

# **Ist die Kühlschrank-Lagerung von Lebensmitteln noch ausreichend sicher? = Is the storage of foods in refrigerators still sufficiently safe?**

Autor(en): **Schmidt-Lorenz, W.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und  
Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **81 (1990)**

Heft 3

PDF erstellt am: **21.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-982615>

## **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern. Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

## **Haftungsausschluss**

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

## Ist die Kühlschranks-Lagerung von Lebensmitteln noch ausreichend sicher?\*

Is the Storage of Foods in Refrigerators still Sufficiently Safe?

W. Schmidt-Lorenz\*\*

Institut für Lebensmittelwissenschaft,  
Eidgenössische Technische Hochschule, Zürich

### Einleitung

Die Kontaminationen von frischen und verarbeiteten Lebensmitteln mit lebensmitteltoxigenen und -toxiinfektiösen Bakterien sind in der Praxis meist ziemlich gering, das heisst es werden in der Regel nur relativ wenige solcher Bakterien auf die Lebensmittel übertragen. So fanden z. B. *Pietsch* und *Levetzow* (1) bei Schlachtgeflügel nur eine *Salmonella*-Zelle pro g und *Surkiewicz* et al. (2) nur eine Zelle pro 2,5 cm<sup>2</sup> Oberfläche bzw. nach einer Abspülmethode 1 bis 30 Salmonellen pro Tierkörper.

Nur bei wenigen dieser Bakterienarten liegt die minimale Infektionsdosis sehr niedrig und können Erkrankungen nach oraler Aufnahme einer geringen Anzahl von Zellen ausgelöst werden, so bei *Campylobacter jejuni*, höchstwahrscheinlich bei *Listeria monocytogenes* und gelegentlich auch bei Salmonellen, insbesondere nach ihrer Aufnahme mit Getränken. Bei den meisten anderen toxiinfektiösen Bakterienarten müssen vom gesunden Erwachsenen sehr viel mehr Zellen aufgenommen werden, bis eine Erkrankung ausgelöst wird. Ebenso werden die zu einer Vergiftung notwendigen Toxinmengen erst bei höheren Zellzahlen gebildet (3). Das bedeutet, dass zur Auslösung einer Erkrankung nach Genuss eines Lebensmittels eine signifikante Vermehrung solcher Bakterien im Produkt vorausgegangen sein muss, und das passiert überwiegend nach falscher Lagerung bei zu hohen Temperaturen.

\* Erweitertes Manuskript eines bei der 22. Arbeitstagung der Schweiz. Gesellschaft für Lebensmittel-Mikrobiologie (SGLH) am 23. November 1989 in Zürich gehaltenen Referates

\*\* Herrn Prof. Dr. E. Thofern zum 65. Geburtstag gewidmet

Die Kontamination von Roh-, Zwischen- und Fertigprodukten mit lebensmitteltoxigenen und -toxiinfektiösen Bakterien ist auch bei grösster Sorgfalt nie mit ausreichender Sicherheit völlig verhütbar. Dagegen ist ihre Vermehrung in Lebensmitteln durch konsequente Kühlung bei Temperaturen von 4 bis 5 °C und tiefer weitgehend zu verhindern oder zumindest stark zu verzögern.

1986 und 1987 hat *Palumbo* (4, 5) zwei Arbeiten mit den Titeln «Is refrigeration enough to restrain foodborne pathogens?» und «Can refrigeration keep our foods safe?» publiziert. Darin und auch von *Foster* (6) wird darauf hingewiesen, dass neben den bereits länger bekannten psychrotrophen, nichtproteolytischen Serotypen B, E und F von *Clostridium botulinum* in den letzten Jahren einige «neuere» toxiinfektiöse Bakterien bekannt geworden sind, die psychrotroph sein können, das heisst auch noch bei Kühlltemperaturen vermehrungsfähig sind. Eine eindeutige Beantwortung der Frage, ob die Kühllagerung hygienisch heute noch ausreichend sicher ist, wurde allerdings nicht gegeben. Lediglich mit einem Vergleich der Minimumtemperaturen der Vermehrung der bekannten und neueren Erreger ist das sicherlich auch nicht möglich.

Notwendig dazu ist:

- eine genaue Analyse der Ergebnisse der zahlreichen bisher vorliegenden experimentellen Untersuchungen über die Minimumtemperaturen der Vermehrung und/oder Toxinbildung toxigener und toxiinfektiöser Bakterien und
- die Berücksichtigung ihrer spezifischen Vermehrungsbedingungen im Kühlltemperaturbereich sowohl in Kulturlösungen als auch in rohen und verarbeiteten Lebensmitteln unterschiedlicher Art.

### **Die Minimumtemperaturen von Vermehrung und/oder Toxinbildung lebensmitteltoxigener und -toxiinfektiöser Bakterien**

Nahezu alle bisher durchgeführten Bestimmungen der Minimumtemperaturen erfolgten nach folgendem Verfahren:

- Anzucht der Keime in nährstoffreichen Kulturmedien.
- Beimpfung von entsprechenden Kulturmedien oder von Lebensmitteln, meist in der Grössenordnung von  $10^4$  bis  $10^5$  Zellen pro ml oder g oder mehr.
- Exposition bei konstanten Kühlltemperaturen zwischen  $-2$  und  $+15$  °C oder höher.
- Kontinuierliche oder meist diskontinuierliche Kontrolle der Vermehrung bzw. Toxinbildung bei flüssigen Medien oft durch Trübungsmessungen, bei Lebensmitteln durch Koloniezählungen und gegebenenfalls durch Toxin-nachweise.

Die mit dieser Methodik erfassbaren Werte sind genau genommen nur die unteren Grenztemperaturen von Vermehrung und/oder Toxinbildung, werden aber in der Praxis allgemein als Minimumtemperaturen bezeichnet. Die echten Minimumtemperaturen der Vermehrung, bei denen die Vermehrungs- und Inaktivie-

rungsraten der vorhandenen Zellen gleich sind, woraus dann über lange Zeit konstante Zahlen vermehrungsfähiger Zellen resultieren, können durchaus tiefer liegen und sind nur mit sehr hohem experimentellen Aufwand exakt zu bestimmen.

Für die Praxis sind aber nur die unteren Grenz- oder Minimumtemperaturen interessant, bei denen eine signifikante Vermehrung in der Grössenordnung von mindestens ein bis zwei oder mehr Zehnerpotenzen erfolgt.

Voraussetzung für jeden Vergleich der Ergebnisse experimenteller Untersuchungen ist eine ausreichende Konstanz der geprüften Temperaturen mit Abweichungen von nicht mehr als  $\pm 0,1$  bis  $0,5$  °C. Dies war in älteren Arbeiten, wie sie in Übersichtsberichten von *Michener* und *Elliott* (7) und *Schmidt-Lorenz* (8) erfasst wurden, aus technischen Gründen oft nicht gegeben. Solche Arbeiten wurden daher nur dann aufgenommen, wenn die Temperaturkonstanz eindeutig belegt war.

Zur kritischen Bewertung der bisherigen Angaben sind neben den angegebenen Minimumtemperaturen unbedingt noch einige weitere experimentelle Parameter zu berücksichtigen. Die wichtigsten sind in den Tabellen 1 bis 8, 11 und 12 in den Spalten 1 bis 8 und in den Tabellen 9 und 10 in den Spalten 2 bis 9 aufgeführt.

- Spalte 1 (bzw. 2) gibt die jeweils niedrigste Temperatur an und
- Spalte 2 (bzw. 3) die Zeit in Tagen, nach der bei dieser Temperatur eindeutig Vermehrung und/oder Toxinbildung nachgewiesen wurde.

Bei einigen Untersuchungen wurden lediglich die Generationszeiten bestimmt und sind dann anstatt der Tage angegeben, wie z. B. in Tabelle 1 (g 84 h).

- Spalte 3 (bzw. 4) gibt das Substrat an, in dem die Vermehrung und/oder Toxinbildung geprüft wurde. Im oberen Teil der Tabellen bzw. in Tabelle 7 sind die Untersuchungen in bakteriologischen Kulturlösungen – hier Laboratoriumsmedien genannt –, im unteren Teil und in Tabelle 8 in verschiedenen Lebensmitteln aufgeführt.

In den Laboratoriumsmedien wurden oft nur Trübungsmessungen (Tr), gelegentlich auch qualitative Oberflächenausstrich-Kulturen auf Agarmedien (0), sonst überall Koloniezählungen und/oder Toxinnachweise durchgeführt.

- Spalte 4 (bzw. 5) gibt die jeweils geprüften Temperaturen an, wobei höhere Temperaturen nicht berücksichtigt und die Temperaturen, bei denen eindeutig keine Vermehrung mehr nachweisbar war, unterstrichen sind. Nur wenige Untersuchungen erfolgten mit Temperaturgradient-Inkubatoren, wie z. B. in Tabelle 3 (5–50\*).
- Spalte 5 (bzw. 6) gibt die angewandten Beobachtungszeiten in Tagen an.
- Spalte 6 (bzw. 7) gibt die Anzahl jeweils geprüfter Stämme oder Serotypen an, die entweder einzeln oder in gleichmässiger Mischung ( $p = \text{pool}$ ) geprüft wurden.
- Spalte 7 (bzw. 8) gibt die jeweils angewandten Ausgangskoloniezahlen ( $\log_{10}$  KBE  $\text{ml}^{-1}$  oder  $\text{g}^{-1}$ ) an.
- Spalte 8 (bzw. 9) führt die Autoren auf.

*Clostridium botulinum*

In Tabelle 1 sind die wichtigsten bisher vorliegenden Angaben für die proteolytischen Serotypen A, B, F und G, in Tabelle 2 für die nichtproteolytischen Serotypen B, E und F aufgeführt.

Nur in zwei Arbeiten wurde ausschliesslich die Vermehrung durch Koloniezählungen ohne gleichzeitige Toxinnachweise bestimmt (12, 28). In allen übrigen Untersuchungen wurden Toxinnachweise mit dem Mäusetest durchgeführt. In zahlreichen Arbeiten wurde zusätzlich die Vermehrung quantitativ durch Koloniezählungen (9, 15, 40) oder MPN-Bestimmungen (10, 11, 32) bzw. qualitativ durch Verfolgung von Gasbildung und/oder Trübung (13, 17, 18, 20, 23, 25, 26, 31, 33, 37) erfasst. Nach Siegel und Metzger (46) werden die Toxine gegen Ende der Wachstumsphase überwiegend infolge Lysis der Zellen in das Kulturmedium freigesetzt. Sie können aber auch bereits während der logarithmischen Vermehrungsphase vor Einsetzen der Lysis exkretiert werden. In jedem Fall werden Toxine nur von sich vermehrenden Zellen gebildet. Damit ist der positive Toxinnachweis immer auch der Nachweis einer erfolgten Vermehrung.

*Proteolytische Serotypen A, B, F und G*

Die wichtigsten Eigenschaften der proteolytischen und nichtproteolytischen Biotypen von *Clostridium botulinum* einschliesslich ihres Temperaturverhaltens wurden in den Übersichtsberichten von Sperber (47) und Lynt et al. (48) gegenübergestellt. Danach ist bisher keine Vermehrung der proteolytischen Stämme bei 10 °C und darunter nachgewiesen.

Die bisher einzige Angabe von Tanner und Oglesby (49) über das Wachstum von fünf Stämmen bei 10 °C ist nicht zu werten, da die Kulturen in einem Temperaturbereich zwischen 10 und 12 °C exponiert waren und keine ausreichende Temperaturkonstanz gegeben war. Nur mit Vorbehalt zu werten sind auch die Befunde von Notermans et al. (14), die in mit den Serotypen A und B beimpften, gekochten und vakuumverpackten Kartoffeln nach achttägiger Lagerung bei 10 °C in zwei Proben Toxinbildung im Mäusetest, aber nicht mit dem ELISA-Verfahren, nachgewiesen hatten. Weitere neun Proben derselben Serie waren nach 11 bis 30 Tage langer Lagerung bei 10 °C bis auf eine positive Probe nach 23 Tagen negativ.

Demgegenüber konnten Smelt und Haas (9) bei 10 A- und 18 B-Stämmen bei 10 °C innerhalb von 112 Tagen keine Vermehrung, sondern immer nur eine starke Abnahme der Koloniezahlen nachweisen. Auch in fünf anderen Prüfungen war nach über 60 bis 180 Tage langer Exposition keine Toxinbildung bei den niedrigeren Temperaturen von 8 °C (10, 11, 22) oder 10 °C (20, 21) nachweisbar. Übereinstimmend wurde als unterste Temperatur von Vermehrung und Toxinbildung bisher nur 12 bzw. 12,5 °C festgestellt (9–12).

Bei einer Reihe von A- und B-Stämmen lag die unterste Grenztemperatur bei 15 und 16 °C (9, 12–18). Auch die beiden einzigen bisher geprüften Stämme des

**Tabelle 1.** *Clostridium botulinum*, proteolytische Serotypen A, B, F und G. – Experimentelle Daten über die Minimumtemperaturen der Vermehrung und/oder Toxinbildung in Laboratoriumsmedien und Lebensmitteln (Erläuterungen und Abkürzungen im Text)

Vermehrung		Untersuchung					Autoren
Temp.	Zeit (d)	Substrat	Temp. °C	Zeit (d)	Serotypen	log <sub>10</sub> KBE ml <sup>-1</sup> /g <sup>-1</sup>	
12 °C	40–60	Lab.-M.	10, 12, 15, 20	1–112	10A, 18B p	4,0–5,0	Smelt und Haas (9)
12 °C	110	Lab.-M.	4, 8, 12, 26	1–180	1B, 1F	4,3	Solomon et al. (10)
12 °C	20–40	Lab.-M.	4, 8, 12, 26	1–180	1G	3,0	Solomon et al. (11)
12,5 °C	(g 84 h)	Lab.-M. (Tr.)	12,5, 15, 17,5...	–	3A, 5B	3,0	Ohye und Scotch (12)
15 °C	7–21	Lab.-M.	10, 12, 15, 20	1– 60	18A p	4,0–5,0	Smelt und Haas (9)
15 °C	(g 28 h)	Lab.-M. (Tr.)	12,5, 15, 17,5...	–	10A, 10B	3,0	Ohye und Scotch (12)
16 °C	14	Lab.-M. (Tr.)	12, 16, 20, 30	3– 28	2A + 2B p	2,7	Graham und Lund (13)
12 °C	40–60	Krabben (steril)	4, 8, 12, 26	1–180	1G	3,0	Solomon et al. (11)
15 °C	4– 8	Kartoffeln (gek. vak.-verp.)	4, 10, 15, 20	4– 60	2A, 4B	3,0	Notermans et al. (14)
15 °C	60	Kartoffeln (gek. vak.-verp.)	15, 20, 25	5– 60	1B	1,0	Notermans et al. (15)
15 °C	30–60	gek. Schinken	15, 30	30, 60	4A + 3B p	4,0	Pivnik und Bird (16)
15 °C	–	S-Fleisch-Homog. (past.)	15, 17,5, 20, 35	7–168	5A + 5B p	1,0, 3,0	Roberts et al. (17, 18)
20 °C	6	Leberwurst	15, 20, 25	3, 6, 14	1A	3,0	Ala-Huikku et al. (19)
24 °C	12–26	Krabben (past.)	4,4, 10, 24	1– 75	1A, 1B	–	Lerke und Farber (20)
25 °C	58	Leberwurst	10, 18, 25, 30	1–205	–	3,7	Steinke und Foster (21)
26 °C	3– 6	Krabben (steril)	4, 8, 12, 26	1–110	1B, 1F	4,3	Solomon et al. (10)
26 °C	4– 7	Hamburger, Wurst	8, 12, 26	1– 60	5A + 5B p	–	Kautter et al. (22)
27 °C	7–14	Schinken (past.)	7, 27	3–168	5A + 5B p	2,0–3,7	Christiansen et al. (23)

Serotyps F (10) und des schwach proteolytischen Serotyps G (11) hatten bei 12 °C das Minimum von Wachstum und Toxinbildung.

Übereinstimmend war bei der Grenztemperatur von 12 °C die Toxinbildung bzw. Vermehrung erst nach mehrwöchiger Lagerung zwischen 20, 40 und 110 Tagen nachweisbar. Bei den beimpften Lebensmitteln, bei denen der Toxinnachweis erst bei Lagerung zwischen 20 und 27 °C positiv war, wurden entweder die Temperaturen zwischen 15 bis 20 °C nicht geprüft (20) oder durch den Nitritzusatz in den gepökelten Produkten (19, 21–23) die Vermehrung bei niedrigen Temperaturen gehemmt.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass bei den proteolytischen Serotypen A, B, F und G von *C. botulinum* die Minimumtemperaturen von Vermehrung und Toxinbildung zwischen 11 und 15 °C liegen, dass also eindeutig keine Vermehrung bei Kühlschranktemperaturen von 4 bis 5 °C möglich ist.

### *Nichtproteolytische Serotypen B, E und F*

*Simunovic* et al. (50) haben ausführlich die bis etwa 1981 erschienenen Arbeiten über die Temperaturabhängigkeit von Vermehrung und Toxinbildung der nichtproteolytischen Serotypen beschrieben und verglichen. Danach können diese Stämme nach 31 bis 120 Tagen bei 3,0 (24) und 3,3 °C sowohl in Kulturmedien (25, 26) als auch in gekochtem Rindfleisch (33) wachsen und Toxine bilden.

Mehrfach wurden nur 4,5 oder 8 °C als niedrigste Temperaturen geprüft und dabei Toxinbildung bei 4 °C nach kürzeren Zeiten von 15 bis 30 Tagen (10, 11, 34–37), bei 5 °C nach 12 bis 16 Tagen (28, 38) bzw. erst nach 56 bis 180 Tagen (27, 29) und bei 8 °C nach 7 bis 12 Tagen (31, 32, 39–41) nachgewiesen. Wie *Simunovic* et al. (50) betonen, sind die zur Toxinbildung notwendigen Zeiten in hohem Masse abhängig von Substrat, Beimpfungsstärke, Stamm und anderen Faktoren. Keine Toxinbildung erfolgte auch nach mehrmonatiger Exposition bei 1 °C (20, 24, 33, 40) und 2,0 bis 2,2 °C (25, 33, 36). Die Serotypen B, E und F zeigten weitgehend gleiches Verhalten. Bei 3,3 °C wuchs der am häufigsten untersuchte Serotyp E offenbar etwas rascher als der Serotyp B (25, 33).

Die bei beimpften Lebensmitteln oft etwas höheren Minimumtemperaturen waren entweder substratbedingt, oder es wurden keine tieferen Temperaturen geprüft. Immerhin erfolgte bei 10 °C bei frischem, geräuchertem und vakuumverpacktem Fisch (42–44), pasteurisierten Krabben (20) und gekochten Kartoffeln (14) bereits innerhalb von 5 bis 9 Tagen Toxinbildung. *Garcia* et al. (40) fanden bei mit einer Mischung von 13 Stämmen der Serotypen B, E und F beimpftem Frischfisch in Vakuumverpackung bei 8 °C eine lag-Phase der Vermehrung von 3 Tagen, in Schutzgasverpackung mit 100% CO<sub>2</sub> von 6 Tagen und bei einer Gas Mischung von 70% CO<sub>2</sub> und 30% Luft von 9 Tagen, bei 12 °C dagegen von nur 2 bis 3 Tagen.

Natürlicher Standort aller *C. botulinum*-Serotypen ist der Erdboden. Der Serotyp E kommt sehr häufig in durchnässtem Boden und Sedimenten von Süß- und Salzwasser vor, ist aber im Meerwasser wohl kaum autochthon, sondern mit den Zuflüssen nur sekundär angereichert (51). Nach *Huss* (52) könnte man den Typ E

Tabelle 2. *Clostridium botulinum*, nichtproteolytische Serotypen B, E und F – Experimentelle Daten über die Minimumtemperaturen der Vermehrung und/oder Toxinbildung in Laboratoriumsmedien und Lebensmitteln

Vermehrung		Untersuchung					Autoren
Temp.	Zeit (d)	Substrat	Temp. °C	Zeit (d)	Serotypen	log <sub>10</sub> KBE ml <sup>-1</sup> /g <sup>-1</sup>	
3 °C	120	Lab.-M.	1, 3, 6, 10, 15, 20	1–365	1E	5,0	Abrahamsson et al. (24)
3,3 °C	85–102	Lab.-M.	2,2, 3,3, 4,4, 5,6	1–109	1B	4,0–5,0	Eklund et al. (25)
3,3 °C	47–102	Lab.-M.	3,3, 4,4, 5,6	1–102	2F	4,0–5,0	Eklund et al. (26)
4 °C	30– 52	Lab.-M.	4, 8, 12, 26	1–180	1E	2,0–3,0	Solomon et al. (10)
4 °C	20	Lab.-M.	4, 8, 12, 26	1–180	1B, 1F	3,3	Solomon et al. (11)
5 °C	180	Lab.-M. (Tr.)	3,4, 5, 7,2, 10, 15,6	180	6E	5,0	Emodi und Lechow (27)
5 °C	12	Lab.-M. (Tr.)	5, 10, 15, 20 . . .	1– 12	1B, 1E, 1F	–	Roberts und Hobbs (28)
5 °C	<56	Lab.-M.	5	154	10E	–	Ohye und Scott (29)
6 °C	7	Lab.-M. (Tr.)	6, 24	7– 42	1B	–	Dolman et al. (30)
8 °C	7– 9	Lab.-M. (Tr.)	8, 10, 16, 21	1–365	4E p	5,0	Segner et al. (31)
8 °C	10	Lab.-M.	8, 12, 16, 20	1– 56	2B + 2E p	3,5	Lund et al. (32)
3,3 °C	31– 60	R-Fleisch (gek.)	1, 2, 1, 3,3	1–104	4E	–	Schmidt et al. (33)
4 °C	15	Fisch (verp.)	4, 8, 12, 16 . . .	1– 60	1E	–	Baker u. Genigeorgis (34)
4 °C	21– 42	Fisch (bestrahlt)	4, 22	1– 42	1E	2,0–5,0	Ajmal (35)
4 °C	25	Austern, Muscheln	2, 4, 7, 10, 13	90	2E	2,0	Patel et al. (36)
4,4 °C	68– 88	Krabben (steril)	4,4, 10, 24	1–120	4E	1,0–4,0	Cockey und Tatro (37)
5 °C	16	Fisch (vak.-verp.)	5, 10, 20	1– 36	1E	1,0–5,0	Cann et al. (38)
5–8 °C	28– 35	Fisch (geräuch.)	5–8	1– 56	3E p	2,0	Dehof et al. (39)
8 °C	6– 12	Fisch (vak.-verp.)	1, 4, 8, 12, 30	1– 60	13B/E/F p	–2,0–2,0	Garcia et al. (40)
8 °C	28	Leberwurst	5, 8, 10, 15	1–110	5B + 13E p	2,1	Lücke et al. (41)
8 °C	11	Knochen-Schinken	8, 10	1– 40	5B + 13E p	4,7	Lücke et al. (41)
10 °C	5	Fisch (geräuch.)	5, 10, 15, 30	1– 38	1E	4,0	Kautter (42)
10 °C	5– 8	Fisch	10, 15, 30	1– 10	1E	1,0/2,0	Huss et al. (43)
10 °C	6– 12	Fisch (vak.-verp.)	10	1– 21	1E	2,0–5,0	Cann et al. (44)
10 °C	9	Kartoffeln (gek.)	4, 10, 20	1– 60	1E	3,0	Notermans et al. (14)
10 °C	8	Krabben (past.)	1,1, 4,4, 10, 24 . . .	1– 75	2E	4,0	Lerke und Farber (20)
10 °C	28	Ochsenszunge	5, 10, 15, 20	3– 56	5E p	4,0	Pivnick und Bird (16)
12 °C	30	Krabben (steril)	4, 8, 12, 26	1–110	1E	3,3	Solomon et al. (10)



Vermehrung		Untersuchung					Autoren
Temp.	Zeit (d)	Substrat	Temp. °C	Zeit (d)	Serotypen	log <sub>10</sub> KBE ml <sup>-1</sup> /g <sup>-1</sup>	
12 °C	30	Hamburger	8, 12	30,60	3E p	2,0	Kautter et al. (22)
15 °C	14	Fisch (geräuch.)	5, 10, 15, 28	1- 32	1E	1,0-4,0	Pace et al. (45)
26 °C	3-10	Krabben (steril)	4, 8, 12, 26	1-180	1B, 1F	3,3	Solomon et al. (11)

Tabelle 3. *Staphylococcus aureus*. Experimentelle Daten über die Minimumtemperaturen der Vermehrung in Laboratoriumsmedien und Lebensmitteln

Vermehrung		Untersuchung					Autoren
Temp.	Zeit (d)	Substrat	Temp. °C	Zeit (d)	Stämme n log <sub>10</sub> KBE ml <sup>-1</sup> /g <sup>-1</sup>		
7 °C	7	Lab.-M. (Tr.)	5-50*	1- 7	8	5,8	Schmitt et al. (53)
8 °C	7	Lab.-M. (Tr.)	5-50*	1- 7	10	5,8	Schmitt et al. (53)
9-10 °C	7	Lab.-M. (Tr.)	5-50*	1- 7	21	5,8	Schmitt et al. (53)
10 °C	10-20	Lab.-M.	5, 10, 22 ...	1-160	2	3,0	Walker und Harmon (54)
12 °C	8	Lab.-M.	8, 12, 18 ...	1- 30	14 p	5,0	Notermans u. Heuvelman (55)
12 °C	4	Lab.-M. (Tr.)	5-50*	1- 7	2	5,8	Schmitt et al. (53)
13 °C	7	Lab.-M.	7, 13, 19 ...	7	3	6,0	Scheusner et al. (56)
14 °C	4	Lab.-M. (Tr.)	5-50*	1- 7	3	5,8	Schmitt et al. (53)
15 °C	7	Lab.-M. (Tr.)	4, 15, 20 ...	1- 8	1B	-	Hojvat und Jackson (57)
15,5 °C	-	Lab.-M.	15,5, 27 ...	-	1	-	Iandolo et al. (58)
5 °C	30	Bacon	5, 16	1- 30	1	6,0	Farrell und Upton (59)
7 °C	5	Eierkrem, Geflügel (gek.)	5,5, 7, 10 ...	1- 5	3	7,0	Angelotti et al. (60)
7 °C	14	Kond.-Milch	4,5, 7, 10, 16...	1- 52	3	4,0	George und Olson (61)
10 °C	5- 9	R-Fleisch (roh und gek.)	10, 15	1- 10	3	4,0	Tatini et al. (62)
10 °C	6	R-Leber	10, 21	1- 6	1	3,5	Berry et al. (63)
10 °C	10-20	Milch (steril)	5, 10, 22 ...	1-160	2	3,0	Walker und Harmon (54)
12 °C	4	Flüssigei (frisch u. past.)	12	1- 9	1	1,7	Paul und Potter (64)
15 °C	4	Puten-Hackfl. (roh u. gek.)	7, 10, 15, 20...	1- 5	2	3,0	Yang et al. (65)
15 °C	7	Bacon	5, 15	1- 42	1	3,0/6,0	Dempster und Kelly (66)

\* mit Temperaturgradient-Inkubatoren bestimmt

auch als «echten aquatischen Organismus» bezeichnen, da nach passiver Akkumulation in aquatischen Sedimenten eine Vermehrung und Sporenbildung in Fischen und der übrigen Wasserfauna und damit eine weitere Verbreitung erfolgen kann. Jedenfalls sind Süß- und Salzwasserfische, Schalen- und Krustentiere häufig mit dem Typ E kontaminiert.

