

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

**Mikrobiologische und sensorische Untersuchung
tiefgefrorenen Wildbrets im Hinblick auf die Festlegung
mikrobiologischer Richtwerte**

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

von
Silke Wacheck
aus Karlsruhe

München 2008

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

Dekan:	Univ.-Prof. Dr. Braun
Berichterstatter:	Univ.-Prof. Dr.Dr. h.c. Stolle
Korreferent:	Univ.-Prof. Dr. Förster

Tag der Promotion: 8. Februar 2008

*Meiner Familie und
meinem Vater in Memoriam*

INHALTSVERZEICHNIS

A	EINLEITUNG	1
B	LITERATUR	2
1	Wildfleisch – Geschichte, Kontroverse und Gesetz	2
1.1	Die Jagd zwischen Gestern und Heute	2
1.2	Jagd und Gesetze	3
1.3	Konsum Wildfleisch	6
2	Krankheiten des Wildes	8
3	Lebensmittelhygienisch relevante Mikroorganismen	16
3.1	Mikrobiologie des Fleisches	16
3.2	Einteilung	17
3.2.1	Verderbsorganismen und technologisch erwünschte Mikroorganismen	17
3.2.2	Marker-Keime.....	17
3.2.3	Pathogene und toxinogene Mikroorganismen	18
3.2.4	Untersuchte Mikroorganismen	19
3.2.5	Einflussfaktoren auf Mikroorganismen in Fleisch	29
3.3	Krankheitsbild der Lebensmittelinfektionen und -intoxikationen verschiedener Bakterien.....	34
3.3.1	Enterobakteriaceen	34
3.3.2	Salmonellose.....	34
3.3.3	Enterohämorrhagische E. coli (EHEC)- Infektionen	36
3.3.4	Clostridium perfringens-Infektion.....	38
3.3.5	Staphylococcus aureus-Intoxikation.....	39
3.3.6	Listeriose.....	40
3.3.7	Campylobacteriose	42
3.3.8	Yersiniose	43
3.3.9	Weitere bakterielle Erreger.....	44
4	Sensorik	45
5	Qualitätsmanagement	45

C	EIGENE UNTERSUCHUNGEN	47
6	Material.....	47
6.1	Probenauswahl.....	47
6.2	Probennahme.....	48
7	Methodik.....	49
7.1	Mikrobiologie	49
7.1.1	Probenvorbereitung.....	49
7.1.2	Hygienekeime	50
7.1.3	Pathogene Keime.....	55
7.2	Sensorische Untersuchung	60
7.3	Bewertung der mikrobiologischen Untersuchung und Ergebnisse	61
7.3.1	Statistische Auswertung der Ergebnisse	62
D	ERGEBNISSE	64
8	Mikrobiologische Untersuchung der Hygienekeime.....	64
8.1.1	Screeninguntersuchung auf pathogene Keime	71
8.1.2	Sensorische Untersuchung	72
E	DISKUSSION	73
F	ZUSAMMENFASSUNG.....	85
G	SUMMARY	87
H	LITERATURVERZEICHNIS	89
I	TABELLENVERZEICHNIS.....	117
K	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	118
L	ANHANG	119

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Abb.	Abbildung
BJagdG	Bundesjagdgesetz
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
DGHM	Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie
DIN	Deutsches Institut für Normung
DJV	Deutscher Jagdschutzverband
EG	Europäische Gemeinschaft
ELISA	Enzym-linked-immunosorbent assay
engl.	englisch
et al.	und andere
EU	Europäische Union
FIHG	Fleischhygienegesetz
FIHV	Fleischhygieneverordnung
g	Gramm
IEC	Internationale elektrotechnische Kommission
IfSG	Infektionsschutzgesetz
ISO	International Standardization Organisation
KbE/g	Kolonie-bildende Einheiten pro Gramm
max.	maximal
min	Minute
min.	minimal
mind.	mindestens
ml	Milliliter
p	Wahrscheinlichkeit
PCR	Polymerasekettenreaktion
QM	Qualitätsmanagement
spp.	Spezies
STEC	Shiga-toxin bildende <i>E. coli</i>
Tab.	Tabelle
u.a.	und andere
u.v.m.	und vieles mehr

v. Chr.	vor Christus
v.a.	vor allem
VO	Verordnung
x g	Gauge
z.B.	zum Beispiel
µl	Mikroliter
%	Prozent
§	Paragraph
°C	Grad Celsius

A EINLEITUNG

Seit jeher wird Wildfleisch als Feinkost angesehen und gewinnt in den letzten Jahren zunehmend an Verbraucherinteresse. Hierzu hat der Trend unserer heutigen Gesellschaft, sich gesund und körperbewusst zu ernähren, aber auch das Misstrauen in die Fleischqualität von Rind und Schwein aufgrund zahlreicher sogenannter Fleischskandale beigetragen. Obwohl Wild nach dem Erlegen meist unter ungünstigen hygienischen Bedingungen aufgebrochen und ausgeweidet wird, gilt Wildfleisch als ein qualitativ hochwertiges Produkt. Auch die besondere Stellung der Jäger im Lebensmittelgesetz lässt dieses Denken nicht ganz einsichtig erscheinen. Denn bis zur Novellierung des Lebensmittel- und Bedarfsgegenstände-Gesetzbuches (LMBG) zum Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuch (LFGB) unterlag waidmännisch erlegtes Wildbret weitestgehend nicht der amtlichen Fleischuntersuchung. Ausnahmen bildeten hier geschlachtetes und an den Wildgroßhandel abgegebenes Wildbret.

Da Wildtiere das gleiche Keimspektrum aufweisen wie unsere Nutztiere, und diese Keime zum Teil auf den Menschen übertragbar sind, ist beim Versorgen des erlegten Stückes sowie beim Verzehr, insbesondere bei auf „medium Art“ zubereitetem Fleisch, die Gesundheitsgefahr für den Menschen nicht außer Acht zu lassen.

Ziel dieser Arbeit war die Erstellung mikrobiologischer und sensorischer Richtwerte für handelsübliches, tiefgefrorenes Wildfleisch, da es keine mikrobiologischen Richtwerte gibt, die zur Beurteilung herangezogen werden können, und nur wenig Literatur über die Keimbelastung bei tiefgefrorenem Wildfleisch existiert.

B LITERATUR

1 Wildfleisch – Geschichte, Kontroverse und Gesetz

1.1 Die Jagd zwischen Gestern und Heute

„Als Adam grub und Eva spann, wo war denn da der Jägersmann?“ In seinem Mühen um das tägliche Brot, Kleidung und Waffen hat sich der Mensch seit der grauen Vorzeit die Jagd auf Tiere zu Nutze gemacht. So diente die Jagdausübung und der damit verbundene Beutefang für eine lange Epoche der Menschheit nicht nur als Nahrungslieferant sondern auch als Lieferant von Kleidung (Leder und Fell) und Werkzeug (Knochen). Erst mit der Domestizierung der Tiere im Mesolithikum (ca. 8500 – 5500 v. Chr.) (N.N. 1989) veränderte sich die Stellung des Jagdwesens als Hauptwirtschaftsform und Hauptnahrungslieferant (RÖSENER 2004). Denn nun dienten Rind, Ziege, Schaf und Schwein zuerst als Fleischlieferant und dann als Arbeitshilfe (WIKIPEDIA 2007). MELLENTHIN (1998) erwähnt das Rechenbeispiel eines Wissenschaftlers, der damit den Stellenwert der Jagd als Hauptwirtschaftsform verdeutlichen wollte. Es besagt, dass weniger als eine Viertelstunde auf eine andere Wirtschaftsform als die Jagd entfallen, setze man die Menschheitsgeschichte gleich mit den 24 Stunden eines Tages.

Für die Herrschaftseliten spielte die Jagd eine wichtige Rolle im gesellschaftlichen Leben. Im Mittelalter galt die Jagd neben der Kriegstätigkeit als eine der vornehmsten Tätigkeit der Könige. Aber nicht nur für ihre körperliche Übung, sondern auch für ihr Ansehen spielte die Jagd neben dem Krieg eine entscheidende Rolle. So war ein König voller Charisma, wenn er der tapferste Krieger und der geschickteste Jäger war (RÖSENER 2004).

Heutzutage wird das Betreiben der Jagd kontrovers diskutiert. Jäger beharren auf der Ausübung ihrer Hegepflicht. Folglich sind sie der Meinung, das Jagdwesen aus ökologischen Gründen zu betreiben. Andere wiederum stellen die Liebe zum Tier und die Waidgerechtigkeit in den Vordergrund. Dahingegen verkörpert das Jagdwesen für Laien vielmehr die Lust am Töten und die Sucht nach Prestige. In Amerika hat sich aufgrund dessen das Klischee des Jägers als einen „gewalttätigen und psychopathischen“ Menschen etabliert, und der ausübende Jäger wird hier mit der Verkörperung jenem reinem Bösen gleichgesetzt, nach dem Metaphysiker

gesucht haben (RÖSENER 2004). Diese Ansicht hat der amerikanische Anthropologe Matt Cartmill in folgender Aussage, wie in RÖSENER (2004) zitiert, festgehalten: „Die Motive von Jägern sind dumpf und unbewusst, und wer kein Jäger ist, tut sich schwer, sie zu verstehen. Für die meisten von uns hört sich die Vorstellung, einmal im Jahr rituell in den Wald zu gehen, um mit dem Gewehr Hirsche zu erschießen, ungefähr so verlockend an, wie einmal im Jahr in den Kuhstall zu gehen, um mit dem Vorschlaghammer Kühe totzuschlagen.“ Folglich fordert er, wie auch eine Vielzahl an Jagdkritikern und Tierschützern, das Verbot des Jagdsports. Auch weniger radikale Ansätze, den Jagdsport an das heutige moralische und ethische Denken anzunähern, gestalten sich schwierig. So berichtet FORSTNER (2007) von der Nichteinbringung der Novellierung des Bundesjagdgesetzes, obwohl das Bundesjagdgesetz seit der Verabschiedung 1934 kaum verändert wurde.

1.2 Jagd und Gesetze

Bundesjagdgesetz (BJagdG)

Das BJagdG in der Fassung vom 26. Januar 1998 beinhaltet alle Details, die das Jagdrecht umfassen. Als Jagdrecht wird das Recht bezeichnet, auf einem bestimmten Gebiet dem Jagdrecht unterliegendes Wild (§2 BJagdG) zu bejagen und sich anzueignen (LORZ et al. 1998). Dies steht nach §3 BJagdG allein dem Grundeigentümer zu. Hiervon ist in der deutschen Gesetzgebung der Begriff des Jagdausübungsrechtes abzugrenzen. Dieses Recht hat ebenso der Grundeigentümer inne, vorausgesetzt sein Grund misst mindestens 75 Hektar und ist nicht verpachtet (§§ 7 und 8 BJagdG, LORZ et al. 1998). Des Weiteren regelt das BJagdG die Schonzeiten der jagdbaren Wildarten, die Hegegemeinschaften, die Jagdpacht, das Erlangen des Jagdscheines und den Wild- und Jagdschaden.

Fleischhygienegesetz (FIHG)

Das erste “Gesetz, betreffend die Schlachtvieh- und Fleischschau vom 3. Juni 1900“ wurde im Jahr 1903 veröffentlicht. Hierin wurde der Umgang mit Wildbret nicht geregelt. Erst knapp 80 Jahre später wurde Wildbret zum ersten Mal in das damals gültige Fleischbeschauengesetz aufgenommen. Doch erst 1986 mit der Novellierung des Fleischbeschauengesetzes zum Fleischhygienegesetz (FIHG) wurde jeder, der

freilebendes Wild erlegt hatte und vermarkten wollte, zur Einhaltung des Gesetzes verpflichtet (KUJAWSKI 1980). Jedoch auch zu dieser Pflicht gab es eine Fülle von Ausnahmen. So mussten Haarwild und Hauskaninchen nur dann zur Fleischuntersuchung vorgelegt werden, wenn beim Erlegen Merkmale festgestellt wurden, die das Fleisch bedenklich für den Verzehr durch den Mensch erscheinen ließen. Zusätzlich entfiel die Untersuchung, wenn das Wildbret für den privaten häuslichen Gebrauch verwendet wurde, oder wenn es an Jagdausübungsberechtigte oder an nahe gelegenen be- oder verarbeitende Betriebe zur Abgabe an den Verbraucher an Ort und Stelle oder für den privaten Gebrauch abgegeben wurde (§1 FIHG).

Neu war auch die gesetzliche Pflicht erlegte Wildschweine, Sumpfbiber, Dachse und andere fleischfressende Tiere von der zuständigen Behörde auf Trichinen untersuchen lassen zu müssen (§1 FIHG). Doch auch diese Aufgabe konnte auf den Jäger übertragen werden, wenn er die erforderliche Zuverlässigkeit besaß und von der zuständigen Behörde geschult wurde (§22a FIHG). Nach KUJAWSKI (2007) wurden hiermit unqualifizierte und ungenügend ausgebildete Jagdscheininhaber zu amtlichen Fleischkontrolleuren für Haar- und Federwild.

EU-Verordnungen

Mit der Einführung Verordnung (EG) Nr. 178/2002 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 28. Januar 2002 zur Festlegung der allgemeinen Grundsätze und Anforderungen des Lebensmittelrechts, zur Errichtung der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit und zur Festlegung von Verfahren zur Lebensmittelsicherheit (EG Lebensmittel-Rahmen-Verordnung, VO (EG) 178/2002) zum 1. Januar 2005 wurde der Jäger einem Lebensmittelunternehmer gleichgestellt. Sein Jagdrevier wurde zum Lebensmittelunternehmen. Das sogenannte "EU-Hygienepaket" mit den VO (EG) 852/2004, VO (EG) 853/2004, VO (EG) 854/2004, eingeführt am 1. Januar 2006, verstärkte noch die neuen Verpflichtungen der Jäger. So muss nun jeder Jäger, der Haarwild ohne innere Organe an einen Wildverarbeitungsbetrieb abgibt, im Sinne der VO (EG) 853/2004 als kundige Person qualifiziert sein. Des Weiteren muss jeder, der Wildbret in den Verkehr bringt im Sinne der VO (EG) 852/2004 als Wildvermarkter registriert sein und ebenfalls die Qualifikation der kundigen Person nachweisen.

Die kundige Person

Anhang III der Verordnung (EG) Nr. 853/2004 des europäischen Parlaments und des Rates vom 29. April 2004 mit spezifischen Hygienevorschriften für Lebensmittel tierischen Ursprungs (VO (EG) 853/2004) führt den Begriff der „kundigen Person“ ein. Hiernach ist dies eine Person einer Jagdgesellschaft, die auf dem Gebiet der Wildpathologie und der Produktion und Behandlung von Wildbret geschult ist. Die kundige Person hat die Pflicht das erlegte Stück Wild vor Ort auf das Vorhandensein von auffälligen Merkmalen, Verhaltensstörungen und den Verdacht auf Umweltkontaminationen zu untersuchen und ihr Nichtvorhandensein in einer mit einer Nummer versehenen Erklärung (Wildursprungsschein plus Wildmarke) schriftlich zu bestätigen. Die Erklärung beinhaltet den Erlegungsort, das Erlegungsdatum und den Erlegungszeitpunkt und wird dem Wild für die Anlieferung im Wildverarbeitungsbetrieb beigelegt.

Das Beilegen eines Wildursprungsscheines macht das Vorlegen von Kopf und Eingeweiden bei dem Zerlegungsbetrieb unnötig. Nur bei Tieren, die der Trichinenuntersuchung unterliegen, muss der Kopf ohne Hauer und das Zwerchfell beim Tier verbleiben. Auch müssen der Kopf und alle Eingeweide, außer des Magen-Darm-Traktes, beim Tier verbleiben, wenn die kundige Person keinen Wildursprungsschein aufgrund des Vorliegens von bedenklichen Merkmalen ausgefüllt hat. Die kundige Person muss die zuständige Behörde über die Art der bedenklichen Merkmale informieren.

Die kundige Person ist nur dann erforderlich, wenn Kleinwild oder Haarwild in der Decke (Haarkleid) ohne Kopf und ohne rote Organe in einen zugelassenen Wildverarbeitungsbetrieb zum In-Verkehr-Bringen verbracht werden soll. Soll das Wildbret für den privaten Gebrauch verwendet werden ist die Anwesenheit einer kundigen Person keine Pflicht. Auf europäischer Gesetzesebene trifft dies auch auf die Abgabe einer kleinen Menge Wild zu. Nach nationalem deutschem Recht muß jedoch auch bei Abgabe einer kleinen Menge das erlegte Wild von der kundigen Person begutachtet werden.

Die Entwürfe der nationalen Durchführungsverordnungen zum EU-Hygienepaket bescheinigen jedem Jagdscheininhaber den Nachweis der kundigen Person, solange die Jagdprüfung nach dem 1. Februar 1987 abgelegt wurde. Die Ausführung der Schulung der „Altjäger“ liegt bei dem Deutschen Jagdschutz Verband

(DJV) und somit auch bei den Landesjagdverbänden. Der Begriff „kleine Menge“ wird wie auch schon in der Allgemeinen Verwaltungsvorschrift über die Durchführung der amtlichen Überwachung nach dem Fleischhygienegesetz und dem Geflügelfleischhygienegesetz (AVVFIH) als die Menge eines Jagdtages bezeichnet.

Bedenkliche Merkmale

Die Fleischuntersuchung in dem zugelassenen Wildverarbeitungsbetrieb obliegt laut Verordnung (EG) Nr. 854/2004 Anhang I des europäischen Parlaments und des Rates vom 29. April 2004 für die amtliche Überwachung von zum menschlichen Verzehr bestimmten Erzeugnissen tierischen Ursprungs (VO (EG) 854/2004) dem amtlichen Tierarzt. Hierbei hat der Tierarzt unter Berücksichtigung des Wildursprungscheins insbesondere sowohl auf Anomalien zu achten, die nicht von der Jagd herrühren, als auch auf Anzeichen, die einen anderen Tod des Tieres als durch jagdliches Erlegen vermuten lassen. Des Weiteren muss der Tierarzt das Wildbret auf bedenkliche Merkmale untersuchen. Dies sind Merkmale, die für den Verbraucher nach dem Verzehr gesundheitlich bedenklich sein könnten. Hierzu gehören unter anderem abnorme Verhaltensweisen und Störungen des Allgemeinbefindens, generalisierte Tumore und Abszesse, Arthritis, Orchitis und pathologische Veränderungen von Leber und Milz, Parasitenbefall u.v.m.. BRANDES et STOLLE (1988) beschreiben einfach durchzuführende Tests zur Feststellung der Fleischqualität bei erlegtem Haarwild. Eine Auflistung der bedenklichen Merkmale sowie das ordnungsgemäße Vorgehen des amtlichen Tierarztes bei der Fleischuntersuchung des Wildbrets freilebenden Wildes ist in VO (EG) 854/2004 Anhang I aufgelistet.

1.3 Konsum Wildfleisch

Der pro Kopfverzehr an Wildfleisch liegt in Deutschland bei ca. 0,8 Kilogramm. Dies macht bei einem gesamten Fleischverzehr von ca. 61 Kilogramm pro Kopf 1,3 Prozent an dem Gesamtfleischverzehr in Deutschland aus (BAUER 2006).

Um den Bedarf an Wildbret zu decken, wurde im Jagdjahr 2005/2006 insgesamt 36.125,908 Tonnen Wild geschossen. Dies entspricht einer Gesamtstückzahl von 1.487.744. Davon waren ca. 19.000 Tonnen (461.881 Stück)

Wildschwein, ca. 11.3000 Tonnen (905.387 Stück) Rehwild und ca. 4.000 Tonnen (60.664 Stück) Rotwild (jagdonline).

2 Krankheiten des Wildes

Da innerhalb des Rahmens dieser Arbeit die Vielfalt der Erkrankungen beim Wildtier nicht besprochen werden kann, werden hier nur diejenigen bakteriell bedingten Erkrankungen aufgeführt, die am häufigsten bei Wildtieren vorkommen. Für einen umfassenden Überblick der bakteriell-, virus- und parasitenbedingten Erkrankungen wird auf die einschlägige Literatur verwiesen. Die hier verwendete Literatur entstammt, soweit nicht weitere Literaturquellen genannt werden, vollständig aus BOCH et SCHNEIDAWIND (1988), DEDEK et STEINECK (1994) und GEISEL (1995).

Nachfolgend sollen hier die Krankheiten in der Reihenfolge ihrer Häufigkeit beim Wildtier besprochen werden:

Pseudotuberkulose

Diese auch als „Nagerseuche“ bekannte Erkrankung wird durch *Yersinia (Y.) pseudotuberculosis* ausgelöst. Sie ist eine typische meist sporadisch auftretende Faktorenkrankheit und kommt bei Hasen besonders in der Zeit vom Spätherbst bis zum Frühjahr vor. Die Tiere stecken sich über kontaminierte Äsung oder kontaminiertes Trinkwasser an, was zu einem subakuten bis chronischem Krankheitsverlauf führt. Die septikämisch-akute Verlaufsform, gekennzeichnet durch den Tod der Tiere innerhalb weniger Tage, kommt seltener vor.

Der chronische Verlauf ist klinisch durch Abmagerung und Apathie der Tiere gekennzeichnet, auch Dyspnoe und Durchfall sind ein häufiges Symptom. Am erlegten Tier lassen sich erbsengroße, grau bis gelblich-weiße Knötchen mit verkästem Inhalt in Leber und Milz feststellen.

Die Pseudotuberkulose spielt eine große Rolle unter den Todesursachen der Hasen und kann unter ungünstigen Bedingungen einen seuchenhaften Charakter annehmen und zu hohen Verlusten in der Hasenpopulation führen. Aber auch für den Menschen stellt die Erkrankung der Hasen ein Infektions- und Erkrankungsrisiko dar.

Salmonellose

Besonders in der Gehegehaltung und in Tiergärten spielt diese bakterielle Zoonose eine große Rolle. Am stärksten sind Reptilien befallen, gefolgt von Vögeln und zuletzt

Säugetern. Meist ist *Salmonella typhimurium* der Erreger bei der Erkrankung der Wildtiere. Bei Vögeln ist die Erkrankung auch als „weiße Kükenruhr“ oder „Hühnertyphus“ bekannt und wurde beim jagdbaren Federwild bei Fasan, Wachtel, Birk- und Auerwild und Ente nachgewiesen.

Die Ausscheidung des Erregers erfolgt mit der Losung, über die Eier und bei der Taube mit der Kropfmilch. Auch genitale Übertragungen sind bekannt. Nach oraler Aufnahme des Bakteriums über verunreinigtes Futter oder Oberflächenwasser ist der Ausbruch der Erkrankung von der Virulenz des Erregers und von der Konstitution des Tieres abhängig. Klinisch ist die Krankheit durch heftige Durchfälle gekennzeichnet. Beim Federwild ist eine nervöse Form mit Haltungs- und Bewegungsstörungen beschrieben. Verläuft die Erkrankung akut, sterben die Tiere innerhalb weniger Tage. Beim chronischen Verlauf kommt es zu einer längeren Zeit des Kümmerens mit anschließendem Tod. Die Veränderung an den inneren Organen zeigt sich in einer Magen-Darmentzündung.

Staphylokokkose

Staphylococcus (S.) aureus, der Erreger der Staphylokokkose, besiedelt bei gesunden Hasen Haut und Schleimhäute und ist zudem in der Natur weit verbreitet. Es handelt sich meist um eine Einzeltierererkrankung, die aber auch den Menschen und Haustiere befallen kann.

Die Ansteckung erfolgt oral über kontaminierte Äsung oder perkutan, wobei der perkutanen Infektion die größere Rolle zukommt. Die kutane Infektion erfolgt über Insektenstiche, insbesondere durch Flohbisse, oder über Biss-, Kratz- oder Reißwunden, über welche der Erreger in die Haut eindringt. Ein Ausbruch der Erkrankung ist zum einen von der Virulenz des Erregers und zum anderen von der Konstitution des Tieres abhängig. Bricht die Erkrankung aus, äußert sie sich klinisch in einem chronischen Verlauf, der von multiplen Abszessen in der Haut, in der Muskulatur und in den inneren Organen gekennzeichnet ist. Die Tiere verenden an Abmagerung und Schwäche. Beim selten vorkommenden septikämischen Verlauf sterben die Tiere innerhalb weniger Tage.

Eine besondere Verlaufsform der Infektion mit *S. aureus* stellt das „böartige Ekzem“ dar, das als eitrige Haarbalgentzündung (Akne) an den Sohlenflächen auftritt und im weiteren Verlauf tiefgehende Nekrosen bildet.

Tularämie

Die auch als „Nagerpest“ bekannte Erkrankung wird von *Francisella (F.) tularensis* verursacht und hat ihre Bedeutung in der Ansteckungsgefahr für den Menschen. Die Tularämie ist generell eine Erkrankung der Hasenartigen (Lagomorpha) und Nagetiere (Rodentia), wobei jedoch auch Haustiere infiziert werden können.

Die Ansteckung ist über zahlreiche Wege möglich und kann über orale Aufnahme mit Kot verunreinigter Äsung oder Fressen gerissener kranker Tiere, durch direkten Kontakt von Tier zu Tier, auch über Bisse, und indirekt über blutsaugende Insekten und Parasiten erfolgen. Der Krankheitsverlauf ist in der Regel akut und endet innerhalb weniger Tage mit dem Tod des Tieres. Klinisch ist das Krankheitsbild von der auffallenden Teilnahmslosigkeit und Mattigkeit der Tiere geprägt. Besonders auffallend ist der Verlust der natürlichen Scheu gegenüber dem Mensch.

Pathologisch-anatomisch geht die Krankheit mit einer Schwellung und Hyperämie der Lymphknoten und der Milz einher.

Insbesondere für Hunde-führende Jäger ist zu beachten, dass der Hund für die Infektion mit *F. tularensis* empfänglich ist, und diese Infektion beim Hund der einer Staupeinfektion ähnelt.

Pasteurellose (hämorrhagische Septikämie, Hasenseuche)

Ein Ausbruch der Infektion mit *P. multocida* wird bei den Hasenartigen wie auch bei den Wildwiederkäuern durch Äsungsmangel, feucht-kalte Witterung und Parasitenbefall begünstigt. Die Erkrankung verläuft nach Ansteckung über kontaminierte Äsung oder Nasensekret fast immer hochakut und führt binnen 12 bis 48 Stunden zum Tod. Ihr seuchenhaftes Auftreten führt in Hasenpopulation zu Verlusten von bis zu 80%. Meist jedoch erlischt die Seuche bei Besserung der Umweltbedingungen, wie trockenes, warmes Wetter und ausreichender Äsung von selbst.

Pathologisch-anatomisch äußert sich die Septikämie in einer hämorrhagischen Laryngotracheitis, Petechien auf den Schleimhäuten und in einer vergrößerten Milz. Beim subakuten Verlauf sind die Veränderungen deutlicher ausgeprägt. Es zeigt sich eine eitrig Bronchopneumonie sowie fibrinöse Pleuritis und Perikarditis.

Brucellose

Da die Brucellose seit Jahrzehnten bekämpft wird und daher weitgehend ausgerottet ist, ist die Prävalenz der Erkrankung bei Hausschweinen weltweit gering. Nur in Südostasien und Südamerika ist die Prävalenz bei Hausschweinen noch hoch. Jedoch besteht in Deutschland für die Infektion mit *Brucella (B.) suis*, *B. melitensis* und *B. abortus* Anzeigepflicht, nicht zuletzt weil sie einen zoonotischen Charakter besitzt, sondern auch aus ökonomischen und seuchenrechtlichen Gründen die Nutztierbestände betreffend.

Das Bakterium *B. suis* hat 3 Biovare. Die Biovare 1 und 3 kommen in Amerika und Australien bei verwilderten Schweinen vor, während Biovar 2 ausschließlich in Europa bei Wildschweinen vorkommt (GODFROID 2002), jedoch auch auf den europäischen Feldhasen übertragen werden kann. Es wird vermutet, dass dieser das Reservoir der Brucellose in Europa bildet. Nichts desto trotz können Infektionen mit Biovar 2 beim Wildschwein ohne Anzeichen klinischer Symptome bei einem hohen Prozentsatz dieser Tiere bakteriologisch nachgewiesen werden. Der Grund hierfür liegt entweder in der weniger ausgeprägten Pathogenität des Biovars für Wildschweine oder an der fehlenden Forschungsarbeit bezüglich des Infektionsgeschehens beim Wildschwein.

Die Ansteckung erfolgt über kontaminierte Äsung, Abortmaterial, über den Geschlechtsakt, durch den Saugakt, aber auch konjunktival und perkutan. Die Krankheit kann in einer septikämischen und in einer chronischen Form verlaufen, wobei letztere die Regel ist. Die Tiere zeigen hierbei meist keine klinischen Veränderungen und einen guten Ernährungszustand und sind nicht als krank anzusprechen. Dies ist insofern von Bedeutung, als dass der Mensch ebenfalls an Brucellose erkranken kann. Erst im fortgeschrittenen Stadium treten Lahmheiten bedingt durch Gelenkentzündungen auf, und die Tiere sind zunehmend geschwächt. Am erlegten Tier fallen graue bis gelbe, abgekapselte, eitrig-nekrotisierende Knoten an den Geschlechtsorganen, der Leber, der meist vergrößerten Milz, dem Gesäuge und den Lymphknoten auf. Klinisch zeigen Bachen Aborte und chronische Entzündungen des Uterus (Tracht), während es bei Keilern zu entzündlichen Schwellungen des Hodens und des Nebenhodens kommt.

Gamsblindheit (infektiöse Keratoconjunctivitis der Gemse)

Die infektiöse Keratoconjunctivitis (IKC) stellt eine Erkrankung dar, die den Jäger in die Hegepflicht nimmt. Sie wurde erstmals 1916 in den österreichischen Alpen nachgewiesen, wird von *Mycoplasma (M.) conjunctivae* verursacht und ist eine bei Schaf und Ziege weltweit verbreitete Erkrankung der Augen. In den europäischen Alpen tritt IKC auch bei anderen, wildlebenden Tieren der Spezies Caprina auf, insbesondere bei Gams und Steinbock.

Die Infektion mit *M. conjunctivae* äußert sich in einer Entzündung der Bindehäute und der Hornhaut, die zu einer reversiblen Erblindung der Tiere führt. Bei schweren Erkrankungsfällen kann es zum Hornhautulkus mit anschließender Perforation der Hornhaut kommen, was in einer irreversiblen Erblindung der Tiere endet. Die Mortalitätsrate unter Gamsen und Steinböcken wird mit 5% angegeben (GAUTHIER 1991), wobei hauptsächlich Kitze erkranken, sie kann aber auch auf 30% steigen (DEGIORGIS et al. 2000, GIACOMETTI et al. 2002). Die Todesfälle resultieren nicht primär aus der Infektion mit *M. conjunctivae*, sondern vielmehr aus der Erblindung, die die Tiere in alpinem Gebiet verunglücken lässt.

Die Ansteckung erfolgt über direkten Kontakt mit Augensekret oder über Aerosol insbesondere im Sommer und Herbst bei Gams und Steinbock. Auch eine Ansteckung über Fliegen wird diskutiert (DEGIORGIS et al. 1999). Schaf und Ziege erkranken vornehmlich im Winter in den Stallungen. Da es jederzeit bei nicht perforierter Hornhaut zu einer spontanen Heilung kommen kann, die Mykoplasmen wenig resistent gegenüber Umwelteinflüssen sind, und die Infektion bei den betroffenen Tieren selbstlimitierend ist, besteht keine Notwendigkeit erkrankte Tiere zu erlegen, außer wenn sie ein schlechtes Allgemeinbefinden aufweisen und das Erlegen aufgrund der Hegepflicht erfolgen muß.

Da einige bakterielle Erkrankungen beim Wildtier aufgrund ihres zoonotischen Charakters eine Gefahr für den Menschen darstellen, werden an dieser Stelle die wichtigsten Zoonosen erwähnt:

Milzbrand

Diese seit dem Altertum bekannte anzeigepflichtige Tierseuche wird durch *Bacillus (B.) anthracis*, einem fakultativ anaerobem Bakterium, hervorgerufen. Das Bacillus bildet außerhalb des Tierkörpers unter aeroben Bedingungen und Temperaturen

zwischen +12 °C und +43 °C Sporen aus. Während das Bakterium in der Außenwelt nicht sehr widerstandsfähig ist, sind seine Sporen jedoch gegen Umwelteinflüsse sehr resistent. In allen Ländern der Erde finden sich die Sporen des Erregers bevorzugt in feuchten, sumpfigen Böden und Überschwemmungsgebieten von Flüssen und Bächen.

Die wirksame und starke Zurückdrängung der Infektion in den Haustierbeständen lässt auch beim Wild nur noch vereinzelt Infektionen zu. Aber auch die Empfänglichkeit der Tierart für die Infektion mit *B. anthracis* spielt epidemiologisch eine bedeutende Rolle. So sind Rotwild, Damwild, Elch, Reh, Ren, in Gehegehaltung Gams und Steinwild hochempfindlich, während Fuchs, Dachs, Mader, Ratte, Hund und Katze mittelgradig, und Schwarzwild und die Hasenartigen nur geringgradig empfänglich sind. Federwild gilt als fast unempfindlich für die Infektion mit *B. anthracis*.

Die Krankheit äußert sich nach einer oralen Infektion über mit Sporen verseuchtes Futtermittel, verseuchtem Erdboden oder Wasser. Die Verlaufsform ist entweder perakut oder akut. Perakut kommt es zu plötzlichem Verenden, akut zeigen die Tiere hohes Fieber, das sich in dem häufigen Aufsuchen von Wasserstellen und dem häufigen Suhlen äußert. Beim Raub- und Schwarzwild zeigt sich die seltene chronische Verlaufsform, die durch Schwellungen im Kehlkopf- und Kehlgangsbereich gekennzeichnet ist, beim Aufbrechen durch eine hyperämische Milz und dunkelroten nicht geronnenen Schweiß (Blut).

Da der Mensch eine mittelgradig hohe Empfänglichkeit für die Infektion und Erkrankung an *B. anthracis* aufweist, ist beim Aufbrechen verdächtiger Tiere größte Sorgfalt geboten. Zudem ist das Abziehen der Decke bei verendeten Tieren, sofern ein Krankheitsverdacht besteht, verboten.

Leptospirose

Meist bleiben die Wildtiere nach einer Infektion mit *Leptospira spp.* symptomfrei, beim Aufbrechen des Stückes sind jedoch ikterische Schleimhäute und Schleimhautblutungen erkennbar. Als einziges klinisches Anzeichen kommt es bei der tragenden Bache zum Verwerfen oder zur Geburt toter oder lebensschwacher Frischlinge, ohne dass sie selbst Krankheitssymptome zeigt.

Nach NEW et al. (1994) lässt eine hohe Seroprävalenz bei Wildschweinen ein Infektionsgeschehen vermuten. Leider fehlt jedoch die Literatur dazu.

