

Aus dem Institut für Lebensmittelhygiene des Fachbereiches Veterinärmedizin der Freien Universität
Berlin

Impedimetrische Bestimmung von Generationszeiten bei Stämmen lebensmittelhygienisch relevanter Enterobacteriaceaespezies und -genera

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

vorgelegt von Christine Muschkowitz

Tierärztin aus Berlin

Berlin 1997

Journal-Nr. 2113

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. K. Hartung

Erster Gutachter: Priv.-Doz. Dr. Th. Bergann

Zweiter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. K. Fehlhaber

Tag der Promotion: 30.01.1998

[Inhaltsverzeichnis](#)

These pages were created and designed by [Reik H. Börger](#) in October 1997

Inhalt

Springen im
Inhaltsverzeichnis

- [1 Einleitung](#)
- [2 Literatur-
übersicht](#)
- [3 Eigene
Untersuchungen](#)
- [4 Diskussion](#)
- [5 Zusammen-
fassung](#)
- [6 Summary](#)
- [7 Literatur-
verzeichnis](#)
- [8 Anhang](#)
 - [Danksagung](#)
 - [Lebenslauf](#)

webdesigned and layouted by
[Reik H. Börger](#), Oct. 97

Inhaltsverzeichnis

Zum Springen in der Doktorarbeit auf die Kapitel klicken

[1 Einleitung](#)

[2 Literaturübersicht](#)

[2.1 Bedeutung und Bestimmungsmöglichkeiten von Generationszeiten](#)

[2.1.1 Physiologie des Wachstums und der Vermehrung von
Bakterien](#)

[2.1.2 Generationszeit und ihre Bedeutung](#)

[2.1.3 Methoden zur Bestimmung von Keimzahlen bzw.
Generationszeiten](#)

[unter besonderer Berücksichtigung des
Impedanzverfahrens](#)

[2.2 Lebensmittelhygienisch bedeutsame Einflußgrößen](#)

[2.2.1 Temperatur](#)

[2.2.2 pH-Wert](#)

[2.2.3 Kochsalzgehalt](#)

[2.3 Charakterisierung der Familie *Enterobacteriaceae*](#)

[2.3.1 *Enterobacteriaceae* als Lebensmittelvergifter und
-verderber](#)

[2.3.2 Charakterisierung einzelner Gattungen:](#)

[1. Genus *Salmonella*](#)

[2. Genus *Shigella*](#)

[3. Genus *Yersinia*](#)

[4. Genus *Escherichia*](#)

[5. Genus *Klebsiella*](#)

[6. Genus *Enterobacter*](#)

[7. Genus *Citrobacter*](#)

[8. Genus *Proteus / Morganella*](#)

[9. Genus *Serratia*](#)

3 Eigene Untersuchungen

3.1 Material

3.1.1 Versuchsstämme - Herkunft und Charakterisierung

3.1.2 Nährmedien

3.1.3 Geräte

3.2 Methodik

3.2.1 Anzüchtung und Überimpfung

3.2.2 Bestimmung der Generationszeit

3.2.3 Statistische Auswertungsverfahren

3.3 Versuchsreihen

3.4 Ergebnisse

3.4.1 Ergebnisse der Modelluntersuchungen

bei konstanten Temperaturen und unterschiedlichen
pH-Werten

3.4.1.1 Rubrik A - Temperatur 37°C

3.4.1.2 Rubrik B - Temperatur 35°C

3.4.1.3 Rubrik C - Temperatur 30°C

3.4.1.4 Rubrik D - Temperatur 25°C

3.4.1.5 Rubrik E - Temperatur 20°C

3.4.2 Ergebnisse der Modelluntersuchungen,

bei konstanten pH-Werten und unterschiedlichen
Temperaturen

3.4.2.1 Rubrik F - pH-Wert 7,3

3.4.2.2 Rubrik G - pH-Wert 6,5

3.4.2.3 Rubrik H - pH-Wert 6,0

3.4.2.4 Rubrik I - pH-Wert 5,5

3.4.2.5 Rubrik J - pH-Wert 5,0

3.4.3 Zusammenfassende Betrachtung der Untersuchungsergebnisse

4 Diskussion

5 Zusammenfassung

6 Summary

7 Literaturverzeichnis

8 Anhang

8.1 Differenzierung der Versuchsstämme unter Berücksichtigung

der Differenzierungskriterien nach Farmer III (1985)

8.2 Varianzanalyse-Tabellen

8.2.1 Rubrik A (Temperatur 37°C)

8.2.2 Rubrik B (Temperatur 35°C)

8.2.3 Rubrik C (Temperatur 30°C)

8.2.4 Rubrik D (Temperatur 25°C)

8.2.5 Rubrik E (Temperatur 20°C)

8.2.6 Rubrik F (pH-Wert 7,3)

8.2.7 Rubrik G (pH-Wert 6,5)

8.2.8 Rubrik H (pH-Wert 6,0)

8.2.9 Rubrik I (pH-Wert 5,5)

8.2.10 Rubrik J (pH-Wert 5,0)

8.3 Ergebnistabellen

Danksagung - Lebenslauf

These pages were created and designed by [Reik H. Börger](#) in October 1997



1 Einleitung

Mikroorganismen besiedeln nahezu alle Bereiche des Lebensraumes. Sie sind auch in oder auf den meisten Lebensmitteln, erwünscht oder unerwünscht, vorhanden. Seit Jahrzehnten sind sie Gegenstand wissenschaftlicher Untersuchungen, die ihren Aufbau, ihre Eigenschaften, ihr Wachstum, ihre Vermehrung und ihre Inaktivierung betreffen.

Von besonderem Interesse sind Keime, die als Lebensmittelvergifter, Lebensmittelverderber, Indikator- oder Indexkeime eine Rolle spielen.

Lebensmittelvergifter, wie z.B. Bakterien der Gattungen *Salmonella*, *Shigella* oder entero-toxigene *E.-coli*-Stämme, können über den Verzehr von Lebensmitteln vom Menschen aufgenommen werden. Aufgrund ihrer Stoffwechselprodukte oder ihrer Toxine und / oder durch ihre Fähigkeit zu Adhärenz, Penetration oder Invasion an oder in den bzw. durch die Epithelzellen des Darmes sind diese Bakterien in der Lage, der Gesundheit des Betroffenen zu schaden.

Die Gefahr einer solchen toxisch oder infektiös bedingten Erkrankung ist bei Kleinkindern, bei in ihrer Immunabwehr geschwächten und bei älteren Menschen besonders groß.

Lebensmittelverderber, z.B. Keime der Gattungen *Serratia*, *Hafnia* und *Proteus*, führen durch ihre schädigende enzymatische Aktivität zur Qualitätsminderung und zur Beeinträchtigung der Haltbarkeit von Nahrungsmitteln. Lebensmittel, die durch Einwirkung solcher Keime abweichend oder sogar hygienewidrig beschaffen sind, gelten, obwohl sie keine unmittelbare Gefahr für die menschliche Gesundheit darstellen, als nicht zum Verzehr geeignet und dürfen nicht in Verkehr gebracht werden.

Bei der Untersuchung von speziellen, hygienisch bedeutsamen Sachverhalten kann über den Nachweis von **Marker-** oder **Indikatorkeimen** eine Einschätzung des Hygienestatus, beispielsweise fäkaler Kontaminationen, erfolgen. Einige Keime, sogenannte **Indexkeime**, können auf das mögliche Vorhandensein pathogener Bakterien hinweisen, da Indexkeime und pathogene Bakterien ökologisch gleicher Herkunft sind.

Um die gesundheitsgefährdende Wirkung von Keimen beurteilen und den Verderb von Lebensmitteln wirksam einschränken zu können, sind gesicherte Kenntnisse über die **Ökologie** der Keime, ihr Vorkommen in verschiedenen Lebensräumen und die sich daraus ergebenden Kontaminationsquellen für Lebensmittel unabdingbar, hierzu zählen auch genaue Kenntnisse über die Wachstums- und Vermehrungsgeschwindigkeit von Bakterien. Aber erst wenn ausreichend Daten darüber vorliegen, wieviel Zeit eine Bakterienpopulation benötigt, um die Anzahl ihrer Individuen zu verdoppeln, ist eine fundierte Voraussage über die zu erwartende Zahl der Bakterien in einem Produkt möglich.

Kenntnisse zur vorhandenen Kontamination und zum zu erwartenden Keimgehalt und mikrobiellen Status eines Lebensmittels erlauben eine Abschätzung der voraussichtlichen

Haltbarkeit und Qualitätsentwicklung sowie des Risikos für die menschliche Gesundheit.

Die Feststellung der Vermehrungsgeschwindigkeit erfolgt über die **Bestimmung der Generationszeit**.

Obschon seit einiger Zeit Anstrengungen unternommen worden sind, genaue Werte über Generationsintervalle von Bakterien zusammenzutragen, ist das bisher verfügbare Datenmaterial für viele Zwecke unzureichend oder nicht ausreichend verlässlich.

Für die Untersuchungen im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde die **Impedanztechnik** genutzt. Mit ihr steht eine Methode zur Verfügung, die es erlaubt, Generationszeiten von Mikroben mit hoher Genauigkeit und in entsprechendem, für eine statistische Absicherung benötigten Umfang zu bestimmen.

Durch den Einsatz dieses modernen Verfahrens und seiner computergestützten Werteerfassung ist es möglich, Generationszeiten in Abhängigkeit von Milieubedingungen zu bestimmen, die praxisrelevante Bedeutung haben und bei der Einschätzung der mikrobiologisch-hygienischen Qualität eines Lebensmittels berücksichtigt werden sollten.

Die bisher verwendeten **Kulturverfahren** erwiesen sich wegen des hohen experimentellen Aufwandes und der langen Untersuchungsdauer für Aussagen zur Vermehrungsgeschwindigkeit von Bakterien als eher ungeeignet. Daher sind die veröffentlichten Forschungsergebnisse zu den Generationszeiten von Bakterien spärlich und wenig präzise. Ein Vergleich der Daten untereinander wirft durch die Anwendung unterschiedlicher Methoden Probleme auf. Es ist festzustellen, daß in den letzten Jahren ein deutlicher Erkenntniszuwachs durch die Nutzung der Impedanztechnik erbracht werden konnte.

Im Mittelpunkt dieser Arbeit stehen die Generationsintervalle der *Enterobacteriaceae*. Diese Bakterienfamilie besitzt aus lebensmittelhygienischer Sicht eine große Bedeutung.

Salmonellen - eine Gattung der *Enterobacteriaceae* - sind weltweit eine der häufigsten Ursachen von Lebensmittelvergiftungen. Daher haben sie nicht nur in Fachkreisen entsprechende Beachtung gefunden, sondern sind auch - nachdem wiederholt durch sie verursachte Massenerkrankungen auftraten - in den Blickpunkt der Öffentlichkeit gerückt. Andere Vertreter, wie *Shigellen*, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli* oder auch Stämme der Gattungen *Proteus*, *Hafnia* und *Citrobacter*, sind aus lebensmittelhygienischer Sicht ebenfalls von Interesse.

Zur Vervollständigung des Grundlagenwissens über die Generationszeiten und damit die Vermehrungsgeschwindigkeit dieser Keime erscheint die Untersuchung der Generationsintervalle in Abhängigkeit von Inkubationstemperatur und Medien-pH-Wert sinnvoll.

Die Ergebnisse der Modellversuche können einen Beitrag zur Einschätzung der zu erwartenden Keimbelastung, zur Haltbarkeitsvoraussage bzw. Lagerfähigkeit und zur Einschätzung der Infektionsrisiken beim Verzehr von Lebensmitteln sowie zur Erhöhung der Lebensmittelsicherheit leisten.

Die nachfolgend beschriebenen Untersuchungen und ihre Ergebnisse sind somit nicht nur für die Grundlagenforschung von Bedeutung, sondern auch von Interesse in verschiedenen Bereichen der Lebensmittelherstellung und -behandlung, des Handels und der Distribution, letztlich mit dem

Ziel, dem Kunden qualitativ hochwertige und gesundheitlich unbedenkliche Lebensmittel anbieten zu können.



Seitenanfang

webdesigned and layouted by [Reik H. Börger](#), Oct. 97



umblättern

Inhalts-
verzeichniszu Punkt
2.1.2Ende
Literaturübersicht

2 Literaturübersicht

2.1 Bedeutung und Bestimmungsmöglichkeiten von Generationszeiten

Die Generationszeit ist Ausdruck der Vermehrungsgeschwindigkeit der Zellen. Je weniger Zeit Lebensmittelvergifter oder -verderber für einen Generationszyklus benötigen, desto größer ist das Risiko, welches von ihnen ausgehen kann. Zum einen kann die minimale Infektionsdosis (DIM) für eine Lebensmittelvergiftung schneller erreicht werden, zum anderen kann mit zunehmender Keimzahl der Lebensmittelverderber die Qualität des Lebensmittels nachteilig verändert werden. Die Generationszeit von Mikroben, für die in dieser Arbeit "Generationsdauer", "Generationsintervall" bzw. "Zeit, die für einen Generationszyklus benötigt wird" synonym verwendet werden, läßt sich in den Phasen des Zellwachstums und der Zellvermehrung (siehe Seite 5) bestimmen. Bislang wurden dafür Kulturverfahren verwendet, deren Einsatz sich durch den hohen Zeit- und Materialaufwand als nur wenig produktiv erwies. Die Impedanzmeßtechnik hat in den letzten Jahren zunehmende Anwendung auch in der Mikrobiologie gefunden. Sie bietet mit ihrer hohen Effektivität eine gute Grundlage für die Ermittlung der Generationszeiten.

2.1.1 Physiologie des Wachstums und der Vermehrung von Bakterien

Eine Bakterienzelle wächst und vermehrt sich durch zwei elementare Prozesse: Zellwachstum und Zellvermehrung. Unter dem **Bakterienwachstum** läßt sich nach Fritsch (1991) das Wachstum einer Zelle verstehen, die nach der Teilung in zwei, in der Regel gleich große Tochterzellen erst wieder zu der für die Art charakteristischen durchschnittlichen Größe heranwächst.

Zellvermehrung hingegen ist nach FRITZSCH (1991) die Zunahme der Zahl der Individuen einer Bakterienpopulation. Oftmals werden beide Begriffe - Wachstum und Vermehrung - nicht von einander abgegrenzt und beschreiben unter dem Oberbegriff *Bakterienwachstum* die Vermehrung der Bakterien und die damit im Zusammenhang stehenden Erscheinungen. In dieser Arbeit werden beide Vorgänge differenziert betrachtet. Sie wiederholen sich unter konstanten Milieubedingungen in regelmäßiger Weise. Von Hecker und Babel (1988) wird das Gesamtgeschehen als **Zellzyklus** bezeichnet. Dieser beinhaltet alle Prozesse, die zur Duplikation der Bakterienzelle notwendig sind. Da ein Teil des Zellzyklusses bereits in der vorhergehenden Zellgeneration beginnen kann, umfaßt er nicht nur den mikrobiologisch sichtbaren Zellzyklus und wird daher als Teilungszyklus bezeichnet. Nach Schlegel und Zaborosch (1992) können die Größe der Zellen und auch deren stoffliche Zusammensetzung im Verlaufe des Wachstums unterschiedlich sein. Deshalb ist es angezeigt, Zellzahl und Zellmasse gegeneinander abzugrenzen. Die erforderliche Zeit bis zur Verdopplung der Zellmasse wird hierbei als **Verdopplungszeit** (t_d) definiert, die Zeit, in der sich die Anzahl der Zellen verdoppelt als **Generationszeit** (t_g). Unter der Voraussetzung, daß sich Zellzahl und Zellmasse in einem gleich langen Zeitintervall verdoppelt haben, sind Generationszeit und Verdopplungszeit einander gleich. Der reziproke Wert der Generationszeit ist die **Teilungsrate** (v). Die erhaltenen Teilungsraten bzw. Generationszeiten sind Mittelwerte. Da in jeder Bakterienpopulation auch nicht teilungsfähige Zellen entstehen, ist die Teilungsrate in Wirklichkeit

immer etwas größer, als ermittelt wurde, und die Generationszeit immer etwas kürzer. In Tabelle 1 sind die o.g. Begriffe dargestellt, wobei es sich empfiehlt, zur Bestimmung der Parameter von flüssigen Kulturen auszugehen und darin eine homogene Suspension der Mikroorganismen vorauszusetzen. Aus anteiligen Volumina von Mikroorganismenkulturen lassen sich nach Schlegel und Zaborosch (1992) Zellkonzentration (Zahl der Zellen/ml) und Zelldichte (mg Trockensubstanz/ml) getrennt ermitteln.

Tabelle 1: Begriffliche Festlegung von Zellzahl und Zellmasse bei Mikroorganismen (Schlegel und Zaborosch 1992)

	Zellzahl	Zellmasse
Menge pro Volumeneinheit	Zellkonzentration (N) (Zellzahl/ml)	Zelldichte (D) (Trockengewicht in mg/ml)
Verdopplungen pro Zeiteinheit	Teilungsrate (ν) (1/Std.)	Wachstumsrate (μ) (1/Std.)
Zeitumfang der Verdopplungen	Generationszeit (t_g) (Std.)	Verdopplungszeit (t_d) (Std.)

Alberts und Mitarbeiter (1990) gingen davon aus, daß die Vermehrung von Mikroben mathematischen Gesetzmäßigkeiten folgt, und die durchgehend binäre Teilung sofort nach der Verimpfung beginnt. Alle neu entstandenen Bakterienzellen teilen sich wiederum, sobald sie ein bestimmtes Alter erreicht haben. Daraus ergibt sich im Idealfall eine *geometrische Progression* des Musters 1, 2, 4, 8, 16, 32 usw.. Die Erhöhung der Zellzahl folgt somit der geometrischen Reihe $2^0 \rightarrow 2^1 \rightarrow 2^2 \rightarrow 2^3 \dots \rightarrow 2^n$ (Weide u. Aurich 1979). Schlegel stellte in diesem Zusammenhang bereits 1979 fest, daß bei einem Wachstumsbeginn mit N_0 -Zellen sich die Zellzahl (N) nach n Teilungen auf $N = N_0 + 2^n$ erhöht. Nach Logarithmierung der Gleichung erhielt er für die Anzahl der Teilungen (n)

$$n = \frac{\log N - \log N_0}{\log 2}$$

Wird die Zahl der Teilungen auf die Zeit (t in Stunden) bezogen, so ergibt

$$\nu = \frac{n}{t} = \frac{\log N_t - \log N_0}{\log 2 \cdot (t - t_0)}$$

sich für die Teilungsrate (ν) . Die Generationszeit (t_g) ist dann

$$t_g = \frac{t}{n} = \frac{1}{\nu}$$

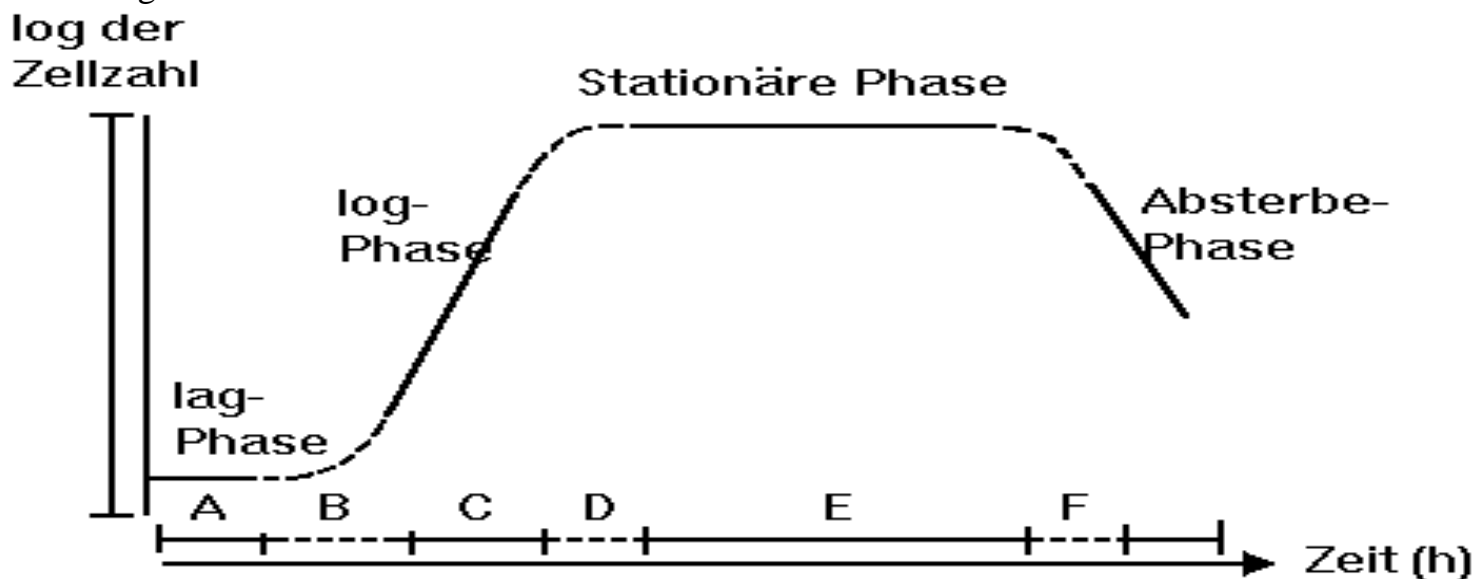
. Vermehrt sich also eine Zellsuspension z.B. in 10 Stunden von 10^3 auf 10^9 Zellen, so

$$\nu = \frac{\log 10^9 - \log 10^3}{0,2010 \cdot 10} = \frac{6}{3} = 2$$

beträgt die Teilungsrate 2 und die Generationszeit 30 Minuten.

Zur Berechnung der Generationszeit wird also immer die Teilungsrate herangezogen, deren reziproker Wert sich als Generationszeit darstellt. Um die Teilungsrate zu ermitteln, ist es notwendig, die Keimzahl (CFU/ml bzw. KbE/ml) einer Bakteriensuspension zu erfassen. Unterschiedliche Methoden der Keimzahlbestimmung werden im Kapitel 2.1.3 aufgezeigt. Bakterien vermehren sich ohne Ablauf sexueller Vorgänge durch einfache Querteilung. Die Generationszeit, die für einen Vermehrungszyklus notwendig ist, kann von Art zu Art stark variieren. Bakterien, die in eine Nährbouillon verimpft werden, durchlaufen, während sie wachsen

und sich vermehren, verschiedene Phasen, die in Form einer Kurve, der sogenannten normalen Wachstumskurve unter optimalen Bedingungen, dargestellt werden können. Grundlage für eine solche Darstellung ist die Bestimmung ihrer Zellzahl zu verschiedenen Zeitpunkten und die Eintragung der Ergebnisse in ein halblogarithmisches Koordinatensystem. Die Zellzahl steht hier wie auch bei der Generationszeitbestimmung im Mittelpunkt (vergleiche Tabelle 1). Die sechs Phasen der **Vermehrungskurve einer Bakterienpopulation** (Abb. 1) werden nachfolgend nach Angaben von Weide und Aurich (1979), Brock und Madigan (1991) sowie Kayser et al. (1993) erläutert. **A) lag-Phase** (Latenzphase, Anpassungsphase) Sie ist charakterisiert durch eine Zunahme der Bakterienmasse pro Volumeneinheit, jedoch nicht durch Zunahme der Zellzahl. Die zum Zeitpunkt Null eingimpfte Zahl von Bakterien bleibt daher trotz günstiger Wachstumsbedingungen über einen gewissen Zeitraum hinweg unverändert. Während dieser Phase paßt sich der Bakterienstoffwechsel an die Bedingungen im Nährmedium an - notwendige Enzyme werden von den Mikroben aus vorhandenen Nährstoffen synthetisiert (Enzyminduktion). In der Vermehrung begriffene Bakterien, die in eine andere Charge des gleichen Kulturmediums verimpft werden, vermehren sich sofort weiter, ohne nochmals eine Latenzphase zu durchlaufen. Während der Latenzphase wachsen die Keime und erreichen mit dem Ende dieser Phase ihre maximale Größe. Die Dauer der Latenzperiode wird nicht allein vom Stoffwechselzustand der Einsaat bestimmt. So kann bei extrem kleinen Inokula das Wachstum einsetzen, sobald durch den Stoffwechsel der Bakterien eine Minimalmenge von CO_2 entstanden ist. CO_2 wirkt als Quasi-Katalysator bei der Fettsäuresynthese mit. Die Dauer der Phase ist in hohem Maße von der Nährbodenzusammensetzung, insbesondere von den assimilierbaren C- bzw. N-Quellen, sowie von der Konstitution (Alter, Adaptationsgrad) der inokulierten Zellen abhängig. In komplexen Kulturmedien können wachstumshemmende Stoffe, z.B. Peroxide, Metallionen, Detergentien oder Fettsäuren vorkommen. Das Mikrowachstum kann hierbei erst beginnen, wenn die im Ruhestoffwechsel befindlichen Einsaatmikroben die o.g. Hemmstoffe inaktiviert haben. Im Fall der Peroxide geschieht dies durch Produktion von stark reduzierenden Substanzen oder von Katalase.



- A = Latenzphase oder lag-Phase
- B = positive Akzeleration
- C = logarithmische Phase oder log-Phase
- D = negative Akzeleration
- E = stationäre Phase
- F = Phase des Absterbens

Abbildung 1: Vermehrungskurve einer Bakterienpopulation (nach Kayser et al. 1993)

B) positive Akzeleration (Beschleunigungsphase, Anfahrphase) In der Beschleunigungsphase beginnt die Vermehrung langsam und steigert sich stetig. Nach und nach beginnen die Bakterien mit der Teilung (positive Akzeleration). Die Zellen werden kleiner. **C) log-Phase** (logarithmische Phase, exponentielle Phase, Phase der vollen Fahrt) In dieser Phase erhöht sich die Zellzahl logarithmisch bis auf ungefähr 10^9 KBE/ml. Die Wachstums- und Vermehrungsgeschwindigkeit hat ihr Maximum erreicht und verändert sich in dieser Phase nicht. Die Geschwindigkeit der bakteriellen Vermehrung wird durch verschiedene Faktoren beeinflusst. Diese werden nachfolgend im Kapitel "2.2 Einflußfaktoren" ausführlich erläutert. **D) negative Akzeleration** (Verlangsamungs- oder Verzögerungsphase, Bremsphase) Es kommt zu einer Verzögerung des Wachstums. Die Wachstumsgeschwindigkeit nimmt ständig ab. Im Ergebnis des mikrobiellen Nährstoffverbrauchs oder der Anhäufung von mikrobiellen Stoffwechselprodukten verringert sich die Anzahl der teilungsfähigen Zellen mehr und mehr (negative Akzeleration). **E) Stationäre Phase** In dieser Phase finden Vermehrungsvorgänge statt, die jedoch durch gleichzeitiges Absterben eine gleichbleibende Individuenzahl ergeben. Somit bleibt die Populationsgröße konstant ("steady state"). Zum wachstums- und vermehrungslimitierenden Faktor wird meist derjenige Wuchsstoff, welcher im Kulturmedium durch die Bakterien zuerst verbraucht wird. Zum Teil werden Wachstum und Vermehrung auch durch die Akkumulation von toxischen Stoffwechselprodukten und/oder nicht abbaubaren Metaboliten im Milieu gehemmt. Hier sind vor allem die bei der Zuckervergärung anfallenden Säuren zu nennen. **F) Phase des Absterbens** Die Absterbevorgänge überwiegen im Vergleich zu den Vermehrungsvorgängen. Die Zahl der lebenden Keime verringert sich ständig. Die Ursache für das Absterben ist weitgehend unbekannt. In dieser Phase kann es u.U. zum versteckten Wachstum kommen, wenn durch Autolyse von abgestorbenen Bakterienzellen das Kulturmedium mit verknüpften Wuchsstoffen wieder angereichert wird.



Seitenanfang

webdesigned and layouted by [Reik H. Börger](#), Oct. 97

umblättern

Anfang
Literaturübersichtzu Punkt
2.1.1Inhalts-
verzeichniszu Punkt
2.1.3Ende
Literaturübersicht

2.1.2 Generationszeit und ihre Bedeutung

Firstenberg-Eden und Klein (1983) definierten als **Generationszeit** (t_g) das für die Verdopplung der Zellzahl erforderliche Zeitintervall. Das ist die Zeit, die eine Zelle benötigt, um sich zu teilen, und die Zeit, die eine Population braucht, um die Zahl ihrer Individuen zu verdoppeln. Mit Hilfe der Generationszeit läßt sich somit die Geschwindigkeit der Zellvermehrung beschreiben. Ausgehend von dem zuvor dargestellten Wachstums- und Vermehrungsverhalten unter optimalen Bedingungen läßt sich feststellen, daß nur während der logarithmischen Phase (C) die Generationszeit (t_g) bestimmt werden kann (Kayser et al. 1993, Ratkowsky et al. 1996), da sie ein Ausdruck für die höchste Teilungsrate in dieser Phase ist. Dabei ist zu beachten, daß die Vermehrungsgeschwindigkeit in der log-Phase von den folgenden drei Hauptfaktoren abhängt:

- Eigenschaften der gezüchteten Bakterien
- Zusammensetzung und Beschaffenheit des Kulturmediums und
- Bebrütungstemperatur.

Für die Ermittlung der Generationszeiten stehen zwei Möglichkeiten zur Verfügung. Erstens läßt sich die Vermehrungsgeschwindigkeit **graphisch** als Steigung (Neigung) der halblogarithmisch gezeichneten Wachstumskurve (Abb. 1, S. 5) darstellen. Dafür ist anhand mehrerer Keimzahlbestimmungen zu unterschiedlichen Zeitpunkten eine Wachstumskurve zu erstellen. So zum Beispiel haben Labbe und Huang (1995) aus dem Abstieg der Regressionslinie während der log-Phase die Generationszeit berechnet. Ein Korrelationskoeffizient wurde dafür für jede Regression direkt kalkuliert. Die obengenannten Autoren nutzten für ihre Berechnungen die "Sigma Plot Version 5.00" in Verbindung mit der "Gompertz-Gleichung". Ausführlich wird diese Gleichung in der Veröffentlichung von Rajkowski und Marmer (1995) erläutert. Zweitens kann die Generationszeit **rechnerisch** durch zwei Zellzahlbestimmungen zu verschiedenen Zeiten und durch Anwendung der im Kapitel 2.1.1 hergeleiteten Formel ermittelt werden. Die von verschiedenen Autoren für die Berechnung der Generationszeit aufgestellten Formeln verwenden zwar unterschiedliche Symbole, doch beruhen sie immer auf der Grundlage, daß die Zunahme der Zellzahl der geometrischen Reihe $2^0 \rightarrow 2^n$ folgt (siehe Seite 4). Die Symbolik der folgenden Formel entstammt den Angaben von Ludewig und Fehlhaber (1996). Sie kann als Grundlage für die

$$GZ = \frac{\log 2 \cdot (T_1 - T_2)}{\log KZ_1 - \log KZ_2} \quad GZ =$$

Berechnung der Generationszeiten genutzt werden.

Generationszeit $\log KZ_1 =$ Logarithmus der zum Zeitpunkt T_1 ermittelten Keimzahl $\log KZ_2 =$ Logarithmus der zum Zeitpunkt T_2 ermittelten Keimzahl Die angegebene Gleichung läßt sich aus der im vorherigen Kapitel hergeleiteten Formel für die Teilungsrate bzw. Generationszeit ableiten. Auch Formeln, die Scheibner (1994) für die Bestimmung der Generationszeit im Rahmen seiner impedimetrischen Untersuchungen nutzte (siehe unten), stehen mit der von Ludewig und Fehlhaber (1996) genutzten Gleichung und der nachfolgend im Kapitel 2.1.3 aufgeführten zweiten Variante der Berechnung durch Firstenberg-Eden und Eden (1984) in Übereinstimmung.

$$G = \frac{t}{n}$$

$$n = \frac{\log b - \log B}{\log 2}$$

G = Generationszeit

n = Anzahl der Teilungen

b = Anzahl der Zellen nach der Zeit t

B = Anfangszellzahl Wie die Bestimmung der zur Berechnung dienenden Größen erfolgen kann und welche Schwierigkeiten dabei auftreten können und beachtet werden müssen, soll im Kapitel 2.1.3 besprochen werden. Zunächst werden Angaben verschiedener Autoren zu **Generationsintervallen**, insbesondere die *Enterobacteriaceae* betreffend, zusammengetragen und erörtert: In der Literatur finden sich vor 1990 nur wenige Angaben über die Generationszeiten von Mikroorganismen, oftmals fehlt zudem eine nähere Beschreibung der Methoden, mit denen sie ermittelt wurden. Die nachfolgenden Beispiele sollen dies verdeutlichen: Müller (1982) gab für die Vermehrung von Prokaryoten (Bakterien) etwa 15 bis 60 min und für einzellige eukaryotische Mikroorganismen, z.B. Hefen, etwa 90 bis 120 min an. Nach PETZOLDT und Kirchhoff (1986) sollen die Generationszeiten bei *E. coli* und einigen anderen *Enterobacteriaceae* weniger als 20 min, bei Mykobakterien etwa 20 Stunden betragen. Schlegel und Zaborosch (1992) gaben an, daß sich *Enterobacteriaceae* alle 15 bis 30 min teilen, bei 37°C etwa alle 20 min. Auch hier wurde auf die Milieubedingungen, denen die Keime unterlagen, und auf die Methode zur Ermittlung ihrer Generationszeit nicht näher eingegangen. Nach Angaben von WILDFÜHR und Wildführ (1982) war bei anderen Bakterien die Generationszeit erheblich länger und betrug bei vielen Bodenbakterien 60 bis 150 min, bei Nitrosomonas und Nitrobacter sogar 5 bis 10 Stunden und bei Mykobakterien 10 bis 15 Stunden. Ausführlichere Angaben machte Ingraham (1958). Er stellte Generationszeiten in Abhängigkeit von der Temperatur, unter ansonsten offensichtlich optimalen Bedingungen für *E. coli* zusammen (Tabelle 2).

Tabelle 2: Generationszeiten von *E. coli* bei 14°C bis 46°C (INGRAHAM 1958)

Temperatur in °C	Generationszeit in min.	Temperatur in °C	Generationszeit in min
46	32	30	33
44	22	26	56
40	21	22	96
38	22	18	260
34	28	14	400

Krämer (1992) verwendete für seine Daten zum Wachstum und zur Vermehrung von *E.coli* in Abhängigkeit von der Temperatur den Terminus "Verdopplungszeit". Die von ihm aufgezeigten Daten enthält Tabelle 3. Angaben zur Bestimmungsmethode wurden nicht gemacht.

Tabelle 3: Temperatureinfluß auf die Verdopplungszeit von *E. coli* (Krämer 1992)

Temperatur in °C	Verdopplungszeit in h	Temperatur in °C	Verdopplungszeit in h
------------------	-----------------------	------------------	-----------------------

-2	kein Wachstum	20	2,83
0	kein Wachstum	25	1,37
5	kein Wachstum	30	0,55
10	20	36	0,35
15	6	44	0,36

FEHLHABER und JANETSCHKE (1992) verwiesen darauf, daß die Generationszeit im Temperaturoptimum z.B. für *E. coli* oder *Salmonella* bei etwa 20 min liegt, für *Clostridium perfringens* bei 8 bis 10 min, für *Bacillus cereus* bei 30 min, für psychrotrophe *Pseudomonaden* bei 35 bis 45 min. Schimmelpilze und Hefen sollen generell eine geringere Vermehrungsgeschwindigkeit als Bakterien haben. Deutlich erkennbar ist der große Toleranzbereich, in dem sich die Zahlenangaben der verschiedenen Autoren bewegen. Bei Berücksichtigung des enormen Material- und Zeitaufwandes, mit dem Untersuchungen zur Vermehrungsgeschwindigkeit bislang verbunden waren, wird die geringe Präzision der Daten verständlich. Trotz größter Sorgfalt und manueller Geschicklichkeit war es technisch nach herkömmlichen Methoden kaum möglich, Teilungsraten bzw. Generationszeiten exakt zu bestimmen. Erst die Nutzung der Impedanztechnik eröffnete die Möglichkeit, Generationszeiten in Abhängigkeit von verschiedenen Einflußfaktoren mit vertretbarem Aufwand und in dem für eine statistische Auswertung nötigen Umfang zu ermitteln. So bestimmte Scheibner (1994) mit Hilfe der Impedanzmessung die Generationszeiten von *Salmonella Enteritidis*. Die mit 20 min kürzesten Zeiten lagen im Temperaturbereich von 37°C bis 42°C bei pH-Werten um den Neutralpunkt. Auch andere Autoren bedienten sich der Impedanzmeßtechnik und lieferten Daten zu Generationszeiten einiger lebensmittelhygienisch bedeutsamer Bakterien. So untersuchten auch Krüger und Fehlhaber (1994) Generationszeiten von *Salmonella Enteritidis*. Ihre Ergebnisse sind in Tabelle 4 dargestellt.

Tabelle 4: Generationszeiten von *Salmonella Enteritidis* bei 7°C bis 42°C (Krüger u. Fehlhaber 1994)

Temperatur in °C	7	9	12	17	22	27	32	37	42
Mittelwert in min	(747)	595	349	129	65	38,1	24,7	20,4	24

Auch Wicke (1995) ermittelte für 4 *Salmonella-Enteritidis*-Stämme Generationszeiten. Sie sind in Tabelle 5 angegeben.

Tabelle 5: Generationszeiten von *Salmonella Enteritidis* bei 17 bis 30°C (WICKE 1995)

Temperatur	<i>Salmonella 1</i>	<i>Salmonella 2</i>	<i>Salmonella 3</i>	<i>Salmonella 4</i>
17 °C	145 min	139 min	145 min	143 min
22 °C	61,7 min	59,7 min	63,7 min	69,8 min
30 °C	30,4 min	29,3 min	32,9 min	29,8 min

Ludewig und Fehlhaber (1996) untersuchten acht *E. coli*-, zehn *Klebsiella pneumoniae*-, sechs *Klebsiella oxytoca*- und sechs *Enterobacter*-Stämme (Medium: Whitley Impedance Broth) hinsichtlich ihrer Generationszeiten im Optimal- und Minimaltemperatur-bereich. Sie gaben für die einzelnen Vertreter die minimalen Vermehrungstemperaturen an (für *E. coli* 8°C, für *Klebsiella pneumoniae* 10°C, für *Klebsiella oxytoca* 4°C und für *Enterobacter* spp. 4°C) und die Generationszeiten zwischen 2°C und 37°C (siehe Tabelle 6).

Tabelle 6: Generationszeitenmittelwerte in min (Ludewig und Fehlhaber 1996)

Spezies	Temperatur in °C									
	37	32	27	22	17	10	8	6	4	2
<i>Escherichia coli</i>	20	26	38	64	144	358	1187	4155	0	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	20	26	38	60	125	563	21586	0		
<i>Klebsiella oxytoca</i>	24	29	36	58	101	232	360	882	3004	0
<i>Enterobacter spp.</i>	20	24	34	52	108	246	952	1633	4025	0

Im Rahmen einer Weiterbildungsveranstaltung zum HACCP-Konzept 1996 in Leipzig wurden weiterführende Untersuchungen zu Generationszeiten von Bakterien von LUDEWIG und NOSTITZ vorgestellt. Angaben zur Art und Anzahl der untersuchten Stämme, sowie zur Stärke ihrer Meßwertestreuung liegen jedoch bislang nicht vor. Zur Anwendung kam ebenfalls das Impedanzmeßverfahren, Rabbit-System (Fa. Mast Diagnostica), wobei zu dessen Einstellung oder Empfindlichkeit sowie zum verwendeten Schwellenwert nichts näheres bekannt ist.



Seitenanfang

webdesigned and layouted by [Reik H. Börger](#), Oct. 97



umblättern



Anfang
Literaturübersicht



zu Punkt
2.1.2



Inhalts-
verzeichnis



zu Punkt
2.2



Ende
Literaturübersicht

2.1.3 Methoden zur Bestimmung von Keimzahlen bzw. Generationszeiten unter besonderer Berücksichtigung des Impedanzverfahrens

Zur Bestimmung der Generationszeit werden die Methoden der **Keimzahlbestimmung**, d.h. der quantitativen Erfassung der Mikroorganismen, genutzt. Ihre Grundlage bilden die **Kulturverfahren** (lat. cultura: Züchtung). Als solche werden unterschiedliche Methoden der Verimpfung und Anzüchtung von Mikroorganismen auf natürlichen und künstlichen Nährböden bezeichnet. Nach Scheibner (1991) kann die Bestimmung der Keimzahl in direkter und indirekter Form erfolgen. Direkte Methoden machen die Zellschubstanz (Bakterien, Bakterienkolonien) sichtbar. Bei indirekten Verfahren werden Zellbestandteile oder Stoffwechselprodukte bestimmt oder metabolische Aktivitäten gemessen, womit auf die Zellzahl geschlossen werden kann (Bülte und Stolle 1989). Zu den Methoden der **direkten Keimzahlbestimmung** zählen u.a.:

Mikroskopische Direktzählmethoden

- Ausstrichverfahren
- Zählkammerverfahren
- Membranfilter- Direktmethode (z.B. Bactoscan-Technik)
- direkte Epifluoreszenz-Filter-Technik
- Kulturverfahren
- KOCHsche Plattenmethode (Gußplattenmethode)
- Oberflächen-Spatelverfahren
- Tropfplattenverfahren
- Spiralplattenmethode
- Membranfiltermethode
- Agarwurstmethode
- Most-probable-number-Methode (MPN-Methode)

Zur **indirekten Keimzählung** lassen sich insbesondere folgende Verfahren rechnen:

- Turbidimetrie (Trübungsmessung)
- Kolorimetrie
- gravimetrische Methode
- Säuremessung
- CO₂-Bestimmung
- Schnelltest mit Redoxindikatoren
- Pyruvatbestimmung
- Radiometrie
- Biolumineszenzverfahren (ATP-Bestimmung)

- Impedanzmessung

Das Problem bei der Anwendung von **Kulturverfahren** zur Generationszeitbestimmung besteht allgemein darin, daß sie zu lange dauern und einen enormen Material- und Arbeitsaufwand erfordern. Arbeitsaufwendige manuelle Tätigkeiten (z.B. Vermischen des Agars und Auszählen der Kolonien) können von Automaten übernommen und mittels fortschrittlicher Technik (z.B. Lasertechnik) erleichtert werden - generell verkürzt sich die Untersuchungszeit jedoch nicht, da die Zeit für das Wachstum der Kolonien und damit bis zur Vorlage der Untersuchungsergebnisse, laut Angaben der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach §35 des Lebensmittel- und Bedarfsgegenständegesetzes (§35 LMBG), mindestens 72 Stunden beträgt. Die bisher beschriebenen Kulturverfahren sind wegen ihres großen Zeit- und Manipulationsaufwandes zur Bestimmung der Generationszeiten in Abhängigkeit von verschiedenen Einflußgrößen kaum nutzbar. Daher ist es bis jetzt trotz aller Anstrengungen nicht gelungen, mit den verschiedenen Kulturverfahren Wachstumsdaten zusammenzutragen, die vollständig und ausreichend verlässlich sind. Eine schnelle innerbetriebliche, mikrobiologische Eigenkontrolle ist mittels Erfassung der Gesamtkeimzahl sowie der *Enterobacteriaceae*zahl mit den traditionellen Methoden nach §35 LMBG sowie mit den DIN- und ISO-Methoden nur eingeschränkt möglich, teilweise sind diese Verfahren für die Praxis auch wenig geeignet. Seit einiger Zeit wird daher nach schnelleren Verfahren gesucht, und vor dem Hintergrund der Forderungen durch die EU (z.B. Hackfleisch-Richtlinie 88/657/EWG vom 14.12.1988) werden zukünftig Schnellverfahren stärker zum Einsatz kommen. Einige solcher Schnellverfahren, die eine Aussage über das Wachstum von Mikroorganismen und den hygienischen Status eines Lebensmittels ermöglichen, haben sich bereits etabliert (Baumgart 1993, Patel 1994), wie z.B.:

- **MMCF-Verfahren** (Membranfilter-Mikrokolonie-Fluoreszenz-Methode)
- **Biolumineszenzverfahren**
- **Trübungsmessung**
- **Impedanzverfahren**

Unter den Schnellverfahren erwies sich das **Impedanzmeßverfahren**, das bislang vorrangig im englischsprachigen Raum als Schnellmethode zur erfolgreichen Einschätzung der mikrobiellen Belastung allgemein empfohlen und angewandt wurde, als besonders effektiv. Es ist *zeit- und materialsparend*, weist aber Defizite hinsichtlich der Spezifität auf (Kompensationsversuch: Einsatz selektiv wirkender Nährmedien). Die Impedanztechnik wurde als teilweise ungeeignet zur Keimzahlbestimmung bei bestimmten Lebensmittel mit sehr heterogener Mikroflora angesehen. Außerdem wird der Aufwand zur Kalibrierung des Systems durch Parallelbestimmung der Gesamtkeimzahl mittels Koloniezählverfahren als extrem hoch beurteilt (Schulenburg 1997). Im Gegensatz dazu kommen bei der Verwendung von Reinkulturen die Vorteile der Impedanztechnik voll zur Geltung. Einzelbestimmungen können innerhalb weniger Stunden abgeschlossen werden, der *Verbrauch an Nährmedien* oder anderem Material ist *minimal* und die erhaltenen *Ergebnisse* besitzen einen *hohen Informationswert*. Als Begründer einer Nutzung der Impedanztechnik für mikrobiologische Belange wird der Engländer Stewart angesehen, der bereits 1899 Veränderungen im elektrischen Feld beschrieb, die sich während des Wachstums von Bakterien in einer Nährlösung vollziehen. Mit Hilfe von zwei Platinelektroden stellte er eine **Änderung der Leitfähigkeit im Medium** fest. Obwohl das Prinzip der Impedanzmessung nun schon seit fast 100 Jahren bekannt ist, rückte dieses Verfahren erst in

jüngster Zeit durch den rasanten Aufschwung der Computertechnik in den Mittelpunkt des Interesses. Ihre erste praktische Anwendung fand die Impedanzmessung zunächst durch Ur und Brown 1975, Wheeler und Goldschmidt 1975 sowie Cady 1975 in der klinischen Mikrobiologie bei der Untersuchung von Blutkulturen und Urin. Im Gegensatz zur optischen Wahrnehmung und Zählung von Mikroben wird in diesem System die beim Wachstum und bei der Vermehrung von Mikroorganismen hervorgerufene Leitfähigkeitsänderung gemessen. Das ist möglich, weil Mikroorganismen bei Wachstum und Vermehrung die in einem flüssigen Kulturmedium enthaltenen hochmolekularen Inhaltstoffe abbauen (Jöckel 1996). Dabei entstehen zunehmend Ionen, wodurch sich die elektrischen Meßgrößen Leitfähigkeit [μS - Mikrosiemens], Widerstand (Impedanz [Ω - Ohm]) und Kapazität [μF - Mikrofarad] ändern (Bülte u. Stolle 1989, Jaksch 1991a,c, Pless u. Reisinger 1995). An zwei Elektroden, die in ein leitfähiges Medium ragen, wird eine Wechselfspannung angelegt. Die Änderungen einer der genannten Meßgrößen im Stromfluß, beispielsweise der Leitfähigkeit, werden gemessen und aufgezeichnet. Wenn die Mikroorganismen in der Probe anfangen zu wachsen, werden große Moleküle (Makro-Moleküle) mit einer schwachen elektrischen Ladung zu kleineren Molekülen (Mikro-Moleküle) mit einer größeren Gesamtladung aufgespalten. Proteine werden zu Aminosäuren, Kohlenhydrate zu Lactaten und Lipide zu Acetaten metabolisiert. Die Mikro-Moleküle sind beweglicher und stellen daher bessere elektrische Leiter dar. Diese Stoffwechselaktivität verursacht einen geringeren Widerstand. Die Leitfähigkeit als reziproker Wert des Widerstandes ($G=1/R$) steigt. Zur Registrierung und Auswertung der Ergebnisse wird ein Computer mit spezifischer Software eingesetzt. Vanne et al. (1996) gaben zu bedenken, daß das zur Verwendung gelangende Nährmedium so gewählt sein muß, daß einerseits ein optimales Wachstum der Mikroben gewährleistet ist und andererseits die ablaufenden Stoffwechselprozesse eine Leitfähigkeitsänderung bewirken. Durch die Aktivität der Mikroorganismen entsteht eine, der sogenannten normalen Wachstumskurve (vergleiche Abb. 1 und Abb. 2) ähnliche Kurve. Je höher der **Anfangskeimgehalt** in der Meßzelle ist, desto eher ist die Feststellung der Leitfähigkeits-änderung möglich. Proben mit einer höheren Keimzahl können demzufolge schneller identifiziert werden als Proben, die eine geringere Keimbelastung aufweisen. Dadurch ist es bei Routineuntersuchungen möglich, stark kontaminierte Rohstoffe oder Lebensmittel, die gesundheitlich bedenklich sind, aus dem Verkehr zu ziehen, bevor die Produktion oder der Verkauf begonnen werden. Die Leitfähigkeit läßt sich als Funktion der Inkubationsdauer in der sogenannten Impedanzkurve darstellen. Die Periode zwischen dem Beginn der Inkubation und der Etablierung der Basislinie wird dabei als **Stabilisierungsphase** bezeichnet. Sie hängt vom Temperaturunterschied zwischen Probe und Inkubator, dem Probenvolumen und den elektrochemischen Eigenschaften von Medium und Elektrode ab. Die **Basislinie** ist der Teil der Kurve, in dem nahezu keine Leitfähigkeitsänderungen stattfinden. Das "aktive" Segment der Kurve ist der **Anstieg** der Leitfähigkeit. Ein Teil dieses Segmentes ist logalinear. Dort, wo die Basislinie endet und der Anstieg beginnt, liegt der **Detektionspunkt** (Schulenburg 1997). Hier wird eine definierte Leitfähigkeitsänderung pro Zeiteinheit überschritten.

Leitfähigkeit (μS)

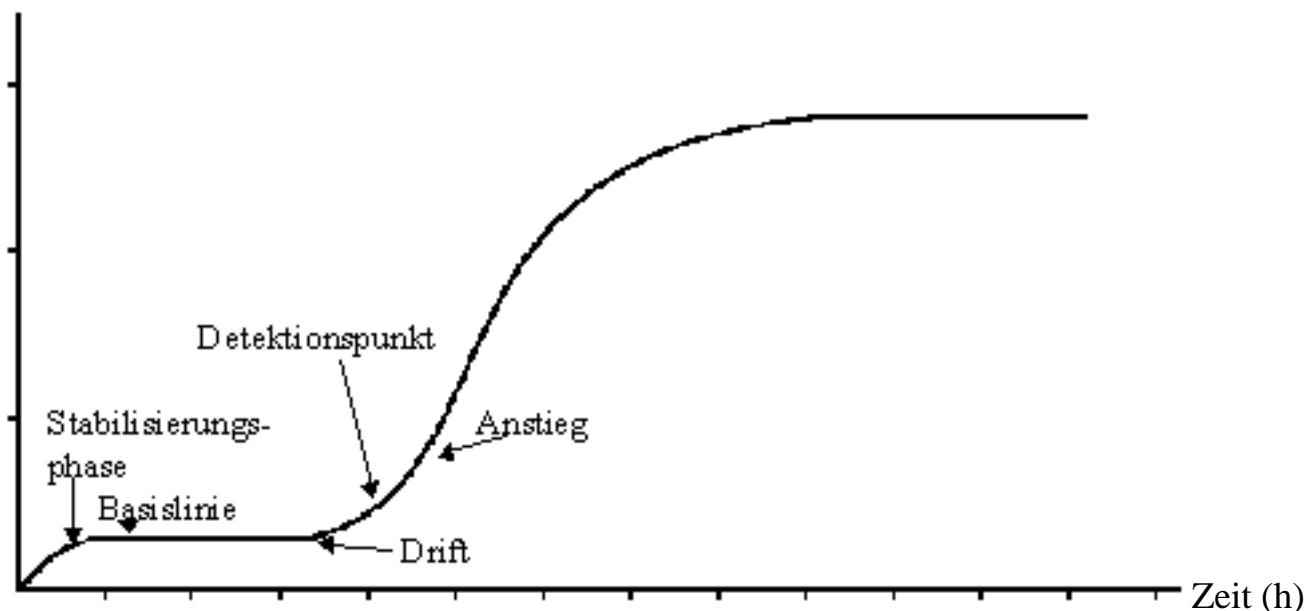


Abbildung 2: Leitfähigkeitskurve einer Bakterienpopulation

Die genaue Keimzahl zum Zeitpunkt der Detektion ist der **Schwellenwert** (Firstenberg-Eden u. Eden 1984). Das Zeitintervall zwischen dem Beginn der Inkubation und dem Eintreten einer meßbaren Leitfähigkeitsänderung wird als **Detektionszeit** (t_d) bezeichnet. Richards et al. (1978) wiesen nach, daß die Änderung der Leitfähigkeit proportional der Änderung der Keimzahl ist. Sie zeigten auch, daß die Detektionszeit mit der Anfangskeimzahl der Probe korreliert. Eine deutliche Änderung der Leitfähigkeit kann nach Erreichen einer Keimzahl von ca. 10^6 Kbe/ml registriert werden (PLESS 1991). Der grundlegende Unterschied zwischen der Impedanztechnik und den Standardmethoden besteht darin, daß die Impedanztechnik auf einer Messung der Stoffwechselaktivität beruht, wogegen die Koloniezählverfahren die Zunahme der sichtbaren Biomasse der Bakterien registrieren. Die Impedanztechnik ist den traditionellen Methoden bei der Keimzahlbestimmung vor allem durch ihre Schnelligkeit in der Aussage überlegen und steht den Standardmethoden in ihrer Genauigkeit kaum nach.

Bei der Impedanz- oder Leitfähigkeitsmessung in flüssigen Medien trägt jeder Mikroorganismus als einzelne Zelle oder als Bestandteil eines Komplexes zur Änderung der Leitfähigkeit bei, zudem wachsen geschädigte Keime besser in flüssigen als auf festen Nährmedien (Bolton 1991, Gibson et al. 1992). Bei quantitativen Untersuchungen ermöglicht die Detektionszeit einen Rückschluß auf die in einem Gramm oder Milliliter einer Probe enthaltene Anzahl von Mikroorganismen, sprich Koloniebildenden Einheiten (JAKSCH 1991b, Silley u. Forsythe 1996). Dazu müssen zunächst bei einer bestimmten Anzahl von Proben zusätzlich zur Impedanz die Koloniezahlen ermittelt werden. Es erfolgt eine **Kalibrierung** des Systems.

FIRSTENBERG-Eden (1985), Jaksch (1991a) und Reinschmidt (1993) schlugen vor, für die Kalibrierung 30 Proben des jeweiligen Produktes bzw. des Untersuchungsmaterials zu entnehmen, die in ihrem Keimgehalt mehrere Log-Stufen abdecken, und diese parallel mit der Impedanztechnik und dem jeweiligen Standardverfahren zu untersuchen.

Nach Vorliegen der Ergebnisse werden die Resultate der Standardkeimzählung und die zugehörigen Detektionszeiten in den Computer eingegeben. Mittels integrierter Software werden dann die Kalibrierungskurve erstellt und der Korrelationskoeffizient sowie die

Standardabweichung berechnet. Auf dieser Grundlage ordnet der Computer bei den folgenden Routineuntersuchungen der ermittelten Detektionszeit die jeweilige Anzahl der Kolonie-bildenden Einheiten (kbE) zu. Um eine statistisch gesicherte Bestätigung zu erhalten, haben Firstenberg-Eden und zindulis (1984) 55 *E.-coli*-Stämme bei 35°C inkubiert. Zur Zeit der Detektion lag die Zahl der Mikroorganismen bei 9×10^6 /ml. Sie wurde, wie auch die Anfangskonzentration, mit Hilfe des Plattenzählverfahrens festgestellt. Die ermittelte Dauer der lag-Phase betrug in der Regel 25 bis 45 min. Abweichungen in der ermittelten Detektionszeit lagen bei von Firstenberg-Eden und EDEN (1984) durchgeführten Untersuchungen durchschnittlich im Bereich von 0,2 h und im Extremfall im Bereich von 0,3 h. Der Korrelationskoeffizient zwischen der Standardmethode und der Impedanzmethode betrug 0,98 und verdeutlicht damit eine hohe Übereinstimmung der beiden Methoden.

Im Kapitel 2.1.2 wurde festgestellt, daß zur Bestimmung der Generationszeit zwei Möglichkeiten zur Verfügung stehen. Nach Firstenberg-Eden und eden (1984) gilt dies auch für die **Bestimmung der Generationszeiten (t_g) mit Hilfe des Impedanzmeßverfahrens.**

1. Zum einen nutzten sie ein Streudiagramm, in dem sie die **Ausgangskeimzahl** (ermittelt mit Hilfe des Plattenzählverfahrens) gegen die **Detektionszeit** auftrugen. Der erhaltene **Abstieg** der Linie wurde in die abgeleitete Formel unter dem Kürzel **B** eingesetzt.

Danach ist: $t_g = \log 2 / B$.

1. Zum anderen stellten sie dar, wie sich die Generationszeit rechnerisch ermitteln läßt, wenn **zwei unterschiedliche Verdünnungsstufen** im Versuchsansatz verwendet und entsprechend ins Verhältnis gesetzt werden.

Danach ist: $t_g = \frac{\Delta IDT \times \log 2}{\log n_1 - \log n_2}$.

ΔIDT beschreibt den Unterschied der Detektionszeit in den zwei Verdünnungsstufen; n_1 stellt hierbei die Verdünnungsstufe 1 dar, n_2 die Verdünnungsstufe 2.

Die Berechnungen von Firstenberg-Eden und EDEN (1984) gründen sich auf den gleichen Ansatz wie die Berechnungen von Scheibner (1994) sowie Ludewig und Fehlhaber (1996) (Kapitel 2.1.2). Allerdings wird in dieser Formel eine den Meßwerten der Impedanztechnik entsprechende Symbolik verwendet.



Seitenanfang

webdesigned and layouted by [Reik H. Börger](#), Oct. 97



umblättern

Anfang
Literaturübersichtzu Punkt
2.1.3Inhalts-
verzeichniszu Punkt
2.2.2Ende
Literaturübersicht

2.2 Lebensmittelhygienisch bedeutsame Einflußgrößen

Überleben, Wachstum und Vermehrung der Mikroorganismen werden durch unterschiedliche Faktoren beeinflußt. Diese lassen sich in drei Gruppen unterteilen (Riemann 1979 und Weide u. Aurich 1979):

1. Eigenschaften der Bakterien (z.B. Enzymausstattung, Zell- und Membranaufbau),
2. Zusammensetzung und Beschaffenheit des sie umgebenden Mediums (Angebot an Nährstoffen, Salzen, Spurenelementen und Wasser sowie spezifischen Wachstumsfaktoren, wie z.B. Vitaminen, Aminosäuren, Purinen u.a.) und
3. Milieufaktoren (z.B. Temperatur, pH-Wert, O₂-Gehalt).