Kühltemperaturen von 4 bis 5 °C sind bei Kontaminationen von Lebensmitteln mit den nichtproteolytischen Serotypen B, E und F von *Clostridium botulinum* nur für wenige, das heisst maximal bis 6 Tage haltbare Lebensmittel hygienisch noch gerade ausreichend sicher, weil bei diesen Temperaturen die lag-Phase noch relativ lang ist. Bei längerer Lagerung ist auch bei diesen Temperaturen durchaus Vermehrung und Toxinbildung möglich. Alle Rohprodukte und Lebensmittel, bei denen mit dem Vorkommen von Sporen oder vegetativen Zellen der nichtproteolytischen Serotypen von *C. botulinum* zu rechnen ist, sind daher sicherheitshalber bei niedrigen Temperaturen zwischen 0 und +2 °C zu lagern. Es sind dies:

- 1) alle Fische, Krusten- und Schalentiere, insbesondere auch nur leicht geräucherte Fische
- 2) alle pasteurisierten oder vorgekochten, schwach sauren bis neutralen Lebensmittel wie insbesondere Fertiggerichte und ähnliche Produkte.

### *Staphylococcus aureus*

Bei allen bisher geprüften enterotoxinbildenden Stämmen von *S. aureus* lagen die Minimumtemperaturen der Toxinbildung deutlich, das heisst um 5 bis zu 10 °C höher als die der Vermehrung.

#### 1. Vermehrung

In Tabelle 3 sind die wichtigsten Arbeiten über die unteren Grenztemperaturen der Vermehrung zusammengefasst. Nur bei zwei Untersuchungen in flüssigen Kulturmedien (53, 57) erfolgten Trübungsmessungen. Bei allen anderen wurde die Vermehrung durch Koloniezählungen verfolgt.

Die niedrigste Vermehrungstemperatur von +5 °C wurde von *Farrell* und *Upton* (59) nach massiver Beimpfung von Bacon mit  $10^6$  KBE  $g^{-1}$  nachgewiesen. Nach einem zunächst starken Abfall erfolgte dann erst nach 30 Tagen Lagerung eine Zunahme der Staphylokokken-Koloniezahlen. Diese sehr niedrige Minimumtemperatur von +5 °C ist offensichtlich ein Einzelfall. In sechs Arbeiten konnte keine Vermehrung bei 4 bis 5,5 °C (53, 54, 57, 60, 61, 66) und in fünf Arbeiten bei 7 und 8 °C (55, 56, 60, 61, 65) nachgewiesen werden. In den eingehenden Untersuchungen von *Schmitt* (67) und *Schmitt* et al. (53) mit Temperaturgradient-Inkubatoren mit sehr engen Temperaturstufen von 1,5 °C lagen die Minimumtemperaturen von 44 aus Lebensmitteln isolierten, toxinbildenden Stämmen zwischen  $7 \pm 0,75$  und 14 °C, davon bei 8 Stämmen bei 7 °C, bei 10 Stämmen bei 8 °C, bei 21 Stämmen bei 9 bis 10 °C, bei 2 Stämmen bei 12 °C und bei 3 Stämmen bei 14 °C. Dies dürfte der natürlichen Variabilität eines grösseren Kollektivs von Stämmen aus unterschiedlichsten Lebensmitteln entsprechen. Bei weiteren

32 nichttoxinbildenden Stämmen lagen die Minimumtemperaturen der Vermehrung ebenfalls zwischen 7,5 und 11 °C.

## 2. Enterotoxinbildung

In Tabelle 4 sind alle Arbeiten über die Minimumtemperaturen der Enterotoxinbildung zusammengefasst. Die niedrigste Temperatur von 10 °C bzw. 10,5 °C wurde bisher nur in drei Untersuchungen nachgewiesen. *Genigeorgis* et al. (75) fanden bei pasteurisiertem und danach beimpftem Schinken nach 2 bis 16 Wochen anaerober Lagerung bei 10 °C Enterotoxin-B-Bildung. *Tatini* et al. (62) konnten Toxinbildung in gekochtem, aber nicht in rohem Rindfleisch bereits 7 Tage nach der Beimpfung, in Bologna-Wurst aber erst nach 8 Wochen nachweisen. *Schmitt* et al. (53) stellten bei zwei Stämmen ebenfalls erst nach 2 bis 4 Wochen in Hirn-Herz-Infusion bei 10,5 °C, aber nicht mehr bei 9,5 °C, sehr geringe Toxinbildung fest.

Keine Toxinbildung innerhalb von 7 bis 30 Tagen wurde mehrfach gefunden bei 4 °C (57, 81), bei 7 und 8 °C (53, 55, 56, 65, 82) und bei 9 bis 10 °C (65, 68, 71, 78). Bei acht Untersuchungen lagen die Minimumtemperaturen der Toxinbildung zwischen 12 und 16 °C, bei 15 Arbeiten zwischen 18 und 26 °C. Dabei ist zu berücksichtigen, dass in den älteren Untersuchungen überwiegend hochproduktive enterotoxinbildende Sammlungsstämmen, wie z. B. der Stamm S 6 (55, 68–70, 72, 73 75) und andere, geprüft wurden. Dagegen waren die von *Schmitt* et al. (53) und *Schmitt* (67) geprüften 46 Stämme aus verschiedenen Lebensmitteln wie Fleisch, Geflügel, Milch, Käse, Teigwaren und anderen Produkten isoliert. Sie dürften eher den in der Praxis anzutreffenden vielfältigen Biotypen entsprechen. Dabei zeigte nur ein Stamm Toxinbildung bei 14 °C, alle anderen nur bei höheren Temperaturen zwischen 18 und 37 °C. Bei 21 Stämmen lag die untere Temperaturgrenze sogar zwischen 31 und 37 °C. Die Breite des Temperaturbereiches der Toxinbildung war stammspezifisch äusserst variabel und lag oft zwischen 2 bis 20 °C. Dabei konnte bei Bildung von gleichzeitig zwei verschiedenen Toxinen durch einen Stamm der Temperaturbereich der Toxinbildung für jedes Toxin bei diesen beiden Extremen liegen.

Einschränkend ist allerdings anzumerken, dass bei den Untersuchungen von *Schmitt* et al. (53) und *Schmitt* (67) jeweils nur 7 Tage bebrütet wurde, was weitgehend der maximalen Haltbarkeit von frischen und verarbeiteten Lebensmitteln bei diesen Temperaturen entspricht. Es ist nicht auszuschliessen, dass nach mehrwöchiger Exposition doch noch geringe Mengen Toxin gebildet wurden.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass *S. aureus*-Stämme mit der Fähigkeit zur Enterotoxinbildung bei Temperaturen zwischen 10 und 16 °C wahrscheinlich doch nur relativ selten vorkommen dürften und dass die unteren Grenztemperaturen der Toxinbildung überwiegend über 18 bis 20 °C liegen.

## *Bacillus cereus*

*B. cereus*, der in der späten exponentiellen Vermehrungsphase ein diarrhoetisches und wahrscheinlich erst während der Sporenbildung ein emetisches Toxin

bilden kann, wurde bisher als mesophil mit einem Temperaturbereich der Vermehrung zwischen 10 und 50 °C angesehen. Erst in den letzten Jahren wurden aus kälteren Biotopen (84), vor allem aber aus Milch und Milchprodukten (83, 85, 89), psychrotrophe Stämme mit Vermehrungsminima zwischen 1 und 8 °C isoliert (Tabelle 5). *Coghill* und *Juffs* (83) konnten bei zwei Stämmen nach Beimpfung von Trypton-Soja-Bouillon mit vegetativen Zellen noch bei 1 °C in 10 Tagen eine deutliche Vermehrung mit einer Zunahme der Koloniezahlen um fast 3 Zehnerpotenzen nachweisen. Zwei weitere Stämme wuchsen nicht mehr bei 4 °C, sondern erst bei 7 °C, während *Bonde* (84) bei 27 Isolaten eine Vermehrung noch bei 4 °C fand. *Christiansson* et al. (89) fanden bei 102 Isolaten aus Milch und Sahne nach 7 Tagen bei 8 °C Wachstum und Toxinbildung. Niedrigere Temperaturen wurden nicht geprüft. Dagegen hatten die von *Johnson* et al. (88) geprüften je zwei emetischen und diarrhoetischen Stämme sowohl in Kulturlösung als auch in sterilem Reis ebenso wie drei von *Gilbert* et al. (90) untersuchte Stämme in gekochtem Reis ein relativ hohes Vermehrungsminimum bei 15 °C.

Bei der weiten Verbreitung von *B. cereus* sowohl im Erdboden als auch in Gewürzen und vielen Trockenprodukten ist durchaus mit dem Auftreten von psychrotrophen Stämmen, die noch bei Kühlschranktemperaturen wachsen und möglicherweise auch Toxine bilden können, zu rechnen. Dies unterstützt die Forderung nach einer konsequenten Kühlung vor allem von gewürzten und pasteurisierten oder gekochten Lebensmitteln wie Fertiggerichte bei 0 bis +2 °C, da die *B. cereus*-Sporen durch milde Pasteurisation oft nicht ausreichend inaktiviert werden.

### *Lebensmittel-toxiinfektiöse Bakterien*

#### *Clostridium perfringens*

Die meisten bisher vorliegenden Daten über die Temperaturabhängigkeit von Vermehrung und Sporulation von *C. perfringens* sind sehr ausführlich von *Craven* (91) gegenübergestellt und kritisch besprochen. Wie Tabelle 6 zeigt, ist *C. perfringens* typisch mesophil und kann sich bei 10 °C nicht mehr vermehren. Als unterste Grenztemperaturen wurden in flüssigen Kulturmedien mehrfach 15 °C, aber auch 20, 22 und 25 °C, in Lebensmitteln 18,3 bis 24 °C bestimmt. Eine Vermehrung bei 12 °C in bei 68 °C pasteurisierter Brühwurst wurde bisher nur von *Solberg* und *Elkind* (97) beobachtet.

Gut gekühlte Lebensmittel sind also sicher vor einer Vermehrung von *C. perfringens* geschützt. Ausserdem sind die vegetativen Zellen oft kälteempfindlich und werden bei Temperaturen von 0 bis +5 °C langsam inaktiviert (91, 97).

#### *Salmonella* spp.

*Salmonellosen* sind immer noch die am häufigsten vorkommenden, bakteriellen Erkrankungen durch Lebensmittel. Daher liegen hier sehr zahlreiche Prüfungen

Tabelle 4. *Staphylococcus aureus*. Experimentelle Daten über die Minimumtemperaturen der Enterotoxinbildung in Laboratoriumsmedien und Lebensmitteln

Vermehrung		Untersuchung					Autoren
Temp.	Zeit (d)	Substrat	Temp. °C	Zeit (d)	Serotypen (n)	log <sub>10</sub> KBE ml <sup>-1</sup> /g <sup>-1</sup>	
10,5 °C	14–28	Lab.-M.	5–50*	1– 28	2A + D	–	Schmitt et al. (53)
12 °C	10	Lab.-M.	8, 12, 18, 24 ...	1– 30	4A, 4B p	5,0	Notermans u. Heuvelman (55)
13 °C	7	Lab.-M.	7, 13, 19 ...	1– 28	1B	6,0	Scheusner et al. (56)
14 °C	7	Lab.-M.	5–50*	1– 7	1B	5,8	Schmitt et al. (53), Schmitt (67)
15 °C	2	Lab.-M.	10, 15, 20 ...	2	1B	–	Vandenbosch et al. (68)
15,2 °C	5	Lab.-M.	15,2–43	1– 5	1B	–	Marland et al. (69)
16 °C	5	Lab.-M.	16, 20, 37	1– 9	1B	–	McLean et al. (70)
18 °C	3	Lab.-M.	9, 18, 20, 23,5	1– 7	1	–	Segalove und Dack (71)
18 °C	8–13	Lab.-M.	8, 12, 18, 24	1– 30	3C, 3F p	5,0	Notermans u. Heuvelman (55)
19 °C	2– 5	Lab.-M.	7, 13, 19, 26	1– 28	1A, B, C, D	6,0	Scheusner et al. (56)
20 °C	5	Lab.-M.	4, 15, 20, 25...	1– 8	1B	–	Hojvat und Jackson (57)
20 °C	1	Lab.-M.	20, 25	1– 2	1B	–	Dietrich et al. (72)
20 °C	1	Lab.-M.	20, 25	1– 3	1A + B	5,0	Pereira et al. (73)
21 °C	1	Lab.-M.	21, 27, 30 ...	1	2A	5,0	Niskanen (74)
18–21 °C	5	Lab.-M.	5–50*	1– 7	17A, B, C, D, E	5,8	Schmitt et al. (53), Schmitt (67)
22–25 °C	4	Lab.-M.	5–50*	1– 7	8A, B, E	5,8	Schmitt et al. (53), Schmitt (67)
26–37 °C	3	Lab.-M.	5–50*	1– 7	4A	5,8	Schmitt et al. (53), Schmitt (67)
31–37 °C	2	Lab.-M.	5–50*	1– 7	21A, D, E	5,8	Schmitt et al. (53), Schmitt (67)
10 °C	7– 8	R-Fleisch (gek.), Wurst	10	1– 7	1A + D, 1B + D	4,6–6,0	Tatini et al. (62)
10 °C	14–56	Schinken (past.)	10, 22, 30	1–112	1B	5,0	Genigeorgis et al. (75)
15 °C	3	Ei-Teigwaren (gek.)	15, 20, 25 ...	1– 4	3A, 1C	2,0	Göckler et al. (76)
15 °C	5	Puten-Hackfleisch	7, 10, 15, 20...	1– 5	1C	2,7	Yang et al. (65)
19 °C	2– 3	Pudding	19, 26 ...	1– 5	1A, B, C, D	5,0	Scheusner und Harmon (77)
20 °C	2– 4	Milch (roh und past.)	10, 20, 25	1– 4	1A	4,0, 6,0	Donnelly et al. (78)
20 °C	2	Bacon (gek.)	20, 37	1– 12	1A	5,7	Lee et al. (79)

Tabelle 4.

Fortsetzung

Vermehrung		Untersuchung					Autoren
Temp.	Zeit (d)	Substrat	Temp. °C	Zeit (d)	Serotypen (n)	log <sub>10</sub> KBE ml <sup>-1</sup> /g <sup>-1</sup>	
20 °C	3	Geflügel (gek.)	15, 20, 30 ...	1- 4	1A	2,0	Herten et al. (80)
22 °C	2	Sahne	4, 22, 37	1- 14	4A, 2A + D	3,0-4,0	Halpin-Dohnalek u. Marth (81)
26 °C	2	Wurst-Sandwiches	8, 12, 26	1- 31	1A, B, C, D, E	4,0, 5,0	Bennett und Amos (82)

\* mit Temperaturgradient-Inkubatoren bestimmt

Tabelle 5. *Bacillus cereus*. Experimentelle Daten über die Minimumtemperaturen der Vermehrung in Laboratoriumsmedien und Lebensmitteln

Vermehrung		Untersuchung					Autoren
Temp.	Zeit (d)	Substrat	Temp. °C	Zeit (d)	Stämme n	log <sub>10</sub> KBE ml <sup>-1</sup> /g <sup>-1</sup>	
1 °C	10	Lab.-M.	1, 4, 7, 20 ...	10	2	5,0	Coghill und Juffs (83)
4 °C	20	Lab.-M.	4, 20	20	27	-	Bonde (84)
5 °-7 °C	(g 24-32 h)	Lab.-M. (Tr.)	1-45	-	1	5,7	Shehata et al. (85)
7 °C	4	Lab.-M.	7, 20, 32	1-5	1	5,7	Chung et al. (86)
7 °C	10	Lab.-M.	1, 4, 7, 20 ...	10	2	2,0	Coghill und Juffs (83)
12 °C	4	Lab.-M. (Tr.)	8, 12, 30	1, 4, 120	1	3,0	Mol (87)
15 °C	(g 2,7 h)	Lab.-M	5, 10, 15, 25 ...	0,1-1	4	5,0	Johnson et al. (88)
8 °C	3	Milch (past.)*	8, 15, 30	7	102	4,6	Christansson et al. (89)
15 °C	(g 1,8 h)	Reis (steril)	5, 15, 25 ...	0,1-1	4	5,0	Johnson et al. (88)
15 °C	3	Reis (gek.)	4, 10, 15 ...	3	3 p	1,0-4,0	Gilbert et al. (90)

\*Toxinbildung bei offener Packung

Tabelle 6. *Clostridium perfringens*. Experimentelle Daten über die Minimumtemperatur der Vermehrung in Laboratoriumsmedien und Lebensmitteln

Vermehrung		Untersuchung					Autoren
Temp.	Zeit (d)	Substrat	Temp. °C	Zeit (d)	n	Stämme log <sub>10</sub> KBE ml <sup>-1</sup> /g <sup>-1</sup>	
15 °C	-	Lab.-M. (Tr.)	5, 10, 15, 20, 25	21	2	-	Roberts und Hobbs (28)
15 °C	7	Lab.-M.	15	7	1	5,7	Mead (92)
15 °C	7	Lab.-M. (Tr.)	10, 15, 17,5 ...	1-70	10 p	2,7	Gibson und Roberts (93)
15 °C	3	Lab.-M.	5, 15, 22 ...	1-6	2	4,0	Rey et al. (94)
20 °C	2	Lab.-M. (Tr.)	15, 20, 25 ...	1-30	1	3,0	Barnes et al. (95)
22 °C	1-5	Lab.-M.	5, 15, 22 ...	1-6	5	3,0-4,0	Rey et al. (94)
25 °C	2	Lab.-M.	15, 25, 35 ...	1-6	1	4,0	Park und Mikolajcik (96)
12 °C	5	Brühwurst (past.)	4, 10, 12, 15 ...	1-28	2	3,0	Solberg und Elkind (97)
18,3 °C	4-5	R-Fleisch (gek.)	4,4-15,4, 18,3	1-5	3	4,6	Hall und Angelotti (98)
20 °C	6-12	R-Fleisch (bestr.)	1, 5, 10, 15, 20 ...	1-28	1	3,0	Barnes et al. (95)
22 °C	14	Geflügel	15, 22, 30 ...	1-7	1	5,7	Mead (92)
24 °C	1	Truthahn (gebr.)	10, 24	2	3	4,0	Strong und Ripp (99)
-	-	R-Hackfleisch	1, 4, 5, 7, 12,5	1-14	5 p	3,0	Goepfert und Kim (100)
-	-	Ei (frisch u. past.)	12, 20, 37	2	1	2,5	Paul und Potter (64)

vor, die in Tabelle 7 für die Untersuchungen mit Laboratoriumsmedien und in Tabelle 8 mit beimpften Lebensmitteln zusammengefasst sind.

Die umfangreichsten Prüfungen haben *Mossel et al.* (101) auf festen Laboratoriumsmedien im Oberflächenausstrich-Verfahren durchgeführt. Von insgesamt 109 Stämmen 20 verschiedener Serotypen zeigten 64 Stämme nach 28 Tagen Koloniebildung bei 7 °C und 44 Stämme nicht mehr bei 7 °C, sondern erst bei der nächst höheren geprüften Temperatur von 17 °C. Bei einem einzigen Serotyp, *Salmonella panama*, war innerhalb von 4 Wochen noch Wachstum bei 4 °C nachweisbar. Das scheint aber wirklich eine seltene Ausnahme zu sein, denn in allen anderen Untersuchungen war eine Vermehrung nur bei Temperaturen von über 5 °C nachweisbar. Dasselbe gilt auch für die zahlreichen Befunde nach Beimpfung verschiedener Lebensmittel. Hier lagen die Minimumtemperaturen zwischen 6,0 und 15 °C mit nachweisbarem Wachstum je nach Produkt innerhalb von 2 bis 8 Tagen.

In 24 Untersuchungen wurden die Temperaturen zwischen 0 und 5 °C und in 18 Arbeiten zwischen 6 und 9 °C geprüft und auch nach oft mehrwöchiger Exposition wurde keine Vermehrung gefunden. Die Angaben von *Bomar* und *Hajek* (101a) sowie *To* und *Robach* (101b) über eine angebliche Salmonellenvermehrung bei 1 bzw. 3 °C sind, wie bereits von *Sinell* und *Siems* (101c) sowie *Mossel et al.* (101) kritisch vermerkt wurde, wegen der dabei angewandten unzureichenden Nachweismethoden nicht akzeptierbar. Auch die mit Temperaturgradienten-Inkubatoren älterer Bauart ermittelten Grenztemperaturen von 5,2 bis 5,3 °C (102), 5,5 (103) und 5,9 bis 6,7 °C (102, 103) sind insbesondere bei Agar-Oberflächen-Kulturen nur mit gewissen Vorbehalten zu werten.

