

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung

1.1	Aufgabe und Bedeutung der Lebensmittelmikrobiologie.....	3
1.1.1	Anforderung an die lebensmittelmikrobiologische Analytik.....	6
1.1.2	Bakterien-Schlüssel.....	6
1.1.3	Bakterienklassifikation nach physiologischen Merkmalen.....	8
1.1.4	Mikroorganismen für die Beurteilung von Lebensmitteln.....	9
1.2	Umgang mit Mikroorganismen.....	11
1.2.1	Kriterien für die Klassifikation von Mikroorganismen und Krankheitserregern nach den im Umgang mit ihnen auftretenden Gefahren.....	11
1.2.1.1	Klassifizierung der Bakterien.....	12
1.2.1.2	Klassifizierung der Pilze.....	13
1.2.2	Grundregeln guter mikrobiologischer Technik.....	13
1.2.3	Anforderung an Laboratorien für Arbeiten mit Bakterien und Pilzen.....	14

2 Techniken - Verfahren - Nährböden - Untersuchungsmethoden

2.1	Laborausstattung.....	17
2.1.1	Ausrüstung für das mikrobiologische Laboratorium.....	17
2.1.1.1	Apparate und technische Hilfsmittel.....	17
2.1.1.2	Glas- und Kunststoffartikel.....	19
2.1.1.3	Utensilien für die Probenahme.....	20
2.2	Nährböden.....	21
2.2.1	Herstellung von Nährböden.....	22
2.2.1.1	Lösen von Trocken-Nährmedien.....	23
2.2.1.2	pH-Wert-Einstellung.....	23
2.2.1.3	Sterilisieren von Nährmedien.....	23
2.2.1.4	Gießen der Nährböden.....	23
2.2.1.5	Trocknen und Vorbebrühen der Nährböden.....	24
2.2.2	Nährböden in Kulturröhrchen.....	24
2.2.3	Lagerung gebrauchsfertiger Nährböden.....	25

2.3	Sterilisationsverfahren	26
2.3.1	Sterilisation durch feuchte Hitze	26
2.3.1.1	Tyndallisation	27
2.3.2	Sterilisation durch trockene Hitze	28
2.3.3	Sterilisation durch Ausglühen oder Abflammen	29
2.3.4	Sterilisation durch Filtration	29
2.4	Untersuchungsgang	30
2.4.1	Die Probenahme	30
2.4.2	Verdünnung der Lebensmittelprobe	32
2.4.3	Verhältnis der Probemenge zur Verdünnungsflüssigkeit	32
2.4.4	Verdünnungsreihe	33
2.4.4.1	Verdünnungsreihe in Reagenzgläsern	33
2.4.4.2	Verdünnungsreihe in Flaschen	34
2.4.5	Kultivierungsverfahren	35
2.4.5.1	Koch'sches Plattengußverfahren	35
2.4.5.2	Oberflächen-Spatelverfahren	35
2.4.5.3	Plattentropfverfahren	38
2.4.6	Auswertung der bebrüteten Agarplatten	38
2.4.7	Keimzahl- und Mittelwertberechnung	41
2.4.7.1	Keimzahlberechnung	41
2.4.7.2	Mittelwertberechnung	41
2.4.7.3	Einfaches arithmetisches Mittel	41
2.4.7.4	Gewogenes arithmetisches Mittel	42
2.5	Tauchverfahren zur Ermittlung von Keimgehalten	44
2.5.1	Eintauch- und Kontaktobjektträger	44
2.5.1.1	Anwendungsbereich	45
2.5.1.2	Untersuchungsgang	45
2.5.1.3	Auswertung	46
2.5.1.4	Vorsichtsregeln	47
2.6	Nicht-kulturelle und indirekte kulturelle Keimzahlbestimmungen	48
2.6.1	Direkte Epifluoreszenz-Filter-Technik (DEFT)	48
2.6.2	Limulus-Testverfahren (LAL)	49
2.6.3	Impedanzmessung	50
2.6.4	Adenosintriphosphat-(ATP)-Messung	50
2.6.5	Messung der Gasveränderung	51
2.7	Kultivierungsverfahren	52
2.7.1	Isolierung und Reinkultivierung von Mikroorganismen	52
2.7.1.1	Ausstrich-Methoden	52
2.7.2	Übertragungsmethoden von Mikroorganismen	53