In Lebensmitteln sind vor allem Faktoren der 2. und 3. Gruppe für das Wachstums- und Vermehrungsverhalten der Mikroben von Bedeutung (nach Fehlhaber u. Janetschke 1992):

- Nährstoffgehalt
- Kochsalzgehalt
- Nitrit- / Nitratgehalt
- antimikrobielle Substanzen (z.B. Konservierungsmittel, Rauchbestandteile, bestimmte Gewürze, Eiklarbestandteile, organische Säuren, Lysozymgehalt der Milch)
- mikrobieller Antagonismus und Synergismus, Zusammensetzung und Art der Begleitflora
- Struktur des Lebensmittels
- Temperatur im Herstellungsprozeß, während der Zubereitung und Lagerung
- pH-Wert
- Wasseraktivität (a_w-Wert / "verfügbares" Wasser), Wassergehalt (absoluter)
- osmotischer Druck, Redoxpotential
- Sauerstoffpartialdruck, aerobe, mikroaerophile oder anaerobe Verhältnisse

Sinell (1992) unterschied die Einflußfaktoren in

- Intrinsic factors,
- Process factors,
- Extrinsic factors und
- Implicit parameters,

wobei er unter Intrinsic factors die dem Lebensmittel innewohnenden physikalischen, chemischen und biochemischen Eigenschaften verstand (Inhaltsstoffe, Struktur bzw. Textur des Lebensmittels, Wasseraktivität, pH-Wert und Redoxpotential). Unter Process factors faßte er die lebensmitteltechnologischen Verfahren zusammen, die einen Einfluß auf das Mikromilieu haben. Die Extrinsic factors - Außenfaktoren - bestimmten nach seiner Auffassung die Entwicklung der Lebensmittelflora während der Lagerung (Temperatur, atmosphärische Einflüsse, relative Feuchte, Partialdrücke von Gasen). Der Ausdruck Implicit parameters umfaßte für ihn Interaktionen der Mikroorganismen im Lebensmittel, Konkurrenz um Raum und Nährstoffe untereinander sowie "die

spezifischen Wachstumseigentümlichkeiten der jeweiligen Lebensmittelflora", zu denen er auch die Wachstumsrate zählte. Unabhängig von der Untergliederung und Einteilung der hier aufgeführten Faktoren ist zu beachten, daß diese immer komplex auf die Mikroorganismen im Lebensmittel bzw. Nährsubstrat einwirken, sie in ihrer Vermehrungsgeschwindigkeit hemmen oder fördern. Angaben über das Wachstums- und Vermehrungsverhalten von *Enterobacteriaceae* unter Berücksichtigung verschiedener Einflußfaktoren, wie des **pH-Wertes**, des **NaCl-Gehaltes** und der **Temperatur** sind in der Literatur unvollständig, teilweise widersprüchlich oder unpräzise. Oftmals sind die dargestellten Daten mit Hilfe verschiedener Verfahren ermittelt worden, so daß ein Vergleich nur schwer möglich ist. Im folgenden werden Temperatur, pH-Wert und Kochsalzgehalt als Einflußfaktoren auf Bakterienwachstum und -vermehrung ausführlich besprochen.

2.2.1 Temperatur

Allen Mikroorganismen gemeinsam ist, daß sie sich jeweils nur in einem bestimmten Temperaturbereich vermehren können. Kenntnisse über ihr temperaturabhängiges Verhalten sind in der Praxis bei der Einschätzung der Vermehrungsgeschwindigkeit von Krankheitserregern und Verderbniskeimen von großer Bedeutung. Bei optimaler Temperatur ist die Vermehrungsgeschwindigkeit der Mikroben am größten. Zu hohe oder zu niedrige Temperaturen hemmen Wachstum und Vermehrung. Durch die Erhöhung der Temperatur können Stoffwechselreaktionen in gewissem Rahmen beschleunigt werden. Aus den Gesetzen der Thermodynamik läßt sich ableiten, daß mit steigender Temperatur die Geschwindigkeiten chemischer Reaktionen ansteigen (RGT-Regel) und zwar bei einer Temperaturerhöhung um 10°C auf etwa das Doppelte (BENTLER 1980). Da Stoffwechsel und Wachstum der Mikroorganismen eine Summation bzw. Integration vieler chemischer Abläufe darstellen, ist zu erwarten, daß diese in gleicher Weise durch die **Bebrütungstemperatur** beeinflußt werden. Dies ist allerdings nur bis zu einer "optimalen" Temperatur möglich (Weide u. Aurich 1979). Die Lage dieses Temperaturoptimums kann bei verschiedenen Mikroorganismen unterschiedlich sein. Ursachen dafür sind im einzelnen nicht bekannt. Im Nährmedium bzw. Lebensmittel kommt es bei Erreichen und Überschreiten der maximalen Vermehrungstemperatur der Mikroben zur Stagnation von Wachstum und Vermehrung. Zu hohe Temperaturen können z.B. zur Membranschädigung der Bakterienzelle und / oder zur Inaktivierung der Enzyme führen (Gottschalk 1986). Je nach **Thermoresistenz** überstehen die Bakterien ein bestimmtes Maß weiterer Temperatur-erhöhung; danach kommt es zur Inaktivierung durch Eiweißdenaturierung und Beschädigung der osmotischen Schranke. Angaben über die Thermoresistenz müssen neben der Temperatur stets die Einwirkdauer berücksichtigen (MÜLLER u. Fehlhaber 1995). Erheblichen Einfluß auf den Effekt der **Temperaturerhöhung** haben das Substrat, dessen Wassergehalt, der pH-Wert, die Viskosität, der Zucker- und Salzzusatz sowie der Fett- und Eiweißgehalt (Ayres et al. 1980). In starker Reproduktionstätigkeit befindliche Mikrobenzellen sind hitzeempfindlicher als ältere Zellen gleicher Art. Zu den hitzeempfindlichsten Bakterien zählen die *Enterobacteriaceae* (Bauer und Hörmansdorfer 1995). **Kühlen** und Gefrieren haben einen unterschiedlich starken Einfluß auf das Überleben oder Absterben der Mikroorganismen. Während die Keimzahl im Bereich der Kühltemperatur bei psychrotrophen Mikroorganismen langsam steigt, bleibt sie bei den meisten anderen Keimen über eine bestimmte Zeit relativ konstant. Bei Temperaturen im Gefrierbereich stellen Bakterien ihren Zellstoffwechsel und ihre Zellteilung ein, werden jedoch meist nicht inaktiviert und können so über einen gewissen Zeitraum konserviert werden. Beim Herstellen und Behandeln von Lebensmitteln spielen sowohl die verschiedenen Formen der Erhitzung mit dem Ziel der Keimabtötung als auch das Kühlen und Gefrieren zur Minimierung der Keimvermehrung eine besondere Rolle. Für **Wachstum und Vermehrung der Mikroorganismen** gibt es einen minimalen, einen optimalen und einen maximalen Temperaturbereich. Als **minimal** wurde durch BENTLER

(1980) die Temperatur definiert, bei der Wachstums- und Vermehrungsprozesse noch nachweisbar sind. Als **optimal** bezeichnete er den Temperaturbereich mit der größten Teilungsrate bzw. der kürzesten Generationszeit in der exponentiellen Wachstumsphase. Die optimale Vermehrungstemperatur liegt seiner Auffassung nach gewöhnlich nur einige Grade unter der Maximaltemperatur. Als **maximale** Wachstumstemperatur wird die höchste Temperatur bezeichnet, bei der gerade noch Wachstum und Vermehrung nachgewiesen werden können, unabhängig von der Einwirkzeit der Temperatur (FEY 1978). Je nach Lage dieser Temperaturbereiche für einen Mikroorganismus unterschied SCHEIBNER (1993) psychrotrophe, mesophile und thermophile Mikroorganismen. Die Auffassungen zur Einteilung der Mikroorganismen unter Berücksichtigung ihres Verhaltens in unterschiedlichen Temperaturbereichen differieren stark. In der Literatur wurden und werden beispielsweise die Begriffe, wie psychrotolerant (kältetolerant), psychroauxanisch (in Kälte wachsend), psychrotroph (sich in Kälte ernährend) und psychrophil (kälteliebend) zum Teil synonym verwendet. Bergann und Mitarbeiter (1995) bemängelten, daß die Begriffe zur Charakterisierung des temperaturabhängigen Wachstums- und Vermehrungsverhaltens von Mikroorganismen bislang unzureichend definiert sind oder z.T. mißverständlich benutzt werden. Die Mehrzahl der Mikroorganismen ist mesophil und wächst und vermehrt sich in einem Temperaturbereich von 15 bis 40°C. Jenseits dieser Marken nimmt die Wuchsgeschwindigkeit ab. Bei Temperaturen unter 4°C und über 50°C werden Wachstum und Vermehrung zumeist eingestellt. Bakterien, die sich bei Temperaturen um den Gefrierpunkt (0°C ± 5°C) vermehren können, sind im lebensmittelhygienischen Bereich von besonderem Interesse. Solche Bakterien rechnete SCHEIBNER (1993) zu den **psychrotrophen** Mikroorganismen. Sie besitzen die Fähigkeit, sich bei Temperaturen, die während der Lagerhaltung von Lebensmitteln oder Blutkonserven o.a. vorzugsweise herrschen, zu vermehren. Dies ist nicht gleichbedeutend damit, daß sie hier ihr Temperaturoptimum haben. Daher sollte die von anderen Autoren (z.B. Ingraham 1958, Kunz 1994) für diese Mikroben genutzte Bezeichnung psychrophil "kälteliebend" überdacht werden. Einige Autoren (z.B. Kunz 1994) grenzen die psychrophilen Mikroorganismen von den psychrotrophen (Tab. 7) ab und ordnen ihnen ein Minimum von -8 bis 0°C, ein Optimum von 4°C und ein Maximum von 15 bis 20°C zu.

Tabelle 7: Temperaturspektren für die Vermehrung von Mikroben (nach Fehlhaber und Janetschke 1992)

Keim-Gruppe	Wachstums- und Vermehrungstemperatur in °C		
	Minimum	Optimum	Maximum
<i>Psychotroph</i>	-5 bis 5	20 bis 30	35 bis 40
<i>Mesophil</i>	5 bis 10	30 bis 40	45 bis 47
<i>Thermophil</i>	10 bis 15	40 bis 50	55 bis 65

Nach Definition der International Dairy Federation (IDF) werden als psychrotroph Mikroorganismen bezeichnet, die sich unabhängig von ihrer optimalen Wachstumstemperatur auch bei Temperaturen von 7°C und darunter vermehren können (Meer et al. 1991). Werden Lebensmittel, die mit solchen Mikroben kontaminiert sind, nur schwach gekühlt (zwischen 5 und 10 °C), besteht die Gefahr der allmählichen Anreicherung dieser Keime. Mit sinkender Temperatur allerdings wird die Generationszeit beträchtlich verlängert ebenso wie die lag-Phase (Anlaufphase) des Wachstums. Einige *Enterobacteriaceae* verhalten sich psychrotroph und spielen daher beim Lebensmittelverderb und/oder bei Lebensmittelvergiftungen durch kühlgelagerte Produkte eine große Rolle. Dazu gehören

Stämme der Gattungen *Yersinia*, *Klebsiella*, *Serratia* und *Hafnia*. Bergann und Mitarbeiter (1995) konnten feststellen, daß sich *Y. enterocolitica*-Stämme noch bei Temperaturen unter 0°C, im Extremfall bis zu -5°C, vermehren können. *Yersinien* wachsen bei 37°C Bebrütung etwas langsamer als andere *Enterobacteriaceae*, bei Zimmertemperatur vermehren sie sich im Vergleich aber besser (HEIM et al. 1984). Die Psychrotrophie dieser Keime wird bei der Untersuchung von Mischkulturen auf *Yersinien* durch die Methodik der Kälteanreicherung in phosphat-gepufferter Kochsalzlösung ausgenutzt. Heide (1986) untersuchte das Wachstums- und Vermehrungsverhalten einiger Vertreter der *Enterobacteriaceae* bei unterschiedlichen Temperaturen, pH-Werten und in Abhängigkeit von der Zugabe verschiedener Salze (NaCl, Nitrite). Sie stellte fest, daß von ihr untersuchte Stämme der Gattungen *Hafnia*, *Klebsiella* und *Serratia* noch bei 3°C unter ansonsten optimalen Bedingungen zu Wachstum und Vermehrung fähig waren. Demnach wären auch diese den psychrotrophen Mikroorganismen zuzuordnen. Hechelmann und Mitarbeiter (1974) berichteten, daß *Klebsiellen* bei Temperaturen unter 5°C vermehrungsfähig waren und daher wesentlich zum Verderb von kühlgelagertem Fleisch beitragen. Bei Stämmen der Gattungen *Hafnia*, *Klebsiella* und *Serratia* wurde von Heide (1986) eine Einstellung der Vermehrung bei 45 bis 46°C festgestellt. Der überwiegende Teil der *Enterobacteriaceae*, wie beispielsweise *Salmonella*, *Shigella*, *E.coli*, *Citrobacter* und *Proteus* ist den **mesophilen** Mikroorganismen zuzuordnen. Aus der vorhergehenden Tabelle läßt sich der Wachstums- und Vermehrungsbereich entnehmen, der im allgemeinen zwischen 5 und 47°C liegt. Die zusammengetragenen Angaben konzentrieren sich auf das Wachstums- und Vermehrungsverhalten der Mikroorganismen, weniger auf ihr Überleben oder ihre Abtötung. *Salmonellen* haben unter aeroben und anaeroben Bedingungen ihr Optimum bei 37°C. Gegenüber Hitze sind sie relativ empfindlich. Entgegen den Angaben von Fehlhaber und Janetschke (1992, Tab. 8), die für *Salmonella* eine minimale Vermehrungstemperatur von etwa +6°C und eine maximale von etwa +46°C nennen, gaben Seidel und Kiesewalter (1992) an, daß *Salmonellen* noch bis zu Temperaturen von +60°C bzw. erst oberhalb von +8°C zu Wachstum und Vermehrung fähig sind, besonders hitzeresistente *Salmonellen*, wie z.B. *Salmonella Senftenberg*, sollen erst bei 80°C absterben. *Shigellen* werden meist bei Temperaturen unter 6°C in ihrem Keimwachstum blockiert (Wachs-muth u. Morris 1989). Im allgemeinen kommt es bei 45°C zu keiner Vermehrung mehr (Fehlhaber 1982). Bei *Coli*-Keimen verhindern Temperaturen um 6°C und über bzw. bei 45°C (einige Kulturen über 65°C) eine Vermehrung (OLSVIK et al. 1991). *E. coli* wächst schnell zwischen 30°C und 42°C und hat nach Angaben von doyle und schoeni (1984), die die Generationszeiten von *E. coli* O157:H7 in Tryptose-Soja-Brühe untersuchten, eine Generationszeit von 0,49 Stunden bei 37°C und [kaum vorstellbar] 0,06 Stunden bei 42°C. Johnson et al. (1983) gaben an, daß sich *E. coli* zwischen 44 und 45°C schlecht vermehrt und bei einer Temperatur von 10 °C oder 45,5°C innerhalb von 48 Stunden gar nicht wächst. EL-KHATEIB (1995) beklagte, daß in der Literatur Angaben über das Wachstum von *E. coli* in Konkurrenz zur Normalflora in Fleisch und Fleischprodukten fast völlig fehlten, im Unterschied zu Angaben zum Überleben der Keime. *Citrobacter*-Keime vermehren sich zwischen 5°C und 42°C; ab 47°C sind sie nicht mehr vermehrungsfähig (Heide 1986). Keime des Tribus *Proteus* können bei Temperaturen von 10 bis 44°C wachsen und sich vermehren (FRANK 1992).

Tabelle 8: Vermehrungstemperaturen von Vertretern der *Enterobacteriaceae* (Fehlhaber u. Janetschke 1992 und Nostitz* 1996):

Mikroorganismen	Minimale Temperatur	Maximale Temperatur
<i>Salmonella</i>	6 - 6,5	45 - 46
<i>Shigella sonnei</i>	6	46

<i>Shigella flexneri</i>	7 - 8	44
<i>Yersinia enterocolitica</i>	-2 - 1*	42
<i>Escherichia coli</i>	5	44 - 46
<i>Citrobacter</i>	5	42 - 46
<i>Proteus</i>	5	42 - 46
<i>Hafnia</i>	3	42 - 44
<i>Enterobacter</i>	3 - 5	-
<i>Serratia</i>	3 - 5	40 - 42
<i>Klebsiella</i>	3 - 5	42 - 44

Insgesamt gesehen gibt es zu fast jeder Gattung der *Enterobacteriaceae* in der Literatur Hinweise über die Grenzen von Wachstum und Vermehrung, doch nur wenige Angaben zur Vermehrungsgeschwindigkeit in Abhängigkeit von verschiedenen Einflußfaktoren. Innerhalb der Familie der *Enterobacteriaceae* gibt es keine Vertreter, die sich in die Gruppe der **thermophilen** Mikroorganismen einordnen lassen. Dies zeigt auch Tabelle 8 mit einer Aufstellung der minimalen und maximalen Vermehrungstemperaturen verschiedener *Enterobacteriaceae*. Nur wenige Mikroorganismen überhaupt sind thermophil. Beispiele hierfür wären einige aerobe Sporenbildner, wie *Bacillus stearothermophilus*, anaerobe Sporenbildner (*Clostridium*-Arten), Schwefelbakterien (Yellowstone-Park/USA, Vermehrung noch bei 93°C) und thermophile Pilze, wie z.B. *Thermoascus aurantiacus* (Wachstum noch bei +85°C) (Wallhäüßer 1990). Auf diese soll hier aber nicht weiter eingegangen werden. Die zuvor dargestellte Tabelle 8 enthält Anhaltswerte zur minimalen und maximalen Vermehrungstemperatur von Mikroorganismen aus der Familie der *Enterobacteriaceae*. Da für die Ermittlung minimaler und maximaler Vermehrungstemperaturen die Versuchsbedingungen von großem Einfluß sind, gibt es in der Literatur teilweise unterschiedliche Angaben. Eine Rolle spielen dabei u.a. die Einsaatmenge, Art des Nährmediums oder des Lebensmittels, Bebrütungstemperatur und schließlich Unterschiede zwischen den Stämmen einer Spezies (Fehlhaber u. Janetschke 1992). Meist werden Wachstum und Vermehrung in Abhängigkeit von der Temperatur unter optimalen Bedingungen, die in Lebensmitteln in der Regel nicht vorhanden sind, festgestellt. Bei der Übertragung derart experimentell ermittelter Daten auf Praxisverhältnisse ist zu berücksichtigen, daß viele Mikroben im minimalen Temperaturbereich oft mehrere Tage bis zum deutlichen Anwachsen benötigen. Die Temperatur (Erhitzen, Kühlen, Gefrieren) ist das in der lebensmittelhygienischen Praxis am stärksten genutzte Mittel, um eine Gefährdung durch Mikroorganismen zu minimieren. Der Einfluß der Temperatur auf die Vermehrungsgeschwindigkeit von Bakterien sollte aber immer im Zusammenhang mit anderen Faktoren wie pH-Wert, a_W -Wert, Salzgehalt, Konservierungsstoffen und Substratangebot betrachtet werden.



Seitenanfang

webdesigned and layouted by [Reik H. Börger](#), Oct. 97

umblättern

Anfang
Literaturübersichtzu Punkt
2.2.1Inhalts-
verzeichniszu Punkt
2.2.3Ende
Literaturübersicht

2.2.2 pH-Wert

Der Milieu- oder Medien-pH-Wert gehört zu den für die Vermehrung und Vitalität von Mikroorganismen wichtigen Einflußgrößen. Er gibt Auskunft über die **Konzentration der Wasserstoffionen** in einem Substrat und ist somit Maß für dessen Acidität bzw. Alkalität. Grundsätzlich differenzierte Mengert (1996) den intrazellulären, zytoplasmatischen pH-Wert und den extrazellulären, milieugebundenen. Der **zytoplasmatische** pH-Wert kann in bestimmtem Maße funktionell beeinflusst werden, da Bakterien in der Lage sind, ihren elektrochemischen pH-Gradienten aufrecht zu erhalten. Der Aufbau des pH-Gradienten ist eng mit dem des Membranpotentials verbunden. Durch den Mechanismus der pH-Homöostase vermögen Mikroorganismen ihren intrazellulären pH-Wert nahezu konstant zu halten. Änderungen bezüglich des äußeren, **milieugebundenen** pH-Wertes werden durch Veränderungen des Membranpotentials reguliert, so daß sich der pH-Gradient in Abhängigkeit vom externen pH-Wert ändert, der intrazelluläre aber relativ konstant bleibt. Bedeutsam für die Adaptation sind sowohl die durch die Zytoplasmabestandteile bedingte hohe Pufferkapazität der Zelle als auch der Einfluß der Ionenpermeabilität der zytoplasmatischen Membran. Nach Angaben von Mengert (1996) haben Untersuchungen vielfach gezeigt, daß sich die pH-Optima der azido-, neutro- und alkalophilen Bakterien um bis zu durchschnittlich 4 pH-Einheiten unterscheiden, während die intrazellulären pH-Werte nur um 1 bis 2 Einheiten differieren und vom äußeren pH-Wert in bestimmten Grenzen nicht oder nur geringfügig beeinflusst werden. Jede Änderung der Bedingungen vom Optimum zu extremen Werten stellt einen "Streßzustand" für die Bakterien dar. Dieser Zustand kann sich je nach Ausmaß und Dauer verschiedenartig äußern, wie beispielsweise im Zelltod, in reduziertem Wachstum bzw. verminderter Vermehrung, im Einfluß auf die Enzymaktivität und die Toxinbildung. Der **pH-Wert des Nährmediums** ist somit für das Wachstum und die Vermehrung von Mikroorganismen von entscheidender Bedeutung. Die meisten Mikroorganismen bevorzugen einen neutralen pH-Wert. Zum einen wird der pH-Wert durch die Art und Zusammensetzung des Lebensmittels bzw. Nährmediums vorgegeben, zum anderen kann es durch die Mikroflora bzw. durch deren Stoffwechselaktivität in oder auf einem Lebensmittel zu pH-Wert-Änderungen kommen. Die Bakterienzellen können eine Reihe von Metaboliten bilden und ausscheiden, diese ionisieren und dabei Protonen abgeben. Teilweise tolerieren die Bakterien die dabei entstehenden sauren pH-Werte aber nicht (z.B. *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonaden*) und stellen daraufhin Stoffwechsel und Wachstum ein (FRANK 1992). Corlett und Brown (1980) stellten fest, daß die meisten Enzyme bezüglich ihres Wirkungsspektrums und ihrer -intensität stark pH-abhängig sind. Insbesondere die Bildung von Proteasen und Lipasen ist stark an den pH-Wert gebunden. Zum Teil werden diese in der gleichen Weise vom pH-Wert beeinflusst wie Wachstum und Vermehrung der Bakterien. Teilweise können sie jedoch noch wirken, wenn die Mikroben schon nicht mehr vermehrungs- oder lebensfähig sind. Das pH-Optimum für die Wirkung vieler eiweiß- und fettabbauender mikrobieller Enzyme liegt im neutralen bis schwach basischen Bereich (mengert 1996). Darüber hinaus können durch die originären Enzyme Verderbniserscheinungen an Lebensmitteln hervorgerufen werden, deren Geschwindigkeit und Grad u.a. weitgehend von pH-Bedingungen im Lebensmittel bestimmt werden. All' diese Prozesse sind wesentlich von der

entsprechenden **Pufferkapazität des Lebensmittels** abhängig. Eiweißreiche tierische Lebensmittel verfügen über eine höhere Pufferkapazität als das kohlenhydratreiche Obst und Gemüse. Auch die pH-Werte werden im Sinne der Vermehrung von Mikroorganismen in die Bereiche

- **pH-Minimum,**
- **pH-Optimum** und
- **pH-Maximum**

unterteilt. Die Definition dieser Bereiche erfolgt analog der der Temperaturbereiche. Oftmals schwanken die pH-Bereiche der Mikroorganismen erheblich. Es lassen sich Mikroorganismen mit geringer (pH 5,6 bis 8,1), mittlerer (pH 4,4 bis 9,0; z.B. *E. coli*) und hoher pH-Wert-Toleranz (pH 2,3 bis 8,6) oder Säuretoleranz, wie BRANDIS und OTTE (1984) es bezeichnen, unterscheiden. Die pH-Wert-Abhängigkeit des Wachstums und der Vermehrung von Mikroben wird auch technologisch zur Verhinderung einer Keimanreicherung genutzt (Corlett und Brown 1980). Neben dem pH-Wert spielt bei der **Säuerung** auch die Art der verwendeten Säure eine große Rolle. Wie Weide und Aurich (1979) darstellten, werden die Mikroorganismen nicht nur durch die freien H^+ -Ionen (pH-Wert = $-\log_{10} [H^+]$), sondern auch durch die undissoziierten Säuren gehemmt. Diese undissoziierten Säuren vermögen - im Gegensatz zu den Anionen - die lipidhaltige Membran zu durchdringen und leicht ins Zellinnere der Mikroorganismen zu gelangen. Sie führen dort zu metabolischen und osmotischen Funktionsstörungen (Weide u. AURICH 1979). Besonders leicht können schwach dissoziierte lipophile Säuren (z.B. Essigsäure, Milchsäure) in die Zelle eindringen (HECKER u. BABEL 1988). Ihre Hemmwirkung beruht auf der Ansäuerung des Zellinneren und/oder der Hemmung von Stoffwechselfvorgängen sowie des Transportes von Nährstoffen. Bei gleichem pH-Wert bewirken aufgrund dieser Zusammenhänge schwache organische Säuren eine stärkere Wachstumshemmung als stark dissoziierte Säuren wie die Salzsäure. Allerdings ist im Vergleich zu einer starken Säure zur Einstellung des gleichen pH-Wertes eine größere Menge an schwacher Säure notwendig. Wenig dissoziierte organische Säuren können somit das Mikrobewachstum hemmen, ohne den pH-Wert deutlich zu senken. In Versuchen mit *Salmonella*-Keimen wirkten beispielsweise Essigsäure bereits bei einem pH-Wert von 6,0, Milch- und Salzsäure bei pH-Wert 4,5 bis 5,0 und Schwefelsäure erst bei einem pH-Wert von 4,0 bakterio- statisch (Schwerin 1962). Der produktspezifische und selektiv wirkende pH-Wert eines Lebensmittels kann die Zusammensetzung der normalen Keimflora mitbestimmen. Die meisten Lebensmittel tierischer Herkunft besitzen einen sauren oder schwach sauren pH-Wert (Ausnahme: Eiklar mit pH-Wert 7,8 bis 8,8). Im schwach sauren Bereich vermehren sich bei sonst günstigen Bedingungen noch viele der pathogenen und Verderbnis verursachenden Mikroben, deren Optimum im Neutralbereich liegt.

Tabelle 9: PH-Wert-Spektren für die Vermehrung von *Enterobacteriaceae* (nach Fehlhaber u. Janetschke 1992 unter Nutzung von *-Angaben aus Krämer 1992)

Mikroorganismen	minimaler pH-Wert	maximaler pH-Wert
<i>E coli</i>	4,0-4,6	9,0
<i>Citrobacter</i>	4,2-4,8	-
<i>Hafnia</i>	4,2-4,6	-
<i>Klebsiella</i>	4,2-4,4	-

<i>Proteus</i>	4,0-4,8	-
<i>Proteus vulgaris</i> *	4,4*	9,2*
<i>Serratia</i>	4,0-4,8	-
<i>Salmonella</i> *	4,0-4,5*	8-9,6*
<i>Salmonella typhi</i>	4,5	8,0
<i>Shigella sonnei</i>	4,8	9,3
<i>Shigella flexneri</i>	5,0	9,2
<i>Yersinia enterocolitica</i>	5,0	9,0*

Das pH-Minimum liegt nach Aussage von Spröbzig und Anger (1988) für die meisten Verderbnis verursachenden Bakterien bei pH 4,4 bis 4,5 (viele *Enterobacteriaceae*, *Bacillus*-Arten u.a.). Lebensmittelvergifter, wie *Vibrio parahaemolyticus*, *Bacillus cereus* u.a., sind gegenüber niedrigen pH-Werten empfindlich, so daß sie sich in sauren Produkten, wie z.B. bestimmten Milchprodukten, Marinaden und Aspikwaren nicht anreichern (gemell 1984). In Fleischprodukten beispielsweise, die im Verlaufe der Reifung gut gesäuert sind (pH 5,0 bis 5,5), werden sie bereits deutlich in der Vermehrung gehemmt bzw. bei zugleich niedrigem a_w -Wert völlig unterdrückt. Andere Keime, wie z.B. *Salmonella Typhi* aus der Familie der *Enterobacteriaceae* sind niedrigen pH-Werten gegenüber unempfindlicher. Im Gegensatz zu diesen Bakterien haben z.B. *Lactobacillus*-Arten ihr pH-Optimum zwischen pH 5,5 und 6,0 (Houtsma et al. 1996). Entsprechend tiefer liegen die minimalen Werte. Allgemein gilt: je niedriger der pH-Wert, desto langsamer verlaufen Mikrobewachstum und -vermehrung. Tabelle 9 beinhaltet Angaben zum pH-Wert-abhängigen Wachstumsspektrum für Mikroorganismen. Diese der Literatur entnommenen Werte sind als ungefähre Richtwerte unter sonst optimalen Vermehrungsbedingungen aufzufassen, da vielfach nicht bekannt ist, unter welchen Versuchsbedingungen (z.B. Art der Säure im Medium) sie ermittelt wurden. Bei Einwirkung von pH-Werten, die unter den Minimalwerten liegen, kommt es meist zum Absterben der Keime. Die Abtötung der Mikroben ist aber nicht nur vom Säuregrad, sondern auch vom Vorhandensein bzw. von der Abwesenheit protektiver Substanzen, wie z.B. Zucker, Aminosäuren, Proteine, Stärke abhängig. Zum Einfluß saurer pH-Werte auf *Salmonellen* gab Dräger (1971) an, daß es bei pH-Werten von 3,7 (Essigsäure 0,03%) bei 37°C nach 6 Stunden zur Abtötung kam, aus sauren Fischen (pH-Wert 4,5) konnten *Salmonellen* noch nach 6 Wochen nachgewiesen werden. *E. coli* kann sich im allgemeinen noch bei pH-Werten bis zu 4,3 vermehren (Heide 1986). Untersuchungen von EL-KHATEIB (1995) zeigten, daß die Anzahl lebensfähiger pathogener *E. coli*-Keime in der Regel mit zunehmendem Säuregrad abnahm. Ein pH-Wert von 4,5 übte bei allen von EL-KHATEIB (1995) geprüften Temperaturen einen bakteriziden Einfluß auf *E. coli* aus, gleichgültig, ob das Brät NaCl enthielt oder nicht. Vergleicht man diese Angaben mit den von Heide (1986) dargestellten Ergebnissen, so ist der Unterschied von 0,2 pH-Einheiten in der Bakterizität möglicherweise auf die unterschiedlich gestalteten Milieubedingungen (Heide: Nährbouillon / EL-Khateib: Brät) zurückzuführen. Das Verhalten von *Shigellen* bei unterschiedlichen pH-Werten wurde eingehend untersucht. Grau (1981) gab den optimalen pH-Wert für *Shigellen* mit 7,2 an. Setzt man jedoch einem Nähragar mit einem pH-Wert von 6,6 0,2% Nitrit zu, werden *Shigellen* deutlich gehemmt (Shilo 1979). Untersuchungen von Heim und Mitarbeitern (1984), die das

Verhalten von *Yersinia enterocolitica* gegenüber unterschiedlichen pH-Werten und Kochsalzgehalten in Nährmedien testeten, zeigten folgende Ergebnisse: Ein Wachstumsoptimum war bei pH-Werten zwischen 6 und 8 zu verzeichnen, die Wachstumsgrenze lag bei pH 5. *Citrobacter*-Keime können sich im allgemeinen bei pH-Werten bis 4,2 (untere Grenze) vermehren, gab Heide (1986) an. Die untere Nachweisgrenze der von ihr untersuchten *Hafnia*-Stämme lag bei einem pH-Wert von 4,0. Schwerin (1962) wies eine Resistenz von *Proteus*-Keimen gegenüber pH-Werten von 4,0 bis 4,4 nach. Die aufgeführten Literaturangaben machen deutlich, wie wenig Daten zum Wachstums- und Vermehrungsverhalten vorliegen.



Seitenanfang

webdesigned and layouted by [Reik H. Börger](#), Oct. 97



umblättern

Anfang
Literaturübersichtzu Punkt
2.2.2Inhalts-
verzeichniszu Punkt
2.3Ende
Literaturübersicht

2.2.3 Kochsalzgehalt

Der Kochsalzgehalt übt eine selektive Wirkung auf verschiedene Mikroorganismen aus. Seit langem ist die keimhemmende, konservierende Wirkung höherer Kochsalzkonzentrationen bekannt. Zu hohe NaCl-Gehalte im Medium stören osmotische Vorgänge in den Zellen. Die meisten Erreger von Lebensmittelinfektionen oder -intoxikationen gedeihen gut bei Kochsalzkonzentrationen von 1 bis 2%. Völliges Fehlen von NaCl oder anderen Mineralstoffen hemmt die Vermehrung. Zur Einteilung der Mikroorganismen in bezug auf ihr Wachstumsverhalten unter dem Einfluß verschiedener Kochsalzkonzentrationen gibt es unterschiedliche Auffassungen. So will Wallhäüßer (1990) zwischen

- leicht halophilen Mikroorganismen (2 bis 5% NaCl),
- mäßig halophilen Mikroorganismen (5 bis 20% NaCl) und
- extrem halophilen Mikroorganismen (20 bis 30% NaCl) unterscheiden.

Dagegen propagierte Pichhardt (1993) eine Einteilung von Mikroorganismen in

- schwach Halotolerante (Tolerierung von 2 bis 5% NaCl),
- mäßig Halotolerante (Tolerierung von 5 bis 10% NaCl),
- schwach Halophile (Vermehrung bei 2 bis 10% NaCl) und
- stark Halophile (Vermehrung bei 10 bis 30% NaCl).

Er gab an, daß z.B. die schwach Halophilen eine Kochsalzkonzentration von 2 bis 10% für ihre Vermehrung benötigen. Das würde bedeuten, daß z.B. *Vibrio parahaemolyticus*, welchen Pichhardt (1993) den "schwach Halophilen" zuordnete, nicht in der Lage ist, sich ohne einen NaCl-Gehalt von mindestens 2% zu vermehren. Dies steht im Gegensatz zu Angaben von Seidel u. Kiewewalter (1992), wonach sich *Vibrio parahaemolyticus* bei Kochsalzgehalten von 0,5 bis 3,0 vermehrt. Sinell (1992) unterschied halotolerant und halophil, erläutert die Begriffe aber nicht näher. Für den Lebensmittelbereich sind vor allem die Mikroorganismen problematisch, die sich bei NaCl-Gehalten von 5 bis 20% noch vermehren. Diese Mikroflora ist in Sauerkraut, Pickles, Pökellake, eingesalzene Fischen und Fischmarinaden anzutreffen. Der Kochsalzgehalt steht bei Lebensmitteln in einem engen Zusammenhang mit der **Wasseraktivität a_w** . Durch Kochsalz wird Wasser gebunden, so daß eine Beeinträchtigung des Mikробenwachstums und der Keimvermehrung durch NaCl auch über die Senkung des a_w -Wertes erfolgt. Über die sichere Abtötung verschiedener Spezies durch hohe NaCl-Konzentrationen existieren bislang keine zuverlässigen Angaben. Hohe Kochsalzkonzentrationen im Zusammenwirken mit einer a_w -Senkung können keimkonservierend wirken, so daß bei vielen Keimarten auch nach längerer Persistenz noch mit weitgehender Revitalisierung gerechnet werden kann. Nur in geringem Maße wird die in tierischen Lebensmitteln häufig anzutreffende Verderbnisflora (*Enterobacteriaceae*, gramnegative psychrotrophe Keime, Tabelle 10) durch Kochsalz an der Vermehrung gehindert. Die ziemlich starre Zellwand verhindert das Platzen der Zellen selbst in stark hypotonischen Lösungen (Salzgehalte um 0,1%). Bei Entfernung der Zellwand (z.B. durch Lysozym) kommt es dann allerdings in hypotonischer Lösung meist rasch zur osmotischen Lysis der Protoplasten (Weide u.

AURICH 1979). Kochsalzgehalte, die über dem für die Vermehrungsfähigkeit relevanten Maximalwert liegen, führen bei vielen lebensmittelhygienisch bedeutsamen Mikroben nicht sofort zu deren Abtötung. Die Vermehrung wird gehemmt, ein Absterben erfolgt erst nach längerer Einwirkzeit (Greer und Dilts 1992). Viele Bakterien wachsen in Salzlösungen bis zu 10%. Bei eingesalzenen Fischen (Klippfisch) treten gelegentlich auch "extrem-halophile" Mikroorganismen auf, z.B. rotgefärbte Kokken oder Stäbchen, die jedoch nur bei NaCl-Gehalten von $\geq 20\%$ anwachsen sollen (WALLHÄÜBER 1990).

Tabelle 10: Maximal tolerierte Kochsalzgehalte für die Vermehrung von *Enterobacteriaceae* (Fehlhaber u. Janetschke 1992)

Mikroorganismen	maximal tolerierter NaCl-Gehalt (%)
<i>E. coli</i>	7-8,8
<i>Citrobacter</i>	6,6-8,8
<i>Hafnia</i>	6-7
<i>Klebsiella</i>	7,8-8,8
<i>Proteus</i>	8,0-8,8
<i>Serratia</i>	7,8-8,6
<i>Salmonella</i>	8
<i>Shigella sonnei</i>	5,2
<i>Shigella flexneri</i>	3,8
<i>Yersinia enterocolitica</i>	7-8

Salmonellen besitzen gegenüber hohen Kochsalzkonzentrationen eine große Widerstands-fähigkeit. Sie können daher auch in küstennahem Meerwasser (NaCl-Gehalt bis 8%) nachgewiesen werden (gareis 1995). *E. coli*-Keime können Salzkonzentrationen (NaCl) bis 6 % tolerieren, wobei von Kultur zu Kultur Unterschiede vorhanden sind. EL-KHATEIB (1995) prüfte den Zusatz von 2 bis 3% NaCl auf *E. coli* im Wurstbrät und konnte feststellen, daß die *E. coli*-Zahlen im Vergleich zur Kontrolle signifikant reduziert wurden. Die *E. coli*-Konzentration lag bei den Proben mit 2 bzw. 3% NaCl-Zusatz unmittelbar nach der Beimpfung des Brätes mit der Zellsuspension um log 0,6 bzw. 0,9 niedriger als bei den Kontrollproben (EL-KHATEIB 1995). Es ist hierbei zu berücksichtigen, daß die Säuerung synergistisch wirkt. Bei *Yersinien* wurden Kochsalzgehalte bis zu 6,8% in festen Nährböden und 8% im flüssigen Milieu von den geprüften Stämmen toleriert und führten zu keiner deutlichen Einschränkung des Wachstums (Heim et al. 1984, Delmas u. Vidon 1985).

Citrobacter-Keime vermehren sich noch bei Kochsalzgehalten von maximal 8%. Durch Nitrite in einer Konzentration von 100 mg/l werden sie über eine Zeitdauer von 20 Stunden (Bebrütung bei 37°C), nach Aussage von Heide (1986), in Wachstum und Vermehrung nicht beeinflusst. Es bestehen jedoch Unterschiede zwischen den Spezies dieser Gattung. *Proteus-vulgaris*-Keime werden im allgemeinen durch eine Kochsalzkonzentration von 9% abgetötet (Heide 1986).



Seitenanfang

webdesigned and layouted by [Reik H. Börger](#), Oct. 97



umblättern

Anfang
Literaturübersichtzu Punkt
2.2.3Inhalts-
verzeichniszu Punkt
2.3.2Ende
Literaturübersicht

2.3 Charakterisierung der Familie *Enterobacteriaceae*

Die Familie der *Enterobacteriaceae* umfaßt **gramnegative Stäbchenbakterien** mit einer Länge von 2 bis 4 µm und einem Durchmesser von 0,5 bis 1,5 µm (Holt et al. 1994). Bei ihren Vertretern handelt es sich um ziemlich plumpe, sporenlose, aerob oder fakultativ anaerob wachsende Enterobakterien. Ihr natürlicher Standort ist der Verdauungstrakt, insbesondere der Darmtrakt (Enteron) von Warmblütern. Sie können unbeweglich oder durch eine peritrische Begeißelung beweglich sein (Müller 1982). Auf Grund physiologischer und morphologischer Merkmale, biochemischer Eigenschaften und unterschiedlicher Antigenstrukturen werden sie in Gattungen, Arten und Serovare unterteilt.

Die Einordnung der *Enterobacteriaceae* in die **Bakteriensystematik** wird nicht immer einheitlich vorgenommen. Die nachfolgend vorgenommene Klassifikation (Tab. 11) richtet sich nach Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 9. Auflage (Holt et al. 1994).

Tabelle 11: *Enterobacteriaceae* in der Bakteriensystematik (HOLT et al. 1994)

Reich:	Prokaryonten
Gruppe 5:	Fakultativ anaerobe gramnegative Stäbchen
Untergruppe I:	Familie <i>Enterobacteriaceae</i>

Gattungen:

1	<i>Arsenophonus</i>	16	<i>Moellerella</i>
2	<i>Budvicia</i>	17	<i>Morganella</i>
3	<i>Buttiauxella</i>	18	<i>Obesumbacterium</i>
4	<i>Cedecea</i>	19	<i>Pantoea</i>
5	<i>Citrobacter</i>	20	<i>Pragia</i>
6	<i>Edwardsiella</i>	21	<i>Proteus</i>
7	<i>Enterobacter</i>	22	<i>Providencia</i>
8	<i>Erwinia</i>	23	<i>Rahnella</i>
9	<i>Escherichia</i>	24	<i>Salmonella</i>
10	<i>Ewingella</i>	25	<i>Serratia</i>
11	<i>Hafnia</i>	26	<i>Shigella</i>
12	<i>Klebsiella</i>	27	<i>Tatumella</i>
13	<i>Kluyvera</i>	28	<i>Xenorhabdus</i>
14	<i>Leclercia</i>	29	<i>Yersinia</i>
15	<i>Leminorella</i>	30	<i>Yorkenella</i>

Die Differenzierung der *Enterobacteriaceae* erfolgt schon über Jahrzehnte hinweg mit Hilfe der "Bunten Reihe", die zur Überprüfung biochemischer Leistungen dient. Dabei werden z.B. Zuckerspaltungsvermögen, Indolbildung, H₂S-Bildung oder Harnstoffspaltung der Keime geprüft. *Enterobacteriaceae* bauen Glucose oder andere Kohlenhydrate unter Säurebildung fermentativ ab. Sie sind cytochromoxidasenegativ, meist katalasepositiv und reduzieren mit Ausnahme von einigen *Erwinia*-Stämmen Nitrat zu Nitrit (Lindner 1986). Neben den biochemischen Reaktionen spielen auch Beweglichkeit oder Wachstum in KCN bei der Eingruppierung und Zuordnung eine Rolle.

Die Bestimmung der zahlreichen Körper- (O), Geißel-(H) und Kapsel- (Vi- und K-) Antigene der Bakterien mit Hilfe spezifischer Seren im Agglutinationstest ermöglicht eine weitgehende Identifizierung. Eine weitere Feindifferenzierung ist bei einzelnen Bakterienstämmen durch Typisierphagen und Colicine möglich. Diese dient vor allen Dingen der epidemiologischen Aufklärung (Holländer 1981).

An Nährböden stellen *Enterobacteriaceae* meist keine besonderen Ansprüche, daher sind zahlreiche Nährböden für ihre Isolierung geeignet. Verschiedene Stämme einer Keimart reagieren unterschiedlich empfindlich auf Nährbodenzusätze. Deshalb ist es vorteilhaft, Nährböden unterschiedlicher Selektivitätsstufen kombiniert anzuwenden (DGHM 1983).

2.3.1 *Enterobacteriaceae* als Lebensmittelvergifter und -verderber

Auf Grund ihrer oft erstaunlichen Anpassungsfähigkeit, der hohen Variabilität ihrer Eigenschaften und der im Vergleich zu höherentwickelten Lebewesen erheblichen Vermehrungsfrequenz kommen Mikroben in der Umwelt regelmäßig und nicht selten in großer Konzentration vor. Dies ist auch die Ursache dafür, daß Mikroorganismen normaler Bestandteil der meisten Lebensmittel sind. Mikroorganismen, deren Stoffwechsellleistungen in der Lebensmitteltechnologie genutzt werden können, um Geschmack, Konsistenz o. ä. positiv zu beeinflussen, sind im Lebensmittel erwünscht. Keime, die Lebensmittelvergiftungen auslösen können oder die zum Verderb von Lebensmitteln führen, sind unerwünscht und für die **Lebensmittelhygiene** von größter Bedeutung.

Vertreter der *Enterobacteriaceae* lassen sich in jedem Fall der unerwünschten Mikroflora zuordnen. Mitunter sind die Gattungen dieser Familie aber nicht nur den pathogenen Keimen oder der Verderbnisflora zugehörig, sondern können in beiderlei Hinsicht wirken.

Folgende Gattungen aus der Familie der *Enterobacteriaceae* sind nach Kunz (1994) **lebensmittelhygienisch bedeutsam:**

- *Escherichia*
- *Shigella*
- *Salmonella*
- *Klebsiella*
- *Enterobacter*
- *Serratia*
- *Proteus / Morganella*
- *Hafnia*
- *Citrobacter*
- *Yersinia*

Je stärker zum Verzehr bestimmte Lebensmittel mit pathogenen und/oder fakultativ pathogenen Keimen kontaminiert sind, desto größer ist die gesundheitliche Gefahr, die von ihnen ausgeht. Teilweise stellt bereits eine geringe Erregerzahl, mit denen ein Lebensmittel kontaminiert ist, ein Risiko dar (z.B. *Shigella*-Keime, enterohämorrhagische *E.coli*), oftmals muß dem jedoch eine

Keimvermehrung nachfolgen. Der größte Teil der lebensmittel-hygienischen Maßnahmen ist darauf gerichtet, diese Keimvermehrung wenigstens zeitweise zu unterdrücken oder in bestimmten Grenzen zu halten, da bei vielen Lebensmitteln der sicherste Weg, nämlich die Keimabtötung, aus Gründen der Erhaltung der gewünschten Produkteigenschaften nicht gegangen werden kann.

Für das Auftreten von Krankheitserscheinungen ist nicht allein die Aufnahme der Lebensmittelinfektions- und -intoxikationserreger maßgebend.

Nach Auffassung von BERGANN (1994 b) müssen bei der Einschätzung der Pathogenese von Lebensmittelinfektionen und -intoxikationen weiterhin

- der Gesundheitszustand der betroffenen Person,
- die Art des Verzehrs (Füllungszustand des Magens)
- die Art, Beschaffenheit und Zusammensetzung des Nahrungsmittels,
- die aufgenommenen Zellzahl des Infektionserregers und
- die Ausprägung der Virulenzfaktoren (z.B. adhäsive Oberflächenstrukturen, Bildung mikrobieller Toxine) berücksichtigt werden.

Die zur Zeit bekannten Angaben zur Zellzahl, die im Lebensmittel vorhanden sein muß, um Krankheitserscheinungen zu verursachen (Dosis infectiosa minima - DIM), hält er bei verschiedenen Erregern für unzureichend.

Die Familie der Enterobacteriaceae umfaßt pathogene und apathogene Arten, die auch außerhalb des Enterons von Tier und Mensch angetroffen werden können. Einige Vertreter dienen als Markerorganismen, wenn es darum geht, mikrobielle Verunreinigungen von Lebensmitteln aufzudecken und zu beurteilen. Diese Markerorganismen sind entweder Index-Organismen, die eine potentielle Gesundheitsgefährdung anzeigen, oder Indikator-Organismen, die für eine unzureichende Verarbeitungs-, Betriebs- oder Distributions-Hygiene sprechen (Schmidt-Lorenz u. Spillmann 1988). Beispielsweise können sie bei thermisch behandelten Lebensmitteln eine unzureichende Temperatur, Erhitzungsdauer oder eine Rekontamination anzeigen.

Nach Auffassung von Baumgart (1993) ist bei Lebensmitteln *E.coli* der geeignetste Markerorganismus für eine potentielle Gesundheitsgefährdung. Bei einer Einschätzung des Gesundheitsrisikos ist jedoch der Pathogenität, die auch von *E. coli* selbst ausgehen kann (z.B. EHEC), Rechnung zu tragen. Auch wenn *E. coli* nicht nachgewiesen wird, kann die Anwesenheit von pathogenen Keimen aus der Familie der *Enterobacteriaceae* nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden.

Eine optimale Gestaltung der Erfordernisse hinsichtlich der Verhinderung mikrobieller Kontamination und Anreicherung im Verlaufe der Herstellung, der Behandlung und des Inverkehrbringens von Lebensmitteln basiert auf Kenntnissen über das Wachstums- und Vermehrungsverhalten der Mikroorganismen. Dazu werden Daten zu den Generationszeiten und zur Dauer der lag-Phase benötigt, denn vielfach geht es darum, die Generationszeit zu verlängern und die Verzögerungsphase des Keimwachstums möglichst auszudehnen, um Lebensmittelvergiftungen und Lebensmittelverderb zu verhindern.

In der Literatur lassen sich vielfältige Erläuterungen und Definitionen des Begriffes **Lebensmittelvergiftung** finden. Sinnvoll ist aus **lebensmittelmikrobiologischer Sicht** die

Verwendung des Begriffes Lebensmittelvergiftung als Oberbegriff für Lebensmittel**infektionen** und Lebensmittel**intoxikationen** (bzw. Toxininfektionen).

Unter den Lebensmittelvergiftungen insgesamt stehen hinsichtlich der Häufigkeit die bakteriell verursachten nach Meinung von GeriGk und teufel (1990) mit Abstand an erster Stelle. Oft sind es akute, nach dem Verzehr von Lebensmitteln auftretende Erkrankungen des Menschen, die von Bakterien, ihren Toxinen oder durch bakteriell gebildete Abbauprodukte von Lebensmittelbestandteilen verursacht werden. In diesem Zusammenhang muß darauf verwiesen werden, daß manche Toxine gegenüber den zur Haltbarmachung eines Lebensmittels angewendeten Methoden resistent sind. Damit verbleibt das Toxin auch nach einer Hitzebehandlung in aktiver Form im Lebensmittel und kann zu Erkrankungen führen, obwohl keine lebenden Mikroorganismen aufgenommen wurden.

Zu den **Pathogenitätsfaktoren** (Virulenzfaktoren), mit denen diese Bakterien ausgestattet sein können, zählen Nöldner (1991) und HEESCHEN (1994):

- die Adhärenz (die Fähigkeit der Keime zu haften, z.B. im Gastrointestinaltrakt), möglich durch die Ausbildung adhäsiver Zelloberflächenstrukturen (Adhäsine oder Kolonisations-faktoren), wie z.B. Fimbrien oder bestimmte Membranproteine,
- die Freisetzung toxischer Substanzen, wie z.B. hitzelabile und / oder hitzestabile Endotoxine (Lipopolysaccharide) und Exotoxine (Proteine, z.B. Zyto-, Neurotoxine),
- die Fähigkeit zu Penetration / Invasion (Eindringen in die Darmmukosa und in benachbarte Zellen).

Die kurze Inkubationszeit ist oft charakteristisch für eine Lebensmittelvergiftung. Sie kann, in Abhängigkeit vor allem von der Bakterienspezies, wenige Minuten bis einige Tage betragen (Sinell 1992). Bei Aufnahme bereits im Lebensmittel gebildeter Toxine ist die Inkubationszeit in der Regel kurz. Der Verlauf der Erkrankung kann sehr verschieden sein. Erbrechen, Durchfall und Leibschmerzen stehen nach Angaben von Ernst (1982), Franco et al. (1987) und GILBERT (1987) bei den meisten Lebensmittelvergiftungen im Vordergrund (Tab. 12).

Auch in den entwickelten Industrieländern treten Lebensmittelvergiftungen relativ häufig auf. Sie können als Einzel- oder Gruppenerkrankungen auftreten. Häufig vorkommende Erreger bakterieller Lebensmittelvergiftungen sind sogenannte Enteritis-*Salmonellen* und Enterotoxin-bildende Stämme von *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter*, *Clostridien* und *Bacillus cereus* (Kunz 1994).

Angaben der Weltgesundheitsorganisation weisen Durchfallerkrankungen weltweit als außerordentliches Gesundheitsproblem aus. Viele durch Lebensmittel hervorgerufene Erkrankungen gelangen wegen ihres leichten Verlaufes oder ihres begrenzten Umfanges nicht zur Meldung. Nach Schätzungen werden nur 1 bis 5% der tatsächlichen Fälle gemeldet. Die daraus abzuleitende hohe Dunkelziffer und die noch nicht ausreichend erforschte Ätiologie führen dazu, daß ein großer Teil der Erkrankungen ungeklärt bleibt.

Die Infektketten gehen häufig von Schlachttieren aus, deren Fleisch intravital oder postmortal durch Bakterien kontaminiert wurde. Auch andere Nahrungsmittel, wie vor allem Milch und deren Produkte, Salate, Eier bzw. Eiprodukte, Speiseeis, Obst, Trinkwasser, Fische und Meeresfrüchte, können kontaminiert sein (Linton u. Hinton 1988).

Von besonderer epidemiologischer Bedeutung sind solche Lebensmittelvergiftungen, bei denen die Erreger von erkrankten Menschen durch Schmutz- und Schmierinfektionen via Lebensmittel auf weitere Personen übertragen werden können (z.B. Salmonellose, Shigellose). Es besteht hierbei die Möglichkeit, daß nach einer Infektion die betroffene Person klinisch gesund erscheint und trotzdem weiter Krankheitserreger beherbergt, die kontinuierlich oder zeitweise ausgeschieden werden können.

Auch wenn das Vorhandensein der infrage kommenden Bakterien die unabdingbare Voraussetzung für das Zustandekommen von Lebensmittelinfektionen ist, so wirkt als auslösendes Moment fast immer die massive Vermehrung (Anreicherung) der Erreger im Lebensmittel. Sie geht oft auf unsachgemäße Behandlung während des Transportes, der Lagerung und der Zubereitung (küchentechnische Fehler) zurück.

Eine verallgemeinerungsfähige Aussage über die Rangfolge der Bedeutung verschiedener Bakteriengattungen bzw. -arten als Ursache von Lebensmittelvergiftungen ist bislang kaum zu treffen. Nach dem gegenwärtigen Wissensstand dürften jedoch *Salmonellen* mit Sicherheit die häufigste Ursache von Lebensmittelvergiftungen sein.

So weist das Statistische Jahrbuch (StBA) 1996 für Deutschland 60% der Enteritis-infektiosa-Erkrankungen 1995 als Salmonellosen aus.

Begünstigend für das Auftreten einer Infektion wirken sich immer Fehlernährung und mangelhafte Hygiene aus. Oftmals sind Kinder, ältere, hospitalisierte oder anderweitig in ihrer Immunabwehr geschwächte (z.B. AIDS-Kranke) Menschen für derartige Erkrankungen prädestiniert.

Tabelle 12: Wichtigste bakterielle Lebensmittelvergifter aus der Gruppe der *Enterobacteriaceae* (nach Kunz 1994 und Wallhäüßer 1990)

Gattung	häufigste Spezies	Erkrankungen	Symptome
<i>Salmonella</i>	<i>S. Enteritidis</i>	Salmonellose	Fieber, Leibschmerzen,
	<i>S. Typhimurium</i>	Gastroenteritis	Durchfall, Schwäche, Septikämie
	<i>S. Arizonae</i>		
	<i>S. Typhi</i>	Typhus	
	<i>S. Paratyphi</i>	Paratyphus	
<i>Shigella</i>	<i>S. boydii</i>	Dysenterie (Shigellose oder Bakterienruhr)	Durchfälle mit Fieber, heftigen Leibschmerzen, Herz- und Kreislaufkollaps
	<i>S. dysenteriae</i>		
	<i>S. flexneri</i>		
	<i>S. sonnei</i>		
<i>Klebsiella</i>	<i>K. pneumoniae</i>	Pneumonie	
<i>Proteus</i>	<i>P. vulgaris</i>	teils Darminfektionen, Harnwegsinfektionen	
	<i>P. mirabilis</i>		
	<i>M. morgani</i>		
	<i>Pv. rettigari</i>		
<i>Citrobacter</i>	<i>C. freundii</i>	gastroenteritische Erkrankungen	akute Brechdurchfälle

<i>Escherichia</i>	<i>E. coli</i>	Gastroenteritis, Pyelitis, Peritonitis, Appendizitis, Zystitis	Leibschmerzen, Durchfälle, Erbrechen, Fieber
<i>Yersinia</i>	<i>Y. enterocolitica</i>	Gastroenteritis	Leibschmerzen, Durchfälle, Erbrechen, Fieber

Roh verzehrte Lebensmittel tierischer Herkunft beinhalten allgemein ein höheres Risiko für den Verbraucher als thermisch behandelte. Oftmals verändern Bakterien unabhängig von ihrer Anzahl die sensorisch wahrnehmbaren Eigenschaften der Lebensmittel nicht, z.B. bilden *Salmonellen* keine exogenen Proteasen und Lipasen (Gareis 1995).

Bentler (1992) begründete das Problem der bakteriellen Erkrankungen vor allem mit der flächenhaften Ausbreitung der Keime durch die industrialisierte Tierhaltung und -mast. Bauer u. Hörmansdorfer (1995) halten die völlige Eliminierung z.B. der *Salmonellen* aus Tierbeständen, den sonstigen Keimträgern und der Umwelt für nicht erreichbar und legen daher den Schwerpunkt der Prophylaxe von *Salmonella*-Lebensmittelvergiftungen auf Maßnahmen zur Verhinderung der Keimanreicherung und der wirksamen Keimabtötung. Grossklaus (1991) hingegen favorisiert die Schaffung zoonoseerregerfreier Schlachttiere, wofür die Schaffung infektionserregerfreier Nutztierbestände notwendig sei, welche durch vorgeschaltete Bestandsuntersuchungen gesichert werden könne.

Die vielfältigen und zum Teil kontrovers diskutierten Auffassungen über zoonoseerregerfreie Tierbestände wurden von Bergann (1994 a) hinsichtlich der Grenzen und Entwicklungen der Schlachttier- und Fleischuntersuchung ausführlich dargestellt.

