

Occurrence of the tribe Klebsiellae in refrigerated meat and meat products

H. HECHELMANN, Z. BEM, K. UCHIDA and L. LEISTNER

Division of Bacteriology and Histology of the Federal Meat Research Institute, Kulmbach, Federal Republic of Germany

Microorganisms of the genera *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia* and *Serratia* belong to the tribe *Klebsiellae* and the family *Enterobacteriaceae*. Opposite to most *Enterobacteriaceae*, organisms of the tribe *Klebsiellae* generally multiply below + 5 °C, and thus contribute substantially to the spoilage of refrigerated meat, including poultry, and meat products. Since these psychrotolerant *Enterobacteriaceae* are facultative anaerobic, the tribe *Klebsiellae*, contrary to *Pseudomonadaceae*, frequently occurs in vacuum-packaged meat and meat products. For instance from about 75 % of 90 investigated samples of vacuum-packaged sliced luncheon meat type products, which were produced from different packers and were stored three weeks at + 8 °C, organisms of the tribe *Klebsiellae* were isolated, and were present in about 50 % of these packages in 10⁵ to 10⁷ per gram. Therefore, in refrigerated vacuum-packaged luncheon meat type products the tribe *Klebsiellae* is, besides the family *Lactobacillaceae*, the predominant flora and important for the spoilage of these products. For the spoilage of refrigerated fresh broilers organisms of the tribe *Klebsiellae* are important too, next to members of the family *Pseudomonadaceae*. Also frequently organisms of the tribe *Klebsiellae* are isolated from fermented sausages at the beginning of the ripening period as well as from refrigerated minced meat, pork and beef.

In total 681 strains of the tribe *Klebsiellae* were recovered from 339 samples, including 103 fermented sausages, 100 frozen broilers, 90 vacuum-packaged luncheon meat type products, as well as 19 beef, 18 minced meat, and 9 pork samples. The following species of the tribe *Klebsiellae* were isolated: *Enterobacter liquefaciens* (39 % of the identified strains), *E. cloacae* (22 %), *E. agglomerans* (15 %), *E. aerogenes* (6 %), *Klebsiella pneumoniae* (9 %), *K. pneumoniae oxytoca* (2 %), *Hafnia* spp. (7 %), and *Serratia marcescens* (0,3 %).

Microorganisms of the tribe *Klebsiellae* are of significance for the spoilage of refrigerated meat and meat products, whether these organisms are of importance for food-poisoning too, is still unknown.

Vorkommen des Tribus Klebsiellae bei kühlgelagertem Fleisch und Fleischwaren

H. HECHELMANN, Z. BEM, K. UCHIDA und L. LEISTNER

Institut für Bakteriologie und Histologie der Bundesanstalt für Fleischforschung, Kulmbach, Bundesrepublik Deutschland

Mikroorganismen der Gattungen *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia* und *Serratia* gehören zum Tribus *Klebsiellae* und zur Familie *Enterobacteriaceae*. Im Unterschied zu den meisten *Enterobacteriaceae* vermehren sich die Mikroorganismen des Tribus *Klebsiellae* im allgemeinen unter + 5 °C und tragen daher wesentlich zum Verderb von kühlgelagertem Fleisch, einschließlich Geflügel, und Fleischwaren bei. Da es sich bei diesen psychrotoleranten *Enterobacteriaceae* um fakultativ anaerobe Mikroorganismen handelt, findet man Vertreter des Tribus *Klebsiellae*, im Gegensatz zu Mikroorganismen der Familie *Pseudomonadaceae*, auch häufig bei vakuumverpacktem Fleisch und Fleischwaren. Zum Beispiel waren bei etwa 75 % von 90 untersuchten Proben vakuumverpacktem Brühwurst-Aufschnitt, der aus verschiedenen Herstellerbetrieben stammte und drei Wochen bei + 8 °C gelagert worden war, Mikroorganismen des Tribus *Klebsiellae* nachweisbar, und zwar bei etwa 50 % der Proben in Keimzahlen von 10⁵ bis 10⁷ pro Gramm. Damit sind bei kühlgelagertem vakuumverpacktem Brühwurst-Aufschnitt Mikroorganismen des Tribus *Klebsiellae*, nach Mikroorganismen der Familie *Lactobacillaceae*, die vorherrschende Flora und folglich wesentlich am Verderb dieser Produkte beteiligt. Auch für den Verderb von kühlgelagertem Frischgeflügel spielen Mikroorganismen des Tribus *Klebsiellae*, neben Vertretern der Familie *Pseudomonadaceae*, die größte Rolle. Ebenfalls häufig konnten Mikroorganismen des Tribus *Klebsiellae* von Rohwurst zu Beginn der Reifung sowie von kühlgelagertem Hackfleisch, Schweine- und Rindfleisch isoliert werden.

