

Tierärztliche Hochschule Hannover

Ermittlung der Absterbekinetik von *Bacillus cereus*-Sporen
gegenüber einem Peressigsäurepräparat

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Grades einer Doktorin
der Veterinärmedizin
- Doctor medicinae veterinariae -
(Dr. med. vet.)

vorgelegt von
Nadine Sudhaus

Datteln

Hannover 2010

Wissenschaftliche Betreuung: Univ.-Prof. Dr. Günter Klein
Tierärztliche Hochschule Hannover
Institut für Lebensmittelqualität und -sicherheit

1. Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Günter Klein
2. Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Uwe Truyen

Tag der mündlichen Prüfung: 25. Mai 2010

Meiner Familie

Teilergebnisse dieser Arbeit wurden an folgenden Stellen veröffentlicht:

N. Sudhaus, G. Klein (2008)

Untersuchungen zur Ermittlung der Absterbekinetik von *Bacillus cereus*-Sporen gegenüber einem Peressigsäurepräparat.

In: 49. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes „Lebensmittelhygiene“ der DVG e.V., Garmisch-Partenkirchen 29.09. bis 02.10.2008, Sonderausgabe Amtstierärztlicher Dienst, 133

N. Sudhaus, G. Klein (2009)

Untersuchungen zur Ermittlung der Absterbekinetik von *Bacillus cereus*-Sporen gegenüber einem Peressigsäurepräparat.

In: 49. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes „Lebensmittelhygiene“ der DVG e.V., Garmisch-Partenkirchen 29.09. bis 02.10.2009, Sonderausgabe Amtstierärztlicher Dienst, 54

Inhaltsverzeichnis

Nadine Sudhaus

Ermittlung der Absterbekinetik von *Bacillus cereus*-Sporen gegenüber einem Peressigsäurepräparat

1	Einleitung	1
2	Schrifttum	3
2.1	<i>Bacillus cereus</i>	3
2.1.1	Taxonomie	3
2.1.2	<i>B. cereus</i> -Sporen	4
2.1.3	Lebensmittelhygienische und humanmedizinische Bedeutung	6
2.1.4	<i>B. cereus</i> Toxine	12
2.1.5	Richt- und Warnwerte	15
2.2	Desinfektion	18
2.2.1	Wirkungsspektren chemischer Desinfektionswirkstoffe	19
2.2.2	Einflussfaktoren auf die Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln	21
2.2.3	Materialverträglichkeit	24
2.2.4	Chemische Desinfektionsmittel	25
2.2.5	Resistenzen gegenüber chemischen Desinfektionswirkstoffen	32
2.2.6	Prüfverfahren für chemische Desinfektionsmittel	36
2.2.7	Desinfektionsmittellisten	38
3	Eigene Untersuchungen	39
3.1	Material	39
3.1.1	Desinfektionsmittel / Inaktivierungsmittel	39
3.1.2	Testorganismen	39
3.1.3	Testtemperaturen/Einwirkzeiten	40
3.1.4	Verdünnungsmittel/Nährmedien	40
3.1.5	Belastungssubstanzen	40
3.1.6	Laboraausstattung	41
3.1.7	Chemikalien und Reagenzien	42

3.2	Methoden	43
3.2.1	Herstellung der Sporensuspension.....	43
3.2.2	Verdünnungstest.....	44
3.2.3	Qualitativer Suspensionstest	46
3.2.4	Quantitativer Suspensionstest	48
3.2.5	Verdünnungs-Neutralisationstest (VNT)	50
3.3	Statistische Auswertung	54
4	Ergebnisse	59
4.1	Verdünnungstest nach DVG Richtlinie (2000).....	59
4.2	Qualitativer Suspensionstest	60
4.2.1	<i>B. cereus</i> DSM 318 (Erdbodenisolat)	60
4.2.2	<i>B. cereus</i> DSM 4312 (Emetik-Toxintyp).....	62
4.2.3	<i>B. cereus</i> DSM 4313 (Diarrhoe-Toxintyp).....	65
4.2.4	<i>B. cereus</i> DSM 4384 (Diarrhoe-Toxintyp).....	67
4.3	Quantitativer Suspensionstests und Verdünnungs-Neutralisationstest	69
4.3.1	Keimzahlreduktionen und Varianzanalysen.....	69
4.3.2	Weibull-Verteilung.....	83
5	Diskussion	99
5.1	Auswahl des Desinfektionsmittels	99
5.2	Bakterien	99
5.3	Testarten	101
5.4	Auswertung mittels Weibull-Verteilungsfunktion.....	102
5.5	Einfluss Proteinbelastung	103
5.6	Einfluss Umgebungstemperatur	104
5.7	Resistenz der Keime	105
5.8	Abschließende Diskussion und Ausblick	107
6	Schlussfolgerungen.....	109
7	Zusammenfassung.....	111
8	Summary.....	115

9 Anhang.....	117
9.1 Nicht lineare Analysenergebnisse der Weibull-Verteilungs-Funktion	117
9.1.1 Daten des Verdünnungs-Neutralisationstests im unbelasteten Bereich	117
9.1.2 Daten des Verdünnungs-Neutralisationstests im belasteten Bereich	123
9.1.3 Daten des Quantitativen Suspensionstests im unbelasteten Bereich	130
9.1.4 Daten des Quantitativen Suspensionstests im belasteten Bereich	137
9.2 Tabellenverzeichnis.....	144
9.3 Abbildungsverzeichnis.....	149
9.4 Abkürzungsverzeichnis	150
10Literaturverzeichnis	153
11 Danksagung	179

1 Einleitung

Bacillus cereus (*B. cereus*) ist ein ubiquitär vorkommender, Gram positiver, fakultativ anaerober Sporenbildner. Seine ausgeprägten proteolytischen Eigenschaften führen zu frühzeitigem Verderb von Lebensmitteln. Man vermutet zusätzlich, dass toxinbildende *B. cereus*-Stämme neben *Staphylococcus aureus* eine der häufigsten Ursachen für Lebensmittelintoxikationen in Deutschland darstellen. Sporen von *B. cereus* sind besonders resistente Dauerformen, die Erhitzungsprozesse mit sehr hohen Temperaturen überleben und durch diese zum Auskeimen angeregt werden. Ebenso können Sporen in optimalem Milieu wie z. B. gekochten und gegarten Lebensmitteln in ihre vegetative Form konvertieren und Toxine bilden. Es können je nach Bakterienstamm unterschiedliche Enterotoxine (Diarrhoe Syndrom) oder ein emetisches Toxin (Emetik Syndrom) gebildet werden. Nachweise in Lebensmitteln erfolgten unter anderem in warmgehaltenen Fleisch- und Milchprodukten sowie Reis- und Nudelgerichten.

Zur Verbesserung der Qualität und Sicherheit von Lebensmitteln ist daher eine Reinigung und Desinfektion notwendig, die die hohe Resistenz von *B. cereus*-Sporen berücksichtigt. Dies beinhaltet die Abtötung von vegetativen Formen (Bakterizidie) und die der Sporen (Sporizidie). Für Sporizidie müssen höhere Desinfektionsmittelkonzentrationen und / oder längere Einwirkungszeiten gewählt werden. Ein besonderes Augenmerk ist auf die Auswahl des Wirkstoffes zu richten, da nur wenige chemische Desinfektionsmittel sporizid wirken. Für diese Studie wurde ein handelsübliches Peressigsäurepräparat (Hauptinhaltsstoff Peressigsäure) verwendet, da Peressigsäure nachweislich sporizid wirkt. Für die Optimierung sporizider Desinfektionsverfahren, ist es erforderlich, Informationen über den genauen zeitlichen Verlauf der Inaktivierung von Sporen zu erhalten.

Präzise Modelle des Absterbeverhaltens von Bakteriensporen helfen bei der Planung effektiver und effizienter Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen. Bei der Kenntnis notwendiger Anwendungskonzentrationen und Einwirkungszeiten, können Unter- bzw. Überdosierungen verhindert werden. Ebenso können Kälte- und Eiweißfehler quantifiziert und erforderlichenfalls kompensiert werden. Dadurch wird eine höhere Sicherheit für den Konsumenten garantiert, die Umwelt wird geschont und dem Anwender entstehen keine unnötigen Kosten.

Diese Studie hat es sich daher zum Ziel gesetzt, die Absterbekinetiken von Sporen von vier verschiedenen *B. cereus*-Stämmen zu ermitteln (3 Toxinbildner, 1 Erdbodenisolat). Dies ermöglicht eventuell vorhandene Resistenzunterschiede der Sporen zu erfassen. Zusätzlich war es von Interesse, wie stark sich verschiedene Umweltfaktoren auf den Desinfektionserfolg auswirken. Daher wurde die Wirkung des Desinfektionsmittels neben drei verschiedenen Temperaturen (10 °C, 15 °C und 20 °C) auch mit und ohne Proteinbelastung getestet. Es sollten ein qualitativer und zwei quantitative Testverfahren aus den Richtlinien zur Prüfung chemischer Desinfektionsmittel der DVG zum Einsatz kommen. Diese sollen eine Testarten-übergreifende Aussage zu den gewonnenen Ergebnissen ermöglichen.

2 Schrifttum

2.1 *Bacillus cereus*

2.1.1 Taxonomie

Die Spezies *Bacillus cereus* (FRANKLAND u. FRANKLAND 1887) zählt taxonomisch zum Genus *Bacillus*, welches laut Bergey's Manual of Determinative Bacteriology in die Gram positiven, endosporenbildenden Stäbchen und Kokken eingruppiert wird (HOLT et al. 1994). Gab es im Manual von 1986 nur 34 eindeutig geklärte Spezies (26 unsicher), so zählen heute bereits 154 Spezies zum Genus *Bacillus* (EUZEBY 2009). Da es zum Teil sehr große genetische Übereinstimmungen zwischen den einzelnen Spezies gibt, lag es nahe, diese in Gruppen einzuteilen.

Eine Gruppe dieser Gattung ist die *Bacillus cereus*-Gruppe. Zu dieser zählen *B. cereus sensu stricto*, *B. thuringiensis*, *B. mycoides*, *B. pseudomycoides*, *B. weihenstephanensis* und *B. anthracis*. *B. weihenstephanensis* (LECHNER et al. 1998) und *B. pseudomycoides* (NAKAMURA 1998) kamen erst im Jahre 1998 hinzu. *B. weihenstephanensis* wurde als eigene Spezies eingeordnet, da sie psychrotolerant ist. Neueste Studien geben einen näheren Einblick in die Psychrotoleranz der *B. cereus*-Gruppe, welche dort auch speziesübergreifend vorhanden ist (ARNESEN et al. 2007; GUINEBRETIERE et al. 2008). Aufgrund ihrer großen genetischen Homologie wird in der Literatur daher diskutiert, ob diese Spezies wirklich voneinander abgrenzbar sind.

So fanden SOMERVILLE und JONES bereits 1972 in DNA-DNA-Hybridisierungsstudien sehr große genetische Übereinstimmung zwischen *B. anthracis*, *B. mycoides*, *B. thuringiensis* und *B. cereus*. Auch ASH et al. (1991) fanden bei diesen vier Spezies auf der Basis der 16s rRNA Sequenzierung nicht genügend Unterschiede, um einzelne Spezies zu rechtfertigen. LOGAN und BERKELEY (1984) schlugen aufgrund von phänotypischen Tests sogar vor, *B. mycoides* und *B. thuringiensis* als Subspezies von *B. cereus* zu betrachten. BAUMANN et al. (1984) und CARLSON et al. (1994) sehen *B. cereus* und *B. thuringiensis* als eine Spezies an. Das einzige Unterscheidungskriterium zwischen *B. cereus* und *B. thuringiensis* ist das Vorkommen von sogenannten parasporalen Kristallen bei der Versporung von *B. thuringiensis*, welches plasmidgebunden sein kann (BAUMANN et al. 1984; EFSA 2004). LAPIDUS et al. (2008) geben *B. anthracis* als den phylogenetischen Ursprung von *B. cereus* an.

Da die Möglichkeit der Abgrenzung einzelner Spezies von einander in Frage gestellt wird, ist es sinnvoll, vorerst in Gruppen einzuteilen. Die Grundlage für diese Einteilung kann über verschiedene Kriterien erfolgen. BLACK et al. (1997) wählten die Analyse der Phospholipide in den Zellmembranen zur Gruppierung der Spezies und ordneten *B. anthracis*, *B. cereus* und *B. thuringiensis* der *B. cereus*-Gruppe zu. Eine andere Einteilung der Spezies kann über ihre Sporenform und das Nukleinsäurenmuster der Sporen erfolgen. Die *B. cereus*-Gruppe wurde hier der Gruppe 1A zugeordnet (FITZ-JAMES u. YOUNG 1959).