Neben Lebensmittelinfektionen und -intoxikationen ist auch der **Lebensmittelverderb** von Bedeutung. Verdorben sind Lebensmittel, wenn sie infolge natürlicher oder willkürlicher Einflüsse nachteilige Veränderungen aufweisen, die eine Verwendbarkeit für den menschlichen Genuß ausschließen oder bedeutend einschränken (Scheibner 1991). Die Veränderungen müssen erheblich sein und betreffen insbesondere Aussehen, Konsistenz, Geruch und Geschmack des Lebensmittels.

Tabelle 13: Verderbniskeime aus der Familie der *Enterobacteriaceae* (nach Wallhäüßer 1990)

Mikroorganismus	Vorkommen	Bemerkungen
<i>Enterobacter</i> spp., <i>E. aerogenes</i> , <i>E. cloacae</i> u.a.	in Lebensmitteln als fäkale Verunreinigung	Pectinolyse der Kaffeekirsche
<i>Erwinia herbicola</i>	Ananaskonserven	Braunfärbung
<i>Serratia marcescens</i>	Lebensmittel, frische Creme-Desserts, Frankfurter Würstchen (in Dosen), Weißbrot (Schnittbrot)	
<i>Hafnia</i> spp.	Lebensmittel, Gurken, Pickles, Fertigsalate	Gasbildung, Fäkalgeruch
<i>Proteus</i> spp.	Lebensmittel (Flüssigei)	Fäulnis
<i>Providencia</i> spp.	gepökelte Fleischprodukte	Verfärbung im Knochenbereich

Nach Scheibner (1991) wird vornehmlich durch die Wirkung von Mikroorganismen und

Eigenenzymen sowie durch Einwirkung von Licht, Luft oder bestimmten schädigenden Temperaturen ein Verderben der Lebensmittel verursacht (Tabelle 13).

Nicht immer ist der Zustand des mikrobiellen Verdorbenseins augenfällig. Veränderungen an Lebensmitteln können auch durch die bloße Anwesenheit einer großen Zahl von Mikroorganismen zustande kommen.

Ein Beispiel hierfür aus der Familie der *Enterobacteriaceae* gibt *Serratia marcescens*. Hier treten als Folge der Farbstoffbildung dieser Keime rote Verfärbungen auf, z.B. bei Rotfäule der Eier oder auf feuchtem Brot.

Beim mikrobiellen Verderb spielen Heeschen (1994) zufolge neben den Verfärbungen die Bildung sichtbarer Kolonien, klebrige, schmierige Oberflächen, die Trübung klarer Flüssigkeiten und der Eigengeruch bestimmter Mikroorganismen eine Rolle. Ob Veränderungen bemerkt werden können, hängt entscheidend von den extrazellulär produzierten mikrobiellen Enzymen ab. Unterschieden werden Proteasen, Lipasen und Carbohydrasen.

Die *Enterobacteriaceae* sind vor allem in der Lage, Kohlenhydrate abzubauen. *Serratia*, *Proteus* und einzelne Stämme weiterer *Enterobacteriaceae*-Gattungen werden zugleich zu den Proteolyten gerechnet; ein Vertreter der Lipolyten ist *Proteus*.



Seitenanfang

webdesigned and layouted by [Reik H. Börger](#), Oct. 97



umblättern

Anfang
Literaturübersichtzu Punkt
2.3.1Inhalts-
verzeichnis

2.3.2 Charakterisierung einzelner Gattungen:

1. Genus *Salmonella*

Spezies:

Nach Popoff et al. (1992) werden Keime der Gattung *Salmonella* der Spezies *S. enterica* und *S. bongori* zugeordnet, wobei innerhalb der Spezies *S. enterica* sechs weitere Subspezies unterschieden werden, denen insgesamt über 2300 Serovare (gekennzeichnet mit großen Anfangsbuchstaben) angehören (z.B. *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*). **Vorkommen:**

Salmonellen sind weit verbreitet. Landwirtschaftliche Nutztiere, Katzen und Hunde sind häufig Träger von *Salmonellen*. Ebenso können Vögel (vor allem Krähen und Möwen) und Nager Ausscheider sein (Seidel u. Kiesevalter 1992), auch Schildkröten und Reptilien beherbergen sie oft. Insekten (Käfer, Schaben, Fliegen) stellen Vektoren dar. Lebensmittel, wie Fleisch und Fleischwaren (Geflügel, Rind, Schwein), Milch, Eier und Eiprodukte, Gewürze, Obst und Gemüse, Süßwaren, Back- und Konditorwaren, Getränke und Fertigprodukte können mit *Salmonellen* kontaminiert sein (Bauer u. Hörmansdorfer 1995). Ein besonderes Risiko stellen Diät-nahrung und Gemeinschaftsverpflegung dar (Hartung 1993). **Bedeutung:**

Nach Singh (1986) werden alle *Salmonellen* als pathogene Keime eingestuft. Kraus (1995) stellt jedoch fest, daß nicht eindeutig geklärt ist, ob sämtliche *Salmonella*-Serovare zweifelsfrei krankheitsauslösend sind. Er gibt zu bedenken, daß über die tatsächliche Virulenz aller 2300 Serovare keine gesicherten Angaben vorliegen.

Die Salmonellose des Menschen werden klinisch in zwei große Gruppen unterteilt (Seidel u. Kiesevalter 1992):

- die typhösen Formen, ausgelöst durch *S. typhi*, *S. paratyphi A, B, C* und
- die gastroenteritischen Formen, ausgelöst durch die Vielzahl der übrigen Serovare.

In Ländern mit schlechten hygienischen Bedingungen spielen Typhus und Paratyphus noch eine bedeutende Rolle (Kontaktübertragung), in Mitteleuropa treten diese Erkrankungen (durch Lebensmittel, z.B. Kartoffelsalat, Meeresfrüchte, übertragen) dagegen nur selten auf (Singh 1986).

Demgegenüber stehen die gastroenteritischen *Salmonellose*n in vielen Ländern an erster Stelle bei den Durchfallerkrankungen, wobei paradoxerweise trotz zunehmendem Hygiene-verständnis und strikter rechtlicher Vorgaben sowie amtlicher Kontrollen bis 1995 ein steter Anstieg zu verzeichnen war (Gareis 1995). Bei vielen Patienten schließt sich an die Erkrankung eine Phase der *Salmonella*-Ausscheidung mit dem Stuhl an, die erst nach etwa 4 bis 8 Wochen beendet ist. Die intermittierende Erregerausscheidung kann bei einzelnen Personen jedoch für längere Zeiträume (bis zu vielen Jahren) erhalten bleiben. Von den unerkannt gebliebenen, gesunden Ausscheidern (Dauerausscheider) geht eine große Gefahr aus, besonders dann, wenn diese im Lebensmittelbereich tätig sind. Über lange Zeit sind die Erreger oft in der Gallenblase lokalisiert.

Tieradaptierte *Salmonella*-Serovare, z.B. *S. choleraesuis*, *S. dublin*, *S. gallinarum-pullorum*, sind sehr selten die Ursache für Erkrankungen des Menschen, stellten Stellmacher und Schöll (1980) fest.

Sie vermögen aber in Einzelfällen zu ernsthaften septikämischen Erkrankungen zu führen. *S. typhimurium* trat bei verschiedenen Tierarten und daraus folgend beim Menschen sehr häufig auf.

Seit einigen Jahren ist *S. Enteritidis* das bei Erkrankungen des Menschen am häufigsten isolierte Serovar.

2. Genus *Shigella*

Spezies:

Shigella dysenteriae (Serogruppe A)

Sh. flexneri (Serogruppe B),

Sh. boydii (Serogruppe C)

Sh. sonnei (Serogruppe D)

Es ist zu berücksichtigen, daß nahezu alle *Shigella* spp. eine enge serologische Verwandtschaft zu *E. coli* aufweisen (Farmer 1985).

Vorkommen:

Shigellen kommen im Darmkanal von Mensch und Tier vor und können über Lebensmittel, wie z.B. Wasser, Fleisch, Fisch, Speiseeis, Milch, Käse und Butter übertragen werden (Kunz 1994). Fehlhaber (1981) sieht die primäre Kontamination eines Lebensmittels tierischer Herkunft jedoch als Ausnahme an. Nach seiner Auffassung stellt der Mensch das entscheidende Reservoir für *Shigellen* dar. Möglicherweise findet durch Exkremate erkrankter bzw. gesunder Ausscheider eine Kontamination von Erde, Wasser, Abwasser, Lebens- bzw. Futtermitteln statt (Mulder 1971; Gregory et al. 1974; Starr et al. 1981), wobei Insekten, wie z.B. Fliegen und Küchenschaben, als Überträger fungieren können (Brandis und Otte 1984).

Dabei bieten insbesondere Lebensmittel wie Milch und Milchprodukte, aber auch andere milch-, stärke- und eihaltige Nahrungsmittel offenbar gute Bedingungen für die Vermehrung der *Shigellen* (Fehlhaber 1981).

Bedeutung:

Shigellosen (bakterielle Ruhr, Dysenterie) sind nach wie vor zu den häufigsten Darmerkrankungen des Menschen zu zählen (Gilbert 1987). Sie stehen bezüglich der Anzahl der Erkrankten je Ausbruch an der Spitze aller Lebensmittelvergiftungen. Im Gegensatz zu den Salmonellosen hält die Ausscheidung jedoch selten länger als 3 bis 4 Wochen an.

Nach Darstellung von Rutsch (1987) kommen die vier *Shigella*-Spezies regional unterschiedlich häufig als Ruhrerreger infrage. In Gebieten mit gemäßigttem Klima, z.B. in Mittel- und Westeuropa, treten in erster Linie *Sh.-sonnei*-Infektionen auf, während der Anteil an *Sh.-flexneri*-Erkrankungen in Ost- und Südosteuropa wesentlich höher liegt. *Sh. boydii* kommt häufig in heißen Zonen vor, *Sh. dysenteriae* ist in den verschiedenen Erdteilen anzutreffen. Sehr vereinzelt treten natürliche Infektionen bei Tieren auf (Fehlhaber 1982).

Im allgemeinen ist die Virulenz von *Sh.-sonnei*-Stämmen geringer als die von *Sh. flexneri*. *Sh.*

dysenteriae kann ein hitzestabiles neurotoxisches Exotoxin (Shiga-Toxin) produzieren (Nöldner 1991). Die Vermehrung der Keime in den Epithelzellen führt zu Schleimhautschädigungen (hämorrhagische Läsionen), und als klassisches Bild tritt das Dysenterie-Syndrom auf. Manifestationen in Gelenken und Organsystemen kommen vor (Brandis u. Otte 1984).

3. Genus *Yersinia*

Spezies:

Yersinia enterocolitica

Y. pseudotuberculosis

Y. pestis u.a.

Vorkommen:

Y. pseudotuberculosis ist verbreitet bei Schweinen, Kaninchen, Katzen, Meerschweinchen und Vögeln (Blobel u. Schliesser 1982). Die Übertragung auf den Menschen erfolgt durch direkten Kontakt mit Tieren, ihren infektiösen Ausscheidungen, durch verunreinigte Lebensmittel sowie Wasser. *Y. enterocolitica* kommt weltweit bei Wild-, Nutz- und Haustieren sowie Reptilien, im Erdboden, Wasser und in Lebensmitteln vor.

Die Keime wurden aus Kuh- und Ziegenmilch, Quark und Käse, Eis, Bananen, Rind-, Schweine-, Schaf- und Geflügelfleisch, Fisch, Krabben und Shrimps isoliert (Aulisio et al. 1982). Nach Auffassung von Kleemann und Bergann (1994) kommt auch frische Rohwurst als Vektor für krankmachende *Y.-enterocolitica*-Stämme in Betracht.

Bedeutung:

Die zur Gattung *Yersinia* gehörende Bakterienspezies *Y. enterocolitica* ist nach Meinung von Fehlhaber u. Janetschke (1992) in den vergangenen 10 bis 15 Jahren als häufige Ursache von Lebensmittelvergiftungen des Menschen bekannt geworden. *Y.-enterocolitica*-Infektionen sind in der Welt weit verbreitet. Die humanpathogenen Stämme gehören fast ausschließlich zu den Serotypen O:3, O:5,27 und O:9 (Europa) und vereinzelt zu O:8 (USA) (Nattermann u. Horsch 1980). In 80 bis 90% der Erkrankungen liegt eine Enteritis bzw. Enterokolitis vor. Ebenso kann eine mesenteriale Lymphadenitis oder eine akute terminale Ileitis auftreten. In der Literatur finden sich zahlreiche Berichte über Infektionen mit *Y. enterocolitica* (Aulisio et al. 1982).

Zwischen verschiedenen *Yersinia*-Stämmen können deutliche Virulenzunterschiede festgestellt werden. Welchem Virulenzkriterium für die Pathogenese besondere Bedeutung zukommt, ist noch unzureichend geklärt (Kleemann 1993).

Die meisten Erkrankungen kommen bei Kindern im Alter von 1 bis 3 Jahren vor; es können aber Personen aller Altersgruppen erkranken. Als Komplikationen einer enteralen Yersiniose kann u.a. mit Appendicitis acuta oder chronica, Arthritiden (rheumatische Verlaufsformen), respiratorischen Erkrankungen und dermatologischen Formen, z.B. Erythema nodosum, gerechnet werden (Knapp 1983).

Y. pseudotuberculosis ist im Sinne der Lebensmittelhygiene von geringerer Bedeutung. Durch sie wird die Infektionskrankheit Nagertuberkulose oder Rodentiose hervorgerufen, bei der es besonders bei Nagern und Vögeln zu tuberkuloseähnlichen Veränderungen in Lunge, Niere, Leber u.a. Organen kommen kann (stovell 1980). Die Erkrankung spielt eine große Rolle bei Zoo- und Labortieren (Baskin 1980). Bei vielen Vogel- und Säugetierspezies kann die Erkrankung einen

epizootischen Verlauf nehmen und von hoher Mortalität begleitet sein (Stovell 1980).

4. Genus *Escherichia*

Spezies:

Escherichia coli

E. hermannii

E. vulneris u.a.

Nomenklatur und international anerkannte Einteilung gesundheitlich bedenklicher *E.-coli*-Stämme (Pathotypen) (Bülte 1995):

- enteropathogene ("säuglingspathogene") *E. coli* (EPEC)
- enterohämorrhagische *E. coli* (EHEC)
- enterotoxinogene *E. coli* (ETEC)
- enteroinvasive *E. coli* (EIEC)
- enterocolitische *E. coli* (ECEC)
- verotoxinbildende *E. coli* (VTEC)
- attaching and effacing *E. coli* (AeEC)
- enteroadhärente *E. coli* (EAEC)
- enteroaggregative *E. coli* (EAaggEC)
- diffuse adhering *E. coli* (DAEC)

Vorkommen:

Der Keim ist ubiquitär, bevorzugt aber im Darmkanal von Mensch und Tier verbreitet. In Faeces ist *E. coli* in Größenordnungen von über 10^6 Keimen je g enthalten (Doyle und Schoeni 1984). Der Enddarm stellt für *Escherichia coli* ein Reservoir dar. Von Franco et al. (1987) wurde er in fast allen Lebensmitteln wie Milch, Milchprodukten, Fleisch, Fleischprodukten, Obst, Gemüse u.a. gefunden. Hächler (1983) konnte feststellen, daß *Coli*-Keime wochen- und monatelang in Wasser, Staub, Sand und an verschiedenen Gegenständen überleben. **Bedeutung:**

Die meisten Stämme sind apathogene, harmlose Kommensalen. In Lebensmitteln sind *E. coli*-Keime unerwünscht (Verderb von Lebensmitteln) und bei ihrem Nachweis ein Indiz für eine eventuelle fäkale Kontamination (Hygieneindikator). Im Gegensatz zu *Escherichia coli* haben die übrigen coliformen Keime (andere *Escherichia spp.*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter*) keine Indikatorfunktion für fäkale Verunreinigungen (Pichhardt 1993). In der Schweiz hat der *Enterobacteriaceae*-Nachweis den Coliformen-Nachweis abgelöst (Schweizerisches Lebensmittelbuch 1988). In der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG ist die Methode zum Nachweis der coliformen Bakterien weiterhin aufgeführt, so daß vom Untersucher selbst unter Berücksichtigung des Aussageschwerpunktes eine Auswahl getroffen werden muß.

Durch verschiedene Serovare von *E. coli* können "Lebensmittelvergiftungen" hervorgerufen werden. Nach Auffassung von Bülte (1995) besitzen die enterohämorrhagischen *E.-coli*-Stämme (EHEC) aus lebensmittelhygienischer Sicht besondere Bedeutung. Sie können sogenannte Verotoxine bilden (VTEC). Diese gelten derzeit neben dem Botulinum-Toxin als die potentesten mikrobiellen Gifte (Hacker et al. 1983). Oftmals geht die Erkrankung mit hämorrhagischer

Diarrhöe einher. Bei einem Drittel der Betroffenen kommt es zu Komplikationen oder dauerhaften Folgeschäden, wie z.B. zum hämolytisch-urämischem Syndrom (HUS) oder zur thrombotisch-thrombozytopenischen Purpura (TTP) mit teilweise neurologischen Ausfallserscheinungen (Hacker et al. 1983).

Beim Schwein ist *E. coli* ursächlich an der Entstehung der Ödemkrankheit der Absatzferkel beteiligt (Hallmann u. Burkhardi 1974).

5. Genus *Klebsiella*

Spezies:

Klebsiella pneumoniae

K. oxytoca u.a.

Vorkommen:

Klebsiellen werden vornehmlich aus dem Darmkanal von Mensch und Tier isoliert. Unter anderem werden sie durch die Ausscheidung mit dem Kot verbreitet. Wasser, Futtermittel und Lebensmittel können kontaminiert sein. Scheer (1973) züchtete die Erreger aus tiefgefrorenen Seefischen und Fischprodukten an. BROWN und Seidler (1973) isolierten sie aus Gemüse und Saatgut. Beyer (1979) wies *Klebsiellen* in Fleischgerichten und in vakuumverpacktem Rindfleisch nach. Gegen äußere Einflüsse sind *Klebsiellen* relativ widerstandsfähig. Wegen ihrer geringen Nährstoffansprüche können sie sich in feuchtem Milieu ansiedeln und an Gebrauchsgegenständen über längere Zeit haften (Weiss et al. 1985).

Für Tiere kann die Einstreu die wichtigste Infektionsquelle darstellen (Bramley u. Neave 1975). Bei Warmblütern konnten Niazi et al. (1977) *Klebsiellen* als Saprophyten der Schleimhäute des Verdauungstraktes, des Nasen - Rachenraumes und der äußeren Haut isolieren.

Bedeutung:

Märtens und Honacker (1983) halten ihre pathogenetische Bedeutung für unsicher, da sich *Klebsiellen* aus dem Stuhl Durchfallerkrankter, in einigen Fällen aber auch in normalem Stuhl nachweisen ließen. Während *Klebsiellen* nach Kunz (1994) nur gelegentlich bei Lebensmittelvergiftungen eine Rolle spielen, berichteten Hechelmann et al. (1974) von zahlreichen bakteriellen Lebensmittelinfektionen, die durch *Klebsiellen* ausgelöst wurden. Auch Erkrankungen des Respirationstraktes bei Pferd, Rind, Schwein u.a., Erkrankungen des Urintraktes, Mastitiden und Metritiden können durch *Klebsiellen* verursacht werden (Kunz 1994). Kaufman (1984) hält *Klebsiellen* für bedeutende Erreger bei nosokomialen Infektionen von Mensch und Tier und gibt einen umfassenden Überblick über die Infektionsmöglichkeiten mit dieser Bakteriengattung.

K. ozeanae ruft beim Menschen das Krankheitsbild der Ozeana (Stinknase) hervor, das auch als Rhinitis atrophicans foetida bezeichnet wird (SEDLAK u. Rische 1968). 6,1% der *Klebsiella*-Stämme sind nach Angaben von Wadström (1976) Enterotoxinbildner. *Klebsiellen* können zum Verderb von Lebensmitteln beitragen.

6. Genus *Enterobacter*

Spezies:

Enterobacter aerogenes

E. cloacae

E. agglomerans u.a.

Vorkommen:

Enterobacter-Stämme sind anspruchslose Keime und daher weit verbreitet. Sie kommen als Saprophyten in Erde, Wasser und Abwasser vor (Farmer 1985), wurden aber auch aus Gras, Getreide, Bäumen, Zuckerrohr, Bananen, Gemüse, Früchten und Handelsfuttermitteln sowie aus Holzprodukten isoliert und konnten in Fleisch und Fischwaren sowie Austern nachgewiesen werden (Brenner 1981).

Baumgartner et al. (1984) sahen in therapeutische Gerätschaften, wie Infusionssystemen, Inkubatoren oder Kathetern mögliche Infektionsquellen. Auch durch Faeces verunreinigtes Wasser kann eine Infektionsquelle für Mensch und Tier darstellen (Troast 1975).

Bedeutung:

Enterobacter-Keime sind in oder auf Lebensmitteln als Ursache von Verderb häufig zu finden (Kunz 1994). Desweiteren sieht Brenner (1981) in ihnen Erreger von akuten Magen-Darminfektionen bei Epidemien, Gruppen- und Einzelerkrankungen. Als Hospitalkeime gewinnen sie zunehmend an Bedeutung. Nach Angaben von Starr et al. (1981) sind *Enterobacter*-Infektionen meist nosokomialer Natur.

E. agglomerans wird für schwere septikämische Erkrankungen mit letalem Ausgang verantwortlich gemacht (Farmer 1985). Baumgartner et al. (1984) vermuteten bei postoperativen *Enterobacter*-Wundinfektionen eine iatrogene Ursache.

Märtens u. Honacker (1983) sind der Meinung, daß die pathogenetische Bedeutung der *Enterobacter*-Keime häufig unterschätzt wird.

Die Virulenz der Stämme ist abhängig von der Bildung der Enterotoxine. Bislang gelang ein Enterotoxinnachweis bei ca. 11% der untersuchten Isolate von *Enterobacter spp.* (Brenner 1981, Farmer 1985).

7. Genus *Citrobacter*

Spezies:

Citrobacter freundii

C. diversus

C. amalonaticus

Vorkommen:

Bakterien der Gattung *Citrobacter* kommen ubiquitär vor und werden häufig im Wasser festgestellt. Ihre weite Verbreitung wird auch durch die Isolierung aus verschiedenen Lebensmitteln belegt, z. B. Fleisch und Wurstwaren, Milch und Milchprodukten, Soßen, Cremespeisen, Pizza, Gemüse und Früchten u.a. (Seidel u. Kiesevalter 1992). Ein Reservoir stellen auch Kröten und Eidechsen dar. Deren Fäkalien wiederum kontaminieren Futtermittel und Wasser und verbreiten dadurch die *Citrobacter*-Keime (Kumar u. Sharma 1978). **Bedeutung:** *Citrobacter*-Keime können im Stuhl kranker und gesunder Menschen nachgewiesen werden (Märtens u. Honacker 1983, Farmer 1985). Sie zählen zu den Erregern von Durchfallerkrankungen, wenn sie Enterotoxinbildner (positiver cytopathogener Effekt) sind und können dann Einzel-, Gruppenerkrankungen und / oder Explosivepidemien auslösen. Von Farmer

(1985) werden durch *C. freundii* und *C. amalonaticus* verursachte Gastroenteritiden, ähnlich wie bei Salmonellosen, beschrieben.

C. freundii hat auch bei Mäusen eine pathogene Bedeutung und wird hier als ursächliches Agens für eine Schleimhauthyperplasie angesehen, bei Schildkröten löst der Erreger Septikämien und Hautläsionen aus (Barthold et al. 1976).

8. Genus *Proteus* / *Morganella*

Spezies:

Proteus vulgaris

P. mirabilis

P. myxofaciens

Morganella morganii

Die ursprünglich dieser Gattung angehörende Spezies *P. morganii* ist nunmehr als einzige Spezies einer eigenständigen Gattung (*Morganella*) zuzuordnen. **Vorkommen:**

Bakterien des Tribus *Proteus*, *Providencia* und *Morganella* sind in der Natur ubiquitär verbreitet. Als normaler Standort der Bakterien kann der Darm von Mensch und Tier angesehen werden (ToePFER 1977). menchaca et al. (1978) konnten sie im Abwasser und im Erdboden, in Fleischgerichten, Froschschenkeln, frischem Fisch und gefrorenen Fischfilets nachweisen. Die Keime kommen in und auf fast allen Lebensmitteln vor. **Bedeutung:**

Bakterien der Gattungen *Proteus* und *Morganella* sind fakultativ pathogen und meist als Sekundärerreger an Infektionen beteiligt (Penner 1984). Eine durch *Proteus* hervorgerufene Krankheit mit typischem klinischen und pathologischen Erscheinungsbild gibt es nicht (ToePFER 1977).

P. mirabilis wird von den Spezies dieses Tribus am häufigsten aus klinischem Material isoliert (BUCHANAN u. Gibbon 1974). Beim Menschen manifestiert sich die Infektion vorwiegend im Urogenitaltrakt, wobei strukturelle Abnormitäten, Katheterisierung und andere urologische Manipulationen eine bedeutende Rolle spielen (Starr et al. 1981). Nicht selten verursacht *P. mirabilis* nosokomiale Infektionen bei Patienten mit klinischer Vorschädigung wie z.B. Diabetes (Starr et al. 1981).

Nach Penner (1981, 1984) stellen Bakterien des Tribus *Proteus* wichtige Eiweißzersetzer dar und sind an fast allen Fäulnisprozessen (auch bei der Fleischfäulnis) beteiligt.

9. Genus *Serratia*

Spezies:

Serratia marcescens

S. proteamaculans u.a.

S. marcescens kann in 46 Serotypen differenziert werden (Kunz 1994).

Vorkommen:

Serratia spp. kommen häufig im Wasser, im Boden und auf oder in kohlenhydrathaltigen Lebensmitteln vor. Sie wurden aus Pflanzen, Gemüse, Feigen, Seewasser, Plankton, Austern und frischem Fisch, Fleisch, roher Milch und Milchprodukten sowie Handelsfuttermitteln isoliert (Starr

et al. 1981). Auch bei Tieren sind *Serratien* weit verbreitet. Das gilt für Geflügel, Rinder, Pferde, Ziegen, Schweine, Wildtiere sowie Insekten und Reptilien (Patrik et al. 1981). Lebensmittel, medizinisches Gerät (Modde 1972) und Keimträger sind die Vektoren für diese ubiquitären Keime (seidel u. Kiewewalter 1992). **Bedeutung:**

Seit etwa 30 Jahren werden durch *Serratien* verursachte Erkrankungen beim Menschen beobachtet.

Infektionen des Respirationstraktes und von Wunden sowie Septikämien im Anschluß an i.v.-Katheterisierungen traten in den letzten Jahren immer häufiger auf, was ihre Bedeutung als Hospitalkeime unterstreicht. Die klinische Verlaufsform der *Serratia*-Infektion ist uncharakteristisch (Patrik et al. 1981).

Bakterien der Gattung *Serratia* wurden bei Schweinen im Zusammenhang mit Septikämien, aber auch aus Tonsillen und Faeces gesunder Tiere isoliert (MACIAK 1975). Sie können beim Pferd Konjunktivitis, Pneumonie, Pleuritis, Peritonitis und Endometritis verursachen (Shaftoe 1984).

LIUM (1977) wies nach, daß *Serratia* ein Endotoxin produziert, welches eine akute Mastitis hervorruft. ARMstrong (1984) stellte *Serratia* bei Hunden und Katzen fest, die an einer systemischen Infektion litten. Bei Insekten sind *Serratien* in Abhängigkeit von ihrer Spezies teils pathogen, teils saprophytär.

Serratien spielen beim Verderb tierischer Lebensmittel eine Rolle.

10. Genus *Hafnia*

Spezies:

Hafnia alvei

Vorkommen:

Die Bakterien der Gattung *Hafnia* sind in Erde, Wasser und Abwasser weit verbreitet und können aus Nahrungsmitteln, wie Milchprodukten, frischem Fisch, tiefgefrorenen Fischfilets und Fleischwaren angezüchtet werden. Sie kommen bei Mensch und Tier im Darmkanal, Sputum, Urin, in Autopsieproben und Rachenabstrichen sowie Wunden, Abszessen und in der Bauchhöhle vor (Starr et al. 1981; BUCHANAN u. Gibbon 1974).

Bei Untersuchungen von Lebensmitteln auf *Enterobacteriaceae* konnte Lehmann (1983) *Hafnien* mit Isolierungsraten von 1% feststellen.

Bedeutung:

Obwohl *Hafnien* oft in klinischem Probenmaterial nachgewiesen werden, ist es schwierig, diesen Bakterien eine eindeutige klinische Bedeutung zuzuschreiben, da sie meist mit anderen Keimen vergesellschaftet sind (Starr et al. 1981). Washington et al. (1971) isolierten *Hafnia* häufig aus dem Respirationstrakt des Menschen. Sie beschrieben Gastroenteritiden, epigastrische Beschwerden und Intoxikationen (im allgemeinen ohne Blut- und Schleimbeimengungen in den Faeces), die durch *Hafnien* verursacht wurden.

Sakazaki (1965) geht von einer pathogenen Bedeutung der Gattung *Hafnia* für Wespen und Bienen aus, eine Pathogenität für Vögel ist nicht erwiesen.

Hafnien spielen beim Verderb eiweißreicher Lebensmittel und bei der Histaminbildung bei Fischen eine Rolle.



Seitenanfang

webdesigned and layouted by [Reik H. Börger](#), Oct. 97



umblättern

Inhalts-
verzeichniszu Punkt
3.1.2Ende
Eigene Untersuchungen

3 Eigene Untersuchungen

Zielstellung der vorliegenden Arbeit war es, die bisher verfügbaren Angaben zu den Generationsintervallen der *Enterobacteriaceae* zu vervollständigen und verlässliche Daten zur Keimdynamik und Vermehrungsgeschwindigkeit dieser lebensmittelhygienisch bedeutsamen Bakterienfamilie zu erheben und zu bewerten.

Die Generationszeit sollte als Ausdruck der Vermehrungsgeschwindigkeit von Bakterien in Abhängigkeit von der Temperatur und dem Medien-pH-Wert bestimmt werden.

Um der Vielfalt der Arten der Familie Rechnung zu tragen, wurden im Rahmen der vorliegenden Arbeit insgesamt 30 verschiedene Stämme aus 10 Gattungen ausgewählt.

Die Untersuchungen erfolgten in den Jahren 1993 bis 1995. In dieser Zeit wurden auch anderenorts, insbesondere am Institut für Lebensmittelhygiene der Universität Leipzig, Defizite im Hinblick auf die nur unzureichend vorliegenden Daten zur Vermehrungsgeschwindigkeit von lebensmittelhygienisch bedeutsamen Keimen erkannt und entsprechende Untersuchungen vorgenommen. Hier wie dort diente die Impedimetrie zur Ermittlung der Detektionszeiten, allerdings wurden für die Untersuchungen verschiedene Geräte eingesetzt.

Im Rahmen der eigenen Untersuchungen wurden die Generationszeiten in Abhängigkeit von

- der **Temperatur**,
- dem **pH-Wert** und
- der **Kombination dieser Faktoren** bestimmt.

Eine anschließende Auswertung erfolgte im Hinblick auf den Einfluß der beiden Größen hinsichtlich der Generationsdauer auch unter Berücksichtigung des Verhaltens der einzelnen Genera.

Darüber hinaus war festzustellen, ob sich die Stämme der verschiedenen *Enterobacteriaceae*-Genera und / oder Spezies einheitlich oder ggf. unterschiedlich verhalten.

Es sollte ermittelt werden, wieviel Zeit die Bakterienpopulation eines definierten Stammes für einen Generationszyklus benötigt; inwieweit Temperatur- bzw. pH-Wert-Änderungen das Generationsintervall verkürzen bzw. verlängern und wie homogen bzw. heterogen sich die Spezies einer Gattung bzw. die Gattungen dieser Familie - bezüglich ihrer Vermehrungsgeschwindigkeit - zueinander und bei Änderungen ihrer Milieubedingungen verhalten.

Ursprünglich war auch beabsichtigt, den Einfluß unterschiedlicher NaCl-Gehalte zu prüfen.

3.1 Material

3.1.1 Versuchsstämme - Herkunft und Charakterisierung

In den Untersuchungen wurden Modellstämme verwendet, die aus Faeces von Mensch bzw. Tier oder aus Lebensmitteln isoliert worden waren. Dazu zählen alle Stämme, für die in Tab. 14, Spalte "Herkunft" das Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin (BgVV) vermerkt ist.

Zum anderen stammten die Versuchsstämme aus verschiedenen veterinärmedizinischen Einrichtungen (Laborstämme).

Unter Nutzung der Möglichkeiten eines Diagnostiklabors im BgVV wurden alle Stämme mit Hilfe der "Bunten Reihe" und durch die Prüfung weiterer Eigenschaften differenziert und nach den Kriterien von FARMER III (1985) den entsprechenden Gattungen und Spezies zugeordnet. Die Auflistung der Versuchsstämme einschließlich der Zuordnung zu Genera bzw. Spezies enthält Tabelle 14.

Tabelle 14: Versuchsstämme

Gattungen	Kürzel	Arten	Stammnr.	Herkunft*
1. Salmonella	S.	<i>S. Typhimurium</i>	2180/94	LMH
		<i>S. Enteritidis</i>	2181/94	LMH
		<i>S. Choleraesuis</i>	1636/92	BgVV
2. Shigella	Sh.	<i>Sh. sp.</i>	102/91	BgVV
		<i>Sh. Flexneri</i>	2167/94	LMH
		<i>Sh. boydii</i>	2168/94	LMH
3. Yersinia	Y.	<i>Y. enterocolitica</i> BT 2	2170/94	LMH
		<i>Y. enterocolitica</i> BT 4	2171/94	LMH
		<i>Y. pseudotuberculosis</i>	2571/90	BgVV
4. Escherichia	E.	<i>E. coli</i> O147 K88 K89	2184/94	FIHyg
		<i>E. coli</i> O148	2183/94	FIHyg
		<i>E. coli</i> K1 J53	2185/94	FIHyg
5. Klebsiella	Kl.	<i>Kl. pneumoniae ssp. Ozeanae</i>	2039/94	LMH
		<i>Kl. pneumoniae</i>	2165/94	Mibi
		<i>ssp. pneumoniae</i> (n=2)	2169/94	FIHyg
6. Enterobacter	Eb.	<i>Eb. cloacae</i> (n=3)	667/92	BgVV
			1125/92	BgVV
			2377/92	BgVV
7. Citrobacter	Cb.	<i>Cb. Freundii</i>	2683/93	BgVV
		<i>Cb. Amalonicus</i>	768/92	BgVV
		<i>Cb. diversus</i>	2056/90	BgVV
8. Proteus / Morgnella	P. / M.	<i>M. morganii</i>	2578/90	LMH
		<i>P. vulgaris</i>	2174/94	LMH
		<i>P. mirabilis</i>	2179/94	BgVV
9. Serratia	Ser.	<i>Ser. marcescens</i> (n=3)	2413/93	Mibi
			2172/94	LMH
			2173/94	LMH
10. Hafnia	H.	<i>H. alvei</i> (n=3)	2669/93	BgVV
			1624/92	BgVV
			1348/92	BgVV

* Erläuterungen zur Tabelle - Rubrik Herkunft:

LMH = Institut für Lebensmittelhygiene der FU Berlin, Fachbereich Veterinärmedizin

FIHyg = Institut für Fleischhygiene und -technologie der FU Berlin, FB Veterinärmedizin

Mibi = Institut für Mikrobiologie und Tierseuchen der FU Berlin, FB Veterinärmedizin

BgVV = Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin, Berlin

Von jeder Gattung wurden, so weit wie möglich, Stämme einer Spezies mit unterschiedlichen Eigenschaften ausgewählt. Bei einigen Gattungen gelang es, unterschiedliche Spezies als Versuchsstämme auszuwählen, bei anderen Gattungen unterschieden sich die Stämme lediglich hinsichtlich des Biotyps, Serovars, einiger biochemischer Reaktionen oder ihrer Herkunft.

Die Eigenschaften der Versuchsstämme sollten möglichst stark variieren, um dadurch evtl. auftretende Unterschiede im Wachstums- und Vermehrungsverhalten in die Auswertung einbeziehen zu können.

Eine detaillierte Charakterisierung jedes Stammes anhand gattungs- bzw. speziesspezifischer Eigenschaften und biochemischer Reaktionen ist im Anhang Gegenstand der Tabellen 28 bis 37.



Seitenanfang

webdesigned and layouted by [Reik H. Börger](#), Oct. 97



umblättern

Anfang
Eigene Untersuchungenzu Punkt
3.1.1Inhalts-
verzeichniszu Punkt
3.1.3Ende
Eigene Untersuchungen

3.1.2 Nährmedien

Die nachfolgend detailliert charakterisierten flüssigen und festen Nährmedien kamen in den Modellversuchen zur Anwendung:

a) Rezeptur Nährbouillon I:

Zusammensetzung (g/l):	Pankreatisches Pepton 17,0
	Hefeextrakt 3,0
	Natriumchlorid 5,0
	Aqua dest. ad 1000

Sterilisation im Autoklaven bei 121°C für eine Dauer von 12 min

b) Rezeptur Hammelblutnähragar:

Zusammensetzung (g/l):	Pankreatisches Pepton 13,5
	(Casein, Fleisch, Gelatine)
	Eiweißhydrolysat 3,5
	Hefeextrakt 3,0
	Natriumchlorid 5,0
	Agar für Kulturmedien 10,0 ± 3,0
	Hammelblut 50,0
	Aqua dest. ad 1000

Sterilisation im Autoklaven bei 121°C für eine Dauer von 12 min

c) Rezeptur Blut - Glycerin - Medium:

Zusammensetzung (ml/100 ml):	steriles Glycerol 25,0
	defibriertes, steriles Pferdeblut 12,5
	sterile 0,8%ige NaCl-Lösung 62,5

d) Rezeptur Peptonwasser:

pH-Wert: 7,0	
Zusammensetzung:	Bacto-Pepton 1,0
	Natriumchlorid 3,0
	Na ₂ HPO ₄ x 2H ₂ O 2,0
	Aqua dest. ad 1000

Sterilisation im Autoklaven bei 121°C für eine Dauer von 12 min



Seitenanfang



umblättern

Anfang
Eigene Untersuchungenzu Punkt
3.1.2Inhalts-
verzeichniszu Punkt
3.2Ende
Eigene Untersuchungen

3.1.3 Geräte

Zur Bestimmung der Generationszeiten wurde das **Impedanzmeßgerät** - Malthus Growth Analyser - der Herstellerfirma Malthus Instruments, Vertrieb Radiometer Deutschland GmbH, benutzt. Zur Anwendung kam der 120-Proben-Inkubator Malthus System V, der von der Software Flexi System 5, Version 1.13a, gesteuert wurde. Dieser war an den PC Multiscan 15sf Model CPD 15SF1 von Sony Corporation gekoppelt. Folgende Detektionsparameter wurden für die Untersuchungen zur Generationszeit der *Enterobacteriaceae* ausgewählt.

- Basislinie: 0,6 μ S
- erste Ableitung an der Kurve: 0,8 μ S
- zweite Ableitung (wenn z.B. keine Basislinie vorhanden war): 0,1 μ S
- Registrierung der Meßwerte im Abstand von 6 Minuten
- Beendigung der Messung: nach der Detektion

Wird in drei aufeinanderfolgenden Messungen eine Leitfähigkeitsänderung von mindestens 0,8 μ S im Vergleich zum zuvor erfassten Meßwert verzeichnet, so registriert der Computer ohne Berücksichtigung späterer Entwicklungen den Zeitpunkt der ersten Messung über dem festgelegten Wert als Detektionszeit.

Der Malthus-Inkubator gestattete Betriebstemperaturen zwischen 5,0 - 55,0 °C.

Nach der Einstellung des pH-Wertes mit 99%iger Milchsäure bzw. 33%iger Natronlauge wurde der pH-Wert mit dem Digital-**pH-Meßgerät** des Typs MV 870 der Firma Präcitronic Dresden kontrolliert. Eine Einstabelektrode des Typs EGA 801 der Firma Meinsberg wurde verwendet.

Die Inkubation der Anzüchtungsbouillon erfolgte im Rumed - **Klimaschrank** (0-50°C) der Firma Rubarth Apparate GmbH bei 37 °C, der mit einer Präzision von $\pm 0,1^\circ\text{C}$ arbeitete.

Als **Rüttler** stand das Gerät Vibrofix VF1 Elektronik der Firma Janke und Kunkel IKA Labortechnik zur Verfügung. Die Aufbewahrung der Bouillon zur pH-Wert-Einstellung erfolgte im **Wasserbad** W6 der Firma Prüfgeräte-Werk Medingen GmbH.



Seitenanfang

webdesigned and layouted by [Reik H. Börger](#), Oct. 97

umblättern



Anfang
Eigene Untersuchungen



zu Punkt
3.1.3



Inhalts-
verzeichnis



zu Punkt
3.2.2



Ende
Eigene Untersuchungen

3.2 Methodik

3.2.1 Anzuchtung und Überimpfung

Die Versuchsstämme wurden zunächst auf Hammelblutagar in Reinkultur angezüchtet. Zu Beginn einer jeden Versuchsreihe wurde etwa eine Platinöse von Keimmaterial frischer Kolonien in 5 ml Nährbouillon I überimpft und 24 Stunden bei 37°C im Klimaschrank bebrütet (= Anzüchtungsbouillon).

Je 0,5 ml dieser Bouillon wurden für die weiteren Untersuchungen verwendet. Dieses Vorgehen war notwendig, um bei der Impedanzmessung zur Weiterverimpfung der Stämme ca. die gleiche Keimmenge entnehmen und mit etwa identischen Anfangskeimgehalten arbeiten zu können.

Die Stammhaltung wurde wie folgt vorgenommen:

- Arbeitsstämme wurden nach jeweils 10 Tagen auf frische Blutagarplatten überimpft.
- Bevorratungsstämme wurden im Gefrierschrank aufbewahrt, wobei sich folgende Vorgehensweise (nach Beutling 1993) bewährte:

In sterilisierte 2 ml-Safe-Lock-Reaktionsgefäße wurden 1,5 ml eines Blut-Glyzerol-Mediums eingefüllt und mit einer Platinöse 24-h-alten Koloniematerials beimpft. Die Gefäße wurden verschlossen und bei 30°C für 24 Stunden bebrütet, danach wurden sie bei -20°C im Gefrierschrank gelagert. Die maximale Aufbewahrungsdauer betrug etwa 1 Jahr.



Seitenanfang

webdesigned and layouted by [Reik H. Börger](#), Oct. 97



umblättern



3.2.2 Bestimmung der Generationszeit

Zur Vorbereitung der Impedanzmessung wurden 5 ml Anzüchtungsbouillon mit Hilfe des Vibrofix-Gerätes aufgerüttelt. Es wurde eine Verdünnungsreihe hergestellt, wobei 0,5 ml der keimhaltigen Nährlösung in Reagenzglas (RG) I, das 4,5 ml Peptonwasser enthielt, übertragen und ebenfalls aufgerüttelt wurden. Aus RG I wurden 0,5 ml in RG II gegeben usw., bis die 6. Verdünnungsstufe in RG VI erreicht war (siehe auch Abb. 3).

Vor der Durchführung der Hauptversuche erfolgten orientierende Prüfungen zur Ermittlung der optimalen Anfangskeimzahlen.

Dafür wurden in Keimsuspensionen mit unterschiedlicher Initialkeimzahl die Leitfähigkeit gemessen und Detektionskurven erstellt. Parallel dazu wurden die Keimzahlen bestimmt. Zur Ermittlung der Keimzahl diente das Spatelverfahren gemäß Methodenummer L 06.00-18 der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG bzw. DIN 10161 Teil 1.

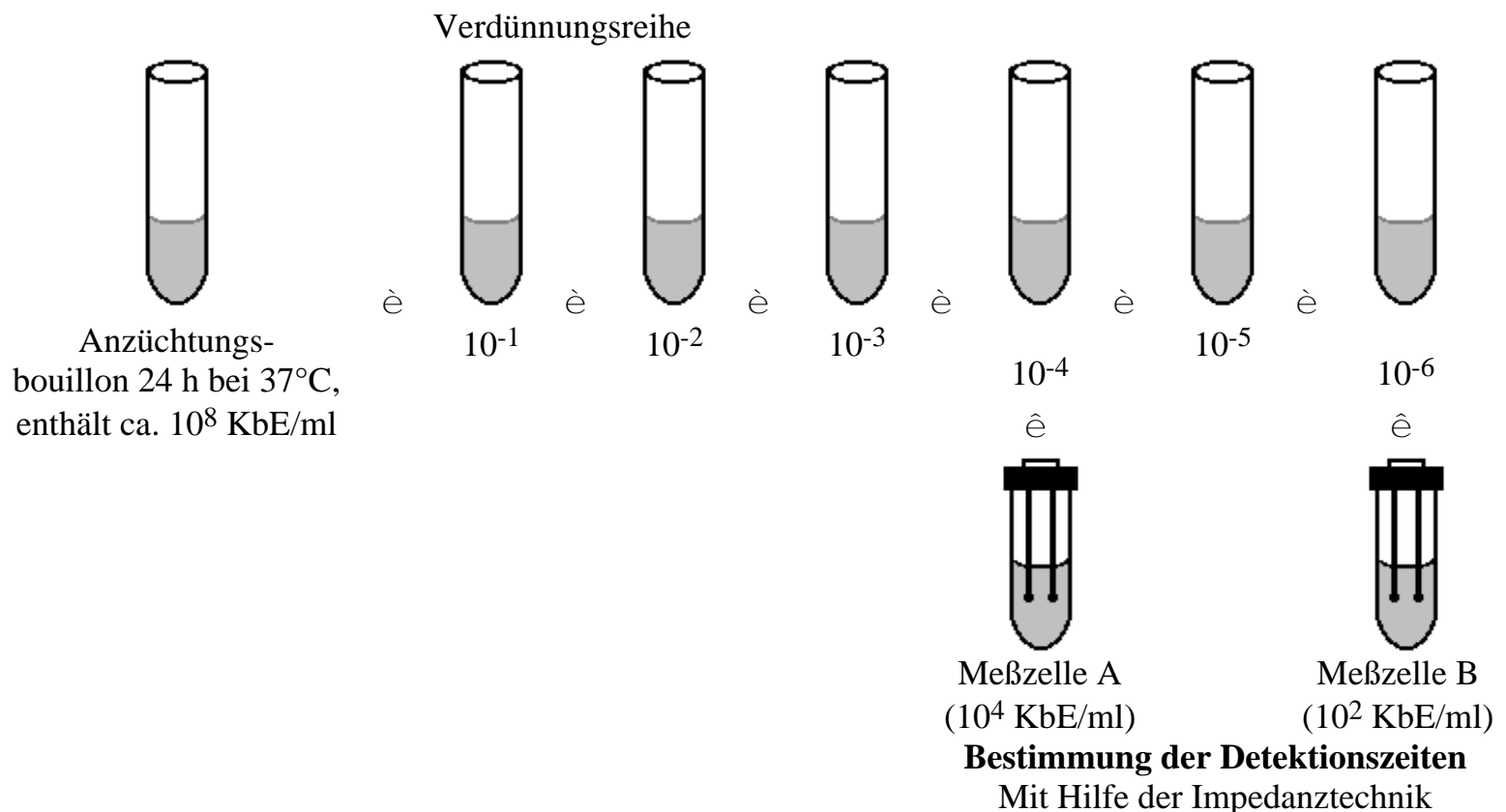


Abbildung 3: Versuchsaufbau

Am Ende dieser Voruntersuchungen konnte festgestellt werden, daß Messungen im Bereich von 10^2 bis 10^5 Kbe/ml gut auswertbare Ergebnisse lieferten und die nachfolgenden Hauptversuche auf Ausgangskeimzahlen dieser Größenordnung beruhen sollten.

Die Keimzahl der Anzüchtungsbouillon lag im Durchschnitt bei 10^8 Kbe/ml. Nach dem Erstellen der

Verdünnungsreihe konnte davon ausgegangen werden, daß das RG IV ca. 10^4 KbE/ml und das RG VI etwa 10^2 KbE/ml enthielt. Daher wurden die Verdünnungsstufen 10^{-4} und 10^{-6} für die Versuche genutzt.

Nach dem Herstellen der Verdünnungsreihe wurden jeweils 0,5 ml der Verdünnungsstufen 10^{-4} und 10^{-6} in zwei sterile Impedanzmeßzellen mit 2 ml Nährbouillon I übertragen.

Der gewünschte pH-Wert der Nährbouillon (5,0; 5,5; 6,0; 6,5; 7,3) war zuvor eingestellt worden. Die Meßzellen wurden nun in den Thermoblock des Impedanzmeßgerätes verbracht und bei der gemäß der Versuchsplanung vorgegebenen Temperatur (z.B.: 30°C) bebrütet.

In den PC wurden die Daten zur Kennzeichnung der Meßplätze sowie die festgelegte Bebrütungsdauer eingegeben. Automatisch erfolgte eine Registrierung der Leitfähigkeits-änderung und der Impedanzdetektionszeit (IDT) für die zwei Verdünnungsstufen eines jeden Keimes. Nach Beendigung der Messung wurden die Ergebnisse (Leitfähigkeitskurven und Detektionszeiten) ausgedruckt.

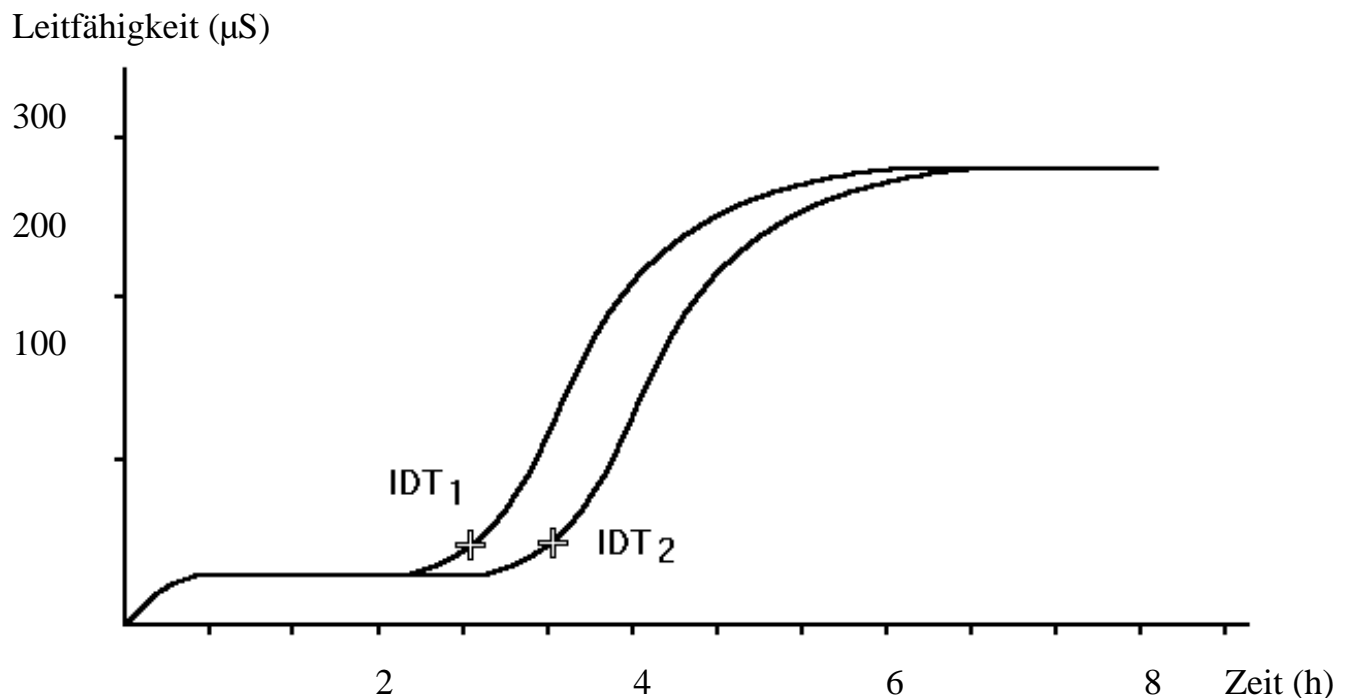


Abbildung 4: Leitfähigkeitskurven zweier Verdünnungsstufen mit den zugehörigen Detektionszeitpunkten

Aus den aufgezeichneten Detektionszeiten der zwei Verdünnungsstufen (Abb. 4) für jeden Stamm konnten dann unter Nutzung der von Firstenberg-Eden und Eden (1984) aufgestellten Formel die Generationszeiten (t_g) berechnet werden.

$$t_g = (\Delta \text{IDT} \times \log 2) / \log n_1 - \log n_2$$

Dabei gibt ΔIDT die Differenz der Detektionszeiten zwischen den 2 Verdünnungsstufen an [$\Delta \text{IDT} = \text{Detektionszeit in der Meßzelle B (IDT}_2) - \text{Detektionszeit in der Meßzelle A (IDT}_1)$].

n_1 stellt die Verdünnungsstufe 1 dar (Meßzelle B, 10^{-6}) und n_2 die Verdünnungsstufe 2 (Meßzelle A, 10^{-4}).

Bei einem Verdünnungsunterschied von 100 ($10^{-6} - 10^{-4}$) ist der $\log n_1 - \log n_2 = 2$. Es gilt:

$$t_g = (\Delta \text{ IDT} \times \log 2) / 2$$

Da $\log 2 = 0,301$ ist, ist $t_g = (\Delta \text{ IDT} \times 0,301) / 2$. Für die Umrechnung in Stunden kann die Konstante 0,15 in die Gleichung einbezogen werden, es ergibt sich:

$$t_g = 0,15 \times \Delta \text{ IDT}.$$

Für die Bestimmung der **Generationszeit in min** lautet die Formel

$$t_g = 9 \times \Delta \text{ IDT}.$$



Seitenanfang

webdesigned and layouted by [Reik H. Börger](#), Oct. 97



umblättern

Anfang
Eigene Untersuchungenzu Punkt
3.2.2Inhalts-
verzeichniszu Punkt
3.3Ende
Eigene Untersuchungen

3.2.3 Statistische Auswertungsverfahren

Zur Auswertung wurden die **zweifaktorielle** und die **multifaktorielle Varianzanalyse** ("ANOVA Table") zur Prüfung des Einflusses der Temperatur und des pH-Wertes auf die Generationszeit herangezogen. Mit Hilfe der Computerprogramme Statgraphics plus 1.3 und MS Excel 5.0 unter Microsoft Windows konnte die statistische Bearbeitung der Meßergebnisse vorgenommen werden.

Zur statistischen Absicherung der Methode wurden bei der Erstellung der Varianzanalyse über den Faktor der 30 *Enterobacteriaceae*-Stämme die Ergebnisse des ersten mit denen des zweiten Versuches verglichen.

Für jeden Untersuchungsansatz (Kombination Temperatur / pH-Wert - insgesamt 29) wurde eine Varianzanalyse mit den Faktoren Stamm und Versuch durchgeführt.

Als Beispiel ist eine Varianzanalyse in Tabelle 15 unter den Bedingungen: Temperatur 35°C und pH-Wert 6,5 abgebildet. Zu erkennen war ein Einfluß des Faktors Stamm auf die Generationszeit. Der Wert der Prüfgröße (z.B.: 9,904) lag über dem tabellarischen F-Wert (z.B.: F-tab. = 1,861 für $\alpha = 0,05$), damit sind die unterschiedlichen Generationszeiten der verschiedenen Stämme statistisch gesichert.

Für den Faktor Versuch konnte jedoch festgestellt werden, daß die Prüfgröße (z.B.: 0,197) immer kleiner war als der tabellarische F-Wert (z.B.: 4,183) und daß damit kein signifikanter Unterschied zwischen den in beiden Versuchen ermittelten Generationszeiten auftrat.

Diese Feststellung ließ sich durchgängig bei allen 29 Versuchsansätzen treffen. Sie sichert damit die Anwendbarkeit der Impedanzmessung zur Bestimmung der Generationszeiten ab.

Für die Untersuchungsergebnisse zur Generationsdauer wurden über die Temperatur und über den pH-Wert "**Box-and-Whisker Plots**" erstellt sowie "**Multiple Range Tests**" und "**Table of Means**" durchgeführt. "**Means Plots**" unter Nutzung eines 95% Konfidenzintervalls und Diagramme dienten der Darstellung der Vermehrungsgeschwindigkeit der einzelnen Gattungen.

Tabelle 15: Zweifaktorielle Varianzanalyse zu den GZ in min bei 35°C u. pH-Wert 6,5

Versuchsstämme (n=30)	Versuch 1	Versuch 2	Mittelwert
<i>Salmonella Typhimurium</i> 2180/94	24,3	27,0	25,65
<i>Salmonella Enteritidis</i> 2181/94	28,8	36,0	32,40
<i>Salmonella Choleraesuis</i> 1636/92	27,9	25,2	26,55
<i>Shigella</i> 102/91	21,6	21,6	21,60
<i>Shigella flexneri</i> 2167/94	21,6	18,0	19,80
<i>Shigella boydii</i> 2168/94	25,2	19,8	22,50
<i>Yersinia enterocolitica</i> BT2 2170/94	54,0	37,8	45,90
<i>Yersinia enterocolitica</i> BT4 2171/94	50,4	45,9	48,15
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i> 2571/90	57,6	59,4	58,50

<i>Escherichia coli</i> O147K88K89 2184/94	22,5	21,6	22,05
<i>Escherichia coli</i> O148 2183/94	18,0	16,2	17,10
<i>Escherichia coli</i> K1J53 2185/94	25,2	18,0	21,60
<i>Klebsiella pneu. ssp. ozaenae</i> 2039/94	36,0	25,2	30,60
<i>Klebsiella pneu. ssp. pneu.</i> 2165/94	18,0	23,4	20,70
<i>Klebsiella pneu. ssp. pneu.</i> 2169/94	18,0	18,0	18,00
<i>Enterobacter cloacae</i> 667/92	14,4	21,6	18,00
<i>Enterobacter cloacae</i> 1125/92	14,4	19,8	17,10
<i>Enterobacter cloacae</i> 2377/92	21,6	23,4	22,50
<i>Citrobacter freundii</i> 2683/93	25,2	19,8	22,50
<i>Citrobacter amalonaticus</i> 768/92	28,8	23,4	26,10
<i>Citrobacter diversus</i> 2056/90	25,2	28,8	27,00
<i>Morganella morganii</i> 2578/90	18,0	29,0	23,50
<i>Proteus vulgaris</i> 2174/94	25,2	28,8	27,00
<i>Proteus mirabilis</i> 2179/94	18,0	21,6	19,80
<i>Serratia marcescens</i> 2413/93	18,0	25,2	21,60
<i>Serratia marcescens</i> I 2172/94	25,2	23,4	24,30
<i>Serratia marcescens</i> II 2173/94	18,0	21,6	19,80
<i>Hafnia alvei</i> 2669/93	25,2	30,6	27,90
<i>Hafnia alvei</i> 1624/92	25,2	30,6	27,90
<i>Hafnia alvei</i> 1348/92	28,8	34,2	31,50
Summe Σ	780,30	794,90	
arithmetisches Mittel \bar{x}	26,01	26,50	

Streuungsursache	SQ	Df	MQ	Prüfgröße	F-tab.
Faktor: Stamm (Zeilen)	5184,769	29	178,785	9,904	1,861
Faktor: Versuch (Spalten)	3,553	1	3,553	0,197	4,183
Zufallsfehler	523,507	29	18,052		
Gesamt	5711,829	59			

Für die Generationszeit konnte nach Betrachtung der Häufigkeitsverteilung über alle Gattungen und nach Betrachtung der Standardabweichungen eine **Normalverteilung** vorausgesetzt werden.