Insgesamt wurden 681 Stämme des Tribus *Klebsiellae* von 339 Proben isoliert, und zwar 103 Rohwürsten, 100 Gefrierhähnchen, 90 vakuumverpackten Brühwurstpackungen, 19 Rindfleisch-, 18 Hackfleisch- und 9 Schweinefleischproben. Die folgenden Keimarten des Tribus *Klebsiellae* waren nachweisbar: *Enterobacter liquefaciens* (39 % der identifizierten Stämme), *E. cloacae* (22 %), *E. agglomerans* (15 %), *E. aerogenes* (6 %), *Klebsiella pneumoniae* (9 %), *K. pneumoniae oxytoca* (2 %), *Hafnia* spp. (7 %) und *Serratia marcescens* (0,3 %).

Mikroorganismen des Tribus *Klebsiellae* sind sicherlich am Verderb von kühlgelagertem Fleisch und Fleischwaren beteiligt, inwieweit diese Keimarten auch mit Lebensmittelvergiftungen im Zusammenhang stehen, läßt sich noch nicht übersehen.

Presence of the tribe Klebsiellae in the meat and the products of meat conserved in cold chamber

H. HECHELMANN, Z. BEM, K. UCHIDA, L. LEISTNER

Institut de bactériologie et d'histologie de l'Office fédéral pour les recherches sur la viande, Kulmbach, République Fédérale Allemande

Les microorganismes des genres *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia* et *Serratia* appartiennent à la tribu des *Klebsiellae* et à la famille des *Enterobacteriaceae*. A la différence de la plupart des *Enterobacteriaceae*, les microorganismes de la tribu des *Klebsiellae* se multiplient généralement à une température inférieure à + 5 °C et contribuent donc fortement à la détérioration de la viande, y compris de la volaille et de la charcuterie, conservées en chambre froide. Etant donné que ces *Enterobacteriaceae* psychro-tolérantes sont des microorganismes anaérobies facultatifs, des représentants de la tribu des *Klebsiellae*, contrairement aux microorganismes de la famille des *Pseudomonadaceae*, se rencontrent fréquemment aussi dans la viande et la charcuterie en emballages sous vide. Par exemple, dans près de 75 % des 90 échantillons de saucisson cuit en tranches, en emballages sous vide, provenant de différents fabricants et qui avait été stocké pendant trois semaines à + 8 °C, on a mis en évidence des microorganismes de la tribu des *Klebsiellae*; dans 50 % des échantillons, le nombre de germes était de 10⁵ à 10⁷ par gramme. Ainsi, dans le saucisson cuit en tranches en emballage sous vide, conservé en chambre froide les microorganismes de la tribu des *Klebsiellae* représentent, après les microorganismes de la famille des *Lactobacillaceae*, la flore prédominante et contribuent par conséquent considérablement à la détérioration de ces produits. Les microorganismes de la tribu des *Klebsiellae* jouent également un rôle très important, à côté des représentants de la famille des *Pseudomonadaceae*, dans la détérioration de la volaille conservée en chambre froide. De même, des microorganismes de la tribu des *Klebsiellae* ont pu être fréquemment isolés à partir de saucisson cru au début de la maturation ainsi qu'à partir de viande hachée, de viande de porc et de viande de boeuf conservées en chambre froide.

On a isolé au total 681 souches de la tribu des *Klebsiellae* à partir de 339 échantillons: 103 saucissons crus, 100 poulets congelés, 90 échantillons de saucisson cuit en emballages sous vide, 19 échantillons de viande de boeuf, 18 de viande hachée et 9 de viande de porc. Les espèces suivantes de la tribu des *Klebsiellae* ont été mises en évidence: *Enterobacter liquefaciens* (39 % des souches identifiées), *E. cloacae* (22 %), *E. agglomerans* (15 %), *E. aerogenes* (6 %), *Klebsiella pneumoniae* (9 %), *K. pneumoniae oxytoca* (2 %), *Hafnia* spp. (7 %) et *Serratia marcescens* (0,3 %).