2.7.2.1	Abimpf-Verfahren.....	53
2.7.2.2	Beimpfungs-Verfahren	55
2.7.3	Aufbewahrung von Mikroorganismen	55
2.7.4	Anaerobierkultur	56
2.7.4.1	Anaerobier-Topf.....	56
2.7.4.2	Anaerobier-Folienbeutel	58
2.7.4.3	Marino-Platte.....	58
2.7.4.4	Wright-Burri-Röhrchen.....	58
2.8	Membranfilterverfahren	60
2.8.1	Das Filtrationsgerät	60
2.8.2	Filtermaterial	60
2.8.3	Membranfilter-Nährböden.....	62
2.8.3.1	Agarnährböden.....	62
2.8.3.2	Nährkartonscheiben (NKS)	62
2.8.4	Untersuchungsmethoden.....	62
2.8.4.1	Leichtlösliche Lebensmittel	63
2.8.4.2	Schwerlösliche Lebensmittel.....	64
2.8.4.3	Unlösliche Lebensmittel.....	64
2.8.5	Membranfilter-Mikrokolonie-Schnellverfahren.....	64
2.8.5.1	Membranfilter-Mikrokolonie-Methode	65
2.8.5.2	Membranfilter-Mikrokolonie-Fluoreszenz-Methode (MMCF-Methode).....	66
2.9	Titer- und Most Probable Number-Technik	68
2.9.1	Titer-Bestimmung	68
2.9.1.1	Beziehung zwischen Titer und Keimzahl	68
2.9.1.2	Beispiel und Auswertung einer Titerbestimmung.....	69
2.9.2	Most Probable Number-Technik (MPN).....	70
2.9.2.1	Durchführung der 9-Röhrchen-Technik	70
2.9.2.2	Durchführung der Methode nach Hess et al. (1969).....	72
2.9.3	Rekontaminations-Titer	75
2.9.3.1	Durchführung.....	76
2.9.3.2	Ermittlung der Keimzahl.....	76
2.10	Färbeverfahren	78
2.10.1	Vitalfärbung - Färbung von Nativpräparaten	78
2.10.2	Intensivfärbung - Färbung von Ausstrichpräparaten.....	78
2.10.2.1	Herstellung von Ausstrichpräparaten.....	78
2.10.2.2	Einfache Färbung.....	80
2.10.3	Sporenfärbung	80
2.10.3.1	Malachit-Safranin-Sporenfärbung.....	80
2.10.3.2	Carbolfuchsin-Methylenblau-Sporenfärbung	81
2.10.4	Gramfärbung.....	81