Zur Beschreibung der Generationszeit der einzelnen Genera wurden Generationszeit-mittelwerte (Mittelwerte der Gattungen aus 2 Bestimmungen und 3 Stämmen) und Standardabweichungen, multiple Boxplots, Punktdiagramme und Mittelwertdiagramme im Anschluß an Varianzanalysen (ein- und zweifaktoriell) verwendet.

Zur Beschreibung des Einflusses von Temperatur und pH-Wert auf die Generationszeit dienten zunächst 10 einfaktorielle Varianzanalysen, die die Generationsdauer bei konstanter Temperatur bzw. konstantem pH-Wert charakterisierten. Im Anschluß an jede Varianzanalyse erfolgten 4 Mittelwertvergleiche mit vergleichsbezogenem $\alpha = 0,05$ (**multipler t-Test**).

Zusätzlich wurde für jede Temperatur eine zweifaktorielle Varianzanalyse mit den Faktoren Gattung und pH-Wert durchgeführt (Tabellen im Anhang), die Grundlage für die beschreibenden Mittelwertdiagramme war. Bei den in die Untersuchungen einbezogenen Temperaturen und/oder pH-Werten, die extrem vom Optimum abwichen, ist zu beachten, daß durch die hier auftretende

Streuung der Ergebnisse die Voraussetzungen für die Varianzanalyse eigentlich nicht mehr erfüllt und diese Ergebnisse deshalb unter Vorbehalt zu interpretieren sind.

Für die **zusammenfassende Darstellung** wurden zweifaktorielle Varianzanalysen für die Generationszeitmittelwerte über alle Gattungen (außer *Yersinia* spp.) und die Faktoren Temperatur und pH-Wert erstellt.



Seitenanfang

webdesigned and layouted by [Reik H. Börger](#), Oct. 97



umblättern

Anfang
Eigene Untersuchungenzu Punkt
3.2.3Inhalts-
verzeichniszu Punkt
3.4Ende
Eigene Untersuchungen

3.3 Versuchsreihen

Die Bestimmung der Generationszeit erfolgte in Abhängigkeit von der Temperatur und dem pH-Wert.

Für die Einflußgröße **Temperatur** wurde ein Spektrum von 10 bis 40°C ausgewählt, wobei in Abstufungen von 5°C-Intervallen die Detektionszeiten gemessen wurden. Da sich während der Untersuchungen zeigte, daß im Temperaturbereich unter 20°C weniger Ergebnisse aufgrund der zunehmenden Streuung in die spätere Auswertung einbezogen werden konnten, wurden die Temperaturen 12°C und 18°C in die Untersuchungen aufgenommen, um genauere Aussagen zur Veränderung der Generationszeit unterhalb von 20°C treffen zu können. Im Hinblick darauf, daß 37°C der normalen Körpertemperatur vieler Säuger und der beschriebenen Optimaltemperatur der Enterobakterien nahekommt, wurden die Detektionszeiten auch bei dieser Temperatur ermittelt.

Die Bestimmung der Detektionszeiten in je 2 Meßzellen pro Stamm erfolgte somit bei Temperaturen von 10°C, 12°C, 15°C, 18°C, 20°C, 25°C, 30°C, 35°C, 37°C und 40°C.

Die für die Inkubation von maximal 120 Proben ausgewählte Temperatur wurde am Inkubator eingestellt und blieb während der Untersuchung konstant.

Auf Untersuchungen im Bereich tieferer Temperaturen wurde verzichtet, da sich in Vorversuchen zeigte, daß nach ca. 150 Stunden Laufzeit, also gut 6 Tagen, auch in den Meßzellen mit der höheren Ausgangskeimzahl bei den meisten Versuchstämmen noch keine Detektion registriert werden konnte. Wenn dennoch Detektionskurven aufgezeichnet wurden, war die Streuung der Ergebnisse so groß und die Wiederholbarkeit so gering, daß keine einheitlichen Aussagen getroffen werden konnten.

Als zweiter Einflußfaktor war der **pH-Wert** Gegenstand der Untersuchungen, wobei 4 aus lebensmittelhygienischer Sicht interessante pH-Werte zwischen 5,0 und 6,5 ausgewählt wurden. Zudem wurde die Generationsdauer im neutralen Bereich bei einem pH-Wert von 7,3 bestimmt.

Die Prüfungen zum Einfluß unterschiedlicher pH-Werte auf die Generationszeiten erfolgten lediglich im Bereich günstiger Vermehrungstemperaturen. Bei Inkubationstemperaturen unterhalb von 20°C waren die Detektionszeiten, wie Vorversuche gezeigt hatten, bereits so lang, daß zusätzliche Beeinträchtigungen der Keimvermehrung durch eher ungünstige Medien-pH-Werte untersuchungstechnisch nicht relevant erschienen.

Tabelle 16: Charakterisierung der Versuchsreihen

Versuchsreihe	Temperatur	pH-Werte
1.	40°C	7,3
2.	37°C	5,0 5,5 6,0 6,5 7,3
3.	35°C	5,0 5,5 6,0 6,5 7,3
4.	30°C	5,0 5,5 6,0 6,5 7,3

5.	25°C	5,0 5,5 6,0 6,5 7,3
6.	20°C	5,0 5,5 6,0 6,5 7,3
7.	18°C	7,3
8.	15°C	7,3
9.	12°C	7,3
10.	10°C	7,3

Die pH-Werte 5,0; 5,5; 6,0; 6,5 oder 7,3, bei denen die Detektionszeiten registriert werden sollten, wurden in der Nährbouillon eingestellt. Dafür wurde zuerst die Temperatur der Bouillon im Wasserbad der Höhe der ausgewählten Untersuchungstemperatur angeglichen. Die jeweiligen pH-Werte wurden durch Zugabe von 99%iger Milchsäure bzw. 33%iger Natronlauge reguliert. Anschließend wurden mit Hilfe eines Digital-pH-Meßgerätes die eingestellten pH-Werte elektrometrisch überprüft.

Somit stellte der pH-Wert im Gegensatz zur Temperatur lediglich zu Versuchsbeginn eine fixe Größe dar (Initial-pH-Wert) und unterlag im Verlaufe der Untersuchung in den Meßzellen Veränderungen durch die Mikrobentätigkeit.

Die durchgeführten Messungen ließen sich insgesamt **10 Versuchsreihen** zuordnen, welche Tabelle 16 zeigt.

Die Inkubations- bzw. Meßdauer betrug minimal 18 und maximal 260 Stunden. Durch den an das Impedanzmeßgerät angeschlossenen PC wurden die Impedanzdetektionszeiten und die Laufzeiten der Versuche automatisch registriert. Da während des Versuchszeitraumes aus technischen Gründen nur 120 Meßplätze zu Verfügung standen (120-Proben-Inkubator), konnten nur 2 Versuchsansätze gleichzeitig begonnen werden.

Für jeden zu untersuchenden Stamm wurde die Detektionszeit in 2 Verdünnungsstufen bestimmt. Bei 30 Versuchsstämmen belegte ein Versuchsansatz somit 60 Meßplätze.

Die verbleibenden weiteren 60 Meßplätze wurden mit einem anderen Versuchsansatz - einer anderen Kombination der zu untersuchenden Einflußfaktoren - besetzt. Bei einer festgesetzten Temperatur konnten jeweils 120 Meßzellen inkubiert werden.

Die Inkubationstemperatur wurde festgelegt und die Versuchsansätze unterschieden sich in ihrem pH-Wert. D.h.:

- 1. Versuchsansatz: Temperatur A und pH-Wert A,
- 2. Versuchsansatz: Temperatur A und pH-Wert B.

Zu einem späteren Zeitpunkt wurden die Messungen nach gleichem Versuchsschema wiederholt.

Es wurde vermieden, die Meßdaten für Versuch 1 und für Versuch 2 (Tabelle 15) eines Versuchsansatzes (ein Parameterpaar) zeitgleich zu ermitteln, um Fehler, die während der Herstellung der Verdünnungsreihen, der Einstellung des pH-Wertes, der Inkubation im Impedanzmeßgerät selbst oder anderweitig wiederholt auftreten können, weitgehend auszuschließen.



Seitenanfang

webdesigned and layouted by [Reik H. Börger](#), Oct. 97



umblättern



Anfang

Eigene Untersuchungen



zu Punkt

3.3

Inhalts-
verzeichnis

zu Punkt

3.4.2



Ende

Eigene Untersuchungen

3.4 Ergebnisse

Insgesamt 60 Versuchsansätze dienten der Bestimmung der Generationszeiten lebensmittelhygienisch relevanter *Enterobacteriaceae*-Keime. Je Versuchsansatz erfolgte dabei die Bestimmung der Detektionszeit von 30 Stämmen in den Verdünnungsstufen 10^{-4} und 10^{-6} bei definierten Temperaturen und pH-Werten. Die Generationsdauer wurde bei Temperaturen zwischen 10°C und 40°C und bei 5 verschiedenen pH-Werten ermittelt.

Die Ergebnisse der Generationszeitbestimmung in Abhängigkeit von der Temperatur sind in den Tabellen 18 bis 23 und im Anhang in den Tabellen 78 und 79 dargestellt.

Um die Auswertung hinsichtlich der Einflußfaktoren übersichtlicher zu gestalten, wurden die einzelnen Versuchsansätze einer bestimmten Auswertungsrubrik zugerechnet. Jeder Rubrik sind eine Konstante und eine Variable zugeordnet (Tabelle 17).

Die ermittelten Generationsintervalle der Versuchsstämme werden im Kapitel 3.4.1 bei konstanten Temperaturen (Rubrik A - E) dargestellt und ausgewertet. Im darauffolgenden Kapitel 3.4.2 werden sie dann unter dem Gesichtspunkt gleicher Initial-pH-Werte (Rubrik F-J) betrachtet.

Tabelle 17: Rubriken der Auswertung und ihre Charakterisierung

Rubrik	Kapitel	Temperaturen	pH-Werte	Anzahl der ausgewerteten Stämme
A	3.4.1.1	37°C	5,0 5,5 6,0 6,5 7,3	30 (29 bei pH 5,5 und 27 bei 5,0)
B	3.4.1.2	35°C	5,0 5,5 6,0 6,5 7,3	30 (29 bei pH 5,5 und 26 bei 5,0)
C	3.4.1.3	30°C	5,0 5,5 6,0 6,5 7,3	30 (28 bei pH 5,0)
D	3.4.1.4	25°C	5,0 5,5 6,0 6,5 7,3	30 (29 bei pH 5,0)
E	3.4.1.5	20°C	5,0 5,5 6,0 6,5 7,3	30 (25 bei pH 5,0 und 5,5)
F	3.4.2.1	$12^{\circ}\text{C}, 15^{\circ}\text{C}, 18^{\circ}\text{C},$ $20^{\circ}\text{C}, 25^{\circ}\text{C}, 30^{\circ}\text{C},$ $35^{\circ}\text{C}, 37^{\circ}\text{C}, 40^{\circ}\text{C}$	7,3	30 (19 bei 12°C , 27 bei 15°C)
G	3.4.2.2	$20^{\circ}\text{C}, 25^{\circ}\text{C}, 30^{\circ}\text{C},$ $35^{\circ}\text{C}, 37^{\circ}\text{C}$	6,5	30
H	3.4.2.3	$20^{\circ}\text{C}, 25^{\circ}\text{C}, 30^{\circ}\text{C},$ $35^{\circ}\text{C}, 37^{\circ}\text{C}$	6,0	30
I	3.4.2.4	$20^{\circ}\text{C}, 25^{\circ}\text{C}, 30^{\circ}\text{C},$ $35^{\circ}\text{C}, 37^{\circ}\text{C}$	5,5	25 - 30

Bei dieser Art der Auswertung kommt es zwangsläufig zu Überschneidungen. Beispielsweise werden die Meßwerte, die bei 30°C und pH-Wert 6,0 gewonnen wurden, in der Rubrik C und in der Rubrik H gleichermaßen Berücksichtigung finden.

Anschließend werden die Ergebnisse im Kapitel 3.4.2 komplex und zusammenfassend dargestellt.

3.4.1 Ergebnisse der Modelluntersuchungen bei konstanten Temperaturen und unterschiedlichen pH-Werten

In den kommenden Abschnitten werden die Ergebnisse, die bei jeweils identischer Inkubationstemperatur aber unterschiedlichem Medien-pH-Wert gewonnen wurden, dargestellt. Zur besseren Übersichtlichkeit wurden die Ergebnisse zu Generationszeit-mittelwerten der Genera zusammengefaßt. Die Mittelwerte wurden für 3 Stämme einer Gattung aus 6 Werten errechnet ($n=6$) und sind neben ihren Standardabweichungen in Tabellen aufgeführt. Die Standardabweichungen sollen verdeutlichen, inwieweit die Generationszeiten der Stämme einer Gattung voneinander differieren.

Bei der Auswertung der Ergebnisse fiel auf, daß die Standardabweichungen der Meßwerte bei Gattungen mit einer und mit mehreren Arten nahezu identisch waren, unabhängig davon, bei welcher Temperatur oder welchem pH-Wert sie ermittelt wurden. Daher wurde von einer Zusammenstellung der Gattungen und ihrer Ergebnisse geordnet nach "Gattungen mit einer Spezies" (wie z.B. *Escherichia*) und "Gattungen mit mehreren Spezies" (wie z.B. *Salmonella*) abgesehen. In den Tabellen 18 bis 23 sind somit alle geprüften Gattungen mit ihren Ergebnissen gleichrangig aufgelistet.

3.4.1.1 Rubrik A - Temperatur 37°C

Bei einer Temperatur von 37°C lagen die Generationszeiten der meisten *Enterobacteriaceae*-Stämme bei den pH-Werten 7,3 , 6,5 und 6,0 im Durchschnitt zwischen 20 und 24 min, das zeigt auch die Position des Zentralwertes (Median) in Abbildung 5.

Tabelle 18: Generationszeiten (min) und Standardabweichungen bei 37°C (n = 6, *n=4)

Gattungen	5,0		5,5		6,0		6,5		7,3	
	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s
<i>Salmonella</i>	32,3	3,7	35,7	4,6	21,9	1,9	20,4	3,5	23,1	3,5
<i>Shigella</i>	38,6	6,5	26,1	3,2	22,1	2,6	20,7	2,3	21,3	0,8
<i>Yersinia</i>	n.b.		*69,3	12,3	52,5	6,5	30,9	8,3	44,1	8,2
<i>Escherichia</i>	27,8	3,6	27,6	6,2	20,9	1,4	19,5	1,7	20,7	4,4
<i>Klebsiella</i>	59,7	55,0	31,2	16,5	20,6	5,3	20,1	4,7	21,6	2,1
<i>Enterobacter</i>	34,2	2,6	30,3	7,7	20,9	1,6	20,1	0,8	19,2	4,7
<i>Citrobacter</i>	29,9	8,8	35,1	3,9	21,0	2,1	21,0	1,7	20,6	2,7
<i>Tribus Proteus</i>	97,5	47,3	60,6	34,7	22,7	4,0	22,7	4,6	23,4	3,2
<i>Serratia</i>	40,7	4,5	30,0	6,8	24,9	2,5	22,7	1,8	23,1	4,6
<i>Hafnia</i>	37,1	3,6	38,1	2,8	29,9	2,0	23,4	2,8	27,0	2,6

Zeit in min

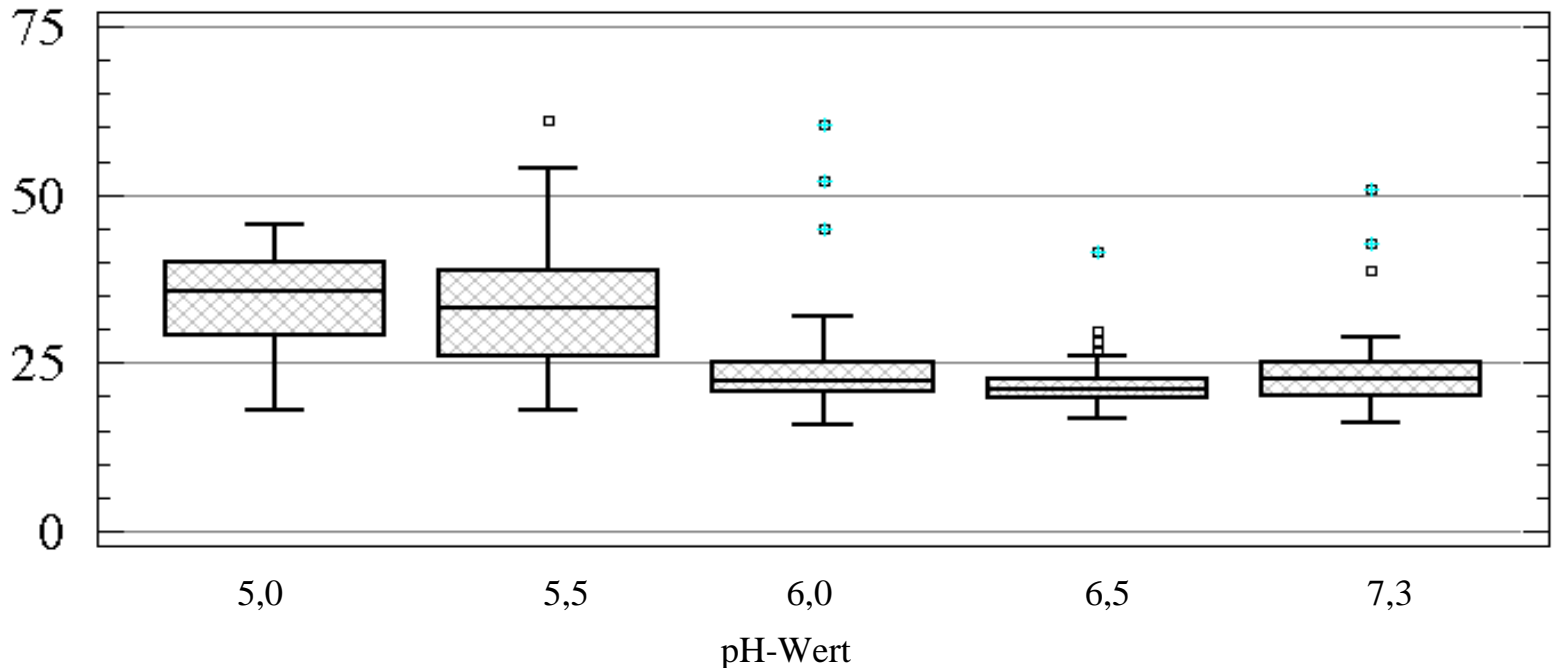


Abbildung 5: Generationszeiten der Versuchsstämme bei 37°C, pH-Wert-abhängig, dargestellt als Box-and-Whisker Plots

Bei einem pH-Wert von 7,3 bildeten jedoch die Stämme der Gattung *Yersinia* eine Ausnahme und benötigten nahezu die doppelte Zeit (also 44 min) für einen Generationszyklus.

Die Generationszeiten der *Yersinien* waren von denen der anderen Stämme auch bei allen anderen geprüften pH-Werten verschieden.

Dies läßt sich nicht nur aus den im Anhang aufgeführten Statistiktabelle entnehmen, sondern ist auch sehr gut in Abb. 7 zu erkennen. Das Konfidenzintervall zum Generations-zeitmittelwert der *Yersinien* überlappte keines der Intervalle der anderen Genera.

Zeit in min

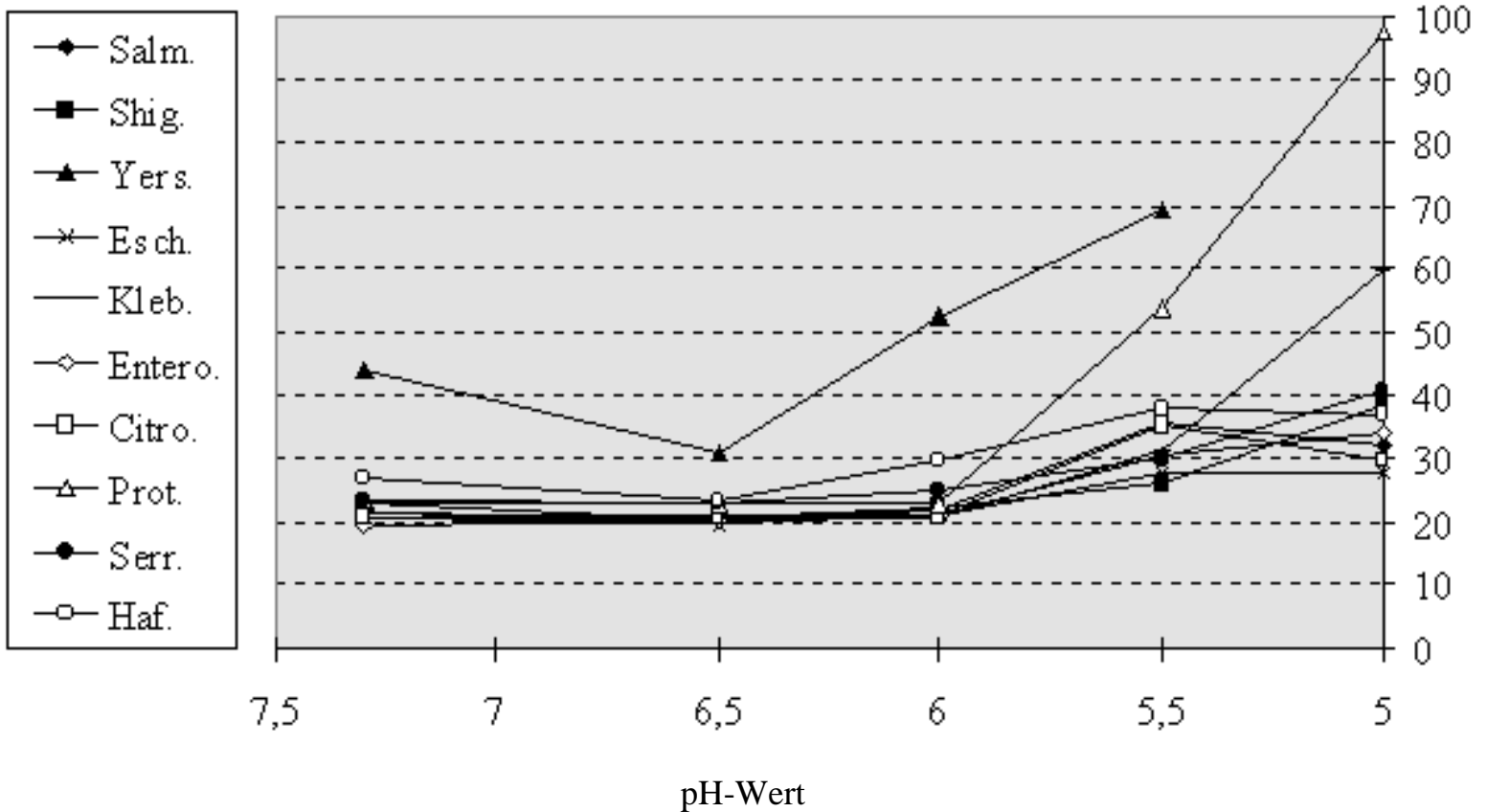


Abbildung 6: Generationszeitmittelwerte in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 37°C

Bei pH-Wert 6,5 war eine relativ starke Verkürzung der Generationszeiten der *Yersinien* im Vergleich zu pH-Wert 7,3 auffällig. Zwar wäre eine kürzere Generationsdauer der *Yersinien* bei einem pH-Wert von 6,5 denkbar, doch ist dies relativ unwahrscheinlich, da ein solches pH-Wert-Optimum durch die Ergebnisse bei 35°C nicht bestätigt wird. Wodurch es zu dieser Verkürzung kommt, ist den Ergebnissen nicht zu entnehmen. Zur Abklärung derartiger gattungsspezifischen Probleme bedarf es einer größeren Anzahl von Versuchsstämmen pro Gattung, möglicherweise auch wiederholter Prüfungen. Neben den *Yersinien* zeigten bei den pH-Werten 7,3, 6,5 und 6,0 auch die *Hafnien* eine abweichende Generationszeit. Sie war im Vergleich zu den übrigen Gattungen geringfügig länger (GZ: 27 min bei pH 7,3).

Die Streuung der Untersuchungsergebnisse zwischen den Gattungen war insgesamt bei den pH-Werten 6,0; 6,5 und 7,3 nur halb so groß wie bei 5,0 und 5,5. In der Abb. 5 wird dies aus der Größe der Box, die bspw. bei pH 6,0 sehr klein und bei pH 5,5 sehr groß ist, ersichtlich. Je größer die Box, desto stärker die Streuung.

Verringerte sich der pH-Wert auf 6,0, war ein geringfügiges Ansteigen der Generationszeiten zu verzeichnen, wobei die Keime der Tribus *Proteus* und bei pH 5,0 auch die *Klebsiella*-Keime stärker reagierten (Abb. 6). Die Generationszeit der Modellstämme lag im Mittel bei 22 min. Eine Ausnahme stellten wiederum die *Yersinien* dar, deren Generationszeit mehr als doppelt so lang war (53 min) und sich damit von allen anderen *Enterobacteriaceae* unterschied. Teilweise differierten auch die *Hafnien* mit einer Generationszeit von 30 min von den übrigen Stämmen.

Die Generationszeit betrug bei **pH-Wert 5,5** für alle untersuchten Gattungen, mit Ausnahme der *Yersinien* und der Tribus *Proteus*, im Durchschnitt 28 min. Damit lag sie nur unwesentlich über den

Generationszeiten im neutralen Bereich. Für die Stämme der Tribus *Proteus* lag der Generationszeitenmittelwert bei 60 min. Hier konnte somit eine starke Verlängerung im Vergleich zu den vorgenannten pH-Werten festgestellt werden. Die *Yersinien* hatten eine Generationszeit von 70 min, wobei, wie auch bei 35°C, nur von 2 *Yersinia*-Stämmen Meßwerte gewonnen werden konnten.

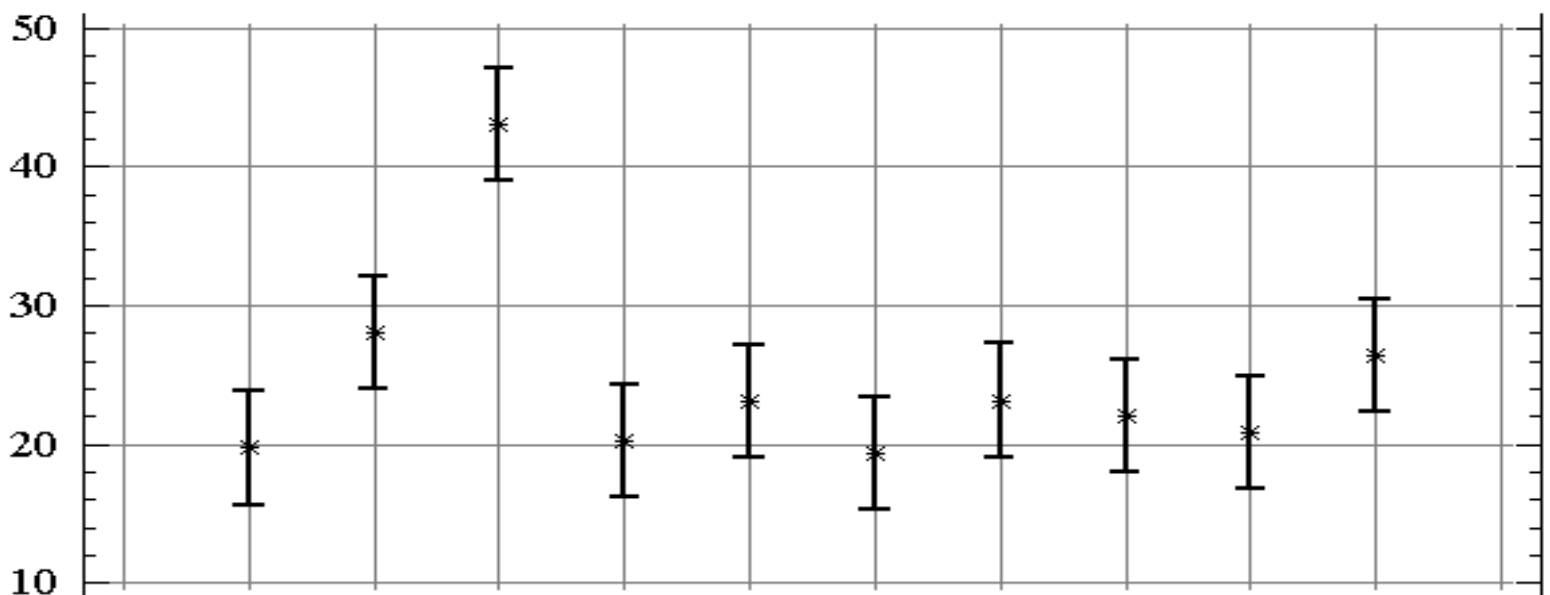
Im Vergleich der Ergebnisse bei pH 5,5 und pH 6,0 war die Verlängerung der Generationszeiten durch die Verringerung des pH-Wertes klar zu erkennen (vergleiche Zentralwerte in Abb. 5). Die Differenz der Generationszeiten für die Mehrzahl der Gattungen lag bei 6 min, dabei wurden die Tribus *Proteus* und die *Yersinien* ausgeklammert. Würden sie einbezogen, lägen die Mittelwerte 12 min auseinander.

Bei einem **pH-Wert von 5,0** verlängerte sich die mittlere Generationsdauer der *Enterobacteriaceae* auf 38 min. Die Gattungen *Yersinia* und Tribus *Proteus* wurden wiederum nicht in die Durchschnittsberechnung eingeschlossen. Für *Proteus* konnte eine mittlere Generationszeit von ca. 98 min festgestellt werden.

Für die *Yersinien* ließen sich bei dem niedrigsten der untersuchten pH-Werte keine Generationszeiten ermitteln. Übereinstimmend zu pH 5,0 bei 35°C bleibt die Frage offen, inwieweit eine Vermehrung des Genus *Yersinia* bei diesem pH-Wert möglich ist und ob bei längerer Versuchsdauer eine Generationszeit hätte bestimmt werden können. Eine Verkürzung der Generationsdauer bei pH-Wert 5,0 im Vergleich zu pH 5,5, wie sie aus Abb. 6 und Tab. 18 bei *Citrobacter*, *Salmonella* und *Hafnia* erkennbar ist, kann als untypisch angesehen werden ("Ausreißer"). Auffällig ist die große Streuung der Ergebnisse für die Gattungen der Tribus *Proteus* und *Klebsiella* bei den pH-Werten 5,0 und 5,5.

Zwischen den Generationszeiten der verschiedenen *Enterobacteriaceae*-Stämme bei pH-Wert 5,0 und pH 5,5 traten insgesamt gesehen keine signifikanten Unterschiede auf (Anhang, Tab. 42 und Abb. 5). Die Boxen in Abb. 5 sind fast gleich groß und auch der Median liegt in vergleichbarer Höhe. Trotzdem verlängerte sich die Generationszeit bei pH-Wert 5,0 gegenüber pH 5,5 im arithmetischen Mittel um 10 min.

Zeit in min



Genera: Salm. Shig. Yers. Esch. Kleb. Entero. Citro. Prot. Serr. Haf.

Abbildung 7: Means Plots - Generationszeitmittelwerte der Gattungen im 95% Konfidenzintervall (37°C/pH-Wert 5,0-7,3)

3.4.1.2 Rubrik B - Temperatur 35°C

Die Generationszeiten der Modellstämme (mit Ausnahme der *Yersinien*) lagen im **pH-Spektrum** von **5,5 bis 7,3** zwischen 20 und 27 min. Das Vermehrungsverhalten der Stämme bzw. die Länge ihrer Generationszeit änderte sich unter diesen Versuchsbedingungen nur geringfügig und nicht signifikant. In Abb. 8 sind die geringen Schwankungen des Medians zwischen pH 5,5; 6,0; 6,5 und 7,3 zu sehen. Die gleich starke Streuung der Ergebnisse bei allen vier pH-Werten wird durch die etwa gleich großen Boxen charakterisiert.

Die außerhalb der Boxen liegenden Meßpunkte (kleine Quadrate oberhalb der Boxen) sind den Ergebnissen der *Yersinien* zuzuordnen und Ausdruck signifikant längerer Generationszeiten. Diese betragen bei pH 5,5 , 6,0 und 6,5 etwa 50 min sowie bei pH 7,3 43 min.

Bei der Betrachtung der Ergebnisse im einzelnen waren bei pH 6,5 im Vergleich zu pH 7,3 der Anstieg des Generationszeitmittelwertes der *Salmonellen* und dessen Abfall bei den *Shigellen* - wie in Abb. 9 zu sehen - auffällig. Möglicherweise sind diese überraschenden Ergebnisse aber der allgemeinen Streuung zuzuschreiben.

Wie zu erwarten, gab es zwischen 35°C und 37°C bei den pH-Werten 6,0 bis 7,3 keine auffälligen Unterschiede in den Generationszeiten.

Zeit in min

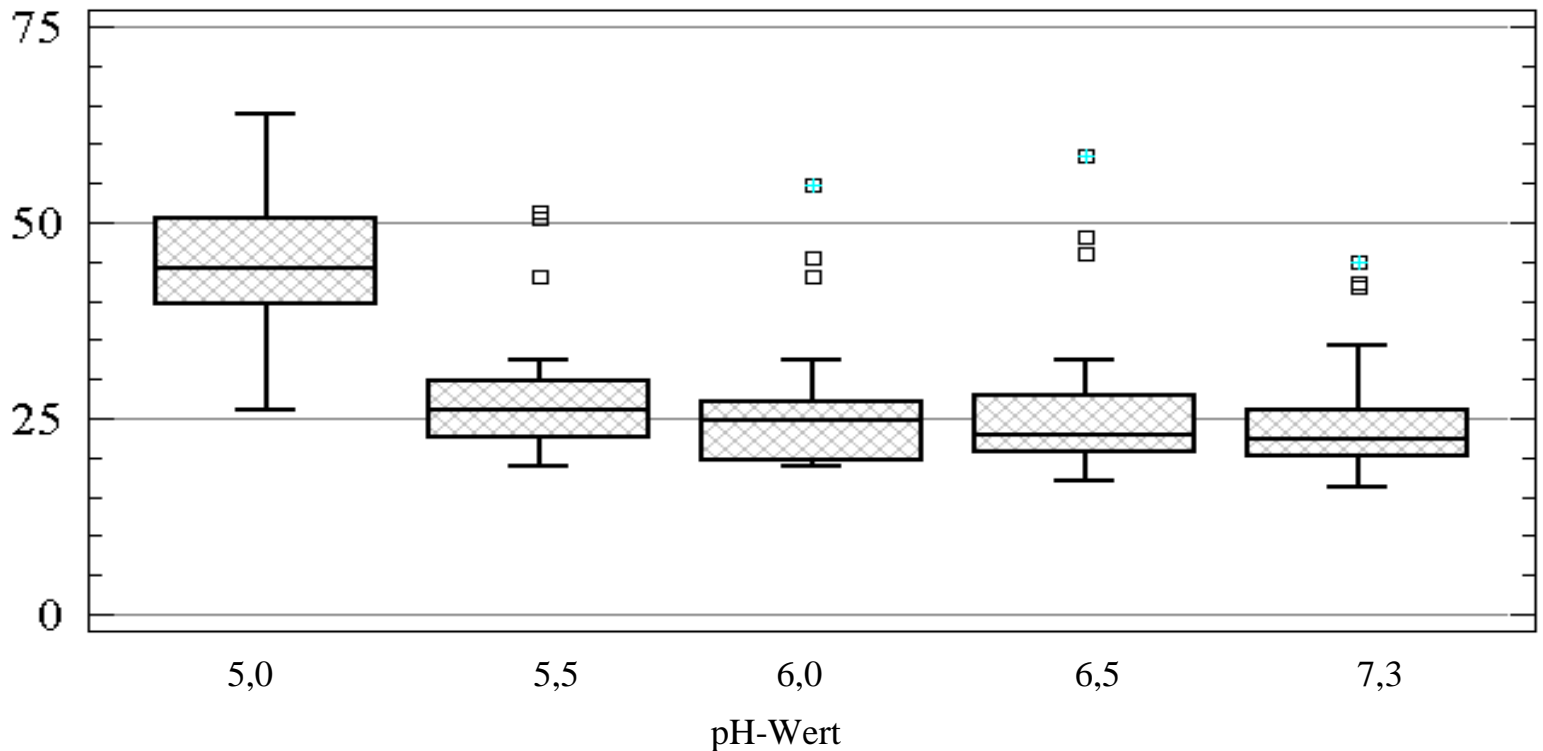


Abbildung 8: Generationszeiten der Versuchsstämme bei 35°C, pH-Wert-abhängig, dargestellt als Box-and-Whisker Plots

Bei **pH-Wert 6,0** lag der Generationszeitenmittelwert aller *Enterobacteriaceae*-Stämme bei 24 min

und bei **pH-Wert 5,5** bei 26 min. Unterschiede ließen sich nur gegenüber den 2 *Yersinia*-Stämmen feststellen, deren Generationszeit etwa den doppelten Wert erreichte.

Der signifikante Unterschied zwischen den Ergebnissen der *Yersinien* und denen der übrigen Gattungen wird auch bei 35°C deutlich (Abb. 9). Differenzen zwischen den Mittelwerten der *Yersinien* und denen der übrigen Gattungen konnten bei allen pH-Werten beobachtet werden. Die *Yersinien* benötigten bei 35°C etwa die doppelte Zeit für einen Generationszyklus wie alle anderen geprüften *Enterobacteriaceae*.

Bei einem pH-Wert von 5,5 ließen sich bei 35°C gegenüber 37°C kürzere Generationszeiten feststellen. Sie betragen bei 35°C 26 min und bei 37°C hingegen 34 min. Diese Verkürzung der Generationsdauer bei einer niedrigeren Temperatur überraschte und war nicht zu erwarten. Da die Optimaltemperatur mit 37°C angegeben wird, wäre ein kürzeres Generationsintervall eher bei dieser Temperatur zu vermuten.

Tabelle 19: Generationszeiten (min) und Standardabweichungen bei 35°C (n = 6, *n=4)

Gattungen	5,0		5,5		6,0		6,5		7,3	
	\bar{x}	<i>s</i>	\bar{x}	<i>s</i>	\bar{x}	<i>s</i>	\bar{x}	<i>s</i>	\bar{x}	<i>s</i>
<i>Salmonella</i>	43,4	10,3	27,9	3,2	22,5	4,3	28,2	3,8	19,8	4,0
<i>Shigella</i>	49,2	4,4	26,7	2,4	26,4	1,3	21,3	2,2	28,1	9,7
<i>Yersinia</i>	n.b.		*50,9	7,7	47,9	8,8	50,9	7,3	43,1	1,6
<i>Escherichia</i>	44,4	5,5	21,9	1,2	21,0	3,1	20,3	3,1	20,3	3,0
<i>Klebsiella</i>	*27,9	1,9	27,3	12,1	24,3	6,2	23,1	6,4	23,1	5,2
<i>Enterobacter</i>	38,4	6,2	22,2	2,5	19,8	1,8	19,2	3,5	19,4	2,7
<i>Citrobacter</i>	40,5	6,2	25,3	3,5	21,9	1,6	25,2	3,1	23,2	2,8
<i>Tribus Proteus</i>	51,9	15,3	23,6	3,5	29,1	2,5	23,4	4,6	22,1	3,1
<i>Serratia</i>	48,0	7,4	27,3	2,8	23,0	2,6	21,9	3,0	20,9	1,7
<i>Hafnia</i>	50,7	8,7	30,6	2,5	29,4	2,0	29,1	3,2	26,4	2,6

Zeit in min

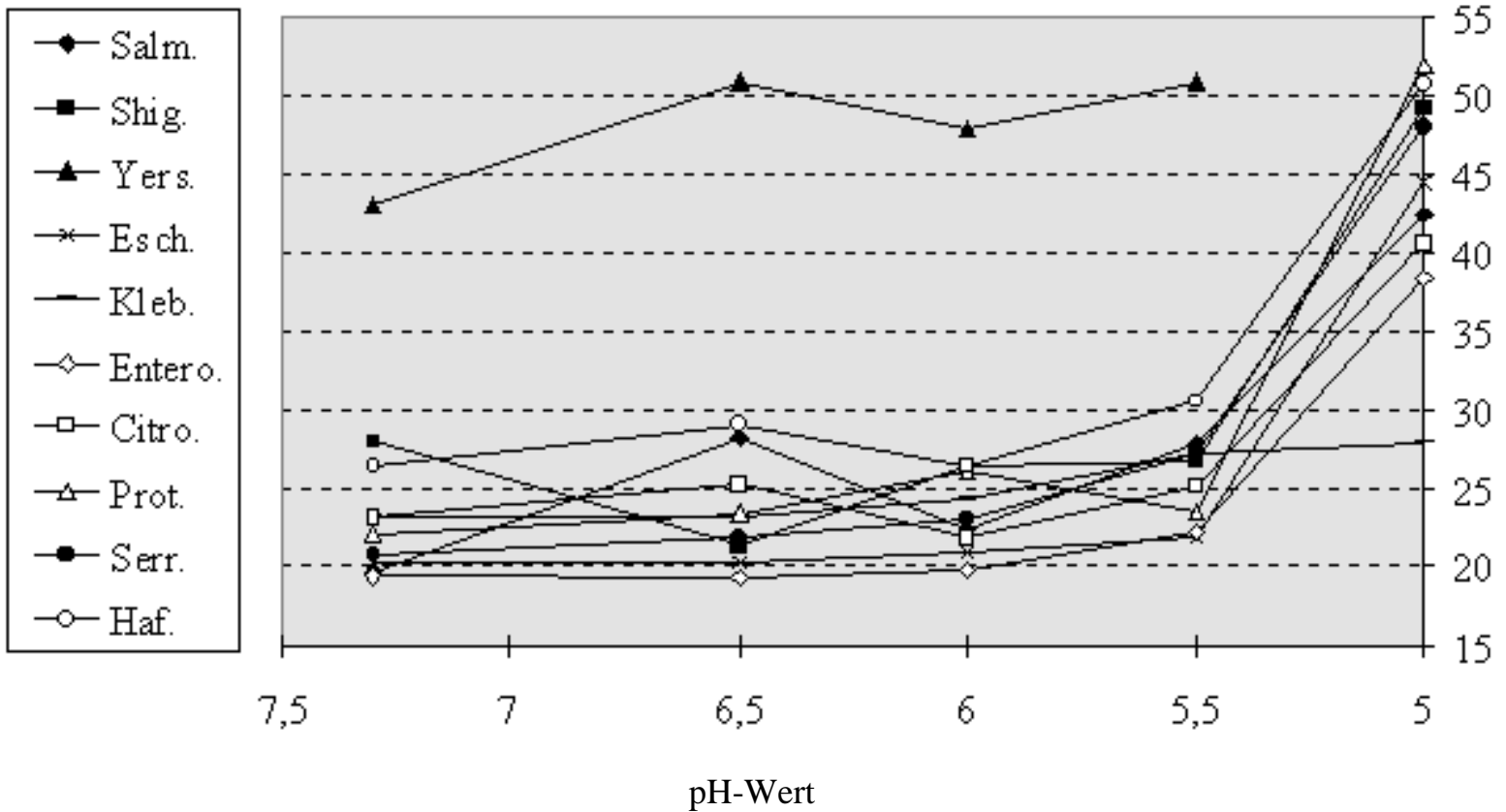
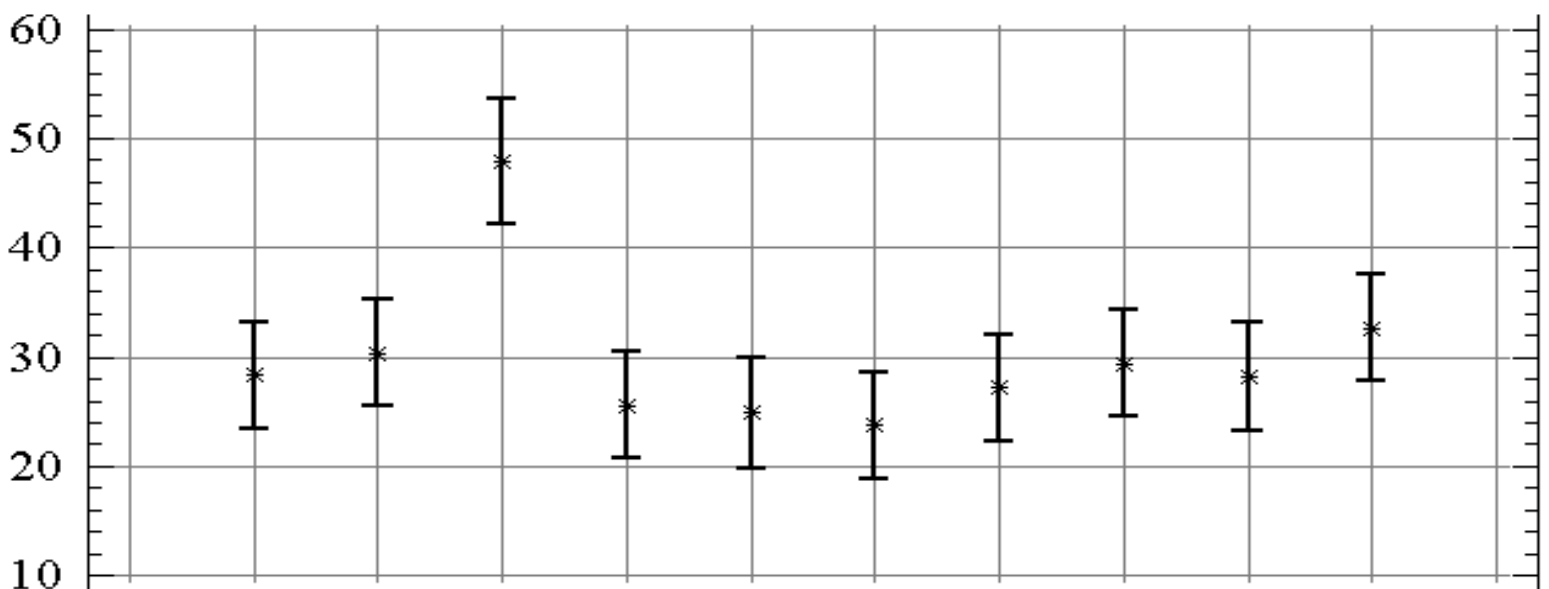


Abbildung 9: Generationszeitmittelwerte in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 35°C

Die Generationszeiten der geprüften Stämme betragen bei **pH-Wert 5,0** ca. 45 min und damit das Doppelte wie bei pH-Wert 7,3. Bei 35°C trat somit erstmals bei diesem pH-Wert eine drastische Verzögerung von Wachstum und Vermehrung für alle Modellstämme ein. In Abb. 9 wird dies durch den starken Anstieg der Kurven veranschaulicht.

Für die *Yersinien* ließen sich bei pH 5,0 im Untersuchungszeitraum keine Meßwerte ermitteln, bei den *Shigellen* lagen nur 4 Wertepaare vor (in Tab. 19 vermerkt als *n=4).

Zeit in min



Genera: Salm. Shig. Yers. Esch. Kleb. Entero. Citro. Prot. Serr. Haf.

Abbildung 10: Means Plots - Generationszeitmittelwerte der Gattungen im 95% Konfidenzintervall (35°C/pH-Wert 5,0-7,3)

Die Generationszeiten der *Yersinien* konnten demnach bei keiner Untersuchungstemperatur oberhalb von 30°C und einem pH-Wert von 5,0 bestimmt werden. Es ist jedoch anzunehmen, daß eine Ermittlung der Generationsdauer unter diesen Bedingungen generell möglich ist, auch wenn im Untersuchungszeitraum keine Meßwerte impedimetrisch erfaßt wurden.

3.4.1.3 Rubrik C - Temperatur 30°C

Die einzelnen Gattungen der *Enterobacteriaceae*, mit Ausnahme der *Yersinien*, verhielten sich bei 30°C und pH-Werten von 5,5, 6,0, 6,5 und 7,3 hinsichtlich ihrer Generationszeit ähnlich. Im Diagramm Abb. 11 ist der annähernd geradlinige Verlauf der Kurven ein eindeutiges Indiz hierfür. Die Generationszeitmittelwerte lagen jeweils etwa um 25% über den bei 37°C registrierten Ergebnissen.

Bei **pH-Wert 7,3** konnte für den Großteil der Stämme eine Generationszeit von 28 min ermittelt werden. Für die *Yersinien* lag diese bei 53 min. Die durchschnittliche Generationszeit bei einem **pH-Wert von 6,5** lag ebenfalls bei 28 min und bei **pH 6,0** bei 31 min, mit Ausnahme der *Yersinien*, für die sie jeweils 51 min betrug.

Bei einem **pH-Wert von 5,5** verlängerte sich die Generationszeit der *Enterobacteriaceae*, bis auf die der *Yersinien*, auf 42 min. Die Gattungen *Salmonella*, *Escherichia* und *Shigella* reagierten empfindlicher auf den niedrigen pH-Wert. Dies wird auch aus dem Kurvenverlauf in Abb. 11 ersichtlich. Die *Yersinien* zeigten deutliche Unterschiede zu allen anderen Stämmen. Ihre Generationszeit betrug ca. 68 min.

Innerhalb des pH-Wert-Bereiches 5,5 bis 7,3 zeigte sich, daß bei pH 5,5 mehr Zeit für einen Generationszyklus benötigt wird als bei pH-Wert 7,3. Beim Vergleich der Generationszeiten-mittelwerte (ohne *Yersinia* spp.) ließ sich feststellen, daß die Unterschiede bei pH 5,5 bis pH 7,3 nicht signifikant waren. Sie wurden es erst im Vergleich zu pH-Wert 5,0, was auch aus den Box-and-Whisker Plots Abb. 12 zu ersehen ist.

Tabelle 20: Generationszeiten (min) und Standardabweichungen bei 30°C (n = 6, **n=2)

Gattungen	5,0		5,5		6,0		6,5		7,3	
	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s
<i>Salmonella</i>	73,8	17,5	45,0	8,3	34,5	3,0	29,4	9,0	26,0	3,8
<i>Shigella</i>	146,4	56,8	44,7	5,7	32,4	3,6	28,8	4,3	33,6	2,2
<i>Yersinia</i>	**219,6	18,0	68,4	6,9	51,0	8,9	51,3	27,6	52,7	14,1
<i>Escherichia</i>	62,7	13,8	37,5	10,5	30,9	2,6	23,1	6,4	25,8	4,4
<i>Klebsiella</i>	43,8	7,3	32,4	5,7	29,7	4,3	39,0	12,0	28,2	3,5
<i>Enterobacter</i>	66,9	9,0	27,6	5,1	29,7	5,9	25,2	3,6	24,9	3,8
<i>Citrobacter</i>	64,2	14,1	35,3	6,5	31,7	8,2	27,0	2,5	27,9	0,5
<i>Tribus Proteus</i>	81,3	12,5	31,2	9,0	28,5	6,1	24,0	3,8	30,6	4,6
<i>Serratia</i>	53,4	8,7	36,6	4,4	27,8	1,3	29,1	3,9	26,3	1,5
<i>Hafnia</i>	58,4	4,7	34,2	4,2	31,2	1,7	31,2	3,0	29,4	2,2

Zeit in min

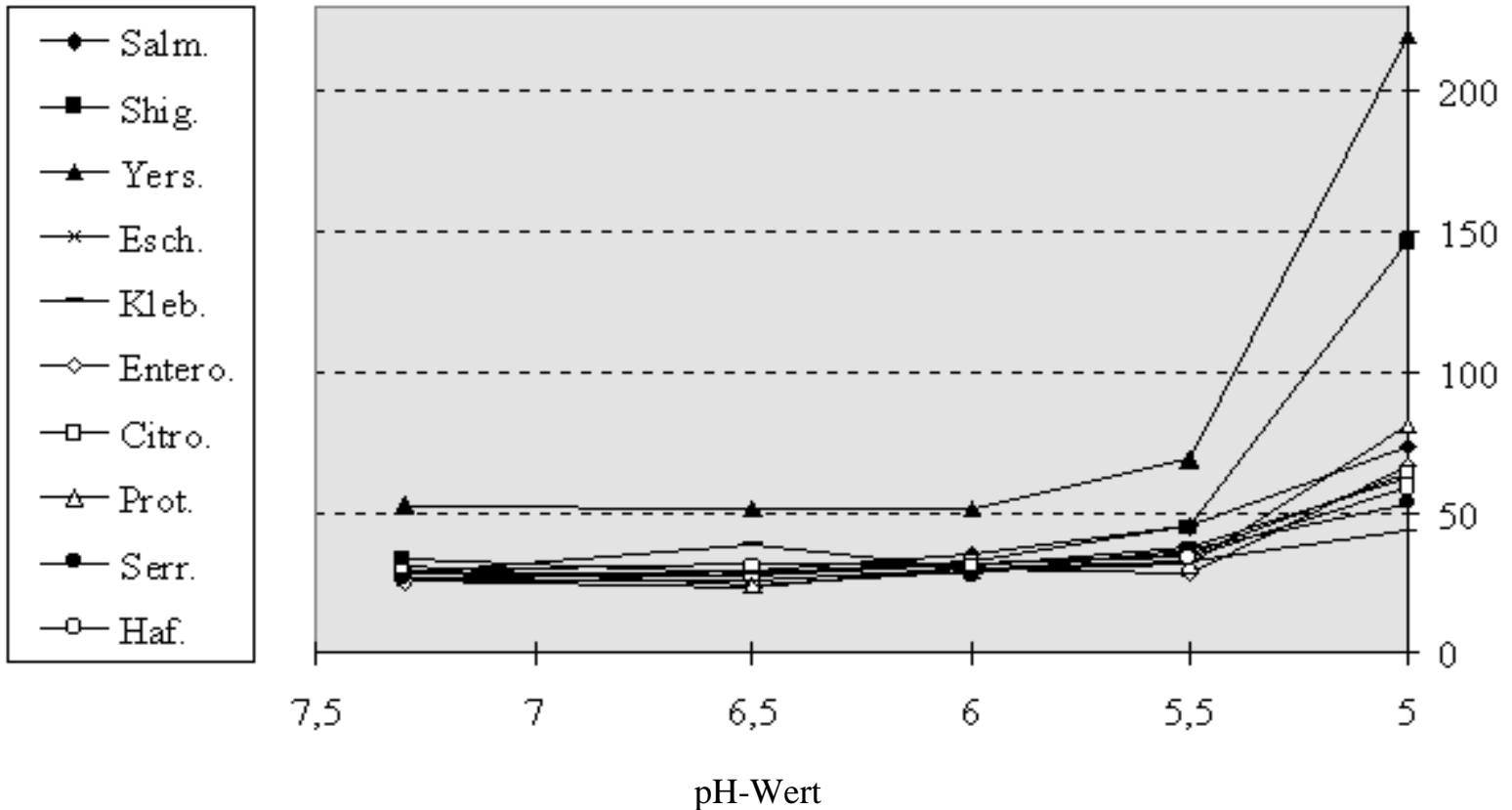


Abbildung 11: Generationszeitmittelwerte in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 35°C

Bei **pH-Wert 5,0** waren die Mittelwerte der einzelnen Gattungen teilweise sehr verschieden. Für den Großteil der Gattungen: *Salmonella*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, Tribus *Proteus*, *Serratia* und *Hafnia* betrug die Zeit für einen Generationszyklus etwa 63 min. Bei den *Shigella*-Stämmen war die Teilungsrate geringer, und die Generationszeit lag bei 146 min.

Auch die *Yersinien* wurden in ihrer Vermehrung stark gehemmt, wobei wiederum nur 2 Wertepaare gewonnen werden konnten. Daher kann angenommen werden, daß die Generationszeit der *Yersinien* bei 30°C und pH 5,0 220 min übersteigt.