Les microorganismes de la tribu des *Klebsiellae* contribuent certainement à la détérioration de la viande et de la charcuterie conservées en chambre froide, mais on ne peut pas encore juger dans quelle mesure ces germes se trouvent aussi en liaison avec les intoxications alimentaires.

Обнаружения племени Klebsiellae в охлажденном мясе и мясoproductax

Х. ХЕХЕЛМАН, З. БЕМ, Н. УЧИДА и Л. ЛЕЙСТНЕР

Отдел бактериологии и гистологии Всесоюзного института для исследования мяса, Кульмбах, ФР Германия

Микроорганизмы рода *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia* и *Serratia* принадлежат к племени *Klebsiellae* и к семейству *Enterobacteriaceae*. В отличие от большинства энтеробактерий, микроорганизмы племени *Klebsiellae* размножаются в принципе при температуре ниже 5 °C и способствуют значительно порче мяса, включая мясо птицы и мясoproductax. Так как у этих психротолерантных микроорганизмов речь идет о факультативных анаэробных, представители племени *Klebsiellae*, в противовес микроорганизмам семейства *Pseudomonadaceae*, находятся часто в мясе и продуктах, упакованных под вакуумом. На пример, в 75 % из 90 образцов исследованных ломтиков вареной колбасы различных производственных цехов и хранящихся 3 недели при 8 °C, были обнаружены микроорганизмы племени *Klebsiellae* у 50 % образцов число бактерий было 10⁵ - 10⁷/грамм. Это значит, что в ломтиках вареной колбасы, упакованных под вакуумом и хранившихся при наличии холода, микроорганизмы племени *Klebsiellae* вместе с микроорганизмами семейства *Lactobacillaceae* представляют преобладающую микрофлору и вследствие того составляют значительную порчу этих продуктов. Эти микроорганизмы, вместе с представителями семейства *Pseudomonadaceae* играют важную роль в значительную порчу охлажденных туш птицы. Так же, можно выделить микроорганизмы племени *Klebsiellae* из полукопченной колбасы в начале созревания, а так же и из мясного фарша, свиного и говяжьего, хранившихся при наличии холода.

Из 339 образцов, включая 103 полукопченной колбасы, 100 замороженных цыплят, 90 пакетов вареной колбасы, 19 образцов говяжьего, 18 мясного фарша и 9 образцов свиного, выделена 681 штамм племени *Klebsiellae*. Обнаружены микроорганизмы следующих родов: *Enterobacter liquefaciens* (39 % штаммов), *E. cloacae* (22 %), *E. agglomerans* (15 %), *E. aerogenes* (6 %), *Klebsiella pneumoniae* (9 %), *K. pneumoniae oxytoca* (2 %), *Hafnia* spp. (7 %) и *Serratia marcescens* (0,3 %).

Можно с уверенностью утверждать, что микроорганизмы племени *Klebsiellae* принимают участие в порче мяса и мясoproductax, хранившихся при наличии холода, но еще неизвестно насколько они связаны с пищевыми отравлениями.

REFRIGERATION, FREEZING AND THAWING

Vorkommen des Tribus Klebsielleae bei kühlgelagertem Fleisch und Fleischwaren

H. HECHELMANN, Z. BEM, K. UCHIDA und L. LEISTNER

Institut für Bakteriologie und Histologie der Bundesanstalt für Fleischforschung, Kulmbach, Bundesrepublik Deutschland

EINLEITUNG: Bei Fleisch und Fleischwaren, die unter Kühlung gelagert werden, sind psychrophile und psychrotolerante Mikroorganismen vermehrungsfähig, es handelt sich dabei insbesondere um Vertreter der Familien *Pseudomonadaceae*, *Lactobacillaceae* und *Enterobacteriaceae*. Zu den *Enterobacteriaceae*, die unter + 5 °C vermehrungsfähig sind, gehören Mikroorganismen des Tribus *Klebsielleae*, der die Gattungen *Klebsiella*, *Enterobacter* (*Aerobacter*), *Hafnia* und *Serratia* (3, 10) sowie *Pectobacterium* (3) umfaßt. Die psychrotoleranten *Enterobacteriaceae*, die wesentlich zum Verderb von Fleisch, einschließlich Geflügel, und Fleischwaren bei Kühlung beitragen, nennt man häufig auch die *Klebsiella-Enterobacter-Hafnia-Serratia-Gruppe*.