Die Infektion des Tieres mit *Leptospira spp.* ist insofern von Relevanz, als dass sie einen zoonotischen Charakter besitzt und beim Aufbrechen und Versorgen des Wildes leicht auf den Jäger übergehen kann.

Listeriose

Trotz der weltweiten Verbreitung kommt die Listeriose nur sporadisch bei freilebendem Wild vor. *Listeria (L.) monocytogenes*, der Erreger der Listeriose, zeigt sich gegen Umwelteinflüsse relativ widerstandsfähig und bleibt in Fluss- und Teichgewässern jahrelang, in feuchter Erde monatelang infektiös. Nur Temperaturen über +86 °C töten es binnen weniger Minuten ab. Eine besondere Rolle im Infektionsgeschehen kommt der Verfütterung von schlecht gesäuerter Silage (pH >5) zu, da das Bakterium sich hier aufgrund seiner Resistenz gegen niedrige pH-Werte vermehren kann. Die Ausscheidung des Erregers erfolgt mit der Losung, dem Harn und mit Nasensekret. Jedoch scheint nur die Ansteckung über schlecht gesäuerte Silage gesichert.

Die Krankheit verläuft akut bis subakut und äußert sich beim Reh entweder in einer meningoencephalitischen oder in einer septikämischen Form. Beide Verlaufsformen enden in der Regel tödlich. Da die Diagnose weder in vivo noch post mortem eindeutig zu stellen ist, und differentialdiagnostisch eine Tollwuterkrankung in Betracht gezogen werden muss, ist bei Verdacht immer der Kopf des Tieres an das zuständige Untersuchungsamt einzusenden.

Bedeutend für den Menschen ist der zoonotische Charakter, der insbesondere für Schwangere und Adolescente eine Gefahr darstellt.

Botulismus

Von der Intoxikation mit den *Clostridium (C.) botulinum*-Sporen sind vorwiegend Wasservögel betroffen.

C. botulinum kommt saprophytär im Boden, im Wasser und im Darminhalt vor, wird jedoch dann gefährlich, wenn es in anaerobes Milieu mit einem neutralen oder alkalischen pH und Temperaturen um +20 °C gelangt. Hier kommt es dann zur Bildung des Toxins, welches alleine für die Erkrankung bei Tier und Mensch verantwortlich ist. Das Toxin gelangt peroral oder inhalativ in den Körper. Die

Inkubationszeit sowie der Krankheitsverlauf sind von der Menge des aufgenommenen Toxins und der Resorptionsverhältnisse abhängig. Klinisch äußert sich die Intoxikation mit Lähmung der Flügel, der Ruder bzw. der Ständer und des Halses. Die Vögel liegen mit ausgestrecktem Hals und Kopf am Boden.

3 Lebensmittelhygienisch relevante Mikroorganismen

3.1 Mikrobiologie des Fleisches

Alle Körperteile von Tieren, die mit der Umwelt unmittelbar in Kontakt stehen, und alle Organe, die in der Immunabwehr eine wichtige Rolle spielen, sind am lebenden Tier mikrobiologisch belastet. Die Muskulatur, und somit das Muskelfleisch, ist dagegen bei einem gesunden und ausgeruhten Tier keimfrei (FEHLHABER 1992, HOLZAPFEL 1996, KRÄMER 2002).

Eine Verunreinigung des Fleisches kann entweder primär oder sekundär bedingt sein. Der Großteil der mikrobiologischen Verunreinigung erfolgt auf dem sekundären Weg, bei dem das Fleisch während des Schlachtvorganges, der Fleischgewinnung und –verarbeitung mit Mikroorganismen aus seiner belebten und unbelebten Umwelt kontaminiert wird. Die primäre Kontamination ist relativ selten und hat ihren Ursprung in Erkrankungen, Resistenzschwäche oder Stress vor der Schlachtung, wodurch es zu einer Störung im Erreger-Wirt-Gleichgewicht kommt, und der Mikroorganismus nicht mehr auf seinen natürlichen Standort am Tier beschränkt bleibt. Er hat dann die Möglichkeit sich auf andere Organsysteme auszubreiten (HOLZAPFEL 1996, KRÄMER 2002).

Die qualitative und quantitative Zusammensetzung der Keimflora eines Lebensmittels ist von einer Vielzahl von Komponenten der belebten und unbelebten Umwelt abhängig. Jedoch kann für eine Lebensmittelgruppe unter Kenntnis der Herstellungstechnologie und der Eigenschaften des Lebensmittels eine Normalkeimflora, d.h. eine typische Anzahl und typische Art der Keime, festgelegt werden (THATCHER et CLARK 1975, FEHLHABER 1992, KRÄMER 2002).

Der Keimgehalt des Wildbrets bei Erlegen des Wildes ist relativ gering (LENZ 1977, HADLOK et BERT 1987, SCHERLING et RING 1989). Die Flora des Wildbrets wird jedoch durch Erlegungsart, dem Zeitpunkt und der Art des Aufbrechens, dem Transport und der Lagerung sowohl quantitativ als auch qualitativ verändert (LENZ 1977, SCHIEFER 1996). Dabei kommen vor allem, wie beim Fleisch von Schlachttieren, Mikroorganismen der Familien *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Micrococcaceae*, *Streptococcaceae* und *Bacillaceae* vor (RIEMER et REUTER 1979, SCHIEFER 1996, EUZÉBY 2007). Die quantitativen Veränderungen sind vom Anfangskeimgehalt abhängig, wobei die postmortale

Kontamination mit Mikroorganismen für die Haltbarkeit und lebensmittelhygienische Unbedenklichkeit entscheidend ist.

3.2 Einteilung

Obwohl der Einsatz von technologisch erwünschten Mikroorganismen bei Wildbret nicht von großer Bedeutung ist, war das Ziel dieser Arbeit die Erstellung mikrobiologischer Richtwerte für Wildbret. Aus diesem Grund als auch zum besseren Verständnis der folgenden Kapitel wird die Einteilung der Mikroorganismen an dieser Stelle so ausführlich aufgeführt.

3.2.1 Verderbsorganismen und technologisch erwünschte Mikroorganismen

Lebensmittel können von Mikroorganismen positiv oder negativ beeinflusst werden. Zu der ersten Gruppe gehören die Verderbsorganismen, die das Lebensmittel durch ihre Vermehrung und Enzymaktivität in Aussehen, Geruch, Geschmack und Textur derart verändern, so dass es für den menschlichen Verzehr unbrauchbar wird (FEHLHABER 1992, KRÄMER 2002, FEHLHABER 2004b).

Zur zweiten Gruppe gehören die technologisch erwünschten Mikroorganismen, sogenannte „Starterkulturen“, welche das Lebensmittel durch ihre Enzymaktivität vorteilhaft beeinflussen. Hierbei handelt es sich meist um Milchsäurebildner, Hefen und Schimmelpilze. Sie werden bei der Bierherstellung, in der Molkerei- und in der Fleischindustrie eingesetzt, um einen Herstellungsprozess zu initiieren oder zu beschleunigen (FEHLHABER 1992, KRÄMER 2002, FEHLHABER 2004b).

3.2.2 Marker-Keime

Marker-Keime, auch Indikatorkeime genannt, zeigen das mögliche Vorliegen von pathogenen Organismen oder Verderbskeimen an, und somit spezielle, hygienisch bedeutsame Sachverhalte über das untersuchte Lebensmittel (THATCHER et CLARK 1975, FEHLHABER 1992, KLEER 2004a, N.N. 2005). RICHTER (1993) definiert Indikatorkeime als Mikroorganismen, die 1) das Vorliegen eines pathogenen oder fakultativ pathogenen Toxins oder 2) das unsaubere Arbeiten während Produktion, Verarbeitung, Lagerung und Vertrieb oder aber 3) eine Produktqualität anzeigen.

Bei Verdacht auf fäkale Verunreinigung wird auf *Escherichia (E.) coli*, Enterobakteriaceen, Coliforme oder Enterokokken untersucht. Die Bestimmung der aeroben mesophilen Gesamtkeimzahl kann als ein allgemeines Maß für die Betriebshygiene benutzt werden (FEHLHABER 1992, KLEER 2004a, JORDAN et al. 2007). Das Vorliegen von *Staphylococcus* spp. und *E. coli* bei gekochten Lebensmittelprodukten indiziert eine Rekontamination durch unsauberes Arbeiten (N.N. 1985), denn beide Keime werden während des Erhitzungsprozesses abgetötet. *L. monocytogenes* wird aufgrund seines ubiquitären Vorkommens als Hygieneindikator in allen Stufen der Fleischverarbeitung genutzt (JEMMI et STEPHAN 2006). Wie hieraus ersichtlich, kann die Indikatorfunktion eines Keimes nur auf ein festgelegtes Lebensmittel bzw. einen festgelegten Prozess bezogen werden (FEHLHABER 1992, RICHTER 1993, KLEER 2004a).

Sowohl FEHLHABER (1992) als auch BAUMGART (1999) grenzen Indikatorkeime von Indexkeimen ab. Ihrer Meinung nach zeigen Indexkeime das mögliche Vorliegen von pathogenen Bakterien aus der gleichen Quelle und somit eine potentielle Gesundheitsgefährdung an.

3.2.3 Pathogene und toxinogene Mikroorganismen

Aus der Gruppe der gramnegativen Bakterien gehören die Salmonellen, Shigellen, *Y. enterocolitica*, *Y. pseudotuberculosis*, enterovirulente *E. coli*, andere Enterobakteriaceen, *Campylobacter* und *Pseudomonas (P.) aeruginosa* zu den pathogenen Mikroorganismen, wobei die beiden letztgenannten zu den Opportunisten gezählt werden (BAUMGART 1999).

S. aureus, *L. monocytogenes*, *Bacillus (B.) cereus* und andere Bazillen, *C. perfringens* und *C. botulinum*, sowie Enterokokken gehören zu den grampositiven pathogenen Keimen (BAUMGART 1999).

Diese Mikroorganismen können durch den Verzehr von Lebensmitteln Erkrankungen auf den Menschen übertragen, was umgangssprachlich als Lebensmittelvergiftung bezeichnet wird.

3.2.4 Untersuchte Mikroorganismen

3.2.4.1 Aerobe mesophile Keimzahl

Lebensmittel mit einer hohen Gesamtkeimzahl gelten im Allgemeinen als ungesund, auch wenn das Lebensmittel organoleptisch keine Veränderungen aufweist. Hohe Gesamtkeimzahlen weisen auf kontaminiertes Ausgangsmaterial, unsauberes Arbeiten, ein schlechtes Zeit/Temperatur-Verhältnis und auf beginnenden Verderb ($>10^7$ Keime/g Fleisch) hin (THATCHER et CLARK 1975). Die meisten pathogenen Bakterien wachsen optimal in einem Temperaturbereich zwischen +15 °C und +45 °C. Somit begünstigen solch mesophilen Temperaturverhältnisse das Vorkommen pathogener Bakterien (THATCHER et CLARK 1995, FEHLHABER 2004).

Die Bestimmung der mesophilen Gesamtkeimzahl ermöglicht somit ohne großen Aufwand einen guten Einblick in den Qualitätsstatus eines Lebensmittels.

3.2.4.2 Milchsäurebakterien

Die Gruppe der Milchsäurebakterien fasst eine morphologisch uneinheitliche Gruppe aus grampositiven, katalasenegativen und bei der Gärung Milchsäure bildenden Bakterien zusammen. Dazu gehören die Genera *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Oenococcus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Tetragenococcus*, *Enterococcus* und *Carnobacterium* (BAUMGART 1995, KRÄMER 2002).

Ihr natürlicher Standort ist die Pflanze, der Darm und die Schleimhäute von Tier und Mensch. Sie spielen als Starterkulturen und beim Verderb zahlreicher Lebensmittel wie Fleisch, insbesondere vakuumverpackte Fleischerzeugnisse, Fisch, Milchprodukten, Gemüse- und Fruchterzeugnissen eine wichtige Rolle wie dies in Kapitel **Verderbsorganismen und technologisch erwünschte Mikroorganismen** dargestellt ist.

3.2.4.3 Enterobakteriazeen

Die Familie der Enterobakteriazeen beinhaltet neben den obligat pathogenen Gattungen und Arten *Salmonella*, *Shigella*, *Y. enterocolitica*, *Y. pseudotuberculosis* und Shiga toxin bildende *E. coli* (STEC) die große Gruppe der fakultativ pathogenen Gattungen wie *Escherichia*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Proteus*, *Providencia*, *Edwardsiella*, *Hafnia*, *Pragia* u.a. (BAUMGART 1995, KRÄMER 2002).

Sie haben alle gemeinsam, gramnegative, oxidase-negative Stäbchen zu sein, die Glucose fermentieren und Nitrat zu Nitrit reduzieren. Ihr natürlicher Standort ist der Darmtrakt von Mensch und Tier, wobei einige Vertreter auch im Erdboden, im Wasser und auf Pflanzen vorkommen.

Das Vorkommen von Enterobakteriäzen in Wildbret deutet auf unsauberes Arbeiten während des Aufbrechens hin. So kommt es zu einem vermehrten Anstieg dieser Mikroorganismen, wenn das erlegte Wild entweder an einem ungeeigneten Ort aufgebrochen und dort mit Erde und Sand kontaminiert wird, oder das Wildbret mit Eingeweideinhalt verschmutzt, und dies dann mit Laub oder Gras entfernt wird, oder das Stück nicht ausreichend auskühlen kann (SCHIEFER 1996). Es ist zu bedenken, dass das Auswischen des erlegten Stückes mit Laub oder Gras den Keimgehalt zusätzlich erhöht. KNIEWALLNER (1969) postulierte einen Zusammenhang zwischen einer hohen aeroben Keimzahl (10^8 Keime/g) und einer hohen Anzahl an Coliformen und Enterokokken bei Oberflächenproben von erlegtem, freilebendem Wild.

Für die Lebensmittelhygiene ist der Nachweis der Enterobakteriäzen bedeutend, da auch Stämme von *E. coli* nachgewiesen werden. *E. coli* ist maßgebend an Lebensmittelinfektionen, wie zu einem späteren Zeitpunkt detailliert besprochen, beim Menschen beteiligt.

3.2.4.4 Pseudomonaden

Die gramnegativen, katalase- und oxidase-positiven und obligat aeroben Bakterien kommen im Darmtrakt und auf den Schleimhäuten von Mensch und Tier, auf Pflanzen, im Wasser, in Kosmetika und in Lebensmitteln vor. Sie führen zum Verderb von Lebensmitteln und Kosmetika, zu Wundinfektionen mit typischem blaugrünem Eiter und zu Brechdurchfällen nach oraler Aufnahme bei Kindern (BAUMGART 1995, KRÄMER 2002, ROLLE et MAYR 2002). Das Bakterium zeigt ein psychrotrophes Wachstumsverhalten. Dies bedeutet, dass das Bakterium bei Temperaturen von +2 °C bis +37 °C optimal wächst und sich somit auch im Kühlschrank vermehren kann.

Beim Wildbret sind Pseudomonaden neben *Aeromonas* und *Achromobacter* für die Oberflächenfäulnis verantwortlich (SCHIEFER 1996).

Die humanmedizinisch bedeutsamste Art ist *P. aeruginosa*, die aufgrund ihrer ausgeprägten Resistenz gegen viele Antiinfektiva und Desinfektionsmittel das am meisten gefürchtete Bakterium in Krankenhäusern ist (RKI 2002a).

3.2.4.5 *Escherichia coli*

Im Darmtrakt von Mensch und Tier gilt *E. coli* als Kommensale; kommt der Keim jedoch außerhalb des Darmtraktes vor, ist dies ein Hinweis auf fäkale Verunreinigung, weshalb der Keim als Indikator für fäkale Verunreinigung genutzt werden kann (DOYLE et PADHYE 1989, BAUMGART 1995, KRÄMER 2002, ROLLE et MAYR 2002).

E. coli ist ein fakultativ pathogener Keim, der bei Resistenzminderung und prädisponierten Gruppen wie Säuglingen und alten Menschen eine Entzündung der Harnorgane, des Gehirns, der Lunge oder eine Sepsis verursachen kann. Bestimmte Stämme besitzen die Fähigkeit Enteritiden auszulösen. Diese werden anhand ihrer Virulenzfaktoren und Pathogenesemechanismen in sieben verschiedene Gruppen eingeteilt, von welchen vier lebensmittelhygienisch relevant sind (DOYLE et PADHYE 1989, BAUMGART 1995, KRÄMER 2002, ROLLE et MAYR 2002):

1. Enteroinvasive *E. coli* (EIEC) verursachen ruhrähnliche Durchfälle, indem sie – gleich *Shigella spp.* - in die Epithelzellen der Dünndarmschleimhaut eindringen, sich darin vermehren und die Darmzellen danach abtöten.
2. Enterotoxische *E. coli* (ETEC) produzieren zwei Enterotoxine, ein thermolabiles (LT) und ein thermostabiles (ST), die dem Cholera toxin ähnlich sind, weshalb auch das Krankheitsbild dem der Cholera mit wässrigen Durchfällen, Fieber und abdominalen Krämpfen gleicht (DOYLE et PADHYE 1989, KRÄMER 2002). Zur Erkrankung kommt es durch orale Aufnahme fäkal kontaminierter Lebensmittel und Trinkwasser.
3. Enteropathogene *E. coli* (EPEC) verursachen Gewebeschäden, die sogenannten Attaching-and-effacing-Läsionen. In Entwicklungsländern sind sie der Auslöser von Durchfällen bei kleinen Kindern (NAYLOR et al. 2005).
4. Enterohämorrhagische *E. coli* (EHEC) produzieren das Shigatoxin und stellen eine Untergruppe der Shigatoxin-bildenden *E. coli* (STEC) dar. Die Bezeichnung STEC statt EHEC wird momentan international bevorzugt, wobei in Deutschland bisher die Bezeichnung EHEC verwendet wurde (RKI 2004). STEC weist eine ausgeprägte

Resistenz gegenüber Umwelteinflüssen auf und verursacht beim Menschen eine Vielzahl von Krankheitsbildern, zu welchen die hämorrhagische Colitis, das hämolytisch-urämische Syndrom (HUS) und die thrombotisch-thrombozytopenische Purpura (TTP) gehören. Diese Krankheitsbilder werden in einem späteren Kapitel dargestellt. Es ist nicht bekannt, was einen STEC zum EHEC macht, weshalb alle isolierten STEC als potenzielle EHEC anzusehen sind (LEHMANN et al. 2006).

Das Reservoir für STEC in der Tierpopulation stellen symptomlos infizierte Wiederkäuer und Wildwiederkäuer, die den Erreger ausscheiden, dar (THOMS 1999, ELDER et al. 2000, FISCHER et al. 2001, HANCOCK et al. 2001, BÜLTE 2002, DUNN et al. 2004, RKI 2004, NAYLOR et al. 2005, LEHMANN et al. 2006). Während STEC für adulte Tiere apathogen ist, ruft es bei neugeborenen Tieren in der ersten Lebenswoche leichte Durchfälle mit etwas Blutbeimengungen hervor (NAYLOR et al. 2005). So konnten PAULSEN et al. (2003) bei 100 Wischtupferproben von Rehwild 76 positive auf *E. coli* finden, während WAHLSTRÖM et al. (2003) in insgesamt 791 Wildtierkotproben nur 1 positive Probe finden konnten. Auch LILLEHAUG et al. (2005) isolierten STEC aus 2 Kotproben von insgesamt 618 freilebenden Wildtieren. ASCHFALK et al. (2003) konnten jedoch nur eine STEC-positive Kotprobe isolieren, und diese stammte von Farmwild.

3.2.4.6 Listeria monocytogenes

L. monocytogenes ist ein gram-positives, fakultativ anaerobes, bei Raumtemperatur peritrich begeißeltes, nicht sporenbildendes Bakterium, das eine erstaunlich hohe Resistenz gegenüber Umwelteinflüssen zeigt. So wächst es optimal bei +30-37 °C, kann sich jedoch schon ab 0 °C vermehren; erst Temperaturen ab -18 °C machen eine Vermehrung unmöglich. Genauso weit angelegt ist der pH-Bereich: der Erreger kann zwischen pH 4,5 und pH 9,0 wachsen (BAUMGART 1999, KRÄMER 2002). Des Weiteren zeigt er eine ausgeprägte Salzresistenz.

Der Erreger ist weltweit ubiquitär verbreitet. So wurde er aus dem Erdboden, aus Pflanzen, insbesondere aus verwelkten, aus modrigen Futterresten von Wildtieren, aus Abwässern und Trinkwasser, aus frischem und gefrorenem Fleisch, aus Schlachthofabfällen und dem Kot gesunder und aus dem Fleisch erlegter Wildtiere isoliert (WEIS et SEELIGER 1975, HATKIN et al. 1986, YOSHIDA et al.

2000, HAYASHIDANI et al. 2002, N.N. 2003, McLAUHLIN et al. 2004, JEMMI et STEPHAN 2006).

Eine besondere Infektionsgefahr für den Menschen birgt das Ausbringen von frischem oder unbehandeltem Dung, da *L. monocytogenes* bis zu 6 Monate darin überlebt. Dies war der Grund für 41 Krankheitsfälle mit 18 Toten im Jahr 1981 in Nova Scotia, Kanada. Alle Erkrankten hatten Krautsalat gegessen, der von einem Feld stammte, das mit Dung von mit *L. monocytogenes*-infizierten Schafen behandelt war (N.N. 1992, IVANEK et al. 2006).

In Schlachthöfen und in fleischverarbeitenden Betrieben kann sich der Erreger endemisch ausbreiten, da er Geräte und Wände mit einem Biofilm überzieht, und sich dort aufgrund seiner ausgeprägten Resistenzen vermehren und überleben kann (GOBAT et JEMMI 1990, JEMMI et STEPHAN 2005, IVANEK et al. 2006).

Tiere infizieren sich, wie zuvor aufgeführt, meist über die Aufnahme von unzureichend gesäuerter Silage (ROLLE et MAYR 2002, IVANEK et al. 2006, JEMMI et STEPHAN 2006).

3.2.4.7 Staphylococcus aureus

Das grampositive, aerob wachsende Bakterium trägt seinen Namen aufgrund der charakteristischen Zellenanordnung in Traubenform. Das Wort „staphylé“ kommt aus dem Altgriechischen und bedeutet Weintraube.

Das Bakterium ist ein Schleimhaut- und Hautparasit bei Mensch und Tier. Beim Tier ist es der Erreger von Eiterungsprozessen, Abszessen, Mastitiden und sporadischen Aborten (ROLLE et MAYR 2002). Einige *S. aureus*—Stämme besitzen die Fähigkeit Enterotoxine (Enterotoxine A-F) zu bilden. Diese können Bedingungen widerstehen, die das Bakterium selbst schnell abtöten. Dies wären z.B. niedrige pH-Werte, hohe Salzkonzentrationen und niedrige Wasseraktivität (LELOIR 2003). Der optimale Wachstumsbereich des Erregers liegt bei Temperaturen zwischen +6 °C und +46 °C, der Temperaturbereich für die Toxinbildung bei +10 °C und +45 °C und der pH-Bereich, der noch immer einer Vermehrung des Erregers ermöglicht, zwischen 4,2 und 9,3 (BAUMGART 1999, LELOIR 2003). Die Enterotoxine sind äußerst hitzeresistent und werden bei der Pasteurisierung und bei den üblichen Kochtemperaturen nicht abgetötet. Erst Temperaturen über +100 °C, wie sie bei der

Sterilisation von Vollkonserven üblich sind, inaktivieren das von *S. aureus* gebildete Enterotoxin (BÜLTE 2004d).

Aufgrund seines ubiquitären Vorkommens und seines Parasitismus auf Haut und Schleimhaut ist der Keim auch im Fell und in der Mukosa des Nasen-Rachen-Raumes aller Wildtiere nachweisbar. So isolierten ADEKEYE (1980) und POUTREL et SUTRA (1993) aus dem Kot und Nasenabstrich von Kaninchen, Pferd und Geflügel enterotoxinogene *S.aureus*-Stämme, während PLOMMET et WILSON (1969) diese aus den Nasenabstrichen von wildlebenden Füchsen, Bibern, Nerzen und Waschbären isolierten. Auch VALLE et al. (1990) isolierte enterotoxinogene *S. aureus*-Stämme aus Proben entnommen von der Nasenschleimhaut, der Achselhaut, der Euterhaut und der Zitze von 133 gesunden laktierenden Ziegen.

3.2.4.8 Salmonella spp.

Zur Gattung *Salmonella* gehören die Species *S. enterica* und *S. bongori*. *S. enterica* besteht aus 6 Subspecies und 2500 Serovaren, welche anhand des Kaufmann-White-Schemas bestimmt werden (TINDALL et al. 2005). Im Interesse einer vereinfachten Nomenklatur wurde sich darauf geeinigt, nur für die Serovare von *S. enterica* spp. *enterica* eigene Namen zu verwenden, während für alle anderen die Antigenformeln angegeben werden (ROLLE et MAYR 2002). Zur Vermeidung von unübersichtlichen Wortbildungen durch Angabe der Spezies, Subspezies und Serovarbezeichnung wird die Spezies in kursiv (*Salmonella*) und das Serovar in Normalschrift mit großem Anfangsbuchstaben angegeben (Typhimurium) (ROLLE et MAYR 2002, KLEER 2004b).

Salmonella spp. gehört zu den gramnegativen, fakultativ anaeroben Bakterien und weist eine hohe Resistenz gegenüber Umwelteinflüssen auf. So kann es sich in einem Temperaturbereich zwischen +7 °C und +47 °C und bei einem minimalen pH-Wert von 4,1 vermehren.

Das Habitat von *Salmonella* spp. ist der Darmtrakt von Mensch und Tier. Während *S. bongori* und die meisten Subspezies von *S. enterica* vorwiegend bei Kaltblütlern vorkommen, ist *S. enterica* spp. *enterica* an Warmblütler adaptiert. Obwohl der Erreger bei Tieren meist Enteritiden und Septikämien auslöst, scheidet eine Vielzahl von Tieren den Krankheitserreger symptomlos aus. Die genaue Durchseuchungsrate innerhalb der verschiedenen Tierarten und in der Umwelt kann

jedoch aufgrund der wenig sensitiven Nachweismethoden nicht genau angegeben werden (ROLLE et MAYR 2002, RENTER et al. 2006). Untersuchungen von REFSUM et al. (2002) in Norwegen ergaben zumal, dass Sperlinge und Möwen ein Reservoir für *S. Typhimurium* darstellen. Sowohl CRAVEN et al. (2000) bei Untersuchungen in Amerika als auch WHALSTRÖM et al. (2003) bei Untersuchungen in Schweden konnten Wildvögel ebenfalls als Reservoir feststellen. Ein weiteres Reservoir in Igeln konnten HANDELAND et al. (2002) in Norwegen nachweisen. KANAI et al. (1997) untersuchten in Japan 93 Wildschweinefleischproben aus dem Supermarkt auf das Vorliegen von *Salmonella* spp., wobei sie 2 positive Proben isolieren konnten. ASCHFALK et THÓRISSON (2004) gelang der Antikörpernachweis bei 2 Blutproben von 59 ausgewachsenen, freilebenden Rentieren in Island. Weitere Untersuchungen auf das Vorkommen von *Salmonella* spp. im Kot von 500 freilebenden Weißwedelhirschen in Amerika ergaben 5 positive Proben (RENTNER et al. 2006), während in Skandinavien keine positive Probe bei Cerviden gefunden wurde (ASCHFALK et al. 2003, WAHLSTRÖM et al. 2003, LILLEHAUG et al. 2005). Auch RIEMER et REUTER (1979) konnten keine Salmonellen nachweisen. Die meisten positiven Kotproben wiesen SATO et al. (2000) bei einem Rudel Sikawild nach. Das Rudel wurde in einem Park gehalten und war klinisch erkrankt.

3.2.4.9 Clostridium perfringens

Das grampositive, unbewegliche, unter anaeroben Bedingungen sporenbildende Bakterium ist in der Umwelt weitverbreitet. So ist es im Erdboden ein fester Bestandteil des Verwesungsprozesses, kann jedoch auch aus Wasser, Staub, rohem Fleisch und anderen Lebensmitteln und aus dem Darmtrakt von Mensch und Tier isoliert werden (GRANUM 1990, BRYNESTAD et GRANUM 2002, ROLLE et MAYR 2002).

Sein Wachstumsbereich liegt zwischen +15 °C und +50 °C bei einem pH-Wert von mindestens 4,5 (BAUMGART 1999). Die bei der Sporulation gebildeten Enterotoxine (A-E) sind für die verschiedenen Krankheitsformen beim Mensch und Tier verantwortlich.

ASCHFALK et al. (2002) postulieren, dass *C. perfringens* Teil der Normalflora beim Rentier ist. So konnten die Autoren sowohl im Jahr 2002 den Erreger aus

Kotproben als auch im Jahr 2003 aus Kadavern von freilebenden Rentieren in Norwegen isolieren (ASCHFALK et al. 2002, 2003). Während auch SIPO et al. (2003) der Nachweis im Kot vom europäischem Rentier gelang, konnte KNIEWALLNER (1969) bei seinen Untersuchungen das Bakterium aus handelsüblichem Wildfleisch isolieren. EMBURY-HYATT et al. (2005) und DELGER et al. (2006) konnten *C. perfringens* aus plötzlich verstorbenen Rehen isolieren, einen Zusammenhang zwischen Haltungsmanagement und Erkrankung jedoch nicht herstellen. Den vermehrt auftretenden Enterotoxämien mit Todesfolge, ausgelöst durch *C. perfringens* bei Rehen sowohl in freier Wildbahn als auch in Gehegehaltung, kann daher bis heute nicht präventiv entgegengetreten werden.

3.2.4.10 Campylobacter spp.

Die Gattung *Campylobacter* nimmt in der Gruppe der enteropathogenen Keime eine Sonderstellung ein. Während die meisten enteropathogenen Keime eine hohe Resistenz gegenüber Umwelteinflüssen aufweisen, ist *Campylobacter* spp. gegenüber diesen sehr anfällig. So wächst das gramnegative Bakterium optimal unter mikroaerophilen Bedingungen, d.h. bei einem 5%igem Sauerstoffgehalt, und bei Temperaturen von +42-+45 °C (STERN et KAZMI 1989, PARK 2002). Temperaturen jedoch weniger als +30 °C machen eine Vermehrung unmöglich, weshalb *Campylobacter* spp. nicht in Lebensmitteln während der Herstellung oder des Lagerns wächst (STERN et KAZMI 1989, PARK 2002). Im Gegenzug töten hohe Temperaturen, wie sie z.B. beim Pasteurisieren und Kochen entstehen, den Erreger ab (STERN et KAZMI 1989). Ebenso inaktivieren Salzkonzentrationen von nur 2% und eine trockene Oberfläche *Campylobacter* spp..

Die häufigsten Infektionsquellen für den Menschen sind rohes oder nicht ausreichend erhitztes Fleisch, insbesondere von Geflügel, des weiteren nichtpasteurisierte Milch und verunreinigtes Trinkwasser. Aber auch der intensive Kontakt mit Geflügel kann zu einer Infektion führen, da die Tiere *Campylobacter* spp. als Kommensale in ihrer Darmflora beherbergen (STERN et KAZMI 1989, WAHLSTRÖM et al. 2003, BÜLTE 2004a). Nach PARK (2001) und BÜLTE (2004a) kann auch der Kontakt mit infizierten Haus- und Wildtieren zu einer Infektion führen. So konnte bei Untersuchungen in Skandinavien und Australien vereinzelt *Campylobacter* spp. aus dem Kot von gesunden und erkrankten Rentieren isoliert

werden (HILL et al. 1987, HÄNNINEN et al. 2001, LILLEHAUG et al. 2005). Im Gegensatz hierzu, konnte bei anderen Untersuchungen an Rentieren, Hirschen und Wildwiederkäuern in Skandinavien der Erreger in keiner Kotprobe nachgewiesen werden (PAGANO et al. 1985, ASCHFALK 2003, WAHLSTRÖM et al. 2003, KEMPER et al. 2006). Genauso wenig gelang dies KANAI et al. (1997) in Wildfleischproben aus dem Handel.

KAPPERUD et ROSEF (1983) postulieren Wildvögel und Wasservögel als ein weitreichendes Reservoir für *Campylobacter* spp., insbesondere *C. fetus* subsp. *fetus*. Dies konnte durch weitere Untersuchungen von LUECHTEFELD 1980, FERNÁNDEZ et al. 1996, CRAVEN et al. 2000 und COBURN et al. 2005 bestärkt werden.

Die Durchseuchungsrate der Wildtiere ist jedoch verglichen mit der in Geflügelbeständen gering. So wird für Nutzgeflügelbestände eine 50-100%ige Durchseuchungsrate angenommen, während die der Wildsäugetiere und -vögel auf 20-30% geschätzt wird (PETERSEN et al. 2001).

3.2.4.11 Yersinia enterocolitica

Y. enterocolitica wurde 1934 von McIver und Pike zuerst als *Flavobacterium pseudomallei* in USA beschrieben. Sie isolierten das gramnegative Bakterium aus Abszessen im Gesicht eines Mannes (BOTTONE 1997). 1939 isolierten Schleifstein und Coleman den Erreger auch aus Patienten mit Enteritissymptomen (SCHIEMANN 1989). Heute wird angenommen, dass das Bakterium weltweit verbreitet ist, aber dennoch vorwiegend in den gemäßigten und subtropischen Gebieten Europas, Asiens und Amerikas vorkommt (BOCKEMÜHL et ROGGENTIN 2004).

Y. enterocolitica wächst bei +37 °C sehr langsam und ist aus dem Kolonierasen anderer gewachsener Enterobakteriazeen kaum zu isolieren. Bei +25 °C wächst das Bakterium jedoch aufgrund seines psychrotrophen Charakters sehr gut. Diese Eigenschaft ermöglicht es dem Keim im Erdboden und in Oberflächenwasser bis zu einem Jahr, an der Außenseite einer Milchtüte drei Wochen bei +4 °C zu überleben (SCHIEMANN 1989, BOCKEMÜHL et ROGGENTIN 2004).

Der Keim kommt bei allen warmblütigen Nutz-, Heim- und Wildtieren vor (KRÄMER 2002). HACKING et SILEO (1974) konnten *Y. enterocolitica* als

Todesursache eines Bibers, eines Waschbärs, einer kanadischen Gans und einem Rotkehlchen ausmachen. Aus 1426 Kotproben von Wildtieren konnten SHAYEGANI et al. (1986) 133 *Y. enterocolitica*-positive Proben ermitteln. Sowohl HENDERSON (1984) als auch KATO et al. (1985), PAGANO et al. (1985) und KEMPER et al. (2006) konnten den Erreger aus Kotproben von Wildtieren isolieren. NIKOLOVA et al. (2001) isolierten *Y. enterocolitica* aus den Organen von Wildtieren. Hier waren von 37 Proben 21 *Y. enterocolitica*-positiv. Nur in der Arbeit von ASCHFALK et al. (2003) konnte keine *Y. enterocolitica*-positive Kotprobe gefunden werden.