Die häufiger gefundenen, relativ hohen Minimumtemperaturen der Vermehrung oberhalb von 10 °C insbesondere bei den beimpften Lebensmitteln sind weitgehend darauf zurückzuführen, dass oft zu wenige Zwischentemperaturen oder keine niedrigeren Temperaturen mehr geprüft wurden, was ein falsches Bild ergeben kann.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass bei den Salmonellen die Grenztemperaturen der Vermehrung je nach Serotyp und Lebensmittel im Bereich zwischen 6 und etwa 10 °C und auch höher liegen dürften. Bei relativ niedrigen Anfangskoloniezahlen dauert es dabei schätzungsweise zwischen 6 und 7 Tage, bis höhere Koloniezahlen erreicht werden. Damit ist durch strikte Kühlung bei 4 bis 5 °C eine Salmonellenvermehrung in Lebensmitteln wirksam zu verhindern.

### *Enteropathogene E. coli (EEC)*

Ein relativ neues epidemiologisches und auch analytisches Problem sind die enteropathogenen *E. coli* (EEC). Bisher gibt es erst wenige Untersuchungen über ihre Minimumtemperaturen der Vermehrung und/oder Toxinbildung. Sie sind in Tabelle 9 aufgeführt.

Für den verotoxinbildenden, sogenannten enterohämorrhagischen Serotyp 0157:H7, der schwere Dickdarmentzündungen verursachen kann, liegt bisher nur



Tabelle 7. *Salmonella* spp. Experimentelle Daten über die Minimumtemperaturen der Vermehrung in Laboratoriumsmedien

Vermehrung		Untersuchung					Autoren
Temp.	Zeit (d)	Substrat	Temp. °C	Zeit (d)	n Serotyp	log <sub>10</sub> KBE ml <sup>-1</sup> /g <sup>-1</sup>	
4 °C	28	Lab.-M. (O)	3, 4, 7, 17	1-70	1	-	Mossel et al. (101)
5,2-5,3 °C	7	Lab.-M. (O)	-1-15,5*	1-7	3	-	Matches und Liston (102)
5,5 °C	7	Lab.-M. (O)	1,1-12,3*	1-7	2	-	Matches und Liston (103)
5,9 °C	14	Lab.-M.	2-12*	1-28	1	4,0-6,0	Matches und Liston (102)
5,9 °C	12	Lab.-M.	1,1-12,3*	1-35	1	-	Matches und Liston (103)
6,1 °C	7	Lab.-M. (O)	1,1-12,3*	1-7	3	-	Matches und Liston (103)
6,5 °C	7	Lab.-M.	5, 6,5, 7, 8, 11 ...	1-21	30	-	Petzold und Scheibner (104)
6,4 °C	16	Lab.-M.	2-12*	1-28	1	4,0-6,0	Matches und Liston (102)
6,4-6,5 °C	7	Lab.-M. (O)	1,1-12,3*	1-7	2	-	Matches und Liston (103)
6,7 °C	19	Lab.-M.	1,1-12,3*	1-35	1	-	Matches und Liston (103)
7 °C	28	Lab.-M. (O)	3, 7, 17	70	64	-	Mossel et al. (101)
7,5 °C	19	Lab.-M.	1,1-12,3*	1-35	1	-	Matches und Liston (103)
8 °C	14	Lab.-M.	0-20*	14	1	-	Elliot (105)
8 °C	7	Lab.-M.	8, 12, 22 ...	1-24	2	5,7	Matches und Liston (106)
9 °C	6	Lab.-M.	2-12*	1-28	1	4,0-6,0	Matches und Liston (102)
9 °C	5	Lab.-M.	0, 5, 9, 12	25	1	-	Johne (107)
10 °C	30	Lab.-M.	1, 5, 10, 15, 20 ...	1-30	1	-	Stokes et al. (108)
10 °C	-	Lab.-M. (Tr.)	10, 20, 30	1-70	23	3,0	Alford und Palumbo (109)
10 °C	7	Lab.-M.	10, 15, 17,5 ...	1-70	10 p	3,0	Gibson und Roberts (110)
12 °C	2	Lab.-M.	8, 12, 22 ...	1-6	1	5,7	Matches und Liston (106)
13 °C	5	Lab.-M.	7, 13, 37	1-97	1	3,0	Park und Marth (111)
17 °C	14	Lab.-M. (O)	3, 7, 17	28	44	-	Mossel et al. (101)
20 °C	6	Lab.-M.	2, 4, 7, 20	1-6	1	2,0	Wundt und Schittenhelm (112)

\* mit Temperaturgradient-Inkubatoren bestimmt

Tabelle 8. *Salmonella* spp. Experimentelle Daten über die Minimumtemperaturen der Vermehrung in Lebensmitteln

Vermehrung		Untersuchung					Autoren
Temp.	Zeit (d)	Substrat	Temp. °C	Zeit (d)	Serotypen log <sub>10</sub> KBE ml <sup>-1</sup> /g <sup>-1</sup>		
					n		
6 °C	1	R-Hackfleisch	0, 6, 10, 25	1- 14	2	2,0-6,0	Catsaras u. Grebot (113, 113a)
6,7 °C	4	Geflügel (gek.)	4,4, 5,6, 6,7, 7,8, 8,9, 10	1- 5	3 p	7,0	Angelotti et al. (60)
8 °C	5- 9	Fisch, Krabben (steril)	5, 6, 8, 11, 12, 22	1- 28	3	4,0, 5,0	Matches und Liston (114)
8 °C	6	S-Hackfleisch	7, 8, 10, 12	1- 6	6 p	4,0	Schmidt (115)
8 °C	7	R-Fleisch (steril)	7, 8, 9, 10 . . .	1- 42	1	-	Shaw und Nicol (116)
9 °C	5	Milch, Ei	0, 5, 9, 12	1- 25	3	-	Johne (107)
9 °C	2	S-Hackfleisch	7, 8, 9, 10, 12, 15	1- 6	6 p	4,0	Schmidt (115)
10 °C	3	Bratwurst	7, 10, 15	1- 3	6 p	4,0	Schmidt (116a)
10 °C	(g 15 h)	R-Hackfleisch	10, 15, 20, 25	1- 7	3 p	2,0	Mackey und Kerridge (117)
10 °C	3	R-Fleisch	7,5, 10, 12,5, 15	1- 3	9 p	-	Mackey et al. (118)
10 °C	8	S-Hackfleisch	4, 10	1- 16	5	3,0	Alford und Palumbo (109)
10 °C	(g 9,7 h)	L.-Hackfleisch	8,2, 10, 15 . . .	-	1	4,0	Smith (119)
10 °C	14	Flüssigeiweiss	2, 10, 20	1- 30	1	4,0	Ayres und Taylor (120)
12 °C	2	Eigelb	4, 12, 22	1- 16	1	3,7	Banwart (121)
12 °C	7	R-Hackfleisch	5, 12, 25	7	5 p	2,0	Davidson und Witty (122)
12,5 °C	3	R-Hackfleisch	1, 4,5, 7, 12,5	1- 14	5 p	2,0	Goepfert und Kim (100)
13 °C	5	Milch	7, 13, 37	1- 97	1	3,0	Park und Marth (111)
15,6 °C	2	Flüssigei	4,4, 7,2, 10, 15,6 . . .	1- 2	5	4,0	Gibbons et al. (123)
16 °C	5	Bacon	5, 16	1- 30	1	5,0	Farrell und Upton (59)
18 °C	7-14	Fleischwaren (gepök.)	7, 18, 24	1- 10	1	1,0, 2,0, 3,0	Davidson und Webb (124)
25 °C	1	R-Hackfleisch	5, 25	1- 6	3	2,0-3,0	Tiwari und Maxcy (125)
25 °C	1	Bologna, Leberkäse	5, 25	1- 42	12	2,7-3,7	Goepfert und Chung (126)
29 °C	16	Schaleneier	1, 29	1-168	5	1,0-8,0	Stokes et al. (108)
-	-	S.-Hackfleisch	7	1- 5	2	6,0	Sulzbacher (127)
-	-	Eierkrem, Schinken-Salat	4,4, 5,6, 6,7, 7,8, 8,9, 10	6	3 p	-	Angelotti et al. (60)

Tabelle 9. Enteropathogene *Escherichia coli*. Experimentelle Daten über die Minimumtemperaturen der Vermehrung und/oder Enterotoxinbildung in Laboratoriumsmedien

	Vermehrung		Untersuchung				Autoren		
	Temp.	Zeit (d)	Substrat	Temp. °C	Zeit (d)	Stämme n   log <sub>10</sub> KBE ml <sup>-1</sup> /g <sup>-1</sup>			
enterohämorrhagische (O157:H7)	25 °C	(g 1,5 h)	Lab.-M.	4, 10, 25 ...	2	1	3,0	Doyle und Schöni (128)	
enterotoxigene (ETEC) Vermehrung	4 °C	4	Lab.-M.	4, 22, 37	1–7	15	3,0	Olsvik et al. (129)	
	4 °C	8	Lab.-M.	4, 22	4,8	5	6,0	Olsvik und Kapperud (130)	
	8 °C	13	Lab.-M. (Tr.)	5, 7, 8, 9, 10, 11	28	3	3,0	Schmidt-Lorenz u. Schuler (132)	
	10 °C	6	Lab.-M. (Tr.)	5, 7, 8, 9, 10, 11	28	12	3,0	Schmidt-Lorenz u. Schuler (132)	
	10 °C	7	Lab.-M. (Tr.)	10, 15, 17, 5, 20 ...	1–70	10 p	3,0	Gibson und Roberts (110)	
	10 °C	4	Lab.-M. (Tr.)	10, 15, 17, 5, 20 ...	1, 4, 7	10 p	2,7	Hughes und McDermott (133)	
	10 °C	6	Lab.-M. (Tr.)	7, 10	6	3	–	Sims et al. (131)	
11 °C	6	Lab.-M. (Tr.)	5, 7, 8, 9, 10, 11	28	5	3,0	Schmidt-Lorenz u. Schuler (132)		
Enterotoxin- Bildung	LT	4 °C	4	Lab.-M.	4, 22, 37	1–7	12	3,0	Olsvik et al. (129)
	ST	4 °C	4	Lab.-M.	4, 22, 37	1–7	3	3,0	Olsvik et al. (129)
	ST	4 °C	8	Lab.-M.	4, 22	4,8	3	6,0	Olsvik und Kapperud (130)
	LT	25 °C	9	Lab.-M.	5, 15–50	9	1	–	Lovett et al. (133)
	ST	30 °C	9	Lab.-M.	5, 15–50	9	1	–	Lovett et al. (133)

die Untersuchung von *Doyle* und *Schöni* (128) vor. Danach war in zwei Tagen keine Vermehrung bei 10 °C, sondern erst bei 25 °C mit einer Generationszeit von 1,46 h nachweisbar. Allerdings wurden weitere Zwischentemperaturen nicht geprüft.

Bei den enterotoxinbildenden *E. coli* (ETEC) wurden bisher nur von skandinavischen Autoren (129, 130) einige psychrotrophe Stämme beschrieben, die in flüssigen Kulturmedien noch bei 4 °C Vermehrung, das heisst eine Zunahme der Koloniezahlen um zwei bis drei Zehnerpotenzen in 4 bis 8 Tagen und teilweise auch die Bildung der beiden LT- und ST-Toxine zeigten. *Lovett* et al. (133a) konnten dagegen bei einem ETEC-Stamm LT- und ST-Bildung erst bei 25 bzw. 30 °C, aber nicht mehr bei niedrigeren Temperaturen nachweisen. *Sims* et al. (131) beobachteten bei zwei ETEC-Stämmen und einem EIEC-Stamm innerhalb von 6 Tagen Vermehrung bei 10 °C, aber nicht mehr bei 7 °C. In zwei weiteren Arbeiten (110, 133) wurden bei 20 enteropathogenen Stämmen ebenfalls bei 10 °C Vermehrung nachgewiesen, niedrigere Temperaturen allerdings nicht geprüft. In eigenen Untersuchungen (132) war bei 20 LT-positiven und teilweise auch ST-positiven Stämmen in vier Wochen keine Vermehrung bei 5 und 7 ± 0,2 °C erfolgt. Drei Stämme zeigten nach 13 Tagen Vermehrung bei 8 °C, 12 Stämme nach 6 Tagen bei 10 °C und 5 Stämme bei 11 °C.

Insgesamt sind die enteropathogenen *E. coli* wahrscheinlich überwiegend mesophil mit Vermehrungsminima zwischen 8 und 11 °C. Hier sind genauere Abklärungen notwendig, wie häufig psychrotrophe Stämme tatsächlich vorkommen und ob sie auch noch bei tieferen Temperaturen zur Vermehrung und Toxinbildung fähig sind. Vorerst ist bei normaler Kühllagerung bei 4 und 5 °C damit offenbar zu rechnen.

### *Vibrio parahaemolyticus*, *Plesiomonas shigelloides* und *Aeromonas hydrophila*

Diese drei potentiell pathogenen Arten werden hauptsächlich durch See- und Süßwasser übertragen und sind daher in Tabelle 10 zusammen aufgeführt.

#### 1. *Vibrio parahaemolyticus*

Von *Beuchat* (134) wurde bei 6 Stämmen 5 °C als niedrigste Temperatur, bei der noch mässiges Wachstum in Trypton-Soja-Bouillon mit Zusatz von 3 und 7% NaCl erfolgte, beobachtet, allerdings nur bei pH-Werten im Bereich zwischen 7,3 und 7,8.

Im Gegensatz dazu war nach Beimpfung von Fisch, Krabben und Austern in drei Untersuchungen (135, 136, 138) innerhalb von 6 bis 30 Tagen keine Vermehrung bei Temperaturen von 1 bis 11 °C nachweisbar. *Thomson* und *Thacker* (137) konnten in Austern nach 14 Tagen Vermehrung bei 10 °C, nicht aber innerhalb von 9 Wochen bei 0, 4 und 8 °C nachweisen. In gekochten Krabben fanden *Bradshaw* et al. (139) eine relativ rasche Vermehrung erst bei 18,3 °C, nicht aber bei 12,8 °C.

Tabelle 10. *Vibrio parahaemolyticus*, *Plesiomonas shigelloides* und *Aeromonas hydrophila*. Experimentelle Daten über die Minimumtemperaturen der Vermehrung in Laboratoriumsmedien und Lebensmitteln

	Vermehrung		Untersuchung					Autoren
	Temp.	Zeit (d)	Substrat	Temp. °C	Zeit (d)	n	Stämme log <sub>10</sub> KBE ml <sup>-1</sup> /g <sup>-1</sup>	
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	5 °C	6	Lab.-M. (Tr.)	2, 5, 9, 13, 21, 30	6	6	5,0	Beuchat (134)
	–	–	Krabben	3, 7, 10	1–6	1	5,0	Vanderzant u. Nickelson (135)
	–	–	Fisch	5	1–30	3	4,0	Covert und Woodburn (136)
	10 °C	14	Austern	0, 4, 8, 10, 12	1–63	3	3,7	Thompson und Thacker (137)
	–	–	Austern	1, 5, 8, 11	1–14	1	4,7	Johnson und Liston (138)
18,3 °C	2	Krabben (gek.)	1, 6, 4,4, 7,2 10, 12,8, 18,3	1–2	2	4,0	Bradshaw et al. (139)	
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	0 °C	6–11	Lab.-M. (Tr.)	0, 5, 10 ...	1–14	1	–	Rouf und Rigney (140)
	5 °C	6–11	Lab.-M. (Tr.)	0, 5, 10	1–14	1	–	Rouf und Rigney (140)
	8 °C	(g 17 h)	Lab.-M.	8, 10, 15, 20...	–	1	–	Schubert (141)
	8 °C	14	Lab.-M.	0, 5, 8, 10	28	9	–	Miller (142)
	10 °C	14	Lab.-M.	0, 5, 10	28	31	–	Miller (142)
<i>Aeromonas hydrophila</i>	–1–1,6 °C	–	Lab.-M.	–1–10	–	4	–	Walker und Stringer (143)
	0 °C	6–11	Lab.-M. (Tr.)	0, 5, 10 ...	1–14	6	–	Rouf und Rigney (140)
	1 °C	(g 17 h)	Lab.-M. (Tr.)	1, 5, 10, 15 ...	–	1	–	Schubert (144)
	4 °C	2–4	Lab.-M.	4, 5, 12, 20	0,1–2	5	4,0–5,0	Palumbo u. Buchanan (145)
	4 °C	6–20	Lab.-M. (Tr.)	4, 12, 20, 28...	1–14	9	2,0	Palumbo et al. (146)
	5 °C	14	Lab.-M. (Tr.)	0, 5, 10 ...	1–14	1	–	Rouf und Rigney (140)
	5 °C	4	Lab.-M. (Tr.)	5	1–14	9	4,0	Majeed et al. (147)
	5 °C	9–11	Lab.-M. (Tr.)	5, 12, 20 ...	11	29	3,0	Callister und Agger (148)
	10 °C	3	Lab.-M.	10, 37	3	74	–	Knöchel (149)
	–2 °C	60	R-Fleisch (vak.-verp.)	–2, 0, 2, 5, 10	1–60	1	4,0	Gill und Reichel (150)
	4 °C	7	Gemüse	4, 15	1–21	2	4,7	Berrang et al. (151)
	5 °C	8	S-Hackfleisch	5	3, 6, 9, 11	1	3,0	Palumbo (152)
	5 °C	5–10	R-Fleisch	5	1–25	1	3,7	Grau (153)

Danach liegen in Krusten- und Schalentieren sowie auch in Fisch die Minimumtemperaturen der Vermehrung von *V. parahaemolyticus* in einem Bereich von annähernd 10 °C.

### 2. *Plesiomonas shigelloides*

Durch *P. shigelloides* verursachte Darmerkrankungen treten gehäuft bei überdurchschnittlich hohen Wassertemperaturen von Oberflächenwässern auf (141). Nach *Schubert* (141) und *Miller* (142) liegen die Minimumtemperaturen der Vermehrung zwischen 8 und 10 °C. Ähnlich fanden *Rouf* und *Rigney* (140) bei 8 Stämmen ebenfalls 10 °C, dazu aber bei je einem Stamm 5 °C und 0 °C als «ungefähre» (approximate) Minimumtemperatur der Vermehrung. Es ist offenbar auch hier mit dem Vorkommen psychrotropher Biotypen zu rechnen, was aber noch genauerer Überprüfung bedarf.

### 3. *Aeromonas hydrophila*

*A. hydrophila* ist bereits seit längerem als Krankheitserreger für Fische, Amphibien und Reptilien bekannt. In letzter Zeit nehmen die indirekten Hinweise immer mehr zu, dass auch beim Menschen akute Gastroenteritiden und choleraähnliche Erkrankungen verursacht werden können. Zahlreiche Stämme können verschiedene Toxine und Enzyme bilden wie cytotoxische, cytotonische und choleraähnliche Enterotoxine, Haemolysine und Proteasen. Die genauen Pathogenitätsmechanismen sind bisher noch nicht bekannt (149, 154).

Bisher wurde Wasser als Hauptübertragungsmedium angesehen. Inzwischen häufen sich die Befunde von *A. hydrophila* in kühlgelagerten Lebensmitteln aller Art, wie Fische, Krusten- und Schalentieren (152a), Fleisch, Geflügel und Milch (152a), Gemüse (148, 151) und zahlreiche andere Lebensmittel (147, 149). Die meisten aus kälteren Biotopen isolierten Stämme sind psychrotroph mit relativ rascher Vermehrung innerhalb von 2 bis 6 Tagen bei 4 bis 5 °C in Laboratoriumsmedien (145–147) bzw. in 5 bis 8 Tagen in Gemüse und Fleisch (151–153). Bei den meisten Arbeiten wurden keine Temperaturen unter 4 bis 5 °C geprüft. *Knøchel* (149), die bei 74 Isolaten aus kälteren (< 15 °C) und wärmeren (> 24 °C) Biotopen bei 10 °C noch Vermehrung mit Haemolysin-Aktivität nachweisen konnte, hatte ebenfalls keine tieferen Temperaturen untersucht.

Die niedrigsten Minimumtemperaturen der Vermehrung wurden in flüssigen Kulturmedien von *Rouf* und *Rigney* (140) bei 0 °C und *Schubert* (144) bei 1 °C mit einer Generationszeit von 17 h nachgewiesen. Erst kürzlich berichteten *Walker* und *Stringer* (143) in einer Kurzmitteilung über die Vermehrung von 4 Stämmen im Bereich zwischen -1,0 und +1,6 °C. Die genaueren Daten lagen bisher nicht vor.

Als niedrigste Vermehrungstemperatur auf beimpftem, vakuumverpacktem Rindfleisch fanden *Gill* und *Reichel* (150) für einen ATCC-Stamm von *A. hydrophila* -2 °C. Allerdings setzte dabei die Vermehrung erst nach einer lag-Phase von über 40 Tagen ein, nachdem das Fleisch mit einer Gesamtkoloniezahl von über 10<sup>9</sup> KBE pro Probe bereits verdorben war. Bei 0 °C und +2 °C waren die lag-Phasen mit 14 bzw. 7 Tagen wesentlich kürzer.

Es gibt also bei *A. hydrophila* ausgesprochen psychrotrophe Stämme, die bei Kühlschranktemperaturen von 4 bis 5 °C offenbar doch relativ rasch, das heisst innerhalb von 8 bis 10 Tagen, auf zahlreichen frischen Lebensmitteln wie Frischfleisch, Geflügel, Fisch, Krusten- und Schalentieren und auch Gemüse wachsen können. Für diese ist daher eine Lagerung bei niedrigen Temperaturen zwischen +2 und 0 °C wegen der 1 bis 2 Wochen langen lag-Zeiten wesentlich günstiger.

### *Yersinia enterocolitica*

*Y. enterocolitica* wurde als erste psychrotrophe Art unter den durch Wasser und Lebensmittel übertragbaren enteropathogenen Bakterien erkannt (163). Weil damit das bis dahin gültige Postulat der hygienisch ausreichend sicheren Kühlung von Lebensmitteln bei Temperaturen von 4 bis 5 °C in Frage gestellt war, wurde in zahlreichen Untersuchungen die Vermehrung vor allem bei diesen Temperaturen sowohl in Laboratoriumsmedien als auch in Milch und Milchprodukten, Fleisch, Geflügel u. a. geprüft (Tabelle 11).

In Laboratoriumsmedien erfolgte bei zahlreichen Stämmen im Bereich von 3 bis 4 °C auch bei relativ geringen Anfangszellzahlen eine deutliche Vermehrung innerhalb von 2 bis 10, im Mittel 6 Tagen. In Milch dauerte es bei 4 °C durchschnittlich 7 Tage und in verschiedenen anderen Lebensmitteln 10 bis 14 Tage.

Temperaturen unter +3 °C wurden weniger oft geprüft. Als niedrigste Vermehrungstemperatur haben kürzlich *Gill* und *Reichel* (150) bei beimpften, vakuumverpacktem Rindfleisch -2 °C, allerdings mit einer lag-Phase von fast 30 Tagen, bestimmt. In dieser Zeit war bei 0 °C eine Zunahme der Koloniezahlen um über drei Zehnerpotenzen erfolgt, bei +2 °C nach etwa 20 Tagen. Auch in anderen Untersuchungen dauerte es bei 0 sowie 1 und 2 °C annähernd 14 bis 21 Tage, bis eine deutliche Vermehrung in derselben Grössenordnung nachweisbar war (154, 163, 168–171a).

In einigen Untersuchungen wurde auch Enterotoxinbildung bei einigen Stämmen nach Wachstum bei 3 bis 6 °C nachgewiesen (130, 157, 162, 165). Interessant sind auch die Befunde von *Hellmann* und *Heinrich* (164), dass bei zwei virulenzplasmidtragenden Stämmen der Serovarietät 0:3 und 0:9 nach Vermehrung bei 4 °C kein Verlust der Virulenzplasmide erfolgt war.

Besonders bemerkenswert ist, dass bei 4 °C eine keineswegs verzögerte Vermehrung auch in Quellwasser und sogar in sterilem destilliertem Wasser nachgewiesen wurde (167).

*Y. enterocolitica* ist also eindeutig psychrotroph und kann sich ähnlich wie psychrotrophe Biotypen von *A. hydrophila* bei Kühltemperaturen von 4 bis 5 °C vermehren und je nach Art des Lebensmittels nach einigen Tagen höhere Zellzahlen im Produkt erreichen.