Von STOKES (1968) werden unter 18 Gattungen psychrophiler Bakterien auch die Gattungen *Aerobacter* (*Enterobacter*), *Klebsiella* und *Serratia* aufgeführt (18). PANES und THOMAS (1959, 1968) weisen darauf hin, daß *Klebsiella cloacae* (*Enterobacter liquefaciens*) und *Klebsiella aerogenes* in Rohmilch vorkommen und bei + 3 °C bis + 5 °C vermehrungsfähig sind (13, 14). Von SCHEER (1973) wurden Mikroorganismen der Gattungen *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia* und *Hafnia* bei tiefgefrorenen Seefischen und Seefischprodukten nachgewiesen (17). EDDY und KITCHELL (1959) isolierten die Gattungen *Aerobacter* (*Enterobacter*) und *Hafnia* von Rindfleisch und Walfleisch, das bei + 3 °C gelagert wurde und GARDNER, CARSON und PATTON (1967) von Schweinefleisch, gelagert bei + 2 °C (2, 4). REUTER (1970, 1972) wies psychrotolerante *Enterobacteriaceae* mitunter in Keimzahlen bis 10⁸/g bei vakuumverpackten Fleischwaren nach (15, 16). Von HECHELMANN und UCHIDA (1972) wurde beobachtet, daß von 152 Stämmen des Tribus *Klebsielleae*, die von kühlgelagerten Fleischwaren sowie Hähnchen isoliert worden waren, 93 % bei + 3 °C bis + 5 °C innerhalb von zehn Tagen auf *Escherichia coli*-Stämme (BBL) vermehrungsfähig waren, dagegen zeigten 100 % unter denselben Bedingungen keine Vermehrung (5). 90 Untersuchungen von HECHELMANN und BEM (1973) ergaben, daß in 75 % von verschiedenen Herstellerbetrieben stammten und drei Wochen bei + 8 °C gelagert worden sind, Mikroorganismen des Tribus *Klebsielleae* nachweisbar waren, und zwar bei 50 % der Proben in Keimzahlen von 10⁵ bis 10⁷/g. Damit waren bei kühlgelagertem vakuumverpacktem Brühwurstaufschnitt diese psychrotoleranten *Enterobacteriaceae*, nach Vertretern der Familie *Lacto-*

bacillaceae, die vorherrschende Flora und waren folglich wesentlich am Verderb dieser Produkte beteiligt (7). Von kühlgelagertem Geflügel sind die Gattungen *Aerobacter* (*Enterobacter*) und *Hafnia* von EDDY und KITCHELL (1959) sowie die *Klebsiella-Enterobacter-Hafnia-Serratia-Gruppe* von BERNER, KLEEBERGER und BUSSE (1969) und HECHELMANN, ROSSMANITH, PERIĆ und LEISTNER (1973) isoliert worden (2, 1, 6). Es zeigte sich, daß diese Gruppe wesentlich zum Verderb von bei + 3 °C bis + 5 °C gelagertem Frischgeflügel beiträgt (1, 6).

Es muß damit gerechnet werden, daß Mikroorganismen der *Klebsiella-Enterobacter-Hafnia-Serratia-Gruppe* häufig bei kühlgelagerten Lebensmitteln tierischen Ursprungs vorkommen und wesentlich zum Verderb der Produkte beitragen. Ob diese Mikroorganismen auch Lebensmittelvergiftungen verursachen, ist noch unbekannt. Allerdings sind bereits einige Lebensmittelvergiftungen durch Vertreter der Gattung *Klebsiella* beschrieben worden (8, 12). Andere Autoren haben über schwere Fälle von Diarrhoe, verursacht durch *Klebsiellen*, berichtet (11, 9), und es ist bekannt, daß Vertreter des Tribus *Klebsielleae* Wundinfektionen verursachen und beim Hospitalismus eine Rolle spielen.

Zielsetzung der vorliegenden Arbeit war es, die Häufigkeit des Vorkommens der *Klebsiella-Enterobacter-Hafnia-Serratia-Gruppe* bei Fleisch (einschließlich Geflügel) und Fleischwaren zu untersuchen sowie eine Charakterisierung der isolierten Mikroorganismen bis zur Art zu erreichen.