3.2.5 Einflussfaktoren auf Mikroorganismen in Fleisch

Wie seit Jahrtausenden bekannt, muss frisches Fleisch, um nicht zu verderben, behandelt werden, da es aufgrund seines pH-Wertes, dem Nährstoffangebot und seiner Wasseraktivität den Mikroorganismen die Möglichkeit zur Vermehrung gibt. Der Verderbnisprozess wird jedoch nicht nur vom Ausmaß und der Art der Kontaminationsflora beeinflusst, vielmehr wird er von den Faktoren bestimmt, die ein Überleben und Vermehren der Mikroorganismenflora beeinflussen. Hier wird zwischen den „intrinsischen“ und „extrinsischen Faktoren“ unterschieden.

Die „intrinsischen Faktoren“ fassen die physikochemischen Eigenschaften des Lebensmittels zusammen (KRÄMER 2002), die durch Rohstoffauswahl, Zerkleinerungsgrad und Rezeptur verändert werden können (LÜCKE et TROEGER 2007). Es handelt sich hierbei um den pH-Wert, die Wasseraktivität, strukturelle Barrieren (Textur) und den Gehalt an antimikrobiell wirkenden Stoffen, sowie den Sauerstoffgehalt (KRÄMER 2002, LÜCKE et TROEGER 2007).

Die „extrinsischen Faktoren“ fassen alle Bedingungen zusammen, bei denen das Lebensmittel gelagert wird. Hierzu gehören die Temperatur, die Luftfeuchtigkeit und die Gasatmosphäre (KRÄMER 2002, LÜCKE et TROEGER 2007). Nachfolgend werden die wichtigsten intrinsischen und extrinsischen Faktoren beim Wildbret aufgeführt.

3.2.5.1 Intrinsische Faktoren

pH-Wert

Postmortal kommt es durch Abschluss der Glycolyse mit zunehmender Milchsäurekonzentration zu einem Abfall des pH-Wertes der Muskulatur. Dieser liegt dann 24 Stunden nach dem Erlegen nach KNIEWALLNER (1969) zwischen 5,51 und 6,0 und nach BAUR et REIFF (1976) zwischen 5,48 und 6,61. Die Vermehrung vieler säureempfindlicher Bakterien ist hierdurch eingeschränkt, jedoch immer noch möglich. Tabelle 1 zeigt den minimalen und maximalen pH-Wert einiger Bakterien, bei dem ihnen eine Vermehrung noch möglich ist.

Tab. 1: Minimale und maximale pH-Werte für das Wachstum von einigen Bakterien (modifiziert nach Krämer 2002)

Bakterien	Minimaler pH	Maximaler pH
<i>P. aeruginosa</i>	5,6	8,0
<i>C. botulinum</i> -A,B	4,5	8,5
<i>C. perfringens</i>	5,0	8,3
<i>C. jejuni</i>	4,9	8,0
<i>L. monocytogenes</i>	4,5	9,0
<i>Y. enterocolitica</i>	4,5	9,0
<i>S. aureus</i>	4,0	9,8
<i>Salmonella</i> spp.	4,0-4,5	8,0-9,6
<i>E. coli</i>	4,4	9,0
Milchsäurebakterien	3,8-4,4	7,2

Wasseraktivität (a_w -Wert)

Mikroorganismen benötigen für alle Stoffwechselfvorgänge Wasser. Die Verminderung des Wassergehaltes verlangsamt ihren Stoffwechsel, während die Abwesenheit von Wasser diesen zum Erliegen bringt (KRÄMER 2002). Ein Absinken des a_w -Wertes in einem Lebensmittel wird durch Wasserentzug wie z.B. beim Trocknen und Räuchern, dem Tiefgefrieren oder der Zugabe von wasserbindenden Substanzen wie Salz oder Zucker ermöglicht. Tabelle 2 fasst den minimalen a_w -Bereich einiger Bakterien zusammen.

Tab. 2: Minimale a_w -Werte für das Wachstum einiger Bakterien (modifiziert nach Krämer 2002)

Organismengruppe	Beispiele	Minimaler a_w -Wert
Gramnegative Stäbchen	<i>Pseudomonas</i> , <i>E. coli</i> , <i>Acitenobacter</i>	0,97-0,96
Die meisten Bakterien	<i>Salmonella</i> , Enterobakteriazeen, <i>Clostridium</i> , <i>L. mono-</i> <i>cytogenes</i>	0,95-0,91
Grampositive Kokken	<i>S. aureus</i>	0,90-0,86

Der a_w -Wert ist somit ein Maß für das den Mikroorganismen zur Verfügung stehende freie Wasser und indirekt ein Maß dafür wie leicht ein Lebensmittel verderbt. So sind Lebensmittel mit einem a_w -Wert > 0,95 als leicht verderblich, Lebensmittel mit $0,95 < a_w$ -Wert < 0,91 als mittelgradig verderblich und mit einem a_w -Wert < 0,90 als kaum verderblich anzusehen. BAUR et REIFF (1976) konnten bei sechs Wildfleischproben einen a_w -Wert zwischen 0,940 und 0,992 ermitteln, wonach Wildbret folglich als mittelgradig bis leicht verderblich gilt.

Sauerstoffgehalt

Die Sauerstoffzufuhr zum Gewebe wird durch den Prozess des Entblutens beim Schlachten unterbrochen. Zusätzlich wird der verbleibende Sauerstoffgehalt im Gewebe schnell durch die Atmungsenzyme verbraucht. Dies macht das anaerobe Milieu wenige Millimeter unter der Fleischoberfläche, sowie das Grundprinzip der Vakuumverpackung verständlich. Denn die Vakuumverpackung wirkt haltbarkeitsverlängernd, da diese durch den Sauerstoffausschluss das Wachstum obligat aerober Bakterien, insbesondere der Pseudomonaden, hemmt. Aber auch die fakultativ anaeroben Bakterien, wie z.B. die Enterobakteriazeen, wachsen unter anaeroben Bedingungen langsamer (LÜCKE et TROEGER 2007).

3.2.5.2 Extrinsische Faktoren

Temperatur

Entsprechend ihres Wachstumsbereiches werden die Mikroorganismen in vier Gruppen eingeteilt: psychrophil, psychrotroph, mesophil und thermophil. Tabelle 3 fasst die vier Gruppen unter Angabe ihres minimalen, optimalen und maximalen Wachstumsbereiches zusammen.

Tab. 3: Auflistung der vier Gruppen, die den Wachstumsbereich der Mikroorganismen angeben. Die minimale, optimale und maximale Temperatur wird angegeben (modifiziert nach Krämer 2002)

Gruppe	Temperatur (°C)		
	Minimum	Optimum	Maximum
psychrophil	-5-+5	12-15	15-20
psychrotroph	-5-+5	25-30	30-35
mesophil	5-15	30-40	35-47
thermophil	40-45	55-75	60-90

Psychrophile Mikroorganismen wachsen noch bei Temperaturen unter +5 °C, jedoch nicht mehr bei Temperaturen über +20 °C. Als Verderbsorganismen bei kühlgelagertem Fleisch spielen sie eine untergeordnete Rolle. Hierfür sind vielmehr die psychrotrophen Organismen verantwortlich. Diese vermehren sich optimal im mesophilen Temperaturbereich (+25-+30 °C), aber auch bei Temperaturen unter +5 °C. Zu diesen beiden Gruppen gehören z.B. *Lactobacillus*-Arten, Pseudomonaden, *C. botulinum*, *Y. enterocolitica* und *L. monocytogenes* (KRÄMER 2002).

Die meisten Lebensmittelvergifter, wie *Salmonella*, *C. perfringens* und *S. aureus*, wachsen im mesophilen Temperaturbereich, während an den thermophilen Bereich nur wenige Mikroorganismen adaptiert sind. Hier sind vor allem die sporenbildenden *Bacillus*- und *Clostridien*-Arten zu nennen (KRÄMER 2002).

Erhitzen

Temperaturen, die weit über dem Wachstumsoptimum liegen, fügen den Mikroorganismen Schäden zu. Diese Schäden können reversible oder irreversible sein (KRÄMER 2002, STOLLE 2004). Sind die Schäden irreversible, so kann dies als Zelltod bezeichnet werden, und kulturell ist der Nachweis von vermehrungsfähigen Keimen nicht mehr möglich. Der Zelltod durch Erhitzen erfolgt nach einem exponentiellen Muster; das bedeutet, dass bei einer bestimmten Temperatur ein gleichbleibender Anteil der Keime pro Zeiteinheit abstirbt (KRÄMER 2002, LÜCKE et TROEGER 2007). Die Zeiteinheit, in der ein Zehntel der Ausgangskeimpopulation bei einer bestimmten Temperatur abstirbt, wird D-Wert bezeichnet.

Durch den Vorgang des Erhitzens kann eine Teilentkeimung (Pasteurisation) oder ein Abtöten aller vermehrungsfähigen Keime inklusive der Sporen (Sterilisation) erreicht werden.

Gefrieren

Die Qualität tiefgefrorener Lebensmittel wird durch die Anzahl der Mikroorganismen vor dem Einfrieren bestimmt, da eine Vermehrung der Mikroorganismen bei Temperaturen niedriger als -10 °C nicht mehr möglich ist (TIMM et ZSCHALK 1999). Wie jedoch seit langem bekannt, kommt es während des Prozess des Tieffrierens nur zu einem teilweisen Absterben der Mikroorganismen. RIEMER (1977) hat diesen Vorgang anhand des auf Verbraucherseite stark gefürchteten Bakteriums *Salmonella* spp. beschrieben. Er kommt in seiner Arbeit zu dem Schluss, dass weder der Einfriervorgang noch Gefrierlagerung eine vollständige Abtötung des Keimes bewirken. Die lediglich geschädigten Keime können mit Anreicherungsbouillons wiederbelebt werden (Resus-zitation) und dann als vermehrungsfähige Keime mikrobiologisch nachgewiesen werden (RIEMER 1977, TIMM et ZSCHALK 1999). Somit ist der mikrobielle Verderb tiefgefrorener Lebensmittel bei einer ungünstigen Lagerung möglich.

3.3 Krankheitsbild der Lebensmittelinfektionen und -intoxikationen verschiedener Bakterien

3.3.1 Enterobakteriazeen

Als pathogene Bakterien gelten in dem Genus *Enterobacteriaceae* nur die Gattung *Salmonella* spp., *Y. enterocolitica*, *Y. pseudotuberculosis* und *E. coli*. Alle anderen Gattungen werden als Opportunisten angesehen, die bei immungeschwächten oder juvenilen Personen eine Erkrankung auslösen können. Die klinischen Symptome sind dann denen einer Salmonellose ähnlich.

3.3.2 Salmonellose

Bei den Salmonellosen ist zwischen Typhus und Paratyphus und der akuten Gastroenteritis zu unterscheiden (KRAUSS et al. 2004). Nur letztere wird durch kontaminierte Lebensmittel auf den Menschen übertragen, wobei dies auf direktem Weg durch den Verzehr von mit Enteritis erregenden Salmonellen befallenen Nahrungsmitteln geschieht.

Das Hauptreservoir der Enteritis-erregenden Salmonellen ist der Darmtrakt von Nutztieren, Geflügel, freilebenden Vögeln, Wild, Nagern und Reptilien (KRÄMER 2002). Als besonders risikoreiche Nahrungsmittel sind vor allem rohe Lebensmittel tierischer Herkunft, sowie Fleischwaren (insbesondere von Schlachtgeflügel, Hackfleisch, Fleischsalaten), Milch, Käse und Hühnereier und daraus hergestellte Produkte, wie z.B. Cremes, Mayonnaise, Speiseeis, Konditoreiwaren, aber auch Obst – insbesondere aufgeschnittenes - und Gewürze zu nennen (FEHLHABER 1992, KLEER 2004b). Aber auch die Übertragung durch indirekten Kontakt im Sinne einer Schmutz- oder Schmierinfektion ist möglich.

Abbildung 1 fasst die verschiedenen Kontaminationsmöglichkeiten von Lebensmitteln durch Salmonellen zusammen.

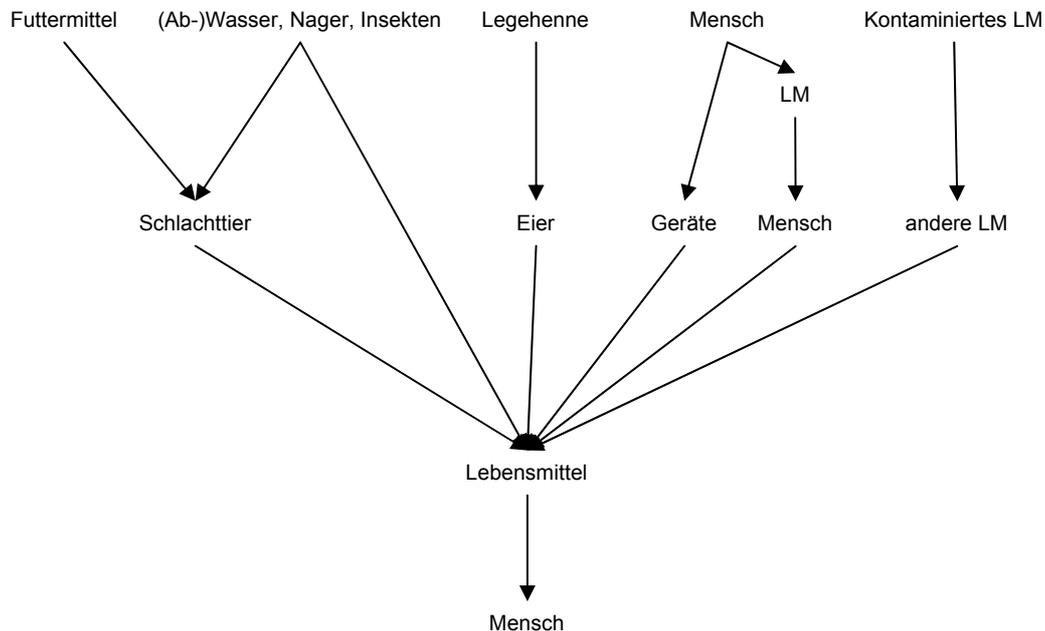


Abb. 1: Kontaminationsmöglichkeiten von Lebensmitteln (LM) durch Salmonellen (modifiziert nach Fehlhaber et al. 1992)

Im Jahr 2006 wurden 52.575 Salmonellose-Fälle in Deutschland gemeldet und war somit die häufigste Erkrankung (RKI 2007). Nach einer Inkubationszeit von 5-72 Stunden kommt es zu plötzlichem Erbrechen und wässrigem, faulig riechendem und zum Teil blutverschmiertem Durchfall, Fieber bis über +39 °C kann auftreten. Die Erkrankung zieht sich meist über 5-7 Tage je nach Konstitution des Patienten hin. Die Mortalitätsrate liegt unter 1%. Bei immungeschwächten und juvenilen Patienten kann es jedoch zu schweren Komplikationen wie z.B. Sepsis, Meningitis, Osteomyelitis, Arthritis, Harnwegsinfekt oder Endokarditis kommen (RKI 2002b, KRAUSS et al. 2004).

Nach überstandener Erkrankung scheiden die meisten Patienten Salmonellen für 4-8 Wochen über den Kot aus. Da jedoch eine Infektionsdosis von 10^6 Bakterien je g Lebensmittel für eine Infektion nötig ist, und der Mensch in der Regel das Endglied in der Infektkette darstellt, ist eine Ansteckung von Mensch zu Mensch nicht zu erwarten (KRÄMER 2002, RKI 2002b, KRAUSS et al. 2004). Als wirksamste

vorbeugende Maßnahme gilt das Einhalten einer guten Küchen- und Arbeitshygiene. Hier ist besonders auf die Vermeidung von Kreuzkontaminationen, besonders mit Auftauwasser von Tiefkühl-Geflügel und -Wild, über die Hände, Gerätschaften, Küchentüchern etc. und das längere Warmhalten von Speisen zu achten. Instantprodukte sind erst kurz vor dem Verzehr vorzubereiten, alle Speisen – insbesondere in den Sommermonaten – sind kühl zustellen (KRÄMER 2002, RKI 2002b, KLEER 2004b).

Des Weiteren gilt §42 Infektionsschutzgesetz (IfSG): „Personen, die 1) ..., Salmonellose, einer anderen infektiösen Gastroenteritis oder Virushepatitis A oder E erkrankt oder dessen verdächtig sind, 2) an infizierten Wunden oder an Hautkrankheiten erkrankt sind, bei denen die Möglichkeit besteht, dass deren Krankheitserreger über Lebensmittel übertragen werden können, 3) die Krankheitserreger Salmonellen, enterohämorrhagische *Escherichia coli* oder Choleravibrionen ausscheiden, dürfen nicht tätig sein oder beschäftigt werden a) beim Herstellen, Behandeln oder Inverkehrbringen der in Absatz 2 genannten Lebensmittel, wenn sie dabei mit diesen in Berührung kommen, oder b) in Küchen von Gaststätten und sonstigen Einrichtungen mit oder zu Gemeinschaftsverpflegung.“ Zusätzlich ist jede Form der Salmonellose beim Menschen meldepflichtig.

3.3.3 Enterohämorrhagische *E. coli* (EHEC)- Infektionen

E. coli ist Teil der normalen Darmflora warmblütiger Tiere und Menschen weltweit, wobei Wiederkäuer und Wildwiederkäuer (v.a. Rehe und Hirsche) als Reservoir für enterohämorrhagische *E. coli* (EHEC) angesehen werden (ZSCHÖK et al. 2000, RKI 2001, BÜLTE 2004b, N.N. 2005). Während die Mehrzahl der *E. coli*-Stämme apathogen ist, ist EHEC, wie zuvor erwähnt international als Shigatoxinproduzierende *E. coli* (STEC) bezeichnet, pathogen. Bis heute wurden mehr als 200 Serovare von STEC-Stämmen isoliert, während das am häufigsten isolierte Serovar bei Lebensmittelvergiftungen *E. coli* O157:H7 (KRAUSS et al. 2004) ist. Erkrankungen hervorgerufen durch nicht-O157-Serovare nehmen jedoch zu (BOCKEMÜHL et al. 1998, FAIRBROTHER et NADEAU 2006).

STEC wurde 1982 das erste Mal beschrieben (BALJER et WIELER 1999). Die Übertragung auf den Menschen erfolgt auf dem oralen Weg, wobei besonders der

Verzehr roher oder halbgarer tierischer Lebensmittel, wie nicht durchgegartes Rinderhackfleisch, Salami, Mettwurst, nicht pasteurisierte Milch, Joghurt und Frischkäse risikoreich ist. Aber auch auf pflanzlichen Lebensmitteln wie Gemüse und Obst, auch in nicht pasteurisiertem Apfelsaft, ist der Erreger anzutreffen (RKI 2001, KRÄMER 2002, N.N. 2005). Eine besondere Rolle in der Ätiologie der Lebensmittelvergiftung durch *E. coli* kommt der Aufnahme von kontaminiertem Bade- und/oder Trinkwasser, der Übertragung von Tier auf Mensch (wie z.B. im Streichelzoo) und der Übertragung von Mensch zu Mensch als Schmutz- oder Schmierinfektion in Kindergärten und Altenheimen zu (RKI 2001, KRAUSS et al. 2004). Hierbei ist zu beachten, dass schon eine sehr kleine Bakterienmenge (10^1 - 10^2 Bakterien / g Lebensmittel) eine Infektion hervorrufen kann (KRÄMER 2002, KRAUSS et al. 2004, N.N. 2005). Dies ist von besonderer Wichtigkeit, da die mit dem Kot ausgeschiedene Bakterienmenge 10^6 Bakterien pro g Kot beträgt (FEHLHABER 1992), und somit eine sorgfältige Hand- und Toilettenhygiene ausschlaggebend zur Vermeidung einer *E. coli*-Infektion ist.

Während ein Drittel der Erkrankungen mit leichten Durchfällen und eine Vielzahl an Infektionen mit *E. coli* klinisch inapparent verläuft, kann es nach einer Inkubationszeit von durchschnittlich 4-6 Tagen (BÜLTE 2004b) zu krampfartigen Bauchschmerzen mit anfangs wässrigen, im weiteren Verlauf wässrig-blutigen Durchfällen kommen. Als Begleiterscheinungen kann Übelkeit und Erbrechen, selten Fieber auftreten. Schwere Verlaufsformen äußern sich bei 10-20% der Erkrankten mit blutigen Durchfällen („all blood and no stool“), starken Leibscherzen und Fieber (RKI 2001, KRAUSS et al. 2004). Dies tritt meist bei Säuglingen, alten und immungeschwächten Menschen auf.

Bei 5-10% (3-20%) (RKI 2001, BÜLTE 2004b, KRAUSS et al. 2004) der Erkrankungsfälle kommt es zu Komplikationen, die sich in Form des hämolytisch-urämischen Syndroms (HUS), besonders bei Kindern unter 10 Jahren, und der thrombotisch-thrombozytopenischen Purpura (TTP), vorwiegend bei Erwachsenen, äußern und im Kindesalter eine hohe Letalität aufweisen. Klinisch äußern sich diese schweren Komplikationen in einer mikroangiopathischen hämolytischen Anämie mit Thrombozytopenie, Funktionsstörungen der Niere, bis hin zur Anurie bei HUS, und Funktionsstörungen des Zentralnervensystems bei TTP. Für die Erkrankung an HUS besteht Meldepflicht.

Treten keine Komplikationen auf klingen die Symptome nach 4-10 Tagen ab, wobei jedoch der Erreger noch bis zu 8 Wochen post infectionem (p. inf.) über den Kot ausgeschieden werden kann (RKI 2001, KRAUSS et al. 2004).

Prophylaktische Maßnahmen sind die Beachtung und Einhaltung allgemeiner Hygieneregeln: sorgfältige Händehygiene nach Kontakt mit Tieren (v.a. bei Wiederkäuern), konsequente Hygiene bei der Verarbeitung und Zubereitung von Lebensmitteln tierischer und pflanzlicher Herkunft in der Küche, Kühlung roher Lebensmittel, Erhitzung roher tierischer Lebensmittel bei 70 °C für mind. 10 Minuten, Abkochen von Rohmilch. Erkrankte und Rekonvaleszente mit positivem Erregernachweis im Stuhl müssen nach § 42 IfSG Lebensmittel verarbeitende Betriebe meiden. Dies gilt auch für Einrichtungen der Gemeinschaftspflege, insbesondere für Altersheime, Kindergärten und Schulen (RKI 2001, BÜLTE 2004b, KRAUSS et al. 2004, N.N. 2005).

3.3.4 Clostridium perfringens-Infektion

5-10% aller bakteriellen Lebensmittelvergiftungen werden durch *C. perfringens* ausgelöst (RKI 2000a). Ausgangspunkt der Infektkette mit dem grampositiven anaeroben Sporenbildner ist der Erdboden und der Darm vom gesunden Tier und Mensch. Hier liegt eine Konzentration von $10^2 - 10^4$ Keimen / g Stuhl vor, während bei einer Lebensmittelvergiftung $>10^6$ Keime / g Stuhl gefunden werden (KRÄMER 2002, FEHLHABER 2004a). Der Erreger gelangt direkt durch fäkale Verunreinigung (meist ausgehend vom Tier) oder indirekt über den Erdboden, Staub oder Abwasser in das Lebensmittel.

Auslösend für die Erkrankung ist die massive Vermehrung der Keime ($>10^8$) (US FOOD AND DRUG ADMINISTRATION 1992) mit anschließender Sporulation unter anaeroben Bedingungen, was insbesondere bei zubereiteten Speisen wie Geflügel- und Fleischsalate, Fleischpasteten, Fleischmischgerichte u.a., aber auch bei größeren mit Suppe oder Soße gefüllten Behältnissen, die bei Zimmertemperatur oder ungenügender Kühlung stengelassen werden, zu beobachten ist (KRÄMER 2002, FEHLHABER 2004a). Bei der Sporulation wird das Enterotoxin gebildet, das für die klinischen Symptome Durchfall und Bauchkrämpfe nach einer Inkubationszeit von 8-20 (6-24) Stunden verantwortlich ist (RKI 2000a, KRÄMER 2002, FEHLHABER 2004a). Selten treten Fieber und Erbrechen auf. Die Erkrankungsdauer

beträgt in der Regel einen Tag, wobei Komplikationen selten, und meist nur bei resistenzgeschwächten, insbesondere bei älteren Menschen zu beobachten sind.

Zur Vermeidung einer durch *C. perfringens* hervorgerufenen Lebensmittelintoxikation gilt folgendes: Vermeidung langer Warmhalteperioden mit Temperaturen von unter +65 °C und über +15 °C, rasches Garen und Abkühlen der hergestellten Speisen, Lagerung der Speisen bei weniger als +10 °C und erneute Erhitzung der Produkte auf eine Kerntemperatur von mind. +72 °C vor dem Verzehr (FEHLHABER 2004a, EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY 2005).

Heutzutage werden regelmäßig Erkrankungsausbrüche in den Hochländern von Papua Neu Guinea beobachtet. Die Bevölkerung ernährt sich vorwiegend von Süßkartoffeln, die eine Inaktivierung des Enterotoxins verhindern (BRYNESTAD et GRANUM 2002).

3.3.5 Staphylococcus aureus-Intoxikation

Bekannt als Infektionserreger und dem Eitererreger bei Mensch und Tier, spielt *S. aureus* auch in der Lebensmittelhygiene und –mikrobiologie eine große Rolle, da das Bakterium, und insbesondere sein Enterotoxin, aufgrund seiner außergewöhnlichen physikalischen und biochemischen Eigenschaften zu allen Phasen des Herstellungsprozesses eine Vielzahl an Lebensmitteln verunreinigen kann. Besonders eiweiß- und kohlenhydrathaltige, wie Fleisch- und Wurstwaren, Eier- oder Milchprodukte, Nudeln und Reis sind hier beispielhaft zu nennen.

Ca. 15-40% (30-40%, 5-40%) aller gesunden Menschen sind Träger des Keimes (GENIGEORGIS 1989, LE LOIR et al. 2003, BÜLTE 2004d). Enterotoxin A ist das am häufigsten bei *S. aureus*-Intoxikationen isolierte Toxin. Damit es zur Bildung von Staphylokokken-Enterotoxin kommt, müssen nach BÜLTE (2004d) zwei Voraussetzungen erfüllt sein: 1. das Lebensmittel muss mit *S. aureus* kontaminiert sein und 2. der Erreger muss sich im Lebensmittel vermehren können, da erst ab einer Zellzahl $>10^6$ / g eine Toxinkonzentration erreicht wird, die für den menschlichen Organismus bedenklich ist. Auch KRÄMER (2002) geht von einer Vermehrung des Bakteriums auf $>10^6$ Zellen / g Lebensmittel aus, um eine *S. aureus*-Intoxikation auszulösen, wozu jedoch abhängig von der Lebensmittelart eine Standzeit von 10-20 Stunden bei Zimmertemperatur nötig ist.

Ausgangspunkt der Infektkette ist meist der Mensch, der das Lebensmittel direkt (z.B. durch eiternde Wunden an den Händen) oder indirekt durch Husten oder Niesen oder durch Kontakt mit Haaren kontaminiert. Aber auch eine mangelnde Schlachthygiene bei infizierten Nutztieren (z.B. Verarbeitung von Tieren mit sichtbaren Eiterherden) oder unauffälligen Keimträgern können das Rohmaterial verunreinigen.

Nach der Aufnahme des Enterotoxins kommt es innerhalb 1-6 Stunden (30 Minuten – 8 Stunden) zu Bauchkrämpfen, Erbrechen und Übelkeit. Nach BÜLTE (2004d) und KRÄMER (2002) zeigt der Patient immer starke Durchfälle, die Blut und Schleim aufweisen und zur Exsikkose führen können. Nach LE LOIR et al. (2003) treten Durchfälle manchmal, aber niemals alleine auf. Die Symptome klingen nach 1-2 Tagen ab. Zu Komplikationen wie Krämpfe und Kreislaufkollaps kann es aufgrund des entgleisten Salzhaushaltes und der Dehydratation bei Säuglingen und älteren Patienten kommen; Todesfälle sind selten.

Als bedeutendste prophylaktische Maßnahme zur Vermeidung einer *S. aureus* – Intoxikation ist die Personalhygiene analog §42 IfSG zu nennen: Ausschluss derjenigen Mitarbeiter von der Verarbeitung und Zubereitung von Lebensmitteln, die Entzündungen der Hände, anderer Hautstellen oder des Nasen-Rachen-Raumes zeigen, häufiges Wechseln und Reinigen der Personal-/Arbeitskleidung, gewissenhafte und häufige Reinigung und Desinfektion der Hände und der Gerätschaften und das Tragen eines Haarschutzes. Weitere Maßnahmen wie die ausreichende Erhitzung der Speisen, Vermeidung des längeren Warmhaltens von Speisen bei Temperaturen unter +65 °C, Kühlung nicht steriler Produkte müssen ergänzt werden (KRÄMER 2002, BÜLTE 2004d).

3.3.6 Listeriose

Die Infektion mit dem aeroben, ubiquitär verbreitetem Bakterium *L. monocytogenes* erfolgt überwiegend über kontaminierte Lebensmittel. Hierbei stellen besonders rohe Milch und deren Produkte (wie z.B. Mayonnaise, Weichkäse), rohes Fleisch, kurz gereifte Rohwürste (wie z.B. Tee- oder Mettwurst), Salate, Muscheln, Lachs, Räucherfisch und Fertiggerichte eine Gefahr dar.

Die Kontamination der Lebensmittel erfolgt entweder direkt – bedingt durch das ubiquitäre Vorkommen - bei der Gewinnung (z.B. Melken eines mit Listerien

infizierten Euters, Ernten von Salat aus verunreinigtem Erdboden) oder sekundär bei der Verarbeitung und Lagerung des Rohmaterials, wobei hier insbesondere die Küchenhygiene am heimischen Herd zu nennen ist (KRÄMER 2002, BÜLTE 2004c, RKI 2006b, YANG et al. 200). Die Schmutz- oder Schmierinfektion ist eine weitere Möglichkeit der Kontamination, da ca. 1-5% (5-10%) der gesunden Menschen das Bakterium über den Stuhl ausscheiden (RKI 1998 und 2003, SIEGMAN-IGRA et al. 2002). Eine Erregermenge jedoch von weniger als 100 Keimen / g Lebensmittel gilt nicht als Gesundheitsrisiko (KRÄMER 2002).

Für die Infektion mit *L. monocytogenes* ist jeder Mensch empfänglich, wobei vornehmlich Kinder (<1 Jahr), ältere Menschen (>60 Jahre), immungeschwächte Personen und vermehrt männliche als weibliche Personen erkranken (SCHLECH 2000, SIEGMAN-IGRA et al. 2002, VÍT et al. 2007). Immunkompetente Personen infizieren sich selten und erkranken kaum. Schwangere haben jedoch ein zwölfmal höheres Risiko zu erkranken als die Durchschnittsbevölkerung (BÜLTE 2004c). Für diese ist die Infektion besonders gefährlich, da sich die Erkrankung meist nur als leichter grippaler Infekt äußert, jedoch zum Abort („early onset“) oder zur neonatalen Meningitis 7-20 Tage nach der Geburt („late onset“) des Säuglings führen kann (SCHLECH 2000).

Im Jahr 2005 wurden in Deutschland 510 Fälle gemeldet, was einer Inzidenz von 0,62 Erkrankte / 100.000 Einwohner entspricht und einen deutlichen Anstieg zum Vergleich der Vorjahre zeigt, welcher auf eine tatsächliche Zunahme der durch *L. monocytogenes*-bedingten Lebensmittelinfektionen ungeklärter Genese hinweist (RKI 2006).

Nach einer variablen Inkubationszeit von 3-70 Tagen zeigen die Personen der Risikogruppen grippeähnliche Symptome wie Fieber, Muskelschmerzen, u. U. Durchfall und Erbrechen. Die Symptome der manifesten Listeriose sind Sepsis, Meningitis und Enzephalitis. Die Prognose ist schlecht, 30% der Patienten mit Meningitis sterben (RKI 1998 und 2006b).

Prophylaktisch gilt: Fleisch ausreichend erhitzen, Gemüse sorgfältig waschen, rohes Fleisch von anderen Speisen getrennt lagern, rohe Milch und daraus hergestellte Produkte meiden, hygienisches Arbeiten in der Küche beachten und Fertiggerichte vor dem Verzehr nochmals erhitzen. Seit 2001 besteht Meldepflicht für die neonatale Listeriose.

3.3.7 Campylobacteriose

Das erst seit den 70iger Jahren beim Menschen als bedeutender Erreger von Enteritiden identifizier- und isolierbare Bakterium *Campylobacter* spp. war im Jahr 2006 mit 52.035 gemeldeten Fällen der zweithäufigste Enteritiserreger in Deutschland (RKI 2007). Meist ist *C. jejuni* der Erreger der *Campylobacter*-Enteritis (RKI 2006a), der sein Hauptreservoir in Geflügel und Nutztieren hat, aber auch regelmäßig aus den Fäzes von Haustieren isoliert wird (KRÄMER 2002, BÜLTE 2004a, KRAUSS et al. 2004).

Die Infektion erfolgt über die Aufnahme von kontaminierten Lebensmitteln (insbesondere Geflügelfleisch, Milch und rotem Fleisch) oder Trinkwasser. Nur bei Kindern spielt die Ansteckung durch den Kontakt mit Tieren eine Rolle (SKIRROW 1991, KRÄMER 2002, BÜLTE 2004a). Meist bleibt das Krankheitsgeschehen auf einzelne Personen begrenzt, zu Massenerkrankungen kommt es nur nach der Aufnahme von kontaminiertem Trinkwasser.

Aufgrund seiner physikalischen und biochemischen Eigenschaften vermehrt sich das Bakterium – im Gegensatz zu *Salmonella* spp. - nicht im Lebensmittel. Eine Infektionsdosis von 500 Keimen / g Lebensmittel reicht jedoch aus, um eine Enteritis hervorzurufen (BUTZLER et OOSTEROM 1991, SKIRROW 1991, KRÄMER 2002). Empfänglich sind alle Altersgruppen, wobei besonders häufig Kinder unter einem Jahr und junge Erwachsene erkranken (RKI 2007). Eine erhöhte Inzidenz lässt sich im Sommer feststellen (SKIRROW 1991, RKI 2006a).