Zeit in min

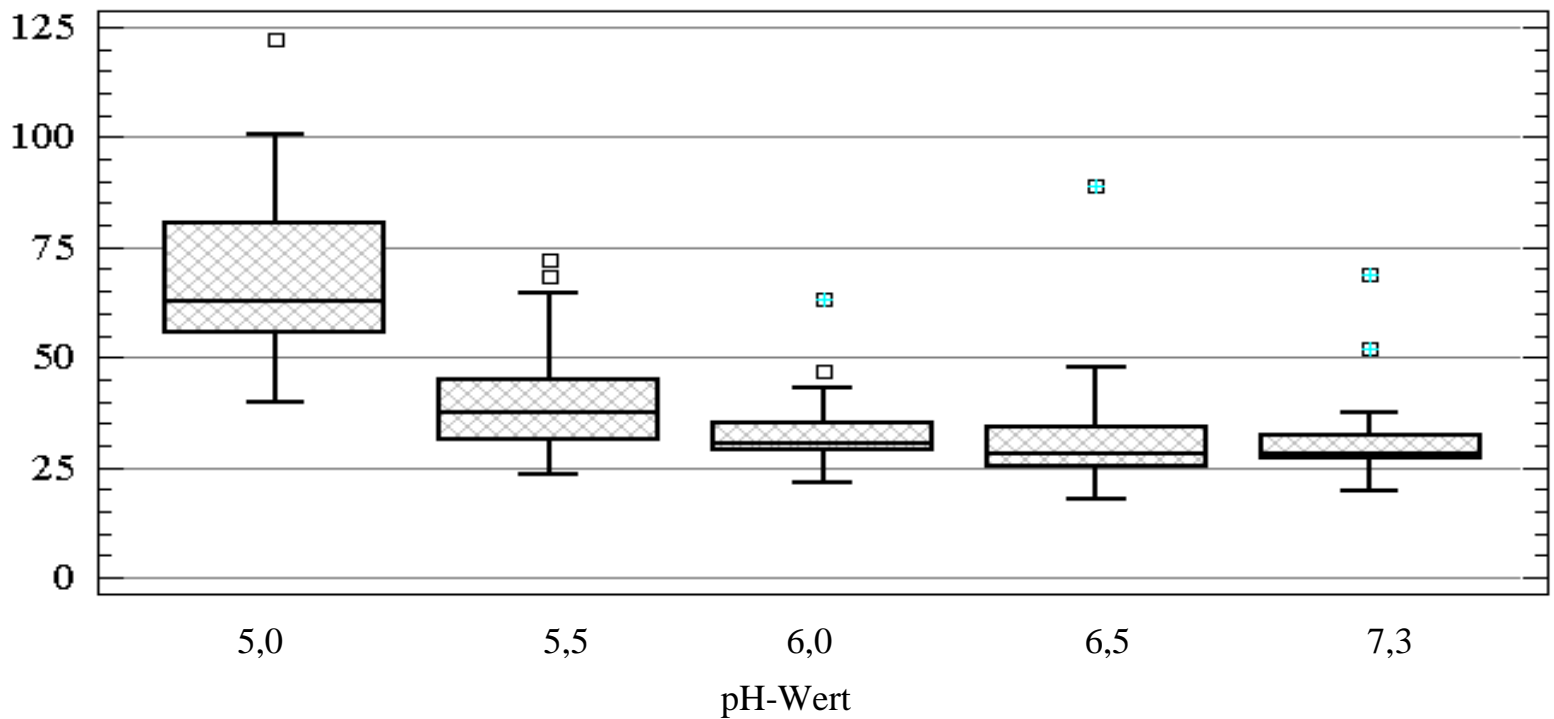
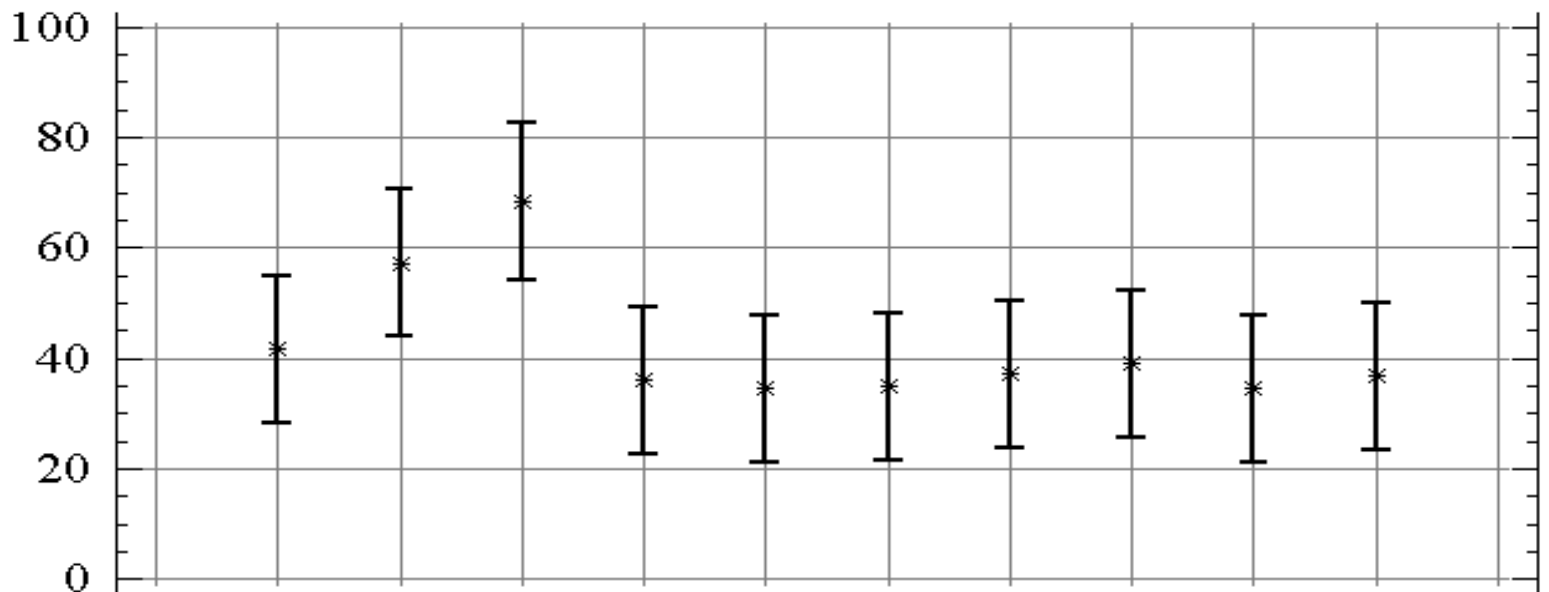


Abbildung 12: Generationszeiten der Versuchsstämme bei 30°C, pH-Wert-abhängig, dargestellt als Box-and-Whisker Plots

Zeit in min



Genera: Salm. Shig. Yers. Esch. Kleb. Entero. Citro. Prot. Serr. Haf.

Abbildung 13: Means Plots - Generationszeitmittelwerte der Gattungen im 95% Konfidenzintervall (30°C/pH-Wert 5,0-7,3)

Zwischen den pH-Werten 5,0 und 5,5 ließ sich insgesamt gesehen ein signifikanter Unterschied bezüglich der Vermehrungsgeschwindigkeit feststellen. So verlängerte sich die Zeit für einen Generationszyklus bei pH 5,0 im Vergleich zu pH 5,5 auf etwa das Doppelte, im Durchschnitt von 39 auf 78 min. Dabei wurden die Stämme der Gattungen *Shigella* und *Yersinia* stärker in ihrer Vermehrung eingeschränkt als *Salmonella*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Proteus*, *Serratia* und *Hafnia* (vergleiche: Mittelwerte in Tabelle 20).

In der graphischen Darstellung der Means Plots, Abb. 13, die Aufschluß über die Signifikanz der Generationszeitenunterschiede (Mittelwerte) bei den verschiedenen Gattungen geben, kommt dies ebenfalls zum Ausdruck. Die Konfidenzintervalle zum Mean von *Shigella* und *Yersinia* überlappen nur noch teilweise die Intervalle der übrigen Gattungen. Im Diagramm, Abb. 11, ist ein starker Kurvenanstieg bei beiden Gattungen, demnach eine deutliche Verlängerung der Generationszeiten, erkennbar.

3.4.1.4 Rubrik D - Temperatur 25°C

Die Schwankungsbreite der Generationszeiten innerhalb der Familie erhöhte sich mit der Verringerung der Temperatur auf 25°C. Zum Teil reagierten die Gattungen bei dieser im Vergleich zu 37°C niedrigen Temperatur sehr unterschiedlich. Ausdruck dafür sind die sich nur noch teilweise überlappenden Konfidenzintervalle der Genera in Abb. 16. Auch die Generationszeiten der einzelnen Modellstämme begannen stärker zu streuen. Zwischen den Ergebnissen traten teilweise signifikante Unterschiede auf. Eine zusätzliche Streuung der Mittelwerte in Abhängigkeit von den Gattungen zeigte sich bei gleichzeitiger Verringerung des pH-Wertes auf 5,0. Dieser Tatbestand wird durch die sehr unterschiedliche Größe der Box-Plots in Abb. 15 veranschaulicht, wo bei pH 5,0 die größte Box und damit die größte Streuung zu verzeichnen ist.

Tabelle 21: Generationszeiten (min) und Standardabweichungen bei 25°C (n = 6, *n=4)

Gattungen	5,0		5,5		6,0		6,5		7,3	
	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s
<i>Salmonella</i>	84,2	15,9	73,2	12,5	53,4	10,0	44,3	4,6	38,3	6,4
<i>Shigella</i>	112,5	25,4	98,4	20,6	63,9	3,1	53,2	6,2	47,4	12,7
<i>Yersinia</i>	*95,0	8,3	94,2	23,8	61,5	7,0	53,0	16,1	49,5	5,3
<i>Escherichia</i>	61,2	18,4	78,3	14,2	47,7	4,3	44,4	3,8	42,0	8,3
<i>Klebsiella</i>	58,1	13,9	61,5	14,0	44,4	7,9	41,4	5,7	29,1	7,4
<i>Enterobacter</i>	59,9	12,0	63,3	2,4	46,3	9,8	40,1	6,1	34,4	3,8
<i>Citrobacter</i>	67,4	9,6	63,6	7,9	43,7	5,8	44,3	8,4	36,3	3,4
<i>Tribus Proteus</i>	138,0	39,1	62,4	21,5	49,5	5,8	44,4	6,0	41,4	7,2
<i>Serratia</i>	54,2	4,0	48,9	8,8	41,7	4,6	39,7	8,5	34,2	3,3
<i>Hafnia</i>	101,4	15,4	61,2	7,8	44,3	3,3	39,2	5,5	35,3	5,8

Meist differierten die Generationszeiten der Gattungen *Salmonella*, *Shigella* und *Yersinia* von denjenigen der übrigen *Enterobacteriaceae* (vergleiche Means Plots) und widerspiegelten damit empfindlicher den Einfluß niedriger pH-Werte. Ihre Generationszeiten lagen dadurch überwiegend über dem Durchschnitt der Familie. In Tabelle 21 sind die Mittelwerte der Gattungen aufgelistet.

Bei **pH-Wert 7,3** ließen sich bezüglich der Generationszeit zwei Gruppen voneinander abgrenzen, die sich wesentlich unterschieden. Ihre Mittelwertdifferenz betrug 11 min. Die Generationszeit der Gattungen *Shigella*, *Yersinia*, *Escherichia* und *Proteus* lag bei 45 min. Für die Stämme, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia* und *Hafnia*, war die Generationszeit mit 34 min wesentlich geringer.

Zeit in min

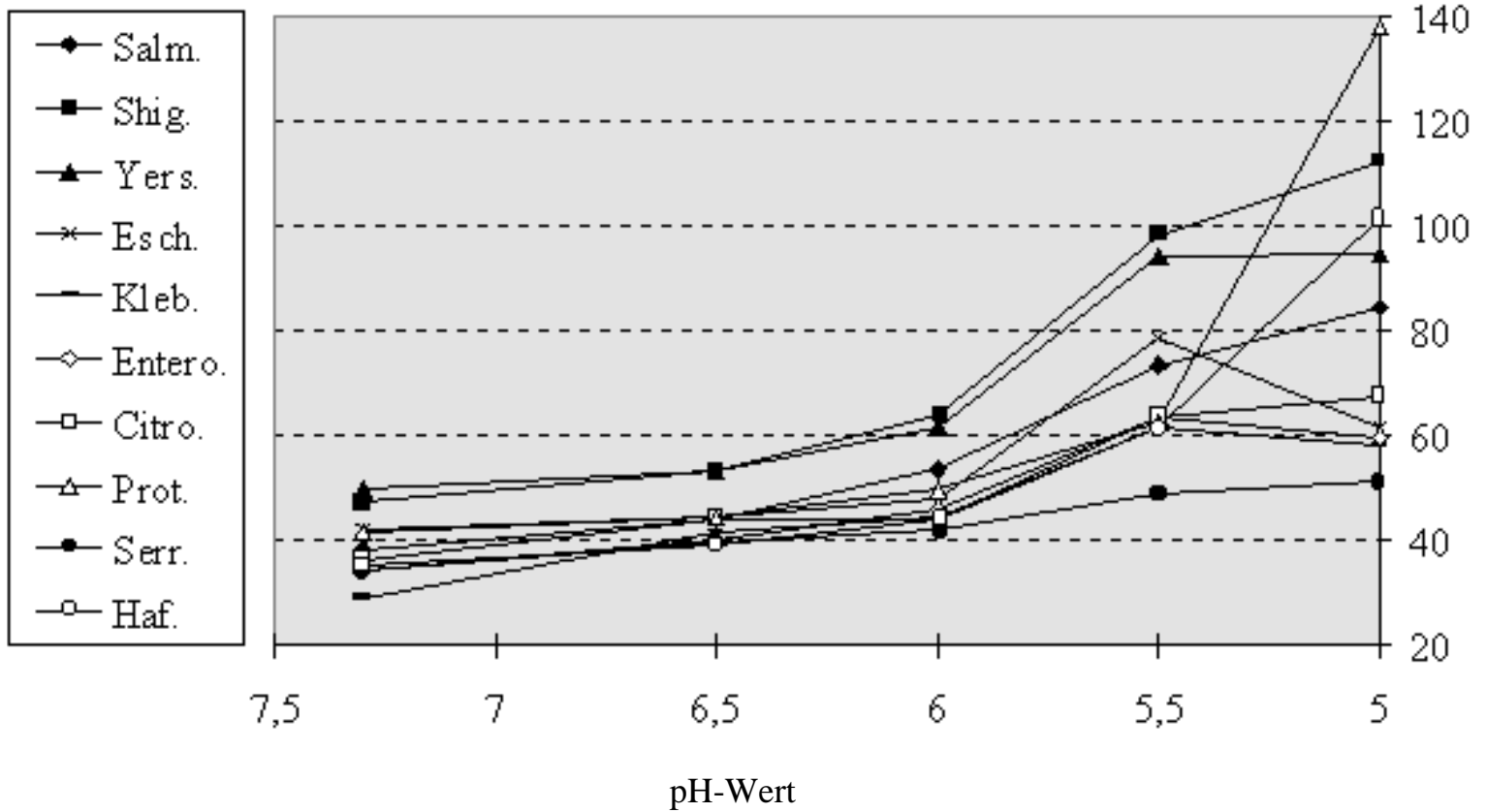


Abbildung 14: Generationszeitmittelwerte in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 25°C

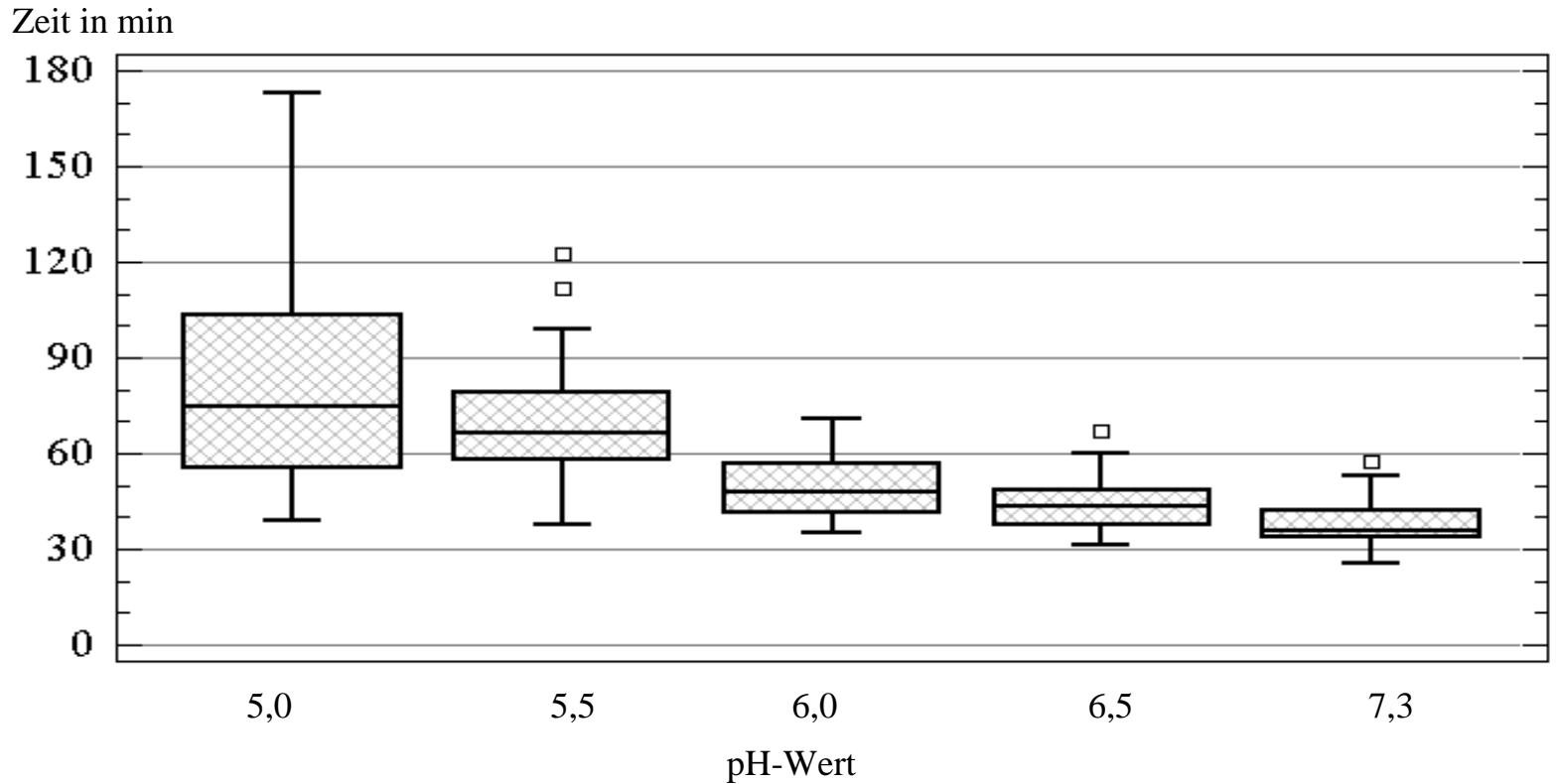


Abbildung 15: Generationszeiten der Versuchsstämme bei 25°C, pH-Wert-abhängig, dargestellt als Box-and-Whisker Plots

Bei pH-Wert 6,5 traten zwischen den 10 untersuchten Gattungen keine nennenswerten Unterschiede

auf. Der Generationszeitenmittelwert der *Enterobacteriaceae*-Stämme betrug 44 min. Der Generationszeitmittelwert der Gattungen *Escherichia*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Serratia* und *Hafnia* verlängerte sich bei einem **pH-Wert von 6,0** im Vergleich zu den zuvor abgehandelten pH-Werten kaum, d.h. nur auf 45 min, was auch anhand des Linienverlaufes im Diagramm Abb. 14 zum Ausdruck kommt. Beachtliche Differenzen waren zwischen den obengenannten Modellstämmen und den *Shigellen* zu erkennen. *Salmonella*- und *Yersinia*-Stämme hingegen differierten von dem Gros der Versuchsstämme nur teilweise signifikant. Der Mittelwert der letztgenannten Gattungen lag bei 60 min.

Im Unterschied zu den Temperaturen 30°C, 35°C und 37°C erwies sich bei 25°C bereits ein **pH-Wert von 5,5** als vermehrungshemmend. Hierbei verlängerte sich für die meisten Versuchsstämme die für einen Generationszyklus benötigte Zeit gegenüber dem pH-Wert 6,0 etwa um ein Drittel auf 60 min.

Zwischen den Gattungen *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Serratia* und *Hafnia* traten kaum Unterschiede auf.

Zum Teil bedeutsam verlängert waren die Generationszeiten der Gattungen *Salmonella* und *Escherichia*. Noch wesentlich mehr Zeit für einen Generationszyklus benötigten die *Shigellen* und *Yersinien*. Gegenüber den Erstgenannten lag ihr Mittelwert um etwa 40 min höher, bei nahezu 100 min.

Die Zunahme der Streuung der Ergebnisse bei pH 5,5 wird in Abb. 14 durch die weit auseinanderliegenden Diagrammpunkte verdeutlicht und in den Box-and-Whisker Plots der Abb. 15 durch die größeren Boxen gegenüber den höheren pH-Werten charakterisiert. Die Voraussetzungen, eine Auswertung mit Hilfe der Varianzanalyse vornehmen zu können, sind hier, sowie bei pH 5,0, durch die starke Streuung nicht mehr gegeben. Die Ergebnisse können daher lediglich den Trend einer Verlängerung der Generationszeiten bei zunehmend saurem Milieu zum Ausdruck bringen. Sie sollten Anregung bieten, Untersuchungen mit einem größeren Stichprobenumfang pro Gattung durchzuführen.

Zeit in min

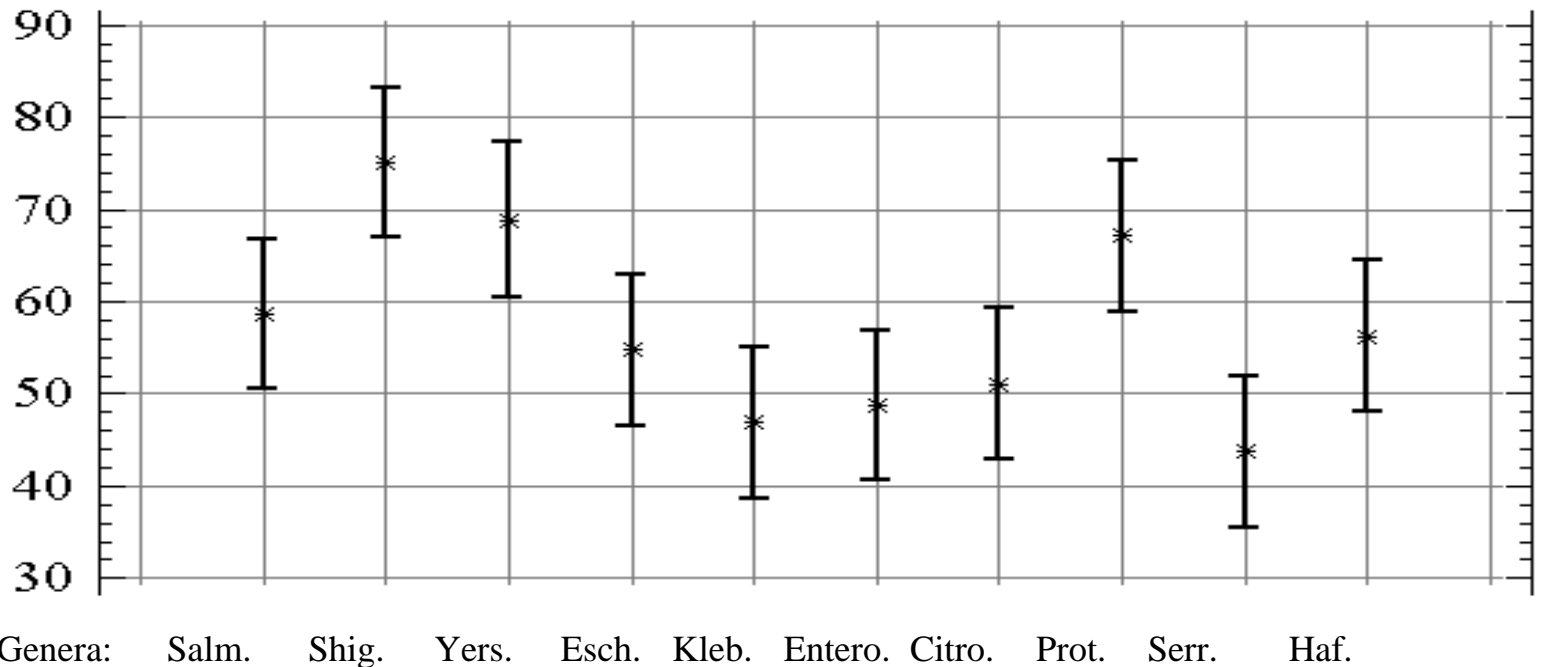


Abbildung 16: Means Plots - Generationszeitmittelwerte der Gattungen im 95% Konfidenzintervall (25°C/pH-Wert 5,0-7,3)

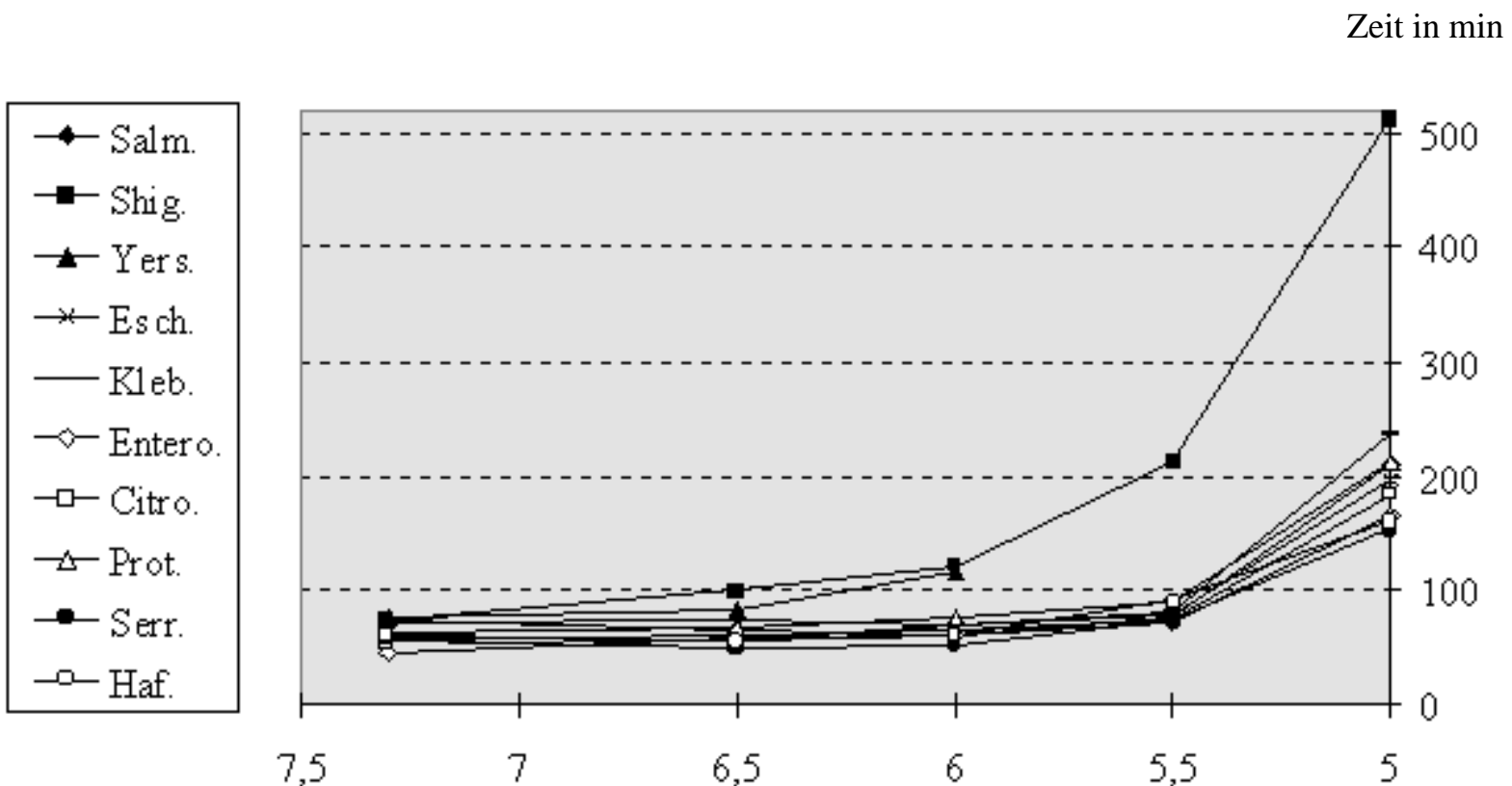
Hinsichtlich der Länge der Generationsintervalle bei **pH-Wert 5,0** ließen sich drei Kategorien innerhalb der Familie unterscheiden. Der größte Teil der *Enterobacteriaceae* benötigte etwa 60 min für einen Generationszyklus. Hierzu zählten die Gattungen *Escherichia*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Enterobacter* und *Serratia*. Zwischen ihnen traten keine wesentlichen Unterschiede auf. Auffällig ist im Diagramm Abb. 14 allerdings die Verringerung der Generationszeiten von *E.coli* im Vergleich zum weniger sauren pH-Wert 5,5, wofür sich keine plausible Erklärung finden läßt.

Mehr Zeit für einen Zyklus benötigten *Salmonella*, *Yersinia* und *Hafnia*. Sie unterschieden sich damit von den zuvor genannten teilweise signifikant. Ihr Generationszeitmittelwert lag bei 94 min. Die Gattungen *Shigella* und der Tribus *Proteus* differierten unter dem Einfluß des niedrigen pH-Wertes mit einer mittleren Generationszeit von 125 min am stärksten von den übrigen Stämmen.

3.4.1.5 Rubrik E - Temperatur 20°C

Bei einer Temperatur von 20°C konnten Generationszeiten festgestellt werden, die etwa das 2- bis 3-fache der bei 37°C ermittelten betragen. In Tabelle 22 sind die Generationszeiten, die bei 20°C bestimmt wurden, zu Mittelwerten zusammengefaßt und neben ihren Standardabweichungen dargestellt. Im Punktediagramm kann der Kurvenverlauf zur Länge der Generationszeiten der einzelnen Gattungen verfolgt werden. Daraus ist ersichtlich, daß sich zwischen den pH-Werten 5,5 und 7,3 die Generationszeit kaum änderte. Sie betrug im Durchschnitt 60 bis 80 min.

Die Schwankungsbreite der Ergebnisse bei 20°C war mit 15 min im Vergleich zu höheren Temperaturen größer, jedoch bestanden bei den pH-Werten 5,5, 6,0, 6,5 und 7,3 keine gravierenden Unterschiede zwischen den Generationszeiten der einzelnen Genera.



pH-Wert

Abbildung 17: Generationszeitmittelwerte in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 20°C

Bei **pH-Wert 7,3** traten zwischen den Generationsintervallen der Gattungen nur geringe Unterschiede auf. Für *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia* und *Escherichia* betrug die Generationsdauer durchschnittlich 74 min, für *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Proteus*, *Serratia* und *Hafnia* lag sie bei 57 min.

Bei **pH-Wert 6,5** verlängerten sich die Generationszeiten, wie auch die Box-and-Whisker Plots Abb. 18 zeigen, nur geringfügig (um 3 min). Sie betrug für die Gattungen *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Proteus*, *Serratia* und *Hafnia* und auch für *Salmonella* etwa 60 min. Nur zum Teil signifikante Differenzen dazu ergaben sich gegenüber den Ergebnissen von *Escherichia* und *Yersinia*. Bedeutsame Unterschiede bestanden im Vergleich zu den *Shigella*-Stämmen, die eine Generationszeit von 100 min aufwiesen.

Tabelle 22: Generationszeiten (min) und Standardabweichungen bei 20°C (n = 6, **n=2)

Gattungen	5,0		5,5		6,0		6,5		7,3	
	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s
<i>Salmonella</i>	209,7	47,1	76,2	7,3	60,9	7,9	66,6	6,9	72,9	6,9
<i>Shigella</i>	**513,0	153,0	**212,4	1,8	121,2	70,7	99,6	12,1	83,4	19,2
<i>Yersinia</i>	n. b.		n. b.		115,8	53,1	82,8	23,3	76,5	13,8
<i>Escherichia</i>	196,5	15,3	77,8	3,5	70,2	8,0	73,2	5,8	71,3	12,6
<i>Klebsiella</i>	237,6	72,8	80,1	3,4	68,7	8,8	56,4	4,6	58,5	10,8
<i>Enterobacter</i>	166,5	37,2	70,8	5,8	60,6	3,7	59,1	7,0	44,6	15,4
<i>Citrobacter</i>	184,2	22,9	75,0	5,8	64,8	7,6	60,9	3,2	56,0	9,6
<i>Tribus Proteus</i>	212,4	31,8	88,8	5,8	77,4	7,1	68,4	6,6	62,9	6,5
<i>Serratia</i>	153,3	27,5	72,6	8,9	52,2	11,9	50,1	3,7	57,0	9,6
<i>Hafnia</i>	159,5	26,7	90,9	4,7	59,8	6,8	55,8	4,9	60,9	5,0

Die Gattungen *Yersinia* und *Shigella* wurden gegenüber dem Gros der Stämme stärker durch saure pH-Werte in ihrer Vermehrungsgeschwindigkeit gehemmt. Ihre Generationsdauer verlängerte sich mit der Verringerung des pH-Wertes stärker oder aber ließ sich nicht mehr bestimmen.

In Abb. 19 wird nur das abweichende Verhalten der *Shigellen* auffällig, ihr Konfidenzintervall ist nach oben verschoben. Ein ähnliches Bild wäre auch von den *Yersinia*-Stämmen zu erwarten, da deren Generationszeit ebenfalls vom Gros der Stämme abwich. Da aber bei pH 5,5 und 5,0 keine Ergebnisse gewonnen werden konnten (siehe Tabelle 22), sind diese auch nicht in die Auswertung eingeflossen und somit zeigt sich auch keine Verschiebung des Konfidenzintervalls in Abb. 19.

Mit Ausnahme der *Shigella*- und *Yersinia*-Stämme beliefen sich die Generationszeiten der Modellstämme bei **pH 6,0** auf 64 min. Das Generationsintervall der *Shigellen* und *Yersinien* war mit 120 min nahezu doppelt so lang.

Zeit in min

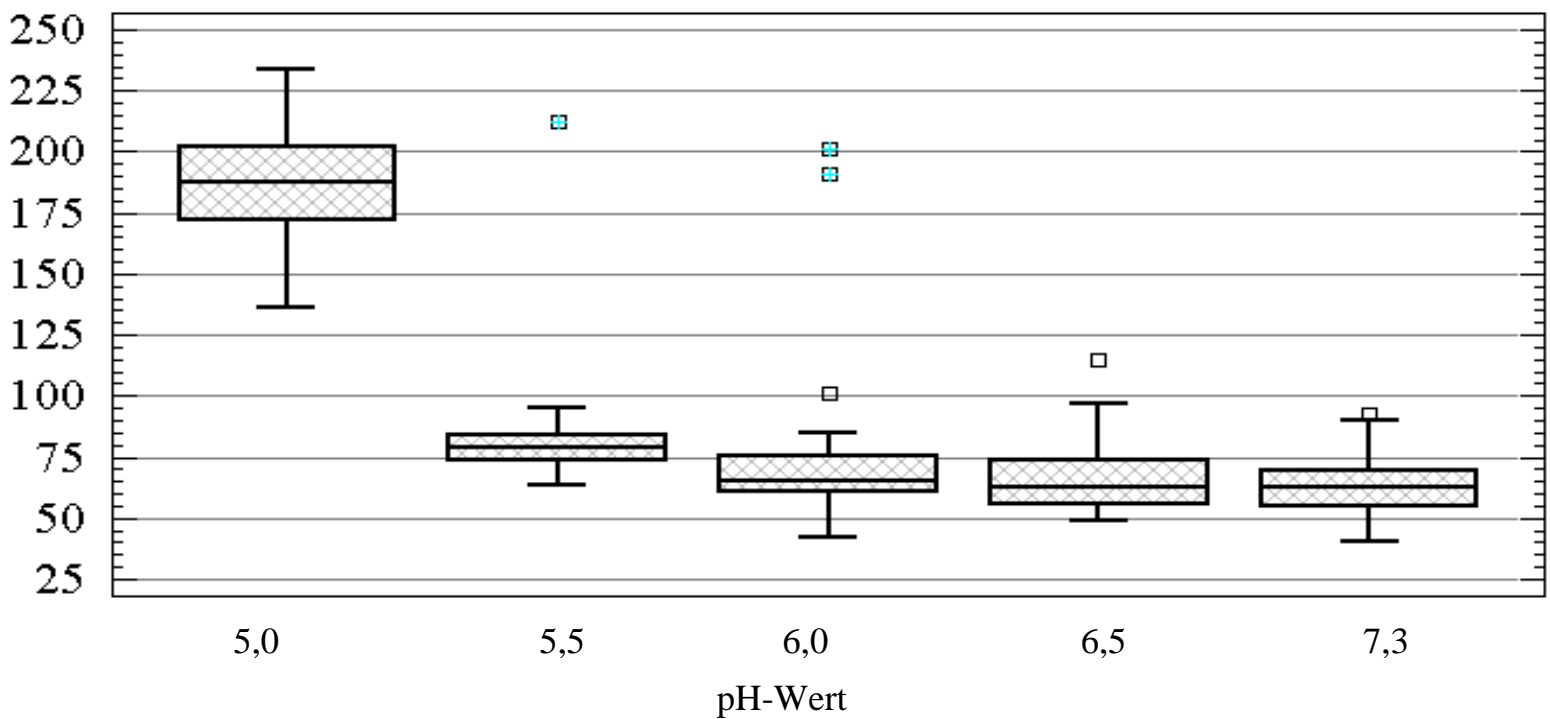


Abbildung 18: Generationszeiten der Versuchsstämme bei 20°C, pH-Wert-abhängig, dargestellt als Box-and-Whisker Plots

Bei **pH-Wert 5,5** ließen sich die *Enterobacteriaceae*-Genera hinsichtlich der Generationszeiten in 3 Gruppen einordnen, obwohl im Diagramm Abb. 17 auf Grund der groben Skalierung kaum Unterschiede wahrnehmbar sind. *Salmonella*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* und *Serratia* unterschieden sich in ihrem Vermehrungsverhalten kaum und stellten eine Gruppe dar, deren Generationszeitmittelwert bei 75 min lag.

Die Vertreter der zweiten Gruppe, *Klebsiella*, *Proteus* und *Hafnia*, vermehrten sich langsamer. Ihre Generationszeit lag mit 86 min etwa 10 min über derjenigen der zuvor genannten.

Zur letzten Gruppe konnten die *Shigellen* gerechnet werden. Bei ihnen ließen sich nur 2 Wertepaare ermitteln, die Generationszeit betrug 212 min. Untersuchungen zu den Generationszeiten der *Yersinien* führten im Versuchszeitraum zu keinem Ergebnis.

Zeit in min

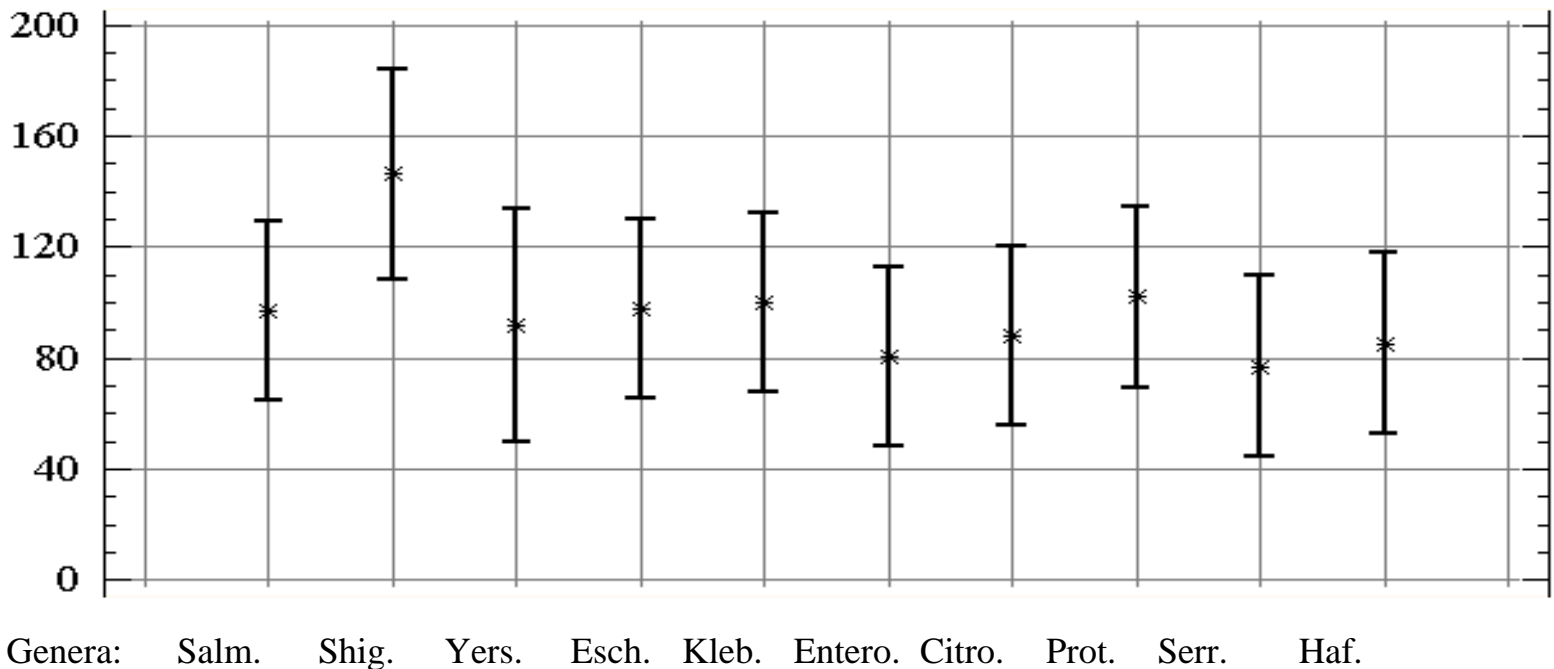


Abbildung 19: Means Plots - Generationszeitmittelwerte der Gattungen im 95% Konfidenzintervall (20°C/pH-Wert 5,0-7,3)

Bei **pH-Wert 5,0** lag der Generationszeitmittelwert der Gattungen, *Shigellen* und *Yersinien* ausgenommen, bei 190 min. Deutlich unterschieden sich hiervon die *Shigellen* mit einer GZ von 513 min (Tabelle 22). Dabei war zu bemerken, daß vermutlich auf Grund der benötigten langen Generationszeit nur von einem Stamm Meßwerte aufgezeichnet werden konnten. Von den beiden weiteren *Shigella*-Stämmen und den 3 *Yersinia*-Stämmen konnten im Versuchszeitraum keine Meßwerte gewonnen werden. Es ist daher anzunehmen, daß die Generationszeit dieser beiden Gattungen mehr als 9 Stunden betrug.

Insgesamt gesehen trat die bedeutsamste Differenz, wie auch schon bei anderen Temperaturen bemerkt, zwischen pH 5,0 und 5,5 auf. Unabhängig von der Gattung wurde die Generationszeit durch die Erhöhung des pH-Wertes um 0,5 Einheiten auf die Hälfte reduziert (siehe Punktediagramm Abb. 17).



Seitenanfang

webdesigned and layouted by [Reik H. Börger](#), Oct. 97



umblättern



Anfang

Eigene Untersuchungen



zu Punkt

3.4.1

Inhalts-
verzeichnis

zu Punkt

3.4.3



Ende

Eigene Untersuchungen

3.4.2 Ergebnisse der Modelluntersuchungen bei "konstanten" pH-Werten und unterschiedlichen Temperaturen

In den nachfolgenden Abschnitten werden die Ergebnisse der Generationszeituntersuchungen bei einheitlichen Anfangs-pH-Werten, aber unterschiedlichen Temperaturen erläutert.

In den Abschnitten A bis E wurden Homogenität und Heterogenität der Vermehrungsgeschwindigkeit der Gattungen ausführlich erörtert.

Die Generationszeiten wurden unter bestimmten Versuchsbedingungen ermittelt. Da insbesondere der Einfluß von zwei Faktoren, nämlich von Temperatur und pH-Wert, auf die Vermehrungsgeschwindigkeit der Mikroben interessierte, gab es auch bei der Auswertung der Ergebnisse die Möglichkeit, die Generationszeiten unter diesen beiden Gesichtspunkten darzustellen. Im Kapitel 3.4.1 wurden die Generationsintervalle der Genera und ihre signifikanten oder teilweise signifikanten Unterschiede ausführlich erläutert. Daher wird auf eine erneute Darstellung dieser Sachverhalte im Kapitel 3.4.2 verzichtet.

Ebenso entfallen unter Punkt 3.4.2.2 bis 3.4.2.5 die Abbildungen der "Means Plots" im Konfidenzintervall 95%. Zweck dieser Darstellungen in den Kapiteln 3.4.1 und 3.4.2.1 war bzw. ist zum einen, das meist abweichende Verhalten (hinsichtlich der Generationszeit) der *Yersinia*-Spezies zu verdeutlichen und zum anderen die Berechtigung einer Zusammenfassung der Ergebnisse aller übrigen Stämme bzw. Gattungen klarer erkennen zu lassen. Auch auf die Auflistung der detaillierten Ergebnisse und ihrer Standardabweichungen wurde verzichtet, um eine Dopplung zu vermeiden.

Der Auswertung der Ergebnisse in diesem Kapitel liegen die gleichen Meßwerte zugrunde wie im Kapitel 3.4.1. Nur sollten die Ergebnisse nunmehr nicht unter dem Gesichtspunkt der Temperatur, sondern unter dem Gesichtspunkt eines "konstanten" pH-Wertes herausgestellt werden. Sie werden verbal dargestellt und erfahren eine Ergänzung durch Punktediagramme und Box-and-Whisker Plots. Die Grundlage für die Auswertung bildete die Varianzanalyse (siehe 3.2.3), deren Ergebnisse in den Tabellen 58 bis 77 im Anhang aufgeführt werden.

3.4.2.1 Rubrik F - pH-Wert 7,3

Die Generationszeiten der *Enterobacteriaceae* zeigten bei einem pH-Wert von 7,3 eine deutliche Abhängigkeit von der Temperatur. Die Ergebnisse sind in Abbildung 20 dargestellt. Bei 35°C und 37°C waren die Generationszeiten der Stämme am geringsten. Mit zunehmender Entfernung von diesen Temperaturen verringerte sich die Teilungsrate stetig bzw. die Generationszeit verlängerte sich.

Die Schwankungsbreite der Mittelwerte der einzelnen Gattungen innerhalb des Spektrums von 25°C bis 40°C war im Vergleich zu Temperaturen unter 25°C sehr niedrig. Divergenzen zwischen den Gattungen konnten nicht festgestellt werden. In Abb. 21 wird dies durch die geringe Boxengröße bei diesen Temperaturen charakterisiert. Bereits im vorhergehenden Kapitel 3.4.1 (Tabellen 18 bis 22

und 23), in dem die Ergebnisse bei einem pH-Wert von 7,3 aufgelistet wurden, war aus den meist sehr geringen Standardabweichungen zu erkennen, daß sich das Vermehrungsverhalten der Gattungen kaum unterschied.

Die Generationszeiten verlängerten sich von durchschnittlich 22 min bei 37°C auf 38 min bei 25°C.

Zeit in min

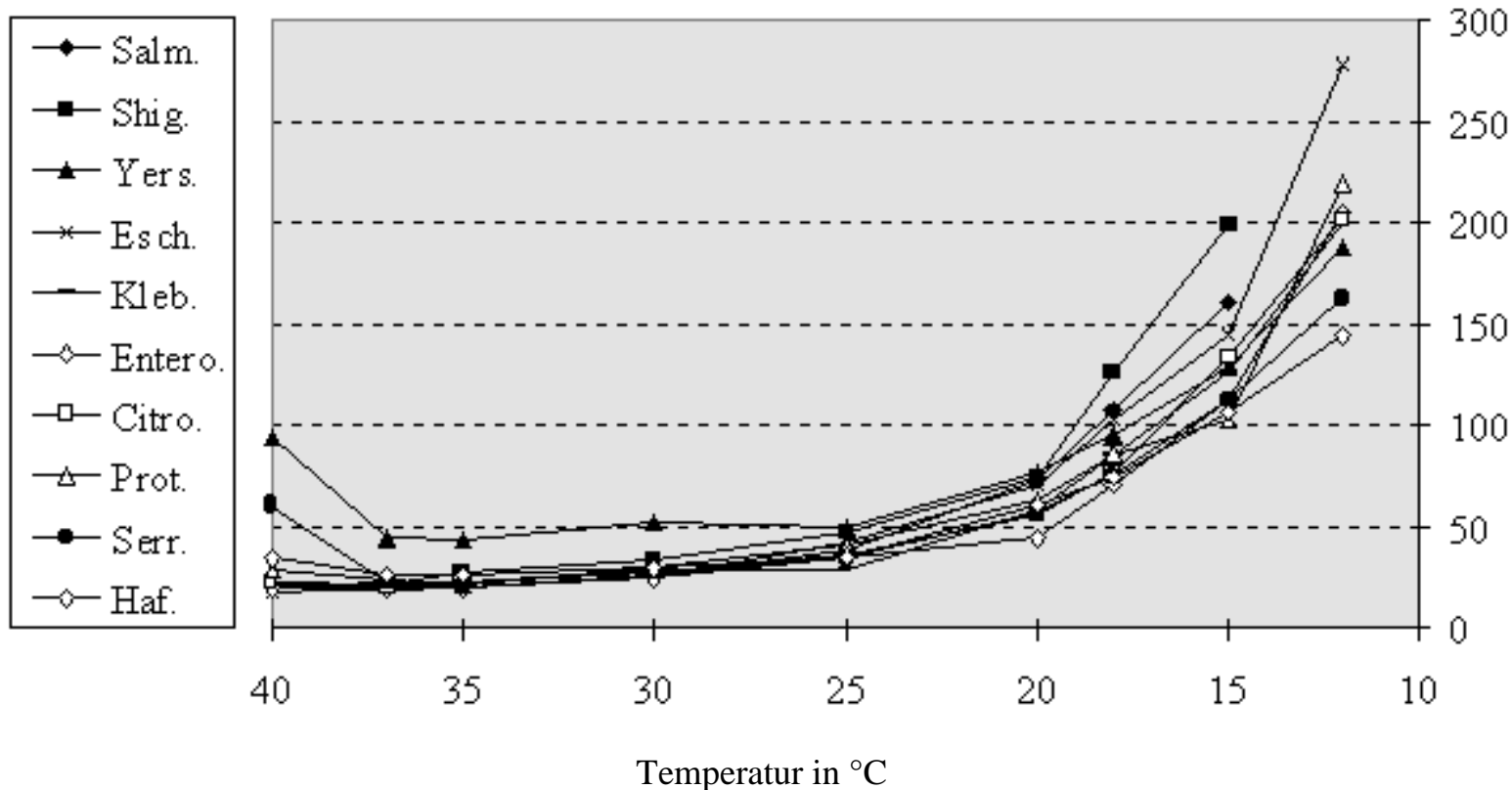


Abbildung 20: Generationszeitmittelwerte, temperaturabhängig bei pH-Wert 7,3

Deutliche Differenzen zwischen den Generationszeitmittelwerten der einzelnen Gattungen zeichneten sich erst im Temperaturbereich unter 25°C ab. Hier verlängerte sich die Zeit für einen Generationszyklus von durchschnittlich 40 min bei 25°C auf 190 min bei 12°C. Die Generationsdauer verlängerte sich demzufolge fast auf das 5fache, während die Temperatur auf etwa die Hälfte sank.

Zeit in min

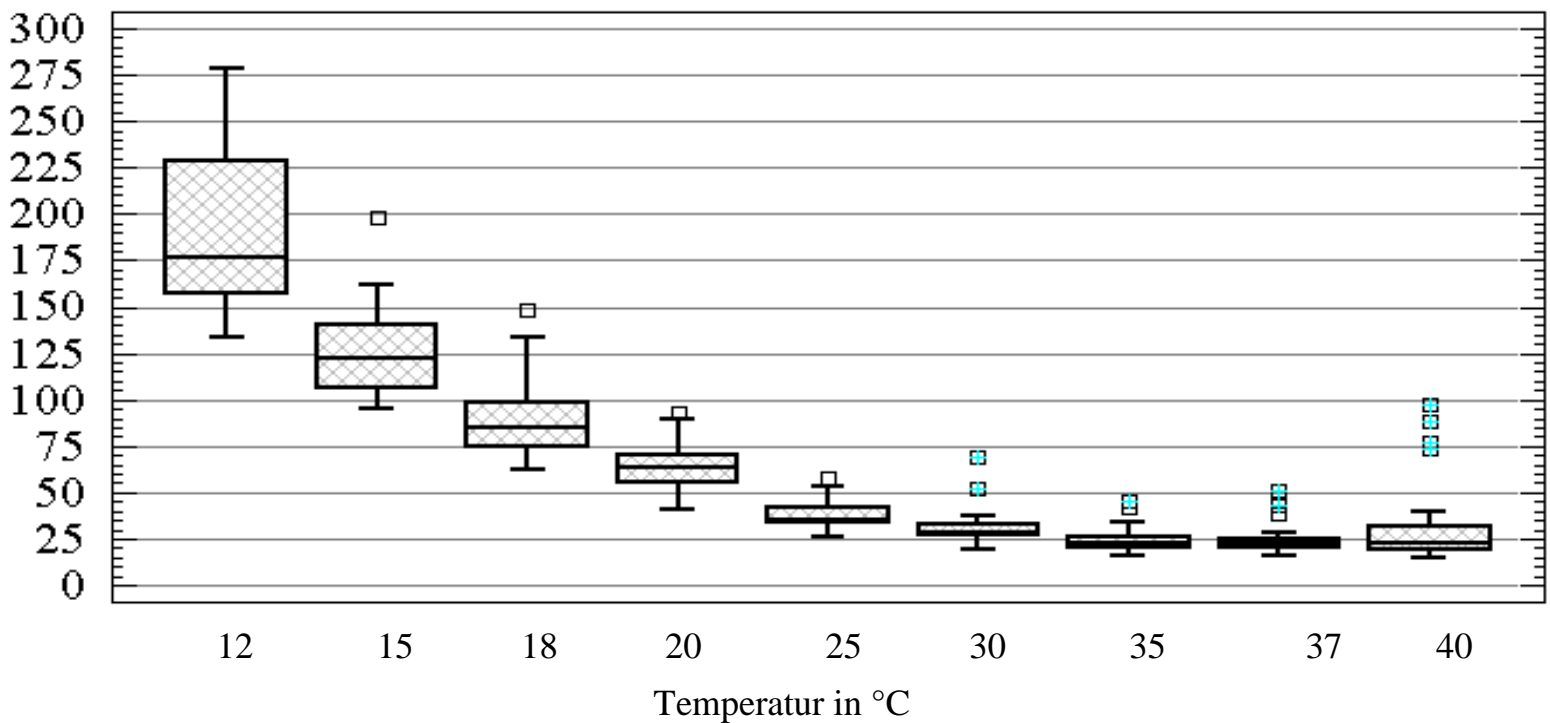


Abbildung 21: Generationszeiten der Versuchsstämme, temperaturabhängig, dargestellt als Box-and-Whisker Plots bei pH-Wert 7,3

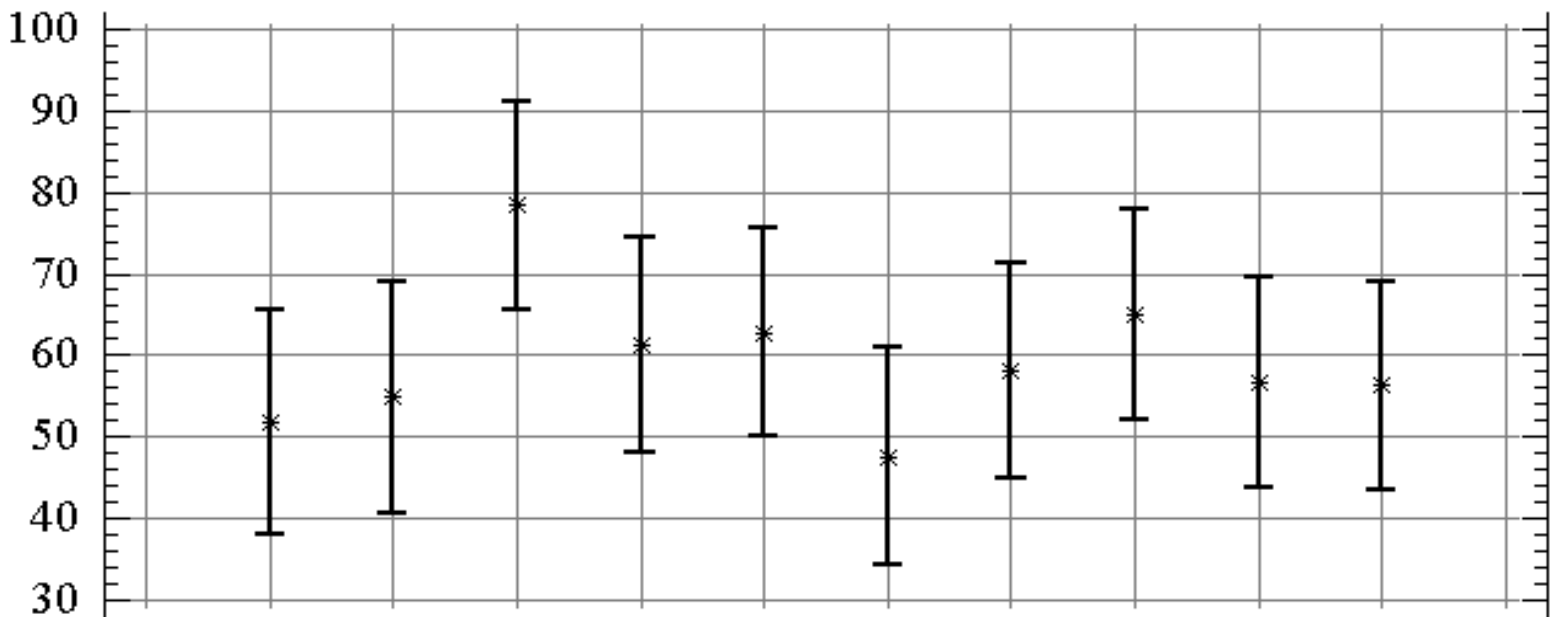
In Abb. 21 sind die Boxen bei den Temperaturen 12°C, 15°C und 18°C beträchtlich größer als bei den anderen Inkubationstemperaturen. Damit wird die stärkere Streuung der Versuchsergebnisse bei niedrigeren Temperaturen verdeutlicht. Sie ließ eine Auswertung mit Hilfe der Varianzanalyse und eine gemeinsame Aussage zur Generationszeit der *Enterobacteriaceae* nicht mehr zu. Somit können die bei diesen Temperaturen gewonnenen Ergebnisse nur den Entwicklungstrend der Wachstums- und Vermehrungsgeschwindigkeit beschreiben.

Veranschaulicht werden kann in Abb. 20, daß sich alle Gattungen in ähnlicher Weise von den Milieubedingungen beeinflussen ließen und sich die Generationsdauer bei niedrigen Temperaturen genera- bzw. speziesspezifisch verlängert.

Im Unterschied zu den meisten *Enterobacteriaceae*-Stämmen machte das Genus *Yersinia* bei Temperaturen zwischen 25°C und 40°C in seinem Vermehrungsverhalten wiederum eine Ausnahme. Auf diesen Tatbestand wird auch in Abbildung 22 hingewiesen. Hier ist zu erkennen, daß sich das Konfidenzintervall der *Yersinien* mit den Intervallen der anderen Gattungen nicht vollständig deckt.

Die Generationszeiten der Gattung *Yersinia* waren bei 30°C, 35°C, 37°C und 40°C generell länger, meist doppelt so lang, wie bei anderen *Enterobacteriaceae*-Gattungen. Insgesamt gesehen änderte sich ihr Vermehrungsverhalten aber in gleicher Weise wie das der übrigen Gattungen dahingehend, daß sich ihre Generationszeit bei 40°C und unter 25°C verlängerte.

Zeit in min



Genera: Salm. Shig. Yers. Esch. Kleb. Entero. Citro. Prot. Serr. Haf.

Abbildung 22: Means Plots - Konfidenzintervall 95% (12°C-40°C/pH-Wert 7,3)

Im Kapitel 3.4.1 wurden die signifikanten Unterschiede bzw. Übereinstimmungen der Generationszeiten der Genera bei den Temperaturen 20°C, 25°C, 30°C, 35°C und 37°C und dem pH-Wert 7,3 bereits aufgezeigt. Nachfolgend sollen daher nur die noch fehlenden Ergebnisse in Abhängigkeit von Kombinationen des pH-Wertes 7,3 mit den Temperaturen 12°C, 15°C und 18°C sowie 40°C detailliert beschrieben werden.