MATERIAL und METHODEN: In die Untersuchung wurden 339 Proben einbezogen, und zwar 103 Rohwürste (verschiedene Arten und in verschiedenen Reifestadien), 100 Gefrierhähnchen, 90 Packungen von vakuumverpacktem Brühwurstaufschnitt, 19 Rindfleisch-, 18 Hackfleisch- und 9 Schweinefleischproben. Zur Isolierung von Mikroorganismen der *Klebsiella-Enterobacter-Hafnia-Serratia-Gruppe* wurde das Untersuchungsmaterial in Oberflächenkultur auf Kristallviolett-Neutralrot-Galle-Glucose-Agar (MERCK) und DHL Agar (EIKEN) angezüchtet. Die Bebrütung erfolgte 18 bis 48 Stunden bei 30 °C. Verdächtige Stämme wurden zur Charakterisierung in Triple Sugar Iron Agar (DIFCO), Sim Medium (EIKEN) und VP Semisolid Agar (EIKEN) überimpft. Die nähere Identifizierung erfolgte aufgrund des Nachweises der Lysin- und Ornithin-Decarboxylase sowie der Arginin-Dihydrolase (19), der Kohlenhydratspaltung und der Gelatineverflüssigung. Zahlreiche der 681 isolierten Stämme des Tribus *Klebsielleae* wurden vergleichend mit der konventionellen Methode sowie mit dem API-System (VIXOTAB, Frankreich) identifiziert.

Zur Prüfung des Temperaturverhaltens von Vertretern der Gattungen *Klebsiella* und *Enterobacter*, im Vergleich zu den Gattungen *Salmonella*,

Escherichia, *Citrobacter* und *Proteus*, wurde steriler, vorgekühlter Brühwurstaufschnitt vor der Vakuumverpackung jeweils mit einem Pool dieser Mikroorganismen beimpft und während einer 20tägigen Lagerung bei + 3 °C, + 5 °C und + 10 °C mit DHL Agar (EIKEN) quantitativ untersucht.

ERGEBNISSE: Aus der Tabelle 1 geht hervor, daß Mikroorganismen des Tribus *Klebsielleae* bei 296 (87 %) der 339 untersuchten Proben nachweisbar waren, und zwar bei 18 (100 %) der Hackfleischproben, 102 (99 %) der Rohwürste, 93 (93 %) der Gefrierhähnchen, 8 (89 %) der Schweinefleischproben, 67 (74 %) der Brühwurstpackungen und 8 (42 %) der Rindfleischproben.

Die 681 identifizierten Stämme repräsentieren acht Keimarten des Tribus *Klebsielleae*, und zwar *Enterobacter liquefaciens* (39 % der identifizierten Stämme), *E. cloacae* (22 %), *E. agglomerans* (15 %), *E. hafnia* (7 %), *E. aerogenes* (6 %), *Klebsiella pneumoniae* (9 %), *K. pneumoniae oxytoca* (2 %) und *Serratia marcescens* (0,3 %).

Tabelle 2 zeigt das Ergebnis der Untersuchung der Vermehrungsfähigkeit von *Enterobacteriaceae* bei vakuumverpacktem Brühwurstaufschnitt in Abhängigkeit von der Lagertemperatur während einer Lagerzeit von 20 Tagewurstaufschnitt betragen. Sowohl bei dem Pool der zehn *Salmonella*-Stämme als auch der neun *Proteus*-Stämme zeigte sich bei einer Lagertemperatur von + 3 °C und + 5 °C keine Vermehrung, bei + 3 °C sogar beträchtlich und *Proteus* stark vermehrt. Ähnlich verhielt sich der Pool der zehn enteropathogenen *Escherichia coli*-Stämme, nur trat bei + 3 °C eine Verminderung und bei + 10 °C eine sehr starke Keimvermehrung auf. Bei den zehn Stämmen von *Citrobacter* zeigte sich ebenfalls keine Vermehrung bei + 3 °C, jedoch bereits eine gewisse Vermehrung bei + 5 °C und eine sehr starke Vermehrung bei + 10 °C. Der Pool von vier *Klebsiella*- und sechs *Enterobacter*-Stämmen war bereits, im Gegensatz zu den anderen *Enterobacteriaceae*, bei + 3 °C sehr stark vermehrungsfähig und die Vermehrung bei + 5 und + 10 °C trat noch früher auf.

