1 ml		0,5 ml		1 ml		0,1 ml		0,5 ml		1 ml		0,1 ml		0,5 ml		1 ml	
	Staph. Bac.																							
1	200	40	80	200	160	h	400	200	40	40	40	400	200	40	40	40	40	40	40	40	40	40	20	
2	h	b	80	600	80	140			40	40	60			40	40	60			40	40	40	80		
3	400	b	40	b		80			40					40								60		
4		b	h	800	200	100			200		60			400		60			280			180		
5		40	h	600	160	h			120	40	40			40	40	20			40			20		
6		40	40	200	h	100	400				20	400				20			120			100		
7		b	b	200	80	80	600		40		120	40		600		40			40			20	40	
8	200	b	b		80	160	400		40	40	160			400		40			80			60		
9		120	20		80	20	200				60			200		60						40		
10		40	20		120	60			80						80							20		
11			100	200	120	60	200		40		80				40				240			60	20	
12		80	40	60	160	100			240	40	40				40				40			80	20	
13	200	b	120		240	100			80		20				80				120				20	
14		200	100	600	h	h			80		40				80				80			60	40	
15		120	80	200	120	h	200		160		40			200		40			80			100	20	
16		120	80	600	h	40	400		h		h			200					120			100	20	
17			40	1600	h	h			40		40			400		40			160			60		
18	200	40	60	200	h	h			160		h				160				h			h		

b: mit Keimen stark bewachsene Platten

h: zu Teil große hämolytische Höfe um viele Kolonien
leere Felder: Kein *Staphylococcus* oder *Bacillus* festgestellt

Fortsetzung der Tab. 9.21, Temperatur bei 10°C

n	10°C / 2h						10°C / 6h						10°C / 12h						10°C / 24h					
	0,1 ml		0,5 ml		1 ml		0,1 ml		0,5 ml		1 ml		0,1 ml		0,5 ml		1 ml		0,1 ml		0,5 ml		1 ml	
	Staph. Bac.																							
1		40			40					40		20	b					b				160		80
2		40		100	40	200			80		20	20	b					b				80		
3		40		20					80		80	20	b					b				80		120
4		40		80					40		80							b		200		80		220
5	200	80	40	20							40		200	200				b		600		160		160
6	200		80	120	140				80	40	60	20					80	b			400		160	80
7	200	40		100	20	200			40	40	20							b				160	40	20
8	600	80		20		200			120		40							40		200		b		b
9		40		60	20						60							80				h		h
10	200	200	120		60				40		60							80	40	1000		b		b
11		120		40					120		40							40				40		80
12		80	40	60					80		b		200					40		2200				
13				40		600			120		h		b					h				h		h
14			b	80					b		b		b					h				h		h
15	200		40	40					b		60		b					h		200		40		40
16			b	b														h		b		h		h
17	200		80	40	40				h		h							h		200		h		h
18			b	40					120		60	20						h		h		h		h

b: mit Keimen stark bewachsene Platten

h: zu Teil große hämolytische Höfe um viele Kolonien
leere Felder: Kein Staphylococcus oder Bacillus festgestellt

Fortsetzung der Tab. 9.2.1, Temperatur bei 7°C

n	7°C / 2h						7°C / 6h						7°C / 12h						7°C / 24h					
	0,1 ml		0,5 ml		1 ml		0,1 ml		0,5 ml		1 ml		0,1 ml		0,5 ml		1 ml		0,1 ml		0,5 ml		1 ml	
	Staph. Bac.	Bac.																						
1			b		b				120		h		200				60							
2			200	40	120	80			80		b					60			200					
3	200	200			20				b		b		200						400					80
4					40				200		b					100							40	
5			b		b				120	40	h					80						40	40	20
6			80		b		200		120		100					80						120	80	20
7					40	60	400		80		120		200			40			400			b		b
8					20						40					40	100					b	40	b
9	200		120		60	20				40	20	20				60						40		20
10	200		120		40				80		60		200									120	40	60
11			120		120				40		b					60						40		100
12			40		80						20					20						40		80
13	b		b		b		b		h		h		200			60	20							
14			h		h		b		h		h					40						40		40
15			b		20				h		h		200			80	40					120		40
16			h	40	h		200		h		h					40	40		400			80		40
17			b		b		200		h		h					40	160					80		100
18			b		b				h		h		200			120	140		400			120		60

b: mit Keimen stark bewachsene Platten

h: zu Teil große hämolytische Höfe um viele Kolonien
leere Felder: Kein Staphylococcus oder Bacillus festgestellt