In der Vergangenheit gab es häufig Umbenennungen und neue Zuordnungen innerhalb des Genus *Bacillus*. Beispielhaft deckte CLARK (1937) auf, dass *Bacillus siamensis* fälschlicherweise als eigene Spezies eingeordnet wurde, obwohl diese identisch war mit *B. cereus*. So wäre es auch denkbar, dass in Zukunft mit dem Einsatz neuer molekularbiologischer Techniken (größere Genabschnitte bis hin zur vollständigen genomischen Entschlüsselung einzelner Spezies) neue Zuordnungen erfolgten. Bisher sind nur 9000 der geschätzten 20.000 bis 25.000 protein-kodierenden Gene der *B. cereus*-Gruppe sequenziert (LAPIDUS et al. 2008).

2.1.2 *B. cereus*-Sporen

B. cereus ist eines der wenigen Bakterien, welches dazu in der Lage ist, eine Dauerform auszubilden. Diese Dauerformen mit gebremsten Stoffwechsel und einer besonderen und vielschichtigen äußeren Membran nennen sich Sporen. Die Sporen von *B. cereus* gehören zu den Endosporen (Bildung in der Bakterienzelle).

Sporen von *B. cereus* sind mit einem Zelldurchmesser $> 1,0 \mu\text{m}$ relativ groß. Sie sind hydrophob, beinhalten Lipidkörperchen und haben kein aufgetriebenes Sporangium. Der vielschichtige Aufbau einer Spore, der in Abbildung 2.1 schematisch dargestellt wird, ist ein Faktor für ihre hohe Resistenz. Das Exosporium setzt sich aus 52,1 % Proteinen, 20 % Polysacchariden, 18 % Fett und 3,8 % Asche zusammen (MATZ et al. 1970). Aber nicht nur das Exosporium auch der Sporenmantel und die Sporenwand stellen für Desinfektionsmittel eine Hürde dar. So mögen manche Biozide den Sporenmantel durchbrechen, allerdings nicht dazu in der Lage sein die Sporenwand zu überwinden (BLOOMFIELD u. ARTHUR 1994). Der gebremste Stoffwechsel ist eine weitere protektive Eigenschaft, da hierdurch eine geringere Diffusion durch die verschiedenen Sporenhüllen stattfinden muss und kann.

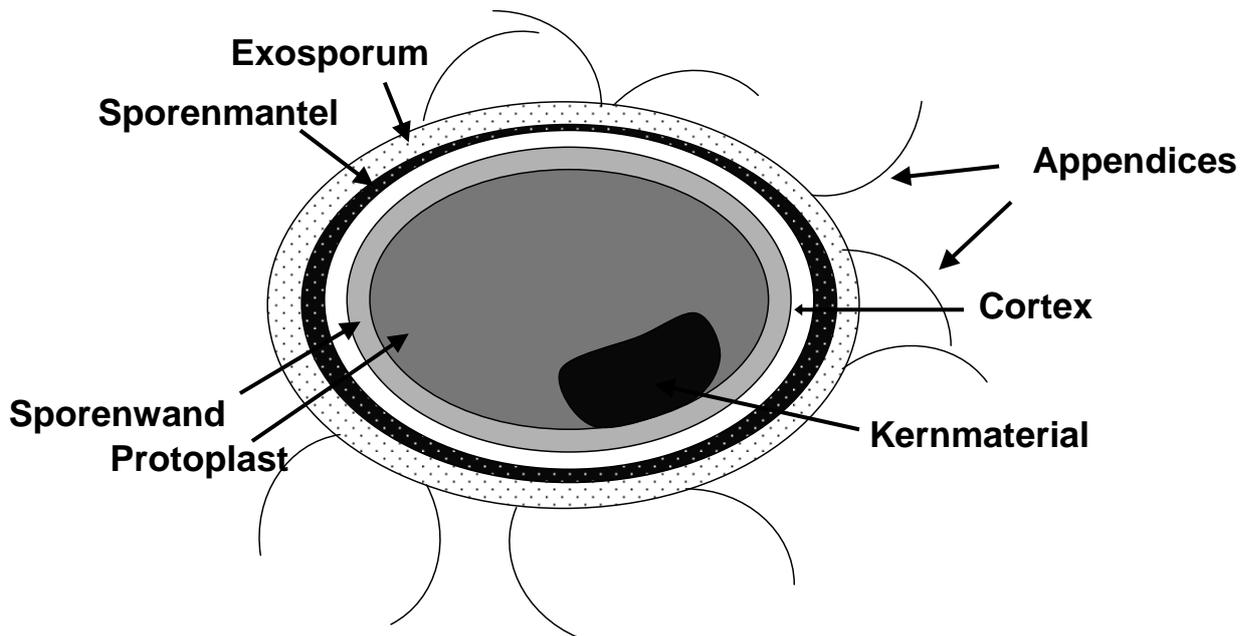


Abbildung 2.1: Schematischer Aufbau einer Spore

RYU et al. (2005) stellten fest, dass *B. cereus*-Stämme zwar bei niedrigen Temperaturen wachsen können, aber erst ab ca. 22 °C versporen. Ob dies bei einem Großteil der *B. cereus*-Stämme der Fall ist, bleibt noch unklar.

Die Auskeimung der Sporen erfolgt über zwei Phasen. Diese Phasen wurden als „pregermination“ und „germination“ bezeichnet (LEVINSON u. SEVAG 1953). JENSEN (1950) beschrieb analog hierzu das vorvegetative Stadium und die aktuelle Auskeimung. Im vorvegetativen Stadium laufen jegliche biochemischen und auch strukturellen Änderungen der Spore ab, die vor der Sprengung der äußeren Kapsel durchlaufen werden (z.B. Verlust von Thermoresistenz und der lichtbrechenden Eigenschaften unter dem Mikroskop). Die aktuelle Auskeimung ist der Schritt, bei dem die äußere Kapsel gesprengt wird. Die erste Phase der Auskeimung ist in einem Temperaturbereich von -1 °C bis 59 °C und die zweite zwischen 10 °C und 44 °C möglich (KNAYSI 1964, 1965).

2.1.3 Lebensmittelhygienische und humanmedizinische Bedeutung

Das **Vorkommen** von *B. cereus* in Lebensmitteln ist vielfältig. Tabelle 2.1 gibt einen Überblick über die verschiedenen Lebensmittel, in denen *B. cereus* nachgewiesen wurde. Neben kontaminierter Milch steht besonders häufig Reis im Zusammenhang mit *B. cereus*-Intoxikationen. Die Kontamination von rohem, ungekochtem Reis mit einer geringen Keimzahl von *B. cereus* wurde oft beschrieben (BRYAN et al. 1981; KAMAT et al. 1989; LEE et al. 1995; NOTERMANS u. BATT 1998; ERBSLÖH 2007). Durch den Kochvorgang werden vegetative Formen abgetötet. Sporen hingegen können überleben, bei relativ hohen Temperaturen auskeimen, sich vermehren und Toxine bilden. Die maximale Wachstumsrate von *B. cereus* in gekochtem Reis liegt laut HEO et al. (2009) bei 40 °C und einem pH von 6,8. Aber auch bei höheren Temperaturen ist das Wachstum von *B. cereus* möglich. So wurde in der Literatur ein Wachstum bei 45 °C (HAQUE u. RUSSELL 2005), bei 46 °C (WARTH 1978), bei 48 °C (OLM u. SCHEIBNER 1993) und bei 50 °C beschrieben (JOHNSON et al. 1983; ANDERSON BORGE et al. 2001; FEHLHABER et al. 2001). Eine Studie des Bundesinstituts für Risikobewertung stellte sogar bei 60 °C noch Wachstum von *B. cereus* fest (BFR 2008). Zur Minimierung des Gefährdungspotenzials wird daher eine Lagerung von zubereiteten Speisen bei mindestens 65 °C gefordert (BFR 2008). In der Literatur existieren nur wenige Angaben zur **Prävalenz** von Erkrankungen, die mit *B. cereus* assoziiert sind. Laut §§ 5 und 6 des Infektionsschutzgesetzes (IfSG) besteht in Deutschland keine Meldepflicht für *B. cereus*-assoziierte Erkrankungen (ANONYM 2000). Ebenso stuft die Richtlinie 2003/99/EG *B. cereus* nicht als überwachungspflichtigen Zoonoseerregerein (ANONYM 2003). Ein weiterer Aspekt, der zu einer unterschätzten Anzahl von *B. cereus*-assoziierten Krankheitsausbrüchen führen könnte, ist seine Symptomatik. Diese ist einerseits mit einer Dauer von ca. 24 h recht kurz und andererseits besitzt sie ein klinisches Bild, welches fälschlicherweise anderen bakteriologischen Intoxikationserregern zugeordnet werden könnte. So weist die Symptomatik des Emetik-Syndroms eine große Ähnlichkeit mit *Staphylococcus aureus*-Intoxikationen und die des Diarrhoe-Syndroms mit denen von *Clostridium perfringens*-Intoxikationen auf. Zur Verdeutlichung dieses Sachverhaltes sind in Tabelle 2.2 die klinischen und epidemiologischen Daten der *B. cereus*-, *Clostridium perfringens*- und *Staphylococcus aureus*-assoziierten Erkrankungen vergleichend dargestellt.

Tabelle 2.1: Vorkommen von *B. cereus* in Lebensmitteln

Art des Lebensmittels	Autoren
Milch und Milchprodukte (roh, pasteurisiert oder ultraheißerhitzt)	AHMED et al. (1983) ; WONG et al. (1988) ; KAMAT et al. (1989) ; CHRISTIANSSON et al. (1989) ; VAN NETTEN et al. (1990) ; TODD (1992) ; BUCK et al. (1992) ; TE GIFFEL et al. (1995) ; LEE et al. (1995) ; LARSEN und JORGENSEN (1997) ; LIN et al. (1998) ; SVENSSON et al. (2006) ; CHITOV et al. (2008) ; AIRES et al. (2009)
Trockenmilchprodukte	WONG et al. (1988) ; KAMAT et al. (1989) ; BECKER et al. (1994) ; GAREIS und WALZ (1994) ; KIM et al. (2000)
Reis und Reisprodukte (roh, gekocht oder gebraten)	TAYLOR u. GILBERT (1975) ; TERRANOVA u. BLAKE (1978) BRYAN et al. (1981) ; EL-SHERBEENY et al. (1985) VAN NETTEN et al. (1990) ; MICHINO und OTSUKI (2000) RIPABELLI et al. (2000) ; ERBSLÖH (2007) ; KIM et al. (2009)
Chinesisches Essen	BEAN und GRIFFIN (1990) ; TODD (1992)
Kinder- und Säuglingsnahrung	BECKER et al. (1984; 1994) ; ROWAN et al. (1997) DUC et al. (2005) ; SHAHEEN et al. (2006) ; ERBSLÖH (2007)
Süßspeisen (Backwaren, Eis, Pudding, Vanillesauce etc.)	HAUGE (1955) ; NIKODEMUSZ und CSABA (1959) AHMED et al. (1983) ; WONG et al. (1988) BEAN und GRIFFIN (1990) ; VAN NETTEN et al. (1990)
Nudeln und Nudelgerichte	VAN NETTEN et al. (1990) ; RUSUL und YAACOB (1995) PIRHONEN et al. (2005) ; ERBSLÖH et al. (2007)
Fleisch und Fleischprodukte	DAUER und DAVIDS (1960) ; MIDURA et al. (1970) TAYLOR und GILBERT (1975) ; GIANELLA und BRASILE (1979) ; DEBUONO et al. (1988) ; KAMAT et al. (1989) ; BEAN und GRIFFIN (1990) ; VAN NETTEN et al. (1990)
Gewürze	KAMAT et al. (1989) ; VAN NETTEN et al. (1990) RUSUL und YAACOB (1995) ; GIACCONE et al. (1996) BANERJEE und SARKAR (2004)
Kartoffelsalat	GAULIN et al. (2002)
Getreide	RUSUL und YACOOB (1995)
Honig	IURLINA et al. (2006)
Hülsenfrüchte	RUSUL und YACOOB (1995)
Gemüsesprossen	PORTNOY et al. (1976)
Käse	AHMED et al. (1983) ; VAN NETTEN et al. (1990) ; IURLINA et al. (2006)
Shrimps	KAMAT et al. (1989)
Zerealien	CHITOV et al. (2008)
Früchte, Gemüse und vegetarische Lebensmittelprodukte	MORENO et al. (1985) ; BEAN und GRIFFIN (1990) FANG et al. (1999) ; CARLIN et al. (2000)
Krustentiere	TODD (1992)
Salat	VAN NETTEN et al. (1990)
Erbsensuppe	VAN NETTEN et al. (1990)

Tabelle 2.2: Lebensmittelintoxikationen durch *B. cereus*, *C. perfringens* und *S. aureus*: Vergleich klinischer und epidemiologischer Daten, modifiziert nach KRAMER und GILBERT (1989)