Nicht für alle *Enterobacteriaceae* ließen sich bei **Temperaturen von 12°C** innerhalb des Untersuchungszeitraumes die Generationszeiten bestimmen. Meßwerte für die Gattungen *Salmonella* und *Shigella* konnten nicht ermittelt werden. Bei *Escherichia*, *Citrobacter* und *Enterobacter* waren sie unvollständig.

Für die Stämme der Gattungen *Yersinia*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Enterobacter* und *Proteus* konnte ein Mittelwert von ca. 203 min bestimmt werden. Aus ihren Ergebnissen war ein nahezu übereinstimmendes Vermehrungsverhalten erkennbar. Von diesem Mittelwert wichen allerdings die Generationsintervalle von *Escherichia* um nahezu 75 min (längere Generations-dauer) und *Serratia* um etwa 40 min sowie *Hafnia* um 60 min (kürzere Generationszeit) deutlich ab.

Tabelle 23: Generationszeiten (min) u. Standardabweichungen bei pH 7,3 (n=6, *n=4, **n=2)

Gattungen	12°C		15°C		18°C		40°C	
	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s
<i>Salmonella</i>	n. b.		*161,1	4,7	107,3	4,8	20,7	4,4
<i>Shigella</i>	n. b.		**197,9	10,7	126,6	23,7	22,8	3,7
<i>Yersinia</i>	187,5	46,0	128,7	17,1	95,0	10,3	94,2	9,6
<i>Escherichia</i>	**278,1	2,7	144,6	21,1	102,5	9,6	17,6	1,1
<i>Klebsiella</i>	200,4	53,6	126,6	14,2	85,7	18,6	19,8	6,1
<i>Enterobacter</i>	**205,1	3,5	112,8	7,4	71,0	10,2	20,0	1,6
<i>Citrobacter</i>	*202,5	26,4	133,2	20,6	76,6	17,2	21,9	0,7
<i>Tribus Proteus</i>	218,7	26,8	102,5	12,7	85,7	4,3	29,1	8,5

<i>Serratia</i>	162,6	10,2	112,8	19,8	75,0	7,5	60,3	21,3
<i>Hafnia</i>	144,3	18,1	106,2	8,5	74,0	2,8	34,1	3,8

Für die Stämme von *Salmonella* (zwei Stämme) und *Shigella* (ein Stamm) konnten im Gegensatz zur vorhergehend beschriebenen Temperatur (12°C) bei 15°C die Generationszeiten bestimmt werden. Sie unterschieden sich allerdings deutlich von den Werten der übrigen Gattungen und betragen im Durchschnitt 180 min. Für den Großteil der *Enterobacteriaceae* hatte sich das Generationsintervall auf 120 min verringert, wobei bezüglich der Genera Schwankungsbreiten von ± 20 min beobachtet werden konnten.

Mit zunehmender Temperatur verringerte sich die Zeit für ein Generationsintervall. Bei einer **Temperatur von 18°C** war sie bei *Salmonella* und *Shigella* und teilweise bei *Escherichia* allerdings länger als beim Großteil der *Enterobacteriaceae*. Die Generationsdauer dieser drei Gattungen betrug etwa 110 min. Die übrigen Vertreter der Familie wiesen jedoch eine Generationszeit von nur 80 min auf.

Die verschiedenen Gattungen, ausgenommen *Yersinia*, *Serratia* und *Hafnia*, wiesen bei 40°C relativ einheitliche Generationszeiten auf. Der Mittelwert lag bei etwa 22 min, wobei *Escherichia coli* mit 17,6 min die kürzeste und die *Proteus*-Keime mit 29,1 min die längsten Generationszeiten zeigten. Für die *Hafnien* lag der Wert bei 34 min. Die Generationszeiten der *Serratien* (60 min) und die der *Yersinien* (94 min) waren wesentlich länger.

3.4.2.2 Rubrik G - pH-Wert 6,5

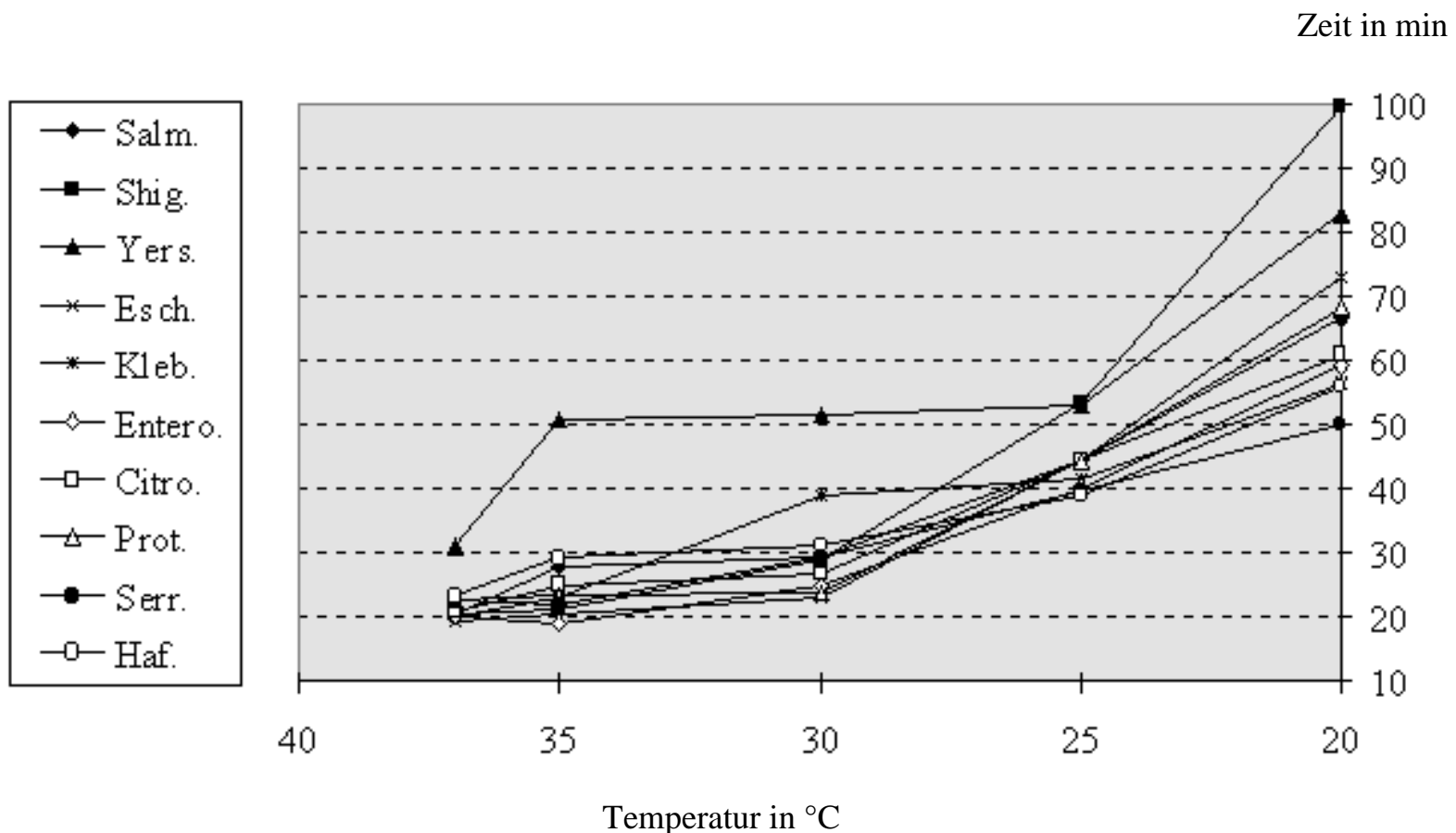


Abbildung 23: Generationszeitmittelwerte, temperaturabhängig bei pH-Wert 6,5

Die Generationszeiten der *Enterobacteriaceae* bei pH-Wert 6,5 nahmen im Temperaturbereich unter 30°C deutlich zu. Für einen Generationszyklus wurde beispielsweise bei 25°C doppelt soviel Zeit benötigt wie bei 37°C (siehe Anhang - Tab. 63).

Nur geringe Unterschiede konnten zwischen den Ergebnissen bei 30°C, 35°C und 37°C festgestellt werden. Die maximale Differenz der Generationszeitmittelwerte betrug hier ± 5 min. Je näher die Inkubationstemperaturen dem Optimum waren, desto geringer war auch die Streuung der Meßwerte.

Zeit in min

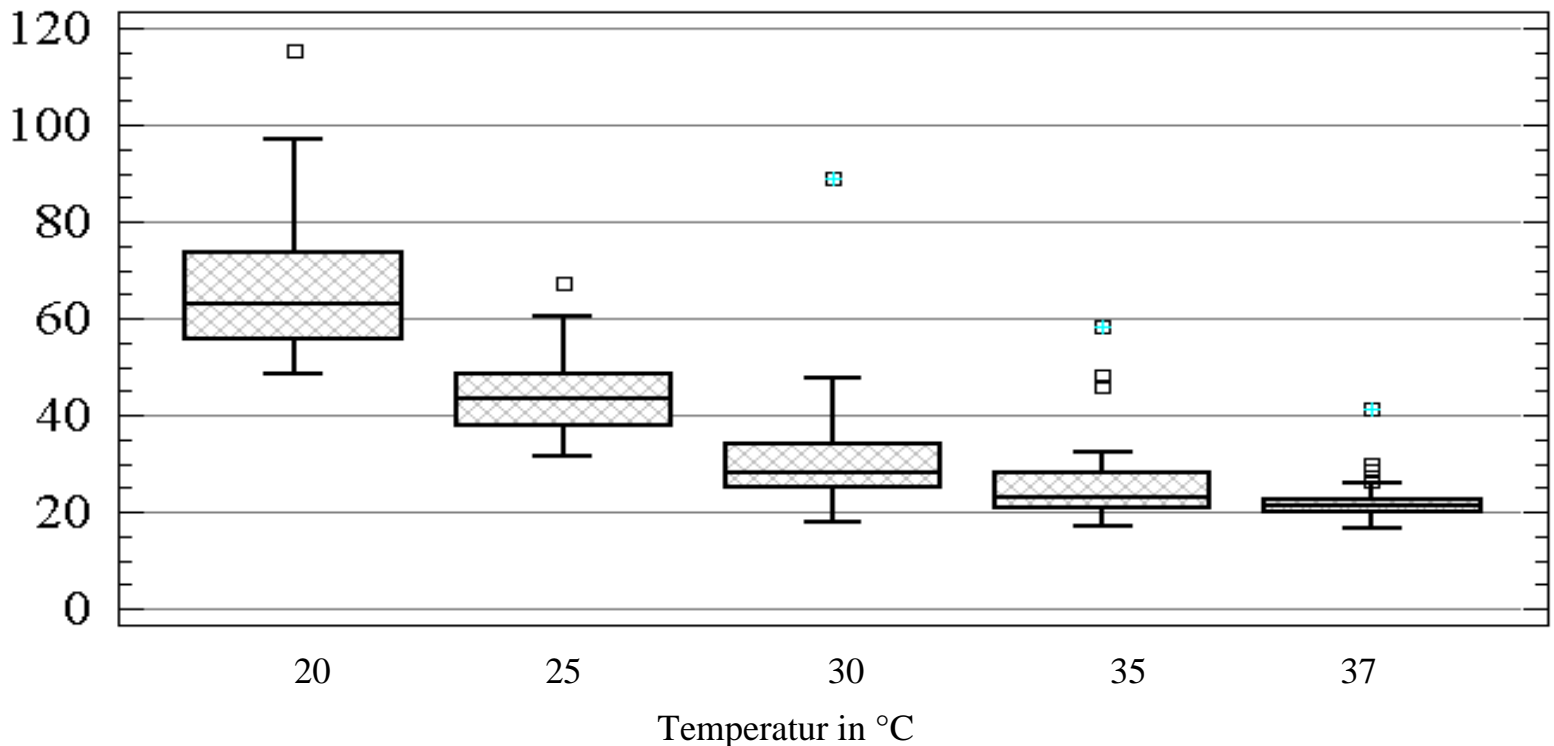


Abbildung 24: Generationszeiten der Versuchsstämme, temperaturabhängig, dargestellt als Box-and-Whisker Plots bei pH-Wert 6,5

Durch ihre langen Generationszeiten unterschieden sich die *Yersinien*, bei Temperaturen $\leq 30^\circ\text{C}$ auch die *Shigellen*, von den übrigen *Enterobacteriaceae*-Stämmen. In Diagramm Abb. 23 wird deutlich, daß zwar alle Modellstämme in ihren Generationszeiten ähnlich beeinflusst wurden, die *Yersinien* jedoch generell bedeutend mehr Zeit für einen Generationszyklus benötigten.

Die *Shigellen* konnten bis zu einer Temperatur $\geq 30^\circ\text{C}$ dem Gros der Versuchsstämme zugeordnet werden. Unterhalb dieser Grenze wiesen sie vergleichsweise längere Generationsintervalle auf.

3.4.2.3 Rubrik H - pH-Wert 6,0

Bei pH-Wert 6,0 wurden insgesamt ähnliche Ergebnisse ermittelt wie bei pH 6,5. Der Kurvenverlauf im Punktediagramm Abb. 25 ist für fast alle Genera gleich. Eine Sonderstellung nehmen wiederum die *Yersinien* ein.

Die Teilungsraten wiesen im Temperaturbereich von 30°C bis 37°C keine wesentlichen Unterschiede auf. Bedeutsame Differenzen traten erst nach Absenken der Temperatur unter 30°C auf. Hier stiegen die Generationszeiten allmählich an und erreichten bei 20°C durchschnittlich etwa das Doppelte im Vergleich zu den Ergebnissen bei 37°C.

Die Zunahme der Ergebnisstreuung bei Temperaturerniedrigung wird im Box-and-Whisker Plot Abb. 26 durch die Boxengröße charakterisiert. Bei 20°C und 25°C ist die Box deutlich höher als bei 30°C, 35°C und 37°C, die Streuung demnach entsprechend größer. Die außerhalb liegenden kleinen Quadrate verkörpern die Ergebnisse des "Ausreißers" *Yersinia*.

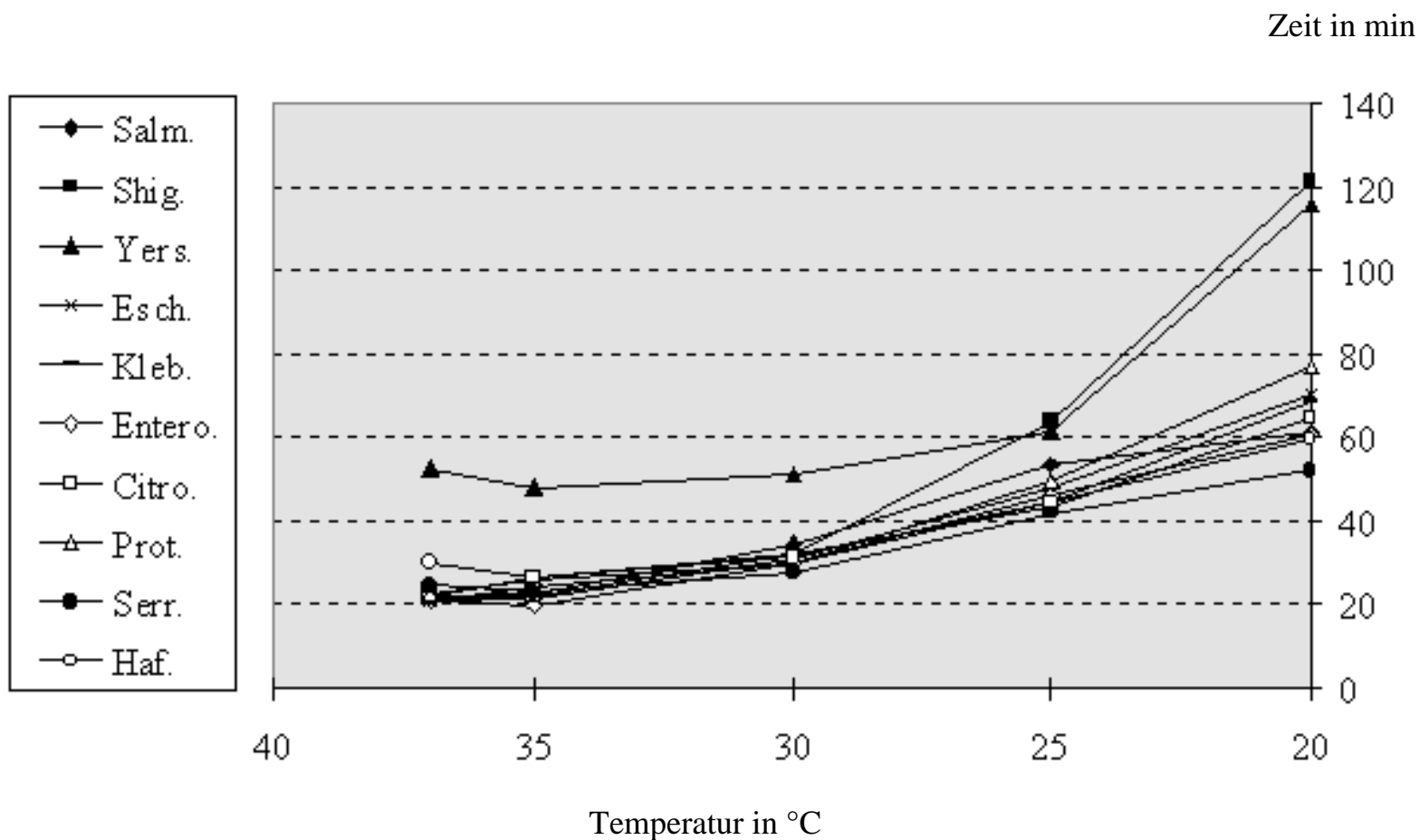


Abbildung 25: Generationszeitmittelwerte, temperaturabhängig bei pH-Wert 6,0

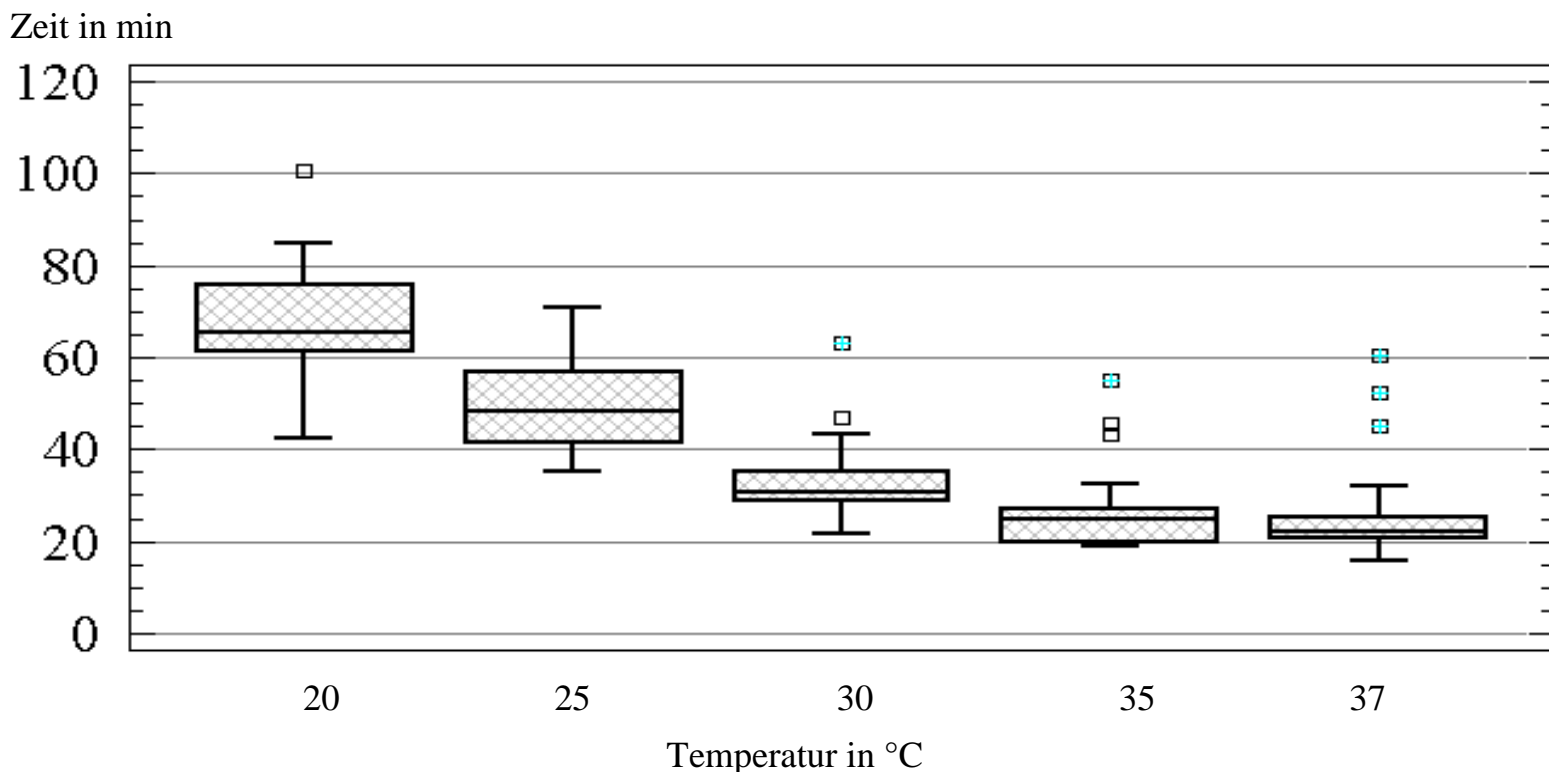


Abbildung 26: Generationszeiten der Versuchsstämme, temperaturabhängig, dargestellt als Box-and-Whisker Plots bei pH-Wert 6,0

3.4.2.4 Rubrik I - pH-Wert 5,5

Die Vermehrungsgeschwindigkeit der Modellstämme veränderte sich bei einem pH-Wert von 5,5 ähnlich wie bei den pH-Werten 6,0 und 6,5. Erstaunlicherweise war die Generationszeit der Versuchsstämme bei **37°C** geringfügig länger als bei 35°C und betrug ca. 34 min (ohne *Yersinia* spp.). Die geringste Generationsdauer konnte bei **35°C** mit 26 min festgestellt werden.

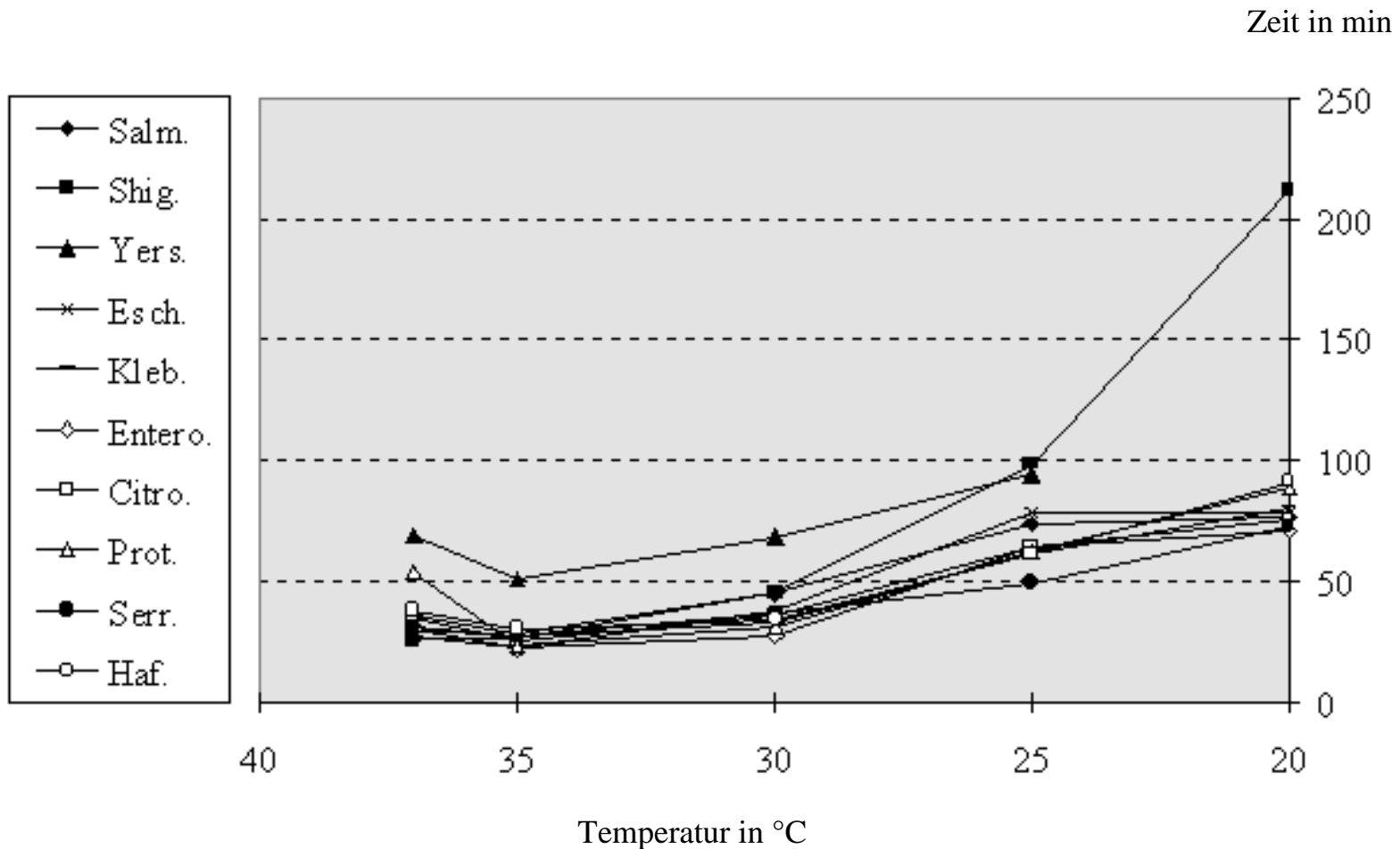


Abbildung 27: Generationszeitmittelwerte, temperaturabhängig bei pH-Wert 5,5

Zeit in min

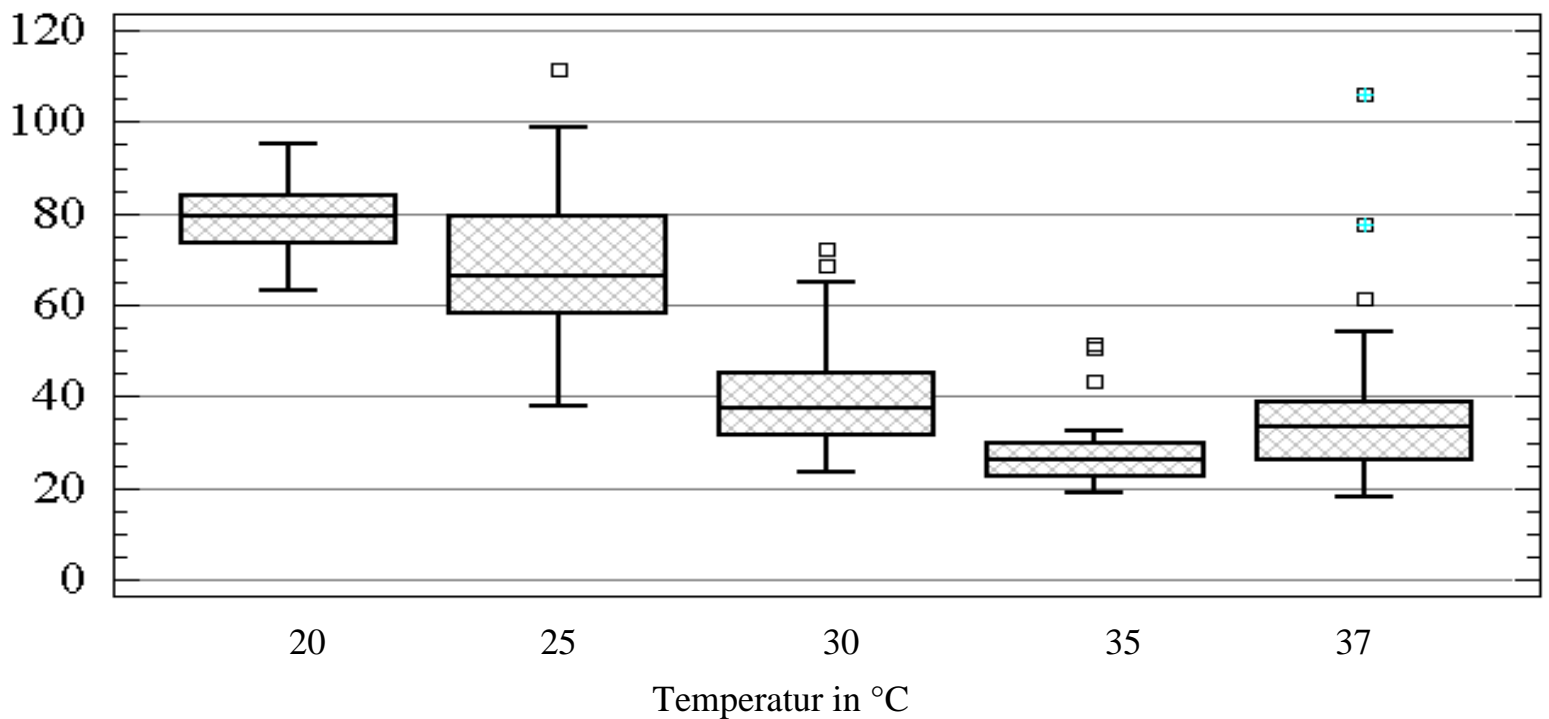


Abbildung 28: Generationszeiten der Versuchsstämme, temperaturabhängig, dargestellt als Box-and-Whisker Plots bei pH-Wert 5,5

Bei Temperaturen unter 30°C, insbesondere bei 25°C (beachte die große Box -Abb. 28), wurde die Streuung der Meßwerte größer. Bei 20°C ließen sich von den *Yersinien* im Versuchszeitraum keine Generationsintervalle mehr bestimmen.

3.4.2.5 Rubrik J - pH-Wert 5,0

Die Generationszeiten der *Enterobacteriaceae* verlängerten sich bei einem pH-Wert von 5,0 im Vergleich zu höheren pH-Werten erheblich. Bei einer gleichzeitig niedrigen Inkubationstemperatur wurden die Generationsintervalle extrem lang. Es war daher schwierig, die Ergebnisse der verschiedenen Gattungen zusammenzufassen, da die Differenzen im Wachstums- und Vermehrungsverhalten sowohl der Genera als auch der Spezies größer wurden.

Bei einer Verringerung der Inkubationstemperatur verlängerte sich die Generationszeit von ca. 44 min bei 35°C/37°C auf etwa 77 min bei 25°C/30°C und schließlich auf 226 min bei 20°C.

Die Generationszeiten der *Yersinien* sind hierbei unberücksichtigt, da mit Medien-pH-Werten von 5,0 lediglich bei Temperaturen von $\leq 25^\circ\text{C}$ Meßwerte gewonnen wurden.

Die sehr große Box, die in Abb. 30 bei 30°C zu sehen ist, wird insbesondere durch die Einbeziehung der Generationszeiten von *Yersinia* und *Shigella* verursacht. Diese wichen vom Gros der übrigen Stämme deutlich ab. Bei 25°C konnten lediglich von zwei *Yersinia*-Stämmen Generationsintervalle ermittelt werden, bei 30°C nur noch für einen Stamm.

Offenbar ist bei den psychrotrophen *Yersinia*-Stämmen mit Optimaltemperaturen unterhalb der für die übrigen *Enterobacteriaceae*-Keime überwiegend zutreffenden 37°C zu rechnen. Dies zeigten auch die Ergebnisse bei pH-Werten von 6,5 und 7,3, bei denen die Generationsdauer dieser Gattung bei 25°C im Vergleich zu 30°C unverändert lang oder sogar kürzer war.

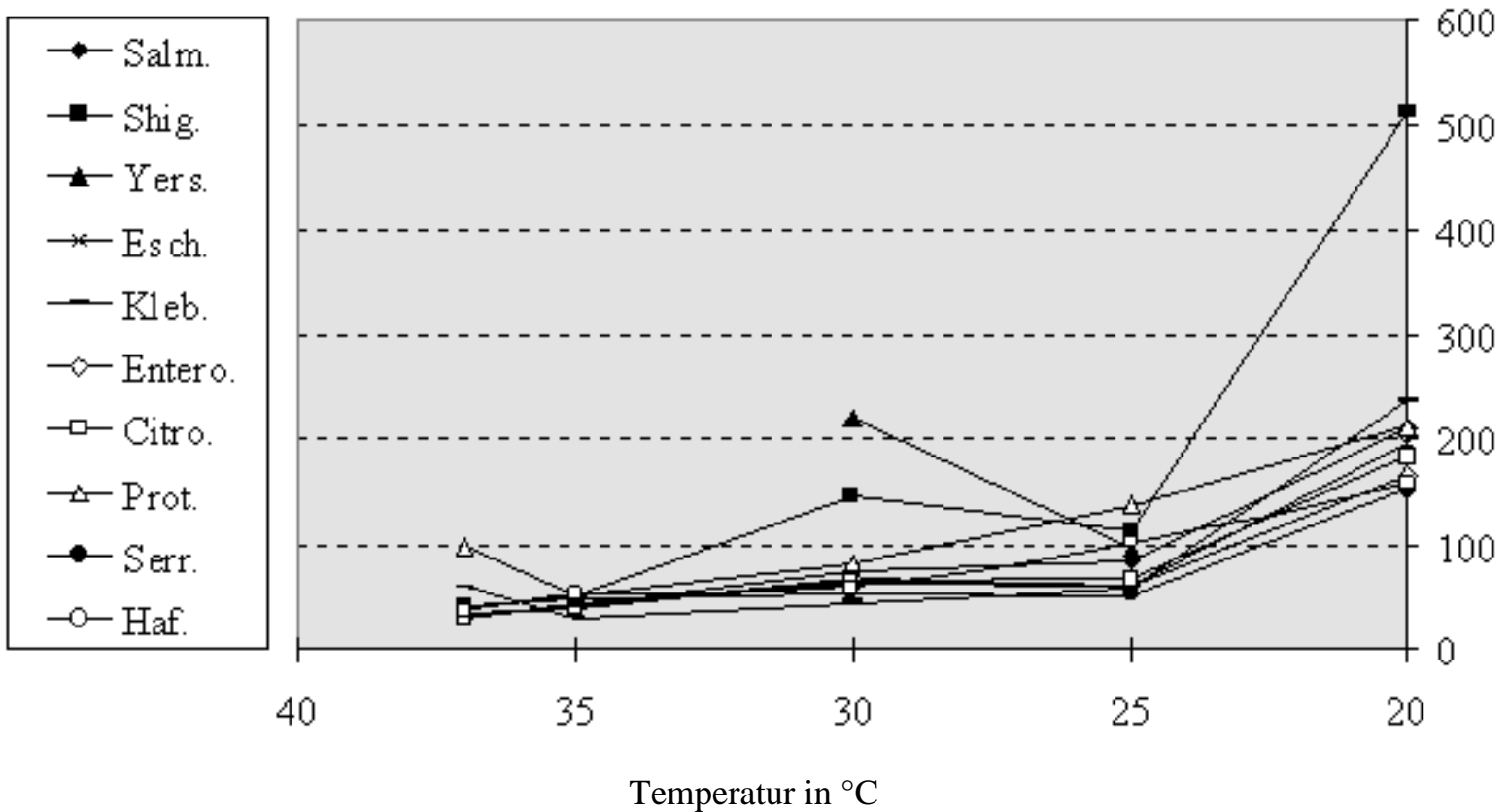
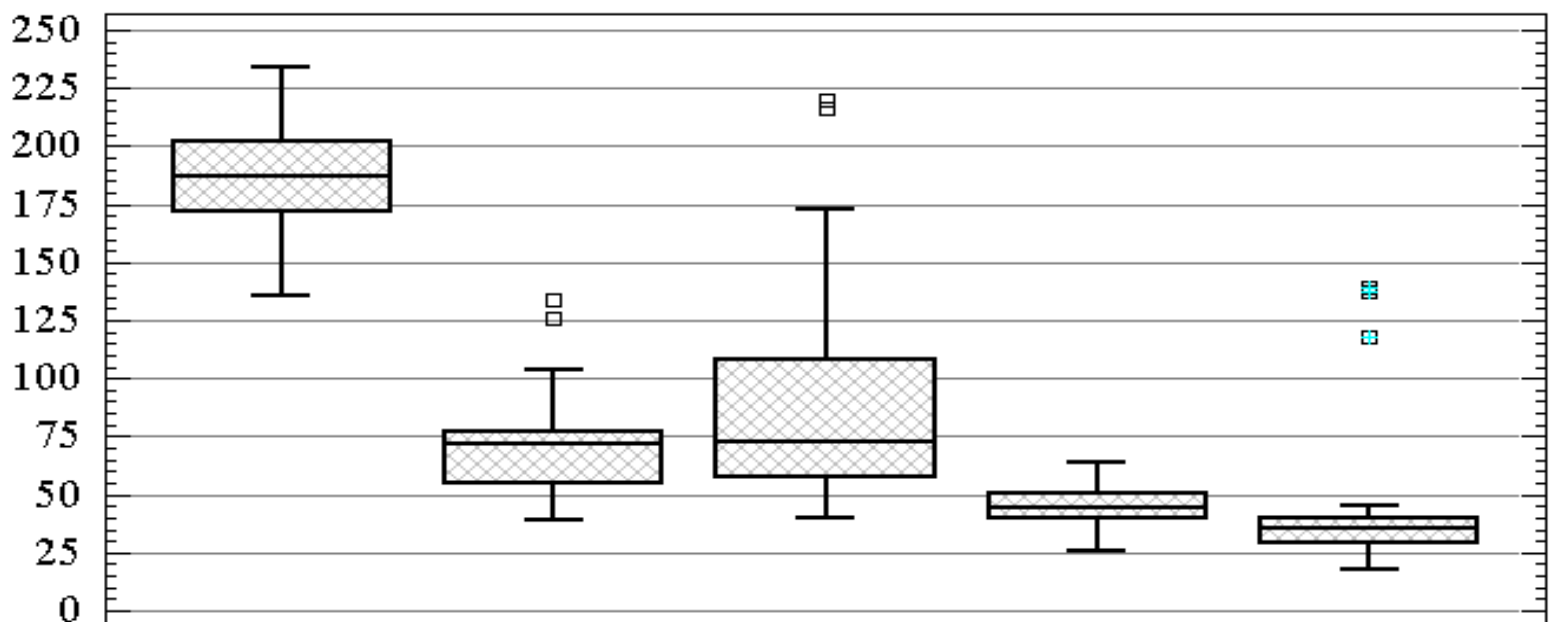


Abbildung 29: Generationszeitmittelwerte, temperaturabhängig bei pH-Wert 5,0

Das abweichende Vermehrungsverhalten der *Yersinien* wird in der Graphik Abb. 29 durch den auffälligen Kurvenverlauf veranschaulicht. Die Ergebnisse sind in den Tabellen 20, 21 und 81 bis 85 im Anhang dargestellt und unterstreichen nochmals die aufgetretenen Differenzen in der Vermehrungsgeschwindigkeit zwischen den Stämmen dieser Gattung und den übrigen geprüften *Enterobacteriaceae*-Genera.

Zeit in min



20

25

30

35

37

Temperatur in °C

Abbildung 30: Generationszeiten der Versuchsstämme, temperaturabhängig, dargestellt als Box-and-Whisker Plots bei pH-Wert 5,0



Seitenanfang

webdesigned and layouted by [Reik H. Börger](#), Oct. 97



umblättern



Anfang
Eigene Untersuchungen



zu Punkt
3.4.2



Inhalts-
verzeichnis

3.4.3 Zusammenfassende Betrachtung der Untersuchungsergebnisse

Bei der Auswertung der Versuchsergebnisse konnte festgestellt werden, daß die Generationszeiten nicht nur temperatur- und pH-Wert-, sondern auch gattungs-, spezies- und stammabhängig sind.

Besonders deutlich wurde dies bei der Gattung *Yersinia*. Im Gegensatz zu allen anderen geprüften Gattungen, die sich hinsichtlich ihrer Vermehrungsgeschwindigkeit ähnelten oder sich nur im Bereich ungünstiger Milieubedingungen signifikant in ihren Generationsintervallen unterschieden, benötigten die Stämme der Gattung *Yersinia* meist deutlich mehr Zeit für einen Generationszyklus als alle übrigen Gattungen. Sie ließen sich allerdings durch niedrige Temperaturen größtenteils weniger stark in ihrer Vermehrungsgeschwindigkeit beeinflussen. Bei Berücksichtigung der Psychrotrophie und des damit verbundenen abweichenden Wachstums- und Vermehrungsverhaltens, welches aus der Familie der *Enterobacteriaceae* vor allem für *Yersinia* nachgewiesen ist, wird dies plausibel.

Eine **einheitliche Beurteilung** der Vermehrungsgeschwindigkeit der Gattungen war daher nur möglich, wenn das Genus *Yersinia* ausgespart wurde.

Die Ergebnisse der Untersuchungen lassen den Schluß zu, daß sich unterhalb der Optimaltemperatur die Generationszeit generell verlängert, unabhängig davon, welcher pH-Wert im Nährmedium herrscht. Oberhalb der Optimaltemperatur wurden bei pH-Wert 7,3 lediglich Messungen bei 40°C in die Untersuchungen einbezogen (Abb. 31 bis Abb. 33). Die Ergebnisse bei 40°C zeigten, daß sich bei einzelnen Gattungen die Generationszeit deutlich verlängerte, bei den meisten jedoch nur geringe Abweichungen gegenüber 37°C auftraten (Tab. 23).

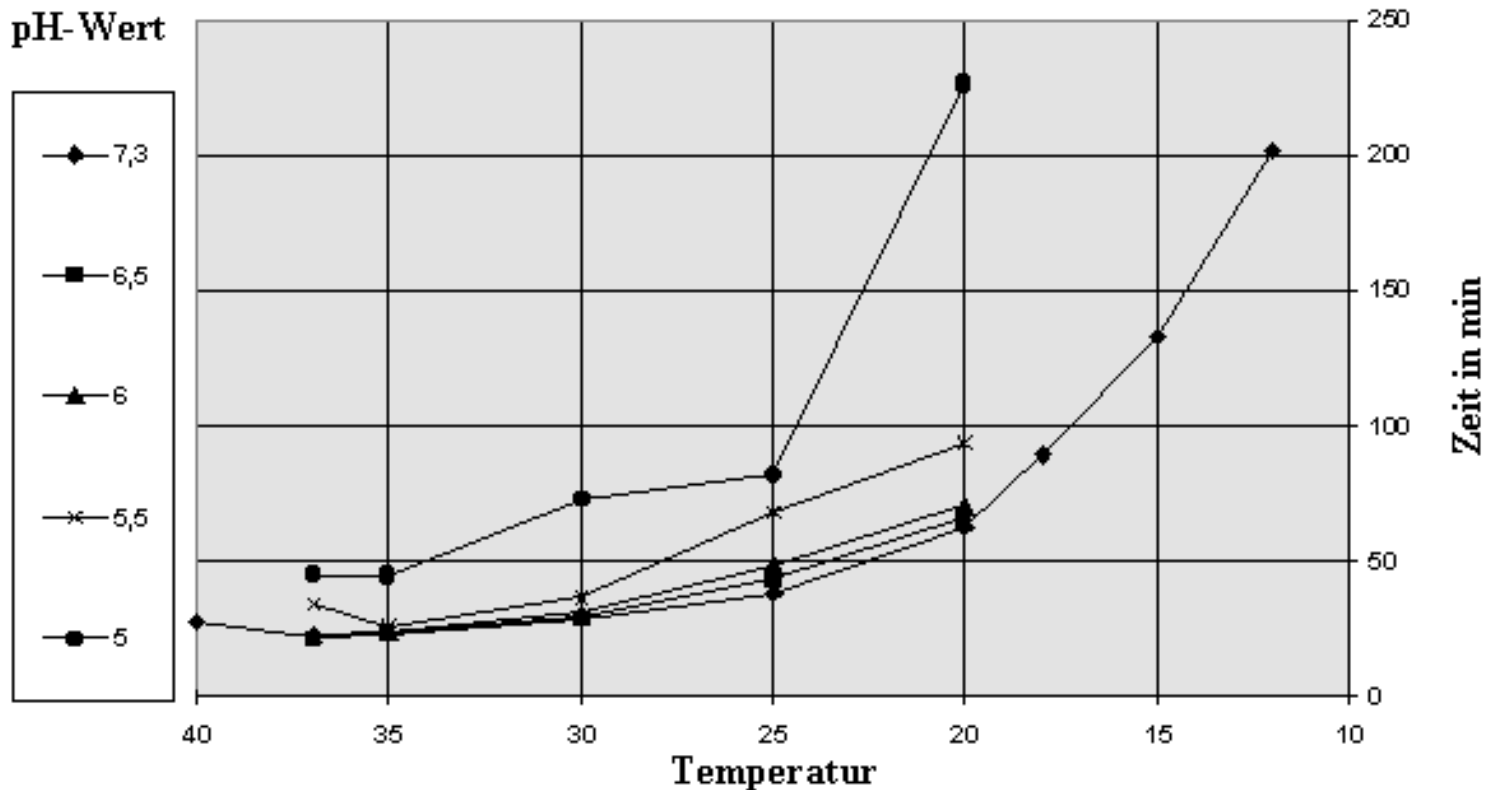


Abbildung 31: Mittelwerte der Generationszeiten von *Enterobacteriaceae*-Stämmen (ohne *Yersinia* spp.) in Abhängigkeit von Temperatur und pH-Wert

Unter günstigen Milieubedingungen (Temperaturen von 30°C bis 37°C und pH-Werten von 6,0 bis 7,3) waren die Generationszeiten der Modellstämme mit Ausnahme der *Yersinien* nahezu **homogen**. Die Zahl der *Enterobacteriaceae*-Stämme, deren Meßwerte in die graphischen Darstellungen Abb. 31, 32 und 33 eingeflossen sind, beschränkt sich durch die Ausgliederung der *Yersinien* auf 27. Tabelle 24 gibt die Mittelwerte der Generationszeiten aus allen Meßwerten an, die bei pH-Werten zwischen 5,0 und 7,3 und im Temperaturbereich von 12°C bis 40°C gewonnen wurden und stellt damit die Grundlage für die nachfolgenden Abbildungen 31 bis 33 dar.

Unter dem Einfluß niedrigerer Temperaturen und niedrigerer pH-Werte variierten die Generationszeiten der Gattungen und Spezies stärker voneinander. Es ließ sich feststellen, daß die **Ergebnisstreuung** generell, also auch bei Gattungen, die nur durch eine Spezies vertreten waren, unter ungünstigen Milieubedingungen zunahm. Dies wurde detailliert unter Punkt 3.4.1 beschrieben.

Die Generationszeiten der *Enterobacteriaceae*, nachfolgend sollen darunter alle untersuchten Gattungen unter Ausklammerung der *Yersinien* verstanden werden, waren bei pH-Wert 6,5 und einer Temperatur von 37°C am **kürzesten** und betragen 21 min. Daraus lassen sich 2,9 Generationszyklen pro Stunde und 69 Generationszyklen pro Tag errechnen. Dies entsprach den Erwartungen, gilt doch eine Inkubationstemperatur von 37°C für diese Keime als optimal.

Bei Temperaturen von 35°C und 37°C zeigten sich bei den pH-Werten 7,3; 6,5 und 6,0 nur sehr geringfügige Änderungen in den Generationsintervallen (maximal 4 min).

Bei optimaler Temperatur konnte demnach durch schwach saure Initial-pH-Werte keine erhebliche **Verlangsamung** der Wachstums- und Vermehrungsvorgänge verursacht werden. Es muß allerdings

berücksichtigt werden, daß es sich lediglich um Start-pH-Werte handelte, die durch mikrobiellen Stoffwechsel bei günstigen Temperaturen sehr rasch neutralisiert worden sein dürften.

Tabelle 24: Mittlere Generationszeiten der Versuchsstämme in min (ohne *Yersinia* spp.)

pH-Wert	7,3	6,5	6,0	5,5	5,0
Temperatur					
40°C	27,4				
37°C	22,2	21,2	22,7	34,2	44,2
35°C	22,6	23,5	23,5	25,8	43,7
30°C	28,1	28,5	30,8	36,1	72,3
25°C	37,6	43,4	48,3	67,9	81,5
20°C	61,96	65,6	70,6	93,8	225,9
18°C	89,35				
15°C	133,0				
12°C	201,7				

Auch bei 30°C war zu erkennen, daß erst die pH-Werte 5,5 und 5,0 die Generationsdauer merklich verlängerten. Die Generationszeiten bei 30°C und den pH-Werten 7,3 , 6,5 und 6,0 lagen nur um 5 bis 8 min höher als bei 35°C, die Änderungen der Generationszeitmittelwerte innerhalb dieser pH-Werte waren gering und betrug nur etwa 3 min.

Anders stellte sich die Situation bei 25°C dar. Die Temperatur wich hier bereits um 12°C von der für *Enterobacteriaceae* angegebenen optimalen Temperatur ab. Somit waren die Keime "gezwungen", Leistungen in Form von Temperaturanpassung zu erbringen, was eine Verlängerung der Generationszeit von 22 auf 37 min bei pH 7,3 zur Folge hatte.

Kam eine Verringerung des pH-Wertes auf 6,0 als zusätzlicher "Streßfaktor" hinzu, stieg die Generationsdauer auf gut das Doppelte (48 min).

Bei einer Temperatur von 20°C ließen sich Parallelen zu den Ergebnissen bei 25°C ziehen. Im Vergleich zu 37°C war die Generationszeit bei neutralem pH-Wert 2,6 mal und bei pH 6,0 2,8 mal so lang wie im Bereich der Optimaltemperatur. So verringerte sich die Zahl der Generationszyklen pro Stunde bei 20°C und pH-Wert 6,0 auf 0,8; die Zahl der Zyklen pro Tag betrug nur knapp 20, also gut 1/3 weniger als unter Optimalbedingungen.

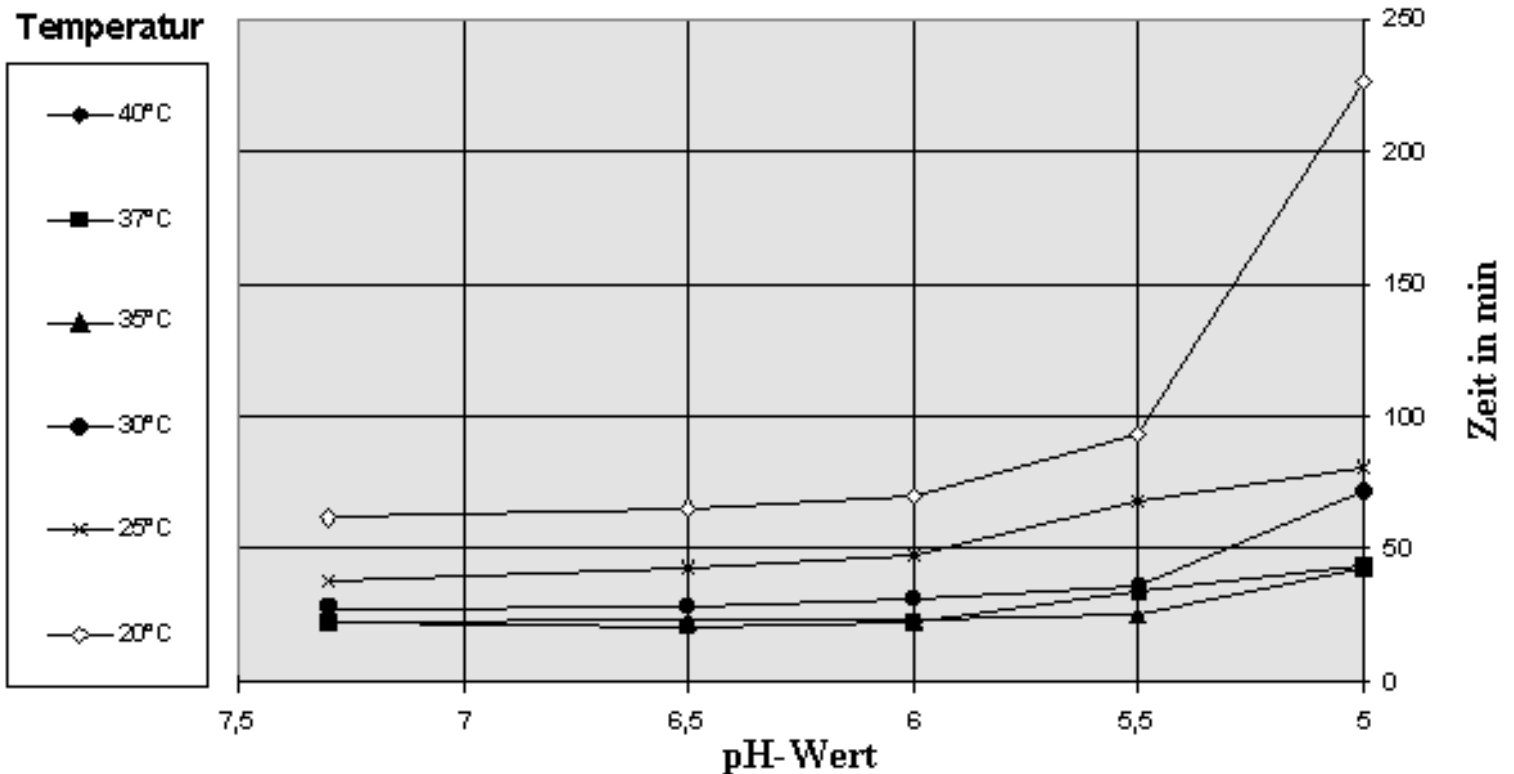


Abbildung 32: Mittelwerte der Generationszeiten von *Enterobacteriaceae*-Stämmen (ohne *Yersinia* spp.) in Abhängigkeit von pH-Wert und Temperatur

Stärker als andere Gattungen ließen sich die *Salmonellen* und *Shigellen*, zum Teil auch *Escherichia*, durch die Verringerung der Temperatur in ihrem Wachstum und ihrer Vermehrung hemmen, besonders stark erfolgte dies erwartungsgemäß bei 12°C. Da es sich bei o.g. Keimen um lebensmittelhygienisch sehr bedeutsame Genera handelt, kann eine solche Eigenschaft von Vorteil sein, wenn es darum geht, die Vermehrungsgeschwindigkeit gerade dieser Keime zu verringern, um damit Lebensmittelvergiftungen vorzubeugen.

Allgemein konnte festgestellt werden, daß die Verlängerung der Generationszeiten mit der Verringerung der Temperatur nicht proportional verlief. Die Generationszeit betrug bei 20°C im Gegensatz zu 37°C fast das 3-fache. Sie verlängerte sich bei 18°C auf das 4-fache, bei 15°C auf das 6-fache und bei 12°C auf das 9-fache.

Somit kann die Keimzahl der o.g. Stämme in einem Lebensmittel bei Lagerung im Temperaturbereich von 25°C und darüber in 1/2 bis 1 Stunde die selbe Größe erreichen wie nach 5 Stunden bei 12°C (bei Ausklammerung der lag-Phase).

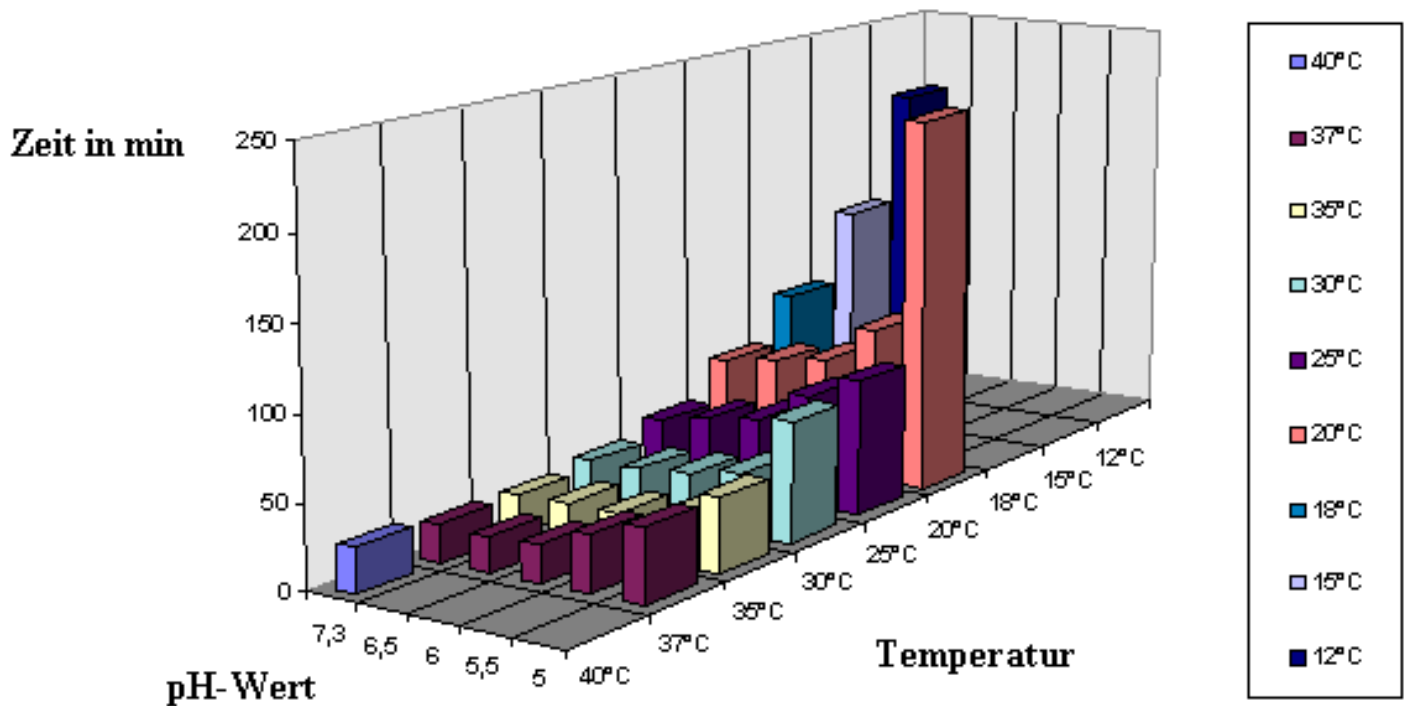


Abbildung 33: Mittlere Generationszeiten von *Enterobacteriaceae*-Stämmen (ohne *Yersinia* spp.) in Abhängigkeit von Temperatur und pH-Wert

Die Ergebnisse zum Einfluß des Initial-pH-Wertes zeigten, daß die Generationszeit erst durch pH-Werte unter 5,5 stark verlängert wird (Abb. 33). Bei pH-Wert 6,0 konnten im Vergleich zu pH-Wert 7,3 keine bzw. bei niedrigen Temperaturen nur geringfügige Verlängerungen des Generationszeitintervalls bemerkt werden. Erst bei pH-Wert 5,5 und noch deutlicher bei pH-Wert 5,0 nahmen die Generationszeiten im Vergleich zum Neutralwert zu. Insbesondere konnte die Vermehrungsgeschwindigkeit der *Yersinien* und *Shigellen* durch diese niedrigen pH-Werte eingeschränkt werden.