### *Listeria monocytogenes*

Dies ist derzeit der wichtigste Problemkeim für die gesamte Lebensmittelhygiene, da bei empfindlichen Personen schwerer verlaufende Erkrankungen nicht selten mit höheren Mortalitätsraten ausgelöst werden können (204). Trotz welt-

**Tabelle 11.** *Yersinia enterocolitica*. Experimentelle Daten über die Minimumtemperaturen der Vermehrung und/oder Toxinbildung in Laboratoriumsmedien, Milch und Lebensmitteln

Vermehrung		Untersuchung					Autoren
Temp.	Zeit (d)	Substrat	Temp. °C	Zeit (d)	Stämme log <sub>10</sub> KBE ml <sup>-1</sup> /g <sup>-1</sup>		
2 °C	20	Lab.-M. (Tr.)	2, 4, 6, 10...	20	1	7,0	Buckeridge et al. (154)
3 °C	10	Lab.-M.	3, 25	1-10	4	2,0	Stern et al. (155)
3 °C	3	Lab.-M.	3, 25	3	2	3,0	Tsay und Chou (156)
4 °C	8	Lab.-M.	4, 22	8	5	5,0	Olsvik und Kapperud (130)
4 °C	3- 4	Lab.-M.	4, 22 ...	3- 4	83	-	Kapperud (157)
4 °C	2- 5	Lab.-M. (Tr.)	4, 25	1- 5	10	-	Nilehn (158)
4 °C	10	Lab.-M.	4	1-20	2	2,0, 6,0, 8,0	van Pee und Stragier (159)
4 °C	7	Lab.-M. (Tr.)	4	7	48	-	Hughes (160)
4 °C	28	Lab.-M. (O)	4	28	3	-	Mossel et al. (101)
4 °C	9	Lab.-M.	4, 22, 30	1-13	2	2,0	Kendall und Gilbert (161)
3-6 °C	7	Lab.-M.	3-6, 22 ...	7	20	-	Kapperud und Langeland (162)
0-2 °C	20	Milch (steril)	0-2	20	4	2,0	Stern und Pierson (163)
3 °C	21	Milch (UHT)	3, 25	1-20	4 p	2,0, 5,0	Stern et al. (155)
4 °C	8	Milch (steril)	4, 22	4,8	5	6,0	Olsvik und Kapperud (130)
4 °C	5- 7	Milch (UHT)	4	1-15	2	1,0, 2,0	Hellmann und Heinrich (164)
4 °C	6- 9	Milch (steril)	4, 25	3, 6, 18	7	2,0	Francis et al. (165)
4 °C	7	Milch (past.)	4	3, 7, 14	5	1,0, 3,0	Amin und Draughon (166)
4 °C	4	dest. Wasser	4, 25, 37	1- 9	1	3,7	Highsmith et al. (167)
-2 °C	40	R-Fleisch (vak.-verp.)	-2, 0, 2, 5, 10	1-60	1	4,7	Gill und Reichel (150)
0 °C	14	R-Fleisch	0, 1, 5	1-14	3	3,0	Hanna et al. (168)
0-1 °C	14	S-Hackfleisch-Suspension	0-1, 4, 15	3- 8	29 p	3,0	Leistner et al. (169)
1 °C	21	Krabben (roh + gek.)	1, 3-5	1-21	2	5,0	Peixotto et al. (170)
1 °C	14	R-Hackfleisch (vak.-verp.)	1, 4, 10, 15	1-14	2	3,5	Kleinlein u. Untermann (171)



Vermehrung		Untersuchung					Autoren
Temp.	Zeit (d)	Substrat	Temp. °C	Zeit (d)	Stämme log <sub>10</sub> KBE ml <sup>-1</sup> /g <sup>-1</sup>		
0-2 °C	21	Austern	0-2, 5-7	1-21	2	2,0, 4,0	Peixotto et al. (170)
3-4 °C	7	Geflügel	0-1, 3-4	1- 7	29 p	3,0	Leistner et al. (169)
4 °C	10	Lebensm. (gek.)	4, 22, 30	1-21	2	2,0	Kendall und Gilbert (161)
5 °C	5-10	R-Fleisch (vak.-verp.)	5, 25	1-30	1	2,0, 4,0	Grau (153)
5 °C	14	Krabben (gek.)	1, 5	14	3	4,0	Peixotto et al. (170)
5 °C	10	Schinken (steril)	0, 5, 10, 20	1-21	1	3,7	Asakawa et al. (171)
6 °C	6-12	S-Hackfleisch	6, 25	12	1	4,0-7,0	Fukushima u. Gomyoda (172)
7 °C	5-10	R + S-Fleisch (roh u. gek.)	7, 25	1-10	5	3,0	Hanna et al. (168)
10 °C	6-12	Hüttenkäse	10, 20	1- 8	2	4,7	Sims et al. (131)

Tabelle 12. *Listeria monocytogenes*. Experimentelle Daten über die Minimumtemperaturen der Vermehrung und/oder Toxinbildung in Laboratoriumsmedien, Milchprodukten und Lebensmitteln

Vermehrung		Untersuchung					Autoren
Temp.	Zeit (d)	Substrat	Temp. °C	Zeit (d)	Stämme log <sub>10</sub> KBE ml <sup>-1</sup> /g <sup>-1</sup>		
-0,4/-0,1 °C	-	Lab.-M. (Tr.)	-1-10*	-	3	-	Walker und Stringer (143)
1,1 °C	-	Lab.-M. (O)	-1,6-14,5*	10	78	5,0-6,0	Juntilla et al. (143a)
3,3 °C	-	Lab.-M. (Tr.)	3-45	-	1	-	Wilkins et al. (173)
4 °C	17-21	Lab.-M. (Tr.)	4, 7, 10, 20 . . .	1- 28	16	4,7	George et al. (174)
4 °C	30	Lab.-M.	4, 13, 21 . . .	1- 70	1	2,0-3,0	El-Shenawy u. Marth (175, 176)
4 °C	14	Lab.-M. (Tr.)	4, 30	1- 60	4	3,0	Farber et al. (177)
4 °C	7	Lab.-M.	4	7, 21	1	-	Hof et al. (178)
5 °C	3- 6	Lab.-M.	5, 19, 28 . . .	1- 10	1	-	Buchanan et al. (203)
7 °C	3	Lab.-M.	7, 13, 21 . . .	1- 20	2	2,0	Ahamad und Marth (179)
4 °C	4	Milch (steril)	4, 10, 22 . . .	1- 4	5	1,0	Donnelly und Briggs (180)
4 °C	20	Milch (steril)	4, 8, 13, 21 . . .	2- 70	4	2,7	Rosenow und Marth (181)

Tabelle 12.

Fortsetzung

Vermehrung		Untersuchung					Autoren
Temp.	Zeit (d)	Substrat	Temp. °C	Zeit (d)	Stämme log <sub>10</sub> KBE ml <sup>-1</sup> /g <sup>-1</sup>	n	
4 °C	7	Milch (steril + past.), Käse	4	7	3,0	1	Buchanan et al. (182)
4 °C	5-10	Milch (UHT)	4, 15	1- 30	1,6-7,0	1	Denis und Ramet (183)
4 °C	30	Molke (steril)	4, 22	5-100	3,0	2	Papageorgiou und Marth (184)
5 °C	14	Weich-Käse	5	8- 91	2,0	1	Terplan et al. (185)
6 °C	35	Weich-Käse	6	3- 35	2,0	4	Ryser und Marth (186)
4-6 °C	30	Butter	4, 13	1- 70	3,0-4,0	1	Olsen et al. (187)
6 °C	30	Weich-Käse	6	1- 65	1,0	4	Ryser und Marth (188)
10 °C	2- 4	Milch	10	1- 8	-1,0/1,6	1	Marshall und Schmidt (189)
0 °C	14-77	Fleisch	-	-	-	-	Grau und Vanderlinde (190)
0 °C	30	R-Fleisch (vak.verp.)	-2, 0, 2, 5, 10	1- 70	4,0	1	Gill und Reichel (150)
0 °C	24	L-Fleisch (steril)	0, 8	1- 24	5,0	1	Khan et al. (191, 192)
4 °C	40	L-Hackfleisch	4, 8	1- 40	4,0	1	Khan et al. (191, 192)
4 °C	28	Geflügel (gek.)	4, 10	7, 14, 28	3,0-4,0	1	Carpenter u. Harrison (193, 228)
4 °C	28	Geflügel (gek.)	4, 10	7, 14, 21	4,5	1	Harrison und Carpenter (194)
4 °C	14	Gemüse	4, 15	1- 21	3,0-4,0	2	Berrang et al. (195)
5 °C	25	Weisskohl	5	1- 64	4,0	2	Beuchat et al. (196)
-	-	Weisskohl (steril)	5	1- 42	7,0	2	Beuchat et al. (196)
4,4 °C	14-28	Brühwurst	4,4	14, 28, 42	1,5/3,0	5 p	Glass und Doyle (197)
5 °C	9	Weisskohl	5	9- 64	4,3	1	Hao et al. (198)
8 °C	14	S-Hackfleisch	8	1- 17	3,0-6,0	1	Gouet et al. (199)
4 °C	10	R + S Hackfleisch (steril)	4, 8, 12, 15	1- 14	5,0	4 p	Kaya und Schmidt (200)
12 °C	14	R + S-Hackfleisch (5,0)**	4, 8, 12	1- 14	5,0	4 p	Kaya und Schmidt (200)
-	-	R + S-Hackfleisch (7,0)**	4, 8, 12, 20, 25	1- 14	-	-	Kaya und Schmidt (200)
-	-	Hamburger	4	7	-	1	Buchanan et al. (182)
-	-	Salami, Mettwurst	4-22	98	2,0-7,0	2	Trüssel und Jemmi (201)
-	-	R-Hackfleisch	4, 25	40	3,0/5,0	3	Shelef (202)

\* mit Temperaturgradient-Inkubator bestimmt

\*\* log<sub>10</sub> Gesamt KBE/g

weit intensiver Forschung ist bisher noch zu wenig über die Epidemiologie, Virulenz und Pathogenitätsmechanismen sowie die technologisch wichtigen Eigenschaften bekannt. Aus der ubiquitären Verbreitung in Boden und Wasser, Pflanzen und Tieren, der Fähigkeit zur Vermehrung bei Kühltemperaturen zusammen mit der offenbar relativ niedrigen minimalen Infektionsdosis kann bei länger kühlgelagerten Lebensmitteln eine erhebliche gesundheitliche Gefährdung resultieren, da bereits nach einer relativ schwachen Vermehrung eine wirksame Infektionsdosis gegeben sein kann. Daher wurde die Vermehrung unter Kühlagerbedingungen in den letzten Jahren vielfach untersucht (Tabelle 12).

Wie bei *Y. enterocolitica* beschränkten sich die meisten Arbeiten auf Prüfungen im Temperaturbereich zwischen 4 und 10 °C. Sowohl in Laboratoriums-Medien als auch bei Milch und Milchprodukten dauerte es bei 4 bis 6 °C bei meist relativ niedrigen Anfangskeimzahlen zwischen  $10^1$  und  $10^3$  KBE ml<sup>-1</sup> überwiegend 2 bis 3 Wochen, bis eine Vermehrung nachweisbar war. Bei Fleisch, Geflügel und Gemüse, die mit  $10^3$  KBE g<sup>-1</sup> beimpft worden waren, dauerte es meist mit 3 bis 4 Wochen deutlich länger. Vereinzelt wurden aber auch kürzere Zeiten von nur 7 bis 10 Tagen registriert.

Besonders hervorzuheben ist die Hemmung der Vermehrung nicht nur bei Kühltemperaturen, sondern auch noch bei 20 bis 25 °C in stärker keimbelastetem Hackfleisch (200, 202) sowie Salami und Mettwurst (201). Eigenartigerweise war auch in sterilem Weisskohl bei Lagerung bei 5 °C die Vermehrung gehemmt, in rohem Weisskohl dagegen nicht (196, 198).

Temperaturen unter 4 °C wurden bisher weniger oft geprüft. Als niedrigste Vermehrungstemperatur wurden von *Walker* und *Stringer* (143) für drei Stämme mit einem Temperaturgradientinkubator -0,4 bis -0,1 °C bestimmt, wobei allerdings die lag-Phase über 20 Tage dauerte. *Gill* und *Reichel* (150) konnten nach Beimpfung von vakuumverpacktem Rindfleisch eine Vermehrung noch bei 0 °C ebenfalls mit einer längeren lag-Phase von über 14 Tagen, nachweisen, nicht aber bei -2 °C innerhalb von 70 Tagen. Bei drei weiteren Angaben über Vermehrung bei 0 °C (190, 191, 192) liegen keine ausführlicheren Daten vor.

*Juntilla* et al. (143a) haben ebenfalls im Temperaturgradienten-Inkubator für 78 haemolytische Stämme Minimumtemperaturen der Vermehrung zwischen 0,5 und 3 °C mit einem Mittelwert von  $1,1 \pm 0,3$  °C gefunden. Zwei Stämme wuchsen noch bei 0,5 °C und 10 Stämme unter 0,8 °C. Bei 22 nichthaemolytischen Stämmen lag die mittlere Minimumtemperatur von  $1,7 \pm 0,5$  °C etwas höher. Insgesamt war die Vermehrung unterhalb 2,9 bzw. 3,5 °C stark verzögert.

*L. monocytogenes* ist also ähnlich psychrotroph oder kältetolerant wie *Y. enterocolitica* und *A. hydrophila* und kann sich, wenn auch offenbar deutlich langsamer, bei Kühltemperaturen von 4 bis 5 °C vermehren.

### Vermehrungsbedingungen bei Kühltemperaturen

Mit Absenkung der Expositionstemperaturen unterhalb des Optimumbereiches der mesophilen und auch psychrotrophen Bakterien zwischen 37 oder 30 °C

nimmt die Vermehrungsgeschwindigkeit zunehmend stärker ab, das heisst die Generationszeiten werden immer länger (Abb. 1). Gleichzeitig werden auch die lag-Phasen bis zum Einsetzen der Vermehrung immer grösser (Abb. 2). Daraus resultiert insgesamt eine zunehmend längere Zeitspanne bis zum Beginn einer signifikanten Vermehrung, die wiederum von der Anfangszellzahl und der Höhe des Zellzuwachses bestimmt wird (Abb. 3).

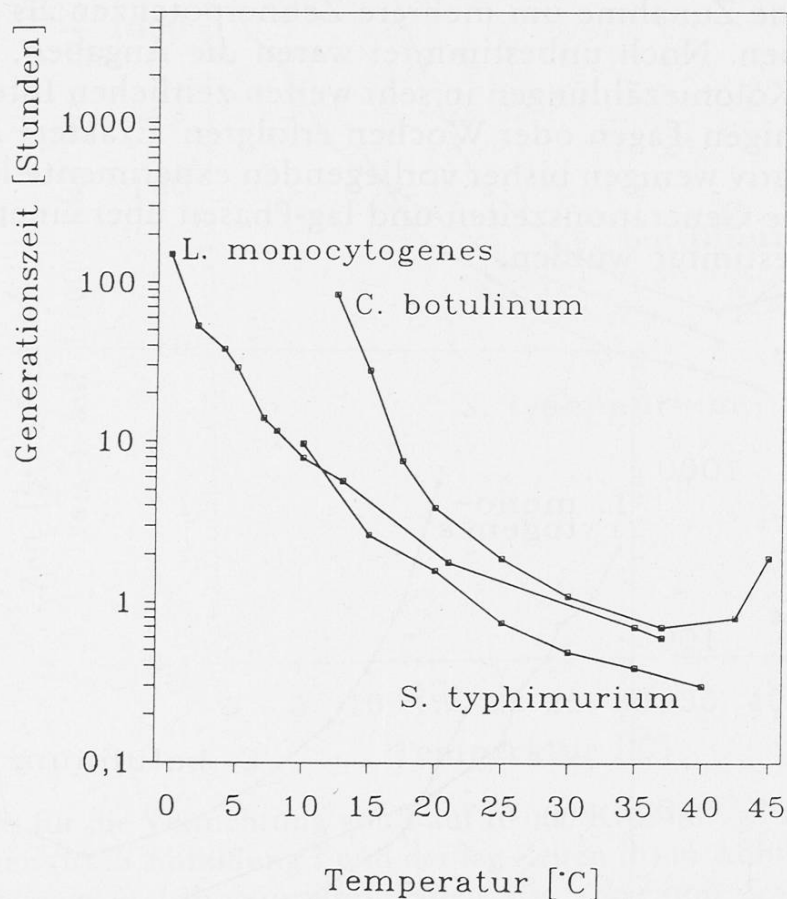


Abb. 1. Generationszeiten (h) in Abhängigkeit von der Vermehrungstemperatur für  
 – *C. botulinum* in Laboratoriumsmedien von *Ohye* und *Scott* (12)  
 – *S. typhimurium* in Lammhackfleisch von *Smith* (119) und  
 – *L. monocytogenes* in vakuumverpacktem Rindfleisch von *Gill* und *Reichel* (150) (0 bis 10 °C) und sterilen Milchgetränken von *Rosenow* und *Marth* (181) (4–37 °C)

### Generationszeiten

*Rivituso* und *Snyder* (205) haben versucht, aus den bis 1980 publizierten Daten für *S. aureus*, *C. perfringens* und Salmonellen in verschiedenen Lebensmitteln mittlere Generationszeiten in Abhängigkeit von der Temperatur zu berechnen. Nachweisbar war damit aber lediglich, dass die Vermehrung dieser Bakterien unterhalb von 15 bis 20 °C rapide verlangsamt wird. Für exaktere Aussagen waren zu wenig

Werte vorhanden. Ausserdem wurden die lag-Zeiten nicht berücksichtigt. Auch die in den Tabellen 1 bis 12 angegebenen Zeiten der effektiven Vermehrung bei den untersten Grenz- oder Minimumtemperaturen können nur als ungefähre Anhaltswerte angesehen werden, weil die experimentellen Bedingungen oft sehr unterschiedlich und schwer vergleichbar waren. So wurde z. B. eine Zunahme der Koloniezahlen um eine Zehnerpotenz bereits als signifikante Vermehrung gewertet (60), was aber nur bei sehr hohen Anfangszellzahlen von  $10^6$  bis  $10^7$  KBE $^{-1}$ g $^{-1}$  gerechtfertigt erscheint. Andererseits wurde bei sehr niedrigen Ausgangszellzahlen häufig erst eine Zunahme um mehrere Zehnerpotenzen als signifikante Vermehrung angesehen. Noch unbestimmter waren die Angaben, wenn Trübungsmessungen oder Koloniezählungen in sehr weiten zeitlichen Intervallen oder nur einmalig nach einigen Tagen oder Wochen erfolgten. Exaktere Aussagen ermöglichen nur die relativ wenigen bisher vorliegenden experimentellen Untersuchungen, bei denen die Generationszeiten und lag-Phasen über einen grösseren Temperaturbereich bestimmt wurden.

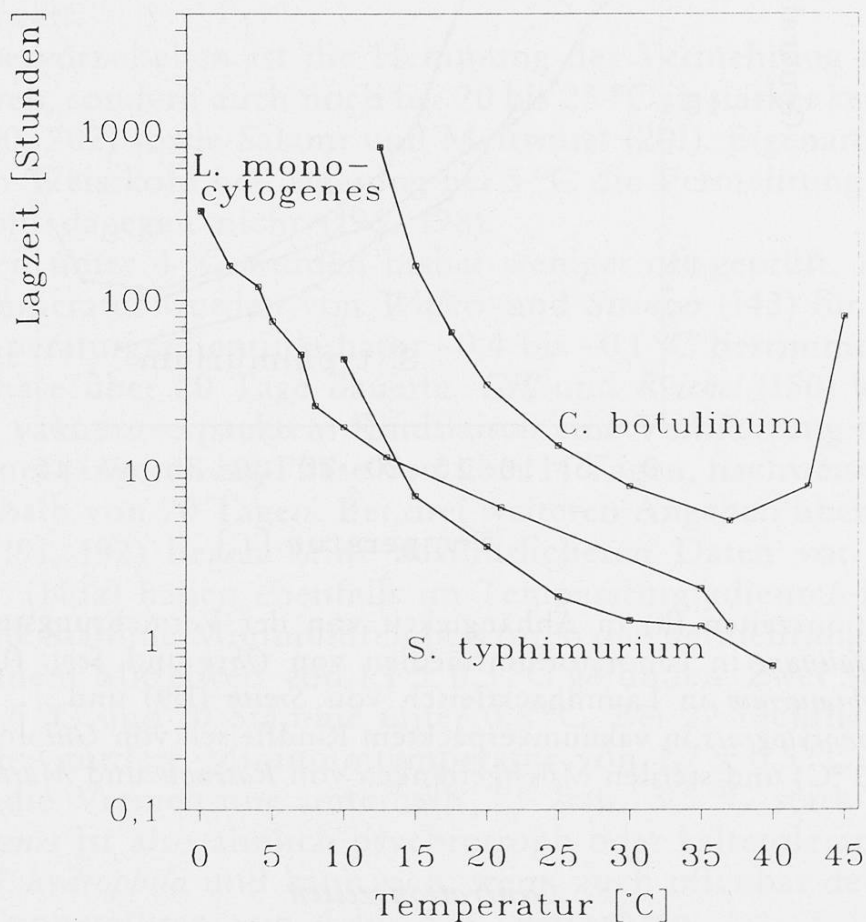


Abb. 2. lag-Zeiten (h) in Abhängigkeit von der Vermehrungstemperatur für  
 — *C. botulinum* in Laboratoriumsmedien von *Obye* und *Scott* (12)  
 — *S. typhimurium* in Lammhackfleisch von *Smith* (119) und  
 — *L. monocytogenes* in vakuumverpacktem Rindfleisch von *Gill* und *Reichel* (150) (0 bis 10 °C) und sterilen Milchgetränken von *Rosenow* und *Marth* (181) (4–37 °C)

In Tabelle 13 sind die Generationszeiten für einige lebensmitteltoxigene und toxiinfektiöse Bakterien einschliesslich *E. coli* für den hier interessierenden Kühltemperaturbereich zwischen  $-2$  und  $20$  °C aufgeführt. Zusätzlich ist in Abbildung 1 für drei wichtige Arten der Verlauf der g-Werte über den gesamten Temperaturbereich zwischen  $-2$  und  $45$  °C dargestellt.