DISKUSSION: Eingangs wurde gesagt, daß bei kühlgelagertem Fleisch (einschließlich Geflügel) und Fleischwaren insbesondere Vertreter der Familien *Pseudomonadaceae*, *Lactobacillaceae* und *Enterobacteriaceae* nachweisbar sind. Unter aeroben Bedingungen dominieren im allgemeinen die *Pseudomonadaceae*, die jedoch in vakuumverpackten Produkten kaum vermehrungsfähig sind und daher findet man hier vorherrschend *Lactobacillaceae* und

Untersuchtes Material	Rohwurst	Hähnchen	Brühwurst	Rindfleisch	Hackfleisch	Schweinefleisch	Insgesamt	Prozent
Anzahl der untersuchten Proben	103	100	90	19	18	9	339	100
Anzahl der Proben mit Klebsielleae	102 (99%)	93 (93%)	67 (74%)	8 (42%)	18 (100%)	8 (89%)	296	87
Anzahl der identifizierten Stämme	317	95	190	20	46	13	681	100
<i>Enterobacter liquefaciens</i>	133	33	77	8	9	3	263	39
<i>Enterobacter cloacae</i>	104	25	12	2	6	3	152	22
<i>Enterobacter agglomerans</i>	21	4	48	5	17	4	99	15
<i>Enterobacter hafnia</i>	23	17	3	0	2	0	45	7
<i>Enterobacter aerogenes</i>	4	0	27	4	7	2	44	6
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	28	12	16	1	5	1	63	9
<i>Klebsiella pneumoniae oxytoca</i>	4	2	7	0	0	0	13	2
<i>Serratia marcescens</i>	0	2	0	0	0	0	2	0,3

Tabelle 1: Keimarten des Tribus *Klebsielleae*, die bei Fleisch (einschließlich Geflügel) und Fleischwaren nachgewiesen wurden

REFRIGERATION, FREEZING AND THAWING

Tabelle 2: Vermehrung von Enterobacteriaceae bei vakuumverpacktem Brühwurstaufschnitt innerhalb von 20 Tagen bei + 3 °C, + 5 °C und + 10 °C

Inokulum	Tage	+ 3 °C	+ 5 °C	+ 10 °C
<u>Salmonella</u> 10 Stämme	0	10 ^{3*}	10 ³	10 ³
	5	10 ²	10 ³	10 ⁵
	10	10 ²	10 ³	10 ⁵
	15	10 ²	10 ³	10 ⁵
	20	10 ²	10 ³	10 ⁶
<u>Proteus</u> 9 Stämme	0	10 ³	10 ³	10 ⁵
	5	10 ²	10 ³	10 ⁷
	10	10 ²	10 ³	10 ⁷
	15	10 ²	10 ³	10 ⁷
	20	10 ²	10 ³	10 ⁷
enteropathogene <u>Escherichia coli</u> 10 Stämme	0	10 ³	10 ³	10 ⁴
	5	10 ³	10 ³	10 ⁶
	10	10 ³	10 ³	10 ⁶
	15	10 ³	10 ³	10 ⁸
	20	10 ³	10 ³	10 ⁸
<u>Citrobacter</u> 10 Stämme	0	10 ³	10 ³	10 ⁵
	5	10 ³	10 ³	10 ⁸
	10	10 ³	10 ⁴	10 ⁸
	15	10 ³	10 ⁵	10 ⁸
	20	10 ³	10 ⁵	10 ⁸
<u>Klebsiella</u> 4 Stämme und <u>Enterobacter</u> 6 Stämme	0	10 ³	10 ³	10 ³
	5	10 ⁴	10 ⁷	10 ⁸
	10	10 ⁷	10 ⁸	10 ⁸
	15	10 ⁸	10 ⁸	10 ⁸
	20	10 ⁸	10 ⁸	10 ⁸

* Keimzahl pro Gramm Brühwurst

Kaliumnitrat hergestellt, die jeweils mit einem Pool von zehn Stämmen von Enterobacter aerogenes, E. agglomerans, E. cloacae, E. hafnia und E. liquefaciens in einer Keimzahl von 10³ pro Gramm Brät beimpft wurden. Während der ersten drei Reifetage haben sich diese Mikroorganismen im Rohwurstbrät bis auf eine Keimzahl von 10⁷/g vermehrt, ab 10. Tag zeigte sich ein Rückgang dieser Keimzahl. Sensorische Prüfungen ergaben bei den beimpften Teewürsten, im Vergleich zu unbeimpften Kontrollen, keine Fäulniserscheinungen, jedoch auch nicht das erwünschte Aroma. Daher konnte gefolgert werden, daß bei Rohwurst Mikroorganismen des Tribus Klebsielleae zwar keine Verderbnis verursachen, aber auch nicht für das typische Aroma von mit Nitrat hergestellten Rohwürsten ausschlaggebend sind.