Im pH-Bereich unter 6,0 nahmen die Generationszeiten zu und erreichten bei 37°C und pH 5,0 den doppelten Wert im Vergleich zum Optimum, bei 30°C und pH 5,0 betrug die für einen Generationszyklus benötigte Zeit bereits das 3-fache und bei 20°C das 9-fache.

Die wachstums- und vermehrungshemmende Wirkung niedriger Temperaturen wurde durch den Einfluß niedriger pH-Werte verstärkt.

Zu einer **gravierenden Vermehrungshemmung** führten demnach Temperaturen unter 15°C oder ein pH-Wert von 5,0 sowie bei Berücksichtigung beider Einflußgrößen eine Temperatur $\leq 20^\circ\text{C}$ im Kontext mit einem pH-Wert von maximal 5,5.

Je niedriger Temperatur und pH-Wert gestaltet wurden, desto drastischer verlängerte sich die Generationszeit der Bakterien (Abb. 33).



Seitenanfang



umblättern



4 Diskussion

Im Zeitraum der letzten 35 Jahre wurden nur wenig Erkenntnisse über Generationszeiten gewonnen. Erst mit der Etablierung moderner mikrobiologischer Verfahren, insbesondere von Schnellmethoden, konnten Untersuchungen zur Vermehrungsgeschwindigkeit und Keim-dynamik effektiv vorgenommen werden. Die eigenen Untersuchungen vervollständigen und erweitern das Datenmaterial, insbesondere für die Familie der *Enterobacteriaceae*, beträchtlich.

Zu den Generationsintervallen 10 verschiedener *Enterobacteriaceae*-Genera können in Abhängigkeit von unterschiedlichen Temperaturen und pH-Werten mit der vorliegenden Arbeit detaillierte Aussagen gemacht werden.

Im Wesentlichen wurde ein gleichartiges Verhalten aller geprüften *Enterobacteriaceae*-Stämme in Abhängigkeit von verschiedenen Einflußfaktoren beobachtet. Eine Ausnahme bildeten lediglich die *Yersinien*. Während sich die Gattungen *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, Tribus *Proteus*, *Serratia* und *Hafnia* im Temperaturbereich von 30 bis 40°C und bei pH-Werten zwischen 7,3 und 5,5 ähnlich verhielten, nahm bei Temperaturen unter 30°C und bei einem pH-Wert von 5,0 die Streuung der Meßwerte zu.

Die im Rahmen der eigenen Untersuchungen ermittelten Generationszeiten bestätigen und präzisieren die Angaben von Petzoldt und Kirchhoff (1986). Diese geben für *E. coli* und einige andere *Enterobacteriaceae* unter günstigen Bedingungen Generationszeiten von weniger als 20 min an.

Die eigenen Meßwerte für *E. coli* betragen bei 40°C und pH-Wert 7,3 sowie bei 37°C und pH 7,3 und 6,5 durchschnittlich 19,2 min. Bei derart optimalen Milieubedingungen betragen die Generationszeiten von *Salmonella Typhimurium*, *Salmonella Enteritidis*, *Shigella spp.*, *Klebsiella pneumoniae ssp. pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* und *Proteus mirabilis* ebenfalls weniger als 20 min.

Bei 37°C und neutralem pH-Wert wiesen auch Stämme von *Klebsiella pneumoniae ssp. pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter diversus* und *Serratia marcescens* vergleichbar kurze Generationszeiten (kleiner als 20 min) auf. Für die meisten Bakterien der *Enterobacteriaceae* betrug somit die Generationszeit im Optimalbereich etwa 20 min. Eine Ausnahme bildeten Stämme der Gattung *Yersinia*, die deutlich mehr Zeit für einen Generationszyklus benötigten. Für sie würde daher die Aussage von Petzoldt und Kirchhoff (1986) nicht zutreffen.

Schlegel und Zaborosch (1992) waren der Meinung, *Enterobacteriaceae* würden sich alle 15 bis 30 min teilen. Dies gilt jedoch mit hoher Wahrscheinlichkeit nur im Rahmen bestimmter Temperatur- und pH-Bedingungen. Nach Auswertung der eigenen Untersuchungen würde die Aussage der obengenannten Autoren im Bereich von Temperaturen unter 30°C und/oder bei pH-Werten von 5,5 und weniger nicht mehr gelten.

In den Modellversuchen konnte ermittelt werden, daß bei ungünstigen Milieubedingungen die Generationszeiten 200 min und mehr (siehe Anhang, Tabelle 80 bis 84) betragen. Der auch von

Schlegel und Zaborosch (1992) geäußerten Auffassung, daß *Entero-bacteriaceae* sich bei 37°C alle 20 min teilen, kann nur insofern zugestimmt werden, als daß die Generationszeit für fast alle lebensmittelhygienisch relevanten Gattungen der *Entero-bacteriaceae*, statistisch gesichert, 22 min beträgt. Eine Ausnahme bildete die Gattung *Yersinia*, die ebenfalls der Familie der *Enterobacteriaceae* angehört. Ihre Generationszeit betrug bei 37°C unter neutralen pH-Bedingungen 44 min.

Von einigen Autoren liegen Angaben zur Generationszeit einzelner Stämme der *Enterobacteriaceae* vor.

So ermittelte Wicke (1995) bei *Salmonella Enteritidis* im Bereich von 17 bis 30°C Generationszeiten von 143 bis 30 min. Beim Vergleich ihrer Angaben mit eigenen Untersuchungsergebnissen läßt sich eine weitgehende Übereinstimmung der Ergebnisse feststellen. Bei der Auswertung wurde berücksichtigt, daß die Inkubationstemperaturen sich geringfügig unterschieden. Die Ergebnisse sind in Tabelle 25 vergleichend dargestellt und darüber hinaus durch weitere eigene Meßwerte ergänzt. Ebenso deckten sich die eigenen Ergebnisse weitgehend mit den Angaben von Scheibner (1994). Auch er ermittelte im Temperaturbereich zwischen 37 und 42°C für *Salmonella Enteritidis* eine Generationszeit von 20 min.

Die Untersuchungsergebnisse zur Generationszeit von *Salmonella Enteritidis* stimmen im Wesentlichen auch mit den Angaben von Fehlhaber und KRÜGER (1994) überein (Tabelle 25). Allerdings konnten in den eigenen Untersuchungen bei 10°C und 12°C für *Salmonella Enteritidis* keine Generationsintervalle ermittelt werden, weil der Untersuchungszeitraum von 120 Stunden für die Erfassung signifikanter Leitfähigkeitsänderungen zur Ermittlung der Generationszeiten nicht ausreichte.

Tabelle 25: Generationszeiten für *Salmonella Enteritidis*

Spezies	Fehlhaber / Krüger (1994)		Wicke (1995)		eigene Untersuchungen	
	Temperatur in °C	GZ in min	Temperatur in °C	GZ in min	Temperatur in °C	GZ in min
	42	24,0			40	18,0
	37	20,4			37	21,6
	32	24,7	30	30,6	30	29,7
<i>Salmonella</i>	27	38,1			25	40,5
<i>Enteritidis</i>	22	65,0	22	63,7	20	69,3
	17	129	17	143	18	108
	12	349			12	n. b.
	7	(747)			10	n. b.

Ludewig und Fehlhaber (1996) stellten Generationszeiten für Stämme aus drei Gattungen der *Enterobacteriaceae* vor (Tab. 26) und kamen bei ihren Untersuchungen zu weitgehend übereinstimmenden Ergebnissen. Sie berichteten ebenfalls über eine zunehmende Streuung der Generationszeiten bzw. der ihnen zugrundeliegenden Meßwerte im Bereich niedriger Temperaturen. Ihre Meßergebnisse und die Ergebnisse der eigenen Untersuchungen waren im Temperaturbereich von 37°C bis 15°C nahezu identisch (Tab. 26).

Die von den erstgenannten Autoren angegebenen Generationszeiten für *E. coli*, *Klebsiella*

pneumoniae und *Enterobacter* spp. (Tab. 6) bei Temperaturen von 2°C bis 10°C konnten allerdings nicht bestätigt werden. Detektionszeiten, die die Grundlage für die Berechnung der Generationszeit bilden, konnten bei einer Temperatur von 10°C nur für das Genus *Hafnia* vollständig ermittelt werden. Bei der Gattung *Yersinia* ließ sich lediglich ein Wert von jedem *Yersinia-enterocolitica*-Stamm bestimmen. Damit erbrachten die im Rahmen der eigenen Arbeit durchgeführten Untersuchungen bei einer Temperatur von 10°C in einem Untersuchungszeitraum von sechs Tagen nur eine geringe Anzahl von Ergebnissen (Tab. 84) und können deshalb nicht als repräsentativ gelten.

Abschließend läßt sich feststellen, daß die Impedanzmessung mit dem Malthus-System zur Bestimmung von Generationszeiten im Temperaturbereich unter 12°C offenbar wenig geeignet ist.

Tabelle 26: Generationszeitenmittelwerte in min

<i>Escherichia coli</i>				<i>Klebsiella pneumoniae</i>				<i>Enterobacter spp.</i>			
L./F. 1996		eig. U.		L./F. 1996		eig. U.		L./F. 1996		eig. U.	
T	GZ	T	GZ	T	GZ	T	GZ	T	GZ	T	GZ
37	20	37	20,7	37	20	37	21,6	37	20	37	19,2
		35	20,3			35	23,1			35	19,4
32	26	30	25,8	32	26	30	28,2	32	24	30	24,9
27	38	25	42,0	27	38	25	29,1	27	34	25	34,4
22	64	20	71,3	22	60	20	58,5	22	52	20	44,6
17	144	18	102,5	17	125	18	85,7	17	108	18	71,0
		15	144,6			15	126,6			15	112,8
		12	278,1			12	200,4			12	205,1
10	358	10	n.b.	10	563	10	n.b.	10	249	10	n.b.
8	1187	7	n.b.	8	21586	7	n.b.	8	952	7	n.b.
6	4155			6	0			6	1633		
4	0			4				4	4025		
2				2				2	0		

Erläuterungen zur Tabelle: L./F. 1996 = Ludewig und Fehlhaber 1996
 eig. U. = eigene Untersuchungen
 T = Temperatur in °C
 GZ = Generationszeit in min
 n.b. = nicht bestimmbar

Bei der Anwendung der Impedanztechnik ist generell zu berücksichtigen, daß auch die verwendeten Gerätesysteme und ihre Programmierung einen Einfluß auf die Meßergebnisse haben können. Für die eigenen Untersuchungen wurde beispielsweise als Wert für die erste Ableitung 0,8 µS gewählt. Nach Angaben des Herstellers kann für die Messung der Leitfähigkeitsänderung bei *Enterobacteriaceae* auch ein weniger empfindlicher Wert zwischen 4 µS bis 9 µS genutzt werden. Möglicherweise bestehen auch Unterschiede in der Empfindlichkeit bzw. Störanfälligkeit zwischen dem von Fehlhaber und Krüger bzw. Ludewig verwendeten RABIT-System (Fa. Mast Diagnostica) und dem im Rahmen der eigenen Arbeit genutzten Malthus-System (Fa. Radiometer Deutschland).

Neben den Gerätesystemen und ihrer Einstellung können auch die verwendeten Nährmedien für die

Untersuchungsergebnisse von Einfluß sein. Während Fehlhaber und Mitarbeiter die für das RABIT-System speziell entwickelte Whitley Impedance Broth verwendeten, wurde in den eigenen Untersuchungen Nährbouillon I genutzt. Üblicherweise werden spezielle Medien für die Keimzahlbestimmung verwendet, mit denen evtl. auch Detektionszeiten oder Generationszeiten unter aus mikrobiologischer Sicht extrem ungünstigen Bedingungen hätten bestimmt werden können. Die hier verwendete Nährbouillon hatte sich in Vorversuchen als geeignet erwiesen und war zudem kostengünstig.

Untersuchungen zum Wachstums- und Vermehrungsverhalten bei einem pH-Wert von 4,5, deren Ergebnisse ursprünglich in die Arbeit einfließen sollten, wurden nur bei 25°C durchgeführt. Da nach 234 Stunden Untersuchungszeit (etwa 10 d) aber nur von zwei Dritteln der Bakterienstämme Generationszeiten ermittelt werden konnten, wurden die Versuche abgebrochen. Da ein pH-Wert von 4,5 allgemein jedoch als Grenze für eine Vermehrung der *Enterobacteriaceae* gilt, wäre hier auch die Frage interessant, ob und nicht wie schnell die Mikroben wachsen und sich vermehren. Die Ergebnisse der eigenen Untersuchungen zu den Generationszeiten von *E. coli* in Abhängigkeit von der Temperatur unterscheiden sich gegenüber denen von Ingraham (1958) im Temperaturbereich von 20 bis 40°C weniger als im Bereich unter 20°C. Hier sind die Unterschiede deutlich (siehe Tabelle 27).

Tabelle 27: Generationszeiten von *E. coli*

Spezies	Ingraham (1958)		eigene Untersuchungen	
	Temperatur in °C	Generationszeit in min	Temperatur in °C	Generationszeit in min
	46	32		
	44	22		
<i>Escherichia coli</i>	40	21	40	17,6
	38	22	37	20,7
	34	28	35	20,2
	30	33	30	25,8
	26	56	25	42,0
	22	96	20	71,3
	18	260	18	102,5
	14	400	15	144,6

Dabei ist zu bedenken, daß Ingraham zur damaligen Zeit lediglich konventionelle oder traditionelle Methoden der Keimzahlbestimmung zur Verfügung standen, keineswegs aber computergestützte Schnellmethoden. Um so erstaunlicher ist die große Übereinstimmung der Ergebnisse, insbesondere bei Temperaturen oberhalb 20°C.

Ludewig und Fehlhaber (1996) ermittelten erst bei 10°C (also 4°C unter der niedrigsten von Ingraham (1958) geprüften Temperatur) eine Generationszeit für *E. coli* von 358 min. Ingraham (1958) gab bereits bei 14°C für *E. coli* eine Generationsdauer von 400 min an. Der Umfang der für diesen Temperaturbereich vorliegenden Daten der eigenen Untersuchungen ist zu gering, um dazu eine abschließende Aussage treffen zu können.

In der eigenen Arbeit mußte von einer Ermittlung der Generationsintervalle in Abhängigkeit vom Kochsalzgehalt abgesehen werden. In Vorversuchen hatte sich gezeigt, daß eine impedimetrische

Bestimmung der Generationsdauer nur bei sehr geringen NaCl-Konzentrationen möglich ist. Jaksch wies bereits 1991 darauf hin, daß eine Aufzeichnung von Wachstums- und Vermehrungsdaten in Abhängigkeit von verschiedenen Kochsalzkonzentrationen mit Hilfe des Impedanzmeßverfahrens nicht unproblematisch ist. Er erklärte, daß die Leitfähigkeit des verwendeten Mediums in einem bestimmten Bereich liegen muß und daß daher viele der herkömmlichen Medien (insbesondere solche mit verschiedenen Salzen und anderen selektiven Wirkstoffen) nicht verwendet werden können. Erst Kochsalzgehalte über 2% führen zu Änderungen der Wachstums- und Vermehrungs-geschwindigkeit relevanter Mikroben. Konzentrationen dieser Größenordnung beeinflussen aber die Grund- oder Basisleitfähigkeit des Mediums bereits derart stark, daß mikrobiell verursachte Leitfähigkeitsänderungen nicht mehr oder nur unzureichend erfaßt werden können.



Seitenanfang

webdesigned and layouted by [Reik H. Börger](#), Oct. 97



umblättern



5 Zusammenfassung

Während der Herstellung und Behandlung sowie des Inverkehrbringens unterliegen Lebensmittel vielfältigen Einflußfaktoren, die zu einer mikrobiellen Kontamination führen können. Eine mögliche, sich anschließende Keimvermehrung im Lebensmittel birgt ein erhöhtes Risiko in sich für das Auftreten von Lebensmittelvergiftungen bzw. Lebensmittelverderb.

Von großer Bedeutung für die Keimvermehrung, in deren logarithmischer Phase die Generationszeit bestimmt werden kann, sind die Milieubedingungen, wie beispielsweise Temperatur und pH-Wert. Werden sie entsprechend gestaltet, kann eine Anreicherung von Bakterien und/oder ihren Toxinen verhindert werden. Dafür werden im Rahmen von Qualitätssicherungssystemen (HACCP) verstärkt Messungen z.B. des pH-Wertes und der Temperatur bzw. des Temperaturverlaufes durchgeführt. Um diese Parameter effektiv gestalten zu können und/oder Voraussagen zur Vermehrung bzw. zur Stagnation des Wachstums von Mikroorganismen treffen zu können (letztlich Haltbarkeitsvoraussagen, Predictive Microbiology), sind genaue Kenntnisse über das Wachstums- und Vermehrungsverhalten der Mikroben notwendig. Ausdruck der Vermehrungsgeschwindigkeit ist die **Generationszeit**. Im Literaturteil der vorliegenden Arbeit wurde das internationale Schrifttum zu Aspekten des Wachstums und der Vermehrung von Bakterien sowie zu Generationszeiten und den sie beeinflussenden Milieubedingungen zusammengetragen und ausgewertet. Dabei konnte festgestellt werden, daß die bislang verfügbaren Angaben zu Generationszeiten von Mikroorganismen auf Grund methodischer Probleme unzureichend waren bzw. sind.

Erst in den 90er Jahren wurden verstärkt Anstrengungen unternommen, das Datenmaterial zu vervollständigen. Möglich wurde bzw. wird dies durch den Einsatz neuer Schnellmethoden, unter denen sich das **Impedanzmeßverfahren** als besonders geeignet erwies.

Es bietet die Möglichkeit, Generationszeiten indirekt unter vielfältigen Bedingungen und in großem Umfang rasch und effektiv zu bestimmen.

Im Gegensatz zu den bisher verwendeten Kulturverfahren, die immer mit einer Bestimmung der Keimzahl einhergehen und daher zeit- und materialaufwendig sind, wird hierbei in 2 Proben mit unterschiedlichen Ausgangskeimzahlen die Leitfähigkeitsänderung - Impedanz - gemessen. Aus der Differenz der Initialkeimzahlen im Verhältnis zur Differenz der impedimetrisch bestimmten Detektionszeiten wird die Generationszeit ermittelt.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden Generationsintervalle für 30 verschiedene Stämme lebensmittelhygienisch relevanter ***Enterobacteriaceae*spezies und -genera** bestimmt. Die Modellstämme gehörten 10 Gattungen an und unterschieden sich in ihren Eigenschaften und ihrer Herkunft.

Die Bedeutung dieser Mikroben wurde im Literaturteil erläutert, dabei wurde auf klinische und epizootiologische Gesichtspunkte der *Enterobacteriaceae*-Infektionen und -Intoxikationen des Menschen sowie auf Möglichkeiten der Verderbnis, die diese Keime verursachen können, näher

eingegangen. Auch wurden einige der durch die Bakterien hervorgerufenen Erkrankungen bei Mensch und Tier aufgeführt.

Ziel der experimentellen Untersuchungen war die Bestimmung der Generationszeiten der *Enterobacteriaceae* in Abhängigkeit von verschiedenen Milieubedingungen (bei Temperaturen zwischen 12°C und 40°C sowie pH-Werten zwischen 5,0 und 7,3).

Im Hinblick auf die Generationsintervalle der untersuchten Genera kam es darauf an, zu prüfen, inwieweit diese zwischen den Stämmen einer Spezies bzw. zwischen den Spezies einer Gattung, insbesondere bei niedrigen Temperaturen, variieren können.

Zwischen der Länge der Generationszeit und der Temperatur konnten eindeutige Beziehungen festgestellt werden. Im geprüften Temperaturbereich konnte festgestellt werden, daß der Mittelwert der Generationszeiten der untersuchten Modellstämme, ausgenommen die *Yersinia* spp., wie erwartet bei 35°C bzw. 37°C mit ca. 22 min am kürzesten war und stetig zunahm, je weiter sich die Temperatur vom Optimum entfernte.

Unter günstigen Milieubedingungen (Temperaturen von 30°C bis 37°C, pH-Werte von 6,0 bis 7,3) waren die Generationszeiten der Modellstämme nahezu homogen.

Erst Temperaturen unter 25°C und saure Initial-pH-Werte, wie pH 5,0 und z.T. pH 5,5, führten zur Verlangsamung der Wachstums- und Vermehrungsvorgänge.

Mit der Verringerung der Inkubationstemperaturen nahmen die Generationszeiten der Modellstämme disproportional zu. Betrug die Generationszeit bei 20°C fast das 3-fache gegenüber 37°C, steigerte sich dies bei 18°C auf das 4-fache, bei 15°C auf das 6-fache und bei 12°C auf das 9-fache.

Unterhalb einer Temperatur von 12°C war eine impedimetrische Generationszeitbestimmung nur bei einigen Stämmen und mit einem erheblichen Zeitaufwand möglich.

Zu einer gravierenden Hemmung der Wachstums- und Vermehrungsvorgänge führten Temperaturen unter 15°C oder ein pH-Wert von 5,0 sowie bei Berücksichtigung beider Einflußgrößen eine Temperatur $\leq 20^\circ\text{C}$ im Zusammenwirken mit einem pH-Wert von $\leq 5,5$.

Bei der Auswertung der Ergebnisse fiel auf, daß die Generationszeiten aller geprüften *Enterobacteriaceae*-Stämme nahezu identisch waren, jedoch die *Yersinien* meist signifikant längere Generationsintervalle aufwiesen und daher gesondert betrachtet werden mußten.

Bei ungünstigen Milieubedingungen nahm die Streuung der Ergebnisse insgesamt zu, wobei z.B. die Gattungen *Salmonella* und *Shigella* stärker in ihrer Wachstums- und Vermehrungsgeschwindigkeit eingeschränkt wurden und sich ihre Generationszeiten im Gegensatz zu den übrigen Gattungen dementsprechend stärker verlängerten.

Die gewonnenen Erkenntnisse vervollständigen und erweitern das Wissen zur Vermehrungsgeschwindigkeit von Mikroben, insbesondere aus der Familie der *Enterobacteriaceae*. Sie können dazu beitragen, mögliche Gefahren für die menschliche Gesundheit besser einzuschätzen und den Lebensmittelverderb zu minimieren.



Seitenanfang

webdesigned and layouted by [Reik H. Börger](#), Oct. 97



umblättern



6 Summary

Impedimetric determination of generation times of strains of food-hygienically relevant *Enterobacteriaceae*-species and -genera

Food products are subject to various influencing factors possibly leading to a microbial contamination during production, treatment and entry into circulation. A possible ensuing germ multiplication within the food product involves a high risk of food poisoning or food perishing. Of great importance for germ multiplication - during which log phase generation time can be determined - are milieu conditions such as temperature and pH-value. An accumulation of bacteria and/or their toxins can be prevented by appropriate manipulation of milieu conditions. To achieve this, increased measurements, for example of the pH-value, temperature or temperature-variation, are carried out within the framework of quality assurance systems (HACCP). It is essential to have exact knowledge of the breeding and multiplication behaviour of microbes in order to arrange pH-value / temperature / temperature-variation parameters effectively and / or to allow predictions of multiplication or of stagnation in the breeding of microorganisms (and finally to allow predictions as to how long food can be safely kept [predictive microbiology]). The speed at which multiplication takes place is manifested by the **generation time**. The international literature on aspects of growth and multiplication of bacteria as well as on generation time and milieu conditions has been collected and analysed in the literature review of the present study. It is evident that the information on generation time of microorganisms so far been available is still insufficient because of methodical problems.

Efforts to complete data material have only been made in the 1990s, and were facilitated by the use of rapid new methods amongst which **impedance measurement** has proved to be especially suitable.

Impedance measurement offers the possibility of quickly and effectively determining generation times indirectly under various conditions and in greater scales.

Previous culture methods involved determination of germ counts and were therefore costly as far as time and materials were concerned. Impedance measurement measures the change of conductivity (impedance) within 2 samples with differing germ numbers. Generation time is determined on the basis of the difference of the initial germ numbers in proportion to the difference of the impedimetrically determined detection time.

Within the framework of this project, generation intervals of 30 different strains of food-hygienically relevant ***Enterobacteriaceae*-species and -genera** were determined. The model strains belonged to 10 genera and differed in their characteristics and in their origins.

The importance of these microbes was explained in the literature review, in which special attention was given to the clinical and epizootiological factors of *Enterobacteriaceae*-infections and -intoxications in humans as well as the possibility of perishability caused by these germs. Various illnesses caused by these bacteria in humans and animals have also been listed.

The aim of the experiments was the determination of generation times of *Enterobacteriaceae* in relation to different milieu conditions (with temperatures ranging from 12°C to 40°C and pH-values between 5.0 and 7.3).

In view of the generation intervals of the examined genera it was essential to check to what extent generation intervals differed between the strains of one species or between the species of one genus, especially at low temperatures.

Clear relations could be established between the length of generation time and temperature. Within the examined temperature sector it was ascertained that the mean of the generation times of the model strains (except the *Yersinia* spp. strain) was, as expected, shortest with 22 min at 35°C and 37°C respectively and grew steadily with the deviation of temperature from the optimum.

Under favourable milieu conditions (temperatures from 30°C to 37°C, pH-value from 6.0 to 7.3) the generation times of the model strains were almost homogenous.

Only temperatures, especially those under 25°C, and acid initial pH-values such as pH 5.0 and partly even pH 5.5 caused a slow in growth and multiplication processes.

With the reduction of incubation temperatures, the generation times of the model strains grew disproportionally. Generation time at 20°C was triple of that at 37°C, increasing at 18°C to quadruple, at 15°C to six-fold and at 12°C to nine-fold.

Below 12°C an impedimetric determination of generation time was only possible with a few of the strains and over a considerable period of time.

Temperatures under 15°C or a pH-value of 5.0 (or considered together a temperature $\leq 20^\circ\text{C}$ in interaction with a pH of ≤ 5.5) lead to a considerable slowing down of growth and multiplication processes.

Upon evaluation of the results, it was conspicuous that the majority of the generation times of the examined *Enterobacteriaceae*-strains were almost identical, but that the *Yersinia* showed significantly longer generation intervals and therefore had to be analysed separately.

Under unfavourable milieu conditions, the mean variation of results increased, whereby for example, the genera *Salmonella* and *Shigella* were more restricted in their speed of growth and multiplication, their generation time increasing in contrast to the other genera.

The acquired results complete and broaden the knowledge of multiplication speed of microbes, especially those from the *Enterobacteriaceae*-family. These results can contribute to a better assessment of possible hazards to the human health and to the minimization of food perishing.





7 Literaturverzeichnis

- ALBERTS, B., BRAY, D., LEWIS, J., RAFF, M., ROBERTS, K., WATSON, J.D. (1990):
Molekularbiologie der Zelle.
Weinheim: VCH.
- ALFORD, A.L., PALUMBO, S.A. (1969):
Interaction of salt, pH and temperature on the growth and survival of Salmonellae in ground pork.
Appl. Microbiol. 17, 528-532.
- ARMSTRONG, P.J. (1984):
Systemic Serratia marcescens infections in a dog and a cat.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 184, 1154-1158.
- AULISIO, C.G.G., LANIER, J.M., CHAPPEL, M.A. (1982):
Yersinia enterocolitica O:13 associated with outbreaks in three southern states.
J. Food Protect. 45, 1263.
- BARTHOLD, S.W., COLEMAN, G.L., BHATT, P.N., OSBALDISTON, S.W., JONAS, A.M. (1976):
The etiology of transmissible murine colonic hyperplasia.
Lab. Anim. Sci. 26, 889-894.
- BASKIN, G.B. (1980):
Comparative aspects of Yersinia pseudotuberculosis infection in animals.
In: MONTALI, R.J., MIGAKI, G.: The comparative pathology of zoo animals. Washington: Smithsonian Institution Press, 219-223.
- BAUER, J., HÖRMANSDORFER, S. (1991):
Salmonellosen bei Nutztieren.
Fleischwirtsch. 75, 958-960.
- BAUMGART, J. (1993):
Mikrobiologische Untersuchung von Lebensmitteln. 3. Aufl.
Hamburg: Behr.
- BAUMGARTNER, A., SCHIFFERLI, O., SPIESS, B. (1984):
Epidemiologische Studie eines multiresistenten Enterobacter cloacae, Ursache von iatrogenen Infektionen in einer chirurgischen Einheit.
Zbl. Vet. Med. Reihe B 31, 73-77.
- BENTLER, W. (1980):
Mikrobiologie, Hygiene, Immunitätslehre.
Paderborn: Ferdinand Schöningh.
- BENTLER, W. (1992):

Mit den Salmonellen leben?
Fleischwirtsch. 72, 1339.

BERGANN, T. (1994 A):

Derzeitige Grenzen und mögliche Entwicklungen der Schlachttier- und
Fleischuntersuchung.
Wien. Tierärztl. Mschr. 81, 210-214.

BERGANN, T. (1994 B):

Zum Problem von Dosis infectiosa minima - Angaben für Lebensmittelinfektions- und
-intoxikationserreger.
In: 47. Arbeitstagung des Arbeitskreises Lebensmittelhygienischer Tierärztlicher
Sachverständiger (ALTS).
Berlin.

BERGANN, T., KLEEMANN, J., SOHR, DORIT (1995):

Modelluntersuchungen zur Psychrotrophie von *Yersinia enterocolitica*.
J. Vet. Med. B 42, 523-531.

BEUTLING, DOROTHEA (1993):

Weitere Versuche zur langfristigen Kältekonservierung von lebensmittelhygienisch
relevanten Mikroben.
Mh. Vet. Med. 48, 381-384.

BEYER, K. (1979):

Aerobe Mikroflora bei Kühllagerung vakuumverpackten Rindfleisches unter besonderer
Berücksichtigung der Enterobacteriaceae.
Berlin: Freie Univ., Fachbereich Veterinärmedizin, Diss.

BGA (BUNDESGESUNDHEITSAMT) (1992):

Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG. Loseblatt-sammlung.
Berlin: Beuth.

BLOBEL, H., SCHLIESSER, T. (1982):

Handbuch der bakteriellen Infektionen bei Tieren. Band IV.
Stuttgart: Fischer.

BOLTON, F.J. (1991):

Conductance and impedance methods for detecting pathogens.
In: Vaheri, A., Tilton, R. A., Balows, A. (eds.): Rapid Methods and Automation in
Microbiology and Immunology.
Berlin: Springer. 176-181.

BRAMLEY, A.J., NEAVE, F.K. (1975):

Studies on the control of coliform mastitis in dairy cows.
Br. Vet. J. 131, 160-169.

BRANDIS, H., OTTE, H.J. (1984):

Lehrbuch der Medizinischen Mikrobiologie. 5. Aufl.
Stuttgart: Fischer.

BRENNER, D.J. (1981):

Genus *Enterobacter*.

In: STARR, M.P. (ed): *The Prokaryotes*. Vol. II.

New York: Springer. Kap. 95, 1137-1180

BROCK, T.D., MADIGAN, M.T. (1991):

Biology of Microorganisms. 6th ed.

Englewood Cliffs: Prentice Hall.

BROWN, C., SEIDLER, R.J. (1973):

Potential pathogens in the environment: *Klebsiella pneumoniae*, a taxonomic and ecological enigma.

Appl. Microbiol. 25, 900-904.

BÜLTE, M. (1995):

Enterohämorrhagische *E.coli*-Stämme (Ehec) - Aktuell in der Bundesrepublik Deutschland?

1. Pathogenitätspotential von EHEC-Stämmen - Bedeutung als

Lebens-mittelinfectionserreger.

Fleischwirtsch. 75, 1430-1432.

BÜLTE, M.G., STOLLE, A.F. (1989):

Die Einsatzfähigkeit moderner mikrobiologischer Schnellverfahren zur Untersuchung von Lebensmitteln tierischen Ursprungs.

Fleischwirtsch. 69, 1459-1463

BUCHANAN, R.E., GIBBON, N.E (1974):

Bergey's Manual of determinative bacteriology. 8th ed.

Baltimore: Williams und Wilkins.

BUCHANAN, R.L., KLAWITTER, L.A. (1992):

The effect of incubation temperature, initial pH and sodium chloride on the growth kinetics of *Escherichia coli* O157:H7.

Food Microbiol. 9, 185-196.

CADY, P. (1975):

Rapid automatic bacterial identification by impedance measurement.

Autom. Microbiol. Identific. Routines 6, 73-99.

CLARKE, R.C., GYLES, C.L. (1993):

Salmonella.

In: gyles, c.l., thoen, c.o. (eds): *Pathogenesis of bacterial infections in animals*. Ames: Iowa State Press. 133-153.

CORLETT, D.A., BROWN, M.H. (1980):

In: *Microbial Ecology of Foods*. Vol. 1.

London: ICMSF, Academic Press. 92-111.

DELMAS, C.L., VIDON, D.J.-M. (1985):

Isolation of *Yersinia enterocolitica* and related species from foods in France.

Appl. Environ. Microbiol. 50, 767-771.

DGHM, DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR HYGIENE UND MIKROBIOLOGIE (1983):

Isolierung und Identifizierung von Enterobacteriaceae.

Zbl. Bakt. Hyg., I.Abt. Orig. A 254, 1-25.

DIN, DEUTSCHES INSTITUT FÜR NORMUNG E. V. (1991):

Medizinische Mikrobiologie und Immunologie, Normen und weitere Unterlagen.

DIN-Taschenbuch 222, 2.Aufl.

Köln: Beuth.

DOYLE, M.P., PADHYE, V.V. (1989):

Escherichia coli.

In: Doyle, M.P. (ed): Foodborne Bacterial Pathogens.

Basel: Marcel Dekker. 235-281.

DOYLE, M.P., SCHOENI, J.L. (1984):

Survival and growth characteristics of Escherichia coli associated with haemorrhagic colitis.

Appl. Environ. Microbiol. 53, 2394-2396.

DRÄGER, G. (1971):

Salmonellosen, ihre Entstehung und Verhütung.

Berlin: Akademie.

EASTER, M.C., GIBSON, D.M. (1985):

Rapid and Automated Detection of Salmonellas by Electrical Measurements.

J. Hyg. 94, 245-262.

EL-KHATEIB, T. (1995):

Verhalten von E. coli in Wurstbrät; Einfluß und Wechselwirkung von Temperatur, pH-Wert und Natriumchlorid.

Fleischwirtsch. 75, 191-195.

ERNST, P. (1982):

Ein Bestimmungsschlüssel für die Routinediagnostik von Keimen der Familie Enterobacteriaceae.

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Org. A 251, 512-521.

FARMER III, J.J. (1985):

„Draft“ biochemical chart for identifying the named species and „enteric groups“ of Enterobacteriaceae.

Atlanta, Georgia: Enteric Laboratories, CDC, Center for Infectious Diseases 30 333.

FEHLHABER, K. (1981):

Zur Bedeutung der Shigellen aus der Sicht tierärztlicher Lebensmittelhygiene.

Mh. Vet. Med. 36, 308-313.

FEHLHABER, K. (1982):

Untersuchungen zur Bedeutung von Shigellen aus der Sicht der tierärztlichen Lebensmittelhygiene.

Berlin: Humboldt-Univ., Fachbereich Veterinärmedizin, Habil.-Schr.

FEHLHABER, K., JANETSCHKE, P. (1992):

Veterinärmedizinische Lebensmittelhygiene.

Jena: Fischer.

FEY, H. (1978):

Kompendium der allgemeinen medizinischen Bakteriologie.

Berlin: Parey.

FIRSTENBERG-EDEN, RUTH, ZINDULIS, J. (1984):

Electrochemical changes in media due to microbial growth.

J. Microbiol. Methods 2, 103-115.

FIRSTENBERG-EDEN, RUTH, EDEN, G. (1984):

Impedance Microbiology.

Letchworth: Research Studies Press.

FIRSTENBERG-EDEN, RUTH, KLEIN, C.S. (1983):

Evaluation of a rapid impedimetric procedure for the quantitative estimation of coliforms.

J. Food Sci., 48, 1307-1311.

FIRSTENBERG-EDEN, RUTH (1985):

Electrical impedance method for determining microbial quality of foods.

In: Habermehl V.O. (ed): Rapid methods.

New York: Springer. 679-687.

FRANCO, B.D.G.M., GUTH, B.E.C., TRABULSI, L.R. (1987):

Enterotoxigenic Escherichia coli isolated from foods in Sao Paulo, Brazil.

J. Food Protect. 50, 832-834.

FRANK, H.K. (1992):

Dictionary of Food Microbiology.

Hamburg: Behr.

FRITZSCH, W. (1991):

Bakterienwachstum.

In: Wiesner, E., Ribbeck, Regine (Hrsg.): Veterinärmedizinisches Wörterbuch, 3., neu bearb. Aufl.

Jena: Fischer.

GAREIS, M. (1995):

Salmonellen - Ein Überblick.

Fleischwirtsch. 75, 954-957.

GEMMELL, C.G. (1984):

Comperative study of the nature and biological activities of bacterial enterotoxin.

J. Med. Microbiol. 17, 217-235.

GERIGK, K., TEUFEL, G. (1990):

Lebensmittelinfektionen und -intoxikationen.

Bundesgesundhbl. 33, 89-93.

GIBSON, D.M., COOMBS, P.H., PIMBLEY, D.W. (1992):

Methode zum Nachweis von Salmonella in Lebensmitteln mittels automatischer

Leitfähigkeitsmessung: Ein Ringversuch.
J. AOAC Internat. 75, 293-302.

GILBERT, R.J. (1987):

Aktuelle Trends lebensmittelbedingter Krankheiten in Europa.
Hamburg: Behr. Vortrag zum Seminar 01.06. bis 02.06.87.

GOTTSCHALK, G. (1986):

Bacterial Metabolism. 2nd ed.
Heidelberg: Springer.

GRAU, F.H. (1981):

Role of pH, lactate, and anaerobiosis in controlling the growth of some fermentative gram-negative bacteria on beef.
Appl. Environ. Microbiol. 42, 1043-1050.

GREER, G.G., DILTS, B.D. (1992):

Factors affecting the susceptibility of meatborne pathogens and spoilage bacteria to organic acids.
Food Res. Int. 25, 335-364.

GREGORY, J.E., STARR, S.P., OMDAL C. (1974):

Wound infection with *Shigella flexneri*.
Infect. Dis. 129, 602-604.

GROSSKLAUS, D. (1990):

Gesundheitlicher Verbraucherschutz und Lebensmittelhygiene in den neunziger Jahren.
Fleischwirtsch. 70, 862, 864 - 867, 907.

GROSSKLAUS, D., GERIGK, K., KOLB, H., ZASTROW, K.-D. (1991):

Zur weltweiten Zunahme von Enteritis-infectiosa-Fällen. Kritische Anmerkungen. Arch. Lebensmittelhyg. 42, 136-140.

HACKER, J., SCHRÖTER, O., SCHRETTENBRUNNER, A., HUGHES, C., GOEBEL, W. (1983):

Hemolytic *Escherichia coli* strains in the human fecal flora as potential urinary pathogens.
Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 254, 370-378.

HÄCHLER, H. (1983):

Enteropathogene *Escherichia coli* (EEC), klinische, diagnostische, lebensmittel-technische Aspekte.
Schweizerische Gesellschaft für Lebensmittelhygiene (SGLH), Heft 13, 135-165.

HALLMANN, L.; BURKHARDI, F. (1974):

Klinische Mikrobiologie.
Stuttgart: Thieme.

HARTUNG, M. (1993):

Salmonellose-Überwachung in Lebensmitteln, bei Nutztieren und in der Umwelt in Deutschland, 1991.
Bundesgesundhbl. 36, 267-274.

HECHELMANN, H., BEM, Z., UCHIDA, K., LEISTNER, L. (1974):

Vorkommen des Tribus Klebsiellae bei kühlgelagertem Fleisch und Fleischwaren.
Fleischwirtsch. 54, 1515-1517.

HECKER, M., BABEL, W. (1988):

Physiologie der Mikroorganismen.
Jena: Fischer.

HEESCHEN, W. (1994):

Handbuch Lebensmittelhygiene.
Hamburg: Behr.

HEIDE, JULIANE (1986):

Untersuchungen über den Einfluß lebensmittelhygienisch wichtiger Faktoren auf die Vermehrung ausgewählter Stämme einiger Enterobacteriaceae-Gattungen.
Berlin: Humboldt-Univ., Fachbereich Veterinärmedizin, Diss.

HEIM, F., FEHLHABER, K., SCHEIBNER, G. (1984):

Untersuchungen über das Verhalten von *Yersinia enterocolitica* bei unterschiedlichen Temperaturen und verschiedenen Pökelsalzkonzentrationen.
Arch. exp. Vet. Med. 38, 729-734.

HOLLÄNDER, R. (1981):

Änderungen der verwandschaftlichen Zugehörigkeit und Nomenklatur einiger Enterobacteriaceen.
Ärztl. Lab. 27, 102-105.

HOLT, J.G., KRIEG, N.R., SNEATH, P.H.A., STALEY, J.T., WILLIAMS, S.T. (1994):

Bergey's manual of determinative bacteriology. 9th ed.
Baltimore: Williams & Wilkins.

HOUTSMA, PAULINE C., DE WIT, J.C., ROMBOUTS, F.M. (1996):

Minimum inhibitory concentration (MIC) of sodium lactate and sodium chloride for spoilage organisms and pathogens at different pH values and temperatures.
J. Food Protect. 59, 1300-1304.

INGRAHAM, J.L. (1958):

Growth of psychrophilic bacteria.
J. Bact. 76, 75-80.

JAKSCH, P. (1991A):

Grundlagen der Impedanztechnik und Erfahrungen bei der Untersuchung roher und pasteurisierter Milch.
dmz Lebensmittelindustrie und Milchwirtschaft 31, 950-960.

JAKSCH, P. (1991B):

Nachweis von Hefen in Joghurt und Frischkäse mittels indirekter Leitfähigkeits-messung.
dmz Lebensmittelindustrie und Milchwirtschaft 32/33, 992-996.

JAKSCH, P. (1991C):

Nachweis coliformer Keime in Weichkäse mittels Impedanztechnik.
dmz Lebensmittelindustrie und Milchwirtschaft 35, 1050.

- JÖCKEL, J. (1996):
Einsatz der Impedanzmethode in der amtlichen Lebensmittelüberwachung.
Fleischwirtsch. 76, 945-950.
- JOHNSON, W.M., LIOR, H., BEZANSON, G.C. (1983):
Cytotoxic E. coli O 157: H7 associated with hemorrhagic colitis in Canada.
Lancet 1, 76.
- KÄFERSTEIN, F.K., CLUGSTON, G.A. (1995):
Durch Fleischproduktion und -konsum verursachte Gesundheitsprobleme beim Menschen.
Fleischwirtsch. 75, 857-863.
- KAUFMAN, J. (1984):
Nosocomial infections : Klebsiella.
Comp. Continuing Educ. Pract. Vet. 6, 303-307, 310.
- KAYSER, F.H., BIENZ, K.A., ECKERT, J., LINDENMANN, J. (1993):
Medizinische Mikrobiologie. 8. Aufl.
Stuttgart: Thieme.
- KLEEMANN, J. (1993):
Untersuchungen zum Vorkommen und Verhalten von Yersinia enterocolitica in Rohwurst.
Berlin: Freie Univ., Fachbereich Veterinärmedizin, Diss.
- KLEEMANN, J., BERGANN, T. (1994):
Yersinia spp. in frischer Rohwurst.
Fleischwirtsch. 74, 1101-1103.
- KNAPP, W. (1983):
Yersinia enterocolitica.
Bundesgesetzblatt 26, 381-389.
- KRÄMER, J. (1992):
Lebensmittelmikrobiologie. 2. Aufl.
Stuttgart: UTB.
- KRAUS, H. (1995):
Ist bei Salmonellen §8 LMBG noch anwendbar? Zur strafrechtlichen Normenordnung.
Fleischwirtsch. 75, 1388-1394.
- KRÜGER, G., FEHLHABER, K. (1994):
Zum Vermehrungsverhalten molekularbiologisch differenter Salmonella-Enteritidis-Stämme bei verschiedenen Temperaturen.
In: 35. Arbeitstagung d. Arbeitsgebietes "Lebensmittelhygiene" d. Dtsch. Vet. med. Ges.,
Proceedings, 137-142.
- KUMAR, A., SHARMA, V.K. (1978):
Enterobacteria of emerging pathogenic significance from clinical cases in man and animals, and detection of toads and wall lizards as their reservoirs.
Antonie Leeuwenhoek J. Mikrobiol. Serol. 44, 219-228.
- KUNZ, B. (1994):

Grundriss der Mikrobiologie. 2., verb. Aufl.
Hamburg: Behr.

LABBE, R.G., HUANG, T.H. (1995):

Generation times and modeling of enterotoxin-positive and enterotoxin-negative strains of *Clostridium perfringens* in laboratory media and ground beef.
J. Food Protect. 58, 1303-1306.

LEE, W.H. (1977):

An assessment of *Yersinia enterocolitica* and its presence in foods.
J. Food Protect. 40, 486-489.

LEHMANN, W. (1983):

Zum Vorkommen von Colicinen bei Enterobacteriaceae aus der bakteriologischen Fleischuntersuchung und aus lebensmittelhygienischem Untersuchungsmaterial.
Mh. Vet. Med. 38, 741-744.

LEISTNER, L. (1979):

Messung und Beeinflussung des Oberflächenkeimgehaltes von Schlachtierkörpern.
In: 20. Arbeitstagung d. Arbeitsgebietes "Lebensmittelhygiene" d. Dtsch. Vet. med. Ges.,
Proceedings, 59-66.

LE MINOR, L. (1984):

Salmonella.
In: Krieg, n.r., Holdt, j.g. (eds.): Bergeys's manual of systematic bacteriology.
Baltimore: Willams & Wilkins, 427-458.

LINDNER, K.E. (1986):

Veterinärmedizinischer Kurs. 2., verb. Aufl.
Jena: Fischer.

LINTON, A.H., HINTON, M.H. (1988):

Enterobacteriaceae associated with animals in health and disease.
J. Appl. Bacteriol. Symposium Supplement 715-855.

LIUM, E.R. (1977):

Serratia marcescens in bovine mastitis. Bibliography and a case study.
Nord. Vet. Med. 29, 529-532.

LUDEWIG, MARTINA, FEHLHABER, K. (1996):

Zum Vermehrungsverhalten ausgewählter Enterobacteriaceae-Spezies und von *Pseudomonas fluorescens*.
In: 37. Arbeitstagung d. Arbeitsgebietes "Lebensmittelhygiene" d. Dtsch. Vet. med. Ges.,
Proceedings, 187-192.

MACIAK, T. (1975):

Mikroorganismen der Familie Enterobacteriaceae im Verdauungstrakt gesunder Schweine.
Med. Weter. 31, 726-727.
Ref. in: Landwirtsch. Zbl. Abt. Vet. Med., 1976, 12-0204.

MÄRTENS, W., HONACKER, D. (1983):

Potentiell pathogene Bakterienarten als Ursache akuter Durchfallerkrankungen unter besonderer Berücksichtigung gramnegativer Stäbchenbakterien.
Bad Saarow: Militärärztliche Akademie, Diss.

MEER, R.R., BAKER, J., BOYDYFELT, F.W., GRIFFITHS, M.W. (1991):

Psychrothrophic *Bacillus* spp. in fluid milk products: a review.
J. Food Protect. 54, 969-979.

MENCHACA, E.S., MARTIN, A.M., MORAS, E.V., CANEVARO, L. (1978):

Infektionskrankheiten der Chinchillas (*Chinchilla lanigera*). 3. Mitteilung. *Proteus mirabilis* und *Proteus vulgaris*.
Gac. Vet. (B. Aires) 40, 651-656.

MENGERT, U. (1996):

Einfluß des pH-Wertes auf die Vermehrung und Abtötung von Mikroorganismen.
In: Das HACCP-Konzept.
Leipzig: 23.-25. September 1996.

MODDE, H. (1972):

Durch *Serratia marcescens* (*Prodigiosus*) verursachte Krankheiten.
Schweiz. Med. Wochenschr. 102, 1386-1390.

MÜLLER, G. (1982):

Mikrobiologie, Wörterbuch der Biologie.
Stuttgart: Fischer.

MÜLLER, U., FEHLHABER, K. (1995):

Untersuchungen zur Thermoresistenz von *Bacillus*-Proteasen.
Fleischwirtsch. 75, 1427-1430.

MULDER, J.B. (1971):

Shigellosis in nonhuman primates: a review.
Lab. Anim. Sci. 21, 734-738.

NATTERMANN, H., HORSCH, F. (1980):

Brucellatiter beim Schwein, hervorgerufen durch *Yersinia enterocolitica* Serotyp 0:9.
Arch. Exp. Vet. Med. 34, 733-740.

NIAZI, Z.M., KIRPAL, G., AMTSBERG, G., REFAI, M. (1977):

Biochemie, Serologie, Mäusepathogenität und Antibiotikaresistenz von Klebsiellen verschiedener Tierarten.
Berl. Muench. Tieraerztl. Wochenschr. 90, 435-440.

NÖLDNER, T. (1991):

Modelluntersuchungen zur Ausbildung adhäsiver Oberflächenstrukturen.
Berlin: Humboldt-Univ., Fachbereich Veterinärmedizin, Diss.

OLSVIK, Ø., WASTESON, Y., LUND, A., HORNES, E. (1991):

Pathogenic *Escherichia coli* found in food.
Int. J. Food Microbiol. 12, 103-114.

PALUMBO, S.A., CALL, J.E., SCHULTZ, F.J., WILLIAMS, A.C. (1995):

Minimum and maximum temperatures for growth and verotoxin production by hemorrhagic strains of *Escherichia coli*.

J. Food Protect. 58, 352-356.

PATEL, P.D. (1994):

Rapid Analysis Techniques in Food Microbiology.

Glasgow: Blackie Academic & Professional.

PATRIK, A., GRIMONT, P.A.D., GRIMONT, F. (1981):

Serratia.

In: STARR, M.P. (ed): The Prokaryotes. Vol. II.

New York: Springer. Kap. 97, 1187-1203.

PENNER, J.L. (1981):

The Tribe Proteae.

In: STARR, M.P. (ed): The Prokaryotes. Vol. II.

New York: Springer. Kap. 98, 1204-1213.

PENNER, J.L. (1984):

In: Holt, J.G. (Hrsg.): Bergey's manual of determinative bacteriology. 9th ed.

Baltimore: Williams & Wilkins.

PETZOLDT, K., KIRCHHOFF, H. (1986):

Kompendium der veterinärmedizinischen Mikrobiologie.

Teil 1: Allgemeine Bakteriologie, Mykologie, Infektions- und Seuchenlehre. 2., verb. Aufl.

Hannover: M. & H. Schaper.

PICHHARDT, K. (1993):

Lebensmittelmikrobiologie. 3. Aufl.

Berlin: Springer.

PLESS, P. (1991):

Anwendung der Impedanzmessung bei der mikrobiologischen Untersuchung von Fleisch und Fleischwaren.

In: 32. Arbeitstagung d. Arbeitsgebietes "Lebensmittelhygiene" d. Dtsch. Vet. med. Ges., Proceedings, 135.

PLESS, P., REISINGER, T. (1995):

Einsatz der Impedanz-Splitting-Methode zur schnellen Bestimmung des Oberflächen-keimgehaltes auf Schlachttierkörpern.

Fleischwirtsch. 75, 1149-1153.

POPOFF, M.Y., BOCKEMÜHL, J., MCWHORTER-MURLIN, A. (1992):

Supplement 1991 (no. 35) to the Kauffmann-White scheme.

Res. Microbiol. 143, 807-811.

RAJKOWSKI, KATHLEEN T., MARMER, BENNE S. (1995):

Growth of *Escherichia coli* O 157:H 7 at fluctuating incubation temperatures.

J. Food Protect. 58, 1307-1313.

RATKOWSKY, D.A., ROSS, T., MACARIO, N., DOMMETT, T.W., KAMPERMAN, L. (1996):

Choosing probability distributions for modelling generation time variability.

J. Appl. Bacteriol. 80, 131-137.

REINSCHMIDT, BETTINA (1993):

Erfahrungen mit der Impedanzmessung bei der Untersuchung von Speiseeis und frischer Mettwurst.

In: 46. Arbeitstagung des Arbeitskreises Lebensmittelhygienischer Tierärztlicher Sachverständiger (ALTS).

Berlin: 22. - 24.06.1993.

REUTER, G. (1970):

Mikrobiologische Analyse von Lebensmitteln mit selektiven Medien.

Arch. Lebensmittelhyg. 21, 30-35.

RICHARDS, J.C.S., JASON, A.C., HOBBS, G., GIBSON, D.M., CHRISTIE, R.H. (1978):

Electronic measurement of bacterial growth.

J. Phys. E. Sci. Instrum. 11, 560-568.

RIEMANN, H. (1979):

Foodborne Infections and Intoxications. 2nd ed.

London: Academic Press.

RUTSCH, CORINNA (1987):

Versuche zum Nachweis von Shigellen in Lebensmitteln.

Berlin: Freie Univ., Fachbereich Veterinärmedizin, Diss.

SAKAZAKI, R. (1965):

Studies on the Hafnia group of Enterobacteriaceae.

Jpn. J. Med. Sci. Biol. 14, 223-241.

SCHEER, H. (1973):

Über das Vorkommen von Darmbakterien in tiefgefrorenen Fischfilets.

Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm. 2, 83-91.

SCHEIBNER, G. (1991):

Lebensmittel und Lebensmittelverderb.

In: Wiesner, E., Ribbeck, Regine: Veterinärmedizinisches Wörterbuch, 3., bearb. Aufl.

Stuttgart: Fischer.

SCHEIBNER, G. (1993):

Persönliche Mitteilung vom 17 November.

Berlin.

SCHEIBNER, G. (1994):

Untersuchungen zur Temperaturabhängigkeit der Generationszeit von Salmonella enteritidis in verschiedenen Lebensmitteln.

In: 35. Arbeitstagung d. Arbeitsgebietes "Lebensmittelhygiene" d. Dtsch. Vet. med. Ges., Proceedings, 129-136.

SCHLEGEL, H.G. (1979):

Allgemeine Mikrobiologie. 6. Aufl.

Stuttgart: Thieme.

SCHLEGEL, H.G., ZABOROSCH, C. (1992):

Allgemeine Mikrobiologie. 7., überarb. Aufl.
Stuttgart: Thieme.

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

Kritische Überlegungen zum Aussagewert von E. coli, Coliformen und Enterobacteriaceae
in Lebensmitteln.
Arch. Lebensmittelhyg. 39, 3 - 15.

SCHULENBURG, J. (1997):

Möglichkeiten und Grenzen der Impedanztechnik unter besondere Berücksichtigung der
Gesamtkeimzahl.
Berlin: Freie Univ., Fachbereich Veterinärmedizin, Diss.

SCHWARZKOPF, A. (1996):

Lebensmittelvergiftung muß binnen 24 Stunden gemeldet werden.
Forschung und Praxis 225/96, 10-13.

SCHWERIN, K.-O. (1962):

Untersuchungen über das Verhalten von Lebensmittelvergiftern in Fischpräserven und
Fischölen.
Arch. Lebensmittelhyg. 13, 156.

SEDLAK, J., RISCHE, H. (1968):

Enterobacteriaceae Infektion.
Leipzig: Thieme.

SEIDEL, G., KIESEWALTER, J. (1992):

Bakterielle Lebensmittelinfektionen und -intoxikationen. 3., verb. Aufl.
Berlin: Akademie.

SHAFTOE, S. (1984):

Serratia marcescens septicaemia in a neonatal Arabian foal.
Equine Vet. J. 16, 389-392.

SHAW, D.B., RHEA, U.S. (1986):

Foodborne enterotoxigenic Escherichia coli: Identification and enumeration on
nitrocellulose membrane by enzyme immoassay.
Int. J. Food Microbiol. 3, 79-87.

SHILO, M. (1979):

Strategies of life in extreme environments.
Weinheim: Chemie.

SILLEY, P., FORSYTHE, S. (1996):

Impedance microbiology - a rapid change for microbiologists.
J. Appl. Bacteriol. 80, 233-243.

SINELL, H.J. (1992):

Einführung in die Lebensmittelhygiene. 3. Aufl.

Berlin: Parey.

SINGH, I.P. (1986):

Salmonellosis.

In: II. World Congress Foodborne Infections and Intoxications.

Kongreßbericht I, 135-137.

SPRÖSSIG, M., ANGER, G. (1988):

Mikrobiologisches Vademekum.

Jena: Fischer.

STARR, M.P., STOLP, H., TRUPER, H.G., BALOWS, A., SCHLEGEL, H.G. (1981):

The Prokaryotes: A handbook on habitats, isolation and identification of bacteria. Vol. II.

Heidelberg: Springer.

STBA, STATISTISCHES JAHRBUCH (1996):

18.1.3 Sonstige meldepflichtige übertragbare Krankheiten. 425.

STELLMACHER, W., SCHÖLL, W. (1980):

Salmonella-Infektionen.

In: Beer, J.: Infektionskrankheiten der Haustiere.

Berlin: Fischer. 431-457.

STEWART, G.N. (1899):

The changes produced by the growth of bacteria in the molecular concentrations and electrical conductivity of culture media.

J. Exp. Med., 4, 235-243.

STOVELL, P.L. (1980):

Pseudotubercular Yersiniosis.

In: J.H. STEELE (Hrsg.): Bacterial, rickettsial and mycotic diseases. Vol II. CRC handbook series in zoonoses. Sect. A.

Florida: Boca Raton. 209-256.

SY-LAB (1994):

Bedienungsanleitung Impedanzmeßgerät, Applikationsbeispiele: Bereich Fleisch, Fisch, Geflügel, Getränke, Hemmstoffe, Konservierungsmittel, Trinkwasser, Trinkmilch.

Purkersdorf/Austria: SY-LAB Vertriebsgesellschaft m.b.H.

TOEPFER, H. (1977):

Ein Beitrag zur Bedeutung von Bakterium Proteus in der FB sowie die Beurteilungsmöglichkeiten im Rahmen der bakteriellen Fleischuntersuchung.

Schlachten und Vermarkten 77, 153-157.

TROAST, J.L. (1975):

Antibodies against enteric bacteria in brown bullhead catfish (*Ictalurus nebulosus*, Le Sueur) inhabiting contaminated waters.