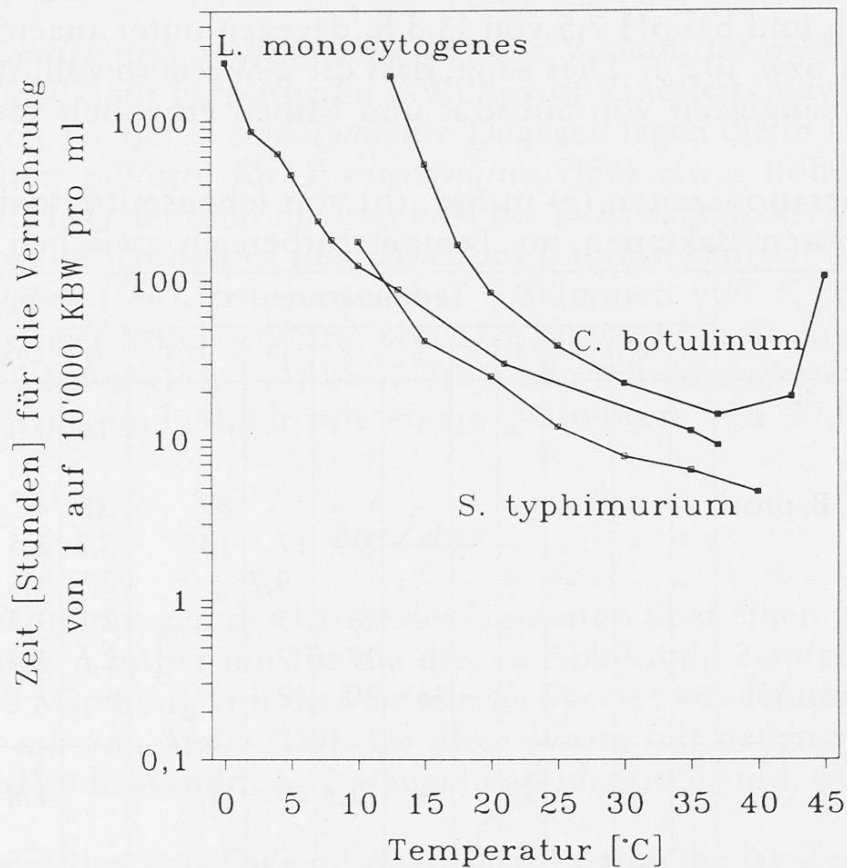


Abb. 3. Zeiten (h) für die Vermehrung von 1 auf  $10\,000\text{ KBE ml}^{-1}\text{g}^{-1}$  aufgrund der Generationszeiten (h) in Abbildung 1 und der lag-Zeiten (h) in Abbildung 2 geschätzt für  
 – *C. botulinum* in Laboratoriumsmedien von *Ohye* und *Scott* (12)  
 – *S. typhimurium* in Lammhackfleisch von *Smith* (119) und  
 – *L. monocytogenes* in vakuumverpacktem Rindfleisch von *Gill* und *Reichel* (150) (0 bis  $10$  °C) und sterilen Milchgetränken von *Rosenow* und *Marth* (181) ( $4$ – $37$  °C)

Bei sieben Arten erfolgten die Kulturen in flüssigen Laboratoriumsmedien, bei *S. typhimurium* und *E. coli* in Lammhackfleisch, bei *L. monocytogenes* in verschiedenen Milchgetränken und bei den drei letzten psychrotrophen Arten in vakuumverpacktem Rindfleisch. Nur bei letzteren wurden die g-Werte aus den von *Gill* und *Reichel* (150) angegebenen Vermehrungskurven berechnet. Alle anderen Angaben entsprechen den Originalwerten der Autoren für die geprüften Teststämme. Nur für *L. monocytogenes* gibt es bisher mehrere g-Wert-Bestimmungen, die aber weitgehend in gleicher Grössenordnung liegen. Die von *Rosenow* und *Marth* (181) angegebenen g-Werte für  $4$ ,  $8$  und  $13$  °C sind Mittelwerte für 4 verschiedene Stämme in 4 Milchgetränken. In Voll- und Magermilch lagen die

g-Werte bei 4 °C zwischen 30,5 und 38 h, in Sahne dagegen zwischen 28 und 45 h. In Laboratoriums-Medien wurden bei 4 °C g-Werte von 26,4 und 27 °C (175, 176), bei 7 °C von 12,3 bis 13,7 h (179) und bei 13 °C von 2,3 bis 2,5 h (179) bzw. 4,5 h (175, 176) bestimmt. Demgegenüber ermittelten *Buchanan et al.* (204) für den Stamm Scott A, der auch von *Rosenow* und *Marth* (181) geprüft war, bei 5 °C unter aeroben Bedingungen in Laboratoriums-Medien bei pH 6,0 einen g-Wert von 14,4 h und bei pH 7,5 von 13,3 h, dagegen unter anaeroben Bedingungen von nur 4,1 bzw. 10,5 h. Dies zeigt, dass die g-Werte sowohl stammspezifisch als auch in Abhängigkeit von Substrat und Milieu erheblich variieren können.

Tabelle 13. Generationszeiten (g) in Std. (h) von lebensmitteltoxischen und -infektösen Bakterien im Temperaturbereich zwischen -2 und 20 °C

Bakterienarten	Temperaturen °C											Substrat	Autoren	
	-2	0	2	4	5	6	8	10	12,5	15	20,0			
<i>C. perfringens</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	1,0*	Lab.-M.	(94, 96)
<i>C. botulinum</i> , A, B, prot.	-	-	-	-	-	-	-	-	89	28	4	Lab.-M.	(12)	
<i>B. cereus</i>	-	-	-	-	-	-	-	17	13	3,3	2,5	Lab.-M.	(88)	
<i>S. typhimurium</i>	-	-	-	-	-	-	-	9,7		2,7	1,6	L-Hackfl.	(119)	
<i>P. shigelloides</i>	-	-	-	-	-	-	19	5		2	1,2	Lab.-M.	(141)	
<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	-	17	7		2,6	1,4	L-Hackfl.	(119)	
<i>B. cereus</i> , psychrotroph	-	-				33	20	12		6	3	Lab.-M.	(85)	
<i>L. monocytogenes</i>	-	-		38		14**	11,6	10		5,7***		1,8+	Milch	(181, 179)
	-	150	53		29			7,9					R-Fleisch	(150)
<i>A. hydrophila</i>			17++		7			2,8	1,8	1,4	1,0	Lab.-M.	(141, 144)	
	90	51	27		17			6				R-Fleisch	(150)	
<i>Y. enterocolitica</i>			54	36		34		14				6	Lab.-M.	(154)
	79	65	34		14			7					R-Fleisch	(150)

- = keine Vermehrung \* = 25 °C, \*\* = 7 °C, \*\*\* = 13 °C  
 Leerstelle = keine Daten vorhanden + = 21 °C, ++ = 1 °C

Wie Tabelle 13 zeigt, lagen die g-Werte der vegetativen Bakterien bei allen Temperaturen in annähernd gleicher Grössenordnung. Nur bei den Sporenbildnern, insbesondere den anaeroben *Clostridium*-Arten, waren sie mehrfach grösser. Bei halblogarithmischer Darstellung der g-Werte gegen die Temperatur in Abbildung 1 zeigen die Kurven im Bereich unter 20 °C nahezu geraden, das heisst also weitgehend exponentiellen Verlauf. Der Unterschied zwischen den mesophilen

Salmonellen und den psychrotrophen Arten besteht lediglich darin, dass bei den Salmonellen zwischen 6 und 8 °C die Vermehrung aufhört, bei den Listerien aber bis 0 °C, bei *Y. enterocolitica* und *A. hydrophila* sogar bis -2 °C weitergeht. Einen nahezu gleichen Verlauf der g-Werte wie bei *S. typhimurium* in Abbildung 1 haben die von Mackey et al. (118) sowie von Mackey und Kerridge (117) bestimmten Werte für eine Mischung von 9 bzw. 3 Salmonella-Serotypen wie auch von *E. coli* (119, 206).

Bei *Y. enterocolitica* und *A. hydrophila* war der Verlauf der nach den Angaben von Gill und Reichel (150) berechneten g-Werte auf Rindfleisch zwischen -2 und 20 °C sehr ähnlich wie bei *L. monocytogenes*. Dagegen lagen die in Laboratoriumsmedien ermittelten g-Werte für *Y. enterocolitica* (154) etwas höher und die für *A. hydrophila* (141, 144) deutlich niedriger als bei *L. monocytogenes* und *S. typhimurium*. Möglicherweise handelt es sich dabei um stammspezifische Variabilitäten. Amin und Draughon (166) bestimmten bei 5 Stämmen von *Y. enterocolitica* bei 0 °C in pasteurisierter Milch g-Werte von 17,7 bis 26,0 h, mit einem Mittelwert von 21,2 h und Schubert (141, 144) bei 7 Stämmen von *A. hydrophila* bei 2 °C g-Werte zwischen 11,6 und 61,8 h mit einem Mittelwert von 27,0 h.

### lag-Zeiten

Genauere Bestimmungen der Länge der lag-Zeiten über einen grösseren Temperaturbereich liegen bisher nur für die drei in Abbildung 2 aufgeführten Arten vor sowie für die Mischung von drei *Salmonella*-Species von Mackey und Kerridge (117) und für *E. coli* von Smith (119). Da diese Werte mit denen von *S. typhimurium* von Smith (119) in Abbildung 2 weitgehend identisch sind, wurden sie nicht aufgeführt.

Nach den Befunden von Gill und Reichel (150) waren die lag-Zeiten von *A. hydrophila* weitgehend identisch mit denen von *L. monocytogenes*, die von *Y. enterocolitica* dagegen mehrfach kürzer, woraus bei 5 °C bis -2 °C eine deutlich raschere Vermehrung als bei den beiden anderen Arten resultierte. Auch Buckeridge et al. (154) fanden bei *Y. enterocolitica* bei 4 °C eine relativ kurze lag-Phase von nur 40 h und bei 6 und 10 °C von nur 2 bis 6 h. Offensichtlich ist *Y. enterocolitica* die am stärksten psychrotrophe Species.

Insgesamt ist für die drei in Abbildung 2 aufgeführten Arten der Verlauf der lag-Zeiten in Abhängigkeit von der Temperatur dem der Generationszeiten sehr ähnlich und ebenfalls nahezu exponentiell. Allerdings liegen die Kurven deutlich höher, da bei *L. monocytogenes* und *S. typhimurium* die lag-Zeiten (h) um einen mittleren Faktor von 2,7 bzw. 2,8 und bei *C. botulinum* um den Faktor 8,0 grösser als die g-Werte (h) sind. Deutlich kürzere lag-Zeiten bestimmten Buchanan et al. (204) für *L. monocytogenes* in Laboratoriumsmedien z. B. bei 5 °C unter aeroben Bedingungen von 43,8 und 60,5 h und anaerob von 39,2 und 52,2 h gegenüber 75 h bei Gill und Reichel (150) in Rindfleisch.

Bisher noch wenig berücksichtigt ist der Einfluss der Höhe der Anfangszellzahl auf die Länge der lag-Phase in Abhängigkeit von der Temperatur. Nach



Mackey und Kerridge (117) war bei der Vermehrung von Salmonellen in Rinderhackfleisch kein solcher Einfluss nachweisbar. Allerdings wurden nur die beiden Anfangskonzentrationen von 40 und  $10^4$  KBE  $g^{-1}$  geprüft. Dies widerspricht eigentlich der allgemeinen Erfahrung, dass mit abnehmender Anfangszellzahl die lag-Phasen zunehmend länger werden. Hier sind weitere Abklärungen insbesondere bei den psychrotrophen Arten notwendig. Bisher noch zu wenig beachtet ist auch der Einfluss von verschiedenen Stressfaktoren und Änderungen der Milieubedingungen wie z. B. des Sauerstoffgehaltes auf die Verlängerung der lag-Phasen (207–209), was sich bei Kühltemperaturen weit stärker als bei höheren Temperaturen auswirken dürfte.

### Effektive Vermehrungszeiten

Wenn die Dauer der lag-Phasen und die Generationszeiten bekannt sind, lassen sich die Zeiten berechnen, die bei verschiedenen Temperaturen bis zum Erreichen einer bestimmten Populationshöhe notwendig sind. In Abbildung 3 sind die Zeiten in Minuten, die für eine Vermehrung von 1 auf  $10^4$  KBE  $ml^{-1}$  bei Temperaturen zwischen 0 und 45 °C notwendig sind, dargestellt. Die Kurven verlaufen weitgehend wie die der Generationszeiten in Abbildung 1, liegen aber über eine Zehnerpotenz höher. Dies entspricht einem mittleren Multiplikationsfaktor der Generationszeiten der drei Arten von 18,5.

In Tabelle 14 sind die aus den Generationszeiten in Tabelle 13 und den lag-Zeitwerten berechneten Schätzwerte der für die Vermehrung von 1 auf 10 000 KBE  $ml^{-1}/g^{-1}$  notwendigen Zeiten in Tagen für die mesophilen und in Tabelle 15 für die psychrotrophen Bakterien für den Temperaturbereich zwischen -2 und 20 °C aufgeführt. Bei *B. cereus*, *A. hydrophila* und *P. shigelloides*, für die keine lag-Zeiten bekannt sind, wurden die entsprechenden Werte von *E. coli* bzw. *S. typhimurium* in Anrechnung gebracht. Dies ist offensichtlich gerechtfertigt, da die Multiplikationsfaktoren der Generationszeiten in gleicher Größenordnung liegen wie der für sämtliche Werte in den Tabellen 14 und 15 zu berechnende Mittelwert von 17,5.

Tabelle 14. Geschätzte Zeit in Tagen (d) für die Vermehrung mesophiler Bakterien von 1 auf 10 000 KBE pro ml/g bei 5 bis 20 °C

Bakterienarten	Temperaturen °C						Autoren
	5	8	10	12,5	15	20	
<i>C. perfringens</i>	–	–	–	–	8	(1,4)*	(94, 95, 96)
<i>C. botulinum</i> , A, B, prot.	–	–	–	80	22	3,5	(12)
<i>B. cereus</i>	–	–	11,2		2,1	1,5	(88)
<i>S. typhimurium</i>	–		7,2		1,8	1,0	(119)
<i>P. shigelloides</i>	–	14	3,9		1,4	0,8	(141)
<i>E. coli</i>	–	11,2	4,9		1,7	0,9	(119)

– = keine Vermehrung

\* = 25 °C

Leerstelle = keine Daten vorhanden

Tabelle 15. Geschätzte Zeit in Tagen (d) für die Vermehrung psychrotropher Bakterien von 1 auf 10 000 KBE pro ml/g bei -2 bis 20 °C (bei *L. monocytogenes* zusätzlich von 1 auf 1000 KBE pro ml/g)

Bakterienarten	Temperaturen °C											Autoren	
	-2	0	2	3,3	4	5	6	8	10	12,5	15		20
<i>B. cereus</i> , psychrotroph	-	-	-				21		8,5		3,6	1,8	(85)
<i>C. botulinum</i> , B, F, nichtprot.	-	-	-	100	33*		27**	15		6			(11, 25, 26)
<i>C. botulinum</i> , E, nichtprot.	-	-	-	60	52	25		14	10	6	3,5		(10, 34)
<i>A. hydrophila</i>	82	42	23			13			4,3	1	0,8	0,6	(144, 150)
<i>Y. enterocolitica</i>	80	39	20			9			5,0			2,8	(150, 154)
<i>L. monocytogenes</i>	-	97	36		26	19	10	7,4	5,1	3,7		1,2	(150, 179, 181)
von 1 auf 1000	-	77	29		21	15	8	5,8	4,0	2,9		1,0	(150, 179, 181)

- = keine Vermehrung    \* = 4,4 °C    \*\* = 5,6 °C    Leerstelle = keine Daten vorhanden

Ein Vergleich der geschätzten Tage, in denen eine Vermehrung von 1 auf  $10^4$  KBE  $\text{ml}^{-1}/\text{g}^{-1}$  erfolgt, zeigt in den Tabellen 14 und 15 im Bereich zwischen 8 und 20 °C keine signifikanten Unterschiede zwischen den mesophilen und psychrotrophen Arten. Bei 10 °C waren es beispielsweise bei allen nichtsporenbildenden Arten 3,9 bis 7,2, im Mittel 5,1 Tage und bei den psychrotrophen Sporenbildern 8,5 bzw. 10 Tage. Auch bei den psychrotrophen Arten lagen bei den Temperaturen von 5 °C und tiefer die Werte in annähernd gleicher Grössenordnung, allerdings mit grösserer Schwankungsbreite bei 0 und -2 °C.

Nach einer ähnlichen Schätzung von *Buchanan et al.* (203) wurden für *L. monocytogenes* bei 5 °C in aerober Kultur nur 7 Tage und nach anaerober Kultur sogar nur 5,8 gegenüber vorliegender Schätzung von 19 Tagen erhalten. Allerdings wurde dort unter Optimalbedingungen in Laboratoriums-Medien auf einer Schüttelmaschine kultiviert und ein etwas anderes Berechnungsverfahren insbesondere hinsichtlich der Festlegung der lag-Phasen angewandt. Demgegenüber beziehen sich die in den Tabellen 13 bis 15 angegebenen Werte sowohl für *L. monocytogenes* und den beiden anderen psychrotrophen Arten als auch für *S. typhimurium* und *E. coli* in Milchgetränken, Rind- und Hackfleisch als Substraten.

Der hier und auch von *Buchanan et al.* (203) gewählte Wert von  $10^4$   $\text{ml}^{-1}/\text{g}^{-1}$  liegt für einige Arten sicherlich weit unter der minimalen Infektionsdosis. Er dürfte aber für Arten mit relativ niedriger Infektionsdosis wie Salmonellen, enterotoxigenen *E. coli* und vor allem *L. monocytogenes* als praxisnah geeignet sein. Für *L. monocytogenes* sind in Tabelle 15 zusätzlich noch die Tage geschätzt, nach denen ein Zellzuwachs von 1 auf 1000 KBE  $\text{ml}^{-1}/\text{g}^{-1}$  zu erwarten ist. Diese Werte sind infolge der langen lag-Phase im Kühlbereich lediglich um 20% geringer als beim Zuwachs von 1 auf 10 000 KBE  $\text{ml}^{-1}/\text{g}^{-1}$ .

## Vermehrungsbedingungen in kühlgelagerten Lebensmitteln

Bei den in den Tabellen 1 bis 12 aufgeführten über 200 Untersuchungen waren zu 65% optimale Milieubedingungen angewandt, das heisst entweder Kulturmedien (44%) oder sterile, gekochte oder pasteurisierte Lebensmittel (21%) als Substrat. Nur bei einem Drittel der Arbeiten wurden frische oder teilverarbeitete Lebensmittel geprüft und dabei oft deutlich höhere Minimumtemperaturen mit erheblich längeren Vermehrungszeiten festgestellt. Verantwortlich dafür sind bei frischen Lebensmitteln meist Konkurrenzierungen durch die produkteigene Mikroflora und bei verarbeiteten Produkten hemmende Milieufaktoren wie  $a_w$ - und pH-Werte, Säuren, Salz- oder Nitritgehalt u. a.

### *Frische Lebensmittel*

Bei frischen Lebensmitteln können pathogene Bakterien durch die produkteigene Mikroflora ganz oder teilweise in der Vermehrung gehemmt werden. Ob und inwieweit sich diese Hemmung auswirkt, wird von zahlreichen Milieufaktoren einschliesslich der Temperaturen und von der Artenzusammensetzung bestimmt. Bei Kühltemperaturen ist vor allem die potentielle Konkurrenzhemmung der psychrotrophen pathogenen Arten von Interesse.

### *Konkurrenzhemmung bei Frischfleisch*

Ein besonders markantes Beispiel sind die Befunde von *Kaya* und *Schmidt* (200) nach Beimpfung von Hackfleisch mit *L. monocytogenes* (Tabelle 12). In sterilisiertem Hackfleisch setzte nach Beimpfung mit  $10^5$  KBE  $g^{-1}$  bei 4 °C bereits nach 2 Tagen deutliche Vermehrung der Listerien ein. In Hackfleisch mit geringer Keimbelastung von  $10^5$  KBE  $g^{-1}$  erfolgte bei 4 °C keine Vermehrung der Listerien, sondern stärker verzögert erst ab 7 °C. Dagegen war bei hoher Ausgangskeimbelastung von  $10^7$  KBE  $g^{-1}$  keine Listerienvermehrung auch bei höheren Temperaturen bis zu 25 °C nachweisbar. Nach Beimpfung von sterilem Hackfleisch mit *L. monocytogenes* und gleichzeitig mit einer Mischung von vier *Lactobacillus*-Arten war die Listerienvermehrung völlig gehemmt, nach Beimpfung mit einer Mischung von vier *Pseudomonas*-Arten dagegen nicht.

Eine ähnliche Vermehrungshemmung der in relativ hoher Zahl von über  $10^5$  eingepfunden Listerien fand *Shelef* (202) während mehrtägiger Lagerung bei 25 °C in zerkleinertem Rindfleisch und Leber, obwohl deren Keimbelastung mit  $10^4$  KBE  $g^{-1}$  ziemlich gering war. Ebenso konnten *Johnson et al.* (210) keine Vermehrung von zwei *L. monocytogenes*-Stämmen in Rinderhackfleisch während zwei Wochen bei 4 °C nachweisen. Zum gleichen Ergebnis kamen *Buchanan et al.* (182) nach siebentägiger Lagerung von Hamburgern, Wurst und Geflügelsalat bei 4 °C. Im Gegensatz dazu fanden *Gouet et al.* (199) bei sterilem Hackfleisch bei 8 °C keine Vermehrung eingepfunder Listerien, sondern erst nach zusätzlicher Beimpfung mit *P. fluorescens* und *E. coli*, allerdings mit zeitlich etwas stärker verzögertem

Wachstum. Der Zusatz von *L. plantarum* bewirkte einen deutlichen Rückgang der Listerien.

Die Ergebnisse sind insgesamt widersprüchlich und erfordern weitere Prüfungen. Nach Meinung von *Shelef* (202) sind Nährstoffmangel und Konkurrenzhemmung durch die normalerweise bei Kühltemperaturen dominierenden Pseudomonaden keine plausible Erklärung für die verschiedentlich beobachtete Hemmung der Listerienvermehrung in Fleisch. Möglicherweise könnten bestimmte Faktoren im tierischen Muskelgewebe dafür verantwortlich sein. Im Gegensatz dazu hatten *Gill* und *Reichel* (150) bei ihren Lagerversuchen von vakuumverpackten Rindersteaks bei -2 bis 10 °C nach Beimpfung mit *L. monocytogenes*, *Y. enterocolitica* und *A. hydrophila* keine entsprechenden Vermehrungshemmungen beobachtet.

Ähnliche partielle Vermehrungshemmungen in Hackfleisch hatten *Hellmann* und *Heinrich* (164) sowie *Kleinlein* und *Untermann* (171) für je zwei Serovars von *Y. enterocolitica* und *Palumbo* (152) für einen Stamm von *A. hydrophila* festgestellt. Nach *Fukushima* und *Gomyoda* (172) war die Vermehrungshemmung von *Y. enterocolitica* in Schweinehackfleisch bei 6 und 25 °C auf antagonistische Effekte von Enterobacteriaceen, insbesondere *H. alvei* und «Umwelts-Yersinien», zurückzuführen.

Im Vergleich dazu war nach Beimpfungen von Hackfleisch mit Salmonellen und *E. coli* während der Lagerung bei Temperaturen von 10 °C und höher keine Hemmung ihrer Vermehrung erkennbar (117–119). Zu ähnlichen Ergebnissen waren auch *Gill* und *Newton* (211) bei Rindersteaks, allerdings bei 20 °C-Lagerung, gekommen. Es gab keine Konkurrenzhemmung durch gram-negative Bakterien oder *B. thermosphacta*, sondern nur durch Lactobazillen.

Für *S. aureus* wurde in Geflügel-Hackfleisch (65, 80) sowie in gefrorener und aufgetauter Leber (63) lediglich eine gewisse Verzögerung, aber keine Vermehrungshemmung durch die normale Verderbsflora beobachtet.

### Mischkulturen

Die Einwirkungen von Bakterien der Lebensmittel-Verderbsflora bei Kühltemperaturen vorzugsweise auf psychrotrophe pathogene Arten wurde in unterschiedlichen Versuchsanordnungen geprüft.

*Van Pee* und *Stagnier* (159) konnten bei Mischkulturen von zwei Serotypen von *Y. enterocolitica* zusammen mit *P. fluorescens* in Laboratoriumsmedien bei 4 °C keine gegenseitige Hemmung oder Beeinflussung der beiden Arten nachweisen. Dagegen wurde von *Stern* et al. (212) nach Beimpfung von UHT-Milch mit vier *Y. enterocolitica*-Stämmen zusammen mit psychrotrophen Bakterien nach 10tägiger Lagerung bei 3 °C eine deutliche Hemmung der Yersinienvermehrung nachgewiesen. *Schiemann* und *Olson* (213) fanden bei 32 °C und teilweise auch bei 25 °C sowohl in direkten als auch durch eine Dialysemembran separierten Kulturen eine deutliche Vermehrungshemmung von *Y. enterocolitica* durch verschiedenen Enterobacteriaceen. Bei 15 °C war dieser Effekt nicht mehr nachweisbar, weil beide Partner annähernd gleiche Vermehrungsraten hatten.