Nach einer Inkubationszeit von 1-7 (3-5) Tagen kommt es zu grippeartigen Symptomen mit Glieder- und Muskelschmerzen, Schüttelfrost und Abgeschlagenheit (STERN et KAZMI 1989, KRÄMER 2002, KRAUSS et al. 2004). Danach setzen wässrige, übel riechende, häufig auch blutige Durchfälle mit Fieber bis z. T. 40 °C und Erbrechen ein. Die klinischen Symptome klingen nach ein paar Tagen ohne Therapie ab, wonach der Patient für ca. 2-7 Wochen Ausscheider ist (KRÄMER 2002). In 1:1000 Fällen kommt es zum Guillain-Barré-Syndrom, das einen lebensbedrohlichen Verlauf haben kann und meist mit schweren gesundheitlichen Spätfolgen einhergeht (BÜLTE 2004a).

Die vorbeugenden Maßnahmen umfassen eine gute Küchen- und Händehygiene während dem Zubereiten von Speisen, insbesondere von Geflügelfleisch, das ausreichende Erhitzen von Fleisch und Milch, die Kontrolle der

Wasserver- und -entsorgung, die Eindämmung der *Campylobacter*-Durchseuchung in Geflügelbeständen und die Einhaltung von §42 IfSG.

3.3.8 Yersiniose

Gehäuft im Spätherbst und in den Wintermonaten tritt die Yersiniose, hervorgerufen durch das ubiquitär in den gemäßigten Klimazonen verbreitete Bakterium *Y. enterocolitica*, auf. Die Ansteckung erfolgt auf dem oral-alimentären Weg, wobei besonders Lebensmittel tierischer Herkunft wie rohes Fleisch, insbesondere vom Schwein, und Milch, aber auch Trinkwasser eine große Rolle spielen (SCHIEMANN 1989, ALEKSIC et BOCKEMÜHL 1990, FEHLHABER et JANETSCHKE 1992, KRÄMER 2002, KLEER 2004c; KRAUSS et al. 2004). Ein weiterer bemerkenswerter Übertragungsweg ist die Ansteckung über Bluttransfusionen, die von klinisch inapparenten mit *Y. enterocolitica*-infizierten Patienten entnommen wurden, und es bei der Lagerung des Blutes im Kühlschrank aufgrund der Psychrotoleranz der Keime zu einer Vermehrung kam (ALEKSIC et BOCKEMÜHL 1990, NEUBAUER et al. 2001).

Die Tonsillen und die Zunge des Schweins stellen das Reservoir für *Y. enterocolitica* dar (SCHIEMANN 1989, FREDERIKSSON-AHOMAA 2001 et al.). Die genaue Infektionsdosis ist nicht bekannt. LEVINE et EDELMANN (1979) nehmen an, dass diese bei 10^9 Keimen liegt, während KLEER (2004c) diese mit 10^4 Keimen angibt.

Kinder bis zum 5. Lebensjahr sind besonders anfällig (KLEER 2004c, KRAUSS et al. 2004). Das Hauptsymptom nach einer 4-7 (7-10) tägigen Inkubationszeit (ALEKSIC et BOCKEMÜHL 1990, NEUBAUER et al. 2001) ist eine meist selbstlimitierende Enteritis mit Fieber bis zu 39 °C und Bauchschmerzen im rechten unteren Quadranten, was schon häufig zu der Fehldiagnose Blinddarmentzündung mit nachfolgender operativer Entfernung des Blinddarms geführt hat (SCHIEMANN 1989, KLEER 2004c, KRAUSS et al. 2004). Wenige Wochen nach der enteralen Verlaufsform kann die immunopathologische folgen, die sich als reaktive Arthritis und Erythema nodosum – vornehmlich bei Frauen – äußert (KRAUSS et al. 2004, STROTMANN 2006).

Selten werden insbesondere bei Älteren, Immunsupprimierten und Alkoholikern schwere Verlaufsformen im Sinne einer Septikämie und Manifestation in

allen Organsystemen beobachtet. Die Letalität liegt hier bei 50% (SCHIEMANN 1989, KRAUSS et al. 2004, STROTMANN 2006).

2001 wurde in Deutschland die Meldepflicht für Yersiniose eingeführt; im Jahr 2006 wurden 5.161 Fälle gemeldet, was einer Inzidenz von 6,3 / 100.000 Einwohnern entspricht und im Vergleich zum Vorjahr (5.627 Fälle) eine sinkende Tendenz aufweist (RKI 2007). Gezielte prophylaktische Maßnahmen sind bis heute noch nicht bekannt. Es wird empfohlen, eine gute Küchenhygiene einzuhalten und Schmutz- und Schmierinfektionen, besonders nach dem Kontakt zu Tieren, durch regelmäßiges und sorgfältiges Händewaschen zu vermeiden.

3.3.9 Weitere bakterielle Erreger

P. aeruginosa wird als Opportunist angesehen, ist jedoch in Krankenhäusern aufgrund seiner Resistenzen gegenüber den meisten Desinfektionsmitteln sehr gefürchtet (KRÄMER 2002, KLEER 2004d). *P. aeruginosa* kommt natürlich im Erdboden, Pflanzen, im Wasser und besonders im Abwasser vor, und wird in Krankenhäusern als pathogener nosokomialer Keim erworben. Als eigentlicher Eitererreger mit typischer blaugrüner Farbe ruft das Bakterium bei Juvenilen und Immunsupprimierten Brechdurchfälle hervor (KRÄMER 2002).

In den südeuropäischen Ländern sind Lebensmittelvergiftungen mit *Brucella* spp. hervorgerufen durch den Verzehr von roher Milch oder daraus hergestellten Produkten, häufig. Das sogenannte „Malta-Fieber“, hervorgerufen durch die Infektion mit *Brucella melitensis*, ist gekennzeichnet von einem schweren typhösen Krankheitsbild mit lang anhaltendem Fieber. *Brucella abortus* löst die „Bangsche Krankheit“ aus, bei der es zu kurzen, ohne Behandlung über Jahre andauernde, Fieberanfällen kommt.

4 Sensorik

Da die Prüfung der Sensorik nicht Hauptteil dieser wissenschaftlichen Arbeit war, werden hier nur die Grundlagen der Lebensmittelprüfung mit Hilfe der Sensorik angesprochen. Für einen umfassenderen Einblick wird auf die einschlägige Literatur sowie auf andere wissenschaftliche Arbeiten verwiesen.

Die Lebensmittelsensorik beschäftigt sich mit der Bewertung von Eigenschaften eines bestimmten Lebensmittels (WIKIPEDIA 2007). Hierzu macht sich der Mensch seine Sinnesorgane zu Nutze. Die aufgenommenen Eindrücke können in visuell, olfaktorisch, gustatorisch, somatosensorisch und auditiv gegliedert werden (§ 64 LFGB AMTLICHE METHODE L 00.90-1). Die Durchführung der Prüfung unterliegt DIN- Normen (Deutsches Institut für Normung) und ISO- Normen (engl.: International Standardization Organisation, ISO) und wird im Rahmen von Qualitätsprüfung und –beurteilung genutzt (FLIEDNER et WILHELMI 1993).

5 Qualitätsmanagement

Die Definition des Wortes „Qualität“ lässt verschiedene Aussagen zu. So bedeutet es ursprünglich, vom Lateinischen „qualitatis“ stammend, „Beschaffenheit, Eigenschaft“. Die ISO beschreibt in ISO 9001:2001 Qualität als den Grad, in dem ein Satz inhärenter Merkmale Anforderungen erfüllt. Dies lässt sich mit der Aussage „Qualität ist die Übereinstimmung von Ist und Soll“ verdeutlichen (HILDEBRANDT 2004). Theodor Heuss soll „Qualität“ mit der Aussage beschrieben haben: „Qualität ist das Anständige, das Gehaltene, nicht das Versprochene.“ BRANSCHIED (2007) beschreibt Qualität als die Erfüllung der Kundenzufriedenheit.

Diesen verschiedenen Aussagen bleibt gemein, dass Qualität die realisierte Beschaffenheit eines Produktes hinsichtlich der Kundenanforderung beschreibt (KRÄMER 2002).

Das Qualitätsmanagement bezeichnet somit alle qualitätsbezogenen Tätigkeiten und Zielsetzungen, deren Organisationsstruktur im Qualitätsmanagement (QM)- System festgelegt ist. Die unparteiische Überprüfung der Übereinstimmung eines Verfahrens mit im QM-System festgelegten Anforderungen erfolgt anhand der Zertifizierung. Die Zertifizierung ist wie die Akkreditierung ein Teil der

Konformitätsbewertung innerhalb der europäischen Union (EU). Die Akkreditierung zielt auf Steigerung der Kompetenz, der Arbeitsumsetzung, der Dokumentation der Arbeitsergebnisse und der Transparenz nach innen wie nach außen in einem Prüflaboratorium. Innerhalb dieses Verfahrens muss die rechtliche Identifizierbarkeit, die Unparteilichkeit, die Unabhängigkeit und Unabhängigkeit des Prüflaboratoriums nachgewiesen werden. Der Nachweis der technischen Kompetenz erfolgt mittels eines QM-Handbuchs (HILDEBRANDT 2004).

C EIGENE UNTERSUCHUNGEN

6 Material

6.1 Probenauswahl

Im Rahmen dieser Arbeit wurden 63 Fleischproben unterschiedlicher Wildarten, die dem Bundesjagdgesetz unterliegen, untersucht (Tab. 4). Von den insgesamt 34 Wildwiederkäuerproben waren 23 Hirschfleischproben. Vier Fasanenfleischproben wurden von den insgesamt acht Vogelfleischproben untersucht. Die Proben wurden von einem Betrieb, der tiefgefrorenes, vakuumverpacktes Wildfleisch handelt, aber auch verarbeitende Tätigkeiten ausführt, in Süddeutschland bezogen.

Die Auswahl der Proben orientierte sich an der Produktpalette des Betriebes, wobei der eine Teil der Proben aus der im Betrieb weiterverarbeiteten Ware bestand (Gruppe I), und der andere Teil Bestandteil der Produktangebote war, die in dem Betrieb bei $-18\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$ zwischengelagert und dann unverarbeitet weitergehandelt wurden (Gruppe II) (Tab. 5).

Die Proben wurden auf ausgewählte mikrobiologische Parameter und im Hinblick auf ihre sensorischen Eigenschaften untersucht.

Tab. 4: Auflistung der beprobten Tierarten und die Anzahl der Proben (n) jeder Tierart

Tierart	Probenanzahl (n)
Wiederkäuer	34
Wildschwein	14
Kaninchen/Feldhase	7
Vogel	8
Summe (Σ)	63

Tab. 5: Auflistung der Tierarten, deren Fleisch in dem Betrieb weiterverarbeitet wurde (Gruppe I), und der Tierarten, deren Fleisch in dem Betrieb ausschließlich gelagert wurde (Gruppe II) und deren Probenanzahl (n).

Tierart	Gruppe I ^a	Gruppe II ^b
	Probenanzahl (n)	Probenanzahl (n)
Wiederkäuer	16	18
Wildschwein	6	8
Kaninchen/Feldhase	2	5
Vogel	1	7
Summe (Σ)	25	38

Legende: ^a bezeichnet die Ware, die in dem Betrieb weiterverarbeitet wurde

^b bezeichnet die Ware, die in dem Betrieb ausschließlich zwischengelagert wurde

6.2 Probennahme

Die Proben wurden tiefgefroren und vakuumverpackt bei dem Betrieb abgeholt. Der Transport der Proben erfolgte in einer Kühlbox bei max. +4 °C.

Die Probennahme erfolgte im Labor unter sterilen Bedingungen nach 12 stündigem Auftauen im Kühlschrank.

7 Methodik

7.1 Mikrobiologie

Die mikrobiologische Untersuchung der Proben erfolgte in einem nach DIN EN ISO/IEC 17025 akkreditierten Prüflabor. Die verwendeten Geräte, Nährmedien, Chemikalien und sonstigen Hilfsstoffe sind im QM-Handbuch aufgelistet und beschrieben. Deshalb wird hier, wie ansonsten in Dissertationen üblich, auf eine Auflistung dieses Materials verzichtet.

7.1.1 Probenvorbereitung

Die Probenvorbereitung erfolgte nach der Methode L 06.00-16 (Mikrobiologische Untersuchung von Fleisch und Fleischerzeugnissen) nach § 64 LFGB AMTLICHE SAMMLUNG VON UNTERSUCHUNGSMETHODEN. Die Entnahme der Probenmenge erfolgte unter sterilen Bedingungen ausschließlich von der gesamten Oberfläche der Proben.

Für die mikrobiologisch kulturelle Untersuchung wurden je 10 g \pm 0,1 g in einen sterilen Kunststoffbeutel eingewogen. Dann wurde die neunfache Menge (90 ml) einer sterilen auf Raumtemperatur temperierten Verdünnungslösung zu der Probenmenge dazugegeben und für 30 Sekunden in einem Beutel-Walkmischgerät (Stomacher) homogenisiert. Aus der so entstandenen Erstverdünnung wurde eine weitere Dezimalverdünnung angefertigt, indem 1 Teil der Erstverdünnung mit 9 Teilen Verdünnungslösung versetzt wurde. Die so hergestellte Verdünnungsreihe diente zur Untersuchung auf verschiedene Bakterienarten, die sogenannten Hygienekeime.

Für die Screening-Untersuchung mittels VIDAS[®] auf *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp. und *L. monocytogenes* wurden je 10 g \pm 0,1 g in 90 ml der jeweiligen Anreicherungsbouillon (Pepton für *Salmonella* spp., ½ Fraser für *L. monocytogenes*, Preston für *Campylobacter* spp.) eingewogen. Für die Real-time PCR auf STEC und *Y. enterocolitica* wurden 10 g \pm 0,1 g in Trypton-Soja-Bouillon (CASO, Merck) eingewogen und bei +37 °C für 24 Stunden unter aeroben Bedingungen bebrütet.

7.1.2 Hygienekeime

7.1.2.1 Aerobe mesophile Keimzahl

Die Bestimmung der Gesamtkeimzahl erfolgte mittels eines Spiral-Platers (Meintrup Laborgeräte, Deutschland), der ein logarithmisches Volumen von 50 µl der jeweiligen Verdünnungsreihen kreisförmig auf die Agarplatten aufträgt. Die Beimpfung der Platten mittels des automatisierten Spiral-Plater entspricht dem Tropfplattenverfahren nach der amtlichen Methode L 06.00-19 (Bestimmung der aeroben Keimzahl bei +30 °C in Fleisch und Fleischerzeugnissen – Tropfplatten-Verfahren). Es wurden die Verdünnungsstufen 10^{-1} und 10^{-2} und ein nicht selektiver Nährboden (Plate-Count-Agar), der nach dem Beimpfen 48 Stunden bei +30 °C unter aeroben Bedingungen bebrütet wurde, verwendet. Die Auswertung der Agarplatten erfolgte mittels einer Schablone. Dabei wurden alle gewachsenen Kolonien innerhalb einer begrenzten Zone auf der Schablone ausgezählt. Der Zählbereich der koloniebildenden Einheiten pro Gramm (KbE/g) lag bei der Verdünnungsstufe 10^{-1} zwischen $4,0 \times 10^3$ und $4,0 \times 10^6$ KbE/g, bei der Verdünnungsstufe 10^{-2} zwischen $4,0 \times 10^4$ und $4,0 \times 10^7$ KbE/g.

7.1.2.2 Milchsäurebakterien

Die Anzahl der Milchsäurebakterien in der jeweiligen Probe wurde mittels Beimpfung des selektiven modifizierten Agars nach DE MAN, ROGOSA, SHARPE mit pH 5,7 (MRS-Agar, pH 5,7) bestimmt. Dieser Agar wirkt selektiv, indem er durch seinen pH-Wert ein Wachstum anderer Mikroorganismen hemmt. Die Beimpfung erfolgte mittels Spiral-Plater. Die beimpfte und getrocknete Agarplatte wurde für 48 Stunden bei +37 °C unter aeroben Bedingungen bebrütet.

Die Milchsäurebakterien stellen sich auf der Agarplatte als gut gewachsene, graue oder weiße, glatte oder raue, flache oder erhabene Kolonien dar. Die Ermittlung der Keimzahl erfolgte wie zuvor beschrieben.

7.1.2.3 Enterobakteriazeen

Die Verdünnungsstufe 10^{-1} wurde nach Methode L 06.00-24 (Spatelverfahren) untersucht. Hierzu wurde auf den getrockneten Selektivagar Kristallviolett-(Neutralrot)-Galle-Glucose (VRBD, von engl. Violet, Red, Bile, Dextrose) 0,1 ml der Verdünnungsstufe 10^{-1} per Pipette aufgebracht und mit einem sterilen Spatel gleichmäßig und kreisförmig darauf verteilt. Die Agarkomponenten Kristallviolett und

Gallensalz hemmen die grampositive Begleitflora weitgehend, während Neutralrot als Indikator für den pH-Wert des Agars wirkt, und Glucose unter Säurebildung von den Enterobakteriaceen verwertet wird. Die Glucoseverwertung führt zu einem Abfall des pH-Wertes, was in einer Rotfärbung im Bereich der Kolonien sichtbar wird. Dementsprechend werden bei der Auswertung der Platten nur rote oder rosafarbene Kolonien mit oder ohne gleichfarbigen Präzipitationshof berücksichtigt.

Sobald die Impfmenge bei Raumtemperatur auf dem Nährmedium angetrocknet war, wurde die Petrischale bei +30 °C für 24 Stunden unter anaeroben Bedingungen bebrütet. Bei der Auszählung wurden diejenigen Platten berücksichtigt, auf denen zwischen 1 und 150 klar voneinander abgesetzte Kolonien gewachsen waren.

Da die koloniebildenden Einheiten pro ml bzw. pro g angegeben werden, jedoch nur ein Inokulum von 0,1 ml auf die Platten aufgebracht wurde, mussten die ermittelten Ergebnisse mit dem Faktor 10 multipliziert werden. Da zusätzlich eine 10^{-1} Verdünnung als Impfprobe verwendet wurde, musste das Ergebnis ein zweites Mal mit dem Faktor 10 multipliziert werden. Somit musste das ausgezählte Ergebnis insgesamt mit dem Faktor 100 multipliziert werden, um die Anzahl koloniebildender Einheiten pro Gramm Fleischprobe für die bebrüteten Spatelplatten zu erhalten.

Die Verdünnungsstufe 10^{-2} wurde mittels Spiral-Plater auf die Agarplatten aufgebracht. Die Bebrütung erfolgte analog der Platten, die mittels Spatelverfahren beimpft wurden. Die Ermittlung der KbE/g erfolgte analog wie zuvor beschrieben.

7.1.2.4 Pseudomonaden

Die Proben wurden mit den Verdünnungsstufen 10^{-1} und 10^{-2} untersucht. Hierzu wurde ein Selektivmedium, Cetrimid-Fucidin-Cephaloridin-Agar (CFC-Agar, Cetrimid-Agar®, Oxoid, Deutschland), mittels Spiral-Plater beimpft (L 06.00-43 Zählung von *Pseudomonas* spp. in Fleisch und Fleischerzeugnissen).

CFC-Agar wurde von Mead und Adams (1977) auf der Grundlage der Hirn-Herz-Bouillon unter Zusatz von Cetrimid, Fucidin und Cephaloridin als Selektivagentien entwickelt. Die Hirn-Herz-Bouillon (BHI, von engl. brain-heart-infusion) ist ein Medium, das Proteine und Nährstoffe bereitstellt, um das Wachstum von anspruchsvollen und anspruchslosen Organismen zu unterstützen. Die Selektivagentien verhindern das Wachstum unerwünschter grampositiver und

gramnegativer Bakterien, während das Pseudomonadenwachstum gefördert wird. Die Pseudomonaden wachsen auf dem CFC-Medium als entweder pigmentierte oder unpigmentierte Kolonien, und können anhand des Oxidasetests von anderen Organismen, wie z.B. Hefen, differenziert werden. Der Oxidasetest basiert auf der Reaktion, in der die Cytochromoxidase unter Anwesenheit von molekularem Sauerstoff und Cytochrom c zu Dimethyl-p-phenylendiamin oxidiert. Nach Zugabe von Alpha-Naphtol wird Indophenolblau gebildet. Dies äußert sich in einer sichtbaren Blaufärbung.

Nach der Beimpfung trockneten die Nährmedien bei Raumtemperatur an und wurden dann für 48 Stunden bei +25 °C bebrütet. Die Auswertung der beimpften und bebrüteten Platten erfolgte wie zuvor beschrieben.

Zur Bewertung des Oxidaseverhaltens, wurden 5 Kolonien einer jeden Agarplatte überprüft. Die Kolonien wurden einzeln mit einer abgeflammt und ausgekühlten Impföse von der Platte auf ein kommerziell erhältliches Oxidase-Testplättchen (Becton Dickinson GmbH, Deutschland) aufgetragen, und ein Farbumschlag ins Blauviolette innerhalb 30 Sekunden als eine positive Reaktion bewertet.

7.1.2.5 E. coli

Zur Bestimmung der KbE/g Fleischprobe wurde ein Inokulum von 0,1 ml der Verdünnungsstufe 10^{-1} auf die angetrocknete *Escherichia-coli*-Direkt-Agarplatte (ECD-Agar) pipettiert und mit einem sterilen Spatel kreisförmig und gleichmäßig verteilt. Die Bebrütung erfolgte bei +44 °C für 16-18 Stunden.

Der Selektivagar ECD nutzt die Fähigkeit des Bakteriums, das enthaltene 4-Methylumbelliferyl- β -D-Glucuronid (MUG) zu spalten. Bei Anregung mit UV-Licht bei einer Wellenlänge von 360 oder 366 nm stellen sich die Spaltprodukte und somit die *E. coli*-Kolonien blau-fluoreszierend dar. Die Berechnung der KbE/ g erfolgte wie oben beschrieben.

7.1.2.6 C. perfringens

Je 1 ml der Erstverdünnung wurde in eine leere, sterile Petrischale gegeben und anschließend mit Selektivnährboden, Tryptose-Sulfit-Cycloserin-Agar (TSC-Agar, Merck, Deutschland), übergossen (L 06.00-39 Bestimmung von mesophilen sulfitreduzierenden Clostridien in Fleisch und Fleischerzeugnissen –

Plattengussverfahren). Cycloserin wirkt hemmend auf die grampositive und gramnegative Begleitflora. Die Schwefelwasserstoffbildung der Kolonien wird durch den Zusatz von Sulfit und Eisensalzen genutzt. Es kommt zu einer Schwarzfärbung der Kolonien. Nach Antrocknen des Agars bei Raumtemperatur wurden die Platten bei +37 °C für 24 - 48 Stunden unter anaeroben Bedingungen bebrütet. Hierbei war aufgrund des obligaten anaeroben Stoffwechsels der Bakterien darauf zu achten, dass die Petrischalen nicht länger als 30 Minuten unter aeroben Bedingungen verblieben. Die auf dem Agar schwarz gewachsenen Kolonien wurden nach Ablauf der angegebenen Bebrütungszeit gezählt.

Zur Identifizierung von *C. perfringens*-verdächtigen Kolonien wurde der reverse-CAMP-Test (benannt nach Christie, Atkins und Munch-Petersen, die das Phänomen zum ersten Mal beschrieben haben) auf Dagnostischem-Sensibilitätstest-Blutagar (DST-Agar) mit 7% defibriniertem Schafblut herangezogen. Der Test beruht auf der Beobachtung, dass α -toxin-produzierende *C. perfringens*-Stämme eine synergistische Hämolyse mit β -hämolysierenden *Streptococcus (S.) agalacticae*-Stämmen aufweisen. Diese synergistische Hämolyse stellt sich im sogenannten "Pfeilspitzenphänomen" dar (siehe Abb. 2).

Pro Platte wurden 5 schwarze, gut gewachsene Kolonien zur Identifizierung herangezogen. Dazu wurde als Indikatorkeim ein β -hämolysierender *S. agalacticae*-Stamm median auf den DST-Agar aufgetragen. In einem Abstand von 1 mm zu diesem wurde im rechten Winkel die zu identifizierenden Kolonien parallel zueinander mit einer Impföse aufgetragen und dann unter anaeroben Bedingungen bei +37 °C für 18-24 Stunden bebrütet. Eine positive Reaktion lag vor, wenn nach Ablauf der Bebrütungszeit das "Pfeilspitzenphänomen" zu erkennen war.

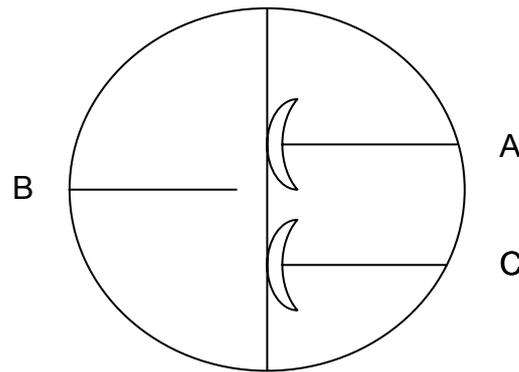


Abb. 2 Darstellung des "Pfeilspitzenphänomens"

A und C zeigen einen positiven reversen-CAMP-Test an, während B ein negatives Testergebnis anzeigt.

Biochemisch wurden die verdächtigen Kolonien anhand der Katalasereaktion und dem Kalilaugen-Test (KOH-Test) bestätigt. Die Katalasereaktion weist die Bildung des Enzyms Katalase nach. Katalase baut Wasserstoffperoxid unter der Bildung von Wasser und freiem Sauerstoff ab, was in einer Blasenbildung sichtbar wird. Dazu wird ein Tropfen einer 3%igen Wasserstoffperoxid-Lösung mit einer Kolonie auf einem Objektträger vermischt.

Der KOH-Test beruht auf dem Prinzip, dass die Zellwand gramnegativer Bakterien zu dünn ist, um sich der KOH-Lauge erwehren zu können. Die Zellen brechen auf, und die DNA wird frei, wodurch sich die Viskosität des Gemisches erhöht. Es kommt zur Fadenbildung, was als positive Reaktion zu werten ist.

Sowohl die Katalasereaktion als auch der KOH-Test zeigen für *Clostridium* spp. ein negatives Ergebnis. Die Berechnung der KbE/g erfolgte wie zuvor beschrieben.

7.1.2.7 Koagulasepositive *S. aureus*

Für die Untersuchung auf koagulasepositive *S. aureus* wurde ein Inokulum von 0,1 ml der Verdünnungsstufe 10^{-1} mit einem sterilen Spatel gleichmäßig und kreisförmig auf den Selektivagar Baird-Parker (BP-Agar, Merck, Deutschland) aufgebracht (L 00.00-55 Verfahren für die Zählung von koagulase-positiven Staphylokokken in Lebensmitteln – Teil 1: Verfahren mit Baird-Parker). Zusätzlich wurden die Verdünnungsstufe 10^{-1} und 10^{-2} mit dem Spiral-Plater auf den BP-Agar geimpft. Der Nährboden enthält Lithiumchlorid und Tellurit zur Hemmung der

Begleitflora, und Pyruvat und Glycin zur selektiven Wachstumsförderung der Staphylokokken.

Nach Antrocknen der beimpften Nährmedien wurden die Platten 48 Stunden bei +37 °C unter aeroben Bedingungen bebrütet. Anschließend wurden alle typischen Kolonien gezählt; diese sind schwarz oder grau, glänzend und gewölbt und von einer klaren Zone umgeben. Zur Bestätigung wurden 5 typische Kolonien mit einer sterilen Impföse in je ein Röhrchen mit BHI übertragen (L 00.00-56 Verfahren für die Zählung von koagulase-positiven Staphylokokken in Lebensmitteln – Teil 2: Verfahren mit Kaninchenplasma/Fibrinogen-Agar). Die beimpften Röhrchen wurden bei +37 °C für 24 Stunden bebrütet. Nach Ablauf der Bebrütungszeit wurde den Röhrchen 0,3 ml Kaninchenplasma zugegeben. Die Röhrchen wurden dann für weitere 4-6 Stunden bei +37 °C bebrütet. Der hier beschriebene Koagulasetest gilt als positiv, wenn das Koagulat mehr als die Hälfte des Ausgangsvolumens der Flüssigkeit einnimmt.

Die Berechnung der KbE / g der Platten, die mit dem Spatel beimpft wurden, erfolgte nach der Formel

$$a = \frac{b_c}{A_c} \cdot c_c$$

wobei

A_c - die Anzahl der typischen Kolonien ist, die dem Koagulasetest unterzogen wurden

b_c - die Anzahl der typischen koagulase-positiven Kolonien

c_c - die gesamte Anzahl typischer Kolonien auf den Platten.

Die Ermittlung der KbE / g derjenigen Platten, die mit dem Spiral-Plater beimpft wurden, erfolgte, wie zuvor aufgeführt, mittels einer Schablone.

7.1.3 Pathogene Keime

Die Untersuchung auf pathogene Keime wurde als Screening (von engl. to screen – überprüfen) durchgeführt, weshalb bei den Bakteriengenera *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp. und *L. monocytogenes* ihr Vorkommen in den Wildfleischproben, jedoch nicht die weitere Identifizierung, wie z.B. Serotypisierung,

der einzelnen Bakterienstämme interessierte. Dieses Screening wurde mit dem VIDAS[®]-Testverfahren der Firma bioMérieux, Deutschland, durchgeführt.

VIDAS[®] ist ein Multiparameter-Immunoanalyzer, der auf der Grundlage von Immunoassays arbeitet. Immunoassays bestimmen Wirkstoffe oder Mikroorganismen mittels der Antigen-Antikörper-Reaktion. Das VIDAS[®]-System arbeitet nach dem ELFA-Testprinzip und kombiniert ELISA (Enzym-Linkent-Immunosorbent-Assay) mit einer abschließenden Fluoreszenzmessung. Hiermit wird eine ausgezeichnete Spezifität und Sensitivität gewährleistet.

ELISA ist ein weitverbreitetes Verfahren, mit dem bestimmte Proteine nachgewiesen werden können. Es macht sich die Abwehrmechanismen des Körpers zunutze: erkennt das Immunsystem eine Substanz als fremd, werden Antikörper gegen diese Substanz gebildet. Diese docken an die fremde Substanz an und markieren sie so als fremd: die Antigen-Antikörper-Reaktion. Soll jedoch ein bestimmtes Protein mittels ELISA nachgewiesen werden, muss der Antikörper bekannt sein. Diese bekannten Antikörper werden auf ein Trägermedium aufgebracht und angeln dann das gesuchte Protein heraus. Dieses gezielte "Herausfischen" lässt sich in einem von Enzymen verursachten Farbniederschlag ablesen.

Die Untersuchung auf STEC und pathogene *Y. enterocolitica* wurde mittels Real-time-PCR (von engl. polymerase-chain-reaction) durchgeführt. Die PCR stellt eine in-vitro-Methode dar, um spezifische DNA-Sequenzen z.B. des Virulenzgenes zu amplifizieren. Innerhalb einer sich wiederholenden und raschen Abfolge von Temperaturzyklen werden immer wieder drei gleiche Schritte durchlaufen: 1. die Denaturierung bei mind. 90 °C, um die DNA – Doppelstränge aufzuspalten, 2. die Anlagerung (engl. annealing) von einem einzelsträngigem DNA-Abschnitt, dem Primer, um die gesuchte DNA- Sequenz zu erreichen und 3. die Extension des Primers durch das Enzym DNA-Polymerase. Ein PCR-Zyklus verdoppelt die Anzahl der Ziel-DNA-Moleküle.

Die Real-time-PCR beruht auf dem Prinzip der PCR, bietet jedoch zusätzlich die Möglichkeit der Auswertung der PCR-Produkte bereits in jedem Zyklus des PCR-Ablaufes aufgrund der Verwendung von Fluoreszenzfarbstoffen. Die Produkte müssen nicht nach der Amplifizierung zur Detektion in ein Gel überführt werden. Das spart Zeit und verhindert „Carry-Over“ Effekte.

7.1.3.1 *Salmonella* spp.

Zur Vorbereitung der Proben auf die Untersuchung mit VIDAS[®] wurden je 10 g ± 0,1 g von der Oberfläche der Proben in einen Kolben mit 90 ml sterilem gepuffertem Peptonwasser eingewogen und 24 Stunden bei +37 °C bebrütet. Nach Ablauf der Bebrütungszeit wurden 0,1 ml in 10 ml Rappaport-Vassiliadis-Medium mit Soja (RVS-Anreicherungsbouillon) pipettiert und für 6-8 Stunden bei +41,5 ± 1 °C bebrütet. Die RVS-Anreicherungsbouillon nutzt die folgenden Eigenschaften von *Salmonella* spp. im Gegensatz zu anderen Enterobakteriazeen: Überlebensfähigkeit bei höherem osmotischem Druck, Vermehrung bei niedrigen pH-Werten, vergleichsweise höhere Resistenz gegenüber Malachitgrün und geringe Nährstoffansprüche. Malachitgrün dient zur Färbung von Bakterien. Danach wurden 1 ml der bebrüteten RVS-Anreicherungsbouillon in 10 ml M-Broth[®] (bioMérieux, Deutschland) überimpft und die M-Broth[®]-Röhrchen für 16-20 Stunden bei +41,5 ± 1 °C bebrütet. M-Broth[®] ist ein Nährsupplement, das die essentiellen Nährstoffe enthält und das Wachstum von *Salmonella* spp. und die Bildung ihrer Flagellen ermöglicht.

Das weitere Vorgehen bei der Untersuchung richtete sich nach den Vorgaben des Herstellers für VIDAS[®] *Salmonella* (VIDAS[®] SLM, Nr. 30702, bioMérieux, Deutschland).

7.1.3.2 *L. monocytogenes*

Hierzu wurden je 10 g ± 0,1 g der Proben in 90 ml sterile ½-Fraser-Bouillon eingewogen und bei +30 ± 1 °C für 24 Stunden bebrütet. Die ½-Fraser-Bouillon hat die halbe Inhibitorkonzentration der Fraser-Bouillon. Nach Ablauf der Bebrütungszeit wurden 1 ml der bebrüteten ½-Fraser-Bouillon in 10 ml Fraser-Bouillon pipettiert und für 24-26 Stunden bei +30 ± 1 °C bebrütet. Die Fraser-Bouillon gilt als außerordentlich genau im Nachweis von *Listeria* spp. in Lebensmitteln. Sie enthält Äsculin, Eisen(III)-ammoniumcitrat und Lithiumchlorid. Äsculin wird von allen *Listerienspezies* zu Äsculetin und Glucose hydrolisiert. Mit den vorhandenen Eisen(III)-Ionen bildet Äsculetin schwarze Präzipitate. Weiterhin fördert Äsculetin das Wachstum von *Listeria* spp.. Lithiumchlorid hemmt das Wachstum von Enterokokken, die ebenfalls Äsculin hydrolisieren können. Zu der Fraser-Bouillon werden zwei Supplemente dazugegeben. Das erste Supplement enthält

Ammoniumeisen(III)citrat, das das Wachstum von *Listeria* spp. fördert und zusammen mit Äsculin die β -D-Glucosidase-Aktivität der Bakterien nachweist. Das zweite Supplement enthält Acriflavin und Nalidixinsäure. Acriflavin ist ein fluoreszierendes Färbemittel für Bakterien. Es interpoliert mit Nukleinsäuren und verhindert so die bakterielle Replikation, während Nalidixinsäure das Enzym Gyrase in Bakterien hemmt. Da dieses Enzym nur in Bakterien vorkommt, werden die Gyrasehemmer zu den Antibiotika gezählt. Seine Wirksamkeit erstreckt sich auf grampositive und –negative Bakterien, auf die es in niedriger Dosis bakteriostatisch und in hoher Dosis bakteriozid wirkt. Acriflavin und Nalidixinsäure wirken somit stark selektiv auf das Wachstum der Begleitflora.