	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Bacillus cereus</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>
		Diarrhoe-Syndrom	Emetik-Syndrom	
Einsetzen der Symptome (h)	8 - 22	8 - 16	1 - 5	2 - 6
Dauer der Krankheit (h)	12 - 24	12 - 24	6 - 24	6 - 24
Diarrhoe, abdominale Krämpfe	überwiegend	überwiegend	relativ häufig	häufig
Nausea, Emetik	selten	gelegentlich	überwiegend	überwiegend
Pathogenese	Toxin-vermittelt ^a	Toxin-vermittelt ^b	Toxin-vermittelt ^c	Toxin-vermittelt ^c
beteiligte Lebensmittel	gekochtes Fleisch und Geflügelfleisch	Fleischprodukte, Suppen, Puddings, Gemüse, Saucen	gekochter Reis und Nudeln	kaltes gekochtes Fleisch und Geflügelfleisch, Milchprodukte

^a Sporulations-assoziiertes Toxin, das im Dünndarm frei wird

^b Toxin, das sich im Lebensmittel gebildet hat oder im Dünndarm produziert wurde

^c Toxin, das sich im Lebensmittel gebildet hat

BEAN und GRIFFIN (1990) werteten Daten der CDC's (Centers of disease control) der **Vereinigten Staaten von Amerika** von 1973 bis 1987 aus. *B. cereus* hatte hier mit 58 Ausbrüchen einen Anteil von 3 %. Die hauptsächliche Ursache (94 %) ergab sich aus einer Aufbewahrung bei nicht angemessenen Temperaturen, aber auch kontaminierte Arbeitsgegenstände waren ein wichtiger Einflussfaktor (53 %). Von 1993 bis 1997 wurden 0,5 % der Ausbrüche und 0,8 % der Fälle lebensmittelbedingter Erkrankungen *B. cereus* zugeordnet (CDC 2000). In den Jahren 1998 bis 2002 lagen die Ausbrüche bei 0,6 % und die Fälle bei 0,4 % der gemeldeten lebensmittelbedingten Erkrankungen (CDC 2006). Die Meldungen von *B. cereus* Erkrankungen an das CDC erfolgen auf freiwilliger Basis und nur selten werden Schnelltests auf *B. cereus*-Toxine eingesetzt.

Das nationale Berichtswesen über lebensmittelbedingte Erkrankungen in **Kanada** stellte in den Jahren von 1975 bis 1984 im mikrobiologischen Sektor fest, dass *B. cereus* mit durchschnittlich 57 Fällen pro Jahr an fünfter Stelle der häufigsten Erreger stand (TODD 1992).

Die europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) veröffentlicht jährlich einen Bericht über Trends und Ursprünge von Zoonosen, zoonotischen Agenzien, antimikrobiellen Resistenzen und lebensmittelbedingten Krankheitsausbrüchen. Im Jahre 2005 beteiligten sich 23 Mitgliedsstaaten der **europäischen Union (EU)** und meldeten 5.355 lebensmittelbedingte Krankheitsausbrüche. *B. cereus* wurde bei 74

Ausbrüchen (1,4 %) als Ursache bestätigt (EFSA 2006). Für das Jahr 2006 meldeten 22 Mitgliedsstaaten 5.710 lebensmitteldbedingte Krankheitsausbrüche, von denen 77 (1,3 %) *B. cereus*-assoziiert waren (EFSA 2007). Seit 2007 wurde der Bericht der EFSA in mehreren Bereichen spezifiziert. So meldeten 22 Mitgliedsstaaten 5.609 lebensmittelbedingte Krankheitsausbrüche von denen 8,2 % (458 Fälle) auf bakterielle Intoxikationen zurückgeführt werden konnten. Unter den Intoxikationen befand sich *B. cereus* mit 102 Fällen auf Rang zwei nach *Staphylococcus aureus* und sein prozentualer Anteil aller lebensmittelbedingter Krankheitsausbrüche lag bei 1,8 % (EFSA 2009).

Eine fehlende Vereinheitlichung der unterschiedlichen Meldesysteme und die Tatsache, dass nicht jeder lebensmittelbedingte Krankheitsausbruch auf seine Ätiologie hin untersucht wird, lässt die Möglichkeit von großen Dunkelziffern zu.

KLEER et al. (2001) führten von 1985 bis 2000 in 183 Verpflegungseinrichtungen der **deutschen Bundeswehr** eine Langzeit-Studie durch, in welcher jegliche lebensmittelbedingten Krankheitsausbrüche auf den zugrunde liegenden mikrobiologischen Erreger untersucht wurden. Hierbei zeigte sich eine deutliche Steigerung der *B. cereus*-assoziierten Krankheitsausbrüche. Ihr prozentualer Anteil stieg von knapp über 20 % auf fast 70 %. Eine weitere Studie zeigte bei 14 % der Oberflächen (n = 4412) von verschiedenen Verpflegungseinrichtungen der Bundeswehr eine durchschnittlich Kontamination mit 10^2 bis 10^3 KBE/ml nach der Reinigung und Desinfektion (ERNST et al. 2001). Auch KREUZBERGER et al. (2008) fanden eine Prävalenz von 12 % für die Oberflächen (n = 1260) und 38 % für die Hände des Personals (n = 210) von 21 verschiedenen Verpflegungseinrichtungen der Bundeswehr.

Das *B. cereus* gerade in Massenverpflegungseinrichtungen eine Bedrohung darstellt, wird durch die Ausführungen von HAUGE (1955) deutlich. Er berichtet über vier größere Ausbrüche in Norwegen, drei in Krankenhäusern und einen in einem Altenheim mit insgesamt ca. 600 betroffenen Personen. Als Ursache des Letzteren ergab sich eine Vanillesauce, die nicht gekühlt gelagert wurde. Ebenso ergaben sich bei KLEER et al. (2001) bei vier Ausbrüchen, die mit Grießbrei assoziiert waren, insgesamt 441 erkrankte Personen. Diese Berichte deuten auf die Wichtigkeit hin, gerade in größeren Küchenbetrieben ein striktes Temperaturregime einzuhalten.

Arten der Intoxikationen

B. cereus-Stämme sind in der Lage Toxine zu bilden. Für den Menschen erwiesen sich Enterotoxine (Diarrhoe Syndrom) (GRANUM u. LUND 1997) und ein emetisches Toxin (Emetik Syndrom) (ANDERSSON et al. 2007) als pathogen. *B. cereus* zeigte sich besonders in Massenverpflegungseinrichtungen, Fertigprodukten und Kindernahrung als Sicherheitsrisiko (BECKER et al. 1994; DUC et al. 2005). Auch wenn in der Regel die Symptomatik relativ mild verläuft, so kam es vereinzelt auch zu sehr schwerwiegenden Intoxikationen mit Todesfolge (MAHLER et al. 1997; DIERICK et al. 2005). *B. cereus* ist in der Lage, eine breite Facette von Intoxikationen hervorzurufen. Diese beinhalten nicht nur gastrointestinale, sondern auch lokale und systemische Erkrankungen. Einen Überblick über bisher berichtete Erkrankungen, die nachweislich mit *B. cereus* assoziiert waren, gibt Abbildung 2.2. Fallbeispiele aus der Literatur sind in Tabelle 2.3 aufgeführt.

Veterinärmedizinische Bedeutung

B. cereus ist nicht nur für Menschen eine mögliche Infektionsquelle. Beim **Rind** treten selten, dafür zum Teil sehr schwere Formen von Mastitiden auf (TERPLAN 1957; GOEPFERT et al. 1972; JONES u. TURNBULL 1981; GEDEK 1986; FABBI et al. 1989). Ursachen können infizierte Trockenstellpräparate oder auch Zitzentraumata sein (GOEPFERT et al. 1972). In der Literatur sind auch Fälle von *B. cereus*-assoziierten Aborten von Rindern beschrieben worden (WOHLGEMUTH et al. 1972a). Bei **Schafen** konnten Aborte hingegen nur experimentell provoziert werden (WOHLGEMUTH et al. 1972b). Ebenso konnte bei zwei Dermatitiden von **Pferden** *B. cereus* als Verursacher isoliert werden (FRÖHLICH 1991).

B. cereus Toxine besitzen eine hohe Toxizität, die NIKODEMUSZ und GONDA (1963a) bei **Mäusen** nach intraperitonealer, subkutaner, intramuskulärer, intranasaler und intracerebraler Applikation, bei **Meerschweinchen** hingegen nur intraokulär provozieren konnten. Allgemein sind Nagetiere weitaus weniger empfindlich als Hunde und Katzen. So konnte bei Nagetieren auch keine enteropathogene Wirkung erzielt werden (NIKODEMUSZ u. GONDA 1963b). Eine enteropathogene Wirkung konnte *B. cereus* bei **Chinchillas** (CZERNOMYSY-FUROWICZ et al. 2000), **Hunden** (NIKODEMUSZ 1967; CHASTAIN u. HARRIS 1974; GAREIS u. WALZ 1994) und **Katzen** nach oraler Aufnahme hervorrufen (NIKODEMUSZ 1965; NIKODEMUSZ u. GONDA 1966).

Die Spezies *B. cereus* ist allerdings nicht nur schädlich. So gibt es auch ein **Probiotikum** auf dem Markt (ToyoCerin®), das als Futtermittelzusatz für Ferkel, Schweine, Sauen, Masthühner, Legehennen, Kälber, Mastrinder, Zuchtkaninchen und Mastkaninchen zugelassen ist. Dieses Produkt enthält hohe Konzentrationen von Sporen des Stammes *B. cereus* var. *toyoi*.

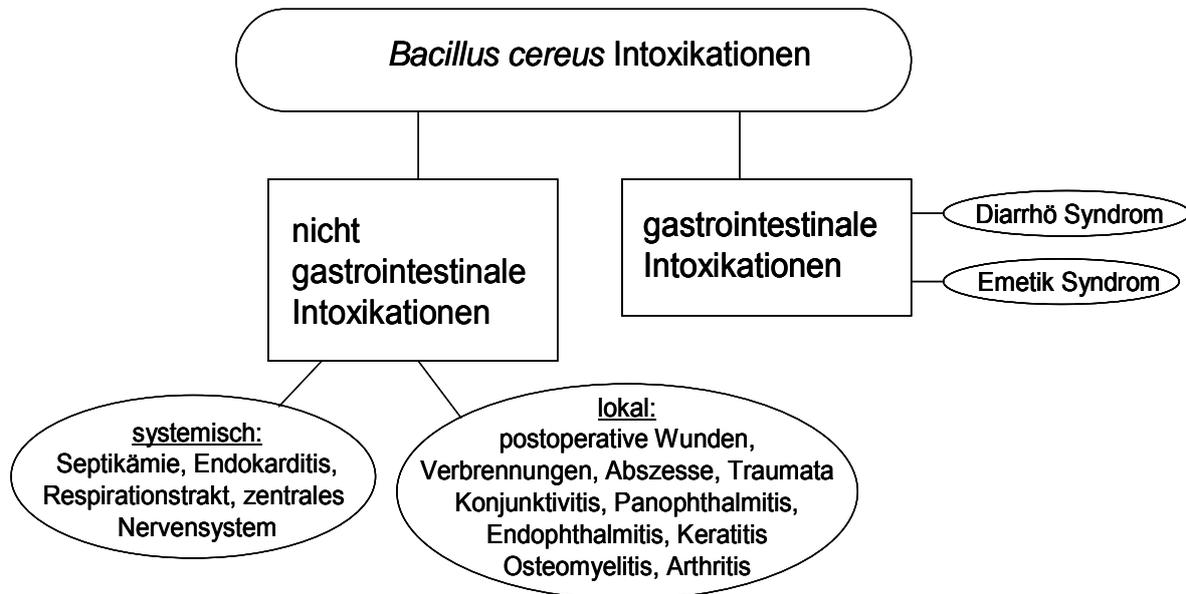


Abbildung 2.2: Schematische Darstellung von *B. cereus* Intoxikationen, modifiziert nach DROBNIEWSKI (1993)

Tabelle 2.3: *B. cereus*-assoziierte Intoxikationen des Menschen

Nicht gastrointestinale Intoxikationen	Quelle in der Literatur
Infektionen des Auges	GREENWALD et al. (1986) ; SCHEMMER und DRIEBE (1987); SLIMAN et al. (1987) ; CALLEGAN et al (1999) ; PINNA et al. (2001)
Bakteriämie	COONROD et al. (1971) ; SLIMAN et al. (1987) ; VAN DER ZWET et al. (2000) ; HILLIARD et al. (2003) ; JOHN et al. (2007)
Infektionen des Respirationstraktes	COONROD et al. (1971) ; JEVON et al. (1993) ; GRAY et al. (1999)
Endokarditis	SLIMAN et al. (1987) ; OSTER und KONG (1982)
Infektionen des zentralen Nervensystems	JENSON et al. (1989) ; WEISSE et al. (1991) ; TOKIEDA et al. (1999)
Darmperforation	GIRISCH et al. (2003)
Subkutaner Abszess	SLIMAN et al. (1987)
Wundinfektionen	DRYDEN (1987)
Chronische Osteomyelitis	SLIMAN et al. (1987)

2.1.4 *B. cereus* Toxine

Der **Toxinnachweis** wurde Anfang der siebziger Jahre durch *in-vivo* Versuche durchgeführt. Es existierten mehrere Versuchsarten, nämlich der Darmschlingenligationstest (rabbit ileal loop test = RIL) (SPIRA u. GOEPFERT 1972), die Gefäßpermeabilitäts-Reaktion (vascular permeability reaction = VPR) (GLATZ et al. 1974), der Mäuseletalitätstest (MLT) (BURDON et al. 1967), der Affenfütterungstest (SHINAGAWA et al. 1995) und ein Hautreaktionstest (guinea pig skin assay) (GLATZ u. GOEPFERT 1973). Heutzutage kommen, falls möglich, vermehrt molekularbiologische Verfahren (PCR) zum Einsatz. Diese geben allerdings nur einen Hinweis auf das potentielle Toxinbildungsvermögen. Zellkulturtests auf der Basis von Vero-Zellen und CaCo-2-Zellen können die Toxizität wiedergeben, jedoch kein spezifisches Toxin bestimmen. Für den immunchemischen Nachweis von zwei Enterotoxinen (L₂-Komponente von HBL und NheA-Komponente des Nhe) und deren Differenzierung existieren bereits kommerzielle Testkits (BEECHER u. WONG 1994b; MORAVEK et al. 2004).