In Mischkulturen von *L. monocytogenes* mit *P. fragi* in Voll- und Magermilch wurden bei 10 °C beide Partner nicht in ihrer Vermehrung gehemmt. Nach Vorbebrütung der Milch mit Pseudomonaden wurden die nachträglich eingimpften Listerien in ihrer Vermehrung deutlich gefördert, was wahrscheinlich auf die proteolytische Wirkung der Pseudomonaden zurückzuführen ist (189). Auch *Farrag* und *Marth* (214) beobachteten bei Mischkulturen von *L. monocytogenes* mit *P. fluorescens* in Magermilch bei 7 °C aber nicht bei 13 °C in den ersten 7 Tagen eine gewisse Förderung der Listerienvermehrung, bei längerer Kultur aber eine leichte Inaktivierung. Im Gegensatz dazu wurde von *Farrag* und *Marth* (215) in Mischkulturen in Laboratoriumsmedien bei 13 °C ein leicht negativer Effekt von *P. fluorescens* und *P. aeruginosa* auf das Listerienwachstum beobachtet. *Freedman et al.* (216) konnten in modifizierten Hemmstofftesten eine deutliche antagonistische Wirkung von 13 von Pflanzen und Lebensmitteln isolierten *Pseudomonas*-Arten unter anderem auch gegen *L. monocytogenes*, *S. arizonae* und *S. typhimurium*, *Y. enterocolitica* und *S. aureus* nachweisen. Als Ursache wird eine Siderophorenbildung der Pseudomonaden und damit verstärkte Eisenaufnahme vermutet.

Die stärkste antagonistische Wirkung haben Milchsäurebakterien. Nach *Gilliland* und *Speck* (217) werden *S. aureus*, *S. typhimurium*, enteropathogene *E. coli* und *C. perfringens* durch *L. acidophilus* sowohl unter aeroben als auch anaeroben Bedingungen effektiv im Wachstum gehemmt. Neben der Säurebildung und pH-Absenkung sind dafür partiell offenbar auch Wasserstoffperoxid-Bildung und inhibitorisch wirksame Stoffwechselprodukte verantwortlich. Bekannt ist auch die Vermehrungshemmung von enteropathogenen *E. coli* (218), *S. typhimurium* (219), *Y. enterocolitica* (220) und auch *L. monocytogenes* (221, 222) durch Milchsäurebakterien bei Sauermilchprodukten. Auch in fermentierten Rohwürsten wird das Wachstum von *L. monocytogenes* (197, 223) und Salmonellen (224) durch Zusatz entsprechender Starterkulturen gehemmt.

Insgesamt sind die bisher hauptsächlich für Fleisch und Kulturmedien vorliegenden Befunde ziemlich kontrovers. Eindeutig ist nur die Vermehrungshemmung pathogener Bakterien, insbesondere der psychrotrophen Arten durch Milchsäurebakterien. Allerdings war in den Lagerversuchen von *Gill* und *Reichel* (150) offensichtlich keine Hemmung von *L. monocytogenes*, *Y. enterocolitica* und *A. hydrophila* erfolgt, obwohl die Verderbsflora der vakuumverpackten frischen Rindersteaks zu Beginn zu gleichen Teilen aus Laktobazillen und Enterobacteriaceen bestand und im Laufe der Kühllagerung die Laktobazillen dominierten. Worauf die mehrfach in Hackfleisch beobachtete Vermehrungshemmung von Listerien und Yersinien zurückzuführen ist, bleibt vorerst noch unklar. Erfahrungsgemäss vermehren sich in solchen Substraten bei Kühltemperaturen auch bei Vakuumverpackung zuerst Pseudomonaden und die Milchsäurebakterien erst, wenn der im Substrat gelöste Sauerstoff verbraucht ist und sich CO<sub>2</sub> angereichert hat. Da aber in allen Hackfleischversuchen bei höherer Ausgangskeimzahlbelastung von vornherein eine Hemmung von Yersinien und Listerien beobachtet wurde, gibt es offenbar anfänglich doch eine erhebliche antagonistische Wirkung der Pseudomonaden oder Enterobacteriaceen.

Die Auswirkungen von Kochsalz, Nitrit, Säuren, pH- und  $a_w$ -Werten und anderen Milieufaktoren allein oder in Kombinationen auf Vermehrung und/oder Toxinbildung bei suboptimalen Temperaturen sind bereits vielfach untersucht, insbesondere bei den proteolytischen und nichtproteolytischen Serotypen von *C. botulinum* (13, 17–19, 27, 32, 33), bei *C. perfringens* (93), Salmonellen und enteropathogenen *E. coli* (59, 102, 106, 109, 110, 121, 124, 133), *S. aureus* (55, 57, 70, 73, 75, 79, 82), *Y. enterocolitica* (155), *A. hydrophila* (152) und *L. monocytogenes* (174, 177, 179, 194, 201, 204, 225–228).

In nahezu allen Fällen resultierte mit jeder Konzentrationserhöhung bakterio-  
statisch wirksamer Stoffe oder jeder ungünstigen Veränderung der Milieubedingungen mit abnehmenden Temperaturen eine signifikant stärker werdende Verzögerung der Vermehrungsgeschwindigkeit und Verlängerung der lag-Phasen. Häufig wurde die Vermehrung bei Kühltemperaturen völlig gehemmt. So lagen vor allem bei gepökelten Fleischwaren die Minimumtemperaturen der Vermehrung oft 10 bis 15 °C und mehr über den in Laboratoriumsmedien, frischen, pasteurisierten oder sterilen Lebensmitteln bestimmten Minimumtemperaturen (siehe Tabellen 1, 2, 3, 4, 8).

### Schlussfolgerungen

Bei kritischer Wertung der bisher vorliegenden experimentellen Daten über die Minimumtemperaturen der Vermehrung potentiell pathogener Bakterien (Tabellen 1–12) und ihrer spezifischen Vermehrungsbedingungen bei Kühltemperaturen (Abb. 1–3) ist die im Titel gestellte Frage generell mit «Ja – mit gewissen Einschränkungen» zu beantworten.

Für die Kühlschranks-Lagerung von Lebensmitteln wird allgemein eine Temperatur von nicht mehr als 4 bis 5 °C als notwendig angesehen. Bei dieser Temperatur ist aufgrund der relativ hohen Minimumtemperaturen bei folgenden mesophilen Bakterien eindeutig *keine* Vermehrung bzw. Toxinbildung mehr möglich:

- *Clostridium perfringens* (Minimum zwischen 12 und 15 °C)
- *Clostridium botulinum* proteolytische Serotypen A, B, F und G (Minimum zwischen 11 und 15 °C)
- *Vibrio parahaemolyticus* (Minimum von 10 °C und höher)
- *Plesiomonas shigelloides* (Minimum zwischen 8 und 10 °C)
- Salmonellen (Minimum zwischen 6 und 10 °C)
- *Staphylococcus aureus* (Minimum der Vermehrung zwischen 6 und 7 °C, der Enterotoxinbildung seltener zwischen 10 und 16 °C, häufiger über 18 bis 20 °C).

Hinzu kommt noch *Campylobacter jejuni*, der mit einem relativ engen Temperaturbereich der Vermehrung etwa zwischen 30 und 46 °C und einem Optimum zwischen 42 und 45 °C ausgesprochen mesophil ist. Eine Inaktivierung setzte ein

bereits bei 46 bis 48 °C einerseits und 25 °C bis 30 °C andererseits (229). Daher wurde diese Art in vorliegendem Bericht nicht berücksichtigt. Allerdings überlebt *C. jejuni* in Lebensmitteln relativ gut Kühltemperaturen zwischen 1 und 10 °C, nicht aber höhere Temperaturen und ist sehr empfindlich gegenüber Gefrieren (229).

Bei den normalerweise typisch mesophilen Arten wie *Bacillus cereus* und enterotoxigenen *Escherichia coli* gibt es psychrotrophe Biotypen und Stämme, die sich noch bei Temperaturen von 1 bis 4 °C vermehren können. Über ihr natürliches Vorkommen und ihre Verbreitung in Lebensmitteln ist bisher kaum etwas bekannt. In der Praxis ist vor allem bei pasteurisierten Milchprodukten, Fertiggerichten und anderen erhitzten Produkten mit dem Vorkommen von psychrotrophen Stämmen von *B. cereus* zu rechnen.

Das eigentliche Problem sind die vier psychrotrophen pathogenen Arten, die unter geeigneten Bedingungen eindeutig noch vermehrungsfähig sind:

- die nichtproteolytischen Serotypen B, E und F von *Clostridium botulinum* mit Minimumtemperaturen der Vermehrung und Toxinbildung zwischen 3,0 und 3,3 °C.
- *Listeria monocytogenes* mit einer Minimumtemperatur von 0 °C sowie
- *Yersinia enterocolitica* und *Aeromonas hydrophila* mit Minimumtemperaturen von –2 °C.

Allerdings verläuft die Vermehrung bei Kühltemperaturen nur sehr langsam. Mit abnehmender Temperatur wird die Vermehrungsgeschwindigkeit immer geringer und werden die lag-Phasen bis zum Beginn der Vermehrung immer länger.

Bei *L. monocytogenes* beträgt bei 5 °C die Generationszeit bereits 30 h und die lag-Phase 75 h bzw. 3 Tage. Daher dauert es zur Vermehrung von 1 auf  $10^3$  KBE  $\text{ml}^{-1}/\text{g}^{-1}$  15 Tage und von 1 auf  $10^4$  KBE  $\text{ml}^{-1}/\text{g}^{-1}$  mit 19 Tagen noch länger. Für *Y. enterocolitica* und *A. hydrophila* liegen die entsprechenden Werte nur wenig tiefer. Dabei ist zu berücksichtigen, dass diese Daten auf den Ergebnissen von unter optimalen Bedingungen durchgeführten Beimpfungs- und Lagerungsversuchen beruhen. In der Praxis sind die zur Vermehrung bei Kühltemperaturen notwendigen Zeiten in hohem Masse von der Art des Substrates Lebensmittel, der Höhe der meist sehr niedrigen Kontamination und den übrigen Milieubedingungen abhängig und dürften in der Regel deutlich länger sein.

Von wenigen Ausnahmen abgesehen sind in der Praxis im Haushalt und in der Gastronomie im Kühlschrank bei 4 bis 5 °C gelagerte, frische und verarbeitete, nichtsaure Lebensmittel kaum länger als 7 bis 10 Tage haltbar. Entweder werden sie durch nichtpathogene Verderbsbakterien verdorben oder erfahren durch chemisch-biochemische oder strukturelle Veränderungen so starke sensorische Qualitätsminderungen, dass sie nicht mehr genussfähig sind. *Rosenow* und *Marth* (181) haben für *L. monocytogenes* nach Einimpfung in sterile Milchgetränke von 10 KBE pro 250 ml nach 7 Tagen Lagerung eine Erhöhung auf 26 und nach 10 Tagen auf 96 KBE pro 250 ml berechnet, bei einer Ausgangszellzahl von 100 jeweils um eine 10er Potenz höhere Endwerte. Für unsterile Nichtmilchprodukte dürfte der in Tabelle 15 angegebene Wert der Vermehrung von 1 auf  $10^3$  KBE  $\text{g}^{-1}$  bei 4 °C von 21 Tagen realistisch sein. Das bedeutet aber, dass in der Praxis bei 4 bis 5 °C

die meisten Lebensmittel bereits verdorben oder genussuntauglich sind, wenn die psychrotrophen pathogenen Bakterien gerade ihre lag-Phase beendet und mit der Vermehrung begonnen haben. Bei *Y. enterocolitica* und *A. hydrophila* sind diese Zeiten eventuell etwas kürzer. Dafür dauert es aber wesentlich länger, bis die sehr hohen minimalen Infektionsdosen, die mehrere Zehnerpotenzen über denen von *L. monocytogenes* liegen, erreicht werden.

Keine ausreichende hygienische Sicherheit ist bei Kühlung bei 4 bis 5 °C nur für alle unter diesen Bedingungen länger als 7 bis 10 Tage haltbaren Produkte gegeben. Für diese ist eine strikte Kühlung bei 0 bis 2 °C zu fordern. Es sind dies in erster Linie alle nichtsauren, pasteurisierten oder gekochten Produkte wie insbesondere gekühlte Fertiggerichte und ähnliche Lebensmittel, die bis zu drei Wochen haltbar sein können. Hauptgrund dafür ist die Gefahr, dass die Endosporen der psychrotrophen, nichtproteolytischen Serotypen von *C. botulinum* und auch der psychrotrophen Biotypen von *B. cereus* nicht oder nicht ausreichend inaktiviert worden sind und dass dann nach 10 bis 14 Tagen Vermehrung und Toxinbildung einsetzt. Zusätzlich ist die Vermehrung von nach der Erhitzung auf die Produkte übertragenen Listerien zu verhindern.

Aus Sicherheitsgründen wird ausserdem die Lagerung von Fischen, Krusten- und Schalentieren einschliesslich auch leicht geräucherter Produkte bei 0 bis 2 °C gefordert, weil sie nicht selten mit dem Serotyp E von *C. botulinum* kontaminiert sind. Dies könnte aber weniger streng befolgt werden, da auch diese Frischprodukte bei 4 bis 5 °C kaum mehr als eine Woche haltbar sind.

Eine dritte Produktgruppe, für die eine Kühlung bei 0 bis 2 °C hygienisch sicherer ist, sind grössere, meist vakuumverpackte Fleischstücke, wie sie heute in grossem Umfang im Versandhandel vertrieben werden. Bei diesen besteht bei 4 bis 5 °C tatsächlich bei mehrwöchiger Kühlung eine gewisse Gefahr einer Listerienvermehrung. Andererseits liesse sich dies nach den Erfahrungen von Gill und Reichel (150) auch bei 4 bis 5 °C durch konsequente CO<sub>2</sub>-Schutzgas-Verpackung wirksam verhindern.

### Konsequenzen für die Praxis

In allen industrialisierten Ländern sind heute geeignete Kühleinrichtungen sowohl im Haushalt und Gastronomie als auch in der Lebensmittelproduktion und Distribution einschliesslich Detailhandel weit verbreitet und werden auch konsequent für die Kühlung sehr vieler Lebensmittel genutzt. Das Problem dabei ist, dass sie sehr oft, im Haushalt sogar überwiegend, bei zu hohen Temperaturen von schätzungsweise durchschnittlich 8 °C, nicht selten sogar von 10 °C betrieben werden. Die hygienisch weitgehend sicheren Kühltemperaturen von 4 bis 5 °C und kälter sind seltener eingestellt. Wie die Tabellen 14 und 15 zeigen, kann bei 10 °C bereits nach 4 bis 5 Tagen und bei 8 °C innerhalb einer Woche eine Vermehrung lebensmitteltoxigener und toxiinfektiöser Bakterien in Lebensmitteln von 1 auf 10 000 Zellen pro Gramm erfolgen.



Das aktuelle Problem besteht also darin, Lebensmittelhersteller, -verteiler und -konsumenten dahin zu bringen, ihre Kühleinrichtungen konsequent auf Temperaturen von 4 bis 5 °C, für die Lagerung von gekühlten Fertigprodukten von 0 bis 2 °C einzustellen. Dies ist nur durch verstärkte Verbraucheraufklärung erreichbar.

Für den Haushaltsbereich sind in Japan schon länger kombinierte Kühlschränke mit einem zweiten Kühlfach für Temperaturen von -2 bis 0 °C für die separate Lagerung von Fisch und Meerestieren auf dem Markt. Inzwischen werden auch in Europa solche Kombinationskühlschränke angeboten mit 3 bis 4 separaten Fächern und Temperaturstufen von z. B. -18 °C, 0 °C, 4 bis 8 °C und 8 bis 12 °C. Aus hygienischer Sicht sind solche Kühlgeräte eine optimale Lösung, auch wenn ihr richtiger Gebrauch vertiefte Kenntnis des Konsumenten verlangt.

Für alle Kühlgeräte und -räume in der Gastronomie, in Grossküchenbetrieben, Catering, gewerblicher und industrieller Lebensmittelherstellung und -verarbeitung, insbesondere aber in den offenen Verkaufskühlgeräten des Detailhandels, sind aus Gründen der grösseren hygienischen Sicherheit Kühltemperaturen unter 4 bis 5 °C, am besten zwischen 0 und 2 °C, zu empfehlen.

### Zusammenfassung

In 12 Tabellen wurden die bisher vorliegenden Daten über die Minimumtemperaturen von Vermehrung und/oder Toxinbildung lebensmittel-toxigener und toxiinfektöser Bakterien gegenübergestellt. Danach ist bei 4 bis 5 °C eindeutig *keine* Vermehrung und Toxinbildung möglich von: *C. perfringens*, *C. botulinum*, proteolytische Serotypen A, B, F, G, *V. parahaemolyticus*, *P. shigelloides*, *Salmonellen* und *S. aureus*.

Vermehrungsfähig sind bei 4 bis 5 °C unter geeigneten Bedingungen die nichtproteolytischen Serotypen B, E und F von *C. botulinum*, *L. monocytogenes* sowie *Y. enterocolitica* und *A. hydrophila*.

Bei Kühltemperaturen unter 15 bis 20 °C werden mit abnehmender Temperatur die lag-Phasen zunehmend länger und die Vermehrungsgeschwindigkeiten immer geringer. Bei 5 °C dauert es zur Vermehrung der vier psychrotrophen Arten von 1 auf 10 000 Zellen g<sup>-1</sup> in Lebensmitteln 1,5 bis über 2 Wochen. In dieser Zeit sind die meisten frischen und verarbeiteten Lebensmittel bereits mikrobiell verdorben.

Hygienisch gefährdet sind bei 5 °C nur über 10 Tage haltbare Lebensmittel wie pasteurisierte oder vorgekochte Fertiggerichte und ähnliche Produkte. Diese dürfen wegen der potentiellen Vermehrung und Toxinbildung der nichtproteolytischen Serotypen B, E und F von *C. botulinum* konsequent nur bei 0 bis 2 °C gelagert werden.

Die im Titel gestellte Frage ist insgesamt mit «Ja – mit Einschränkungen» zu beantworten, sofern Kühltankschrank-Temperaturen von maximal 5 °C eingehalten werden. Das eigentliche Problem ist aber, dass dies in der Praxis oft nicht angewandt wird.

### Résumé

Dans les 12 tableaux sont comparées les données expérimentales disponibles à ce jour sur les températures minimales de croissance et/ou sur la formation de toxines des bacté-

ries toxigènes ou toxi-infectieuses dans les aliments. Selon ces données, aucune croissance et aucune formation de toxines n'est possible entre 4 et 5 °C pour *C. perfringens*, *C. botulinum*, les sérotypes protéolytiques A, B, F, G, *V. parahaemolyticus*, *P. shigelloides*, salmonelles et pour *S. aureus*.

Une croissance est possible entre 4 et 5 °C pour les bactéries suivantes: sérotypes non-protéolytiques B, E et F de *C. botulinum*, *L. monocytogenes* ainsi que *Y. enterocolitica* et *A. hydrophila*.

Aux températures de stockage au-dessous de 15 et 20 °C les phases «lag» se prolongent avec une température diminuant de plus en plus et l'accélération de croissance diminue simultanément. A la température de 5 °C, il faut une semaine et demie à 2 semaines jusqu'à ce que les quatre types psychrotrophes dans les aliments se développent d'une à 10 000 cellules. Entretemps, la plupart des aliments frais et préparés sont déjà microbiologiquement gâtés.

A 5 °C, seuls les aliments durables plus de 10 jours, comme les repas prêts à la consommation pasteurisés ou précuits et les produits semblable présentent un risque hygiénique. Ceux-ci ne doivent être stockés strictement que de 0 à 2 °C, à cause de la croissance et de l'éventuelle formation de toxines des sérotypes non-protéolytiques B, E et F de *C. botulinum*.

La réponse de la question posée dans le titre est «oui — avec des réserves», pour autant que la température de réfrigération de 5 °C au maximum est respectée. Mais le véritable problème qui se pose est que cette température maximale est souvent dépassée dans la pratique.

### Summary

In 12 tables, all experimental data presently available on minimum growth temperatures and/or toxin formation of food toxigenic or toxi-infectious bacteria are compared. From this outline, the following facts are of central importance: For *C. perfringens*, proteolytic serotypes A, B, F, and G, of *C. botulinum*, *V. parahaemolyticus*, *P. shigelloides*, Salmonella and *S. aureus*, there is no growth possible at 4 to 5 °C.

Under favoured conditions, non proteolytical serotypes B, E. and F of *C. botulinum*, *L. monocytogenes*, *Y. enterocolitica* and *A. hydrophila* are able to grow at 4 to 5 °C. At storage temperatures below 15 to 20 °C, lag-phases of bacterial growth are extended and simultaneously growth speeds are diminished. At 5 °C it takes 1.5 to 2 weeks and more for the four psychrotrophic species mentioned above to multiply in foods from 1 to 10 000 cells g<sup>-1</sup>. During that time, most fresh and processed foods are undergoing microbial spoilage anyway.

Only foods which can be kept for more than 10 days at 5 °C such as pasteurized or pre-cooked ready-to-eat-meals and similar products are hygienically endangered. For that reason, they must be stored strictly at temperatures of 0 to 2 °C because of potential growth and toxin formation of the non proteolytic serotypes B, E and F of *C. botulinum*.

Finally, the question asked in the title of the article can be answered with «yes with restriction» — provided that the storage temperature in the refrigerator is kept at 5 °C. However, the main problem in practice is that the temperature is often not respected.

## Literatur

1. Pietsch, O. und Levetzow, R.: Das Problem der Geflügel-Salmonellose in Beziehung zur Geflügel-Kühlung. *Fleischwirtschaft* 54, 76–80 (1974).
2. Surkiewicz, B. F., Johnston, R. W., Moran, A. B. and Krumm, G. W.: A bacteriological survey of chicken eviscerating plants. *Food Technol* 23, 80–83 (1969).
3. Doyle, M. P. (ed.): Foodborne bacterial pathogens. Marcel Dekker, Inc., New York and Basel 1989.
4. Palumbo, S. A.: Is refrigeration enough to restrain foodborne pathogens. *J. Food Prot.* 49, 1003–1009 (1986).
5. Palumbo, S. A.: Can refrigeration keep our foods safe? *Dairy Food Sanitation* 7, 56–60 (1987).
6. Foster, E. M.: Some sufficient words to the wise on the downside of refrigerated foods. *Quick Frozen Foods Int.*, p. 81–82, July 1987.
7. Michener, H. D. and Elliott, R. P.: Minimum growth temperatures for food-poisoning, fecal-indicator, and psychrophilic microorganisms. *Adv. Food Res.* 13, 349–396 (1964).
8. Schmidt-Lorenz, W.: Behaviour of microorganisms at low temperatures. A review. Part I and II. *Bull. Int. Inst. Froid.* Nr. 47, 390–412, Part III und IV. 1313–1349 (1967).
9. Smelt, J. P. P. M. and Haas, H.: Behaviour of proteolytic *Clostridium botulinum* types A and B near the lower temperature limits of growth. *Eur. J. Appl. Microbiol.* 5, 143–154 (1978).
10. Solomon, H. M., Lynt, R. K., Lilly, T. jr. and Kautter, D. A.: Effect of low temperatures on growth of *Clostridium botulinum* spores in meat of the blue crab. *J. Food Prot.* 40, 5–7 (1977).
11. Solomon, H. M., Kautter, D. A. and Lynt, R. K.: Effect of low temperatures on growth of nonproteolytic *Clostridium botulinum* types B and F and proteolytic type G in crabmeat and broth. *J. Food Prot.* 45, 516–518 (1982).
12. Ohye, D. F. and Scott, W. J.: The temperature relations of *Clostridium botulinum* types A and B. *Austr. J. Biol. Sci.* 6, 178–189 (1953).
13. Graham, A. F. and Lund, B. M.: The combined effect of sub-optimal temperature and sub-optimal pH on growth and toxin formation from spores of *Clostridium botulinum*. *J. appl. Bact.* 63, 387–393 (1987).
14. Notermans, S., Dufrenne, J. and Keijbets, M. J. H.: Vacuum-packed cooked potatoes: toxin production by *Clostridium botulinum* and shelf life. *J. Food Prot.* 44, 572–575 (1981).
15. Notermans, S., Dufrenne, J. and Keybets, M. J. H.: Use of preservatives to delay toxin formation by *Clostridium botulinum* (type B, strain okra) in vacuum-packed, cooked potatoes. *J. Food Prot.* 48, 851–855 (1985).
16. Pivnick, H. and Bird, H.: Toxinogenesis by *Clostridium botulinum* types A and E in perishable cooked meats vacuum-packed in plastic pouches. *Food Technol.* 19, 132–140 (1965).
17. Roberts, T. A., Gibson, A. M. and Robinson, A.: Factors controlling the growth of *Clostridium botulinum* types A and B in pasteurized, cured meats. I. Growth in pork slurries prepared from «low» pH meat (pH range 5,5–6,3). *J. Food Technol.* 16, 239–266 (1981).
18. Roberts, T. A., Gibson, A. M. and Robinson, A.: Factors controlling the growth of *Clostridium botulinum* types A and B in pasteurized cured meats. II. Growth in pork slurries prepared from «high» pH meat (range 6,3–6,8). *J. Food Technol.* 16, 267–281 (1981).
19. Ala-Huikka, K., Nurmi, E., Pajulahti, H. and Raevuori, M.: Effect of nitrite, storage temperature and time on *Clostridium botulinum* type A toxin formation in liver sausage. *Eur. J. Appl. Microbiol.* 4, 145–149 (1977).