Das weitere Vorgehen der Untersuchung richtete sich nach den Vorgaben des Herstellers für das VIDAS[®]-Testverfahren auf das Vorliegen von *L. monocytogenes* (VIDAS[®] LMO2, Nr. 30704, bioMérieux, Deutschland).

7.1.3.3 Campylobacter spp.

Zur Vorbereitung auf das Screening wurden je 10 g \pm 0,1 g der Oberfläche von jeder Fleischproben in 90 ml Preston-Anreicherungsbouillon (= Nutrient Broth No2, Oxoid GmbH, Deutschland + Supplement) eingewogen und im Beutel-Walkmischgerät für 30 Sekunden homogenisiert. Die Preston-Anreicherungsbouillon ist ein Campylobacter-Selektiv, das insbesondere dann genutzt wird, wenn einerseits mit einer hohen Begleitflora oder andererseits mit einer niedrigen Campylobacter-Zahl gerechnet wird. Das Campylobacter Growth Supplement (SR 0232E, Oxoid, Deutschland) verstärkt das Wachstum und die Aerotoleranz von *Campylobacter* spp.. Das modified Preston Campylobacter Selective Supplement (SR 0204E, Oxoid, Deutschland) enthält Cycloheximidin, welches die Translation und somit die Proteinbiosynthese bei Eukaryonten hemmt. Anschließend erfolgte die Bebrütung unter mikroaerophilen Bedingungen bei $+41,5 \pm 0,5$ °C für 48 Stunden. Nach Ablauf der Bebrütungszeit wurde entsprechend den Vorgaben des Herstellers (VIDAS[®] CAM, Nr. 30111, bioMérieux, Deutschland) vorgegangen.

7.1.3.4 STEC

Zur Vorbereitung der Proben auf die Untersuchung mittels PCR wurden 10 g \pm 0,1 g je Probe in 90 ml CASO-Bouillon eingewogen und für 24 Stunden bei $+37$ °C unter aeroben Bedingungen bebrütet. Nach der Bebrütung wurden 100 μ l der

Anreicherungskultur in einem 1,5 ml-Eppendorfgefäß überführt und bei 13 000 x g für 3 Minuten zentrifugiert. Nach Verwerfen des Überstandes konnte das verbleibende Pellet mit Biorad InstaGene™ Matrix gereinigt werden. Das Prinzip beruht auf einem Anionenaustauscherharz, der Chelex®-Matrix, mit anschließender Zellyse durch Hitze (100 °C). Zu dem Pellet wurde 50 µl der InstaGene™-Matrix pipettiert und 15 Minuten bei +56 °C inkubiert. Anschließend wurden die Proben 10 Sekunden gevortext und 10 min bei +99 °C inkubiert. Nach erneutem Mischen für 10 Sekunden wurden die Proben bei 13.000 x g für 3 Minuten zentrifugiert und der Überstand in ein neues 1,5 ml Eppendorf-Reaktionsgefäß überführt. Anschließend wurden 2 µl in der PCR verwendet. Als Reaktionlösung wurde 2x ready-to-use iQ™ SYBR®Green Supermix (BioRad) verwendet. Für die Untersuchung wurde das iQ™5 Multicolor Real-Time PCR Detektionssystem (BioRad, Hercules, CA) verwendet.

Zur Detektion der PCR-Amplifikate wurde der Fluoreszenzfarbstoff SYBR®Green verwendet. Dieser Farbstoff bindet an doppelsträngige DNA (dsDNA) und fluoresziert gebunden nach Anregung. Da der Farbstoff jedoch nicht sequenzspezifisch und auch an Primer-Primer Verbindungen (Primer-Dimere) und unspezifische Amplifikate bindet, wurde eine Schmelzkurvenanalyse durchgeführt. Diese lässt zwischen den Primer-Dimeren und den gesuchten DNA-Amplifikaten unterscheiden. Die hierbei durchgeführte Temperaturerhöhung anschließend an die PCR führt zu einer Denaturierung der dsDNA, wonach die DNA in Einzelsträngen (ssDNA) vorliegt. Dabei besitzt jedes Produkt aufgrund seiner Länge und des Gehaltes an G/C-Sequenzen seine individuelle Schmelztemperatur und kann somit von anderen Produkten differenziert werden. Die dabei abnehmende Fluoreszenz wird gemessen. An der Temperaturschwelle, an der die Fluoreszenz ihren stärksten sehr niedrig ist, ist so eine Differenzierung möglich.

Als Zielgene dienten *stx1* und *stx2*. Verwendet wurden Primer MK1 und MK2 nach Methode L 07.18-1 (Nachweis, Isolierung und Charakterisierung von Verotoxin-bildenden *Escherichia coli* (VTEC) in Hackfleisch mittels PCR und DNA – Hybridisierungstechnik).

Die Auswertung erfolgt über den C_t-Wert (engl. threshold cycle) und die Schmelzkurven. Der C_t-Wert gibt die Anzahl der Vermehrungszyklen an, die nötig sind, eine Stärke an Fluoreszenz zu erhalten, die stärker ist, als der Hintergrund der Matrix. Ein C_t-Wert von über 40 wurde als negatives Ergebnis bewertet. Die

Schmelztemperatur für das *stx1* Gen lag bei $+81,5 \pm 0,5$ °C und für das *stx2* Gen bei $+83,0 \pm 0,5$ °C.

7.1.3.5 *Y. enterocolitica*

Die Screening-Untersuchung mittels Real-time PCR mit SYBR[®]Green erfolgte nach Fredriksson-Ahomaa et al. (2007). Für die Untersuchung wurde das iQ[™]5 Multicolor Real-Time PCR Detektionssystem (BioRad, Hercules, CA) verwendet.

Zur Vorbereitung der Proben auf die Real-time-PCR wurden je 10 g \pm 0,1 g in 90 ml CASO-Bouillon eingewogen und bei +37 °C für 24 Stunden unter aeroben Bedingungen bebrütet. Nach Ablauf der Bebrütungszeit wurde 100 μ l der Anreicherungskultur in ein 1,5 ml-Eppendorfgefäß überführt und bei 13 000 x g für 3 min zentrifugiert. Der Überstand wurde beseitigt, und das Sediment in 50 μ l InstaGene (Biorad, Hercules, CA) gegeben und bei +56 °C für 30 Minuten und dann bei +99 °C für 10 Minuten bebrütet. Es folgte eine weitere Zentrifugation, nach der der Überstand in ein neues Eppendorfgefäß überführt wurde. 2 μ l dieses Überstandes wurden als Templat genutzt. Als Reaktionlösung wurde 2x ready-to-use iQ[™] SYBR[®]Green Supermix (BioRad) verwendet.

Die Fluoreszenz wurde während des laufenden Temperaturzyklus (d.h. während der Phase der Anlagerung und der Extension) gemessen. Dies erfolgte mittels einem optischen Detektionssystem (iQ[™]5 Multicolor Real-Time PCR Detektions- System, BioRad), das automatisch die RFU (engl. relative fluorescence unit) gegen die Anzahl der PCR-Zyklen aufzeichnet.

Als Zielgen diente das 170 basepair (bp) große Fragment des *ail*-Genes, amplifiziert durch die Primer AIL1 und AIL2. Die Auswertung erfolgte mit Hilfe des C_t-Wertes sowie Kontrolle der Schmelzkurve. Ein C_t-Wert von über 40 wurde als negatives Ergebnis bewertet. Die Schmelztemperaturen für das *ail*-Gen lag bei $+80,0 \pm 0,5$ °C.

7.2 Sensorische Untersuchung

Die sensorische Untersuchung der Wildfleischproben wurde als einfach beschreibende Prüfung nach der Methode L 00.90-6 § 64 AMTLICHE SAMMLUNG durchgeführt.

Die Untersuchung erfolgte als Einzelprüfung im Anschluss an die Probenahme für die mikrobiologische Untersuchung. Es wurden die Merkmale Aussehen (visuelle Eindrücke), Form (visuelle Eindrücke), Geruch (olfaktorische Eindrücke) und Textur (haptische und auditive Eindrücke) im kalten und rohen Zustand beurteilt. Die Merkmale wurden mit charakteristischen Ausdrücken beschrieben, wobei sich an den Beispielen der Methode L 00.90-6 orientiert wurde.

7.3 Bewertung der mikrobiologischen Untersuchung und Ergebnisse

Die kulturelle Untersuchung der Proben erfolgte im Doppelansatz. Zur Ermittlung eines Einzelwertes für jede Probe wurde ein Mittelwert aus den Ergebnissen des Doppelansatzes der jeweiligen Probe gebildet. Zur Darstellung der ermittelten KbE/g für die verschiedenen kulturell untersuchten Parameter wurde ein Mittelwert aus allen Ergebnissen für den jeweiligen mikrobiologischen Parameter gebildet.

Die Gesamtzahl der Proben wurde in zwei Gruppen unterteilt: Gruppe I enthält alle Produkte, die in dem Betrieb weiterverarbeitet wurden, Gruppe II enthält alle Produkte, die in dem Betrieb bis zum Zeitpunkt des Weiterhandelns bei $-18 \pm 3 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ohne Weiterverarbeitung lagerten. Alle Tabellen und Abbildungen sind dieser Gruppierung folgend aufgelistet bzw. veranschaulicht.

Zur Beurteilung der mikrobiologischen Belastung des Rohmaterials einerseits und dem Hygienemanagement des Betriebes andererseits, wurden die Ergebnisse der untersuchten Parameter in annehmbar und unannehmbar unterteilt. Hierzu wurden zwei Richtwertgrößen (in KbE/g) für die untersuchten Hygieneparameter gewählt. Richtwert A orientiert sich für die Gesamtkeimzahl an dem Anhang der Entscheidung 2001/471/EG (Schweinefleisch), für *E. coli* und koagulase-positive Staphylokokken an der Fleischhygieneverordnung (Anl. 2a Nr. 9.3), für Enterobakteriaceen und Pseudomonaden an den Richtwerten zur Beurteilung von ungewürztem und gewürztem Hackfleisch der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM, Stand Mai 2006) und für *C. perfringens* an den mikrobiologischen Grenzwerten für Hackfleisch der Schweizer Hygieneverordnung 2002. Der Richtwert für Milchsäurebakterien orientiert sich an dem für die Gesamtkeimzahl. Richtwertgröße B wurde für die Parameter Gesamtkeimzahl, Milchsäurebildner, Enterobakteriaceen und *E. coli* um eine Zehnerpotenz, für den

Parameter Pseudomonaden um zwei Zehnerpotenzen höher gewählt. Bei der Wahl von Richtwert B wurden die Erlegungs- und Versorgungsbedingungen von Wildbret und die Infektionsdosen der einzelnen Bakterien bedacht.

7.3.1 Statistische Auswertung der Ergebnisse

Die statistische Analyse wurde mit der SPSS 15.0 Windows Evaluation Version Software und mit Unterstützung des statistischen Beratungslabors des Statistikinstituts der Ludwig-Maximilians-Universität, München, durchgeführt.

Die graphische Darstellung aller untersuchten Hygienekeime der Gruppe I und der Gruppe II erfolgte in gegenüberstellenden Boxplots. Dieses ist ein Diagramm, das zur graphischen Darstellung einer Reihe numerischer Daten verwendet wird. Es werden alle Punkte der sogenannten Fünf-Punkte-Zusammenfassung dargestellt. Diese Zusammenfassung besteht aus dem kleinsten Wert (x_{\min}), dem unteren Quartil ($x_{0,25}$), dem Median (x_{Median}), dem oberen Quartil ($x_{0,75}$) und dem größten Wert (x_{\max}). Ein Quartil ist ein Lokalisationsmaß einer stetigen Verteilung, bei dem die Wahrscheinlichkeit p für einen Wert kleiner p ($p=0,05$) oder größer $1-p$ ($1-0,05$) ist. Als Median wird das 50%-Quartil bezeichnet. D.h. der Median ist der Punkt, an dem 50% der Werte über diesem und 50% der Werte unter diesem liegen (MOORE et McCABE 1999a).

Die Box ist das Rechteck, welches durch die Quartile bestimmt wird. Ihr Anfang ist das untere Quartil (Q_1), das Ende ist das obere Quartil (Q_3), der Median wird durch einen Strich angegeben, und ihre Länge wird durch den Interquartilabstand bestimmt. Der Interquartilabstand (engl.: *interquartile range*, IQR) stellt ein Maß der Streuung dar, welches durch die Differenz des oberen und unteren Quartils bestimmt wird. Die Whisker geben den kleinsten (x_{\min}) und den größten (x_{\max}) Wert an, wobei ihre Länge nicht mehr als das Anderhalbfache des IQR beträgt. Alle Werte, die unter- oder oberhalb der Whisker liegen, werden als Ausreißer bezeichnet. Somit ist der Boxplot ein Mittel, verschiedene Maße der zentralen Tendenzen, Streuungen und Schiefe in einem Diagramm zusammenzufassen. Abb. 3 stellt das Schema eines Boxplots dar.

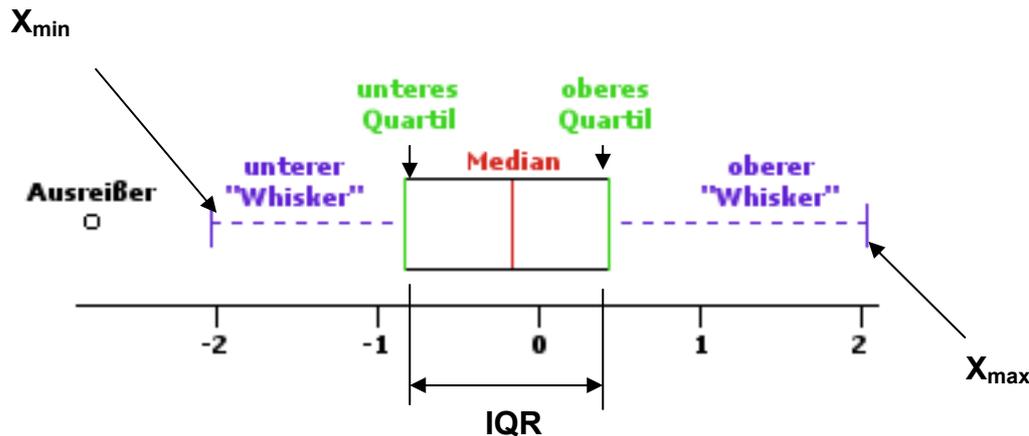


Abb 3: Schema eines Boxplots (Wikipedia 2007a)

Zum statistischen Nachweis von Unterschieden in den ermittelten Werten bezüglich der Gruppen I und II und bezüglich des Verhaltens (annehmbar/unannehmbar) der Gruppen gegenüber der Richtwerte A und B wurden Signifikanztests angewandt. Hierbei wurde versucht die Nullhypothese zu widerlegen. Diese geht davon aus, dass statistisch kein Unterschied nachzuweisen ist, und somit die gleichen Ergebnisse für beide Gruppen in den untersuchten Parametern ermittelt werden können. Das Ergebnis der Signifikanztests wird als p-Wert angegeben. Signifikanz liegt vor, wenn der p-Wert kleiner als das festgelegte Signifikanzniveau ist. Für diese Arbeit wurde das Signifikanzniveau bei 95% festgelegt, was bedeutet, dass Signifikanz dann vorlag, wenn $p < 0,05$ war.

Ein häufiger und auch in dieser Arbeit angewandter Signifikanztest ist der T-Test. Er wird eingesetzt, um stetige Zielgrößen zu betrachten und bezeichnet einen Hypothesentest (MOORE et McCABE 1999b). In dieser Arbeit wurde der T-Test dazu verwendet, einen Unterschied in den Erwartungswerten der Gruppen I und II zu testen. Aufgrund der geringen Probenanzahl wurde als weiterer Test der Exakte Test nach Fisher angewandt. Dieser stellt einen Signifikanztest dar, der auch bei einer geringen Anzahl von Beobachtungen zuverlässige Resultate liefert, was bei dem Chi-Quadrat-Test nicht zu erwarten wäre. Da der Chi-Quadrat-Test als asymptotischer Test funktioniert, liefert er erst ab einer bestimmten Stichprobengröße zuverlässige Resultate (MOORE et McCABE 1999c).

Die für die statistische Auswertung verwendeten Daten sind in Anhang L in einer Exceltabelle zusammengefasst.

D ERGEBNISSE

8 Mikrobiologische Untersuchung der Hygienekeime

Bei der Betrachtung der Ergebnisse, die bei der mikrobiologischen Untersuchung auf Hygienekeime ermittelt wurden, fällt auf, dass die Mittelwerte (KbE/g) der meisten Bakterien unerwartet hohe Werte aufweisen. Besonders auffallend war dies bei den mesophilen aeroben Bakterien ($2,80 \times 10^6$ KbE/g, mit einem Minimum bei $2,20 \times 10^4$ KbE/g und einem Maximum bei $2,20 \times 10^7$ KbE/g), den Milchsäurebakterien ($7,91 \times 10^5$ KbE/g, mit der gleichen minimalen und maximalen Spanne wie die mesophilen aeroben Bakterien), den Enterobakteriäzen ($9,40 \times 10^5$ KbE/g, mit einem Minimum bei $2,01 \times 10^4$ KbE/g und einem Maximum bei $1,06 \times 10^7$ KbE/g), den Pseudomonaden ($1,79 \times 10^6$ KbE/g, mit einem Minimum bei $2,20 \times 10^4$ KbE/g und einem Maximum bei $1,70 \times 10^7$ KbE/g) und *E. coli* ($1,36 \times 10^3$ KbE/g, mit einem Minimum bei $1,00 \times 10^2$ KbE/g und einem Maximum bei $2,80 \times 10^4$ KbE/g). Für *C. perfringens* und *S. aureus* liegen die Werte mit $1,33 \times 10^1$ KbE/g und $1,71 \times 10^2$ KbE/g in dem erwarteten Bereich. Die kleinste ermittelte Anzahl betrug hier $1,33 \times 10^1$ KbE/g und die größte $3,00 \times 10^3$ KbE/g (Tab. 6).

Tab. 6: Anzahl der Bakterienkolonien (KbE/g), die in 63 Wildfleischproben gefunden wurden

Bakterium	Mittelwert	Kleinste Anzahl (KbE / g)	Höchste Anzahl (KbE / g)
	der Anzahl (KbE / g)		
Mesophile aerobe Bakterien	$2,80 \times 10^6$	$2,20 \times 10^4$	$2,20 \times 10^7$
Milchsäurebakterien	$7,91 \times 10^5$	$2,20 \times 10^4$	$2,20 \times 10^7$
Enterobacteriaceen	$9,40 \times 10^5$	$2,01 \times 10^4$	$1,06 \times 10^7$
Pseudomonaden	$1,79 \times 10^6$	$2,20 \times 10^4$	$1,70 \times 10^7$
<i>E. coli</i>	$1,36 \times 10^3$	$1,00 \times 10^2$	$2,80 \times 10^4$
<i>C. perfringens</i>	$1,33 \times 10^1$	$1,00 \times 10^1$	$1,20 \times 10^2$
<i>S. aureus</i>	$1,71 \times 10^2$	$1,00 \times 10^2$	$3,00 \times 10^3$

Der Vergleich der 25 Produkte, die in dem Betrieb weiterverarbeitet wurden (Gruppe I), mit den 38 Fleischproben desjenigen Warensortiments, das in dem Betrieb ausschließlich bei -18 °C gelagerte wurde (Gruppe II), bezüglich ihrer Mittelwerte ergab keinen Unterschied (Tab. 7).

Tab. 7: Anzahl der Bakterienkolonien (KbE/g), die in 25 Wildfleischproben der Gruppe I und in 38 Wildfleischproben der Gruppe II gefunden wurde unter Angabe der Richtwertgrößen A und B

Bakterium	Gruppe I ^a	Gruppe II ^b	Richtwert	
	Mittlere	Mittlere	(unannehmbar)	
	Anzahl (KbE/g)	Anzahl (KbE/g)	A	B
Mesophile aerobe Bakterien	2,16x10 ⁶	3,21x10 ⁶	>10 ⁵	>10 ⁶
Milchsäurebakterien	1,60x10 ⁶	2,62x10 ⁵	>10 ⁵	>10 ⁶
Enterobakteriazeen	5,69x10 ⁵	1,18x10 ⁶	>10 ⁴	>10 ⁵
Pseudomonaden	8,82x10 ⁵	2,38x10 ⁶	>10 ⁴	>10 ⁶
<i>E. coli</i>	1,88x10 ³	1,03x10 ³	>5,0x10 ²	>10 ³
<i>C. perfringens</i>	1,08x10 ¹	1,50x10 ¹	>10 ⁴	>10 ⁴
<i>S. aureus</i>	1,52x10 ²	1,84x10 ²	>10 ³	>10 ³

^a Ware, die in dem Betrieb weiterverarbeitet und gelagert wurde.

^b Ware, die in dem Betrieb ausschließlich gelagert wurde.

Richtwert A: Entscheidung 2001/471/EG (Schweinefleisch), FIHV, DGHM 2006, Schweizer Hygieneverordnung 2002;

Richtwert B: Richtwert A um eine und teilweise um zwei Zehnerpotenzen erhöht

Tab. 8: Anzahl der Bakterienkolonien (KbE/g), die in 25 Wildfleischproben der Gruppe I und in 38 Wildfleischproben der Gruppe II gefunden wurde unter Angabe des kleinsten (min.) und des größten (max.) ermittelten Wertes

Bakterien	Gruppe I		Gruppe II	
	min.- max. Anzahl (KbE/g)		min.-max. Anzahl (KbE/g)	
Mesophile aerobe Bakterien	2,20x10 ⁴ – 1,85x10 ⁷		2,20x10 ⁴ – 2,20x10 ⁷	
Milchsäurebakterien	2,20x10 ⁴ – 2,20x10 ⁷		2,20x10 ⁴ – 3,10x10 ⁶	
Enterobakteriazeen	2,01x10 ⁴ – 3,40x10 ⁶		2,01x10 ⁴ – 1,06x10 ⁷	
Pseudomonaden	2,20x10 ⁴ – 8,50x10 ⁶		2,20x10 ⁴ – 1,70x10 ⁷	
<i>E. coli</i>	1,00x10 ² – 7,00x10 ³		1,00x10 ² – 2,80x10 ⁴	
<i>C. perfringens</i>	1,00x10 ¹ – 3,00x10 ¹		1,00x10 ¹ – 1,20x10 ²	
<i>S. aureus</i>	1,00x10 ² – 1,10x10 ³		1,00x10 ² – 3,00x10 ³	

Eine Einordnung der 63 Fleischproben in die zwei Kategorien annehmbar und unannehmbar zeigte, dass keine annehmbare Fleischprobe bezüglich Richtwert A (>10⁴ KbE/g), getestet auf Pseudomonaden, gefunden werden konnte. Wurden die ermittelten Werte für diesen Parameter auf Richtwert B – für Pseudomonaden >10⁶ KbE/g – bezogen, waren über die Hälfte der Proben (65%) als annehmbar einzustufen. Bei der Untersuchung auf Enterobakteriazeen waren ungefähr die Hälfte der Proben (59%) als annehmbar bezüglich Richtwert A (>10⁴ KbE/g) einzustufen, während bezüglich Richtwert B 84% der Proben als annehmbar eingestuft wurden. Die Betrachtung der aeroben mesophilen Bakterien zeigte, dass 59% der Proben bezogen auf Richtwerte A (>10⁵ KbE/g) als unannehmbar beurteilt wurden, während im Bezug auf Richtwert B (>10⁶ KbE/g) noch 41% als unannehmbar eingestuft wurden. Annehmbar waren hier je Richtwert ungefähr die Hälfte der Proben (Richtwert A 41% und Richtwert B 59%). Für den Parameter *E. coli* waren bezüglich Richtwert A (>5,0x10² KbE/g) 84% aller Fleischproben annehmbar und 16% unannehmbar. Bezogen auf Richtwert B (>10³ KbE/g) waren 87% der

Proben annehmbar und 13% unannehmbar. Für die Parameter Milchsäurebakterien, *C. perfringens* und *S. aureus* waren der Großteil der Proben bezüglich Richtwert A annehmbar (73%, 100% und 97% respektive). Das Gleiche galt bezüglich Richtwert B (86%, 100% und 97% respektive). 27% der auf Milchsäurebakterien untersuchten Proben waren unannehmbar bezüglich Richtwert A ($>10^5$ KbE/g), und 14% bezüglich Richtwert B ($>10^6$ KbE/g). Keine Fleischprobe, die auf *C. perfringens* untersucht wurde, konnte als unannehmbar beurteilt werden (Richtwert A, B $>10^4$ KbE/g). Bei den auf *S. aureus* untersuchten Proben konnten bezogen auf die Richtwerte A und B ($>10^3$ KbE/g) je 3% der 63 Wildfleischproben als unannehmbar eingestuft werden (Tab. 9).

Tab. 9: Beurteilung der 63 Wildfleischproben der Gruppe I und Gruppe II in annehmbar und unannehmbar anhand der untersuchten Bakterien bezüglich den Richtwertgrößen A und B

Bakterium	Anzahl der Proben	Richtwert A		Richtwert B	
		An-nehmbar (%)	Un-nehmbar (%)	An-nehmbar (%)	Un-nehmbar (%)
Aerobe mesophile Bakterien	63	26 (41)	37 (59)	37 (59)	26 (41)
Milchsäurebakterien	63	46 (73)	17 (27)	54 (86)	9 (14)
Enterobakteriazeen	63	37 (59)	26 (41)	54 (86)	9 (14)
Pseudomonaden	63	0	63 (100)	41 (65)	22 (35)
<i>E. coli</i>	63	53 (84)	10 (16)	55 (87)	8 (13)
<i>C. perfringens</i>	63	3 (100)	0	63 (100)	0
<i>S. aureus</i>	63	61 (97)	2 (3)	61 (97)	2 (3)

Die statistische Untersuchung auf einen signifikanten Unterschied der Fleischproben der Gruppe I und der Proben der Gruppe II bezogen auf die Richtwerte A und B ergab für den Parameter Enterobakteriäzen eine Signifikanz ($p < 0,05$). Dies ist aus dem Boxplot-Diagramm ersichtbar (Abb. 4).

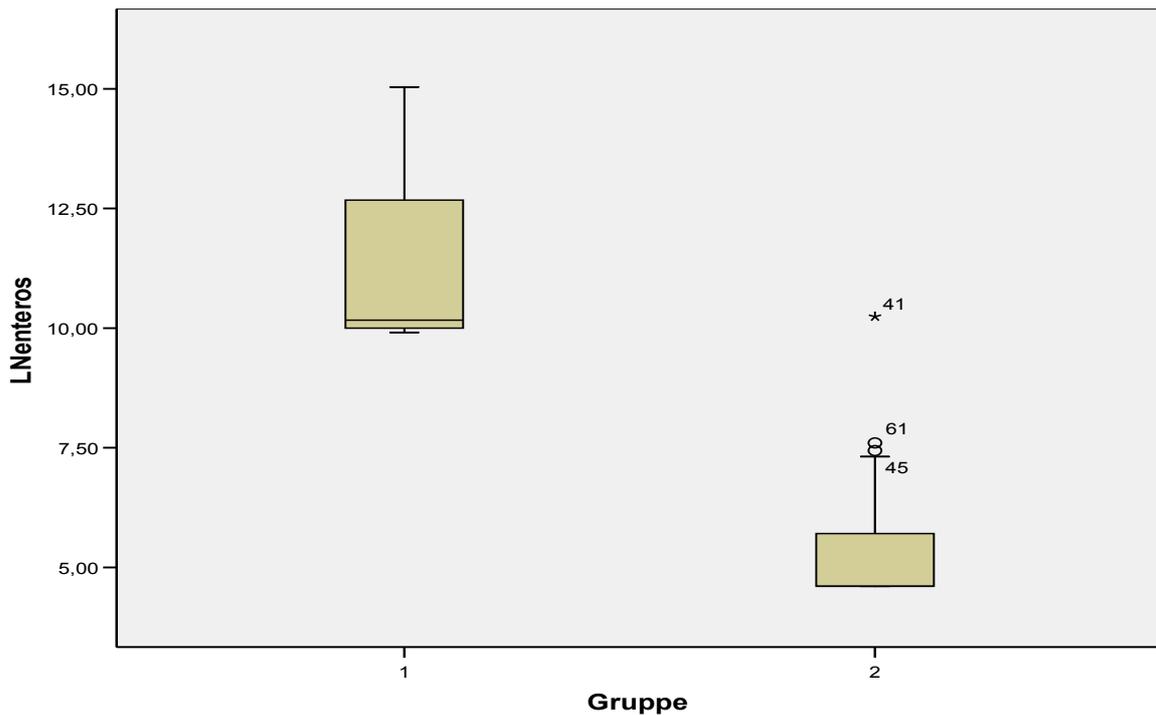


Abb. 4: Boxplot-Diagramm für die Mittelwerte des Parameters Enterobakteriäzen. Es werden die Gruppe I (Ware, die in dem Betrieb weiterverarbeitet wurde) und die Gruppe II (Ware, die in dem Betrieb ausschließlich gelagert wurde) gegenübergestellt

Für die restlichen Keime konnte keine Signifikanz ($p > 0,05$) ermittelt werden. Abbildung 5 zeigt ein Boxplot-Diagramm für die Mittelwerte der Gruppen I und II des Parameters mesophile aerobe Bakterien. Wie aus dem Diagramm ersichtlich, sind die ermittelten Werte der beiden Gruppen in dem gleichen Bereich homogen verteilt.

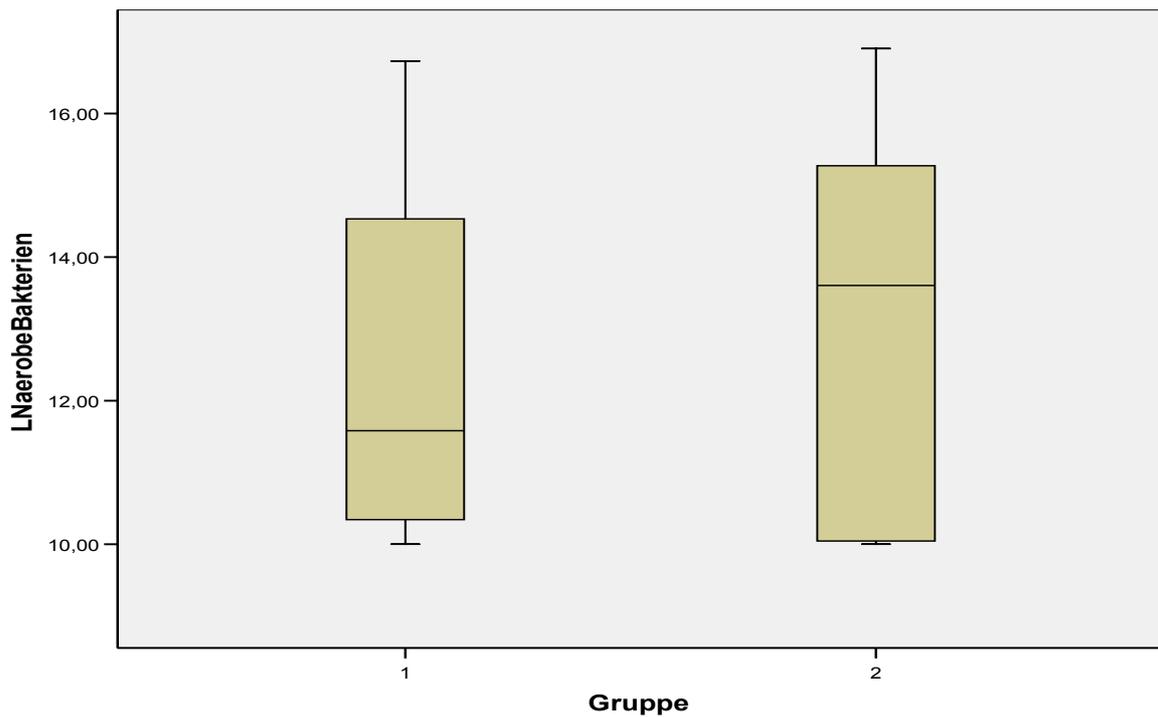


Abb. 5: Boxplot-Diagramm für die Mittelwerte des Parameters mesophile aerobe Bakterien

Das Gleiche ist in dem Boxplot-Diagramm für den Parameter *S. aureus* zu sehen. Hier liegen die Mittelwerte der beiden Gruppen, abgesehen von wenigen Ausreißern, auf dem gleichen Wert und bilden somit eine Linie anstatt eines Boxplots (Abb. 6).