Es existieren drei unterschiedliche **Enterotoxine**, von denen angenommen wird, dass sie während des vegetativen Wachstums des *B. cereus* im Dünndarm gebildet werden (GRANUM 1994).

1. Non hemolytic enterotoxin (Nhe)

Das Enterotoxin ist ein trypsinempfindliches Protein. Es ist hitzelabil und in einem pH Bereich von 4 bis 11 stabil (OLM u. SCHEIBNER 1993). Das Toxin setzt sich aus den drei Komponenten NheA, NheB und NheC zusammen (LUND u. GRANUM 1996). Diese drei Proteinuntereinheiten besitzen Molekulargewichte von 41,0 kDa (NheA), 39,8 kDa (NheB) und 36,5 kDa (NheC) (GRANUM et al. 1999). Der Nhe-Komplex scheint weit verbreitet innerhalb der *B. cereus*-Population, so fanden HANSEN und HENDRIKSEN (2001) in ihrer Studie bei 59 % der *B. cereus*-Stämme alle drei Komponenten. Das Enterotoxin aktiviert das Adenylat-Zyklase-cAMP-System, welches vermehrte Flüssigkeitsausscheidung in das Darmlumen und somit Diarrhoe verursacht (TURNBULL 1976). FAGERLUND et al. (2008) stellten bei Zellen, die Nhe ausgesetzt wurden, eine osmotische Lysis gefolgt von einer Porenbildung in der Plasmamembran fest.

2. Hämolysin BL (HBL)

Das Hämolysin BL wurde erstmals von BEECHER und MACMILLIAN (1990) beschrieben. Es verursacht Hämolyse, ist zytotoxisch und enterotoxisch und setzt sich aus den drei Komponenten B, L₁ und L₂ zusammen (BEECHER et al. 1995). Die Komponenten sind Proteine mit einem Molekulargewicht von 38,1 kDa (B-Komponente), 39,5 kDa (L₁-Komponente) und 44,8 kDa (L₂-Komponente) (BEECHER u. WONG 2000). Alle drei Komponenten sind für eine maximale biologische Aktivität notwendig (BEECHER u. WONG 1994a). IN'T VELD et al. (2001) fanden bei einer Untersuchung von 86 verschiedenen *B. cereus*-Stämmen bei 55 % alle drei Komponenten. Die Komponenten liegen auf einem Operon und werden in eine messenger-Ribonukleinsäure (mRNA) transkribiert (HEINRICHS et al. 1993; RYAN et al. 1997). Die Wirkungsweise ist noch nicht sicher geklärt. Es wird angenommen, dass die drei Komponenten unabhängig voneinander an die Zielzellen binden und sich zu einem „membran-attackierenden“ Komplex zusammenfügen, der dann in der Membran Porenbildung induziert (BEECHER u. WONG 1997).

3. Cytotoxin K (Cyt K)

Bei Cytotoxin K handelt es sich um ein Exoprotein (33,8 kDa) mit nekrotischen und hämolytischen Eigenschaften, das erstmals von LUND et al. (2000) beschrieben wurde. Cytotoxin K ist in der Lage, Ionen durchlässige Kanäle zu bilden (HARDY et al. 2001) und wird daher zu den „poren-bildenden“ Toxinen gezählt. Zwei weitere bekannte Vertreter dieser Toxinfamilie sind das α -Hämolysin (*Staphylococcus aureus*) und das β -Toxin von *Clostridium perfringens* (MENESTRINA et al. 2001). In einer Studie von GUINEBRETIÈRE et al. (2002) wurde Cytotoxin K bei 73 % der Diarrhoe verursachenden *B. cereus*-Stämmen nachgewiesen. FAGERLUND et al. (2004) fanden heraus, dass zwei unterschiedliche Varianten des Cytotoxins existieren. Cytotoxin-K-2 besaß nur 20 % der toxischen Aktivität des Cytotoxin-K-1 (FAGERLUND et al. 2004). Zur Abgrenzung der beiden Cytotoxine CytK 1 und CytK 2 haben GUINEBRETIÈRE et al. (2006) ein Duplex PCR System entwickelt.

Neben den Enterotoxinen existiert auch ein **Emetik-Toxin**, welches das Emetik-Syndrom verursacht. Dieses bildet sich bereits im Lebensmittel und führt nach Ingestion relativ rasch (1 – 5 h) zur Emesis (KRAMER u. GILBERT 1989).

Cereulid

Cereulid ist ein zyklisches und hitzestabiles Peptid (Dodecadepsipeptid) von ca. 1,2 kDa. Es reizt 5-HT₃-Rezeptoren (Serotonin-Rezeptoren, verantwortlich für

Erbrechen) und wirkt somit auf den Nervus vagus (AGATA et al. 1995). APETROAIE-CONSTANTIN et al. (2008) untersuchten 16 verschiedene *B. cereus*-Stämme, die in der Lage waren, Cereulid zu bilden. Hierbei konnte der Temperaturbereich, in dem Cereulid gebildet wird, auf 20 bis 41 °C eingegrenzt werden. In HEp-2 Zellen (humane Larynx-Karzinom-Zellen) induziert ein Großteil der *B. cereus*-Stämme, die Cereulid produzieren, Vakuolenbildung (HUGHES et al. 1988). Für den Nachweis des Cereulids ist noch kein kommerzielles Testkit entwickelt worden. MIKAMI et al. (1994) entwickelten auf der Grundlage von HEp-2-Zellen einen Toxizitätsnachweis, der in Zusammenhang mit dem Emetik-Toxin stehen soll. ANDERSSON et al. (2007) erweiterten das toxikologische Profil von Cereulid. Hierfür untersuchten sie unter anderem die Wirkung von Cereulid auf die Zelllinien HepG2 (humane Leberkarzinom Zelllinie) und Hepa1 (Mäuse-Hepatom-Zelllinie), sowie seine hemmende Wirkung auf die Motilität von Eberspermatozoen.

Einige *B. cereus*-Stämme sind nicht nur in der Lage, Toxine zu bilden, die auf Makroorganismen schädlich wirken, sondern auch ein **Bakteriozin**:

Cerein

Cerein wirkt selektiv auf andere *B. cereus*-Stämme. Es handelt sich hierbei um ein Protein, das vermehrt zu Beginn der stationären Phase gebildet wird und ca. 9 kDa groß ist. Es wirkt über einen weiten pH Bereich und bleibt bei bis zu 75 °C aktiv (NACLERIO et al. 1993).

Ebenso werden von einigen *B. cereus*-Stämmen folgende Toxine produziert, die potenzielle **Insektizide** darstellen:

Sphingomyelinase C

Sphingomyelinase C wurde von NISHIWAKI et al. (2004) aus einem *B. cereus*-Stamm isoliert und stellte sich als insektizid gegen die deutsche Schabe (*Blatella germanica*) heraus. Es handelt sich um ein Toxin, das ein Molekulargewicht von 34 kDa besitzt und dessen Wirkung vermutlich auf seiner Phospholipid-hydrolysierenden Aktivität beruht (NISHIWAKI et al. 2004).

Zwittermicin A

Zwittermicin A wurde von SILO-SUH et al. (1994) aus dem Stamm *B. cereus* UW85 isoliert. Es handelt sich um ein wasserlösliches, säurestabiles und lineares Aminopolyolmolekül (HE et al. 1994) mit einem Molekulargewicht von 396 Da, das gegen *Phytophthora medicaginis* (ein Erreger von Keimlingskrankheiten) insektizid

wirkt (SILO-SUH et al. 1994). STABB et al. (1994) fanden bei einer Untersuchung von 99 verschiedenen *B. cereus*-Stämmen eine Prävalenz der Zwittermicin A positiven Stämmen von 9 %.

Kanosamin

SILO-SUH et al. (1994) isolierten ein zweites gegen *Phytophthora medicaginis* insektizid wirkendes Molekül aus dem Stamm *B. cereus* UW85. Später wurde dieses durch MILNER et al. (1996) als das zuvor ebenfalls bei *Bacillus aminoglucoosidicus* (UMEZAWA et al. 1967) gefundene Kanosamin (ein Fragment des Kanamycins) identifiziert.

2.1.5 Richt- und Warnwerte

In der VO EG 2073/2005 über mikrobiologische Kriterien für Lebensmittel zuletzt geändert durch VO EG 1441/2007 sind für die Prozesshygiene im Bereich Milch und Milcherzeugnisse Grenzwerte für präsumtive *B. cereus* angegeben (ANONYM 2005b, 2007). Der **Grenzwert** von 5×10^2 KbE/ml bezieht sich auf die Lebensmittelkategorie der getrockneten Säuglingsanfangsnahrung und der getrockneten diätetischen Lebensmittel für besondere medizinische Zwecke, die für Säuglinge unter 6 Monaten bestimmt sind (siehe Tabelle 2.4).

Wenn erhobene Stichproben dieser Produktgruppen Keimzahlen aufweisen, die kleiner oder gleich dem m-Wert sind, wird das Ergebnis als **befriedigend** eingestuft. Als **akzeptabel** gelten Ergebnisse, bei denen möglichst viele c-Werte (Werte über „m“) zwischen „m“ und „M“ liegen und die restlichen Werte kleiner oder gleich dem „m“-Wert sind. Die dritte Einstufungskategorie der Ergebnisse ist ein **Unbefriedigend**. Dies ist dann der Fall, wenn ein oder mehrere gemessene Werte über „M“ oder mehr als c/n-Werte zwischen „m“ und „M“ liegen. Da es sich in diesem Fall um ein „**Prozesshygienekriterium**“ handelt, ist eine Verbesserung der Herstellungshygiene (gestützt auf ein HACCP-Konzept), eine Verhinderung der Rekontamination und eine bessere Auswahl der Rohstoffe als Maßnahmen einzuleiten. Wenn es sich um ein „**Lebensmittelsicherheitskriterium**“ handeln würde, das sich auf ein im Handel befindliches Produkt bezieht, müsste das Erzeugnis oder die Partie Lebensmittel gemäß Artikel 19 der Verordnung (EG) 178/2002 (ANONYM 2002) vom Markt genommen oder zurückgerufen werden und,

falls nötig, der Hersteller oder Verbraucher informiert werden. Ein „Lebensmittelsicherheitskriterium“ für *B. cereus* existiert bisher noch nicht.

Tabelle 2.4 : Auszug aus den Prozesshygienekriterien im Bereich Milch und Milcherzeugnisse (ANONYM 2007)

Mikroorganismen	n	c	m	M	Analytische Referenzmethode	Stufe, für die das Kriterium gilt
präsumtive <i>B. cereus</i>	5	1	50 KbE/ml	500 KbE/ml	EN/ISO 7932	Ende des Herstellungsprozesses

n = Anzahl der Probeneinheiten der Stichprobe, c = Anzahl der Probeneinheiten deren Wert über m oder zwischen m und M liegen dürfen, m und M sind Grenzwerte

Da die Verordnungen nicht für alle Lebensmittelkategorien und Mikroorganismen „Lebensmittelsicherheitskriterien“ angeben, veröffentlicht die DGHM seit 1988 mikrobiologische Richt- und Warnwerte zur Beurteilung von Lebensmitteln. Die dort angegebenen Werte sind als „Lebensmittelsicherheitskriterien“ zu verstehen.