20. *Lerke, P. und Farber, L.*: Heat pasteurization of crab and shrimp from the pacific coast of the united states: Public health aspects. *J. Food Sci.* **36**, 277–279 (1971).
21. *Steinke, P. K. W. and Foster, E. M.*: Botulinum toxin formation in liver sausage. *Food Res.* **16**, 477–484 (1951).
22. *Kautter, D. A., Lynt, R. K., Lilly, T., Jr. and Solomon, H. M.*: Evaluation of the botulism hazard from nitrogen-packed sandwiches. *J. Food Prot.* **44**, 59–61 (1981).
23. *Christiansen, L. N., Johnston R. W., Kautter, D. A., Howard, J. W. and Aunan, W. J.*: Effect of nitrite and nitrate on toxin production by *Clostridium botulinum* and on nitrosamine formation in perishable canned comminuted cured meat. *Appl. Microbiol.* **25**, 357–362 (1973).
24. *Abrahamsson, K., Gullmar, B. and Molin, N.*: The effect of temperature on toxin formation and toxin stability of *Clostridium botulinum* type E in different environments. *Can. J. Microbiol.* **12**, 385–394 (1966).
25. *Eklund, M. W., Wieler, D. I. and Poysky, F. T.*: Outgrowth and toxin production of non-proteolytic type B *Clostridium botulinum* at 3.3 to 5.6 C. *J. Bact.* **93**, 1461–1462 (1967).
26. *Eklund, M. W., Poysky, F. T. and Wieler, D. I.*: Characteristics of *Clostridium botulinum* type F isolated from the pacific coast of the United States. *Appl. Microbiol.* **15**, 1316–1323 (1967).
27. *Emodi, A. S. and Lechow, R. V.*: Low temperature growth of type E *Clostridium botulinum* spores. 1. Effects of sodium chloride, sodium nitrite and pH. *J. Food Sci.* **34**, 78–81 (1969).
28. *Roberts, T. A. and Hobbs, G.*: Low temperature growth characteristics of clostridia. *J. appl. Bact.* **31**, 75–88 (1968).
29. *Ohye, D. R. and Scott, W. J.*: Studies in the physiology of *Clostridium botulinum*, type E. *Aust. J. Biol. Sci.* **10**, 85–94 (1957).
30. *Dolman, C. E., Tomsich, M., Campbell, C. C. R. and Laing, W. B.*: Fish eggs as a cause of human botulism. *J. Infec. Dis.* **106**, 5–19, 1960.
31. *Segner, W. P., Schmidt, C. F. and Boltz, J. K.*: Effect of sodium chloride and pH on the outgrowth of spores of type E *Clostridium botulinum* at optimal and suboptimal temperatures. *Appl. Microbiol.* **14**, 49–54 (1966).
32. *Lund, B. M., Wyatt, G. M. and Graham, A. F.*: The combined effect of low temperature and low pH on survival of, and growth and toxin formation from spores of *Clostridium botulinum*. *Food Microbiol.* **2**, 135–145 (1985).
33. *Schmidt, C. F., Lechowich, R. V. and Folinazzo, J. F.*: Growth and toxin production by type E *Clostridium botulinum* below 40 °F. *J. Food Sci.* **26**, 626–630 (1961).
34. *Baker, D. A. and Genigeorgis, C.*: *Clostridium botulinum* in fresh fish stored under modified atmospheres. Use of predictive modeling in quantifying the risk of toxicity in this and other new generation refrigerated foods. *J. Food Prot.* **52**, 750 (1989) (Abstr.).
35. *Ajmal, M.*: *Clostridium botulinum* type E: growth and toxin production in food. *J. appl. Bact.* **31**, 124–132 (1968).
36. *Patel, H. R., Patel, P. C. and York, G. K.*: Growth and toxicogenesis of *Clostridium botulinum* type E on marine molluscs at low temperatures. *J. Food Sci. India* **15**, 231–235 (1978).
37. *Cockey, R. R. and Tatro, M. C.*: Survival studies with spores of *Clostridium botulinum* type E in pasteurized meat of the blue crab *Callinectes sapidus*. *Appl. Microbiol.* **27**, 629–633 (1974).
38. *Cann, D. C., Wilson, B. B., Hobbs, G. and Shewan, J. M.*: The growth and toxin production of *Clostridium botulinum* type E in certain vacuum packed fish. *J. appl. Bact.* **28**, 431–436 (1965).

39. Dehof, E., Greuel, E. und Kraemer, J.: Zur Tenazität von *Clostridium botulinum* Typ E in heissgeräucherten, vakuumverpackten Forellen-Filets. Arch. Lebensmittelhyg. **40**, 25–48 (1989).
40. Garcia, G. W., Genigeorgis, C. and Lindroth, S.: Risk of growth and toxin production by *Clostridium botulinum* nonproteolytic types B, E and F in salmon fillets stored under modified atmospheres at low and abused temperatures. J. Food Prot. **50**, 330–336 (1987).
41. Luecke, F. K., Hechelmann, H. and Leistner, L.: The relevance to meat products of psychrotrophic strains of *Clostridium botulinum*. In: Roberts, T. A., Hobbs, G., Christian, J. H. B. and Skovgaard, N. (eds.), Psychrotrophic microorganisms in spoilage and pathogenicity, p. 491–497. Academic Press, London 1981.
42. Kautter, D. A.: *Clostridium botulinum* type E in smoked fish. J. Food Sci. **29**, 843–849 (1964).
43. Huss, H. H., Schaeffer, I., Rye Petersen, E. and Cann, D. C.: Toxin production by *Clostridium botulinum* type E in fresh herring in relation to the measured oxidation potential (Eh). Nord. Vet.-Med. **31**, 81–86 (1979).
44. Cann, D. C., Wilson, B. B., Shewan, J. M., Roberts, T. A. and Rhodes, D. N.: A comparison of toxin production by *Clostridium botulinum* type E in irradiated and unirradiated vacuum packed fish. J. appl. Bact. **29**, 540–548 (1966).
45. Pace, P. J., Wisniewski, H. J. and Angelotti, R.: Sensitivity of an enrichment culture procedure for detection of *Clostridium botulinum* type E in raw and smoked whitefish chubs. Appl. Microbiol. **16**, 673–679 (1968).
46. Siegel, L. S. and Metzger, J. F.: Toxin production by *Clostridium botulinum* type A under various fermentation conditions. Appl. Environ. Microbiol. **38**, 606–611 (1979).
47. Sperber, W. H.: Requirements of *Clostridium botulinum* for growth and toxin production. Food Technol. **36** (12), 387–393 (1987).
48. Lynt, R. K., Kautter, D. A. and Solomon, H. M.: Differences and similarities among proteolytic and nonproteolytic strains of *Clostridium botulinum* types A, B, E and F: A review. J. Food Prot. **45**, 466–474 (1982).
49. Tanner, F. W. and Oglesby, E. W.: Influence of temperature on growth and toxin production by *Clostridium botulinum*. Food Res. **6**, 481–486 (1941).
50. Simunovic, J., Oblinger, J. L. and Adams, J. P.: Potential for growth of nonproteolytic types of *Clostridium botulinum* in pasteurized restructured meat products: A review. J. Food Prot. **48**, 265–276 (1985).
51. Hobbs, G.: The ecology and taxonomy of psychrotrophic strains of *Clostridium botulinum*. In: Roberts, T. A., Hobbs, G., Christian, J. H. B., Skovgaard, N. (eds), Psychrotrophic microorganisms in spoilage and pathogenicity, p. 449–462. Academic Press, London 1981.
52. Huss, H. H.: The ecology of *Clostridium botulinum*, type E. In: Roberts, T. A., Hobbs, G., Christian, J. H. B. and Skovgaard, N. (eds). Psychrotrophic microorganisms in spoilage and pathogenicity, p. 463–473. Academic Press, London 1981.
53. Schmitt, M., Schuler-Schmid, U. and Schmidt-Lorenz, W.: Temperature limits of growth, TNase- and enterotoxin production of *Staphylococcus aureus* strains isolated from foods. Int. J. Food Microbiol. **10** (1990) (in press).
54. Walker, G. C. and Harmon, L. G.: The growth and persistence of *Staphylococcus aureus* in milk and broth substrates. J. Food Sci. **30**, 351–358 (1965).
55. Notermans, S. and Heuvelmann, C. J.: Combined effect of water activity, pH and sub-optimal temperature on growth and enterotoxin production of *Staphylococcus aureus*. J. Food Sci. **48**, 1832–1840 (1983).

56. Scheusner, D. L., Hood, L. L. and Harmon, L. G.: Effect of temperature and pH on growth and enterotoxin production by *Staphylococcus aureus*. J. Milk, Food Technol. **36**, 249–251 (1973).
57. Hojvat, S. A. and Jackson, H.: Effects of sodium chloride and temperature on the growth and production of enterotoxin B by *Staphylococcus aureus*. J. Can. Inst. Food Technol. **2**, 56–59 (1969).
58. Iandolo, J. J., Ordal, Z. J. and Witter, L. D.: The effect of incubation temperature and controlled pH on the growth of *Staphylococcus aureus* MF 31 at various concentrations of NaCl. Can. J. Microbiol. **10**, 808–811 (1964).
59. Farrell, G. M. and Upton, M. E.: The effect of low temperature on the growth and survival of *Staphylococcus aureus* and *Salmonella typhimurium* when inoculated on to bacon. J. Food Technol. **13**, 15–23 (1978).
60. Angelotti, R., Foter, M. J. and Lewis, K. H.: Time-temperature effects on *Salmonellae* and *Staphylococci* in foods. Am. J. Public Health **51**, 76–88 (1961).
61. George, E. jr. and Olson, J. C. jr.: Growth of staphylococci in condensed skim milk at low and moderate temperatures. J. Dairy Sci. **43**, 852 (1960).
62. Tatini, S. R., Soo, H. M., Cords, B. R. and Bennett, R. W.: Heatstable nuclease for assessment of staphylococcal growth and likely presence of enterotoxins in foods. J. Food Sci. **40**, 352–355 (1975).
63. Berry, B. W., Leddy, K. F. and Rothenberg, C. A.: A research note: Survival and growth of *Staphylococcus aureus* on temperature-abused beef livers. J. Food Prot. **47**, 260–262 (1984).
64. Paul, M. E. and Potter, N. N.: Bacterial growth in whole egg and egg substitutes including inoculation with *Staphylococcus aureus* and *Clostridium perfringens*. J. Food Sci. **43**, 803–806 (1978).
65. Yang, X., Board, R. G. and Mead, G. C.: Influence of spoilage flora and temperature on growth of *Staphylococcus aureus* in turkey meat. J. Food Prot. **51**, 303–309 (1988).
66. Dempster, J. F. and Kelly, W. R.: The fate of a toxigenic strain of *Staphylococcus aureus* in vacuum-packaged bacon. J. Hyg., Camb. **71**, 565–575 (1973).
67. Schmitt, M.: Temperaturabhängigkeit der Enterotoxinbildung bei *Staphylococcus aureus*. Diss. ETH-Nr. 8230 (1987).
68. Vandenbosch, L. I., Fung, D. Y. C. and Widomski, M.: Optimum temperature for enterotoxin production by *Staphylococcus aureus* S-6 and 137 in liquid medium. Appl. Microbiol. **25**, 498–500 (1973).
69. Marland, R. E.: The effects of several environmental factors on the growth and enterotoxigenicity of S-6 *Staphylococcus aureus*. Diss. Abstr. **27**, 3165 (1967).
70. McLean, R., Lilly, H. D. and Alford, J. A.: Effects of meat-curing salts and temperature on production of staphylococcal enterotoxin B1. J. Bact. **95**, 1207–1211 (1968).
71. Segalove, M. and Dack, G. M.: Relation of time and temperature to growth and enterotoxin production of staphylococci. Food Res. **6**, 127–133 (1941).
72. Dietrich, G. G., Watson, R. J. and Silverman, G. J.: Effect of shaking speed on the secretion of enterotoxin B by *Staphylococcus aureus*. Appl. Microbiol. **24**, 561–566 (1972).
73. Pereira, J. L., Salzberg, S. P. and Bergdoll, M. S.: Effect of temperature, pH and sodium chloride concentrations on production of staphylococcal enterotoxins A and B. J. Food Prot. **45**, 1306–1309 (1982).
74. Niskanen, A.: Release of enterotoxin A and thermonuclease from growing and non-growing cells of *Staphylococcus aureus*. J. Food Safety **1**, 119–128 (1977).
75. Genigeorgis, C., Riemann, H. and Sadler, W. W.: Production of enterotoxin-B in cured meats. J. Food Sci. **34**, 62–68 (1969).

76. Göckler, L., Notermans, S. and Kraemer, J.: Production of enterotoxins and thermonuclease by *Staphylococcus aureus* in cooked egg-noodles. *Int. J. Food Microbiol.* **6**, 127–139 (1988).
77. Scheusner, D. L. and Harmon, L. G.: Growth and enterotoxin production by various strains of *Staphylococcus aureus* in selected foods. *J. Food Sci.* **38**, 474–476 (1973).
78. Donnelly, C. B., Leslie, J. E. and Black, L. A.: Production of enterotoxin A in milk. *Appl. Microbiol.* **16**, 914–924 (1968).
79. Lee, R. Y., Silverman, G. J. and Munsey, D. T.: Growth and enterotoxin A production by *Staphylococcus aureus* in precooked bacon in the intermediate moisture range. *J. Food Sci.* **46**, 1687–1700 (1981).
80. Herten, B., Board, R. G. and Mead, G. C.: Conditions affecting growth and enterotoxin production by *Staphylococcus aureus* on temperature-abused chicken meat. *Letters Appl. Microbiol.* **9**, 145–148 (1989).
81. Halpin-Dobnialek, M. I. and Marth, E. H.: Growth and production of Enterotoxin A by *Staphylococcus aureus* in cream. *J. Dairy Sci.* **72**, 2266–2275 (1989).
82. Bennett, T. R. W. and Amos, W. T.: *Staphylococcus aureus* growth and toxin production in nitrogen-packed sandwiches. *J. Food Prot.* **45**, 157–161 (1981).
83. Coghill, D. and Juffs, H. S.: Incidence of psychrotrophic sporeforming bacteria in pasteurised milk and cream products and effect of temperature on their growth. *Austr. J. Dairy Technol.*, 150–153 (1979).
84. Bonde, G. J.: Phenetic affiliation of psychrotrophic *Bacillus*. In: Roberts, T. A., Hobbs, G., Christian, J. H. B. and Skovgaard, N. (eds.), *Psychrotrophic microorganisms in spoilage and pathogenicity*, p. 39–54. Academic Press, London 1981.
85. Shehata, T. E., Duran, A. and Collins, E. B.: Influence of temperature on the growth of psychrophilic strains of *Bacillus*. *J. Dairy Sci.* **54**, 1579–1582 (1971).
86. Chung, B. H., Cannon, R. Y. and Smith, R. C.: Influence of growth temperature on glucose metabolism of a psychrotrophic strains of *Bacillus cereus*. *Appl. Environ. Microbiol.* **31**, 39–45 (1976).
87. Mol, J. H. H.: The temperature characteristics of spore germination and growth of *Bacillus cereus*. *J. appl. Bact.* **20**, 454–459 (1957).
88. Johnson, K. M., Nelson, C. L. and Busta, F. F.: Influence of temperature on germination and growth of spores of emetic and diarrheal strains of *Bacillus cereus* in a broth medium and in rice. *J. Food Sci.* **48**, 286–287 (1983).
89. Christiansson, A., Naidu, S., Nilson, I., Wadstroem, T. and Petterson, H.-E.: Toxin production by *Bacillus cereus* dairy isolates in milk at low temperatures. *Appl. Environ. Microbiol.* 2595–2600 (1989).
90. Gilbert, R. J., Stringer, M. F. and Peace, T. C.: The survival and growth of *Bacillus cereus* in boiled and fried rice in relation to outbreaks of food poisoning. *J. Hyg. Camb.* **73**, 433–444 (1974).
91. Craven, S. E.: Growth and sporulation of *Clostridium perfringens* in foods. *Food Technol.* April, 80–87 (1980).
92. Mead, G. C.: Growth and sporulation of *Clostridium welchii* in breast and leg of muscle of poultry. *J. appl. Bacteriol.* **32**, 86–95 (1969).
93. Gibson, A. M. and Roberts, T. A.: The effect of pH, sodium chloride, sodium nitrite and storage temperature on the growth of *Clostridium perfringens* and faecal streptococci in laboratory media. *Int. J. Food Microbiol.* **3**, 195–210 (1986).
94. Rey, C. R., Walker, H. W. and Rohrbaugh, P. L.: The influence of temperature on growth, sporulation and heat resistance of spores of six strains of *Clostridium perfringens*. *J. Milk Food Technol* **38**, 461–465 (1975).

95. Barnes, E. M., Despaul, J. E. and Ingram, M.: The behaviour of a food poisoning strain of *Clostridium welchii* in beef. J. appl. Bact. **26**, 415–427 (1963).
96. Park, Y. and Mikolajcik, E. M.: Effect of temperature on growth and alpha toxin production by *Clostridium perfringens*. J. Food Prot. **42**, 848–851 (1979).
97. Solberg, M. and Elkind, B.: Effect of processing and storage conditions on the microflora of *Clostridium perfringens* – inoculated frankfurters. J. Food Sci. **35**, 126–129 (1970).
98. Hall, H. E. and Angelotti, R.: *Clostridium perfringens* in meat and meat products. Appl. Microbiol. **13**, 352–357 (1965).
99. Strong, D. H. and Ripp, N. M.: Effect of cookery and holding on hams and turkey rolls contaminated with *Clostridium perfringens*. Appl. Microbiol. **15**, 1172–1177 (1967).
100. Goepfert, J. M. and Kim, H. Ü.: Behaviour of selected food-borne pathogens in raw ground beef. J. Milk Food Technol. **38**, 449–454 (1975).
101. Mossel, D. A. A., Jansma, M. and Waart, J.: Growth potential of 114 strains of epidemiologically most common salmonellae and arizonae between 3 and 17 °C. In: Roberts, T. A., Hobbs, G., Christian, J. H. B. and Skovgaard N. (eds.), Psychrotrophic microorganisms in spoilage and pathogenity, p. 29–37. Academic Press, London 1981.
- 101a. Bomar, M. T. und Hajek, M. Z.: Vorkommen von Salmonellen in kühl gelagerten Schlachthühnern. Arch. Lebensmittelhyg. **28**, 201–240 (1977).
- 101b. To, E. C. and Roback, M. C.: Potassium sorbate dip as a method of extending shelf life and inhibiting the growth of *Salmonella* and *Staphylococcus aureus* on fresh, whole broilers. Poultry Sci. **59**, 726–730 (1980).
- 101c. Sinell, H.-J. and Siems, H.: Vorkommen von Salmonellen in kühl gelagerten Schlachthühnern. Arch. Lebensmittelhyg. **29**, 41–80 (1978).
102. Matches, J. R. and Liston, J.: Effect of pH on low temperature growth of *Salmonella*. J. Milk Food Technol. **35**, 49–52 (1972).
103. Matches, J. R. and Liston, J.: Low temperature growth of *Salmonella*. J. Food Sci. **33**, 614–645 (1968).
104. Petzold, G. und Scheibner, G.: Das Wachstumsspektrum von Salmonellen. Monatshefte Veterinärmedizin **20**, 103–107 (1965).
105. Elliot, R. P.: Temperature-gradient incubator for determining the temperature range of growth of microorganisms. J. Bact. **85**, 889–894 (1962).
106. Matches, J. R. and Liston, J.: Effects of incubation temperature on the salt tolerance of *Salmonella*. J. Milk Food Technol. **35**, 39–44 (1972).
107. Jobne, H.: Die Vermehrung der Salmonellen bei tiefen Temperaturen. Vet. med. Diss. München 1961.
108. Stokes, J. L., Osborne, W. W. and Bayne, H. G.: Penetration and growth of *Salmonella* in shell eggs. Food Res. **21**, 510–518 (1956).
109. Alford, J. A. and Palumbo, S. A.: Interaction of salt, pH, and temperature on the growth and survival of salmonellae in ground pork. Appl. Microbiol. **17**, 528–532 (1969).
110. Gibson, A. M. and Roberts, T. A.: The effect of pH, water activity, sodium nitrite and storage temperature on the growth of enteropathogenic *Escherichia coli* and salmonellae in a laboratory medium. Int. J. Food Microbiol. **3**, 183–194 (1986).
111. Park, H. S. and Marth, E. H.: Inactivation of *Salmonella typhimurium* by sorbic acid. J. Milk Food Technol. **35**, 532–539 (1972).
112. Wundt, W. und Schittenhelm, P.: Das Verhalten von Salmonellen und Staphylokokken in gekühlten Nahrungsmitteln. Arch. Hyg. **149**, 567–572 (1969).



113. *Catsaras, M. et Grebot, D.*: Multiplication des *Salmonella* dans la viande hachée. Bull. Acad. Vét. de France **57**, 501–512 (1984).
- 113a. *Catsaras, M.*: Growth of *Salmonella* in minced meat at low temperatures. In: Roberts, T. A., Hobbs, G., Christian, J. H. B. and Skovgaard, N. (eds.), Psychrotrophic microorganisms in spoilage and pathogenity, p. 275–278. Academic Press, London 1981.
114. *Matches, J. R. and Liston, J.*: Growth of salmonellae on irradiated and non-irradiated seafoods. J. Food Sci. **33**, 406–410 (1968).
115. *Schmidt, U.*: Vorkommen und Verhalten von Salmonellen im Hackfleisch vom Schwein. Fleischwirtschaft **68**, 43–45 (1988).
116. *Shaw, M. K. and Nicol, D. J.*: Effect of the gaseous environment on the growth on meat of some food poisoning and food spoilage organisms. In: 15th European Meeting of Meat Research Workers, Helsinki, Finland, 226–232 (1969).
- 116a. *Schmidt, U.*: Salmonellen in fein zerkleinerten Bratwürsten. Fleischwirtsch. **69**, 1251–1257 (1989).
117. *Mackey, B. M. and Kerridge, A. L.*: The effect of incubation temperature and inoculum size on growth of salmonellae in minced beef. Int. J. Food Microbiol. **6**, 51–65 (1988).
118. *Mackey, B. M., Roberts, T. A., Mansfield, J. and Farkas, G.*: Growth of *Salmonella* on chilled meat. J. Hyg. Camb. **85**, 115–123 (1980).
119. *Smith, M. G.*: The generation time, lag time, and minimum temperature of growth of coliform organisms on meat, and the implications for codes of practice in abattoirs. J. Hyg. Camb. **94**, 289–300 (1985).
120. *Ayres, J. C. and Taylor, B.*: Effect of temperature on microbial proliferation in shell eggs. Appl. Microbiol. **4**, 355–359 (1956).
121. *Banwart, G. J.*: Effect of sodium chloride and storage temperature on the growth of *Salmonella oranienburg* in egg yolk. Poultry Sci. **43**, 973–976 (1964).
122. *Davidson, C. M. and Witty, J. K.*: Fate of salmonellae in vacuum-packaged ground meat during storage and subsequent cooking. J. Inst. Can. Sci. Technol. Aliment. **10**, 223–225 (1977).
123. *Gibbons, N. E., Moore, R. L. and Fulton, C. O.*: Dried whole egg powder. XV. The growth of *Salmonella* and other organisms in liquid and reconstituted egg. Canad. J. Chem. Eng. **22**, 169–173 (1944).
124. *Davidson, C. M. and Webb, G.*: The behaviour of salmonellae in vacuum-packaged cooked cured meat products. J. Inst. Can. Sci. Technol. Aliment. **6**, 41–44 (1973).
125. *Tiwari, N. P. and Maxcy, R. B.*: Comparative growth of salmonellae, coliforms and other members of the microflora of raw and radurized ground beef. J. Milk Technol. **35**, 455–460 (1972).
126. *Goepfert, J. M. and Chung, K. C.*: Behaviour of salmonellae in sliced luncheon meats. Appl. Microbiol. **19**, 190–192 (1970).
127. *Sulzbacher, W. L.*: Effect of freezing and thawing on the growth rate of bacteria in ground meat. Food Technol. **6**, 341–343 (1952).
128. *Doyle, M. P. and Schoeni, J. L.*: Survival and growth characteristics of *Escherichia coli* associated with hemorrhagic colitis. Appl. Environ. Microbiol. **48**, 855–856 (1984).
129. *Olsvik, O., Hushovd, O. T., Berdal, B. P., Bergan, T. and Mathiesen, M.*: Production of enterotoxin by *Escherichia coli* at four, twenty-two and thirty-seven degrees centigrade. Eur. J. Clin. Microbiol. **1**, 12–16 (1982).
130. *Olsvik, O. and Kapperud, G.*: Enterotoxin production in milk at 22 and 4 °C by *Escherichia coli* and *Yersinia enterocolitica*. Appl. Environ. Microbiol. **43**, 997–1000 (1982).