2.10.4.1	GRAM-negative Bakterien.....	83
2.10.4.2	GRAM-positive Mikroorganismen.....	83
2.10.4.3	Kristallviolett-Safranin-Gramfärbung.....	84
2.10.5	Färbebank.....	84
2.10.6	Farbstofflösungen.....	84
2.11	Betriebshygiene, Bedarfsgegenstände, Keimzahlbestimmungen von Oberflächen, Behältnissen und Luft	85
2.11.1	Abklatschverfahren	85
2.11.1.1	Rodac-Platten - Agaroid-Stangen	86
2.11.2	Abstrichverfahren.....	86
2.11.2.1	Vorbereitung für das Verfahren.....	87
2.11.3	Abschwemmverfahren	89
2.11.4	Überschichtungsverfahren	89
2.11.5	Keimzahlbestimmung in Flaschen	89
2.11.5.1	Rollflaschen-Methode	90
2.11.5.2	Flaschen-Spül-Methode.....	90
2.11.6	Bestimmung der Luftkeimzahl	91
2.11.6.1	Sedimentationstest	91
2.11.6.2	Gelatine-Membranfilter-Verfahren.....	92
2.11.6.3	Impingment-Verfahren.....	92
2.11.6.4	Impaction-Verfahren	93
2.12	Hemmstoffe	94
2.12.1	Konservierungsstoffe.....	94
2.12.1.1	Bestimmung der Mindest- oder Grenzhemmkonzentration.....	95
2.12.1.2	Inhibitive und mikrobizide-Konzentration.....	96
2.12.2	Antibiotika.....	97
2.12.2.1	Agardiffusions-Verfahren	97
2.12.2.2	Arten von Antibiotika-Tests	97
2.12.3	Desinfektionsmittel	98
2.12.3.1	Suspensionsversuch	98
2.13	Stabilitätsprüfung von Konserven	100
2.13.1	Prüfung der äußeren Dosenbeschaffenheit	100
2.13.2	Prüfung bei der Öffnung bombierter Dosen	101
2.13.3	Dichtigkeitsprüfung von Konserven.....	101
2.13.4	Stabilitätsprüfung	102
2.13.5	Hilfsuntersuchungen	102
2.13.6	Stichprobenumfang	103
2.14	Ausgewählte Nährböden, Reaktionsmedien, Seren.....	104
2.14.1	Nährböden, Reaktionsmedien und Seren	105

2.15	Nachweismethoden	111
2.15.1	Gesamtkoloniezahl und aerobe mesophile Mikroorganismen	111
2.15.1.1	Nachweis der Gesamtkoloniezahl	112
2.15.1.2	Nachweis der aeroben mesophilen Bakterien	112
2.15.2	Gesamtkoloniezahl anaerober mesophiler Keime.....	112
2.15.2.1	Beurteilung.....	113
2.15.3	Unterscheidung gramnegativer und -positiver Bakterien mittels KOH-Test.....	113
2.15.3.1	Durchführung und Prinzip der Methode	113
2.15.4	Aminopeptidase-Test zur Überprüfung des Gramverhaltens gramnegativer und grampositiver Bakterien	114
2.15.4.1	Prinzip und Durchführung der Methode	114
2.15.5	Überprüfung der mikroskopischen und makroskopischen Keim- bzw. Koloniemorphologie	115
2.15.5.1	Formgebung im mikroskopischen Bereich	116
2.15.5.2	Koloniemorphologie	118
2.15.6	Überprüfung des Verhaltens von Bakterien gegenüber Sauerstoff.....	119
2.15.6.1	Standkultur in Hochschichtröhrchen.....	119
2.15.6.2	Stichkultur in Hochschichtröhrchen	120
2.15.7	Oxidations-Fermentations-Test zum Nachweis der Kohlenhydratverwertung.....	120
2.15.7.1	Durchführung und Auswertung.....	120
2.15.8	Aerobe mesophile Fremdkeime.....	121
2.15.8.1	Untersuchungsgang.....	122
2.15.8.2	Auswertung	122
2.15.9	Pseudomonaden	122
2.15.9.1	Auswertung	122
2.15.9.2	Identifizierung.....	123
2.15.9.3	Differenzierung.....	123
2.15.10	Enterobacteriaceen	125
2.15.10.1	Anreicherungsmedien.....	126
2.15.10.2	Differenzierung von Enterobacteriaceen	127
2.15.10.3	System-Differenzierung von Enterobacteriaceen	127
2.15.11	Coliforme Keime und <i>Escherichia coli</i>	128
2.15.11.1	Selektivanreicherung.....	128
2.15.11.2	Fraktionierter Ausstrich	128
2.15.11.3	IMViC-Differenzierungs-Test	129
2.15.11.4	SIM-Differenzierungs-Test	131
2.15.11.5	Bestimmung von <i>Escherichia coli</i> im flüssigen Medium	132
2.15.11.6	Beimpfung.....	133
2.15.11.7	Spezifische <i>E. coli</i> Identifikations-Tests.....	133
2.15.11.8	Schnellbestimmung von <i>E. coli</i> mittels Direkt-Platten-Methode.....	135