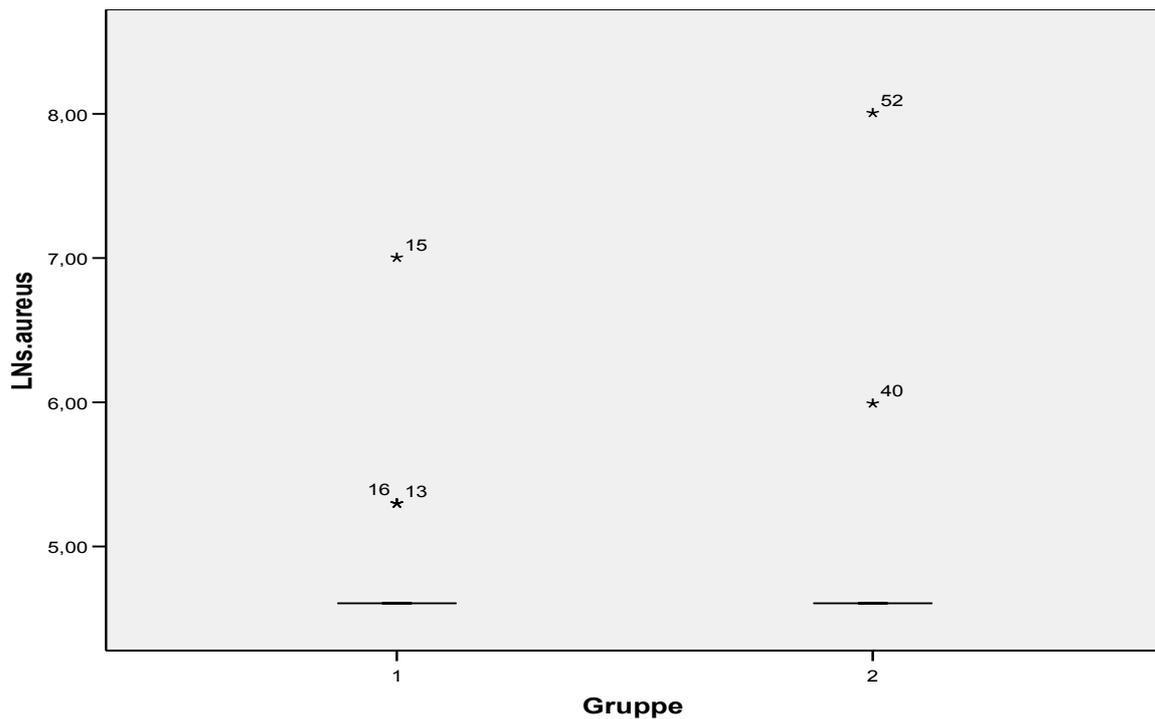


Abb. 6: Boxplot-Diagramm für die Mittelwerte des Parameters *S. aureus*

8.1.1 Screeninguntersuchung auf pathogene Keime

Bei der Untersuchung mittels VIDAS[®] wurden 13% auf *L. monocytogenes* positive Fleischproben gefunden. Von diesen 8 positiven Proben stammten 5 von Wildwiederkäuern, 1 vom Wildschwein, 2 vom Vogel und keine von einem Feldhasen. 6% positive Proben auf *Salmonella spp.* wurden gefunden. Davon waren 2 Fleischproben vom Wildschwein, 1 vom Wildwiederkäuer und 1 vom Feldhasen/Kaninchen. Die Untersuchung auf *Campylobacter spp.* ergab 1 positive Vogelprobe. Das macht im Gesamten einen Anteil von 2 Prozent aus (Tab. 7).

Bei der Screeninguntersuchung mittels PCR auf STEC und pathogenen *Y. enterocolitica* fiel der hohe Anteil positiver Fleischproben auf. So waren 52% aller 63 Proben STEC-positiv und 40% *Y. enterocolitica*-positiv. Besonders hoch war der Anteil positiver Proben bei dem Fleisch, das von Wildwiederkäuern stammte. So waren 62% STEC-positiv und 47% *Y. enterocolitica*-positiv. Auch beim

Wildschweinfleisch war die Anzahl STEC-positiver Proben hoch. Das Bakterium konnte aus 64% der Proben detektiert werden. Bei *Y. enterocolitica* war neben dem Wildwiederkäuerfleisch die Anzahl der positiven Vogelfleischproben sehr hoch. Hier konnte aus vier Vogelfleischproben der pathogene Keim mittels PCR detektiert werden. Alle dieser vier positiven Proben waren Fasanenfleisch.

Tab. 10: Prävalenz pathogener Bakterien in 63 Wildfleischproben.

Tierart	Anzahl der Probe	Salmonella (%)	STEC (%)	YE (%)	Campylobacter (%)	LM (%)
Wiederkäuer	34	1 (3)	21 (62)	16 (47)	0	5 (15)
Wildschwein	14	2 (14)	9 (64)	4 (29)	0	1 (7)
Feldhase/ Kaninchen	7	1 (14)	2 (29)	1 (14)	0	0
Vogel	8	0	1 (13)	4 (50)	1 (13)	2 (29)
Gesamt	63	4 (6)	33 (52)	25 (40)	1 (2)	8 (13)

Legende: YE– *Y. enterocolitica*, LM – *L. monocytogenes*

8.1.2 Sensorische Untersuchung

Keine der 63 untersuchten Proben wick in ihrer Organoleptik nach 12stündigem Auftauen im Kühlschrank ab. So zeigten die Fleischproben einen arttypischen Geruch und eine feuchte Oberfläche ohne Auflagerungen oder farbliche Veränderungen. Wurden die Fleischproben jedoch für weitere 24 Stunden im Kühlschrank bei +4 °C belassen, waren alle Proben sensorisch zu beanstanden. So waren die Proben im Geruch muffig und z. T. stark milchsauer, die Oberfläche schmierig mit einem leicht ins Grünliche ziehenden Schimmel.

E DISKUSSION

Unter der Diskussion einer wissenschaftlichen Monographie versteht man üblicherweise das gegenseitige Abwägen von eigenen Ergebnissen mit Daten aus der Fachliteratur. Anhand dieser kritischen Bewertung erfolgt die Einordnung dieser Ergebnisse in eine wissenschaftliche Hierarchie, welche dann zu plausiblen Schlussfolgerungen hinleitet. Im vorliegenden Fall wird dieser „klassischen Systematik“ nur bedingt gefolgt, da Untersuchungen bei tiefgefrorenem Wildfleisch nur sporadisch veröffentlicht sind. Hingegen sind Untersuchungen den Keimgehalt und die Keimzahl bei frisch erlegtem Wild, frischem Wildbret aus dem Handel und die Fäzes der Wildtiere betreffend mehrfach in der Literatur beschrieben. Somit ist eine Einordnung der eigenen Ergebnisse nur begrenzt möglich. Des Weiteren müssen bei der Betrachtung der eigenen Ergebnisse im Bezug auf die aus der Literatur entnommenen Ergebnisse methodisch bedingte Schwankungen bedacht werden. Die Einordnung der in dieser Arbeit ermittelten Ergebnisse folgt der im Kapitel Material und Methoden aufgeführten Reihenfolge.

Hygienekeime

Aerobe mesophile Keimzahl

Die in dieser Arbeit ermittelten mittleren Keimzahlen von $2,80 \times 10^6$ KbE/g mit einem Maximum von $2,20 \times 10^7$ KbE/g entsprechen den Ergebnissen, die in den Untersuchungen von KNIEWALLNER (1969) und MESSELHÄUSER (2007) aus Österreich und Deutschland bei frischem und tiefgefrorenem Wildfleisch aus dem Handel beschrieben werden. Während KNIEWALLNER (1969) für die Oberflächenbeprobung von Wildbret eine durchschnittliche Keimzahl von $2,15 \times 10^7$ KbE/g mit einem Maximum bei $9,00 \times 10^8$ KbE/g angab, setzten MESSELHÄUSER et al. (2007) die aerobe mesophile Keimzahl für den überwiegenden Teil der frischen und tiefgefrorenen Wildbretproben bei $1,00 \times 10^6$ KbE/g bis $1,00 \times 10^9$ KbE/g fest. Demgegenüber beschrieben DEUTZ et al. (2000) einen Medianwert von $2,40 \times 10^5$ KbE/cm² bis $2,00 \times 10^6$ KbE/cm² bei frischem Wildbret.

Erstaunlich ist bei den eigenen Untersuchungen der hohe Keimgehalt der tiefgefrorenen Proben, da nach allgemeiner Erkenntnis bei einer Lagerung bei -18 °C von einem geringen Absinken der Keimzahl je nach Keimzahl auszugehen ist.

Obwohl eine Wiederbelebung einiger Keime während des Auftauprozesses möglich ist, spricht ein derart hoher Keimgehalt für eine starke Kontamination der Fleischoberfläche vor dem Einfrierprozess. Eine mögliche Ursache für den hohen Keimgehalt kann ein nicht unverzügliches Versorgen des erlegten Stückes sein, wie LENZE (1977) bei seinen Untersuchungen in Deutschland beschrieb. Des Weiteren ermöglicht z.B. eine Unterbrechung der Kühlkette die Regeneration des Bakterienstoffwechsels und somit eine Keimvermehrung.

Milchsäurebakterien und Enterobakteriäzen

Während die Milchsäurebakterien die vorherrschende Keimflora auf vakuumverpacktem Fleisch bilden, können sich die Enterobakteriäzen erst dann durchsetzen, wenn aufgrund mangelnder Kohlenhydrate die Gärung zum Stillstand kommt, und der pH-Wert des Produktes steigt. Die Folge ist eine schnelle Vermehrung der Enterobakteriäzen mit Bildung unerwünschter Eiweißfäulnisprodukte. Die hohe Anzahl der Milchsäurebakterien (im Mittel $7,91 \times 10^5$ KbE/g) und der Enterobakteriäzen (im Mittel $9,40 \times 10^5$ KbE/g), die in der vorliegenden Untersuchung gefunden wurden, spricht für einen einsetzenden Verderb des verpackten Fleisches, da beide zu den Verderbniskeimen gehören.

Eine hohe Zahl von Enterobakteriäzen indiziert darüber hinaus ein unsauberes Arbeiten beim Aufbrechen des Wildes, eine unzureichende Trocknung des Tierkörpers nach dem Erlegen, sowie eine unzureichende Kühlung des Wildbrets. Die von KNIEWALLNER (1969) aufgestellte Hypothese, dass eine hohe mesophile aerobe Keimzahl bei Wildbret von freilebendem Wild mit einer hohen Keimzahl Enterobakteriäzen einhergeht, konnte hier bestätigt werden. Die von ihm genannte korrelierende mesophile Keimzahl liegt zwar höher als die hier ermittelte, dies ist jedoch auf das Absinken der Keimzahl während der Lagerung des Wildbrets bei -18 °C zurückzuführen. Auch die Ergebnisse von MESSELHÄUSER et al. (2007) bei frischem und tiefgefrorenem Wildfleisch sowie von DEUTZ et al. (2000) bestätigen die von KNIEWALLNER (1969) genannte Hypothese.

Pseudomonaden

Das für diese Arbeit beprobte Fleisch war vakuumverpackt und enthielt keine makroskopisch erkennbaren Lufteinschlüsse. Eine Vermehrung der obligat aeroben Bakterien sollte daher ausgeschlossen und von einer Vermehrung der

mikroaerophilen und anaeroben Keimflora ausgegangen werden können. Vor diesem Hintergrund ist der hier ermittelte Mittelwert von $1,79 \times 10^6$ KbE/g erstaunlich. Aber auch MESSELHÄUSER et al. (2007) stellten bei den meisten Proben ein Rasenwachstum auf den Pseudomonas-Agarplatten fest. Es wurden jedoch keine Angaben zu der Verpackungsart des Wildbrets gemacht.

Da bei den im Betrieb verarbeiteten Wildbretproben ein hoher Pseudomonadengehalt auffiel, bleibt zu vermuten, ob die Kontamination auf die Umgebungsluft in dem Weiterverarbeitungsbetrieb zurückzuführen ist. Durch die aeroben Bedingungen nach Öffnen der Vakuumverpackung haben die Pseudomonaden die Möglichkeit sich zu vermehren. Dies muss besonders dann berücksichtigt werden, wenn das Fleisch bei bis zu $+4$ °C zur Weiterverarbeitung - aus der Vakuumverpackung befreit - aufgetaut wird, da der Keim sich aufgrund seines psychrotrophen Verhaltens auch bei Kühlschranktemperaturen vermehren kann. Ein anschließendes Vakuumieren und Einfrieren der Produkte bringt den Stoffwechsel der Pseudomonaden zum Erliegen, ein Abtöten erfolgt jedoch nicht. Eine weitere Erklärung für die hohe Kontamination mit Pseudomonaden, wäre zum einen die mögliche Bildung einer Pseudomonadenflora in der Wildkammer durch kontaminierte Umgebungsluft oder durch nicht einwandfrei hygienisches Arbeiten beim Umgang mit dem Wildbret durch den Jäger. Zum anderen ist die hohe Empfänglichkeit des Wildbrets für Verderbsorganismen aufgrund des schlechten Ausblutungsgrades und des relativ hohen pH-Wertes des Fleisches in Betracht zu ziehen (BAUR et REIFF 1976).

Ein Zusammenhang zwischen hohen Keimzahlen und der Weiterverarbeitung mit vorherigem Auftauen der Produkte konnte in dieser Studie jedoch nicht hergestellt werden, da Produkte, die ohne Bearbeitung bei -18 °C in dem Betrieb zwischengelagert wurden, einen Keimgehalt der gleichen Größenordnung aufwiesen. Somit bleibt der Ursprung der Pseudomonadenbelastung ungeklärt.

E. coli

Die in dieser Arbeit ermittelte Spanne bei *E. coli* von $1,00 \times 10^2$ KbE/g bis zu $2,80 \times 10^4$ KbE/g wurde von MESSELHÄUSER et al. (2007) in den 46 *E. coli*-positiven Proben aus ihrem Pool von 326 amtlich gezogenen Proben in ihrer Studie bestätigt. Ebenfalls fanden DEUTZ et al. (2000) und PAULSEN et al. (2003) bei

Untersuchungen in Österreich positive Proben auf *E. coli* in Wischtupferproben, die von Schalen- und Rehwild stammten.

Der wenig gegen Behandlungen wie Kühlen, Tiefrieren oder Erhitzen resistente Keim ist ein Indikator für eine ausreichende Kälte- oder Wärmebehandlung, wohin gegen er aber auch als natürlicher Darmbewohner bei Mensch und Tier ein Hinweis auf eine fäkale Rekontamination nach der Behandlung des Produktes darstellt. Da die Proben in dieser Untersuchung bis zum Tag der Beprobung bei -18 °C gelagert wurden, muss von einer massiven Kontamination des Wildbrets vor dem Einfrieren, während des Weiterverarbeitungsprozesses sowie möglicherweise schon während des Aufbrechens am Erlegungsort ausgegangen werden.

C. perfringens

Das weltweit ubiquitär verbreitete Bakterium konnte wie in Veröffentlichungen aus Österreich, Norwegen, Kanada und Amerika beschrieben (KNIEWALLNER 1969, ASCHFALK et al. 2002 und 2003, SIPO 2003, EMBURY-HYATT et al. 2005, DELGER et al. 2006) auch in der vorliegenden Studie kulturell isoliert werden. ASCHFALK et al. (2002) postulieren sogar, dass *C. perfringens* Teil der Normalflora beim Rentier sei. Dies kann anhand dieser Untersuchung nicht bekräftigt werden, da in dem Untersuchungsplan kein Wildbret von Rentier vorgesehen war. Jedoch stammten über die Hälfte aller hier untersuchten Proben von Wildwiederkäuern, wonach auch hier ein ähnlicher Zusammenhang hergestellt werden kann.

S. aureus

Das Vorkommen von *S. aureus* in Wildfleischproben lässt sich aufgrund seines Haut- und Schleimhautparasitismus bei Mensch und Tier erklären. So isolierten ADEKEYE (1980) und POUTREL et SUTRA (1993) aus dem Kot und dem Nasenabstrich von Kaninchen, Pferd und Geflügel enterotoxinogene *S. aureus*-Stämme, PLOMMET et WILSON (1969) wiesen *S. aureus*-Isolate in den Nasenabstrichen von wildlebenden Füchsen, Bibern, Nerzen und Waschbären. Die Isolierung des Keimes war auch aus Wildfleischproben möglich. So wurde in der vorliegenden Arbeit im Mittel ein Wert von $1,71 \times 10^2$ KbE/g errechnet. Auch MESSELHÄUSER et al. (2007) ermittelten Werte, die nicht höher als $1,90 \times 10^2$ KbE/g lagen. Jedoch ergab der Großteil der von ihnen untersuchten Proben ein negatives

Ergebnis auf das Vorliegen von *S. aureus*. Die Studie von DEUTZ et al. (2000) ergab die gleichen Ergebnisse, wobei bei 14% der Wildbretproben Keimzahlen zwischen $1,00 \times 10^3$ KbE/cm² und $1,00 \times 10^5$ KbE/cm² ermittelt wurden, was auf ein unsauberes Arbeiten beim Versorgen des Wildbrets hindeutet. Die durchschnittlich geringe Keimzahl ist nicht verwunderlich, da der Keim wenig resistent gegenüber Einfrier- und Trocknungsvorgänge ist.

Pathogene Keime

Dem heute üblichen Trend Schnellmethoden in Untersuchungsverfahren anzuwenden folgend, wurde auch in dieser wissenschaftlichen Arbeit das Screening auf die Pathogenen *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., STEC und *Y. enterocolitica* mittels den Schnellmethoden VIDAS[®] und PCR durchgeführt. Zusätzlich dient die PCR der Isolierung und Bestätigung gesuchter Gensequenzen.

VIDAS[®]

Das Screening auf *L. monocytogenes* ergab acht positive Proben. Von dem Verdacht einer im Betrieb zustande gekommenen Kontamination kann hier jedoch Abstand genommen werden, da für die Verbreitung eines Nischenkeimes zu wenige Proben positiv getestet werden konnten (GOBAT et JEMMI 1990, JEMMI et STEPHAN 2005, IVANEK et al. 2006). Vielmehr kommt die Kontamination des Wildbrets durch den ubiquitär vorkommenden Keim vom Zeitpunkt des Versorgens bis zur Anlieferung in dem Wildverarbeitungsbetrieb oder in der Wildkammer in Frage. So wiesen WEIS et SEELIGER (1975) in Deutschland, HATKIN et al. (1986) in Amerika, YOSHIDA et al. (2000) und HAYASHIDANI et al. (2002) in Japan, N.N. (2003), McLAUHLIN et al. (2004) in Großbritannien und JEMMI et STEPHAN (2006) in der Schweiz den Erreger in frischem und gefrorenem Fleisch, in Schlachthofabfällen, in dem Kot gesunder und in dem Fleisch erlegter Wildtiere nach.

Von den insgesamt 63 untersuchten Proben waren vier positiv auf **Salmonellen**; zwei stammten vom Wildschwein und eine von einem Wildwiederkäuer. Auch KANAI et al. (1997) konnten in Japan zwei auf Salmonellen positive Wildschweinfleischproben aus dem Handel isolieren, während MESSELHÄUSER et al. (2007) der Nachweis von Salmonellen in 20 Wildbretproben von Haarwild in Deutschland gelang. Der Nachweis von Salmonellen beim Wildwiederkäuer gelang ASCHFALK et THÓRISSON (2004) in Form eines

Antikörpernachweises bei 2 Blutproben von 59 ausgewachsenen, freilebenden Rentieren in Island. Auch RENTER et al. (2006) konnten vereinzelt Salmonellen im Kot von freilebenden Rentieren in Amerika nachweisen.

Während in einigen Studien in Australien und Skandinavien (HILL et al. 1987, HÄNNINEN et al. 2001, LILLEHAUG et al. 2005) *Campylobacter* spp. vereinzelt im Kot gesunder und erkrankter Wildwiederkäuer nachgewiesen wurden, konnten andere Untersuchungen in Italien, Skandinavien und Deutschland (PAGANO et al. 1985, ASCHFALK 2003, WAHLSTRÖM et al. 2003, KEMPER et al. 2006) dies nicht bestätigen. In dieser Arbeit gelang es nicht den Erreger aus im Handel erhältlichen Wildbretproben, die von Haarwild stammten, zu isolieren. Gleiche Ergebnisse präsentieren die Japaner KANAI et al. (1997). Jedoch konnte *Campylobacter* spp. aus einer Wildbretprobe, die von Federwild stammte, isoliert werden. Somit erwiesen sich 13% als *Campylobacter* spp.-positiv. Hiermit kann Anlehnung an die Annahme der Dänen PETERSEN et al. (2001) genommen werden, dass die Durchseuchungsrate beim Wildtier schätzungsweise 20-30% beträgt. Zusätzlich kann die Hypothese, dass Wildvögel ein Reservoir für *Campylobacter* spp. darstellen, in dieser wie auch in anderen Studien in Amerika, Chile und Großbritannien (LUECHTEFELD 1980, FERNÁNDEZ et al. 1996, CRAVEN et al. 2000 und COBURN et al. 2005) bekräftigt werden.

PCR

Während in Untersuchungen aus Skandinavien (WAHLSTRÖM et al. 2003, LILLEHAUG et al. 2005, ASCHFALK et al. 2003) nur vereinzelt **STEC** im Kot von Wildtieren nachgewiesen werden konnte, waren demgegenüber in dieser Untersuchung 52% aller Wildbretproben STEC-positiv. Auch das Bundesamt für Risikobewertung (2007) schätzt Wildfleisch als eine Quelle für EHEC-Infektionen beim Menschen ein. Als Ursache hierfür kommen entweder eine starke Aufregung vor dem Erlegen bzw. eine fäkale Kontamination beim Versorgen des Stückes am Erlegungsort oder eine Verunreinigung beim Bearbeiten im Wildverarbeitungsbetrieb in Frage. Da der Keim jedoch wenig resistent gegenüber Kälte- oder Wärmebehandlung ist, kann angenommen werden, dass entweder das Wildbret ursprünglich einer massiven Keimbelastung ausgesetzt war, oder dass das Wildbret nach dem Behandeln im Verarbeitungsbetrieb rekontaminiert wurde.

Auch wenn in dieser Studie 50% aller untersuchten Wildbretproben ein positives Ergebnis lieferten, so soll hier ausdrücklich darauf hingewiesen werden, dass bei gut durcherhitztem und hygienisch einwandfreiem Zubereiten des Wildbrets nicht von einer Gesundheitsgefahr für den Verbraucher auszugehen ist. Jedoch bleibt zu spekulieren, ob die Zubereitungsart wie es in der Haute Cuisine üblich ist, eine Abtötung des Tiefenkeimgehaltes, der insbesondere nach Hetzjagden zu erwarten ist, gewährleistet ist, und somit der Verzehr solch zubereiteter Speisen einen risikofreien Genuss für den Konsumenten darstellt.

So wie in Untersuchungen in Kanada, Amerika, Neuseeland, Japan, Italien, Deutschland und Bulgarien (HACKING et SILEO 1974, SHAYEGANI et al. 1986, HENDERSON 1984, KATO et al. 1985, HAYASHIDANI et al. 2002, PAGANO et al. 1985, KEMPER et al. 2006, NIKOLOVA et al. 2001) zu dem Vorkommen von *Y. enterocolitica* entweder in den Exkreten oder in den Organen von Wildtieren, konnte auch hier ein Anteil von 40% der Wildbretproben als *Y. enterocolitica*-positiv isoliert werden. Da bei der Untersuchung auf *Y. enterocolitica* ein Überblick über die Durchseuchungsrate der Wildtiere geschaffen werden sollte, wäre weiterführend zu dieser Studie eine Identifizierung der *Y. enterocolitica*-Isolate von Bedeutung, da der Bioserotyp 4 O:3 bei humanen Gastroenteritiden am häufigsten in Europa isoliert wird. Die Gesundheitsgefahr für den Verbraucher ist analog zu den Ausführungen bei STEC einzuschätzen.

Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung diente dazu, einen Vergleich zwischen den Probengruppen I und II herzustellen. Probengruppe I stellte den Teil der Wildbretproben dar, die in einem süddeutschen Wildverarbeitungsbetrieb weiterverarbeitet wurden. Probengruppe II enthält diejenigen Wildbretproben, die in dem süddeutschen Wildverarbeitungsbetrieb ausschließliche bei -18 °C gelagert wurden. Um einen Vergleich zwischen den beiden Gruppen ziehen zu können, wurden die Ergebnisse der Probengruppen, für jeden Hygienekeim einzeln, mittels statistischer Testmethoden auf einen signifikanten Unterschied hin untersucht. Dieser ließ sich nur für den Parameter Enterobakteriazeen feststellen. Hier weist Probengruppe I sehr viel höhere Keimzahlen auf, als die Proben der Gruppe II.

Als natürlicher Darmbewohner bei Mensch und Tier lässt dieses Ergebnis eine Kontamination des Wildbrets während der Weiterverarbeitung in dem süddeutschen Wildverarbeitungsbetrieb vermuten. Eine weitere Erklärung wäre eine unzureichende Kühlung des Wildbrets während, wie auch nach der Weiterverarbeitung, da die Proben der Gruppe II eine sehr viel geringe Keimzahl aufwiesen. An dieser Stelle sei nochmals darauf hingewiesen, dass von einer sehr viel höheren Belastung des Wildbrets mit Enterobakteriaceen aufgrund der Erlegungsart ausgegangen wird. Die Einhaltung der Kühlkette und allgemein bekannter hygienischer Regeln während dem Bearbeiten und dem Lagern verringern jedoch die Enterobakteriaceenbelastung.

Demzufolge ist der Wildverarbeitungsbetrieb darauf hinzuweisen, eine Schulung seiner Angestellten zu dem Thema Personalhygiene zu halten und eine wirksame Temperaturkontrolle und –einhalten in den Bearbeitungs- und Lagerräumen durchzuführen. Weitere Rückschlüsse bezüglich der Hygiene in dem süddeutschen Wildverarbeitungsbetrieb lassen sich aufgrund der fehlenden Signifikanz einerseits und den fehlenden Vergleichswerten aus den Anlieferungsbetrieben andererseits nicht ziehen.

Richtwerte

Es gab seit jeher ein Bemühen die amtlichen Kontrollen durch die Festlegung von Richt- und Warnwerten, wie dies KÜHNLEIN (1993) für den pH-Wert beschreibt, zu erleichtern. Diesem Bemühen wurde mit dieser wissenschaftlichen Arbeit gefolgt, indem Richtwerte für mikrobiologische Parameter festgelegt wurden. Zur Erstellung dieser Richtwerte bei tiefgefrorenem Wildfleisch, sind die hygienisch ungünstigen Bedingungen beim Versorgen des erlegten Tieres vor Ort und die damit verbundene höhere Keimbelastung zu bedenken. Folglich können die Richt- und Warnwerte, die für Schweinefleischprodukte gelten, nicht unverändert übernommen werden, wie dies auch aus den Ergebnissen dieser Studie bezüglich des Richtwertes A hervorgeht. Denn eine Beurteilung des untersuchten Wildbrets in die Kategorien annehmbar und unannehmbar nach Richtwert A ergab für den Großteil der Proben ein unannehmbares Ergebnis. Da jedoch von einem beginnenden Verderb bei Keimzahlen $>10^7$ KbE/g auf der Oberfläche von frischem Fleisch ausgegangen wird, erscheint eine Festsetzung des Richtwertes B für die aerobe mesophile Keimzahl bei

tiefgefrorenem Fleisch oberhalb dieses Wertes nicht sinnvoll. Das zuvor Beschriebene sowie die Höhe der Infektionsdosen der einzelnen Bakterien beim Menschen wurden bei der Wahl des Richtwertes B miteingeschlossen. Somit wurde dieser für die aerobe mesophile Keimzahl, für die Milchsäurebakterien und für die Pseudomonaden bei $<10^6$ KbE/g, für die Enterobakteriazeen bei $<10^5$ KbE/g und für *E. coli* bei $<10^3$ KbE/g festgesetzt. Die Richtwerte für *C. perfringens* und *S. aureus* wurden aus der Schweizer Hygieneverordnung und aus der Fleischhygieneverordnung für Hack- und Schweinefleisch entnommen, da ein höherer Wert als für nicht annehmbar bezüglich der Verarbeitungshygiene erachtet wurde.

Trotz der Erhöhung des Richtwertes um eine Zehnerpotenz, wurde die Hälfte der hier untersuchten Wildbretproben bezüglich der aeroben mesophilen Keimzahl als unannehmbar beurteilt. Eine Erhöhung des Richtwertes um eine oder sogar eine zweite Zehnerpotenz scheint daher nahezuliegen. KNIEWALLNER (1969) und MESSELHÄUSER (2007) geben für die aerobe Oberflächenkeimzahl bei im Handel erhältlichem Wildbret im Durchschnitt einen Wert von $>10^8$ KbE/g an. Da jedoch von einer gewissen Schädigung der Keimflora während der Lagerung im Tiefkühlhaus auszugehen ist, ist eine Festlegung des Richtwertes für die aerobe mesophile Keimzahl über dem ermittelten Wert von KNIEWALLNER (1969) nicht sinnvoll.

Aufgrund der Vakuumverpackung stellen die Milchsäurebakterien die vorherrschende Keimflora dar. Da jedoch das Wildbret einen hohen Oberflächenkeimgehalt aufweist, wurde angenommen, dass auch der Keimgehalt für diesen Mikroorganismus höher liegt. Eine Festlegung des Richtwertes bei $<10^6$ KbE/g ergab in der Gesamtprobenmenge 86% annehmbare Proben.

Unerklärt bleibt die hohe Belastung mit Pseudomonaden. Eine Orientierung an den Richtwerten für Hackfleisch (DGHM 2006) resultierte in 100% unannehmbaren Wildbretproben. Auch MESSELHÄUSER et al. (2007) konnten eine hohe Pseudomonadenbelastung bei handelsüblichem Wildbret feststellen. Aufgrund dessen wurde für die Beurteilung des Wildbrets in dieser Studie der Richtwert, der von der DGHM festgesetzt wurde, um zwei Zehnerpotenzen und somit auf $>10^6$ KbE/g erhöht. Eine Beurteilung des in dieser Studie untersuchten Wildbrets anhand dessen ergab 84% annehmbare Fleischproben.

Da das Versorgen des erlegten Wildes unter meist ungünstigen hygienischen Bedingungen vorgenommen wird, ist von einer höheren Belastung des Fleisches mit Enterobakteriäzen auszugehen. Die Festsetzung des Richtwertes für diese Keimgruppe erscheint bei $>10^5$ KbE/g sinnvoll. In der vorliegenden Arbeit konnten anhand dieses Richtwertes 86% der Gesamtprobenmenge als annehmbar beurteilt werden.

Für die Parameter *E. coli*, *S. aureus* und *C. perfringens* lassen sich, insbesondere unter Berücksichtigung der Infektionsdosen dieser Bakterien für den Menschen, die in der FIHV und der Schweizer Hygieneverordnung festgelegten Richtwerte zur Beurteilung des tiefgefrorenen Wildbrets heranziehen.

Sensorik

In der Untersuchung von MESSELHÄUSER et al. (2007) waren 36% der 326 untersuchten Haarwildproben sensorisch auffällig, wobei sogar ein Teil der untersuchten Proben sichtbaren Schimmelpilzbefall aufwies. Demgegenüber konnten in der vorliegenden Arbeit bei der sensorischen Untersuchung der unter kontrollierten Bedingungen aufgetauten Tiefkühlware keine sensorischen Abweichungen in den Wildbretproben ausgemacht werden. Dies hängt vermutlich mit dem Tiefrierprozess zusammen, denn eine weitere Lagerung im Kühlschrank nach Öffnen der Vakuumverpackung für weitere 12-24 Stunden führte bei allen Proben zu einem sensorisch auffälligen Ergebnis. Schimmelpilzbefall trat jedoch nicht auf. Bei Tiefkühlware konnten MESSELHÄUSER et al. (2007) kein Keimwachstum, dahingegen jedoch sensorische Auffälligkeiten feststellen. Dies ließ sich in dieser Arbeit nicht bestätigen. Vielmehr sprechen die Ergebnisse dieser Untersuchung für nachweisbares Keimwachstum ohne sensorische Auffälligkeiten bei aufgetautem Wildbret. Folglich ist ein Auftauen der Tiefkühlware unter kontrollierten Bedingungen im Kühlschrank ratsam, eine Lagerung im aufgetauten Zustand für längere Zeit sollte jedoch vermieden werden, da Wildbret, insbesondere aufgrund der hohen Pseudomonadenbelastung, einem schnellen Verderbnisprozess unterliegt.

Schlussfolgerungen

Aus den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit kann folgendes geschlossen werden:

- Tiefgefrorenes Wildbret weist - ebenso wie frisches Wildbret - eine sehr hohe aerobe mesophile Keimzahl auf
- Eine hohe aerobe mesophile Keimzahl korreliert mit einer hohen Belastung an Enterobakteriazeen
- Der Verderb des Wildbrets geht primär von Pseudomonaden aus, weshalb ein Auftauen und Lagern unter aeroben Bedingungen vermieden werden sollte
- Ein Auftauen der Tiefkühlware unter kontrollierten Bedingungen im Kühlschrank wird empfohlen
- Eine Lagerung im aufgetauten, nicht vakuumverpackten Zustand für längere Zeit sollte jedoch aufgrund des schnell fortschreitenden Verderbs vermieden werden
- Salmonellen sind vereinzelt in Wildbret, insbesondere bei Fleisch von Wildwiederkäuern und Wildschweinen, nachweisbar
- Wildvögel scheinen das Reservoir für *Campylobacter* spp. zu stellen
- Wildbret ist vielfach mit STEC und *Y. enterocolitica* kontaminiert
- Eine Korrelation zwischen hohem Keimgehalt und organoleptischen Veränderungen lässt sich bei über Nacht im Kühlschrank aufgetautem Wildfleisch nicht feststellen

Folgende Richtwerte können für die Beurteilung tiefgefrorenem, im Handel erhältlichem Wildbrets in die Kategorien annehmbar und unannehmbar herangezogen werden:

- aerobe mesophile Keimzahl $<10^6$ KbE/g
- Milchsäurebakterien $<10^6$ KbE/g
- Pseudomonaden $<10^6$ KbE/g
- *E. coli* $<5,0 \times 10^2$ KbE/g
- *C. perfringens* $<10^4$ KbE/g
- *S. aureus* $<10^3$ KbE/g.

Hierbei stellen die angegebenen Werte diejenige Grenze dar, über welcher die Fleischqualität als unannehmbar angesehen werden sollte.

Zusammenfassend ist die hygienische Bedenklichkeit von Wildbret, auch von vakuumierter Tiefkühlware, hervorzuheben. Um eine Gesundheitsgefährdung des Verbrauchers auszuschließen, sind eine einwandfreie Hygiene bei dem Umgang mit Wildbret, sowie eine einwandfreie Küchenhygiene bei der Zubereitung von Wildbret unabdingbar. Von dem Genuss rohen oder auf „medium Art“ zubereiteten Wildbrets ist insbesondere aufgrund des hohen Infektionsrisikos mit EHEC und *Y. enterocolitica* abzuraten.

Ein hygienischer Umgang ist aber nicht nur für den Konsumenten von Bedeutung, sondern vielmehr auch für den Jäger, der das erlegte Stück ausnimmt und versorgt, da mögliche Erkrankungen der Tiere zum Teil auf den Menschen übertragbar sind. Vor einer möglichen Ansteckung kann sich der Jäger durch das Tragen von Einmalhandschuhen schützen. Das Aufhängen des erlegten Stückes an den Hinterläufen zum Ausnehmen dient nicht nur der besseren Wildbrethygiene, da der Tierkörper nicht unmittelbar mit Gras, Sand und Erde in Berührung kommt, sondern auch der besseren Ausblutung des Tierkörpers. Dies ist insofern ein entscheidender Punkt in der Wildbrethygiene, da ein guter Ausblutungsgrad der Muskulatur eine niedrigere Keimbelastung und eine längere Haltbarkeit garantiert.

F ZUSAMMENFASSUNG

Seit jeher wird Wildfleisch als Feinkost angesehen und gewinnt in den letzten Jahren zunehmend an Verbraucherinteresse. Hierzu hat der Trend unserer heutigen Gesellschaft, sich gesund und körperbewusst zu ernähren, aber auch das Misstrauen in die Fleischqualität von Rind und Schwein aufgrund zahlreicher sogenannter Fleischskandale beigetragen. Obwohl Wild nach dem Erlegen meist unter ungünstigen hygienischen Bedingungen aufgebrochen und ausgeweidet wird, gilt Wildfleisch als ein qualitativ hochwertiges Produkt.