131. *Sims, G. R., Glenister, D. A., Brocklehurst, T. F. and Lund, B. M.*: Survival and growth of food poisoning bacteria following inoculation into cottage cheese varieties. *Int. J. Food Microbiol.* **9**, 173–195 (1989).
132. *Schmidt-Lorenz, W. und Schuler, U.*: Unveröffentlichte Ergebnisse (1990).
133. *Hughes, A. H. and McDermott, J. C.*: The effect of phosphate, sodium chloride, sodium nitrite, storage temperature and pH on the growth of enteropathogenic *Escherichia coli* in a laboratory medium. *Int. J. Food Microbiol.* **9**, 215–233 (1989).
- 133a. *Lovett, J., Bisha, J. M. and Spaulding, P.L.*: *Escherichia coli* enterotoxin production in beef broth at 15 to 50 °C. *J. Food Prot.* **42**, 838 Abstr. (1979).
134. *Beuchat, L. R.*: Interacting effects of pH, temperature, and salt concentration on growth and survival of *Vibrio parahaemolyticus*. *Appl. Microbiol.* **25**, 844–846 (1973).
135. *Vanderzant, C. and Nickelson, R.*: Survival of *Vibrio parahaemolyticus* in shrimp tissue under various environmental conditions. *Appl. Microbiol.* **23**, 34–37 (1972).
136. *Covert, D. and Woodburn, M.*: Relationships of temperature and sodium chloride concentration to the survival of *Vibrio parahaemolyticus* in broth and fish homogenate. *Appl. Microbiol.* **23**, 321–325 (1972).
137. *Thomson, W. K. and Thacker, C. L.*: Effect of temperature on *Vibrio parahaemolyticus* in oyster at refrigerator and deep freeze temperatures. *J. Inst. Can. Sci. Technol. Aliment.* **6**, 156–158 (1973).
138. *Johnson, H. C. and Liston, J.*: Sensitivity of *Vibrio parahaemolyticus* to cold in oysters, fish fillets and crabmeat. *J. Food Sci.* **38**, 437–440 (1973).
139. *Bradshaw, J. G., Francis, D. W. and Twedt, R. M.*: Survival of *Vibrio parahaemolyticus* in cooked seafood at refrigeration temperatures. *Appl. Microbiol.* **27**, 657–661 (1974).
140. *Rouf, M. A. and Rigney, M. M.*: Growth temperatures and temperature characteristics of *Aeromonas*. *Appl. Microbiol.* **22**, 503–506 (1971).
141. *Schubert, R. H. W.*: Zur Ökologie von *Plesiomonas shigelloides*. *Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. B* **172**, 528–533 (1981).
142. *Miller, M. L.*: *Plesiomonas shigelloides*: A food and waterborne pathogen. M. S. Thesis, University of Florida, Gainesville, Fl. 1985.
143. *Walker, S. J. and Stringer, M. F.*: Growth of *Listeria monocytogenes* and *Aeromonas hydrophila* at chill temperatures. *J. appl. Bact.* **63**, XX (1987) (Abstr.).
- 143a. *Junttila, J. R., Niemela, S. I. and Hirn, J.*: Minimum growth temperatures of *Listeria monocytogenes* and non-haemolytic listeria. *J. Appl. Bact.* **65**, 321–327 (1988).
144. *Schubert, R. H. W.*: Experimentelle Untersuchungen über die für die Massenentwicklung der Aeromonaden in Abwasser wichtigen Faktoren. *Arch. Hyg.* **151**, 409–436 (1967).
145. *Palumbo, S. A. and Buchanan, R. L.*: Effect of temperature and NaCl on the growth of enterotoxigenic *Aeromonas hydrophila*. *Abstr. Ann. Meeting, Inst. Food Technol.* **44**, 210 (1984).
146. *Palumbo, S. A., Morgan, D. R. and Buchanan, R. L.*: Influence of temperature, NaCl, and pH on the growth of *Aeromonas hydrophila*. *J. Food Sci.* **50**, 1417–1421 (1985).
147. *Majeed, K. N., Egan, A. F. and MacRae, I. C.*: Incidence of Aeromonads in samples from an abattoir processing lambs. *J. Appl. Bact.* **67**, 597–604 (1989).
148. *Callister, S. M. and Agger, W. A.*: Enumeration and characterization of *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas caviae* isolated from grocery store produce. *Appl. Environ. Microbiol.* **53**, 249–253 (1987).
149. *Knöchel, S.*: Effect of temperature on hemolysin production in *Aeromonas* spp. isolated from warm and cold environments. *Int. J. Food Microbiol.* **9**, 225–235 (1989).

150. Gill, C. O. and Reichel, P.: Growth of the cold-tolerant pathogens *Yersinia enterocolitica*, *Aeromonas hydrophila* and *Listeria monocytogenes* on high-pH beef packaged under vacuum or carbon dioxide. *Food Microbiol.* **6**, 223–230 (1989).
151. Berrang, M. E., Brackett, R. E. and Beuchat, L. R.: Growth of *Aeromonas hydrophila* on fresh vegetables stored under a controlled atmosphere. *Appl. Environ. Microbiol.* **55**, 2167–2171 (1989).
152. Palumbo, S. A.: The growth of *Aeromonas hydrophila* K 144 in ground pork at 5 °C. *Int. J. Food Microbiol.* **7**, 41–48 (1988).
- 152a. Palumbo, S. A., Maxino, F., Williams, A. C., Buchanan, R. L. and Thayer, D. W.: Starch-Ampicillin agar for the quantitative detection of *Aeromonas hydrophila*. *Appl. Environ. Microbiol.* **50**, 1027–1030 (1985).
153. Grau, F. H.: Role of pH, lactate, and anaerobiosis in controlling the growth of some fermentative gram-negative bacteria on beef. *Appl. Environ. Microbiol.* **42**, 1043–1050 (1981).
154. Buckeridge, S. A., Seaman, A. and Woodbine, M.: Effects of temperature and carbohydrate on the growth and survival of *Yersinia enterocolitica*. In: Gould, G. W. and Corry, J. E. (eds), *Microbial growth and survival in extremes of environment*, p. 205–214. Academic Press, London 1980.
155. Stern, N. J., Pierson, M. D. and Kotula, A. W.: Effects of pH and sodium chloride on *Yersinia enterocolitica*. Growth at room and refrigeration temperatures. *J. Food Sci.* **45**, 64–67 (1980).
156. Tsay, W. I. and Chou, C. C.: Influence of potassium sorbate on the growth of *Yersinia enterocolitica*. *J. Food Prot.* **52**, 723–726 (1989).
157. Kapperud, G.: Enterotoxin production at 4 °C, 22 °C, and 37 °C among *Yersinia enterocolitica* and *Y. enterocolitica*-like bacteria. *Acta Path. Microbiol. Scand. Sect. B* **90**, 185–189 (1982).
158. Nilehn, B.: Studies on *Yersinia enterocolitica* with special reference to bacterial diagnosis and occurrence in human acute enteric disease. *Acta Pathol. Microbiol. Scand. Suppl.* **206**, 1–48 (1969).
159. Pee, W. van and Stragier, J.: Evaluation of some cold enrichment and isolation media for the recovery of *Yersinia enterocolitica*. *Antonie Leeuwenhoek* **45**, 465–477 (1979).
160. Hughes, D.: Isolation of *Yersinia enterocolitica* from milk and a dairy farm in Australia. *J. appl. Bact.* **46**, 125–130 (1979).
161. Kendall, M. and Gilbert, R. J.: Survival and growth of *Yersinia enterocolitica* in broth media and in food. In: Gould, G. W. and Corry, J. E. (eds.), *Microbial growth and survival in extremes of environment*, p. 215–226. Academic Press, London 1980.
162. Kapperud, G. and Langeland, G.: Enterotoxin production at refrigeration temperature by *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia enterocolitica*-like bacteria. *Current Microbiol.* **5**, 119–122 (1981).
163. Stern, N. J. and Pierson, M. D.: *Yersinia enterocolitica*: A review of the psychrotrophic water and foodborne pathogen. *J. Food Sci.* **44**, 1736–1742 (1979).
164. Hellmann, E. und Heinrich, G.: Vermehrungsstudien an zwei virulenz-plasmidtragenden *Yersinia enterocolitica*-Stämmen nach Kontamination von erhitzter Milch, rohem Schweinehackfleisch und Vegetabilien. *Zbl. Bakt. Hyg. B* **182**, 1–16 165 (1985).
165. Francis, D. W., Spaulding, P. L. and Lovett, J.: Enterotoxin production and thermal resistance of *Yersinia enterocolitica* in milk. *Appl. Environ. Microbiol.* **40**, 174–176 (1980).
166. Amin, M. K. and Draughon, F. A.: Growth characteristics of *Yersinia enterocolitica* in pasteurized skim milk. *J. Food Prot.* **50**, 849–852 (1987).

167. Highsmith, A. K., Feeley, J. C., Skaliy, P., Wells, J. G. and Wood, B. T.: Isolation of *Yersinia enterocolitica* from well water and growth in distilled water. *Appl. Environ. Microbiol.* **34**, 745–750 (1977).
168. Hanna, M. O., Stewart, J. C., Zink, D. L., Carpenter, Z. L. and Vanderzant, C.: Development of *Yersinia enterocolitica* on raw and cooked beef and pork at different temperatures. *J. Food Sci.* **42**, 1180–1184 (1977).
169. Leistner, L., Hechelmann, H., Kashiwazaki, M. und Albertz, R.: Nachweis von *Yersinia enterocolitica* in Faeces und Fleisch von Schweinen, Rindern und Geflügel. *Fleischwirtschaft* **55**, 1599–1602 (1975).
170. Peixotto, S. S., Finne, G., Hanna, M. O. and Vanderzant, C.: Presence, growth and survival of *Yersinia enterocolitica* in oysters, shrimp and crab. *J. Food Prot.* **42**, 974–981 (1979).
171. Kleinlein, N. and Untermann, F.: Growth of pathogenic *Yersinia enterocolitica* strains in minced meat with and without protective gas with consideration of the competitive background flora. *Int. J. Food Microbiol.* **10**, 65–72 (1990).
- 171a. Asakawa, Y., Akahane, S., Shiozawa, K. and Honma, T.: Investigations of source and route of *Yersinia enterocolitica* infection. *Contr. Microbiol. Immunol.* **5**, 115–121 (1979).
172. Fukushima, H. and Gomyoda, M.: Inhibition of *Yersinia enterocolitica* serotype 03 by natural microflora of pork. *Appl. Environ. Microbiol.* **43**, 990–994 (1986).
173. Wilkins, P. O., Bourgeois, R. and Murray, R. G. E.: Psychrotrophic properties of *Listeria monocytogenes*. *Can. J. Microbiol.* **18**, 543–551 (1972).
174. George, S. M., Lund, B. L. and Brocklehurst, T. F.: The effect of pH and temperature on initiation of growth of *Listeria monocytogenes*. *Letters Appl. Microbiol.* **6**, 153–156 (1988).
175. El-Shenawy, M. A. and Marth, E. H.: Inhibition and inactivation of *Listeria monocytogenes* by sorbic acid. *J. Food Prot.* **51**, 842–847 (1988).
176. El-Shenawy, M. A. and Marth, E. H.: Behaviour of *Listeria monocytogenes* in the presence of sodium propionate. *Int. J. Food Microbiol.* **8**, 85–94 (1989).
177. Farber, J. M., Sanders, G. W., Dunfield, S. and Prescott, R.: The effect of various acidulants on the growth of *Listeria monocytogenes*. *Letters Appl. Microbiol.* **9**, 181–183 (1989).
178. Hof, H., Seeliger, H. P. R., Schrettenbrunner, A. and Chatzipanagiotou, S.: The role of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria spp.* in foodborne infections. In: 2nd World Congress Foodborne Infections and Intoxications May 26–30th, Proceedings, 1986.
179. Ahamad, N. and Marth, E. H.: Behaviour of *Listeria monocytogenes* at 7, 13, 21 and 35 °C in tryptose broth acidified with acetic, citric or lactic acid. *J. Food Prot.* **52**, 688–695 (1989).
180. Donnelly, C. W. and Briggs, E. H.: Psychrotrophic growth and thermal inactivation of *Listeria monocytogenes* as a function of milk composition. *J. Food Prot.* **49**, 994–998 (1986).
181. Rosenow, E. M. and Marth, E. H.: Growth of *Listeria monocytogenes* in skim, whole and chocolate milk, and in whipping cream during incubation at 4, 8, 13, 21 and 35 °C. *J. Food Prot.* **50**, 452–459 (1987).
182. Buchanan, R. L., Stahl, H. G. and Archer, D. L.: Improved plating media for simplified, quantitative detection of *Listeria monocytogenes* in foods. *Food Microbiol.* **4**, 269–275 (1987).

183. Denis, F. and Ramet, J.-P.: Antibacterial activity of the lactoperoxidase system on *Listeria monocytogenes* in trypticase soy broth, UHT milk and french soft cheese. J. Food Prot. **52**, 706–711 (1989).
184. Papageorgiou, D. K. and Marth, E. H.: Behaviour of *Listeria monocytogenes* at 4 °C and 22 °C in whey and skim milk containing 6 or 12% sodium chloride. J. Food Prot. **52**, 625–630 (1989).
185. Terplan, G., Schön, R., Springmeyer, W., Degle, I. und Becker, H.: Vorkommen, Verhalten und Bedeutung von Listerien in Milch und Milchprodukten. Arch. Lebensmittelhyg. **37**, 129–156 (1986).
186. Ryser, E. T. and Marth, E. H.: Growth of *Listeria monocytogenes* at different pH values in uncultured whey or whey cultured with *Penicillium camemberti*. Can. J. Microbiol. **34**, 730–733 (1987).
187. Olsen, J. A., Yousef, A. E. and Marth, E. H.: Growth and survival of *Listeria monocytogenes* during making and storage of butter. Milchwissenschaft **43**, 487–489 (1988).
188. Ryser, E. T. and Marth, E. H.: Fate of *Listeria monocytogenes* during the manufacture and ripening of camembert cheese. J. Food Prot. **50**, 372–378 (1987).
189. Marshall, D. L. and Schmidt, R. H.: Growth of *Listeria monocytogenes* at 10 °C in milk preincubated with selected pseudomonads. J. Food Prot. **51**, 277–282 (1988).
190. Grau, F. H. and Vanderlinde, P. B.: Growth of *Listeria monocytogenes* on vacuum packaged beef. Proceedings 34th International Congress of Meat Science and Technology, held Aug. 2 – Sept. 2 at Brisbane, Australia, Part B., p. 518–519 (1988).
191. Khan, M. A., Palmas, C. V., Seaman, A. and Woodbine, M.: Survival versus growth of a facultative psychrotroph. Acta Microbiol. Acad. Sci. hung. **19**, 357–362 (1972).
192. Khan, M. A., Palmas, C. V., Seaman, A. and Woodbine, M.: Survival versus growth of a facultative psychrotroph in meat and products of meat. Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. B **157**, 277–282 (1973).
193. Carpenter, S. A. and Harrison, M. A.: Survival of *Listeria monocytogenes* on processed poultry. J. Food Sci. **54**, 556–557 (1989).
194. Harrison, M. A. and Carpenter, S. L.: Survival of large populations of *Listeria monocytogenes* on chicken breasts processed using moist heat. J. Food Prot. **52**, 376–378 (1989).
195. Berrang, M. E., Brackett, R. E. and Beuchat, L. R.: Growth of *Listeria monocytogenes* on fresh vegetables stored under controlled atmosphere. J. Food Prot. **52**, 702–705 (1989).
196. Beuchat, L. R., Brackett, R. E., Hao, D. Y. Y. and Conner, D. E.: Growth and thermal inactivation of *Listeria monocytogenes* in cabbage and cabbage juice. Can. J. Microbiol. **32**, 791–795 (1986).
197. Glass, K. A. and Doyle, M. P.: Fate of *Listeria monocytogenes* in processed meat products during refrigerated storage. Appl. Environ. Microbiol. **55**, 1565–1569 (1989).
198. Hao, D. Y.-Y., Beuchat, L. R. and Brackett, R. E.: Comparison of media and methods for detecting and enumerating *Listeria monocytogenes* in refrigerated cabbage. Appl. Environ. Microbiol. **53**, 955–957 (1987).
199. Gouet, Ph., Labadie, J. and Serratore, C.: Development of *Listeria monocytogenes* in monoxenic and polyxenic beef minces. Zbl. Bakt. Hyg. B **166**, 87–94 (1978).
200. Kaya, M. und Schmidt, U.: Verhalten von *Listeria monocytogenes* im Hackfleisch bei Kühl- und Gefrierlagerung. Fleischwirtsch. **69**, 617–620 (1989).
201. Trüssel, M. und Jemmi, Th.: Das Verhalten von *Listeria monocytogenes* während der Reifung und Lagerung von künstlich kontaminierter Salami und Mettwurst. Fleischwirtsch. **69**, 1586–1592 (1989).

202. Shelef, L. A.: Survival of *Listeria monocytogenes* in ground beef or liver during storage at 4 °C and 25 °C. J. Food Prot. **52**, 379–383 (1989).
203. Buchanan, R. L., Stahl, H. G. and Whiting, R. C.: Effects and interactions of temperature, pH, atmosphere, sodium chloride, and sodium nitrite on growth of *Listeria monocytogenes*. J. Food Prot. **52**, 844–851 (1989).
204. Wehr, H. M.: *Listeria monocytogenes* – a current dilemma. J. Off. Anal. Chem. **70**, 769–772 (1987).
205. Rivitiso, C. P. and Snyder, O. P.: Bacterial growth at foodservice operating temperatures. J. Food Prot. **44**, 770–775 (1981).
206. Gill, C. O. and Phillips, D. M.: The effect of media composition on the relationship between temperature and growth rate of *Escherichia coli*. Food Microbiol. **2**, 285–290 (1985).
207. Mackey, B. M. and Derrick, C. M.: The effect of sublethal injury by heating, freezing, drying and gamma-radiation on the duration of the lag phase of *Salmonella typhimurium*. J. Appl. Bact. **53**, 243–251 (1982).
208. Mackey, B. M. and Derrick, C. M.: Conductance measurements of the lag phase of injured *Salmonella typhimurium*. J. Appl. Bact. **57**, 299–308 (1984).
209. Grau, F. H.: Growth of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* on beef tissue at 25 °C. J. Food Sci. **48**, 1700–1704 (1983).
210. Johnson, J. L., Doyle, M. P. and Cassens, R. G.: Survival of *Listeria monocytogenes* in ground beef. Int. J. Food Microbiol. **6**, 243–247 (1988).
211. Gill, C. O. and Newton, K. G.: Growth of bacteria on meat at room temperatures. J. Appl. Bact. **49**, 315–323 (1980).
212. Stern, N. J., Pierson, M. D. and Kotula, A. W.: Growth and competitive nature of *Yersinia enterocolitica* in whole milk. J. Food Sci. **45**, 972–974 (1980).
213. Schiemann, D. A. and Olson, S. A.: Antagonism by gram-negative bacteria to growth of *Yersinia enterocolitica* in mixed cultures. Appl. Environ. Microbiol. **48**, 539–544 (1984).
214. Farrag, S. A. and Marth, E. H.: Growth of *Listeria monocytogenes* in the presence of *Pseudomonas fluorescens* at 7 or 13 °C in skim milk. J. Food Prot. **52**, 852–855 (1989).
215. Farrag, S. A. and Marth, E. H.: Behaviour of *Listeria monocytogenes* when incubated together with *Pseudomonas* species in tryptose broth at 7 and 13 °C. J. Food Prot. **52**, 536–539 (1989).
216. Freedman, D. J., Kondo, J. K. and Willrett, D. L.: Antagonism of foodborne bacteria by *Pseudomonas spp.*: a possible role for iron. J. Food Prot. **52**, 484–489 (1989).
217. Gilliland, S. E. and Speck, M. L.: Antagonistic action of *Lactobacillus acidophilus* toward intestinal and foodborne pathogens in associative cultures. J. Food Prot. **40**, 820–823 (1977).
218. Frank, J. F. and Marth, E. H.: Inhibition of enteropathogenic *Escherichia coli* by homofermentative lactic acid bacteria in skimmilk. J. Food Prot. **40**, 749–753 (1977).
219. Park, H. S. and Marth, E. H.: Survival of *Salmonella typhimurium* in refrigerated cultured milks. J. Milk Food Technol. **35**, 489–495 (1972).
220. Ahmed, A. A. H., Moustafa, M. K. and El-Bassiony, T. A.: Growth and survival of *Yersinia enterocolitica* in yogurt. J. Food Prot. **49**, 983–985 (1986).
221. Schaack, M. M. and Marth, E. H.: Behavior of *Listeria monocytogenes* in skim milk and in yogurt mix during fermentation by thermophilic lactic acid bacteria. J. Food Prot. **51**, 607–614 (1988).

222. Schaack, M. M. and Marth, E. H.: Behavior of *Listeria monocytogenes* in skim milk during fermentation with mesophilic lactic starter cultures. J. Food Prot. **51**, 600–606 (1988).
223. Karches, H. und Teufel, P.: *Listeria monocytogenes*. Vorkommen in Hackfleisch und Verhalten in frischer Zwiebelmettwurst. Fleischwirtschaft **68**, 1388–1392 (1988).
224. Schmidt, U.: Verminderung des Salmonellen-Risikos durch technologische Massnahmen bei der Rohwurstherstellung. Mittbl. Bundesanst. Fleischforsch. Kulmbach **99**, 7791–7793 (1988).
225. Abamad, N. and Marth, E. H.: Acid-injury of *Listeria monocytogenes*. J. Food Prot. **53**, 26–29 (1990).
226. Junntila, J., Hirn, J., Hill, P. and Nurmi, E.: Effect of different levels of nitrite and nitrate on the survival of *Listeria monocytogenes* during the manufacture of fermented sausage. J. Food Prot. **52**, 158–161 (1989).
227. Johnson, J. L., Doyle, M. P., Cassens, R. G. and Schöni, J. L.: Fate of *Listeria monocytogenes* in tissues of experimentally infected cattle and in hard salami. Appl. Environ. Microbiol. **54**, 497–501 (1988).
228. Shabamat, M., Seaman, A. and Woodbine, M.: Influence of sodium chloride, pH, and temperature on the inhibitory activity of sodium nitrite on *Listeria monocytogenes*. In: Gould, G. W. and Corry, J. E. L. (eds.), Microbial growth and survival in extremes of environment, pp. 227–237. Academic Press, New York 1980.
229. Stern, J. M. and Kazmi, S. U.: *Campylobacter jejuni*. In: Doyle, M. P. (ed.), Foodborne bacterial pathogens, pp. 71–110. Marcel Dekker, Inc. New York und Basel 1989.

Prof. Dr. W. Schmidt-Lorenz  
 Laboratorium für Lebensmittelmikrobiologie  
 Institut für Lebensmittelwissenschaft  
 ETH-Zentrum  
 CH-8092 Zürich