Auch wenn die Werte rechtlich nicht bindend sind, so geben sie aber sowohl den Herstellern und Inverkehrbringern als auch der amtlichen Lebensmittelüberwachung Anhaltspunkte hinsichtlich der Zuordnung zu allgemeinen rechtlichen Hygiene-Anforderungen (DGHM 2007). In Tabelle 2.5 sind von der DGHM ausgearbeitete Richt- und Warnwerte auszugsweise aufgeführt. Der **Richtwert** stellt einen Orientierungswert dar, der bei einer guten Hygienepraxis akzeptabel ist (vergleichbar mit dem „m“-Wert). Eine Überschreitung des Richtwertes weist auf Schwachstellen des Herstellungsprozesses hin. Eine Überschreitung des **Warnwertes** ist ein Zeichen für die Verletzung der guten Hygiene- und Herstellungspraxis (analog zum „M“-Wert), die eine Gesundheitsgefährdung des Verbrauchers nach sich ziehen kann.

In der Literatur werden im Zusammenhang mit *B.cereus*-assoziierten Intoxikationen Keimzahlen von 10^5 bis 10^9 KbE/g erwähnt (GOEPFERT et al. 1972; HOBBS 1974; GILBERT u. TAYLOR 1975). Der höchste Warnwert über alle Produktgruppen hinweg liegt somit mit 1×10^4 KbE/g für *B. cereus* 10fach unter den Werten, die bei Erkrankungen ermittelt werden konnten.

Tabelle 2.5 : Richt- und Warnwerte von *B. cereus* in diversen Produktgruppen (DGHM 2007)

Produktart	Richtwert [KbE/g]	Warnwert [KbE/g]
rohe, getrocknete Teigwaren	1×10^3	1×10^4
Gewürze	1×10^3	1×10^4
Kochprodukte, Trockensuppen, -eintöpfe, -soßen	1×10^3	1×10^4
Instantprodukte	1×10^3	1×10^4
TK-Fertiggerichte (roh/teilgegart)	1×10^3	1×10^4
TK-Fertiggericht (gegart)	1×10^3	1×10^4
offen angebotene feuchte Teigwaren	1×10^3	1×10^4
Patisseriewaren mit nicht durchgebackener Füllung	1×10^3	1×10^4
Tofu	1×10^3	1×10^4
TK-Backwaren (durchgebacken)	1×10^2	1×10^3
TK-Backwaren (roh / teilgegart)	1×10^2	1×10^3
TK-Patisseriewaren	1×10^2	1×10^3
TK-Patisseriewaren mit nicht durchgebackener Füllung	1×10^2	1×10^3
Getreidemahlerzeugnisse	1×10^2	1×10^3
Säuglingsnahrung auf Milchpulverbasis	1×10^2	1×10^3
feuchte verpackte Teigwaren	1×10^2	1×10^3

2.2 Desinfektion

Die Desinfektion ist ein Verfahren, das die Mikroorganismenzahl auf einer Oberfläche oder in einem System auf ein nicht infektiöses Maß reduzieren soll. Im Gegensatz hierzu existiert der Begriff der Sterilisation, bei der alle Mikroorganismen abgetötet werden. Desinfektionsmaßnahmen können durch unterschiedliche Verfahren realisiert werden. Im Allgemeinen unterscheidet man physikalische, aktinische (Strahlung) und chemische Desinfektionsmaßnahmen. Eine Desinfektion ist nicht als alleinstehende Maßnahme anzusehen, sie sollte immer mit einer zuvor sorgfältig durchgeführten Reinigung einhergehen.

An ein chemisches Desinfektionsmittel, das im Lebensmittelbereich zum Einsatz kommen soll, werden viele spezifische Anforderungen gestellt. Denn gerade im Bereich der Lebensmittelherstellung und Lebensmittelverarbeitung steht neben der Arbeitssicherheit, der Materialverträglichkeit (siehe Tabelle 2.9), der Umweltverträglichkeit, dem Wirkungsspektrum insbesondere auch die Rückstandsbildung (mögliche Übertragung auf das Lebensmittel) und sensorische Unbedenklichkeit im Fokus. MROZEK (1980) teilte diese Anforderungen in die drei Hauptgesichtspunkte Wirksamkeit, Anwendbarkeit und Zulässigkeit ein (siehe Abb. 2.3).



Abbildung 2.3: Kriterien zur Auswahl eines Desinfektionsmittels im Lebensmittelbereich, nach MROZEK (1980)

Aufgrund eines mangelhaften Wirkungsspektrums kann es schnell zu ungewollter Selektion von einzelnen Mikroorganismen kommen (siehe Tabelle 2.6). Naturgemäß sind dies tendenziell eher resistenteren Mikroorganismen (siehe Abbildung 2.8). Des Weiteren gibt es einige Einflussfaktoren, die die Wirkung eines Desinfektionsmittels einschränken oder sogar aufheben können (z.B. Kälte-, Seifen- und Eiweißfehler, siehe Kapitel 2.2.2). Bei Wirksamkeit eines Desinfektionsmittels gegen Bakterien spricht man von Bakterizidie, bei der gegen Hefen von Levurozidie, bei Pilzen von Fungizidie, bei der gegen Viren von Viruzidie und bei Sporen von Sporizidie (DVG 2007).

2.2.1 Wirkungsspektren chemischer Desinfektionswirkstoffe

Das Wirkungsspektrum ist bei jedem Desinfektionsmittel eine der wichtigsten Informationen für den Anwender. Es gibt kein universell zu empfehlendes Desinfektionsmittel. Im Einzelfall muss entschieden werden, welche speziellen Anforderungen für den betroffenen Bereich wichtig sind. Tabelle 2.6 zeigt die Wirkungsspektren häufig verwendeter Desinfektionsmittel. Peressigsäure sticht hier durch ihr besonders breites und hoch wirksames Wirkungsspektrum hervor. Die quaternären Ammoniumverbindungen, die häufig zur Desinfektion im Lebensmittelbereich eingesetzt werden, weisen hingegen im Bereich der Sporen, der Mykobakterien, teilweise bei den Gram negativen Bakterien (*Pseudomonaden*, *Enterobacteriaceae*) sowie den Viren Lücken auf (WIDULLE et al. 2008). Um ungewollte Selektion oder Resistenzentwicklungen zu vermeiden ist es sinnvoll, das Desinfektionsmittel in bestimmten Zeitabständen zu wechseln. Zur Gewährleistung einer erfolgreichen Desinfektionsmaßnahme, sind Kontrollen des Desinfektionserfolges unabdingbar. Hierzu eignen sich direkte, nicht destruktive mikrobiologische Methoden, wie z. B. Tupfverfahren oder Abklatschverfahren.

Bei den Tupfverfahren stehen ein **quantitatives** und ein **semiquantitatives Tupfverfahren** zur Auswahl. Das quantitative Tupfverfahren (auch Nass-Trocken-Tupfverfahren; NTT), das von LOUWERS u. KLEIN (1994a; 1994b) beschrieben wurde, stellt das Referenzverfahren zur quantitativen Bestimmung des Oberflächenkeimgehaltes im Lebensmittelbereich dar (DIN 10113-1, 1997). Zur Routinediagnostik bietet sich das weniger aufwendige semiquantitative Tupfverfahren (auch einfaches Tupfverfahren ET genannt) nach DIN 10113-2 an

(LOUWERS et al. 1995; 1997). Beide Tupfverfahren befinden sich in der amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB (B 80.00.1 und B 80.00.2). Für das nach DIN 10113-3 beschriebene **semiquantitative Abklatschverfahren** sind geeignete Agarnährböden, sogenannte „Replicate Organism Direct Agar Contact“ Platten (Rodac Platten) mit Enthemmern im Handel erhältlich. Diese werden für kurze Zeit (5 s) auf die zu testende Oberfläche gedrückt und anschließend bei 30 °C für 72 h bebrütet.

Das quantitative- und semiquantitative Tupfverfahren sowie das semiquantitative Abklatschverfahren sind „Hilfsproben“ zur Kontrolle der Desinfektion. Sie sind nicht in der Lage, eine sorgfältige Testung der Desinfektionsmittel nach DVG-Richtlinie zu ersetzen. Die alleinige Verwendung der Testverfahren ist nicht sinnvoll, da sie Bakterizidie und Bakteriose nicht unterscheiden können (KRAETZL u. BOEHM 2008).

Tabelle 2.6: Wirkungsspektrum chemischer Desinfektionsmittel, modifiziert nach KRAMER et al. (2008)

Desinfektionsmittel	Wirkungsspektrum						
	Gram positive Bakterien			Gram negative Bakterien	Pilze		Viren
	Sporen	vegetative Formen	Mykobakterien		Hefen	Schimmelpilze	
Peressigsäure	++	++	++	++	++	++	++
Chlor (Na-Hypochlorit)	++	++	+	++	+	+	++
Chlorabspalter	++	++	+	++	+	+	++
Jod	++	++	+	++	+	+	++
Formaldehyd	++	++	++	++	+	+	-
Formaldehydabspalter	++	++	+	++	+	+	-
Glutaral	++	++	++	++	+	+	-
Phenol und Derivate	+/-	++	++	++	+	+	-
Alkohole	+/-	++	++	++	+	+	-
quaternäre Verbindungen	+/-	++	+/-	+	++	++	-
Guanidine	+/-	++	+/-	++	+	+	-
amphotere Verbindungen	+/-	++	+	++	++	++	-

++ = gute Wirksamkeit (schwarz hinterlegte Felder), + = mäßig wirksam (grau hinterlegte Felder),

+/- = selektiv wirksam (hellgrau hinterlegte Felder), - = unwirksam

2.2.2 Einflussfaktoren auf die Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln

Eiweißfehler:

Der Eiweißfehler ist per definitionem ein Wirksamkeitsverlust des Desinfektionsmittels in Abhängigkeit von der Anwesenheit von Restschmutz (Protein) und wurde in der Literatur häufig beschrieben (REUTER 1994; BESSEMS 1998; LAMBERT u. JOHNSTON 2001; FRIES 2002; PITTEN et al. 2003). Der Wirksamkeitsverlust kann einerseits auf chemischer und andererseits auf physikalischer Ebene erfolgen. Proteine (insbesondere Albumine) können mit ihren reaktiven chemischen Gruppen die Desinfektionsmittel absorbieren (besonders grenzflächenaktive Substanzen) oder mit ihnen reagieren (z.B. Chlorzehrung). Auf physikalischer Ebene können Eiweißakkumulationen und angetrocknete Rückstände Schutzbarrieren bilden, die die Keime umschließen und somit den Kontakt zwischen Desinfektionsmittel und Keim vermindern oder sogar verhindern (SCHMIDT u. LEISTNER 1981).

Aus der Literatur ist bekannt, dass einige Desinfektionswirkstoffe dem Eiweißfehler stärker unterliegen als andere. RUANO et al. (2001) führten eine Studie durch, in der sie 14 verschiedene Desinfektionsmittel auf ihren Eiweißfehler gegenüber fünf verschiedenen Mikroorganismen (*Aspergillus fumigatus*, *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* u. *Escherichia coli*) in Anwesenheit von 10 % Kälberserum testeten. In diesem direkten Vergleich zeigten Jod und Glutaraldehyd einen starken Eiweißfehler, Bisphenol und Formaldehyd einen mäßigen und eine quaternäre Ammoniumverbindung sowie Wasserstoffperoxid einen geringen bis keinen Eiweißfehler (Tab. 2.7).

Tabelle 2.7: Eiweißfehler ausgewählter Desinfektionswirkstoffe gegen vegetative Formen von Mikroorganismen

Wirkstoff	Eiweißart	Eiweißfehler	Referenz
Wasserstoffperoxid	Kälberserum	gering	RUANO et al. (2001)
Quaternäre Ammoniumverbindung	Kälberserum	gering	
Bis-phenol	Kälberserum	mäßig	
Formaldehyd	Kälberserum	mäßig	
Glutaraldehyd	Kälberserum	hoch	
Jod	Kälberserum	hoch	

Der Eiweißfehler wird von verschiedenen Faktoren in seiner Ausprägung beeinflusst. Die Art des Eiweißes (Belastungssubstanz), die Wirkstoffgruppe des Desinfektionsmittels und der Mikroorganismus sind bei der Überprüfung auf einen Eiweißfehler zu berücksichtigen. So fand BESSEMS (1998) bei einer Studie zum Eiweißfehler nicht nur Variation zwischen den Wirkstoffen, sondern auch erhebliche Unterschiede in Abhängigkeit des zu eliminierenden Mikroorganismus. LENSING und OEI (1984) testeten den Eiweißfehler (Pferdeserum) von Formaldehyd, Glutaraldehyd, Natriumdichlorisocyanurat-dihydrat (Chlorabspalter) und Peressigsäure gegen Sporen von *Bacillus anthracis*. Hierbei unterlag das Chlorpräparat einem sehr stark ausgeprägten Eiweißfehler, Formaldehyd einem mäßigen und Glutaraldehyd sowie Peressigsäure einem geringen bis keinem Wirksamkeitsverlust (Tab. 2.8). Der Eiweißfehler ist ein komplexes Phänomen und muß für jede individuelle Anwendungssituation (Mikroorganismus, Desinfektionsmittel und Art der Belastung) überprüft werden.