In der Zeit von September 2006 bis Februar 2007 wurden 63 handelsübliche, tiefgefrorene Wildbretproben untersucht. Das Wildbret stammte von Tieren, die nach in Deutschland geltendem Recht (§2 Bundesjagdgesetz) dem Jagdrecht unterliegen. Darunter waren 34 Wildwiederkäuer-, 14 Wildschwein-, 7 Lagomorphen- und 8 Wildgeflügelproben.

Hierzu wurden die Fleischproben kulturell auf die Hygienekeime aerobe mesophile Keimzahl, Milchsäurebakterien, Enterobakteriazeen, Pseudomonaden, *E. coli*, *C. perfringens* und *S. aureus* untersucht. Ein Screening auf die Pathogenen *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp. und *L. monocytogenes* erfolgte mittels VIDAS[®] und mittels Real-time PCR auf STEC und *Y. enterocolitica*. Die Bestimmung der koloniebildenden Einheiten pro Gramm (KbE/g) Wildfleisch ergab im Mittel für die aerobe Gesamtkeimzahl $2,80 \times 10^6$ KbE/g, für Milchsäurebildner $7,91 \times 10^5$ KbE/g, für Enterobakteriazeen $9,40 \times 10^5$ KbE/g, für *Pseudomonas* spp. $1,79 \times 10^6$ KbE/g, für *E. coli* $1,36 \times 10^3$ KbE/g, für *C. perfringens* $1,33 \times 10^1$ KbE/g und für *S. aureus* $1,71 \times 10^2$ KbE/g. Bei der Untersuchung auf Pathogene wurden acht Proben positiv auf

L. monocytogenes, vier Proben positiv auf *Salmonella* spp., eine Federwildprobe positiv auf *Campylobacter* spp., 33 Proben auf STEC und 25 auf *Y. enterocolitica* positiv isoliert.

Anhand der Ergebnisse dieser wissenschaftlichen Arbeit können folgende Richtwerte für die Beurteilung tiefgefrorenen, im Handel erhältlichen Wildbrets in die Kategorien annehmbar und unannehmbar vorgeschlagen werden: aerobe mesophile Keimzahl $<10^6$ KbE/g, Milchsäurebakterien $<10^6$ KbE/g, Pseudomonaden $<10^6$ KbE/g, *E. coli* $<5,0 \times 10^2$ KbE/g, *C. perfringens* $<10^4$ KbE/g und *S. aureus* $<10^3$ KbE/g.

Diese Studie zeigt, dass aufgrund des hohen Keimgehaltes, auch insbesondere aufgrund des regelmäßigen Vorkommens von Pathogenen, das Rohmaterial bei mindestens -18 °C vakuumverpackt gelagert und vor der Zubereitung nicht länger als 24h im Kühlschrank aus der Vakuumverpackung gelöst aufgetaut werden sollte, um organoleptische Veränderungen zu vermeiden. Folglich sollte bei dem Umgang mit Wildbret und bei der Zubereitung von Wildbret stets eine einwandfreie Hygiene eingehalten werden, um das Verbraucherrisiko einer Gesundheitsgefährdung auf ein Minimum zu reduzieren. Des Weiteren ist von dem Genuss rohen oder auf „medium Art“ zubereiteten Wildbrets abzuraten. Jäger sollten beim Versorgen der erlegten Stücke nicht auf das Tragen von Einmalhandschuhen verzichten, um das eigene zoonotische Infektionsrisiko zu minimieren und einen hygienischen Umgang mit dem Wildbret zu gewährleisten.

G SUMMARY

„Microbiological and organoleptic examination of deep-frozen game meat with regard to creating guidance levels for the microbiological evaluation”

Game meat is always classified as delicatessen and has gained more interest in the consumers mind over the past years. The reason for this is on the one hand the trend to eat more lean and healthy food and on the other hand the mistrust in the quality of pork and beef because of the so-called meat-affairs in recent years. Even though game is usually eviscerated under poor hygienic conditions its meat is said to be of high quality.

From September 2006 to February 2007 63 retail, deep-frozen, vacuum-packed game meat samples were examined. They were taken from animals that are listed in the German law (§2 Bundesjagdgesetz). There were 34 ruminants, 14 wild boar, 7 lagomorphae and 8 wildfowl samples.

The game meat samples were culturally examined for the growth of aerobic mesophilic plate count, lactic acid bacteria, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas*, *E. coli*, *C. perfringens* and *S. aureus*. The screening for the pathogens *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp. und *L. monocytogenes* was done using the VIDAS[®] technique. Real-time PCR was used to detect STEC and *Y. enterocolitica*. The detection of the colony-forming-unit per gram (CFU/g) game meat showed a mean of $2,80 \times 10^6$ CFU/g for the aerobic mesophilic plate count, a mean of $7,91 \times 10^5$ CFU/g for the lactic acid bacteria, a mean of $9,40 \times 10^5$ CFU/g for *Enterobacteriaceae*, a mean of $1,79 \times 10^6$ CFU/g for *Pseudomonas*, a mean of $1,36 \times 10^3$ CFU/g for *E. coli*, a mean of $1,33 \times 10^1$ CFU/g for *C. perfringens* and a mean of $1,71 \times 10^2$ CFU/g for *S. aureus*. The isolation of pathogens gave eight positive for *L. monocytogenes*, four positive for *Salmonella* spp., one wildfowl sample positive for *Campylobacter* spp., 33 sample positive for STEC and 25 positive for *Y. enterocolitica*.

Summarizing the results being found in this study, the following guidance levels for evaluating deep frozen game meat can be proposed: for aerobic mesophilic plate count $<10^6$ KbE/g, lactic acid bacteria $<10^6$ KbE/g, *Pseudomonas* $<10^6$ KbE/g, *E. coli* $<5,0 \times 10^2$ KbE/g, *C. perfringens* $<10^4$ KbE/g and for *S. aureus* $<10^3$ KbE/g.

Concluding, considering the high numbers of colony-forming-units and also the frequent isolation of pathogens, the raw material should be stored in a vacuum-package at temperatures below minus 18 °C. To avoid organoleptic alterations it should not be stored at fridge temperatures for longer than 24 hours. Hence, following correct hygienic guidelines while handling and preparing game meat is essential to minimize the consumer's health risk. Also, consumers should pass on eating "rare" and "medium" prepared game meat. Hunters must always wear gloves while eviscerating their prey to avoid a possible zoonotic infection and to guarantee hygienic contact.

H LITERATURVERZEICHNIS

ADEKEYE D. (1980):

Enterotoxin production by strains of *Staphylococcus aureus* isolated from animals and man in Nigeria,
Veterinary Microbiology **5**, 143-150

ALEKSIC S., BOCKEMÜHL J. (1990):

Mikrobiologie und Epidemiologie der Yersiniosen,
Immunität und Infektion **18**, 178-185

ASCHFALK A., VALENTIN-WEIGAND P., MÜLLER W., GOETHE R. (2002):

Toxin types of *Clostridium perfringens* isolated from free-ranging, semi-domesticated reindeer in Norway,
Veterinary Record **151**, 210-213

ASCHFALK A., KEMPER N., HÖLLER C. (2003):

Bacteria of pathogenic importance in faeces from cadavers of free-ranging or corralled semi-domesticated reindeer in northern Norway,
Veterinary Research Communications **27**, 93-100

ASCHFALK A., THÓRISSON S. G. (2004):

Seroprevalence of *Salmonella* spp. in wild reindeer (*Rangifer tarandus tarandus*) in Iceland,
Veterinary Research Communications **28**, 191-195

BALABAN N., RASOOLY A. (2000):

Staphylococcal enterotoxins,
International Journal of Food Microbiology **61**, 1-10

BALJER G., WIELER L. H. (1999):

Tiere als Infektionsquelle für den Menschen – durch EHEC hervorgerufene Erkrankungen,
Deutsche tierärztliche Wochenschrift **106**, 309-372

BAUER E. (2006):

Fleischskandale – Fehler im System,
stern.de, Ausgabe vom 30.01.2006, <http://www.stern.de>

**BAUMGART J., BECKER H., BOCKEMÜHL J., EHRMANN M., LEHMACHER A.,
MÄRTLBAUER E., VOGEL R. F. (1999):**

Nachweis von Mikroorganismen.

In BAUMGART J.: Mikrobiologische Untersuchung von Lebensmittel,
Behr, Hamburg, 4. aktualisierte und erweiterte Auflage, Seite 99-300,
ISBN: 978-3-86022-160-0

BAUR E., REIFF F. (1976):

Ein Beitrag zur Untersuchung von Wildbret (Haarwild),
Fleischwirtschaft **56**, 61-62

**BIELASZEWSKA M., SCHMIDT H., LIESEGANG A., PRAGER R., RABSCH W.,
TSCHÄPE H., CÍZEK A., JANDA J., BLÁHOVÁ K., KARCH H. (2000):**

Cattle can be reservoir of sorbitol-fermenting Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H⁻ strains and a source of human diseases,
Journal of Clinical Microbiology **38**, 3470-3473

BOCH J., SCHNEIDAWIND H. (1988):

Krankheiten des jagdbaren Wildes,
Paul Parey, Hamburg und Berlin

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

Zur Situation der Infektionen des Menschen durch enterohämorrhagische
Escherichia coli (EHEC) in Deutschland 1997,
Bundesgesundheitsblatt **41**, 2-5

BOCKEMÜHL J., ROGGENTIN P. (2004):

Enterale Yersiniosen,
Bundesgesundheitsblatt-Gesundheitsforschung-Gesundheitsschutz **7**, 685-691

BOTTONE E. J. (1997):

Y. enterocolitica: the charisma continues,
Clinical Microbiology Review **10**, 257-276

BRANDES N., STOLLE A. (1988):

Verfahren zur Erkennung von Fleischqualitätsabweichungen bei erlegtem
Haarwild,
Berliner Jäger **2**, 8-10

BRANDSCHEID W. (2007):

Qualitätsmanagement bei Fleisch und Fleischwaren.
In BRANDSCHEID W., HONIKEL K. O., LENGERKEN G. von, TROEGER K.
(Hrsg.): Qualität von Fleisch und Fleischwaren – Band 1,
Deutscher Fachverlag, 2., überarbeitete und erweiterte Auflage, Seite 49-54,
ISBN: 3871508071

BRANHAM L. A., CARR M. A., CODY B. S., CALLAWAY T. R. (2005):

E. coli O157 and *Salmonella* spp. in white-tailed deer and livestock,
Current Issues Intestinal Microbiology **6**, 25-29

BRYNESTAD S., GRANUM P. E. (2002):

Clostridium perfringens and foodborne infections,
International Journal of Food Microbiology **74**, 195-202

BÜLTE M. (2002):

Veterinärmedizinische Aspekte der Infektionen durch enterohämorrhagische *E.-*
coli-Stämme (EHEC),
Bundesgesundheitsblatt-Gesundheitsforschung-Gesundheitsschutz **45**, 484-490

BÜLTE M. (2004a):

Campylobacter spp..
In SINELL H.-J. (Hrsg.): Einführung in die Lebensmittelhygiene,
Parey Verlag, Stuttgart, 4. Auflage, Seite 43-45, ISBN: 3-8304-4095-2

BÜLTE M. (2004b):

Enterovirulente *Escherichia coli* (EVEC).

In SINELL H.-J. (Hrsg.): Einführung in die Lebensmittelhygiene,
Parey Verlag, Stuttgart, 4. Auflage, Seite 33-37, ISBN: 3-8304-4095-2

BÜLTE M. (2004c):

Listeria monocytogenes.

In SINELL H.-J. (Hrsg.): Einführung in die Lebensmittelhygiene,
Parey Verlag, Stuttgart, 4. Auflage, Seite 52-55, ISBN: 3-8304-4095-2

BÜLTE M. (2004d):

Staphylococcus aureus-Intoxikationen.

In SINELL H.-J. (Hrsg.): Einführung in die Lebensmittelhygiene,
Parey Verlag, Stuttgart, 4. Auflage, Seite 68-71, ISBN: 3-8304-4095-2

BUTZLER J.-P., OOSTEROM J. (1991):

Campylobacter: pathogenicity and significance in foods,
International Journal of Food Microbiology **12**, 1-8

COBURN H. L., DNARY E. L., KELLY L. A., WOOLDRIDGE M. (2005):

Qualitative risk assessment of the hazards and risks from wild game,
Veterinary Record **157**, 321-322

CRAVEN S. E., STERN N. J., LINE E., BAILEY J. S., COX N. A., FEDORKA-CRAY P. (2000):

Determination of the incidence of *Salmonella* spp., *Campylobacter jejuni*, and
Clostridium perfringens in wild birds near broiler chicken houses by sampling
intestinal droppings,
Avian Diseases **44**, 715-720

DEDEK J., STEINECK T. (1994):

Wildhygiene,
Gustav Fischer Verlag, Jena und Stuttgart, ISBN: 3-334-60811-5

DEGIORGIS M. P., OBRECHT E., RYSER A., GIACOMETTI M. (1999):

The possible role of eye-frequenting flies in the transmission of *Mycoplasma conjunctivae*,

Mitteilung der schweizerischen Entomologischen Gesellschaft **72**, 189-194

DEGIORGIS M. P., FREY J., NICOLET J., ABDO E. M., FATZER R., SCHLATTER Y., REIST S., JANOVSKY M., GIACOMETTI M. (2000):

An outbreak of infectious keratoconjunctivitis in alpine chamois (*Rupicapra rupicapra*) in Simmental-Gruyères, Switzerland,

Schweizer Archiv für Tierheilkunde **142**, 520-527

DELGER J. A., MONTEITH K. L., JENKS J. A. (2006):

Clostridium perfringens type A enterotoxemia in a captive adult white-tailed deer,

The Prairie Naturalist **38**, 197-202

DEUTZ A., FUCHS K., PLESS P., DEUTZ-PIEBER U., KÖFER J. (2000):

Hygienerisiken bei Wildfleisch – Oberflächenkeimgehalte und humanpathogene Keime,

Fleischwirtschaft **12**, 106-108

DOYLE M. P., PADHY. ENTEROCOLITICA V. V. (1989):

Escherichia coli.

In DOYLE M. P. (Hrsg.): Foodborne bacterial pathogens,

Marcel Dekker Inc., New York, USA, Seite 235-281, ISBN: 0824778669

DUNN R., KEEN J. E., MORELAND D., THOMPSON R. A. (2004):

Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 in white-tailed deer from Louisiana,

Journal of Wildlife Diseases **40**, 361-365

**ELDER R. O., KEEN J. E., SIRAGUSA G. R., BARKOCY-GALLAGHER G. A.,
KOOHMARAAIE M., LAEGREID W. W. (2000):**

Correlation of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 prevalence in feces,
hides, and carcasses of beef cattle during processing,
Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of
America **97**, 2999-3003

EMBURY-HYATT C., WOBESER G., SIMKO E., WOODBURY M. R. (2005):

Investigation of a syndrome of sudden death, splenomegaly, and small intestinal
hemorrhage in farmed deer,
Canadian Veterinary Journal **46**, 702-708

FAIRBROTHER J. M., NADEAU É. (2006):

Escherichia coli: on-farm contamination of animals,
Scientific and Technical Review, the Office International des Epizooties **25**,
555-569

FEHLHABER K. (2004a):

Clostridium perfringens-Lebensmittelvergiftung.
In SINELL H.-J. (Hrsg.): Einführung in die Lebensmittelhygiene,
Parey Verlag, Stuttgart, 4. Auflage, Seite 75-77, ISBN: 3-8304-4095-2

FEHLHABER K. (2004b):

Verderb.
In SINELL H.-J. (Hrsg.): Einführung in die Lebensmittelhygiene,
Parey Verlag, Stuttgart, 4. Auflage, Seite 107-133, ISBN: 3-8304-4095-2

FEHLHABER K., JANETSCHKE P. (1992):

Veterinärmedizinische Lebensmittelhygiene,
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart

FERNÁNDEZ H., GESCHE W., MONTEFUSCO A., SCHLATTER R. (1996):

Wild birds as reservoir of thermophilic enteropathogenic *Campylobacter* species
in southern Chile,
Memorias do Instituto Oswaldo Cruz **91**, 699-700

FISCHER J. R., ZHOA T., DOYLE M. P., GOLDBERG M. R., BROWN C. A., SEWELL C. T., KAVANAUGH D. M., BAUMAN C. D. (2001):

Experimental and field studies of *Escherichia coli* O157:H7 in white-tailed deer, Applied and Environmental Microbiology **67**, 1218-1224

FLIEDNER W., WILHELMI F., BUSCH-STOCKFISCH M., NEUMANN R. (1993):

Grundlagen und Prüfverfahren der Lebensmittelsensorik, Behr's Verlag, Hamburg, 2. überarbeitete und erweiterte Auflage, Studienausgabe, ISBN: 3925673571

FORSTNER B. (2007):

Novellierung der Jagdgesetze – „Die Jäger würden zu Gejagten“, Oberbayrisches Volksblatt, Ausgabe vom 22.04.2007, OVB online, <http://www.ovb-online.de/>

FREDRIKSSON-AHOMAA M., BUCHER M., HANK C., STOLLE A., KORKEALA H. (2001):

High prevalence of *Yersinia enterocolitica* 4:O3 on pig offal in Southern Germany: a slaughtering technique problem, Systematic and Applied Microbiology **24**, 457-463

FREDRIKSSON-AHOMAA M., HARTMANN B., SCHEU P., STOLLE A. (2007):

Detection of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in meat using Real-time PCR, Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit **2**, 202-208

GAUTHIER D. (1991):

Le kérato-conjonctivite infectieuse du chamois/etude épidémiologique dans le département de la Savoie 1983-1990, Dissertation DrMedVet, Claude Bernard Universität, Lyon, France, S. 107

GEISEL O. (1995) :

Wildkrankheiten erkennen und beurteilen, BLV Verlagsgesellschaft mbH, München, ISBN : 3-405-14709-3

GENIGEORGIS C. A. (1989):

Present state of knowledge on staphylococcal intoxication,
International Journal of Food Microbiology **9**, 327-360

GIACOMETTI M., JANOVSKY M., BELLOY L., FREY J. (2002):

Infectious keratoconjunctivitis in ibex, chamois and other caprinae,
Scientific and Technical Review, the Office International des Epizooties **21**, 335-345

GOBAT P.-F., JEMMI T. (1990):

Epidemiological studies on *Listeria* spp. in slaughterhouses,
Fleischwirtschaft **70**, 1448-1450

GODFROID J. (2002):

Brucellosis in wildlife,
Scientific and Technical Review, the Office International des Epizooties **21**, 277-286

GRANUM P. E. (1990):

Clostridium perfringens toxins involved in food poisoning,
International Journal of Food Microbiology **10**, 101-112

HACKING M. A., SILEO L. (1974):

Yersinia enterocolitica and *Yersinia pseudotuberculosis* from wildlife in Ontario,
Journal of Wildlife Diseases **10**, 452-457

HÄNNINEN M.-L., SARELLI L., SUKURA A., ON S.L.W., HARRINGTON C. S.,**MATERO P., HIRVELÄ-KOSKI V. (2002):**

Campylobacter hyointestinalis subsp. *hyointestinalis*, a common *Campylobacter* species in reindeer,
Journal of Applied Microbiology **92**, 717-723

HANCOCK D., BESSER T., LEJEUNE J., DAVIS M., RICE M. (2001):

The control of VTEC in the animal reservoir,
International Journal of Food Microbiology **66**, 71-78

HANDELAND K., RESUM T., JOHANSEN B. S., HOLSTAD G., KNUTSEN G., SOLBERG I., SCHULZE J., KAPPERUD G. (2002):

Prevalence of *Salmonella* Typhimurium infection in Norwegian hedgehog populations associated with two human disease outbreaks, *Epidemiology and Infection* **128**, 523-527

HATKIN J. M., PHILLIPS W. E. (1986):

Isolation of *Listeria monocytogenes* from an eastern wild turkey, *Journal of Wildlife Diseases* **22**, 110-112

HAYASHIDANI H., KANZAKI N., KANEKO Y., OKATANI A. T., TANIGUCHI T., KANEKO K.-I., OGAWA M. (2002):

Occurrence of yersiniosis and listeriosis in wild boars in Japan, *Journal of Wildlife Diseases* **38**, 202-205

HENDERSON T. G. (1984):

The isolation of *Yersinia* sp. from feral and farmed deer faeces, *New Zealand Veterinary Journal* **32**, 88-90

HEUVELINK A. E., BIGGELAAR, van den F. L. A. M., DE BOER E., HERBES R.G., MELCHERS W. J. G., HUIS IN 'T VELD J. H. J., MONNENS L. A. H. (1998):

Isolation and characterization of Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 strains from Dutch cattle and sheep, *Journal of Clinical Microbiology* **36**, 878-882

HILDEBRANDT G. (2004):

Qualitätssicherung und präventiver Gesundheitsschutz.

In SINELL H.-J. (Hrsg.): Einführung in die Lebensmittelhygiene,

Parey Verlag, Stuttgart, 4. Auflage, Seite 220-229, ISBN: 3-8304-4095-2

HILL B. D., THOMAS R. J., MACKENZIE A. R. (1987):

Campylobacter hyointestinalis – associated enteritis in Moluccan rusa deer (*Cervus timorensis* subsp. *moluccensis*),

Journal of Comparative Pathology **97**, 687-692

HOLZAPFEL W. (1996):

Mikrobiologie verpackter Fleischerzeugnisse und verpackten Fleisches.

In WEBER H. (Hrsg.): Mikrobiologie der Lebensmittel – Fleisch und

Fleischerzeugnisse,

Behr's Verlag, Hamburg, Seite 393-404, ISBN: 3860222368

IVANEK R., GRÖHN Y. T., WIEDMANN M. (2006):

Listeria monocytogenes in multiple habitats and host populations: review of available data for mathematical modelling,

Foodborne Pathogens and Disease **3**, 319-336

JEMMI T., STEPHAN R. (2006):

Listeria monocytogenes: food-borne pathogen and hygiene indicator,

Scientific and Technical Review, the Office International des Epizooties (OIE)

25, 571-580

JEPPESEN C. (1995):

Media for *Aeromonas* spp., *Plesiomonas shigelloides* and *Pseudomonas* spp. from food and environment,

International Journal of Food Microbiology **26**, 25-41

KANAI Y., HAYASHIDANI H., KANEKO K.-I., OGAWA M., TAKAHASHI T.,

NAKAMURA M. (1997):

Occurrence of zoonotic bacteria in retail game meat in Japan with special reference to *Erysipelothrix*,

Journal of Food Protection **60**, 328-331

KAPPERUD G., ROSEF O. (1983):

Avian wildlife reservoir of *Campylobacter fetus* subsp. *Jejuni*, *Yersinia* spp., and *Salmonella* spp. in Norway,
Applied and Environmental Microbiology **45**, 375-380

KATO Y., KIMIKO I., KUBOKURA Y., MARUYAMA T., KANEKO K.-I., OGAWA M. (1985):

Occurrence of *Yersinia enterocolitica* in wild-living birds in Japanese serows,
Applied and Environmental Microbiology **49**, 198-200

KEEN W. E., SAZIE E., KOK J., RICE D. H., HANCOCK D. D., BALAN V. K., ZHOA T., DOYLE M. P. (1997):

An outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections traced to jerky made from deer meat,
Journal of the American Medical Association **277**, 1229-1231

KEMPER N., ASCHFALK A., HÖLLER C. (2006):

Campylobacter spp., *Enterococcus* spp., *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Yersinia* spp., and *Cryptosporidium* oocysts in semi-domesticated reindeer (*Rangifer tarandus tarandus*) in northern Finland and Norway,
Acta Veterinaria Scandinavica **48**, www.actavetscand.com

KLEER J. (2004a):

Lebensmittelhygienische Grundlagen.

In SINELL H.-J. (Hrsg.): Einführung in die Lebensmittelhygiene,
Parey Verlag, Stuttgart, 4. Auflage, Seite 7-13, ISBN: 3-8304-4095-2

KLEER J. (2004b):

Salmonella.

In SINELL H.-J. (Hrsg.): Einführung in die Lebensmittelhygiene,
Parey Verlag, Stuttgart, 4. Auflage, Seite 19-33, ISBN: 3-8304-4095-2

KLEER J. (2004c):

Yersinia enterocolitica.

In SINELL H.-J. (Hrsg.): Einführung in die Lebensmittelhygiene,
Parey Verlag, Stuttgart, 4. Auflage, Seite 37-40, ISBN: 3-8304-4095-2

KLEER J. (2004d):

Andere *Enterobacteriaceae* und weitere Opportunisten.

In SINELL H.-J. (Hrsg.): Einführung in die Lebensmittelhygiene,
Parey Verlag, Stuttgart, 4. Auflage, Seite 42, ISBN: 3-8304-4095-2

KNIEWALLNER K. (1969):

Über den Keimgehalt von handelsüblichem Wildfleisch,
Archiv für Lebensmittelhygiene **20**, 64-65

KOBE A., RING Ch. (1992):

Zum Hygienestatus von Wildbret aus dem Handel,
33. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes „Lebensmittelhygiene“ des DVG in
Garmisch-Partenkirchen, Proceedings Seite 434-441

KRÄMER J. (2002):

Lebensmittelmikrobiologie,
4. Auflage, Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart, ISBN: 3-8252-1421-4

**KRAUSS H., WEBER A., APPEL A., ENDERS B., v. GRAEVENITZ A., ISENBERG
H. D., SCHIEFER H. G., SLENCZKA W., ZANER H.** (2004):

Zoonosen, von Tier zu Mensch übertragbare Infektionskrankheiten,
Deutscher Ärzte Verlag, Köln, 3. vollständig überarbeitete und erweiterte
Auflage Kapitel 2, Seite 215-336, ISBN: 3769104064

KÜHNLEIN C. (1993):

Zur Beurteilung von der Fleischqualität von Schalenwild unter Berücksichtigung
von Wildbrethygiene und jagdlichen Gegebenheiten im Hinblick auf die
Erstellung von Richtwerten für die amtliche Fleischuntersuchung,
Dissertation Vet. Med., Ludwig-Maximilians-Universität, München

LANG St., BENDER R. (2001):

Was ist ein Signifikanztest?,

Deutsche Medizinische Wochenschrift **126**, 42-44

LEHMANN S., TIMM M., STEINRÜCK H., GALLIEN P. (2006):

Nachweis von STEC im Kot von Hochwild und in Wildfleischproben,

Fleischwirtschaft **4**, 93-96

LE LOIR Y., BARON F., GAUTIER M. (2003):

Staphylococcus aureus and food poisoning,

Genetics and Molecular Research **2**, 63-76

LENZ W. (1977):

Fleischhygienische Untersuchung an Rehwild,

Dissertation Vet. Med., Tierärztliche Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität, München

LEVINE M. M., EDELMANN R. (1979):

Acute diarrheal infections in infants,

Hospital Practice **14**, 89-100

LILLEHAUG A., BERGSJO B., SCHAU J., BRUHEIM T., VIKOREN T.,

HANDELAND K. (2005):

Campylobacter spp., *Salmonella* spp., verocytotoxic *Escherichia coli*, and antibiotic resistance in indicator organisms in wild cervids,

Acta Veterinaria Scandinavica **46**, 23-32

LORZ A., METZGER E., STÖCKEL H. (1998):

Jagdrecht, Fischereirecht

C.H. Beck, München, 3. Auflage, ISBN: 978-3-406-40741-3

LUECHTENFELD N. A. W., BLASER M. J., RELLER L. B., WANG W.-L. L. (1980):

Isolation of *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni* from migratory waterfowl,

Journal of Clinical Microbiology **12**, 406-408

LÜCKE F.-K., TROEGER K. (2007):

Hemmung und Abtötung von Mikroorganismen.

In BRANDSCHEID W., HONIKEL K. O., LENGERKEN G. von, TROEGER K.

(Hrsg.): Qualität von Fleisch und Fleischwaren – Band 2,

Deutscher Fachverlag, 2., überarbeitete und erweiterte Auflage, Seite 558-565,

ISBN: 3871508071

MACKINTOSH C., HAIGH J. C., GRIFFIN F. (2002):

Bacterial diseases of framed deer and bison,

Scientific and Technical Review, the Office International des Epizooties **21**,

249-263

MELLENTHIN K. (1998):

Zur Geschichte der Jagd,

<http://www.knutmellenthin.de/startseite.html>

MESSELHÄUSSER U., KLEIH W., HÖLLER C., HAUNER G., JÜNGLING A.,

ECKART T., SCHREINER H., DIEPOLDER H. (2007):

Untersuchung von Wildfleischproben im Rahmen der amtlichen

Lebensmittelüberwachung,

Der Lebensmittelbrief **1/2**, 2-5

McLAUHLIN J., MITCHELL R. T., SMERDON W. J., JEWELL K. (2004):

Listeria monocytogenes and listeriosis: a review of hazard characterisation for
use in microbiological risk assessment of foods,

International Journal of Food Microbiology **92**, 15-33

MOORE D. S., McCABE G. P. (1999a):

Describing distributions with numbers,

IN: Introduction to the practice of statistics,

W. H. Freeman and Company, New York, USA, 3. Auflage, Seite 40-58,

ISBN: 0-7167-3502-4

MOORE D. S., McCABE G. P. (1999b):

Interference for distributions,

IN: Introduction to the practice of statistics,

W. H. Freeman and Company, New York, USA, 3. Auflage, Seite 503-523,

ISBN: 0-7167-3502-4

MOORE D. S., McCABE G. P. (1999c):

Inference for two-way tables,

IN: Introduction to the practice of statistics,

W. H. Freeman and Company, New York, USA, 3. Auflage, Seite 621-634,

ISBN: 0-7167-3502-4

NAYLOR S. W., GALLY D. L., LOW J. C. (2005):

Enterohaemorrhagic *E. coli* in veterinary medicine,

International Journal of Medical Microbiology **295**, 419-441

NEUBAUER H., SPRAGUE L. D., SCHOLZ H., HENSEL A. (2001):

Yersinia enterocolitica- Infektionen: 1. Bedeutung bei Tieren,

Berlin und Münchner Tierärztliche Wochenschrift **114**, 8-12

NEUBAUER H., SPRAGUE L. D., SCHOLZ H., HENSEL A. (2001):

Yersinia enterocolitica- Infektionen: 2. Bedeutung bei Menschen,

Berlin und Münchner Tierärztliche Wochenschrift **114**, 81-87

NEW J. C., DELOZIER K., BARTON C. E., MORRIS P. J., POTGIETER L. N. D.

(1994):

A serologic survey of selected viral and bacterial diseases of european wild hogs, Great Smoky Mountain National Park, USA,

Journal of Wildlife Diseases **30**, 103-106

NIKOLOVA S., TZVETKOV Y., NAJDENSKI H., VESSELINOVA A. (2001):

Isolation of pathogenic yersiniae from wild animals in Bulgaria,

Journal of Veterinary Medicine Series B **48**, 203-209

N.N. (1985):

Selection of indicator organisms and agents as components of microbiological criteria.

In An Evaluation of the Role of Microbiological Criteria for Foods and Food Ingredients,

<http://www.nap.edu/openbook/0309034937/html/104.html>

N.N. (1989):

Domestikation,

IN: dtv Brockhaus Lexikon,

F. A. Brockhaus GmbH , Mannheim, und Deutscher Taschenbuchverlag GmbH & Co. KG, München, Band 4 Cuc-Eis, Seite 211,

ISBN: 3-423-03304-5

N.N. (1992):

Listeria monocytogenes,

Bad Bug Book, U.S. Food and Drug Administration,

www.cfsan.fda.gov

N.N. (1992):

Preventing foodborne listeriosis,

U.S. Department of Agriculture, U.S. Health and Human Services,

www.cfsan.fda.gov

N.N. (2005):

Coliform bacteria – indicators in food & water,

Dairy Foods Informational Bulletin, Cornell University, State New York, USA,

Draft 06-05

N.N. (2005):

EHEC (Enterohämorrhagische Escherichia coli),

Bundesamt für Veterinärwesen (BVET), Schweizer Eidgenossenschaft,

www.bvet.admin.ch

N.N. (2007):

Wildfleisch als Quelle für EHEC-Infektionen unterschätzt,
Bundesamt für Risikobewertung, Presseinformation

**NORMANNO G., FIRINU A., VIRGILIO S., MULA G., DAMBROSIO A., POGGIU A.,
DECASTELLI L., MIONDI R., SCUOTA S., BOLZONI G., GIANNATALE DI E.,
SALINETTI A. P., SALANDRA LA G., BARTOLI M., ZUCCON F., PIRINO T.,
SIAS S., PARISI A., QUAGLIA N. C. and CELANO G. V.** (2004):

Coagulase-positive *Staphylococci* and *Staphylococcus aureus* in food products
marketed in Italy,
International Journal of Food Microbiology **98**, 73-79

ORTH D., GRIF K., DIEDERICH M. P., WÜRZNER R. (2005):

Sorbitol-fermenting Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157: indications for
an animal reservoir,
Epidemiology and Infection **134**, 719-723

**PAGANO A., NARDI G., BONACCORSO C., FALBO V., PASSI C., SANGUINETTI
V., MANTOVANI A.** (1985):

Faecal bacteria of wild ruminants and the alpine marmot,
Veterinary Research Communications **9**, 227-232

PARK S. F. (2002):

The physiology of *Campylobacter* species and its relevance to their role as
foodborne pathogens,
International Journal of Food Microbiology **74**, 177-188

PETERSEN L., NIELSEN E. M., ENGBERG J., ON S. W. L., DIETZ H. H. (2001):

Comparison of genotypes and serotypes of *Campylobacter jejuni* isolated from
Danish wild mammals and birds and from broiler flocks and humans,
Applied and Environmental Microbiology **67**, 3115-3121

PLOMMET M. G., WILSON J. B. (1969):

Serological typing of *Staphylococcus aureus* from wild animals,
Journal of Comparative Pathology **79**, 425-433

POUTREL B., SUTRA L. (1993):

Type 5 and 8 capsular polysaccharides are expressed by *Staphylococcus aureus* isolates from rabbits, poultry, pigs and horses,
Journal of Clinical Microbiology **31**, 467-469

**RABATSKY-EHR T., DINGMAN D., MARCUS R., HOWARD R., KINNEY A.,
MSHAR P. (2002):**

Deer meat as the source for a sporadic case of *Escherichia coli* O157:H7
infection, Connecticut,
Emerging Infectious Diseases **8**, 525-527

**REFSUM T., HANDELAND K., BAGGESEN D. L., HOLSTAD G., KAPPERUD G.
(2002):**

Salmonellae in avian wildlife in Norway from 1969 to 2000,
Applied and Environmental Microbiology **68**, 5595-5599

RENTER D. G., GNAD D. P., SARGEANT J. M., HYGSTROM S. E. (2006):

Prevalence and serovars of *Salmonella* in feces of free-ranging white-tailed deer
(*Odocoileus virginianus*) in Nebraska,
Journal of Wildlife Diseases **42**, 699-703

RICHTER E. R. (1993):

Biosensors: applications for dairy food industry,
Journal of Dairy Science **76**, 3114-3117

RIEMER R. (1977):

Der Einfluß des Gefrierprozesses auf die Überlebensfähigkeit von Salmonellen
in zerkleinertem Rind- und Schweinefleisch unter besonderer Berücksichtigung
unterschiedlicher Einfrier- und Gefrierlagerungstemperaturen sowie der
Lagerdauer,
Dissertation Vet.Med, Freie Universität Berlin

RIEMER R., REUTER G. (1979):

Untersuchungen über die Notwendigkeit und Durchführbarkeit einer Wildfleischuntersuchung bei im Inland erlegtem Rot- und Rehwild – zugleich eine Erhebung über die substantielle Beschaffenheit und die Mikroflora von frischem Wildfleisch,
Fleischwirtschaft **59**, 857-864

RKI (1997):

Epidemiologisches Bulletin **10**,
Robert-Koch-Institut, Berlin

RKI (1998):

Epidemiologisches Bulletin **23**,
Robert-Koch-Institut, Berlin

RKI (2000a):

Epidemiologisches Bulletin **18**,
Robert-Koch-Institut, Berlin

RKI (2000b):

Epidemiologisches Bulletin **31**,
Robert-Koch-Institut, Berlin

RKI (2001):

Ratgeber Infektionskrankheiten – Enterohämorrhagische Escherichia coli (EHEC),
Merkblätter für Ärzte, Robert-Koch-Institut, Berlin

RKI (2002a):

Epidemiologisches Bulletin **40**,
Robert-Koch-Institut, Berlin

RKI (2002b):

Ratgeber Infektionskrankheiten – Salmonellose,
Merkblätter für Ärzte, Robert-Koch-Institut, Berlin

RKI (2003):

Ratgeber Infektionskrankheiten – Listeriose,
Merkblätter für Ärzte, Robert-Koch-Institut, Berlin

RKI (2004):

Epidemiologisches Bulletin **50**,
Robert-Koch-Institut, Berlin

RKI (2006a):

Epidemiologisches Bulletin **41**,
Robert-Koch-Institut, Berlin

RKI (2006b):

Epidemiologisches Bulletin **49**,
Robert-Koch-Institut, Berlin

RKI (2007):

Epidemiologisches Bulletin **14**,
Robert-Koch-Institut, Berlin

ROSEF O., KAPPERUD G. (1983):

House flies (*Musca domestica*) as possible vectors of *Campylobacter fetus*
subsp. *jejuni*,
Applied and Environmental Microbiology **45**, 381-383

ROSEF O., GONDROSEN B., KAPPERUD G., UNDERDAL B. (1983):

Isolation and characterization of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*
from domestic and wild mammals in Norway,
Applied and Environmental Microbiology **46**, 588-859

SATO Y., KOBAYASHI C., ICHIKAWA K., KUWAMOTO R., MATSUURA S.,

KOYAMA T. (2000):

An occurrence of *Salmonella* Typhimurium infection in sika deer (*Cervus*
nippon),
Journal of Veterinary Medical Sciences **62**, 313-315

SCHERLING L., RING C. (1989):

Zum Hygienestatus von Haarwildbret aus dem Staatsrevier Forstenried,
Fleischwirtschaft **69**, 1889

SCHIEFER G. (1996):

Mikrobiologie des Wildes.