Tabelle 9.22: Analytisch ermittelte aufgetragene Begleitflora nach der Bebrütung (*Salmonella* in hoher Konzentration, Angaben pro 20 cm²), Temperatur bei 30°C und 15°C

n	30°C / 2h						30°C / 6h						15°C / 2h						15°C / 6h						
	0,1 ml		0,5 ml		1 ml		0,1 ml		0,5 ml		1 ml		0,1 ml		0,5 ml		1 ml		0,1 ml		0,5 ml		1 ml		
	Staph. Bac.																								
1						40	80																		
2			20			b	b	400																	
3			40			20						80													
4						60	40			20	20							20						b	
5						100	40	200				200												40	20
6		200			20	20					20							20							
7	200		40			60	80	400		20	20							20						40	
8			40		40	120	120	200	200	20	20				80										40
9	200	200	80	40	140	40	40	400							80									40	
10			80		b	40	40	200							80			20						40	
11	200				b	120	80	200	200						40						200				
12			40		60	120	280	200				200			40										80
13			b		b	40	80	200			40				40										h
14			40		b	20			200	20	20			40				h		h					h
15						b				20	20			h				h							b
16						40						40		h				h						80	h
17						b	40					80		80				40						h	h
18					20	b	h	200			b	h		40				40						20	60

b: mit Keimen stark bewachsene Platten

h: zu Teil große hämolytische Höfe um viele Kolonien
leere Felder: Kein Staphylococcus oder Bacillus festgestellt

Fortsetzung der Tab. 9.22, Temperatur bei 10°C

n	10°C / 2h						10°C / 6h						10°C / 12h						10°C / 24h					
	0,1 ml		0,5 ml		1 ml		0,1 ml		0,5 ml		1 ml		0,1 ml		0,5 ml		1 ml		0,1 ml		0,5 ml		1 ml	
	Staph. Bac.	Bac. Staph.	Staph. Bac.	Bac. Staph.	Bac. Staph.	Bac. Staph.	Staph. Bac.	Bac. Staph.	Staph. Bac.	Bac. Staph.	Bac. Staph.	Bac. Staph.	Staph. Bac.	Bac. Staph.	Staph. Bac.	Bac. Staph.	Bac. Staph.	Bac. Staph.	Staph. Bac.	Bac. Staph.				
1					20				40	b						40								b
2			40		20				40															
3						20																		20
4										20	40					b							40	
5					20					40														b
6					20																			
7											20													
8										40						40								
9			40										200			40								
10			b		b												200							20
11					40					20														60
12			40		20																			60
13								200		40	80													20
14					20				40	40	20	40				40								b
15						20					20						200							h
16			40		40																			h
17					20	80					20													h
18					20	20	200				b	40												20

b: mit Keimen stark bewachsene Platten

h: zu Teil große hämolytische Höfe um viele Kolonien
leere Felder: Kein Staphylococcus oder Bacillus festgestellt

Fortsetzung der Tab. 9.22, Temperatur bei 7°C

n	7°C / 2h						7°C / 6h						7°C / 12h						7°C / 24h					
	0,1 ml		0,5 ml		1 ml		0,1 ml		0,5 ml		1 ml		0,1 ml		0,5 ml		1 ml		0,1 ml		0,5 ml		1 ml	
	Staph. Bac.	Bac.																						
1			b	b			b		b		b										b		b	
2			b	b	20				b	40	b	20									b		b	20
3					b	40					b				40									
4				b	40	b															b		b	
5		200				b	20				b										b		b	
6							20				b												b	20
7					40		20			40	60					20								
8										b														
9								200																
10					40		20				20													
11							20				b													40
12					40	20		200		40	20	20												
13					40	h		200			20				40									
14					40	h		200			h													
15					80	40					20													
16					h	h					h				40									
17					h	h					40												40	
18	1000	200	h	h	h	h			200	80	80												h	

b: mit Keimen stark bewachsene Platten

h: zu Teil große hämolytische Höfe um viele Kolonien
leere Felder: Kein Staphylococcus oder Bacillus festgestellt

Danksagung

Ich bedanke mich recht herzlich bei Herrn Prof. Dr. Fries für die Überlassung des Themas sowie für die fachliche Betreuung. Seine stets hilfreiche Kritik sowie sein Verständnis und seine Geduld haben in besonderem Maße zur Fertigstellung dieser Arbeit beigetragen.

Ebenso möchte ich Frau Ludewig für die großartige Einarbeitung und hilfreiche Unterstützung während der mikrobiologischen Arbeit und für ihr stets offenes Ohr danken.

Mein herzlicher Dank gilt Frau Dr. Arnd und Frau Tolksdorf, Institut für Biometrie und Informationsverarbeitung, Freie Universität Berlin für die gewährte Unterstützung.

Ich danke Frau Stephanie Meyer, besonders Herrn Robin Großpitsch und meiner Freundin Sabine für die Hilfe bei einigen Übersetzungen der englischen Texte sowie für die Korrekturen in der Grammatik.

Frau Prof. Dr. Beutling danke ich für die großartige Hilfe in der letzten Schreibphase sowie für die Ermunterung.

Freundin Carin Boesett für die "seelische" Unterstützung und die Hilfe in aller Hinsicht während dieser Arbeit.

Freundin Sabine Eicher für das Teamwork während des gesamten Studiums.

Meinen größten Dank möchte ich meinen wunderbaren Eltern und meiner Tochter Jessica aussprechen! Ihre Hilfe und Geduld haben es mir ermöglicht, diese Doktorarbeit anzufangen und zum Ende zu bringen. Danke!

Selbstständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig ohne die unzulässige Hilfe Dritter und nur unter Nutzung der angegebenen Hilfsmittel und Literatur angefertigt habe.

Vera Kyselova

Berlin, im Januar 2009