Tabelle 2.8: Eiweißfehler ausgewählter Desinfektionswirkstoffe gegen Sporen von *Bacillus anthracis*

Wirkstoff	Eiweißart	Eiweißfehler	Referenz
Peressigsäure	Pferdeserum	gering	LENSING und OEI (1984)
Glutaraldehyd	Pferdeserum	gering	
Formaldehyd	Pferdeserum	mäßig	
Chlorpräparat	Pferdeserum	hoch	

Kältefehler:

Bereits Ende des 19. Jahrhunderts stellte van't'Hoff die Reaktionsgeschwindigkeits-Temperatur-Regel (RGT oder auch van't'Hoff'sche Regel) auf. Diese besagt, dass bei einer Temperaturerhöhung um 10 °C die Reaktionsgeschwindigkeit einer chemischen Reaktion um das zwei- bis vierfache zunimmt. Daher ist es gerade bei chemischen Desinfektionsverfahren sinnvoll, auf einen eventuell vorhandenen Kältefehler Rücksicht zu nehmen und diesen bei Bedarf auszugleichen. In der Literatur gibt es viele Hinweise auf Kältefehler (REUTER 1984), wobei immer das Desinfektionsmittel aber auch der zu eliminierende Mikroorganismus eine Rolle spielen kann. Des Weiteren muss beachtet werden, dass vergleichende Werte in einem Bereich liegen sollten, der quantitativ messbar ist. Dies ist bei besonders potenten Desinfektionsmitteln (z.B. Peressigsäure) schwierig, da diese im Bereich der Bakterizidie sehr hoch verdünnt eingesetzt werden müssten.

Ein Beispiel hierfür stellen die Untersuchungen von SCHLIESSER und WIEST (1979) dar. Lediglich bei der geringen Konzentration von 0,015 % Peressigsäure waren überhaupt Aussagen zum Kältefehler möglich. Alle höheren Konzentrationen wirkten durchgängig bakterizid, der Kältefehler war also zu vernachlässigen.

Oberflächenbeschaffenheit:

Die Beschaffenheit der Oberflächenstruktur ist ein weiterer Einflussfaktor auf die Wirksamkeit der Desinfektionsmaßnahme. Während eine glatte Oberfläche den Keim dem Desinfektionsmittel relativ stark exponiert, bietet eine poröse Oberfläche mit ihrer unregelmäßigen und gefurchten Struktur physikalischen Schutz. Der Keim kann sich in den kleinen Hohlräumen ansiedeln und Nester bilden, welche dann einen Schutz gegen die Desinfektionsmaßnahmen bieten. Zusätzlich ist gerade in fleischverarbeitenden Betrieben bei rauen Oberflächen (z.B. Schneidbrettern) häufig mit Schmutzrückständen zu rechnen, welche wiederum den Eiweißfehler begünstigen (SCHMIDT u. LEISTNER 1981).

Verdünnung:

Bei der Anwendung von Desinfektionsmitteln ist es wichtig darauf zu achten, dass die Oberflächen nach der Reinigung abgetrocknet sind. Sonst kann ein ungewollter Verdünnungseffekt auftreten, der im ungünstigsten Fall das Desinfektionsmittel unter die MHK verdünnt.

Seifenfehler:

Der gleichzeitige Einsatz von unterschiedlichen chemischen Desinfektionsmitteln ist kritisch, da verschiedene chemische Gruppen komplex interagieren, dies kann zu einer Verringerung oder sogar zur Aufhebung der Wirksamkeit führen. Ein Beispiel hierfür wäre die Mischung einer Säure mit einer Lauge.

2.2.3 Materialverträglichkeit

Wichtig bei der Anwendung der verschiedenen Desinfektionsmittel ist die Verträglichkeit mit der zu desinfizierenden Oberfläche. Tabelle 2.9 bietet einen Überblick zur Materialverträglichkeit unterschiedlicher Wirkstoffe. Amphotere und kationische Tenside sind sehr verträglich auf unterschiedlichen Materialien. Phenole und Formaldehyd besitzen ebenfalls auf vielen Oberflächenarten gute Materialverträglichkeit sind aber aufgrund ihrer potentiellen Rückstände, die toxisch oder sogar mutagen wirken können, nicht für den Lebensmittelbereich geeignet. Daher nehmen die quaternären Ammoniumverbindungen mit ihrem relativ breiten Wirkungsspektrum und guten Materialverträglichkeiten einen sehr großen Anteil der gelisteten Desinfektionsmittel der DVG-Liste für den Lebensmittelbereich ein (ca. 51,5 %). Im Gegensatz hierzu ist der Wirkstoff Peressigsäure nur mit ca. 6,6 % in der DVG-Liste vertreten (siehe Tabelle 2.12). Bei Peressigsäure besteht zwar keine Rückstandsproblematik, allerdings ist die Materialverträglichkeit nur bei wenigen Materialien gegeben, welche durch den Zusatz von Korrosionsinhibitoren jedoch stark verbessert werden können (MÜCKE 1979).

Tabelle 2.9: Materialverträglichkeiten der verschiedenen chemischen Desinfektionsmittel-Wirkstoffe nach SCHLIESSER (1981)

Wirkstoffgruppe	Aluminium	Kupfer	Zinn	Messing	Eisen	Stahl unleg.	V ₂ A-Stahl	Mauerwerk	Farben	Textilien	Leder	PVC
Laugen	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	±
Chlor	-	-	-	-	-	-	+	+	±	-	-	+
Chloramine	+	o	+	o	+	+	+	+	+	+	+	+
Formaldehyd	+	o	+	+	+	+	+	+	+	+	±	+
Jodophore	+	±	±	±	+	+	+	+	±	+	±	+
Phenole	+	+	+	o	+	+	+	+	+	+	+	±
Peressigsäure	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+
kationische Tenside (Quats)	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	±
amph. Tenside	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±

+ = verträglich, ± = weniger verträglich, - = nicht verträglich, o = keine Daten vorhanden

Quats = quaternäre Ammoniumverbindungen

Die Testung von Desinfektionsmitteln nach DVG ist besonders auf die desinfizierende Wirkung bei unterschiedlichen Temperaturen, gegen verschiedene Mikroorganismen und im belasteten sowie unbelasteten Bereich ausgelegt. Innerhalb der Desinfektionsmittelprüfung der DLG (Deutsche Landwirtschafts-Gesellschaft e.V.), die sich auf die Milchwirtschaft und Stalldesinfektion beschränkt, werden neben reinigender und desinfizierender Wirkung auch Materialverträglichkeiten getestet. Hierbei wird die Materialverträglichkeit in zwei Gruppen eingeteilt. Die erste Gruppe umfasst die Materialverträglichkeit auf Edelstahl und Aluminium bei 40 °C und die zweite Gruppe bei Edelstahl (Chrom-Nickel-Stahl) und 50 °C.

2.2.4 Chemische Desinfektionsmittel

Desinfektionsmittel lassen sich nach ihren chemischen Wirkstoffen einteilen. Die Wirkstoffe werden in Wirkstoffklassen oder -gruppen zusammengefasst. Hier wird nur auf die bekanntesten und häufig zum Einsatz kommenden Gruppen eingegangen die folgend aufgelistet sind:

Alkohole

Aldehyde

Halogene (Oxidantien)

Oberflächenaktive Verbindungen (Tenside)

Peroxidverbindungen (Oxidantien)

Phenole (stark eingeschränkte Verwendung)

Alkohole

Bei den Alkoholen unterscheidet man nach ihrer chemischen Struktur aliphatische und aromatische Alkohole. Zu den aliphatischen Alkoholen zählen einwertige (eine Hydroxylgruppe im Molekül) und mehrwertige Alkohole (mehrere Hydroxylgruppen im Molekül). In Abbildung 2.4 ist die chemische Struktur des in der Desinfektion häufig zum Einsatz kommenden Ethanol's abgebildet. Ist die Hydroxylgruppe an ein Kohlenstoffatom gebunden, welches in einen aromatischen Ring eingebunden ist, zählen diese zu den aromatischen Alkoholen oder auch Phenolen (siehe dort). Kurzkettige Alkohole mit nur einer Hydroxylgruppe sind sehr gut wasserlöslich. Je länger der Alkylrest des Moleküls wird, desto geringer ist die Wasserlöslichkeit.

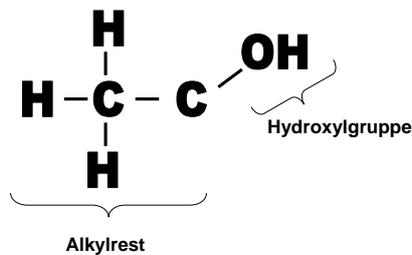


Abbildung 2.4: Chemische Struktur des Ethanols

Haupteinsatzbereich sind hygienische und chirurgische Händedesinfektion sowie die Hautantiseptik. Das Wirkungsspektrum beinhaltet Bakterizidie und Fungizidie, bei Sporen und Viren bestehen allerdings Wirkungslücken (siehe Tabelle 2.6).

Rückstände:

Bei Alkoholen tritt aufgrund ihres hohen Dampfdruckes (20 °C, 57 mbar oder 0,43 mmHg) eine schnelle und rückstandsfreie Verdunstung ein.

Materialverträglichkeit:

Plexiglas und Weich-PVC können konzentrationsabhängige Korrosionen erfahren.

Arbeitssicherheit:

Bei der Anwendung von Alkoholpräparaten ist zu beachten, dass es zu entflammbarer Nebel- und Dampfbildung kommen kann.

Umweltverträglichkeit:

Eine rasche und vollständige biologische Abbaubarkeit ist gegeben.

Wirkmechanismus:

Alkohol greift die Membranen von Mikroorganismen an. Durch Absorption und Lipolyse von Zellwandlipoiden werden die Membranen aufgelockert oder sogar zerstört (SALTON 1963; HAHN 1981). Alkohol oder ein anderer Kombinationswirkstoff können dann verstärkt ins Zellplasma gelangen. Im Zellinneren werden Proteine des Zellplasmas koaguliert und essentielle Enzyme inaktiviert. Diese Enzyminaktivierung führt zu Wachstumsstörungen und morphologischen Veränderungen der Mikroorganismen. Durch reinen Alkohol würde nur die äußere Hülle der Mikroorganismen dehydratisiert und das Agens könnte nicht in das Zellinnere gelangen. Die Dehydratisierung entspräche lediglich einer reversiblen Zellschädigung. Dieser Sachverhalt begründet das Wirkungsoptimum von Ethanol gegen vegetative Bakterien in 80 % iger Lösung mit Wasser.

Aldehyde

Die chemische Grundstruktur eines Aldehyds ist in Abbildung 2.5 am Beispiel des Formaldehyds dargestellt.

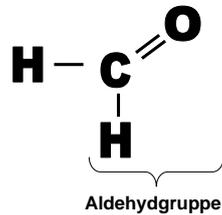


Abbildung 2.5: Chemische Struktur des Formaldehyds

Aldehyde sind dehydrogenierte Alkohole. Die bekanntesten Vertreter der Gruppe sind das Formaldehyd, Glutaraldehyd (Glutaral) und Glyoxal. Alle Aldehyde sind sehr reaktiv. Das Wirkungsspektrum von Formaldehyd, Formaldehydabspaltem und Glutaral ist breit und beinhaltet Sporen, Gram positive Bakterien, Gram negative Bakterien, Hefen und Pilze. Lediglich bei den Viren weisen sie eine Wirkungslücke auf (siehe Tabelle 2.6). Im Handel befindet sich Formaldehyd meist in einer 35 bis 40 %igen wässrigen Lösung (Formalin).

Rückstände:

Formaldehyd bildet keine Rückstände auf Flächen.

Materialverträglichkeit:

Die Materialverträglichkeit ist gegenüber den meisten Materialien gut. In ihrer üblichen Anwendung wirken Aldehyde nicht korrosiv.

Arbeitssicherheit:

Formaldehyd ist hoch allergen aber nur gering toxisch, mutagen und karzinogen. Es wurde vorsorglich in die Liste der krebserzeugenden Mittel aufgenommen und erhielt einen MAK-Wert (maximale Arbeitsplatzkonzentration) von $0,3 \text{ ml/m}^3$, der in der Praxis selten, und wenn nur kurzfristig, überschritten wird. Aufgrund seiner nicht linearen Dosis-Wirkungs-Beziehung in Bezug auf Kanzerogenität ist von einer Wirkungsschwelle auszugehen, die durch Einhaltung der MAK nicht erreicht wird (DFG 2000).