SCHLUSSFOLGERUNGEN: Psychrotolerante Enterobacteriaceae, und zwar Mikroorganismen des Tribus Klebsielleae, sind häufig bei Fleisch, einschließlich Geflügel, und bei Fleischwaren nachweisbar und haben aufgrund ihrer Kältetoleranz einen Selektionsvorteil bei kühlgelagerten Produkten. Da diese Mikroorganismen bei + 3 °C und unter anaeroben Verhältnissen vermehrungsfähig sind, werden sie weder durch eine niedrige Lagertemperatur noch durch eine Vakuumverpackung der Produkte nachhaltig gehemmt. Die Klebsiella-Enterobacter-Hafnia-Serratia-Gruppe kann als ein wesentlicher Bestandteil der Mikroorganismen angesehen werden, die bei kühlgelagerten Produkten nachweisbar sind und zum Verderb führen. Dabei wurden in unseren Untersuchungen vorherrschend Vertreter der Gattung Enterobacter nachgewiesen, während die Gattung Klebsiella weniger häufig und die Gattung Serratia nur vereinzelt nachweisbar waren. Inwieweit die Klebsiella-Enterobacter-Hafnia-Serratia-Gruppe auch für Lebensmittelvergiftungen von Bedeutung sein kann, ist noch ungewiß und bedarf weiterer Untersuchungen.

Literatur

- Berner, H., A. Kleeberger und M. Busse: Untersuchungen über ein neues Kühlverfahren für Schlachtgeflügel. *Fleischwirtschaft* 49, 1617 (1969).
- Eddy, B. P. and A. G. Kitchell: Cold-tolerant fermentative gram-negative organisms from meat and other sources. *J. appl. Bact.* 22, 57 (1959).
- Ewing, W. H.: An outline of nomenclature for the family Enterobacteriaceae. *Inter. Bull. Bact. Nomen. Tax.* 13, 95 (1963).
- Gardner, G. A., A. W. Carson and J. Patton: Bacteriology of prepacked pork with reference to the gas composition within the pack. *J. appl. Bact.* 30, 321 (1967).

Enterobacteriaceae. Kommt es dabei zu einer erheblichen Säuerung, dann können die Enterobacteriaceae bis zu einem gewissen Grade gehemmt werden. Allerdings wurden von HECHELMANN und BEM (1973) bei vakuumverpacktem Brühwurstaufschnitt nach einer dreiwöchigen Lagerung bei + 8 °C Mikroorganismen des Tribus Klebsielleae, obwohl Lactobacillaceae bei 100 % dieser Packungen in einer Keimzahl von 10⁷ bis 10⁹/g nachweisbar waren, bei 50 % der Packungen in Keimzahlen von 10⁵ bis 10⁷/g nachgewiesen. Das weist darauf hin, daß sich diese psychrotoleranten Enterobacteriaceae auch in Gegenwart der Lactobacillaceae durchaus behaupten können.

Stufenkontrollen zeigten, daß Mikroorganismen des Tribus Klebsielleae in der Brühwurst vor dem Aufschneiden nicht nachweisbar waren, jedoch während des Aufschneidens und Verpackens auf das Produkt gelangt sind, wenn auch in relativ geringer Keimzahl (nicht mehr als 10²/g); dabei hat die Gesamtkeimzahl des Brühwurstaufschnitts nach der Verpackung etwa 10³/g betragen. Während der Kühlung hatten die psychrotoleranten Enterobacteriaceae und Lactobacillaceae einen Selektionsvorteil, so daß Mikroorganismen dieser beiden Familien am Ende der Lagerung des Brühwurstaufschnitts durchaus vorherrschten.

Aufgrund dieses Selektionsvorteils bei Kühltemperaturen sind Mikroorganismen des Tribus Klebsielleae auch ein konstanter und beträchtlicher Bestandteil der "Kühlhausflora" fleischverarbeitender Betriebe. Das Gleiche trifft anscheinend für Geflügelschlachtereien zu, denn die psychrotoleranten Enterobacteriaceae sind nicht nur beim Gefriergeflügel nach dem Auftauen sehr häufig nachweisbar, sondern sind auch ein wesentlicher Faktor für den Verderb von Frischgeflügel, auch bei einer Lagertemperatur unter + 5 °C.