Appl. Microbiol. 30, 189-192.

UR, A., BROWN, D.F.J. (1975):

Impedance monitoring of bacterial activity.

J. Med. Microbiol. 8, 19 - 28.

VANNE, L., KARWOSKI, M., KARPINEN, S., SJOBERG, A.M. (1996):

HACCP - based food quality control and rapid detection methods for microorganisms.
Food-Control. 7, 263-276.

WACHSMUTH, K., MORRIS, G.K. (1989):

Shigella.

In: Doyle, M.P. (ed): Foodborne Bacterial Pathogens.
New York: Marcel Dekker. S. 447-462.

WADSTRÖM, T., AUST-KETTIS, A., HABTE, O., HOLMGREN, D., MEEUWISSE, G., MÖLLBY, R., SÖDERLIND, O. (1976):

Enterotoxin - producing bacteria and parasites in stools of Ethiopian children with diarrhoeal disease.

Arch. Dis. Child. 51, 865-870.

WALLHÄUSSER, K.H. (1990):

Lebensmittel und Mikroorganismen.
Darmstadt: Steinkopf.

WASHINGTON, J.A., BIRK, R.O., RITTS, R.E. (1971):

Bacteriologic and epidemiologic characteristics of *Enterobacter hafniae* and *Enterobacter liquefaciens*.

Infect. Dis. 124, 379-386.

WEIDE, H., AURICH, H. (1979):

Allgemeine Mikrobiologie.
Jena: Fischer.

WEISS, R., TILLMANN, H., DRÄGER, K.G. (1985):

Paarungsinfektionen bei Pferden durch *Klebsiella pneumoniae*, Kapseltyp 1.
Prakt. Tierarzt 66, 114-120.

WHEELER, T.G., GOLDSCHMIDT, M.C. (1975):

Determination of bacterial cell concentration by electrical measurement.
J. Clin. Microbiol. 1, 25-29.

WHO (1983):

WHO Surveillance Programme for Control of Foodborne Infections and Intoxication in Europe. 2nd Rep. (FAO/WHO-Collaborating Centre for Research and Training in Foodhygiene and Zoonoses).

Berlin: Institut für Veterinärmedizin - Robert von Ostertag-Institute.

WICKE, AMAL (1995):

Experimentelle Untersuchungen zum Einfluß exogener Faktoren auf das Penetrationsverhalten von *Salmonella enteritidis* durch die Schale von Hühnereiern.
Leipzig: Univ., Fachbereich Veterinärmedizin, Diss.

WILDFÜHR, G., WILDFÜHR, W. (1982):

Medizinische Mikrobiologie, Immunologie und Epidemiologie. Band I bis IV, 2. Aufl.

Leipzig: Thieme.

WOLF, G. (1991):

Registrierung von Bakterienwachstum nach einem neuartigen Impedanz-Verfahren.
Wien: SY-LAB Vertriebsgesellschaft m.b.H..

ZASTROW, K.D., SCHÖNEBERG, I. (1994):

Lebensmittelbedingte Infektionen und Intoxikationen in der Bundesrepublik Deutschland -
Ausbrüche 1992.
Bundesgesundhbl. 37, 247-251.



Seitenanfang

webdesigned and layouted by [Reik H. Börger](#), Oct. 97



umblättern

Inhalts-
verzeichniszu Punkt
8.2Ende
Anhang

8 Anhang

8.1 Differenzierung der Versuchsstämme unter Berücksichtigung der Differenzierungskriterien nach Farmer III (1985)

A: Differenzierungskriterien für die Gattung (nach Farmer 1985)

B: Testergebnisse nach Untersuchung der Probe und anschließende Zuordnung zur Spezies

Die unter der Rubrik "Typische Reaktionen für ..." verwendeten Prozentzahlen beziehen sich auf das Reaktionsergebnis und sagen aus, zu wieviel Prozent dieses positiv oder negativ verläuft. Beispiel *Citrobacter*: Ureasebildung: pos (70%), d.h. 70% der *Citrobacter*-Stämme können Urease bilden. Die in dieser Spalte genutzten Kürzel, wie z.B. C. fr., lassen sich am Fuß der Tabelle den differenzierten Spezies zuordnen, in diesem Fall: *Citrobacter freundii*, und beschreiben auffällige, abweichende Reaktionen. Beispiel *Citrobacter*: Hydrogensulfid-bildung: neg. (C. fr. 80% pos.) bedeutet: *Citrobacter*- Stämme können zumeist kein Hydrogen-sulfid bilden, eine Ausnahme stellt *Citrobacter freundii* dar, dessen Vertreter zu 80 % zur Hydrogensulfidbildung fähig sind.

Typische Reaktionen, die nicht untersucht wurden, wurden auch nicht eingetragen. Die entsprechenden Felder in Spalte B blieben offen, wie z.B. bei C. fr. unter *myo*-Inositolabbau.

Tabelle 28: Genus *Salmonella*

	A: Typische Reaktionen für	B: untersuchte Stämme		
	<i>Salmonella</i>	Nr. 2180/94	Nr. 2181/94	Nr. 1636/92
Methylrot	pos.	pos.	pos.	pos.
Voges-Proskauer	neg.	neg.	neg.	neg.
Zitratabbau (Simmons')	pos. (90%)	pos.	pos.	neg.
Hydrogensulfidbildung	pos.	pos.	pos.	pos.
Ureasebildung	neg.	neg.	neg.	neg.
Lysindecaboxylase	pos.	pos.	pos.	pos.
Arginindihydrolase	pos.	pos.	pos.	pos.
Ornithindecaboxylase	pos.	pos.	pos.	pos.
Beweglichkeit (36°C)	pos.	pos.	pos.	pos.
D-Glucose, acid	pos.	pos.	pos.	pos.
Gas aus D-Glucose	pos.	pos.	pos.	pos.
Lactoseabbau	neg.	neg.	neg.	neg.
Sucroseabbau	neg.	neg.	neg.	neg.
D-Mannitolabbau	pos.	pos.	pos.	pos.
Dulcitolabbau	pos. (90%)	pos.	pos.	neg.
Adonitolabbau	neg.	neg.	neg.	neg.
D-Sorbitolabbau	pos.	pos.	pos.	pos.
L-Arabinoseabbau	pos. (90%)	pos.	pos.	neg.
Raffinoseabbau	neg.	neg.	neg.	neg.
L-Rhamnoseabbau	pos.	pos.	pos.	pos.
Melibioseabbau	pos.	pos.	pos.	pos.
Nitratreduktion	pos.	pos.	pos.	pos.
D-Xyloseabbau	pos.	pos.	pos.	pos.
ONPG'	neg.	neg.	neg.	neg.
gelbes Pigment	neg.	neg.	neg.	neg.
B: differenzierte Spezies:		<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>Salmonella choleraesuis</i>

Tabelle 29: Genus *Shigella*

	A: Typische Reaktionen für	B: untersuchte Stämme		
	<i>Shigella</i>	Nr. 102/91	Nr. 2167/94	Nr. 2168/94
Indolproduktion	neg.	neg.	pos.	neg.
Methylrot	pos.	pos.	pos.	pos.
Voges-Proskauer	neg.	neg.	neg.	neg.
Zitratabbau (Simmons')	neg.	neg.	neg.	neg.
Hydrogensulfidbildung	neg.	neg.	neg.	neg.
Ureasebildung	neg.	neg.	neg.	neg.
Lysindecaboxylase	neg.	neg.	neg.	neg.
Arginindihydrolase	neg.	neg.	neg.	neg.
Ornithindecaboxylase	neg.	neg.	neg.	neg.
Beweglichkeit (36°C)	neg.	neg.	neg.	neg.
Gelatinasebildung (22°C)	neg.	neg.		
D-Glucose, acid	pos.	pos.	pos.	pos.
Gas aus D-Glucose	neg.	neg.	neg.	neg.
Lactoseabbau	neg.	neg.	neg.	neg.
Sucroseabbau	neg.	neg.	neg.	neg.
D-Mannitolabbau	pos.	pos.	pos.	pos.
Dulcitolabbau	neg.	neg.	neg.	neg.
Salicinabbau	neg.	neg.		
Adonitolabbau	neg.	neg.	neg.	neg.
D-Sorbitolabbau	neg. (70%)	neg.	neg.	pos.
L-Arabinoseabbau	pos. (70%)	pos.	pos.	pos.
Raffinoseabbau	neg. (70%)	neg.	pos.	neg.
L-Rhamnoseabbau	neg.	neg.	neg.	neg.
D-Xyloseabbau	neg.	neg.	pos.	neg.
Melibioseabbau	neg. (70%)	pos.	neg.	neg.
Nitratreduktion	pos.	pos.	pos.	pos.
Oxidase, Kovac's	neg.	neg.		
ONPG'	neg.	neg.	neg.	neg.
gelbes Pigment	neg.	neg.		neg.
B: differenzierte Spezies:		<i>Shigella sero-groups A, B, C</i>	<i>Shigella flexneri</i>	<i>Shigella boydii</i>

Tabelle 30: Genus *Yersinia*

	A: Typische Reaktionen für	B: untersuchte Stämme		
	<i>Yersinia</i>	Nr.2170/94	Nr. 2171/94	Nr. 2571/90
Indolproduktion	pos. (60%)	pos.	neg.	neg.
Methylrot	pos.	pos.	pos.	pos.
Voges-Proskauer	neg.	neg.	neg.	neg.
Zitratabbau (Simmons')	neg.	neg.	neg.	neg.
Hydrogensulfidbildung	neg.	neg.	neg.	neg.
Ureasebildung	pos.	pos.	pos.	pos.
Lysindecaboxylase	neg.	neg.	neg.	neg.
Arginindihydrolase	neg.	neg.	neg.	neg.
Ornithindecaboxylase	pos. (90%)	pos.	pos.	neg.
Beweglichkeit (36°C)	neg.	neg.	neg.	neg.
Gelatinasebildung 22°C	neg.	neg.		neg.
Wachstum in KCN	neg.			neg.
Malonatreaktion	neg.			neg.
D-Glucose, acid	pos.	pos.	pos.	pos.
Gas aus D-Glucose	neg.	neg.	neg.	neg.
Lactoseabbau	neg.	neg.	neg.	neg.
Sucroseabbau	pos.	pos.	pos.	neg.
D-Mannitolabbau	pos.	pos.	pos.	pos.
Dulcitolabbau	neg.	pos.	pos.	neg.
Salicinabbau	neg.	neg.		
Adonitolabbau	neg.	neg.	neg.	
<i>myo</i> -Inositolabbau	neg.			neg.
D-Sorbitolabbau	pos.	pos.	pos.	neg.

L-Arabinoseabbau	pos.	pos.	pos.	pos.
Raffinoseabbau	neg.	neg.	neg.	neg.
L-Rhamnoseabbau	neg.	neg.	neg.	pos.
D-Xyloseabbau	pos. (70%)	pos.	neg.	
Melibioseabbau	neg.	neg.	neg.	pos.
Nitratreduktion	pos.	pos.	pos.	pos.
ONPG'	pos.	pos.	pos.	pos.
gelbes Pigment	neg.	neg.	neg.	neg.
B: differenzierte Spezies:		<i>Yersinia enterocolitica</i> BT2	<i>Yersinia enterocolitica</i> BT4	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>

Tabelle 31: Genus *Escherichia*

	A: Typische Reaktionen für	B: untersuchte Stämme		
	<i>Escherichia</i>	Nr. 2184/94	Nr. 2183/94	Nr. 2185/94
Indolproduktion	pos.	pos.	pos.	pos.
Methylrot	pos.	pos.	pos.	pos.
Voges-Proskauer	neg.	neg.	neg.	neg.
Zitratabbau (Simmons')	neg.	neg.	neg.	neg.
Hydrogensulfidbildung	neg.	neg.	neg.	neg.
Ureasebildung	neg.	neg.	neg.	neg.
Lysindecaboxylase	pos.	pos.	pos.	pos.
Arginindihydrolase	neg. (85%)	neg.	pos.	pos.
Ornithindecaboxylase	pos. (65%)	neg.	pos.	pos.
Beweglichkeit (36°C)	pos.	pos.	neg.	neg.
D-Glucose, acid	pos.	pos.	pos.	pos.
Gas aus D-Glucose	pos.	pos.	pos.	pos.
Lactoseabbau	pos.	pos.	pos.	pos.
Sucroseabbau	pos. (50%)	neg.	pos.	neg.
D-Mannitolabbau	pos.	pos.	pos.	pos.
Dulcitolabbau	pos. (60%)	neg.	neg.	pos.
Adonitolabbau	neg. (95%)	pos.	neg.	neg.
D-Sorbitolabbau	pos.	pos.	pos.	pos.
L-Arabinoseabbau	pos.	pos.	pos.	pos.
Raffinoseabbau	pos. (50%)	pos.	pos.	neg.
L-Rhamnoseabbau	pos. (80%)	pos.	pos.	pos.
D-Xyloseabbau	pos.	pos.	pos.	pos.
Melibioseabbau	pos.	pos.	pos.	pos.
Nitratreduktion	pos.	pos.	pos.	pos.
ONPG'	pos.	pos.	pos.	pos.
gelbes Pigment	neg.	neg.	neg.	neg.
B: differenzierte Spezies:		<i>Escherichia coli</i> O147 K89 K88	<i>Escherichia coli</i> O148	<i>Escherichia coli</i> K1 J53

Tabelle 32: Genus *Klebsiella*

	A: Typische Reaktionen für	B: untersuchte Stämme		
	<i>Klebsiella</i>	Nr. 2039/94	Nr. 2165/94	Nr. 2169/94
Indolproduktion	neg.	neg.	neg.	neg.
Methylrot	neg. (90%)	pos.	neg.	neg.
Voges-Proskauer	pos. (90%)	neg.	pos.	pos.
Zitratabbau (Simmons')	pos. (90%)	neg.	pos.	pos.
Hydrogensulfidbildung	neg.	neg.	neg.	neg.
Ureasebildung	pos. (90%)	neg.	pos.	pos.
Lysindecaboxylase	pos. (95%)	neg.	pos.	pos.
Arginindihydrolase	neg.	neg.	neg.	neg.
Ornithindecaboxylase	neg.	neg.	neg.	neg.
Beweglichkeit (36°C)	neg.	neg.	neg.	neg.
Gelatinasebildung (22°C)	neg.	neg.		
Malonatreaktion	pos. (90%)	neg.		
D-Glucose, acid	pos.	pos.	pos.	pos.
Gas aus D-Glucose	pos. (95%)	neg.	pos.	pos.
Lactoseabbau	pos.	pos.	pos.	pos.

Sucroseabbau	pos.	neg.	pos.	pos.
D-Mannitolabbau	pos.	pos.	pos.	pos.
Dulcitolabbau	neg.	neg.	neg.	neg.
Adonitolabbau	pos.	pos.	pos.	pos.
D-Sorbitolabbau	pos.	pos.	pos.	pos.
L-Arabinoseabbau	pos.	pos.	pos.	pos.
Raffinoseabbau	pos. (90%)	neg.	neg.	pos.
L-Rhamnoseabbau	pos.	pos.	pos.	pos.
D-Xyloseabbau	pos.	pos.	pos.	pos.
Melibioseabbau	pos.	pos.	pos.	pos.
DNase at 25°C	neg.	neg.		
Nitratreduktion	pos.	pos.	pos.	pos.
Oxidase, Kovac's	neg.	neg.		
ONPG'	pos.	pos.	pos.	pos.
gelbes Pigment	neg.	neg.	neg.	neg.
B: differenzierte Spezies:		<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>ssp. ozeanae</i>	<i>Kl. pneumoniae</i> <i>ssp.</i> <i>pneumoniae</i>	<i>Kl. pneumoniae</i> <i>ssp.</i> <i>pneumoniae</i>

Tabelle 33: Genus *Enterobacter*

	A: Typische Reaktionen für	B: untersuchte Stämme		
	<i>Enterobacter</i>	Nr. 667/92	Nr. 1125/92	Nr. 2377/92
Indolproduktion	neg. (90%)	neg.	neg.	neg.
Methylrot	neg. (90%)	neg.	neg.	neg.
Voges-Proskauer	pos.	pos.	pos.	pos.
Zitratabbau (Simmons')	pos.	pos.	pos.	pos.
Hydrogensulfidbildung	neg.	neg.	neg.	pos.
Ureasebildung	pos. (50%)	pos.	pos.	pos.
Phenylalanindeaminase	neg.	neg.	neg.	neg.
Lysindecaboxylase	neg.	neg.	neg.	neg.
Arginindihydrolase	pos.	pos.	pos.	pos.
Ornithindecaboxylase	pos.	pos.	pos.	pos.
Beweglichkeit (36°C)	pos.		pos.	pos.
Gelatinasebildung (22°C)	neg.	neg.	neg.	neg.
Malonatreaktion	pos.			pos.
D-Glucose, acid	pos.	pos.	pos.	pos.
Gas aus D-Glucose	pos.	pos.	pos.	pos.
Lactoseabbau	pos.	neg.	neg.	pos.
Sucroseabbau	pos.	pos.	pos.	pos.
D-Mannitolabbau	pos.	pos.	pos.	pos.
Dulcitolabbau	neg. (90%)	neg.	neg.	neg.
Salicinabbau	pos.			pos.
Adonitolabbau	neg. (90%)	pos.	pos.	neg.
myo-Inositolabbau	neg. (80%)		neg.	neg.
D-Sorbitolabbau	pos.	pos.	pos.	pos.
L-Arabinoseabbau	pos.	pos.	pos.	pos.
Raffinoseabbau	pos.	pos.	pos.	pos.
L-Rhamnoseabbau	pos.	pos.	pos.	pos.
D-Xyloseabbau	pos.	pos.	pos.	pos.
Melibioseabbau	pos.	pos.	neg.	pos.
Glycerolabbau	pos. (50%)		neg.	neg.
DNase bei 25°C	neg.	neg.	neg.	neg.
Nitratreduktion	pos.	pos.	pos.	pos.
Oxidase, Kovac's	neg.	neg.	neg.	neg.
ONPG'	pos.	pos.	pos.	pos.
gelbes Pigment	neg.	neg.	neg.	neg.
B: differenzierte Spezies:		<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>

Tabelle 34: Genus *Citrobacter*

	A: Typische Reaktionen für	B: untersuchte Stämme		
	<i>Citrobacter</i>	Nr. 2683/93	Nr. 768/92	Nr. 2056/90
Indolproduktion	pos. (C. fr. 5% pos.)	neg.	pos.	pos.

Methylrot	pos.	pos.	pos.	pos.
Voges-Proskauer	neg.	neg.	neg.	neg.
Zitratabbau (Simmons')	pos.	pos.	pos.	pos.
Hydrogensulfidbildung	neg. (C. fr. 80% pos.)	pos.	neg.	neg.
Ureasebildung	pos. (70%)	neg.	pos.	pos.
Phenylalanindeaminase	neg.		neg.	
Lysindecaboxylase	neg.	neg.	neg.	neg.
Arginindihydrolase	pos. (75%)	neg.	pos.	neg.
Ornithindecaboxylase	pos. (C. fr. 20% pos.)	neg.	pos.	pos.
Beweglichkeit (36°C)	pos.	pos.	pos.	
Gelatinasebildung (22°C)	neg.	neg.	neg.	neg.
Wachstum in KCN	pos. (C. div. neg.)			neg.
Malonatreaktion	pos.(C. amal. neg.)			neg.
D-Glucose, acid	pos.	pos.	pos.	pos.
Gas aus D-Glucose	pos.	pos.	pos.	pos.
Lactoseabbau	neg. (55%)	neg.	pos.	pos.
Sucroseabbau	neg. (75%)	neg.	neg.	neg.
D-Mannitolabbau	pos.	pos.	pos.	pos.
Dulcitolabbau	neg. (55%)	neg.	neg.	neg.
Adonitolabbau	neg. (C. div. 98% pos.)	neg.	neg.	pos.
myo-Inositolabbau	neg.			neg.
D-Sorbitolabbau	pos.	pos.	pos.	pos.
L-Arabinoseabbau	pos.	pos.	pos.	pos.
Raffinoseabbau	neg. (85%)	neg.	neg.	
L-Rhamnoseabbau	pos.	pos.	pos.	pos.
D-Xyloseabbau	pos.	pos.	pos.	pos.
Melibioseabbau	neg. (75%)	neg.	neg.	neg.
Mucateabbau	pos.			neg.
DNase bei 25°C	neg.		neg.	neg.
Nitratreduktion	pos. (90%)	pos.	pos.	pos.
ONPG'	pos.	pos.	pos.	pos.
gelbes Pigment	neg.	neg.	neg.	neg.
B: differenzierte Spezies:		<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Citrobacter amalonaticus</i>	<i>Citrobacter diversus</i>

Tabelle 35: Genus *Proteus*

	A: Typische Reaktionen für	B: untersuchte Stämme		
	<i>Proteus</i>	Nr. 2578/90	Nr. 2174/94	Nr. 2179/94
Indolproduktion	pos. (60%)	pos.	pos.	neg.
Methylrot	pos.	pos.	pos.	pos.
Voges-Proskauer	neg. (70%)	neg.	pos.	neg.
Zitratabbau (Simmons')	neg. (70%)	neg.	neg.	pos.
Hydrogensulfidbildung	pos. (90%)	neg.	pos.	pos.
Ureasebildung	pos.	pos.	pos.	pos.
Lysindecaboxylase	neg.	neg.	neg.	neg.
Arginindihydrolase	neg.	neg.	neg.	neg.
Ornithindecaboxylase	pos. (50%)	pos.	neg.	pos.
Beweglichkeit (36°C)	pos. (90%)	neg.	pos.	pos.
Gelatinasebildung (22°C)	pos. (90%)	neg.		
Wachstum in KCN	pos. (90%)	neg.		
D-Glucose, acid	pos.	pos.	pos.	pos.
Gas aus D-Glucose	pos.	pos.	pos.	pos.
Lactoseabbau	neg.	neg.	neg.	neg.
Sucroseabbau	neg. (50%)	neg.	pos.	neg.
D-Mannitolabbau	neg.	neg.	neg.	neg.
Dulcitolabbau	neg.	neg.	pos.	neg.
Adonitolabbau	neg.	neg.	neg.	neg.
myo-Inositolabbau	neg.	neg.		
D-Sorbitolabbau	neg.	neg.	neg.	neg.
L-Arabinoseabbau	neg.	neg.	neg.	neg.
Raffinoseabbau	neg.	neg.	neg.	neg.
L-Rhamnoseabbau	neg.	neg.	neg.	neg.

Maltoseabbau	pos. (60%)	neg.	pos.	
D-Xyloseabbau	pos. (90%)	neg.	pos.	neg.
Trehaloseabbau	pos.	pos.	pos.	
Melibioseabbau	neg.	neg.	neg.	neg.
Nitratreduktion	pos.	pos.	pos.	pos.
Oxidase, Kovac's	neg.	neg.	neg.	
ONPG'	neg.	neg.	neg.	neg.
gelbes Pigment	neg.	neg.	neg.	neg.
D-Mannoseabbau	neg.	pos.	pos.	
B: differenzierte Spezies:		<i>Proteusmorganii</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Proteus mirabilis</i>

Tabelle 36: Genus *Serratia*

	A: Typische Reaktionen für	B: untersuchte Stämme		
	<i>Serratia</i>	Nr. 2413/93	Nr. 2172/94	Nr. 2173/94
Indolproduktion	neg.	neg.	neg.	neg.
Methylrot	neg.	neg.	neg.	neg.
Voges-Proskauer	pos.	pos.	pos.	pos.
Zitratabbau (Simmons')	pos.	pos.	pos.	pos.
Hydrogensulfidbildung	neg.	neg.	neg.	neg.
Ureasebildung	neg.	neg.	neg.	neg.
Lysindecaboxylase	pos.	pos.	pos.	pos.
Arginindihydrolase	neg.	neg.	neg.	neg.
Ornithindecaboxylase	pos.	pos.	pos.	pos.
Beweglichkeit (36°C)	pos.	pos.	pos.	pos.
Gelatinasebildung (22°C)	pos.	pos.		
D-Glucose, acid	pos.	pos.	pos.	pos.
Gas aus D-Glucose	pos. (60%)	pos.	pos.	pos.
Lactoseabbau	neg.	neg.	neg.	neg.
Sucroseabbau	pos.	pos.	pos.	pos.
D-Mannitolabbau	pos.	pos.	pos.	pos.
Dulcitolabbau	neg.	neg.	neg.	neg.
Adonitolabbau	pos. (50%)	neg.	pos.	pos.
D-Sorbitolabbau	pos.	pos.	pos.	pos.
L-Arabinoseabbau	neg.	neg.	neg.	neg.
Raffinoseabbau	neg.	neg.	neg.	neg.
L-Rhamnoseabbau	neg.	neg.	neg.	neg.
D-Xyloseabbau	neg.	neg.	neg.	neg.
Melibioseabbau	neg.	pos.	neg.	neg.
Nitratreduktion	pos.	pos.	pos.	pos.
ONPG'	pos.	pos.	pos.	pos.
gelbes Pigment	neg.	neg.	neg.	neg.
B: differenzierte Spezies:		<i>Serratia marcescens</i>	<i>Serratia marcescens</i>	<i>Serratia marcescens</i>

Tabelle 37: Genus *Hafnia*

	A: Typische Reaktionen für	B: untersuchte Stämme		
	<i>Hafnia</i>	Nr. 2669/93	Nr. 1624/92	Nr. 1348/92
Indolproduktion	neg.	neg.	neg.	neg.
Methylrot	pos.	pos.	pos.	pos.
Voges-Proskauer	pos.	pos.	pos.	pos.
Zitratabbau (Simmons')	neg. (90%)	pos.	neg.	neg.
Hydrogensulfidbildung	neg.	neg.	neg.	neg.
Ureasebildung	neg.	neg.	neg.	neg.
Lysindecaboxylase	pos.	pos.	pos.	pos.
Arginindihydrolase	neg.	neg.	pos.	pos.
Ornithindecaboxylase	pos.	pos.	pos.	pos.
Beweglichkeit (36°C)	neg. (60%)	pos.	neg.	neg.
D-Glucose, acid	pos.	pos.	pos.	pos.
Gas aus D-Glucose	pos.	pos.	pos.	pos.
Lactoseabbau	neg.	neg.	neg.	neg.
Sucroseabbau	neg.	pos.		

D-Mannitolabbau	pos.	pos.	pos.	pos.
Dulcitolabbau	neg.	neg.	neg.	neg.
Adonitolabbau	neg.	neg.	neg.	neg.
D-Sorbitolabbau	neg.	neg.	neg.	neg.
L-Arabinoseabbau	pos.	pos.	pos.	pos.
Raffinoseabbau	neg.	neg.	neg.	neg.
L-Rhamnoseabbau	pos.	pos.	pos.	pos.
D-Xyloseabbau	pos.	pos.	pos.	pos.
Melibioseabbau	neg.	neg.	neg.	neg.
Nitratreduktion	pos.	pos.	pos.	pos.
ONPG'	pos.	pos.	pos.	pos.
gelbes Pigment	neg.	neg.	neg.	neg.
B: differenzierte Spezies:		<i>Hafnia alvei</i>	<i>Hafnia alvei</i>	<i>Hafnia alvei</i>



Seitenanfang

webdesigned and layouted by [Reik H. Börger](#), Oct. 97

umblättern

Anfang
Anhangzu Punkt
8.1Inhalts-
verzeichniszu Punkt
8.2.2Ende
Anhang

8.2 Varianzanalyse-Tabellen

8.2.1 Rubrik A (Temperatur 37°C)

Tabelle 38: Mittelwerte-Tabelle (Table of Means) der Generationszeiten bei 37°C

pH-Wert	Anzahl der Stämme	Mittelwert (min)	Standardabweichg.
5	27	44,1667	32,3465
5,5	29	37,3345	18,318
6	30	25,7117	9,93189
6,5	30	22,14	4,81833
7,3	30	24,4017	7,65936
Gesamt	146	30,4301	18,9612

Tabelle 39: ANOVA: Varianzanalyse für die Mittelwerte der Generationszeit bei pH-Werten von 5,0 bis 7,3:

Streuungsurs.	SQ	Df	MQ	Prüfgr.	P-Wert
Zwischen den Gruppen	10297,1	4	2574,28	8,68	0,0000
Innerhalb der Gruppen	41834,3	141	296,697		
Gesamt	52131,4	145			

Tabelle 40: 95,0 % LSD intervalle für die Generationszeiten ($\alpha = 0,05$)

pH-Wert	Stnd.fehler (gepoolt)	Untere Grenze (min)	Obere Grenze (min)
5,0	3,31493	39,5327	48,8006
5,5	3,19858	32,8632	41,8058
6,0	3,14482	21,3155	30,1078
6,5	3,14482	17,7438	26,5362
7,3	3,14482	20,0055	28,7978

Tabelle 41: Multiple Range Test (t-Test, $\alpha = 0,05$ vergleichsbezogen, bedeutet statistisch signifikante Differenz)

Kontrast	Differenz	Signifikanzgrenzen
5 - 5,5	6,83218	9,10673
5,5 - 6	*11,6228	8,8678
6 - 6,5	3,57167	8,79232
6,5 - 7,3	-2,26167	8,79232



Seitenanfang

webdesigned and layouted by [Reik H. Börger](#), Oct. 97

umblättern

Anfang
Anhangzu Punkt
8.2.1Inhalts-
verzeichniszu Punkt
8.2.3Ende
Anhang

8.2.2 Rubrik B (Temperatur 35°C)

Tabelle 42: Mittelwerte-Tabelle (Table of Means) der Generationszeiten bei 35°C

pH-Wert	Anzahl der Stämme	Mittelwert (min)	Standardabweichg.
5	26	44,425	8,94208
5,5	29	27,5586	8,12376
6	30	25,9167	8,33591
6,5	30	26,2533	9,45476
7,3	30	24,6033	7,38825
Gesamt	145	29,3617	10,9786

Tabelle 43: ANOVA: Varianzanalyse für die Mittelwerte der Generationszeit bei pH-Werten von 5,0 bis 7,3:

Streuungsurs.	SQ	Df	MQ	Prüfgr.	P-Wert
Zwischen den Gruppen	7318,93	4	1829,73	25,52	0,0000
Innerhalb der Gruppen	10037,4	140	71,6958		
Gesamt	17356,3	144			

Tabelle 44: 95,0 % LSD intervalle für die Generationszeiten ($\alpha = 0,05$)

pH-Wert	Std.fehler (insges.)	Untere Grenze (min)	Obere Grenze (min)
5,0	1,66058	42,1035	46,7465
5,5	1,57235	25,3605	29,7567
6,0	1,54592	23,7555	28,0778
6,5	1,54592	24,0922	28,4145
7,3	1,54592	22,4422	26,7645

Tabelle 45: Multiple Range Test (t-Test, $\alpha = 0,05$ vergleichsbezogen, bedeutet statistisch signifikante Differenz)

Kontrast	Differenz	Signifikanzgrenzen
5 - 5,5	*16,8664	4,52129
5,5 - 6	1,64195	4,35946
6 - 6,5	-0,336667	4,32236
6,5 - 7,3	1,65	4,32236



Seitenanfang

webdesigned and layouted by [Reik H. Börger](#), Oct. 97

umblättern

Anfang
Anhangzu Punkt
8.2.2Inhalts-
verzeichniszu Punkt
8.2.4Ende
Anhang

8.2.3 Rubrik C (Temperatur 30°C)

Tabelle 46: Mittelwerte-Tabelle (Table of Means) der Generationszeiten bei 30°C

pH-Wert	Anzahl der Stämme	Mittelwert (min)	Standardabweichg.
5	28	77,5804	43,5217
5,5	30	39,285	12,1515
6	30	32,7317	7,56517
6,5	30	30,8133	12,6123
7,3	30	30,525	9,26613
Gesamt	148	41,7088	27,3704

Tabelle 47: ANOVA: Varianzanalyse für die Mittelwerte der Generationszeit bei pH-Werten von 5,0 bis 7,3:

Streuungsurs.	SQ	Df	MQ	Prüfgr.	P-Wert
Zwischen den Gruppen	45937,1	4	11484,3	25,59	0,0000
Innerhalb der Gruppen	64186,6	143	448,857		
Gesamt	110124,0	147			

Tabelle 48: 95,0 % LSD intervalle für die Generationszeiten ($\alpha = 0,05$)

pH-Wert	Std.fehler (gepoolt)	Untere Grenze (min)	Obere Grenze (min)
5,0	4,00383	71,9841	83,1766
5,5	3,86806	33,8785	44,6915
6,0	3,86806	27,3251	38,1382
6,5	3,86806	25,4068	36,2199
7,3	3,86806	25,1185	35,9315

Tabelle 49: Multiple Range Test (t-Test, $\alpha = 0,05$ vergleichsbezogen, bedeutet statistisch signifikante Differenz)

Kontrast	Differenz	Signifikanzgrenzen
5 - 5,5	*38,2954	11,0045
5,5 - 6	6,55333	10,8131
6 - 6,5	1,91833	10,8131
6,5 - 7,3	0,288333	10,8131



Seitenanfang

webdesigned and layouted by [Reik H. Börger](#), Oct. 97

umblättern

Anfang
Anhangzu Punkt
8.2.3Inhalts-
verzeichniszu Punkt
8.2.5Ende
Anhang

8.2.4 Rubrik D (Temperatur 25°C)

Tabelle 50: Mittelwerte-Tabelle (Table of Means) der Generationszeiten bei 25°C

pH-Wert	Anzahl der Stämme	Mittelwert (min)	Standardabweichg.
5	29	82,7586	31,3412
5,5	30	70,5	19,0385
6	30	49,6233	9,29425
6,5	30	44,37	8,58743
7,3	30	38,7767	8,01039
Gesamt	149	57,0342	24,0508

Tabelle 51: ANOVA: Varianzanalyse für die Mittelwerte der Generationszeit bei pH-Werten von 5,0 bis 7,3:

Streuungsurs.	SQ	Df	MQ	Prüfgr.	P-Wert
Zwischen den Gruppen	41089,7	4	10272,4	33,23	0,0000
Innerhalb der Gruppen	44519,6	144	309,164		
Gesamt	85609,3	148			

Tabelle 52: 95,0 % LSD intervalle für die Generationszeiten ($\alpha = 0,05$)

pH-Wert	Std.fehler (gepoolt)	Untere Grenze (min)	Obere Grenze (min)
5,0	3,26509	78,1952	87,3221
5,5	3,21021	66,0132	74,9868
6,0	3,21021	45,1366	54,1101
6,5	3,21021	39,8832	48,8568
7,3	3,21021	34,2899	43,2634

Tabelle 53: Multiple Range Test (t-Test, $\alpha = 0,05$ vergleichsbezogen, bedeutet statistisch signifikante Differenz)

Kontrast	Differenz	Signifikanzgrenzen
5 - 5,5	*12,2586	9,05055
5,5 - 6	*20,8767	8,97352
6 - 6,5	5,25333	8,97352
6,5 - 7,3	5,59333	8,97352



Seitenanfang

webdesigned and layouted by [Reik H. Börger](#), Oct. 97

umblättern

Anfang
Anhangzu Punkt
8.2.4Inhalts-
verzeichniszu Punkt
8.2.6Ende
Anhang

8.2.5 Rubrik E (Temperatur 20°C)

Tabelle 54: Mittelwerte-Tabelle (Table of Means) der Generationszeiten bei 20°C

pH-Wert	Anzahl der Stämme	Mittelwert (min)	Standardabweichg.
5,0	25	202,878	75,7518
5,5	25	84,368	27,878
6,0	30	75,1567	34,7608
6,5	30	67,29	15,5502
7,3	30	63,415	12,4203
Gesamt	140	95,4071	63,5531

Tabelle 55: ANOVA: Varianzanalyse für die Mittelwerte der Generationszeit bei pH-Werten von 5,0 bis 7,3:

Streuungsurs.	SQ	Df	MQ	Prüfgr.	P-Wert
Zwischen den Gruppen	358521,0	4	89630,2	59,64	0,0000
Innerhalb der Gruppen	202900,0	135	1502,96		
Gesamt	561420,0	139			

Tabelle 56: 95,0 % LSD intervalle für die Generationszeiten ($\alpha = 0,05$)

pH-Wert	Std.fehler (gepoolt)	Untere Grenze (min)	Obere Grenze (min)
5,0	7,75361	192,035	213,721
5,5	7,75361	73,525	95,211
6,0	7,07804	65,2584	85,0549
6,5	7,07804	57,3918	77,1882
7,3	7,07804	53,5168	73,3132

Tabelle 57: Multiple Range Test (t-Test, $\alpha = 0,05$ vergleichsbezogen, bedeutet statistisch signifikante Differenz)

Kontrast	Differenz	Signifikanzgrenzen
5,0 - 5,5	*118,51	21,6859
5,5 - 6,0	9,21133	20,7627
6,0 - 6,5	7,86667	19,7965
6,5 - 7,3	3,875	19,7965

Anfang
Anhangzu Punkt
8.2.5Inhalts-
verzeichniszu Punkt
8.2.7Ende
Anhang

8.2.6 Rubrik F (pH-Wert 7,3)

Tabelle 58: Mittelwerte-Tabelle (Table of Means) der Generationszeiten bei pH 7,3

Temperatur	Anzahl der Stämme	Mittelwert (min)	Standardabweichg.
12°C	19	190,984	44,8215
15°C	27	126,746	24,4463
18°C	30	89,905	19,7382
20°C	30	64,375	12,6347
25°C	30	38,7767	8,01039
30°C	30	30,525	9,26613
35°C	30	24,6033	7,38825
37°C	30	24,4017	7,65936
40°C	30	34,035	24,9987
Gesamt	256	63,4746	52,3702

Tabelle 59: ANOVA: Varianzanalyse für die Mittelwerte der Generationszeiten bei Temperaturen von 12 bis 40°C:

Streuungsurs.	SQ	Df	MQ	Prüfgr.	P-Wert
Zwischen den Gruppen	605987,0	8	75748,3	200,35	0,0000
Innerhalb der Gruppen	93385,5	247	378,079		
Gesamt	699372,0	255			

Tabelle 60: 95,0 % LSD intervalle für die Generationszeiten ($\alpha = 0,05$)

Temperatur	Std.fehler (gepoolt)	Untere Grenze (min)	Obere Grenze (min)
12°C	4,46082	184,771	197,197
15°C	3,74205	121,535	131,958
18°C	3,55002	84,9608	94,8492
20°C	3,55002	59,4308	69,3192
25°C	3,55002	33,8324	43,7209
30°C	3,55002	25,5808	35,4692
35°C	3,55002	19,6591	29,5476
37°C	3,55002	19,4574	29,3459
40°C	3,55002	29,0908	38,9792

Tabelle 61: Multiple Range Test (t-Test, $\alpha = 0,05$ vergleichsbezogen, bedeutet statistisch signifikante Differenz)

Kontrast	Differenz	Signifikanzgrenzen
12°C - 15°C	*64,2379	11,4682
15°C - 18°C	*36,8413	10,1594
18°C - 20°C	*25,53	9,88844
20°C - 25°C	*25,5983	9,88844
25°C - 30°C	8,25167	9,88844
30°C - 35°C	5,92167	9,88844
35°C - 37°C	0,201667	9,88844
37°C - 40°C	-9,63333	9,88844



Seitenanfang



umblättern

Anfang
Anhangzu Punkt
8.2.6Inhalts-
verzeichniszu Punkt
8.2.8Ende
Anhang

8.2.7 Rubrik G (pH-Wert 6,5)

Tabelle 62: Mittelwerte-Tabelle (Table of Means) der Generationszeiten bei pH 6,5

Temperatur	Anzahl der Stämme	Mittelwert (min)	Standardabweichg.
20°C	30	67,29	15,5502
25°C	30	44,37	8,58743
30°C	30	30,8133	12,6123
35°C	30	26,2533	9,45476
37°C	30	22,14	4,81833
Gesamt	150	38,1733	19,5957

Tabelle 63: ANOVA: Varianzanalyse für die Mittelwerte der Generationszeiten bei Temperaturen von 20 bis 37°C:

Streuungsurs.	SQ	Df	MQ	Prüfgr.	P-Wert
Zwischen den Gruppen	40185,1	4	10046,3	85,54	0,0000
Innerhalb der Gruppen	17029,7	145	117,446		
Gesamt	57214,8	149			

Tabelle 64: 95,0 % LSD intervalle für die Generationszeiten ($\alpha = 0,05$)

Temperatur	Std.fehler (gepoolt)	Untere Grenze (min)	Obere Grenze (min)
20°C	1,9786	64,5248	70,0552
25°C	1,9786	41,6048	47,1352
30°C	1,9786	28,0481	33,5786
35°C	1,9786	23,4881	29,0186
37°C	1,9786	19,3748	24,9052

Tabelle 65: Multiple Range Test (t-Test, $\alpha = 0,05$ vergleichsbezogen, bedeutet statistisch signifikante Differenz)

Kontrast	Differenz	Signifikanzgrenzen
20°C - 25°C	*22,92	5,53048
25°C - 30°C	*13,5567	5,53048
30°C - 35°C	4,56	5,53048
35°C - 37°C	4,11333	5,53048

Anfang
Anhangzu Punkt
8.2.7Inhalts-
verzeichniszu Punkt
8.2.9Ende
Anhang

8.2.8 Rubrik H (pH-Wert 6,0)

Tabelle 66: Mittelwerte-Tabelle (Table of Means) der Generationszeiten bei pH 6,0

Temperatur	Anzahl der Stämme	Mittelwert (min)	Standardabweichg.
20°C	30	75,1567	34,7608
25°C	30	49,6233	9,29425
30°C	30	32,7317	7,56517
35°C	30	25,9167	8,33591
37°C	30	25,7117	9,93189
Gesamt	150	41,828	25,5278

Tabelle 67: ANOVA: Varianzanalyse für die Mittelwerte der Generationszeiten bei Temperaturen von 20 bis 37°C:

Streuungsurs.Df	SQ	Df	MQ	Prüfgr.	P-Wert
Zwischen den Gruppen	53016,5	4	13254,1	43,60	0,0000
Innerhalb der Gruppen	44081,7	145	304,012		
Gesamt	97098,2	149			

Tabelle 68: 95,0 % LSD intervalle für die Generationszeiten ($\alpha = 0,05$)

Temperatur	Std.fehler (gepoolt)	Untere Grenze (min)	Obere Grenze (min)
20°C	3,18335	70,7077	79,6056
25°C	3,18335	45,1744	54,0723
30°C	3,18335	28,2827	37,1806
35°C	3,18335	21,4677	30,3656
37°C	3,18335	21,2627	30,1606

Tabelle 69: Multiple Range Test (t-Test, $\alpha = 0,05$ vergleichsbezogen, bedeutet statistisch signifikante Differenz)

Kontrast	Differenz	Signifikanzgrenzen
20°C - 25°C	*25,5333	8,89792
25°C - 30°C	*16,8917	8,89792
30°C - 35°C	6,815	8,89792
35°C - 37°C	0,205	8,89792



Seitenanfang

webdesigned and layouted by [Reik H. Börger](#), Oct. 97

umblättern

Anfang
Anhangzu Punkt
8.2.8Inhalts-
verzeichniszu Punkt
8.2.10Ende
Anhang

8.2.9 Rubrik I (pH-Wert 5,5)

Tabelle 70: Mittelwerte-Tabelle (Table of Means) der Generationszeiten bei pH 5,5

Temperatur	Anzahl der Stämme	Mittelwert (min)	Standardabweichg.
20°C	25	84,368	27,878
25°C	30	70,5	19,0385
30°C	30	39,285	12,1515
35°C	29	27,5586	8,12376
37°C	29	37,3345	18,318
Gesamt	143	50,9416	27,7565

Tabelle 71: ANOVA: Varianzanalyse für die Mittelwerte der Generationszeiten bei Temperaturen von 20 bis 37°C:

Streuungsurs.	SQ	Df	MQ	Prüfgr.	P-Wert
Zwischen den Gruppen	64710,9	4	16177,7	49,96	0,0000
Innerhalb der Gruppen	44689,3	138	323,835		
Gesamt	109400,0	142			

Tabelle 72: 95,0 % LSD intervalle für die Generationszeiten ($\alpha = 0,05$)

Temperatur	Std.fehler (gepoolt)	Untere Grenze (min)	Obere Grenze (min)
20°C	3,59908	79,3359	89,4001
25°C	3,2855	65,9063	75,0937
30°C	3,2855	34,6913	43,8787
35°C	3,34167	22,8864	32,2308
37°C	3,34167	32,6623	42,0067

Tabelle 73: Multiple Range Test (t-Test, $\alpha = 0,05$ vergleichsbezogen, bedeutet statistisch signifikante Differenz)

Kontrast	Differenz	Signifikanzgrenzen
20°C - 25°C	*13,868	9,63578
25°C - 30°C	*31,215	9,18736
30°C - 35°C	*11,7264	9,26622
35°C - 37°C	*-9,77586	9,34442



Seitenanfang

webdesigned and layouted by [Reik H. Börger](#), Oct. 97

umblättern

Anfang
Anhangzu Punkt
8.2.9Inhalts-
verzeichniszu Punkt
8.3Ende
Anhang

8.2.10 Rubrik J (pH-Wert 5,0)

Tabelle 74: Mittelwerte-Tabelle (Table of Means) der Generationszeiten bei pH 5,0

Temperatur	Anzahl der Stämme	Mittelwert (min)	Standardabweichg.
20°C	25	202,878	75,7518
25°C	29	72,4397	22,3124
30°C	28	88,2679	47,7333
35°C	26	44,425	8,94208
37°C	27	44,1667	32,3465
Gesamt	135	88,8278	71,2616

Tabelle 75: ANOVA: Varianzanalyse für die Mittelwerte der Generationszeiten bei Temperaturen von 20 bis 37°C:

Streuungsurs.	SQ	Df	MQ	Prüfgr.	P-Wert
Zwischen den Gruppen	438100,0	4	109525,0	58,74	0,0000
Innerhalb der Gruppen	242381,0	130	1864,47		
Gesamt	680481,0	134			

Tabelle 76: 95,0 % LSD intervalle für die Generationszeiten ($\alpha = 0,05$)

Temperatur	Std.fehler (gepoolt)	Untere Grenze (min)	Obere Grenze (min)
20°C	8,6359	190,797	214,959
25°C	8,01824	61,2227	83,6566
30°C	8,16016	76,8524	99,6833
35°C	8,4682	32,5786	56,2714
37°C	8,3099	32,5417	55,7916

Tabelle 77: Multiple Range Test (t-Test, $\alpha = 0,05$ vergleichsbezogen, bedeutet statistisch signifikante Differenz)

Kontrast	Differenz	Signifikanzgrenzen
20°C - 25°C	*130,438	23,314
25°C - 30°C	-15,8282	22,6333
30°C - 35°C	*43,8429	23,2659
35°C - 37°C	0,258333	23,4724



Seitenanfang

webdesigned and layouted by [Reik H. Börger](#), Oct. 97

umblättern

Anfang
Anhangzu Punkt
8.2.10Inhalts-
verzeichniszu Tabelle
79Ende
Anhang

8.3 Ergebnistabellen

Tabelle 78: Generationszeiten verschiedener *Enterobacteriaceae*-Spezies in min bei pH-Wert 7,3 und Temperaturen von 25 - 40°C

Temperatur	40°C			37°C			35°C			30°C			25°C		
	Vers.1	Vers.2	x	Vers.1	Vers.2	x	Vers.1	Vers.2	x	Vers.1	Vers.2	x	Vers.1	Vers.2	x
Salmonella Typhimurium 2180/94	14,4	25,2	19,80	19,8	30,6	25,20	14,4	18,0	16,20	28,8	23,4	26,10	39,6	43,2	41,40
Salmonella Enteritidis 2181/94	18,0	18,0	18,00	21,6	21,6	21,60	16,2	23,2	19,70	30,6	28,8	29,70	34,2	46,8	40,50
Salmonella Choleraesuis 1636/92	21,6	27,0	24,30	23,4	21,6	22,50	20,7	26,1	23,40	19,8	24,3	22,05	27,0	38,8	32,90
Shigella 102/91	18,9	19,8	19,35	20,7	19,8	20,25	28,8	20,7	24,75	35,1	29,7	32,40	50,4	50,4	50,40
Shigella flexneri 2167/94	29,7	22,5	26,10	22,5	21,6	22,05	27,0	23,4	25,20	36,0	35,1	35,55	68,4	46,8	57,60
Shigella boydii 2168/94	25,2	20,7	22,95	21,6	21,6	21,60	19,8	48,6	34,20	34,2	31,5	32,85	25,2	43,2	34,20
Yersinia enterocolitica BT2 2170/94	98,1	97,2	97,65	34,2	43,2	38,70	44,1	45,9	45,00	36,0	38,7	37,35	43,2	43,2	43,20
Yersinia enterocolitica BT4 2171/94	73,8	101,7	87,75	43,2	42,3	42,75	41,4	42,3	41,85	54,9	48,6	51,75	50,4	54,0	52,20
Yersinia pseudotuberculosis 2571/90	101,7	92,7	97,20	40,5	61,2	50,85	41,4	43,2	42,30	78,3	59,4	68,85	48,6	57,6	53,10
Escherichia coli O147K88K89 2184/94	16,2	19,8	18,00	14,4	21,6	18,00	18,0	16,2	17,10	27,0	28,8	27,90	36,0	36,0	36,00
Escherichia coli O148 2183/94	17,1	18,0	17,55	19,8	18,0	18,90	25,2	18,9	22,05	27,0	16,2	21,60	41,4	32,4	36,90
Escherichia coli K1J53 2185/94	17,1	17,1	17,10	28,8	21,6	25,20	22,5	20,7	21,60	27,0	28,8	27,90	52,2	54,0	53,10
Klebsiella pneu. ssp. ozaenae 2039/94	27,9	28,8	28,35	25,2	23,4	24,30	30,6	29,7	30,15	32,4	32,4	32,40	20,7	36,0	28,35
Klebsiella pneu. ssp. pneumoniae 2165/94	15,3	14,4	14,85	21,6	19,8	20,70	19,8	17,1	18,45	26,1	23,4	24,75	22,5	28,8	25,65
Klebsiella pneu. ssp. pneumoniae 2169/94	17,1	15,3	16,20	19,8	19,8	19,80	21,6	19,8	20,70	29,7	25,2	27,45	41,4	25,2	33,30
Enterobacter cloacae 667/92	20,7	22,5	21,60	27,0	23,4	25,20	19,8	25,2	22,50	28,8	28,8	28,80	41,4	28,8	35,10
Enterobacter cloacae 1125/92	18,0	19,8	18,90	16,2	16,2	16,20	18,0	18,0	18,00	19,8	19,8	19,80	33,3	32,4	32,85
Enterobacter cloacae 2377/92	20,7	18,0	19,35	17,1	15,3	16,20	18,0	17,1	17,55	25,2	27,0	26,10	34,2	36,0	35,10
Citrobacter freundii 2683/93	22,5	22,5	22,50	20,7	24,3	22,50	20,7	18,9	19,80	27,9	27,0	27,45	36,0	32,4	34,20
Citrobacter amalonaticus 768/92	21,6	21,6	21,60	23,4	19,8	21,60	25,2	27,0	26,10	27,9	27,9	27,90	41,4	39,6	40,50
Citrobacter diversus 2056/90	22,5	20,7	21,60	16,2	18,9	17,55	22,5	24,7	23,60	28,8	27,9	28,35	32,4	36,0	34,20
Morganella morganii 2578/90	41,4	37,8	39,60	28,8	26,1	27,45	27,9	19,8	23,85	27,9	29,7	28,80	56,7	39,6	48,15
Proteus vulgaris 2174/94	29,7	27,0	28,35	23,4	21,6	22,50	22,5	21,6	22,05	38,7	31,5	35,10	41,4	36,0	38,70
Proteus mirabilis 2179/94	21,6	17,1	19,35	21,6	18,9	20,25	22,5	18,0	20,25	23,4	32,4	27,90	35,1	39,6	37,35
Serratia marcescens 2413/93	21,6	40,5	31,05	18,0	18,0	18,00	21,6	19,8	20,70	23,4	25,2	24,30	37,8	32,4	35,10
Serratia marcescens I 2172/94	82,8	70,2	76,50	23,4	30,6	27,00	21,6	20,7	21,15	27,0	27,0	27,00	37,8	32,4	35,10
Serratia marcescens II 2173/94	78,3	68,4	73,35	27,0	21,4	24,20	23,4	18,0	20,70	27,9	27,0	27,45	36,0	28,8	32,40
Hafnia alvei 2669/93	39,6	37,8	38,70	23,4	23,4	23,40	27,9	27,9	27,90	33,3	28,8	31,05	44,1	39,6	41,85
Hafnia alvei 1624/92	29,7	34,2	31,95	28,8	28,8	28,80	29,7	25,2	27,45	28,8	28,8	28,80	31,5	36,0	33,75
Hafnia alvei 1348/92	34,2	28,8	31,50	29,7	27,9	28,80	21,6	26,1	23,85	26,1	30,6	28,35	26,1	34,2	30,15



Seitenanfang

webdesigned and layouted by [Reik H. Börger](#), Oct. 97

umblättern



Danksagung

Herrn Prof. Dr. G. Scheibner möchte ich für die Überlassung der Thematik und die Möglichkeit der Bearbeitung danken. Mein besonderer Dank gilt Herrn Priv. Doz. Dr. T. Bergann, der mich durch seine konstruktive und kritische Anleitung und seine fachliche Beratung hilfreich unterstützte. Danken möchte ich auch Frau Dr. D. Sohr für ihre wertvollen Hinweise zur statistisch-biometrischen Auswertung. Nicht zuletzt danke ich meinen Freunden, die mich stets ermutigten und mir jederzeit mit Rat und Tat zur Seite standen.

Lebenslauf

Name:	Christine Muschkowitz
Geburtsdatum:	17. April 1970 in Berlin
Eltern:	
Mutter:	Else Muschkowitz-Renaud, Diplom-Psychologin, geb. 1932
Vater:	Franz Muschkowitz, Musiker, geb. 1929, gest. 1989
Schulbildung:	
1976-86	Besuch der Polytechnischen Oberschule in Berlin-Lichtenberg
1986-88	Besuch der Erweiterten Oberschule "Immanuel Kant", Abitur
Berufsausbildung:	
1989-95	Studium der Veterinärmedizin an der Humboldt-Universität zu Berlin und der Freien Universität Berlin
Approbation:	erhalten am 21. April 1995
Promotion:	
Jan. 1994	Überlassung des Themas durch Herrn Prof. Dr. G. Scheibner, Institut für Lebensmittelhygiene des Fachbereiches Veterinärmedizin der Humboldt-Universität zu Berlin
Sept. 1994	Übernahme der Betreuung durch Herrn Priv. Doz. Dr. T. Bergann, Institut für Lebensmittelhygiene, Standort Mitte, des Fachbereiches Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin
Tierärztliche Tätigkeiten:	

- April 1995 bis März 1996, Lehrauftrag zur Durchführung einer Lehrveranstaltungsreihe im Institut für
seit März 1997 Fleischhygiene und -technologie des Fachbereiches Veterinärmedizin der
Freien Universität Berlin
- seit April 1995 Kurative Tätigkeit in der Gemischtpraxis des prakt. Tierarztes H.-J.
Straßburg, Müncheberg
- seit Dez. 1996 Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Tierarzneimittel Berlin
GmbH

These pages were created and designed by [Reik H. Börger](#) in October 1997

Inhaltsverzeichnis

Zum Springen in der Doktorarbeit auf die Kapitel klicken

1 Einleitung

2 Literaturübersicht

2.1 Bedeutung und Bestimmungsmöglichkeiten von Generationszeiten

2.1.1 Physiologie des Wachstums und der Vermehrung von Bakterien

2.1.2 Generationszeit und ihre Bedeutung

2.1.3 Methoden zur Bestimmung von Keimzahlen bzw. Generationszeiten

unter besonderer Berücksichtigung des Impedanzverfahrens

2.2 Lebensmittelhygienisch bedeutsame Einflußgrößen

2.2.1 Temperatur

2.2.2 pH-Wert

2.2.3 Kochsalzgehalt

2.3 Charakterisierung der Familie *Enterobacteriaceae*

2.3.1 *Enterobacteriaceae* als Lebensmittelvergifter und -verderber

2.3.2 Charakterisierung einzelner Gattungen:

1. Genus *Salmonella*

2. Genus *Shigella*

3. Genus *Yersinia*

4. Genus *Escherichia*

5. Genus *Klebsiella*

6. Genus *Enterobacter*

7. Genus *Citrobacter*

8. Genus *Proteus / Morganella*

9. Genus *Serratia*

10. Genus *Hafnia*

3 Eigene Untersuchungen

3.1 Material

3.1.1 Versuchsstämme - Herkunft und Charakterisierung

3.1.2 Nährmedien

3.1.3 Geräte

3.2 Methodik

3.2.1 Anzüchtung und Überimpfung

3.2.2 Bestimmung der Generationszeit

3.2.3 Statistische Auswertungsverfahren

3.3 Versuchsreihen

3.4 Ergebnisse

3.4.1 Ergebnisse der Modelluntersuchungen

bei konstanten Temperaturen und unterschiedlichen pH-Werten

3.4.1.1 Rubrik A - Temperatur 37°C

3.4.1.2 Rubrik B - Temperatur 35°C

3.4.1.3 Rubrik C - Temperatur 30°C

3.4.1.4 Rubrik D - Temperatur 25°C

3.4.1.5 Rubrik E - Temperatur 20°C

3.4.2 Ergebnisse der Modelluntersuchungen,

bei konstanten pH-Werten und unterschiedlichen Temperaturen

3.4.2.1 Rubrik F - pH-Wert 7,3

3.4.2.2 Rubrik G - pH-Wert 6,5

3.4.2.3 Rubrik H - pH-Wert 6,0

3.4.2.4 Rubrik I - pH-Wert 5,5

3.4.2.5 Rubrik J - pH-Wert 5,0

3.4.3 Zusammenfassende Betrachtung der Untersuchungsergebnisse

4 Diskussion

5 Zusammenfassung

6 Summary

7 Literaturverzeichnis

8 Anhang

8.1 Differenzierung der Versuchsstämme unter Berücksichtigung

der Differenzierungskriterien nach Farmer III (1985)

8.2 Varianzanalyse-Tabellen

8.2.1 Rubrik A (Temperatur 37°C)

8.2.2 Rubrik B (Temperatur 35°C)

8.2.3 Rubrik C (Temperatur 30°C)

8.2.4 Rubrik D (Temperatur 25°C)

8.2.5 Rubrik E (Temperatur 20°C)

8.2.6 Rubrik F (pH-Wert 7,3)

8.2.7 Rubrik G (pH-Wert 6,5)

8.2.8 Rubrik H (pH-Wert 6,0)

8.2.9 Rubrik I (pH-Wert 5,5)

8.2.10 Rubrik J (pH-Wert 5,0)

8.3 Ergebnistabellen

Danksagung - Lebenslauf