2.15.12	Salmonellen (Überprüfung auf Abwesenheit - Verdachtsdiagnose).....	137
2.15.12.1	Biochemische Identifikation (Screening).....	139
2.15.12.2	Serologische Überprüfung.....	141
2.15.12.3	Agglutination, Durchführung und Interpretation.....	142
2.15.12.4	Verdachtsdiagnose durch Phagolyse.....	143
2.15.12.5	Untersuchungstechnik.....	143
2.15.13	Shigellen.....	146
2.15.13.1	Schema der Shigellen-Untersuchung.....	147
2.15.14	<i>Yersinia enterocolitica</i>	148
2.15.14.1	Anreicherungsmedien und Selektivnährböden.....	148
2.15.14.2	Untersuchungsgang.....	149
2.15.14.3	Auswertung verdächtiger Kolonien.....	151
2.15.15	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	152
2.15.15.1	Verdünnungsflüssigkeit und Selektiv-Bouillon.....	152
2.15.15.2	Analysengang.....	152
2.15.15.3	Nährböden für die Diagnostik.....	154
2.15.15.4	Kanagawa-Test.....	154
2.15.16	<i>Campylobacter jejuni</i>	156
2.15.16.1	Selektivanreicherung.....	156
2.15.16.2	Nachweis und Beurteilung.....	156
2.15.16.3	Bestätigung.....	157
2.15.17	Enterokokken.....	158
2.15.17.1	Streptokokken-Latex-Agglutination.....	161
2.15.18	<i>Staphylococcus aureus</i>	161
2.15.18.1	Anreicherung.....	162
2.15.18.2	Direkter quantitativer Nachweis.....	162
2.15.18.3	Bestätigungs-Tests.....	162
2.15.18.4	ELISA-Test zum Nachweis von Staphylokokken-Enterotoxinen....	165
2.15.19	<i>Bacillus cereus</i>	166
2.15.19.1	Auswertung.....	166
2.15.19.2	Ermittlung der aeroben Sporenzahl.....	167
2.15.20	<i>Clostridium perfringens</i>	168
2.15.20.1	Untersuchungsgang.....	168
2.15.20.2	Auswertung und Bestätigung.....	168
2.15.21	<i>Clostridium perfringens</i> -Sporen.....	169
2.15.21.1	Analysengang.....	170
2.15.21.2	Beschreibung der Nährböden.....	171
2.15.22	Qualitativer Anaerobier-Nachweis.....	172
2.15.22.1	Durchführung.....	172
2.15.23	Quantitativer Nachweis anaerober Sporen.....	172
2.15.24	Listerien.....	174
2.15.24.1	Nachweis und Nährböden, Prüfung verdächtig gewachsener Kolonien.....	174
2.15.24.2	Grobdifferenzierung.....	177
2.15.25	Milchsäurebakterien.....	178