Ebenfalls bei Rohwürsten werden, wie die Tabelle 1 ausweist, Mikroorganismen des Tribus Klebsielleae sehr häufig angetroffen. Dabei findet man diese Keimarten vor allem zu Beginn der Reifung, während sie in ausgereiften Dauerwaren aufgrund des gegebenen a_w-Wertes und pH-Wertes kaum mehr nachweisbar sind. Auch werden Mikroorganismen des Tribus Klebsielleae anscheinend durch den Nitritzusatz im Rohwurstbrät gehemmt, während sie bei mit Nitrat gefertigten Produkten zunächst sogar eine erhebliche Vermehrung während der Rohwurstreifung zeigen und die Keimzahl der psychrotoleranten Enterobacteriaceae erst deutlich abnimmt, nachdem eine entsprechende Menge von Nitrit aus dem zugesetzten Nitrat gebildet worden ist und der pH-Wert sowie der a_w-Wert der Rohwurst abgenommen haben. Das charakteristische, abgerundete Aroma von Rohwürsten, die nur mit Nitrat hergestellt werden, kann sogar bis zu einem gewissen Grade mit der Vermehrung von gramnegativen Stäbchen zu Beginn der Reifephase in Zusammenhang gebracht werden. Experimentell wurden von uns nach praxisüblicher Rezeptur mehrere Chargen von Teewürsten mit 2,6 % Kochsalz und 600 ppm

- Hechelmann, H. und K. Uchida: Vermehrungsfähigkeit von Mikroorganismen des Tribus Klebsielleae bei Kühltemperaturen. Jahresbericht der Bundesanstalt für Fleischforschung, Kulmbach, 1972, I 55.
- Hechelmann, H., E. Rossmann, M. Perić und L. Leistner: Untersuchung zur Ermittlung der Enterobacteriaceae-Zahl bei Schlachtgeflügel. *Fleischwirtschaft* 53, 107 (1973).
- Hechelmann, H. und Z. Bem: Haltbarkeit von vorverpackter Brühwurst. Vortrag am 10. Oktober 1973 anlässlich der "Kulmbacher Woche". Kurzfassungen der Fachvorträge dieser Tagung, Seite 29.
- Horváth, Imre, Irene Hanny und A. Pethes: Massenaufreten von Lebensmittelvergiftungen, verursacht durch Bakterien der Gruppe Klebsiella. *Zbl. Bakt., I. Abt. Orig.* 193, 191 (1964).
- Karpas, C. M. and Isabel Boman: The significance of Klebsiella enteritidis. *Am. J. Clin. Path.* 46, 632 (1966).
- Kauffmann, F.: The bacteriology of Enterobacteriaceae. Munksgaard, Copenhagen, 1966.
- Olarte, J., W. W. Ferguson, N. D. Henderson and L. Torregrosa: Klebsiella strains isolated from diarrheal infants. *Am. J. Dis. Child.* 101, 763 (1961).
- Ormay, L. und T. Novotny: Über sogenannte unspezifische Lebensmittelvergiftungen in Ungarn. *Zbl. Bakt., I. Abt. Orig.* 215, 84 (1970).
- Panes, J. J. and S. B. Thomas: The multiplication of coli-aerogenes bacteria in milk held at 3 - 5 °C. *J. appl. Bact.* 22, 272 (1959).
- Panes, J. J. and S. B. Thomas: Psychrotrophic coli-aerogenes bacteria in refrigerated milk: A review. *J. appl. Bact.* 31, 420 (1968).
- Reuter, G.: Untersuchungen zur Mikroflora von vorverpackten, aufgeschnittenen Brüh- und Kochwürsten. *Arch. Lebensmittelhyg.* 21, 257 (1970).
- Reuter, G.: Vorkommen und Bedeutung von psychrotrophen Mikroorganismen im Fleisch. *Arch. Lebensmittelhyg.* 23, 272 (1972).
- Scheer, H.: Über das Vorkommen von Darmbakterien in tiefgefrorenen Fischfilets. *Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm.* 2, 83 (1973).
- Stokes, J. L.: Nature of psychrophilic micro-organisms. In: *Low temperature biology of foodstuffs*. Oxford, London, 1968, p. 221.
- Uchida, K., H. Hechelmann und L. Leistner: Schnellnachweis der Lysin-Decarboxylase und Ornithin-Decarboxylase sowie der Arginin-Dihydrolase zur Identifizierung von Enterobacteriaceae, insbesondere des Tribus Klebsielleae. *Fleischwirtschaft* 53, 1128 (1973).