In WEBER H. (Hrsg.): Mikrobiologie der Lebensmittel – Fleisch und
Fleischerzeugnisse,
Behr's Verlag, Hamburg, Seite 525-554, ISBN: 3860222368

SCHIEMANN D.A. (1989):

Yersinia enterocolitica and *Yersinia pseudotuberculosis*.

In DOYLE M.P. (Hrsg.): Foodborne bacterial pathogens,
Marcel Dekker Inc., New York, USA, Seite 601-672, ISBN: 0824778669

SCHLECH W.F., III (2000):

Foodborne listeriosis,
Clinical Infectious Diseases **31**, 770-775

**SCHMID D., GSCHIEL E., MANN M., HUHULESCU S., RUPPITSCH W., BÖHM G.,
PICHLER J., LEDERER I., HÖGER G., HEUBERGER S., ALLERBERGER F.
(2007):**

Outbreak of acute gastroenteritis in an Austrian boarding school, September
2006,
Eurosurveillance monthly releases **12**

SELBITZ H.-J. (2002):

Bakterielle Krankheiten der Tiere

In ROLLE M., MAYR A. (Hrsg.): Medizinische Mikrobiologie, Inektions- und
Seuchenlehre,
Enke Verlag, Stuttgart, 7. völlig neu bearbeitete Auflage, Kapitel 5, Seite 417-
588, ISBN: 3-7773-1795-0

SHAYEGANI M., STONE W. B., DEFORGE I., ROOT T., PARSONS L. M., MAUPIN P. (1986):

Yersinia enterocolitica and related species isolated from wildlife in New York State,

Applied and Environmental Microbiology **52** , 420-424

SIEGMAN-IGRA Y., LEVIN R., WEINBERGER M., GOLAN Y., SCHWARTZ D., SAMRA Z., KONIGBERGER H., YINNON A., RAHAV G., KELLER N., BISHARAT N., KARPUCH J., FINKELSTEIN R., ALKAN M., LANDAU Z., NOVIKOV J., HASSIN D., RUDNICKI C., KITZES R., OVADIA S., SHIMONI Z., LANG R. and SHOHAT T. (2002):

Listeria monocytogenes infection in Israel and review of cases worldwide, Emerging Infectious Diseases **8**, 305-310

SIPOS W., FISCHER L., SCHINDLER M., SCHMOLL F. (2003):

Genotyping of *Clostridium perfringens* isolated from domestic and exotic ruminants and swine,

Journal of Veterinary Medicine Series B **50**, 360-362

SKIRROW M.B. (1991):

Epidemiology of *Campylobacter* enteritis,

International Journal of Food Microbiology **12**, 9-16

STEINECK TH. (1994):

Staphylokokkose.

In DEDEK J., STEINECK Th. (Hrsg.): Wildhygiene,

Gustav Fischer Verlag Jena, Stuttgart, Seite 73, ISBN: 3-334-60811-5

STERN N. J., KAZMI S. U. (1989):

Campylobacter jejuni.

In DOYLE M. P. (Hrsg.): Foodborne bacterial pathogens,

Marcel Dekker Inc., New York, USA, Seite 71-101, ISBN: 0824778669

STOLLE A. (2004):

Physikalische Verfahren zur Haltbarmachung.

In SINELL H.-J. (Hrsg.): Einführung in die Lebensmittelhygiene,

Parey Verlag, Stuttgart, 4. Auflage, Seite 136-171, ISBN: 3-8304-4095-2

THATCHER F.S., CLARK D.S. (1975):

Microorganisms in food: 1 their significance and methods of enumeration,

University of Toronto Press, Toronto and Buffalo, Canada, ISBN: 0-8020-1538-7

THOMS B. (1999):

Nachweis von verotoxinbildenden *Escherichia coli* in Rehfleisch,

Archiv für Lebensmittelhygiene **50**, 52-54

TIMM F., ZSCHALER R. (1999):

Gefrorene und tiefgefrorene Lebensmittel.

In BAUMGART J.: Mikrobiologische Untersuchung von Lebensmittel,

Behr's Verlag, Hamburg, 4. aktualisierte und erweiterte Auflage, Seite 523-528,

ISBN: 978-3-86022-160-0

TINDALL B. J., GRIMONT P. A. D., GARRITY G. M. and EUZÉBY J. P. (2005):

Nomenclature and taxonomy of the genus *Salmonella*,

International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology **55**, 521-524

VALLE J., GOMEZ-LUCIA E., PIRIZ S., GOYACHE J., ORDEN J. A., VADILLO S.
(1990):

Enterotoxin production by staphylococci isolated from healthy goats,

Applied and Environmental Microbiology **56**, 1323-1326

**VÌT M., OLEJNÌK R., KARPÍSKOVA R., CASTKOVA J., PRIKAZSKY V.,
PRIKAZSKA M., BENES C., PETRAS P.** (2007):

Outbreak of listeriosis in the Czech Republic, late 2006 – preliminary report,

Eurosurveillance monthly releases **12**

WEIS J., SEELIGER H. P. R. (1975):

Incidence of *Listeria monocytogenes* in nature,

Applied Microbiology **30**, 29-32

YAMANE I. (2006):

Epidemics of emerging animal diseases and food-borne infection problems over the last 5 years in Japan,

Annals of the New York Academy of Sciences **1081**, 30-38

YANG H., MOKHTARI A., JAYKUS L.-A., MORALES R. A., CATES S. C. and COWEN P. (2006):

Consumer phase risk assessment for *Listeria monocytogenes* in deli meat,

Risk Analysis **26**, 89-103

YOSHIDA T., SUGIMOTO T., SATO M., HIRAI K. (2000):

Incidence of *Listeria monocytogenes* in wild animals in Japan,

Journal of Veterinary Medical Science **62**, 673-675

WHALSTRÖM H., TYSÉN E., ENGVALL O., BRÄNDSTRÖM B., ERIKSSON E., MÖRNER T., VAGSHOLM I. (2003):

Survey of *Campylobacter* species, VTEC O157 and *Salmonella* species in Swedish wildlife,

Veterinary Record **153**, 74-80

Wikipedia (2007):

Sensorik,

<http://de.wikipedia.org/wiki/Hauptseite>

ZSCHÖK M., HAMANN H. P., KLOPPERT B., WOLTER W. (2000):

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

Letters in Applied Microbiology **31**, 203-208

Amtliche Methoden nach § 64 LFGB

Methode L 00.00-55 (2004): Untersuchung von Lebensmitteln. Verfahren zur Zählung von koagulasepositiven Staphylokokken (*Staphylococcus aureus* und andere Spezies) in Lebensmitteln – Teil 1: Verfahren mit Baird Parker
Beuth, Berlin

Methode L 00.00-56 (2004): Untersuchung von Lebensmitteln. Verfahren zur Zählung von koagulasepositiven Staphylokokken (*Staphylococcus aureus* und andere Spezies) in Lebensmitteln – Teil 2: Verfahren mit Kaninchenplasma/Fibrinogen-Agar
Beuth, Berlin

Methode L 00.90-1 (2007): Untersuchung von Lebensmitteln, Sensorische Prüfung – Allgemeine Grundlagen
Beuth, Berlin

Methode L 00.90-6 (1997): Untersuchung von Lebensmitteln, Sensorische Prüfverfahren – Einfach beschreibende Prüfung
Beuth, Berlin

Methode L 06.00-16 (1983): Untersuchung von Lebensmitteln, mikrobiologische Untersuchung von Fleisch und Fleischerzeugnissen. Vorbereitung der Probe
Beuth, Berlin

Methode L 06.00-19 (1984): Untersuchung von Lebensmitteln, Bestimmung der aeroben Keimzahl bei +30 °C in Fleisch und Fleischerzeugnissen , Tropfplatten-Verfahren
Beuth, Berlin

Methode L 06.00-24 (1987): Untersuchung von Lebensmitteln, Bestimmung von Enterobacteriaceae in Fleisch
Beuth, Berlin

Methode L 06.00-39 (1994): Untersuchung von Lebensmitteln, Bestimmung von mesophilen sulfitreduzierenden Clostridien in Fleisch und Fleischerzeugnissen, Plattengussverfahren

Beuth, Berlin

Methode L 06.00-43 (1998): Untersuchung von Lebensmitteln, Zählung von Pseudomonas spp. in Fleisch und Fleischerzeugnissen

Beuth, Berlin

Methode L 07.18-1 (2002): Untersuchung von Lebensmitteln, Nachweis, Isolierung und Charakterisierung Verotoxin-bildender Escherichia coli (VTEC) in Hackfleisch mittels PCR und DNA-Hybridisierungstechnik

Beuth, Berlin

Richt- und Warnwerte

Veröffentlichte mikrobiologische Richt- und Warnwerte zur Beurteilung von Lebensmitteln (Stand: Mai 2006); eine Empfehlung der Fachgruppe Lebensmittelmikrobiologie und –hygiene der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM) – Präambel für Richt- und Warnwerte der DGHM
<http://www.lm-mibi.uni-bonn.de/DGHM.html>

Abrufedatum: 26.06.2007

Verordnungen und Vorschriften

Verordnung (EG) Nr. **853/2004** des europäischen Parlaments und des Rates vom 29. April 2004 mit spezifischen Hygienevorschriften für Lebensmittel tierischen Ursprungs

<http://rsw.beck.de/rsw/default.asp>

Abrufedatum: 22.05.2007

Verordnung (EG) Nr. **854/2004** des europäischen Parlaments und des Rates vom 29. April 2004 für die amtliche Überwachung von zum menschlichen Verzehr bestimmten Erzeugnissen tierischen Ursprungs

<http://rsw.beck.de/rsw/default.asp>

Abrufedatum: 22.05.2007

Verordnung über die hygienischen Anforderungen und amtlichen Untersuchungen beim Verkehr mit Fleisch (Fleischhygiene-Verordnung - FIHV)

<http://rsw.beck.de/rsw/default.asp>

Abrufedatum: 22.05.2007

Schweizer Hygieneverordnung (2002)

In: EISGRUBER H., STOLLE A. (2006): Mikrobiologische Kriterien und Mykotoxin-Höchstgehalte für Lebensmittel

Behr's Verlag, Hamburg, ISBN: 3-89947-083-4

Allgemeine Verwaltungsvorschrift über die Durchführung der amtlichen Überwachung nach dem Fleischhygienegesetz und dem Geflügelfleischhygienegesetz (AVVFIH)

<http://rsw.beck.de/rsw/default.asp>

Gesetze

Bundesjagdgesetz (BJagdG)

(<http://www.gesetzesweb.de/BJagdG.html>)

Abrufedatum: 19.07.2007

Fleischhygienegesetz (FIHG) – außer Kraft seit 06.09.2005

(<http://rsw.beck.de>)

Abrufedatum: 19.07.2007

Gesetz zur Verhütung und Bekämpfung von Infektionskrankheiten beim Menschen

(Infektionsschutzgesetz - IfSG)

(<http://www.gesetze-xxl.de/gesetze/ifsg/ifsg.htm>)

Abrufedatum: 18.07.2007

Handbücher

Merck, Darmstadt, <http://service.merck.de/microbiology/>

Abrufedatum: 10.07.2007

OXOID (1993), 5. aktualisierte deutsche Ausgabe, Unipath GmbH, Wesel

Qualitätsmanagementhandbuch des Instituts für Hygiene und Technologie der Lebensmittel tierischen Ursprungs der tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilian-Universität, München

Seiten im www

www.cdc.gov

www.efsa.europa.eu

www.faes.de

<http://www.jagd-online.de/datenfakten/>

I TABELLENVERZEICHNIS

Tab. 1	Minimale und maximale pH-Werte für das Wachstum von einigen Bakterien.....	28
Tab. 2	Minimale a_w -Werte für das Wachstum einiger Bakterien.....	29
Tab. 3	Auflistung der vier Gruppen, die den Wachstumsbereich der Mikroorganismen angeben. Die minimale, optimale und maximale Temperatur wird angegeben.....	30
Tab. 4	Auflistung der beprobten Tierarten und die Anzahl der Proben (n) jeder Tierart.....	45
Tab. 5	Auflistung der Tierarten, deren Fleisch in dem Betrieb weiterverarbeitet wurde (Gruppe I), und der Tierarten, deren Fleisch in dem Betrieb ausschließlich gelagert wurde (Gruppe II) und deren Probenanzahl (n).....	46
Tab. 6	Anzahl der Bakterienkolonien (KbE/g), die in 63 Wildfleischproben gefunden wurden.....	63
Tab. 7	Anzahl der Bakterienkolonien (KbE/g), die in 25 Wildfleischproben der Gruppe I und in 38 Wildfleischproben der Gruppe II gefunden wurde unter Angabe der Richtwertgrößen A und B.....	64
Tab. 8	Anzahl der Bakterienkolonien (KbE/g), die in 25 Wildfleischproben der Gruppe I und in 38 Wildfleischproben der Gruppe II gefunden wurde unter Angabe des kleinsten (min.) und des größten (max.) ermittelten Wertes.....	65
Tab. 9	Beurteilung der 63 Wildfleischproben der Gruppe I und Gruppe II in annehmbar, kritisch und unannehmbar anhand der untersuchten Bakterien bezüglich den Richtwertgrößen A und B.....	66
Tab.10	Prävalenz pathogener Bakterien in 63 Wildfleischproben.....	70

K ABBILDUNGSVERZEICHNIS

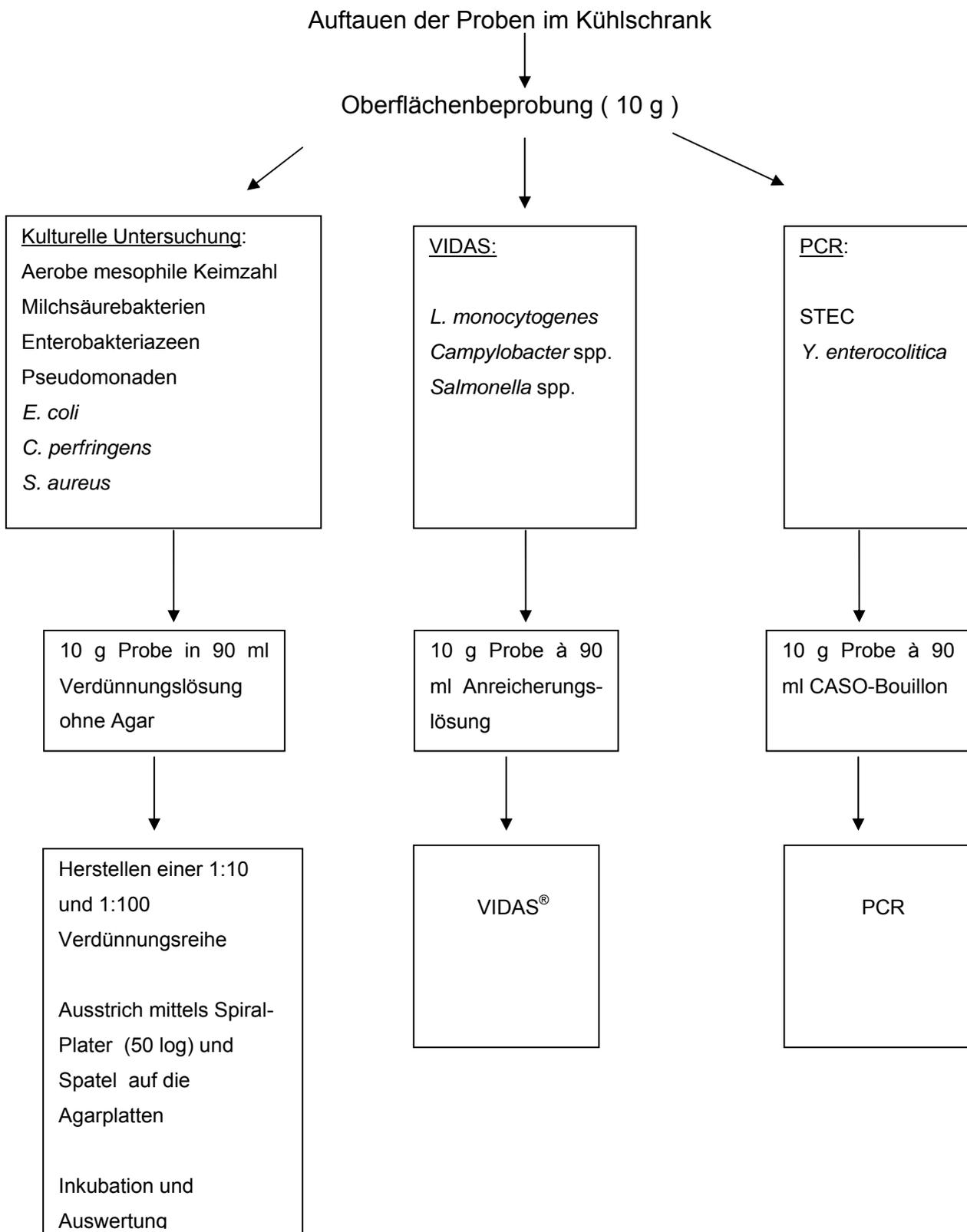
Abb. 1	Kontaminationsmöglichkeiten von Lebensmitteln (LM) durch Salmonellen.....	33
Abb. 2	Darstellung des "Pfeilspitzenphänomens".....	52
Abb. 3	Schema eines Boxplots.....	61
Abb. 4	Boxplot-Diagramm für die Mittelwerte des Parameters Enterobakteriaceen. Es werden die Gruppe I (Ware, die in dem Betrieb weiterverarbeitet wurde) und die Gruppe II (Ware, die in dem Betrieb ausschließlich gelagert wurde) gegenübergestellt.....	67
Abb. 5	Boxplot-Diagramm für die Mittelwerte des Parameters mesophile aerobe Bakterien.....	68
Abb. 6	Boxplot-Diagramm für die Mittelwerte des Parameters <i>S. aureus</i>	69

L ANHANG

Probenr.	Gruppe	aerobe Bakterien	über RW a	über RW b	Milchsäureb.	über RW a	über RW b	Enterob.	über RW a	über RW b	Pseudomonaden	über RW a	über RW b	E. coli	über RW a	über RW b	C. perfringens	über RW a	über RW b	S.aureus	über RW a	über RW b	
9	I	4,0E+04	0	0	4,0E+04	1	0	0	4,0E+04	1	0	4,0E+04	1	0	1,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
18	I	3,0E+06	1	1	3,0E+06	1	1	1	3,0E+06	1	1	3,0E+06	1	1	1,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
22	I	2,0E+04	0	0	2,0E+04	1	0	0	2,0E+04	1	0	2,0E+04	1	0	1,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
30	I	2,0E+04	0	0	2,0E+04	1	0	0	2,0E+04	1	0	2,0E+04	1	0	1,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
31	I	2,8E+06	1	1	2,8E+06	1	1	1	2,8E+06	1	1	2,8E+06	1	1	2,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
32	I	2,8E+06	1	1	2,8E+06	1	1	1	2,8E+06	1	1	2,8E+06	1	1	1,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
33	I	5,6E+06	1	1	5,6E+06	1	1	1	5,6E+06	1	1	5,6E+06	1	1	2,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
34	I	2,1E+04	0	0	2,1E+04	1	0	0	2,1E+04	1	0	2,1E+04	1	0	1,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
35	I	1,8E+05	1	0	1,8E+05	1	0	0	1,8E+05	1	0	1,8E+05	1	0	4,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
36	I	2,7E+04	0	0	2,7E+04	1	0	0	2,7E+04	1	0	2,7E+04	1	0	2,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
37	I	3,1E+04	0	0	3,1E+04	1	0	0	3,1E+04	1	0	3,1E+04	1	0	1,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
38	I	4,9E+04	0	0	4,9E+04	1	0	0	4,9E+04	1	0	4,9E+04	1	0	3,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
39	I	2,1E+05	1	0	2,1E+05	1	0	0	2,1E+05	1	0	2,1E+05	1	0	2,8E+02	0	0	1,0E+01	0	0	2,0E+02	0	0
40	I	1,8E+07	1	1	1,8E+07	1	1	1	1,8E+07	1	1	1,8E+07	1	1	1,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	2,0E+02	0	0
41	I	1,8E+07	1	1	1,8E+07	1	1	1	1,8E+07	1	1	1,8E+07	1	1	1,0E+04	1	1	1,0E+01	0	0	1,1E+03	1	1
42	I	6,1E+06	1	1	6,1E+06	1	1	1	6,1E+06	1	1	6,1E+06	1	1	2,3E+04	1	1	1,0E+01	0	0	2,0E+02	0	0
52	I	7,9E+06	1	1	7,9E+06	1	1	1	7,9E+06	1	1	7,9E+06	1	1	6,0E+02	1	1	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
68	I	5,6E+04	0	0	5,6E+04	1	0	0	5,6E+04	1	0	5,6E+04	1	0	1,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
70	I	1,07E+06	1	1	1,07E+06	1	1	1	1,07E+06	1	1	1,07E+06	1	1	6,0E+02	1	1	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
76	I	1,8E+05	0	0	1,8E+05	1	0	0	1,8E+05	1	0	1,8E+05	1	0	1,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
77	I	2,8E+04	0	0	2,8E+04	1	0	0	2,8E+04	1	0	2,8E+04	1	0	1,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
78	I	6,1E+04	0	0	6,1E+04	1	0	0	6,1E+04	1	0	6,1E+04	1	0	1,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
80	I	8,2E+05	1	0	8,2E+05	1	0	0	8,2E+05	1	0	8,2E+05	1	0	7,0E+03	1	1	3,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
81	I	2,9E+04	0	0	2,9E+04	1	0	0	2,9E+04	1	0	2,9E+04	1	0	1,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
82	I	1,07E+05	1	0	1,07E+05	1	0	0	1,07E+05	1	0	1,07E+05	1	0	1,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
10	II	1,0E+05	1	0	1,0E+05	1	0	0	1,0E+05	1	0	1,0E+05	1	0	1,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
12	II	1,2E+07	1	1	1,2E+07	1	1	1	1,2E+07	1	1	1,2E+07	1	1	1,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
13	II	1,8E+06	1	1	1,8E+06	1	1	1	1,8E+06	1	1	1,8E+06	1	1	1,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
15	II	2,1E+06	1	1	2,1E+06	1	1	1	2,1E+06	1	1	2,1E+06	1	1	1,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
16	II	1,0E+07	1	1	1,0E+07	1	1	1	1,0E+07	1	1	1,0E+07	1	1	1,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
17	II	5,8E+05	1	0	5,8E+05	1	0	0	5,8E+05	1	0	5,8E+05	1	0	1,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
19	II	4,0E+04	0	0	4,0E+04	1	0	0	4,0E+04	1	0	4,0E+04	1	0	1,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
25	II	2,0E+04	0	0	2,0E+04	1	0	0	2,0E+04	1	0	2,0E+04	1	0	1,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
26	II	2,0E+04	0	0	2,0E+04	1	0	0	2,0E+04	1	0	2,0E+04	1	0	1,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
28	II	2,0E+04	0	0	2,0E+04	1	0	0	2,0E+04	1	0	2,0E+04	1	0	1,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
29	II	2,0E+04	0	0	2,0E+04	1	0	0	2,0E+04	1	0	2,0E+04	1	0	1,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
43	II	2,0E+04	0	0	2,0E+04	1	0	0	2,0E+04	1	0	2,0E+04	1	0	1,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
47	II	1,4E+07	1	1	1,4E+07	1	1	1	1,4E+07	1	1	1,4E+07	1	1	1,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
48	II	2,9E+04	0	0	2,9E+04	1	0	0	2,9E+04	1	0	2,9E+04	1	0	1,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
49	II	3,7E+04	0	0	3,7E+04	1	0	0	3,7E+04	1	0	3,7E+04	1	0	1,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
51	II	9,8E+05	1	0	9,8E+05	1	0	0	9,8E+05	1	0	9,8E+05	1	0	2,8E+04	1	1	1,2E+02	0	0	1,0E+02	0	0
53	II	2,4E+06	1	1	2,4E+06	1	1	1	2,4E+06	1	1	2,4E+06	1	1	1,2E+03	1	1	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
54	II	2,0E+04	0	0	2,0E+04	1	0	0	2,0E+04	1	0	2,0E+04	1	0	1,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
58	II	2,0E+04	0	0	2,0E+04	1	0	0	2,0E+04	1	0	2,0E+04	1	0	1,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
59	II	3,8E+06	1	1	3,8E+06	1	1	1	3,8E+06	1	1	3,8E+06	1	1	1,7E+03	1	1	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
60	II	2,0E+04	0	0	2,0E+04	1	0	0	2,0E+04	1	0	2,0E+04	1	0	1,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
61	II	2,9E+04	0	0	2,9E+04	1	0	0	2,9E+04	1	0	2,9E+04	1	0	1,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
62	II	1,5E+05	1	0	1,5E+05	1	0	0	1,5E+05	1	0	1,5E+05	1	0	1,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
63	II	7,0E+06	1	1	7,0E+06	1	1	1	7,0E+06	1	1	7,0E+06	1	1	1,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
64	II	6,4E+06	1	1	6,4E+06	1	1	1	6,4E+06	1	1	6,4E+06	1	1	1,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
65	II	2,0E+04	0	0	2,0E+04	1	0	0	2,0E+04	1	0	2,0E+04	1	0	1,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
66	II	1,0E+06	1	1	1,0E+06	1	1	1	1,0E+06	1	1	1,0E+06	1	1	1,5E+03	1	1	3,0E+01	0	0	3,0E+03	1	1
67	II	3,2E+05	1	0	3,2E+05	1	0	0	3,2E+05	1	0	3,2E+05	1	0	4,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
69	II	3,0E+04	0	0	3,0E+04	1	0	0	3,0E+04	1	0	3,0E+04	1	0	3,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
71	II	3,0E+04	0	0	3,0E+04	1	0	0	3,0E+04	1	0	3,0E+04	1	0	3,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
72	II	8,9E+06	1	1	8,9E+06	1	1	1	8,9E+06	1	1	8,9E+06	1	1	5,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
73	II	7,2E+05	1	0	7,2E+05	1	0	0	7,2E+05	1	0	7,2E+05	1	0	1,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
74	II	1,0E+06	1	1	1,0E+06	1	1	1	1,0E+06	1	1	1,0E+06	1	1	1,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
75	II	1,1E+06	1	1	1,1E+06	1	1	1	1,1E+06	1	1	1,1E+06	1	1	1,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
79	II	5,8E+06	1	1	5,8E+06	1	1	1	5,8E+06	1	1	5,8E+06	1	1	1,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
83	II	2,0E+06	1	1	2,0E+06	1	1	1	2,0E+06	1	1	2,0E+06	1	1	1,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
84	II	2,0E+04	0	0	2,0E+04	1	0	0	2,0E+04	1	0	2,0E+04	1	0	1,0E+02	0	0	1,0E+01	0	0	1,0E+02	0	0
85	II	2,0E+04	0	0	2,0E+04	1	0	0	2,0E+04	1	0	2,0E+04	1										

Probennr.	Gruppe	Salmonellen	Campylobacter	L. monocytogenes	YE	STEC
9	I	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ
18	I	negativ	negativ	negativ	positiv	negativ
22	I	negativ	negativ	negativ	negativ	positiv
30	I	negativ	negativ	negativ	positiv	negativ
31	I	negativ	negativ	negativ	positiv	negativ
32	I	negativ	negativ	negativ	negativ	positiv
33	I	negativ	negativ	negativ	negativ	positiv
34	I	negativ	negativ	negativ	positiv	negativ
35	I	negativ	negativ	negativ	negativ	positiv
36	I	negativ	negativ	negativ	positiv	positiv
37	I	negativ	negativ	negativ	positiv	positiv
38	I	negativ	negativ	negativ	positiv	positiv
39	I	negativ	negativ	positiv	positiv	positiv
40	I	negativ	negativ	negativ	positiv	positiv
41	I	negativ	negativ	negativ	positiv	positiv
42	I	negativ	negativ	negativ	positiv	positiv
52	I	positiv	negativ	negativ	negativ	negativ
68	I	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ
70	I	negativ	negativ	negativ	positiv	positiv
76	I	positiv	negativ	negativ	negativ	positiv
77	I	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ
78	I	negativ	negativ	positiv	negativ	negativ
80	I	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ
81	I	negativ	negativ	negativ	negativ	positiv
82	I	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ
10	II	negativ	negativ	negativ	negativ	positiv
12	II	negativ	negativ	negativ	positiv	positiv
13	II	negativ	negativ	negativ	negativ	positiv
15	II	negativ	negativ	negativ	negativ	positiv
16	II	negativ	negativ	negativ	negativ	positiv
17	II	negativ	negativ	negativ	negativ	positiv
19	II	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ
25	II	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ
26	II	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ
28	II	negativ	negativ	negativ	positiv	negativ
29	II	negativ	negativ	negativ	negativ	positiv
43	II	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ
47	II	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ
48	II	positiv	negativ	negativ	negativ	negativ
49	II	negativ	positiv	positiv	negativ	negativ
51	II	negativ	negativ	negativ	positiv	positiv
53	II	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ
54	II	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ
58	II	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ
59	II	negativ	negativ	positiv	positiv	positiv
60	II	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ
61	II	negativ	negativ	negativ	negativ	positiv
62	II	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ
63	II	negativ	negativ	positiv	positiv	positiv
64	II	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ
65	II	negativ	negativ	negativ	positiv	negativ
66	II	negativ	negativ	negativ	negativ	positiv
67	II	negativ	negativ	negativ	negativ	positiv
69	II	negativ	negativ	positiv	positiv	positiv
71	II	negativ	negativ	positiv	negativ	negativ
72	II	negativ	negativ	negativ	positiv	positiv
73	II	negativ	negativ	negativ	positiv	positiv
74	II	negativ	negativ	negativ	positiv	negativ
75	II	negativ	negativ	negativ	positiv	negativ
79	II	negativ	negativ	positiv	positiv	positiv
83	II	negativ	negativ	negativ	positiv	positiv
84	II	positiv	negativ	negativ	negativ	negativ
85	II	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ

Schema der Beprobung



Danksagung

Mein Dank gilt:

Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. A. Stolle für die Überlassung des Themas, die freundliche Aufnahme am Institut und die jederzeit gewährte Unterstützung und Motivation bei der Anfertigung dieser Arbeit.

Ganz besonders möchte ich mich bei Frau Dr. M. Frederiksson-Ahomaa für die stets kompetente und überaus hilfsbereite Betreuung meiner Arbeit bedanken. Ebenso möchte ich meiner Kollegin Frau C. Meyer für ihre stets gewährte Hilfsbereitschaft bei der Erstellung wie aber auch der Durchsicht meiner Arbeit danken.

Für die Einweisung, die Geduld, die motivierenden Worte und die jederzeit gewährte Hilfe im Bereich der Mikrobiologie möchte ich mich bei Frau U. Demuth, Frau H. Dietz, Frau S. Holzmann und Frau U. Scheffler bedanken.

Ebenso möchte ich allen anderen Mitarbeitern des Instituts für ihre stets vorhandene Hilfsbereitschaft danken.

Nicht zuletzt möchte ich insbesondere meiner Mutter, die mir das Erstellen dieser Arbeit ermöglicht hat, danken. Meiner Schwester Anke und Frau I. Weitzel danke ich für die aufmunternden Worte während der Erstellung dieser Arbeit und für die schnelle Durchsicht der Arbeit.

Abschließend möchte ich mich bei meiner Familie und all meinen Freunden für ihre Geduld, ihr Verständnis und ihre motivierenden Worte bedanken.