2.15.25.1	Nachweisverfahren	178
2.15.25.2	Auswertung und Bestätigung	179
2.15.26	Proteolyten	180
2.15.26.1	Nachweis.....	180
2.15.27	Lipolyten.....	181
2.15.27.1	Nachweis.....	181
2.15.28	Halophile - Halotolerante	182
2.15.28.1	Nachweis.....	182
2.15.28.2	Halotoleranz-Test	182
2.15.29	Hefen und Schimmelpilze, Gesamtzahl	183
2.15.30	Osmotolerante Hefen	184
2.15.30.1	Quantitativer Nachweis	184
2.15.30.2	Qualitativer Nachweis.....	184
2.15.30.3	MPN-Zählung hochosmotoleranter Hefen.....	185
2.15.31	<i>Aspergillus flavus</i> und <i>Aspergillus parasiticus</i>	186
2.15.31.1	Nachweis.....	186
2.15.32	<i>Penicillium expansum</i>	187
2.15.32.1	Nachweis.....	187
2.15.33	<i>Bysochlamys</i> -Ascosporen.....	187
2.15.33.1	Nachweis.....	188
2.16	Physikalische Hilfsuntersuchungen	189
2.16.1	Wasseraktivität.....	189
2.16.2	pH-Wert	191
3	Stichprobenpläne - "Gute Herstellpraxis" - Produktklassen	
3.1	Aspekte zum Stichprobenplan	195
3.2	Grundlagen.....	197
3.2.1	Losgröße.....	197
3.2.2	GMP-Richtlinien und HACCP-Konzept	198
3.2.3	Grenz- und Toleranzwerte, Richtwerte und Spezifikationen	198
3.2.4	Klassenplan	200
3.2.5	Consumer Risk - Producer Risk.....	201
3.2.6	Kriterien für die Klassifizierung von Rohstoffen und Fertigwaren	202
3.2.6.1	Gefährdung der Produkte	202
3.2.7	Durchführung von Kontrollen	203
3.3	Produktklassifizierungen - Stichprobenpläne	205
3.3.1	Klassifizierung von Rohstoffen und Fertigwaren	205
3.3.1.1	Rohstoffe	205

3.3.1.2	Fertige Produkte.....	206
3.3.2	Umfang und Häufigkeit von Bemusterungen.....	207
3.3.2.1	Rohstoffe	207
3.3.2.2	Fertige Produkte.....	207
3.3.3	Bemusterung von Konserven und UHT-behandelten Produkten	209
3.3.4	Bemusterungen und Anforderungen nach international anerkannten Richtlinien	210
3.3.5	Überprüfung der Abwesenheit von Salmonellen	211
3.3.5.1	Systematische Bemusterung kontinuierlich hergestellter Pulverprodukte	215

4 Kosmetische Produkte

4.1	Untersuchungsumfang, -methoden und Kriterien	219
4.1.1	Mikrobiologisches Untersuchungsprogramm.....	219
4.1.1.1	Kontaminationsquellen.....	219
4.1.1.2	Notwendige Kontrollen	219
4.1.1.3	Entwicklungsphase	219
4.1.1.4	Produktionsphase	220
4.1.1.5	Produktkontrolle	220
4.1.2	Konservierungsbelastungs-Test	220
4.1.2.1	Prinzip der Methode	221
4.1.2.2	Vorbereitung der Testkeime.....	221
4.1.2.3	Temperaturbelastung des Prüfmaterials	222
4.1.2.4	Bestimmung der Keimzahl.....	222
4.1.2.5	Beurteilung des Belastungstests	223
4.1.3	Mikrobielle Reinheit - mikrobiologischer Status	223
4.1.3.1	Methoden und Anwendungsbereiche für Keimzahl-/ Keimart- Bestimmungen	223
4.1.3.2	Probenahme und -vorbereitung.....	224
4.1.3.3	Untersuchungsbeispiele zu ausgewählten Mikroorganismen.....	224
4.1.4	Mikrobiologische Kriterien.....	229

5 Anhang

5.1	Rezepturen für Farbstoff- und Reagenzlösungen diverser Färbemethoden.....	233
5.1.1	Farbstoff- und Reagenzlösungen.....	233
5.1.1.1	Methylenblaulösung für die Vitalfärbung	233
5.1.1.2	Erythrosinlösung für die Vitalfärbung.....	233
5.1.1.3	Methylenblaulösung.....	233
5.1.1.4	Carbolfuchsinlösung.....	234

5.1.1.5	Malachit-Safranin-Sporenfärbung.....	234
5.1.1.6	Carbolfuchsin-Methylenblau-Sporenfärbung	234
5.1.1.7	Carbolgentianaviolett-Fuchsin-Gramfärbung.....	234
5.1.1.8	Kristallviolett-Safranin-Färbung.....	235
5.2	Stammsammlungen für Bakterien-, Pilz- und Hefekulturen	236
5.2.1	Bakterien	236
5.2.2	Pilz- und Hefekulturen	236
	Literatur	237
	Sachverzeichnis.....	245