Umweltverträglichkeit:

Formaldehyd besitzt eine gute und rasche biologische Abbaubarkeit (1 – 2 Tage). Es sollte allerdings aufgrund seiner Einteilung in die Wassergefährdungskategorie 2 (wassergefährdende Stoffe) nicht unverdünnt ins Abwasser gelangen (ANONYM 2005a).

Wirkmechanismus:

Aldehyde können mit Carboxyl-, Amino-, Hydroxyl-, und Sulfhydrylgruppen der Zellproteine und mit den Nukleinsäuren reagieren. Die Reaktionen mit und die Denaturierung von Proteinen bewirken allerdings auch einen mäßigen bis hohen Eiweißfehler. Beim Einsatz von Aldehyden ist eine gründliche Vorreinigung dringend notwendig, da sonst mit einem starken Wirkungsverlust gerechnet werden muss.

Halogene (Oxidantien)

Bekannte Vertreter der Halogene sind Jod, Jodophore, Chlor und Chlorverbindungen. Chlor ist besonders gut wirksam im schwach sauren Milieu und unterliegt einem relativ hohen Eiweißfehler (Chlorzehrung). Eine bekannte Chlorverbindung, die häufig in der Lebensmittelindustrie zur Anlagendesinfektion eingesetzt wird, ist das Tosylchloramidnatrium (auch Chloramin T). Bei den Jodophoren ist Polyvinylpyrrolidon-Jod (PVP-Jod) einer der bekanntesten Vertreter. Jodophore kommen zur Schleimhaut- und Wundantiseptik zum Einsatz. PVP-Jod besitzt sein Wirkungsmaximum bei einem pH von 2,5 bis 5,5. Das Wirkungsspektrum der Halogene umfasst Bakterizidie, Viruzidie, Levurozidie, Fungizidie und Sporizidie. Die Wirkung von Jod ist stärker als die von Chlor.

Rückstände:

Neben einer Braunfärbung besteht bei Jod zusätzlich die Gefahr einer Intoxikation bei oraler Aufnahme.

Arbeitssicherheit:

Chlor wirkt stark reizend und schädigend auf die Atemwege und besitzt daher einen MAK-Wert, der bei 0,5 ppm bzw. 1,5 mg/m³ liegt. Flüssiges Chlor wirkt stark ätzend auf der Haut. Der Hautkontakt mit Jod reizt die Haut und kann zur Jodallergie führen, daher kommen nur noch die besser verträglichen Jodophore zum Einsatz.

Umweltverträglichkeit:

PVP-Jod und Chloramin T werden in die Wassergefährdungsklasse 2 eingestuft (ANONYM 2005a).

Wirkmechanismus:

Der Wirkmechanismus der Halogene ist noch nicht endgültig geklärt. Diskutiert werden die Bildung von unterchloriger Säure, Oxidation von essentiellen Zellbestandteilen oder die Bildung von mikrobe-toxischen Chloraminen (HAHN 1981). Chloramin T bildet in 1 - 3 %iger Lösung in Wasser naszierenden Sauerstoff, der oxidativ wirkt.

Oberflächenaktive Verbindungen

Zu den oberflächenaktiven Verbindungen zählen kationische, anionische, und amphotere Tenside. Bekannteste Vertreter der kationischen Tenside sind die quaternären Ammoniumverbindungen (QAV). Die QAV besitzen eine positiv geladene hydrophile Gruppe. Sie sind die häufigsten Vertreter (ca. 50,5 %; siehe Tabelle 2.12) innerhalb der von der DVG für den Lebensmittelbereich gelisteten Desinfektionsmittel (DVG 2003). Das Wirkungsspektrum umfasst Gram positive Bakterien, Hefen und Schimmelpilze. Gegen Viren, Sporen und Mykobakterien wirken sie nur mäßig. Bei Gram negativen Bakterien (Pseudomonaden) weisen sie allerdings Lücken auf (TAYLOR et al. 1999). Ihr Eiweiß- und Kältefehler ist ausgeprägt. Zusätzlich sind sie sehr anfällig für Seifenfehler.

Rückstände:

Tenside sind in der Praxis leicht abzuspuhlen.

Materialverträglichkeit:

Diese Wirkstoffklasse der Desinfektionswirkstoffe zeichnet sich durch ihre sehr gute Materialverträglichkeit aus.

Arbeitssicherheit und Umweltverträglichkeit:

Tenside stellen außer bei Ingestion keine große Gefahr dar.

Wirkmechanismus:

QAV reichern sich an der Zellmembran an und stören physiologische Stoffwechselfunktionen. Sie reagieren dabei wahrscheinlich mit Oberflächenlipiden und Enzymen der Mikroorganismen.

Peroxidverbindungen (Oxidantien)

Zwei wichtige Vertreter dieser Gruppe sind das Wasserstoffperoxid und die Peressigsäure. Die chemische Struktur des Wasserstoffperoxids ist in Abbildung 2.6 dargestellt.

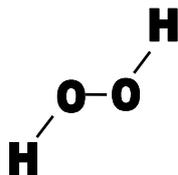


Abbildung 2.6: Chemische Struktur von Wasserstoffperoxid

Wasserstoffperoxid ist gut wasserlöslich und zeigt seine optimale Wirkung in einem sauren Milieu.

Abbildung 2.7 stellt die Grundgleichung der Bildung und des Zerfalls von Peressigsäure dar. Peressigsäure liegt niemals als Monosubstanz vor. Das peressighaltige Konzentrat, das ein Anwender einsetzt, ist immer ein Vier-Komponenten-System mit den Bestandteilen Peressigsäure, Essigsäure und Wasserstoffperoxid in wässriger Lösung. Im Konzentrat befinden sich diese vier Komponenten im thermodynamischen Gleichgewicht. Jede Veränderung der Menge einer Komponente beeinflusst die anderen Inhaltsstoffe mit.

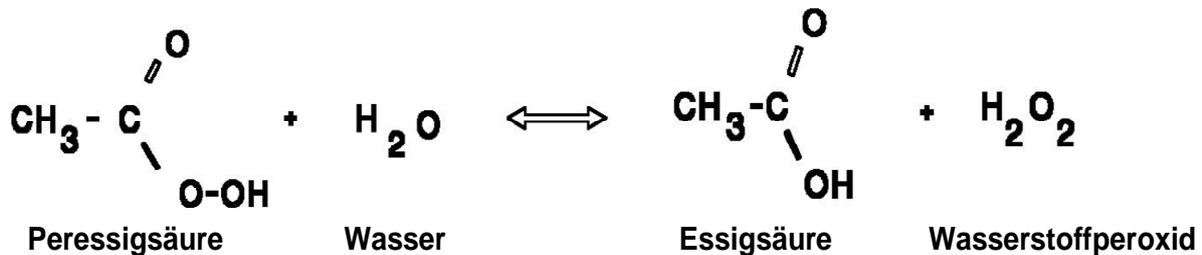


Abbildung 2.7: Gleichung der Inhaltsstoffe des Peressigsäurepräparates

Wasserstoffperoxid gehört ebenso wie Peressigsäure zu den wenigen Desinfektionswirkstoffen, die ein sehr breites Wirkungsspektrum besitzen (siehe Tabelle 2.6), das insbesondere auch Sporen beinhaltet (FREER u. NOVY 1902; BLAKISTONE et al. 1999; SAGRIPANTI u. BONIFACINO 1999; LANGSRUD et al. 2000; KHADRE u. YOUSEF 2001; PINNA et al. 2001). Das Wirkungsoptimum der Peressigsäure liegt im sauren Bereich. Seine Wirksamkeit erstreckt sich zwar auf einen Bereich zwischen pH 2 und pH 10, allerdings fällt die Wirkung im alkalischen Milieu stark ab.

Rückstände:

Die Präparate zersetzen sich in Wasser, Sauerstoff und Essigsäure, die leicht abspülbar sind und keine Gefahr für die Gesundheit des Menschen darstellen (GREENSPAN u. MACKELLAR 1951; LIBERTI u. NOTARNICOLA 1999).

Materialverträglichkeit:

Laut SCHLIESSER (1981) soll Peressigsäure bei Aluminium, Textilien, PVC, unlegiertem Stahl und V₂A Stahl nicht oberflächenaggressiv sein. NICKLAS et al. (1981) fanden bei Aluminium einen schwachen und bei Kupfer, Messing und unlegiertem Stahl einen starken Korrosionsangriff. Das ebenfalls getestete Produkt Wofasteril[®] (Hauptbestandteil Peressigsäure) verursachte im Vergleich zur Peressigsäure bei Aluminium keine Korrosion. Die korrosiven Eigenschaften von Peressigsäure können durch Zusätze (z.B. Grahamsalz) stark verbessert werden

(MÜCKE 1979; MALCHESKY 1993). Für Wofasteril® befindet sich ein Pufferadditiv (Hauptbestandteil Natriumhydroxid; alcapur®) auf dem Markt, welches laut Herstellerangaben dessen korrosive Eigenschaften stark verbessern soll.

Arbeitssicherheit:

Handelsübliche Peressigsäurepräparate kommen in Gebinden mit circa 10 bis 15 %iger Peressigsäure in den Handel, da in höheren Konzentrationen mit Explosionsgefahr zu rechnen und das Gebinde chemisch instabil wird (KITIS 2004). Peressigsäure ist in hohen Konzentrationen hautreizend und hautätzend. Die Geruchsbelästigung sowie Schleimhautreizungen von Augen und Atemwegen können ebenfalls durch Alkalisierung stark verbessert werden (MÜCKE et al. 1989).

Umweltverträglichkeit:

Peroxidverbindungen sind gut umweltverträglich, da in den zur Anwendung kommenden Konzentrationen die Säure relativ rasch zerfällt.

Wirkmechanismus:

Die Wirkungsweise beruht auf der Schädigung von Zellwand und Enzymen der Mikroorganismenzelle. Die Peressigsäure hydrolysiert und das Wasserstoffperoxid oxidiert die Proteine der Mikroorganismenhülle. In Gegenwart von Katalase wird H_2O_2 sehr rasch abgebaut und atomarer Sauerstoff wird freigesetzt, welcher lebenswichtige Enzyme der Mikroorganismuszelle oxidiert (GREENSPAN u. MACKELLAR 1951; LIBERTI u. NOTARNICOLA 1999; KRAMER u. ASSADIAN 2008).

Phenole

Phenol ist ein aromatischer Alkohol. Reines Phenol (Carbolsäure) wird für die Desinfektion nicht mehr verwandt. Es kommen nur noch Phenolderivate zum Einsatz. Der Wirkungsbereich umfasst das gleiche Spektrum wie die bereits beschriebenen Alkohole (siehe Tabelle 2.6). Phenol unterliegt einem mäßigen bis hohen Kältefehler und besitzt sein Wirkungsoptimum im sauren Milieu. Seine Wirkung wird durch Alkohol erhöht und durch Eiweißbelastung geschwächt (CHICK u. MARTIN 1908; COOPER 1912; HEICKEN 1949).

Rückstände:

Im Lebensmittelbereich kommt Phenol nicht zum Einsatz, da es bei oraler Aufnahme hoch toxisch ist. Lediglich Chlorocresol ist von der FDA (Food and Drug Administration) als Konservierungsstoff für verschiedene Produkttypen im Kontakt mit Lebensmitteln zugelassen.

Materialverträglichkeit:

Phenole sind bis auf den Kontakt mit Leder gut materialverträglich.

Arbeitssicherheit:

Phenol ist hautätzend und schleimhautreizend. Die Aufnahme von Phenol ist hoch toxisch. Phenol ist eingestuft in die Kanzerogenitätskategorie 3B. Dies bedeutet, dass aus *in-vitro*- oder Tierversuchen Anhaltspunkte für eine krebserzeugende Wirkung vorliegen, für eine Aussage zur Humankarzinogenität aber weitere abklärende Untersuchungen notwendig sind. Vorerst besitzt Phenol einen biologischen Leitwert von 200 mg/l (DFG 2003). Chlorocresol wirkt sensibilisierend bei Hautkontakt.

Umweltverträglichkeit:

Phenol ist leicht abbaubar (85 % / 14 d). Chlorocresol ist ebenfalls biologisch abbaubar und besitzt kein Potential zur Bioakkumulation (CARLSSON et al. 2006).

Wirkmechanismus:

Die Wirkungsweise ist der des Alkohols ähnlich. Anfangs adsorbiert Phenol an die Zellmembranen, seine Lipophilie ermöglicht ihm dann die Diffusion ins Zellinnere (HAHN 1981). Im Zellinneren angelangt basiert die Wirkung auf der Koagulation der Plasmaproteine (COOPER 1912). Phenol kann nicht bei allen Bakterien durch die Membranen diffundieren, diese Tatsache begründet die unterschiedliche Sensitivität einzelner Spezies.

2.2.5 Resistenzen gegenüber chemischen Desinfektionswirkstoffen

Der Begriff der Resistenz steht für die Widerstandskraft / -fähigkeit eines Mikroorganismus gegenüber einer antimikrobiell wirkenden Substanz. Sie definiert sich über eine gesteigerte MHK (LEWIS 2001). Resistenz kann eingeteilt werden in die intrinsische Resistenz, die erworbene Resistenz und die Adaptation. Die **intrinsische Resistenz** steht für nicht erworbene Abwehrstrategien des Mikroorganismus (z. B. Aufbau von Membranen). Abbildung 2.8 bildet Mikroorganismen geordnet nach ihrer Sensibilität gegenüber Bioziden auf Grundlage ihrer intrinsischen Resistenz ab. Die **erworbene Resistenz** hat ihren Ursprung entweder in einer chromosomalen Mutation oder kann über Plasmide beim Vorgang der Konjugation übertragen werden (RUSSELL 1999; POOLE 2002).

Hohe Resistenz

Prionen (CJD, BSE)
Kokzidien (*Cryptosporidium* spp.)
Sporen (*Bacillus*, *Clostridium difficile*)
Mykobakterien (*Mycobacterium tuberculosis*)
Zysten (Giardia)
kleine unbehüllte Viren (Poliovirus)
Trophozoiten (*Acanthamoeba* spp.)
Gram negative Bakterien (Pseudomonaden, *Providencia* spp.)
Pilze (*Candida* spp., *Aspergillus* spp.)
große unbehüllte Viren (Adenoviren)
Gram positive Bakterien (*Staphylococcus aureus*, Enterokokken)
große behüllte Viren (HIV)

Niedrige Resistenz

Abbildung 2.8: Auflistung von Mikroorganismen geordnet nach ihrer Sensibilität gegenüber Bioziden, modifiziert nach RUSSELL et al. (1997)

CJD = Erreger der Creutzfeld-Jacob Krankheit; BSE = Erreger der bovinen spongiformen Enzephalitis; HIV = humanes Immundefizienz Virus.

Bei der **Adaptation** hingegen entwickelt der Mikroorganismus Abwehrstrategien im direkten Kontakt mit einem für ihn ungünstigen Milieu. Eine Adaptation besteht nur temporär und ist nicht vererblich. Ein bekanntes Beispiel einer Adaptation ist die Produktion von EPS (Exopolysacchariden). Diese bilden eine schützende Schicht um die Mikroorganismen (LEWIS 2001), welche auch unter dem Begriff des „Biofilms“ bekannt ist. Durch den Biofilm findet eine verringerte Diffusion des Desinfektionswirkstoffes statt. THERAUD et al. (2004) führten eine Studie zur Fungizidie fünf verschiedener Antiseptika, drei unterschiedlicher Desinfektionsmittel und von UV-Strahlung gegen Hefen in Suspension mit und ohne Biofilm durch. Alle Biozide erfuhren eine signifikante Reduktion ihrer Effektivität und lediglich ein Biozid (Chlorhexidin) wirkte sowohl bei planktonischen Mikroorganismen als auch gegen einen Biofilm fungizid. Auch *B. cereus* besitzt innerhalb eines Biofilms im Vergleich zu planktonischen Zellen eine stark erhöhte Resistenz (PENG et al. 2002).

Antibiotika greifen Mikroorganismen meist an spezifischen Punkten an und können durch eine passende Abwehrstrategie umgangen werden (z. B. β -Lactamasen), Desinfektionsmittel wirken hingegen größtenteils unspezifisch und multifaktoriell. Resistenzbildung findet zusätzlich meist nur in bakteriostatischen oder noch niedrigeren Biozid-Konzentrationen statt. Da Desinfektionsmittel in einem sicheren bakteriziden Konzentrationsbereich zum Einsatz kommen, ist die Wahrscheinlichkeit der Ausbildung einer Resistenz gering. Der EFSA liegen bisher keine gesicherten Daten zur Resistenzbildung nach der bestimmungsgemäßen Anwendung eines Desinfektionsmittels vor. Gemeldete Resistenzen sind ausschließlich im Labor provoziert und nachgewiesen worden (EFSA 2008). Für den Fall, dass Desinfektionsmittel aufgrund einer falschen Anwendung (zu niedrig gewählte Konzentration) oder Verdünnungseffekte durch Wasserrückstände auf Oberflächen ungewollt in bakteriostatischen Konzentrationen zum Einsatz kommen, ist die Ausbildung einer Resistenz möglich. Die Ursachen für eine Resistenz können vielfältig sein. Die Ausbildung von Effluxmechanismen, Impermeabilität, enzymatischer Abbau des Desinfektionswirkstoffes und Modulation sowie Überproduktion des Angriffspunktes sind mögliche Strategien (LEVY 2002; POOLE 2002). Unabhängig von ihrer Strategie wurde die an Plasmide gebundene Resistenz bisher am häufigsten nachgewiesenen. Tabelle 2.10 gibt einen Überblick über bereits nachgewiesene Resistenzen von Mikroorganismen gegenüber Desinfektionsmittelwirkstoffen.

Tabelle 2.10: Resistenzen gegenüber Desinfektionsmittelwirkstoffe

Wirkstoff	Isolierte Bakterien	Quelle
Glutardialdehyd	Pseudomonaden	HINGST et al. (1995)
Formaldehyd	Enterobakterien	KAULFERS und LAUFS (1985)
	Pseudomonaden	KAULFERS und MARQUARDT (1991) HINGST et al. (1987)
PVP-Jod	Pseudomonaden	CRAVEN et al. (1981)
Benzalkonium- chlorid	Staphylokokken	TENNENT et al. (1985)
	Enterobakterien	RUSSELL und GOULD (1988)
	Pseudomonaden	SAKAGAMI et al. (1989)
Chlorhexidin	Staphylokokken	YAMAMOTO et al. (1988)
	Enterobakterien	PRINCE et al. (1978)
	Pseudomonaden	RUSSELL und GOULD (1988) NAKAHARA und KOZUKUE (1982)
Hexachlorophen	Pseudomonaden	SUTTON und JACOBY (1978)
Schwermetall- salzverbindungen	Staphylokokken	WITTE et al. (1986)
	Enterobakterien	RUSSELL und GOULD (1988)
	Pseudomonaden	STANISICH et al. (1977)
Triclosan	Staphylokokken	SULLER und RUSSELL (2000)
	Enterobakterien	MCMURRY et al. (1998)

2.2.6 Prüfverfahren für chemische Desinfektionsmittel

Im Bereich der Gewinnung, Be- und Verarbeitung von Lebensmitteln bleibt es nach den Hygienevorschriften des Lebensmittelrechts dem Anwender überlassen, welches Desinfektionsmittel er wählt. Um ihm diese Wahl zu erleichtern, ist es wichtig, eine Überprüfung der Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln durch eine unabhängige Institution durchführen zu lassen und diese Ergebnisse dem Anwender öffentlich zugänglich zu machen.

In **Deutschland** gibt es drei größere Institutionen, die Prüfverfahren für Desinfektionsmittel erarbeitet haben. Zum einen die Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (**DGHM**) in Zusammenarbeit mit dem Verbund für angewandte Hygiene e. V. (**VAH**), zweitens die Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e.V. (**DVG**) und drittens das Robert Koch Institut (**RKI**). Neben diesen drei Institutionen testet auch der chemische Desinfektionsmittel. Hierbei orientiert er sich ausschließlich an europäischen Normen. Die genannten Institutionen besitzen unterschiedliche Zielrichtungen. So testen die DGHM und der VAH Desinfektionsmittel für den Bereich der prophylaktischen und routinemäßigen Desinfektion von Krankenhäusern, ärztlichen und zahnärztlichen Praxen sowie öffentlichen Bereichen. Das RKI hingegen ist für den Bereich der behördlich angeordneten Desinfektionsmaßnahmen zuständig (z.B. Tierseuchenausbrüche). Die DVG und der IHO testen Desinfektionsmittel für den Bereich Lebensmittel und Tierhaltung.

Die deutsche Landwirtschafts-Gesellschaft e.V. (**DLG**) testet und verleiht DLG-Gütezeichen für Reinigungs- und Desinfektionsmittel im Bereich der Milchwirtschaft und Stalldesinfektion. Die DLG überprüft hierbei auch die Materialverträglichkeit der Reinigungs- und Desinfektionsmittel. Für den Milchbereich wird die Materialverträglichkeit an Reinaluminium und Chrom-Nickel-Stahl in der vom Hersteller empfohlenen Anwendungskonzentration durchgeführt.

In **Europa** existieren viele nationale Vorgaben zur Wirksamkeitsprüfung von Desinfektionsmitteln, die zum Teil stark variieren. Zur Vereinheitlichung der Wirksamkeitsprüfung von Desinfektionsmitteln auf europäischer Ebene wurde vom Europäischen Komitee für Normierung (CEN) im Jahr 1990 ein technisches Komitee für chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika eingerichtet (CEN 216). Innerhalb dieses technischen Komitees existieren drei Arbeitsgruppen (working groups), die

sich mit den unterschiedlichen Einsatzbereichen für Desinfektionsmittel auseinander setzen. Arbeitsgruppe 1 ist für den humanmedizinischen und Arbeitsgruppe 2 für den tiermedizinischen Bereich zuständig. Die dritte Arbeitsgruppe beschäftigt sich mit den Bereichen Lebensmittel, Industrie, Haushalt und öffentliche Einrichtungen. Die Wirksamkeitsprüfung von Desinfektionsmitteln durchläuft die drei folgenden Phasen:

- Phase 1:** Basistest, Prüfung der grundsätzlichen antimikrobiellen Wirkung
- Phase 2:** Stufe 1: quantitativer Suspensionstests unter Anwendungsbedingungen
Stufe 2: praxisnahe Labor-Versuche (z.B. Keimträgerversuch)
- Phase 3:** Feldversuche unter Praxisbedingungen.

Für den Lebensmittelbereich existieren europäische Normen zur Überprüfung auf Bakterizidie, Fungizidie und Sporizidie. Für die Sporizidie wurden Normen bis Phase 2 Stufe 1 erarbeitet (quantitativer Suspensionstest unter Anwendungsbedingungen), für die Bakterizidie und Fungizidie bis Phase 2 Stufe 2 (praxisnahe Laborversuche). Die entsprechenden Normen fordern unterschiedlich hohe Reduktionen der Mikroorganismen. Bei der Bakterizidie werden im quantitativen Suspensionstest mehr als fünf Log-Stufen (KbE/ml) Reduktion gefordert, bei der Fungizidie sind es vier und bei der Sporizidie sind es aufgrund ihrer hohen Resistenz sogar nur drei. In Tabelle 2.11 sind existierende europäische Normen mit der jeweils geforderten Reduktionsrate aufgeführt.

Tabelle 2.11: Bereits existierende Euro Normen zur Prüfung chemischer Desinfektionsmittel für den Bereich Lebensmittel, Industrie, Haushalt und öffentliche Einrichtungen

	Phase 1	Phase 2	
		Stufe 1	Stufe 2
Bakterizidie	EN 1040 : 2005 > 5,0 log°	EN 1276 : 2009 > 5,0 log°	EN 13697 : 2001 > 4,0 log°
Fungizidie	EN 1275 : 2005 > 4,0 log°	EN 1650 : 2008 > 4,0 log°	EN 13697 : 2001 > 4,0 log°
Sporizidie	EN 14347 : 2005 > 4,0 log°	EN 13704 : 2002 > 3,0 log°	

EN = Euro Norm, ° per definitionem geforderte Reduktion

2.2.7 Desinfektionsmittellisten

„Desinfektionsmittellisten“ sollen den Anwendern von Desinfektionsmitteln bei der Auswahl eines geeigneten Desinfektionsmittels, dessen Dosierung sowie der zu wählenden Einwirkzeit helfen. Wie bereits erwähnt gibt die Liste des **VAH** und der **DGHM** Empfehlungen für den Anwender im Bereich der prophylaktischen und routinemäßigen Desinfektion von Krankenhäusern, ärztlichen und zahnärztlichen Praxen sowie öffentlichen Bereichen. Das **RKI** erstellt die „Liste der vom Robert Koch-Institut geprüften und anerkannten Desinfektionsmittel und -verfahren“, welche Vorschriftencharakter für jegliche behördlich angeordneten Desinfektionsmaßnahmen besitzt. Die **DVG**-Liste und die Liste des Industrieverbands für Hygiene und Oberflächenschutz (**IHO**) beziehen sich auf den Bereich Lebensmittel/Tierhaltung und besitzen Empfehlungscharakter. Die IHO-Liste beinhaltet lediglich eine Übersicht von Herstellerangaben zu den jeweiligen nach DIN-EN-Norm geprüften Desinfektionsmitteln. Eine Beurteilung durch ein unabhängiges Expertengremium erfolgt nicht (DVG u. VAH 2010). Um ein Desinfektionsmittel bei der DVG listen zu lassen, muss der Hersteller dieses von zwei unabhängigen Gutachtern auf ihre Wirksamkeit überprüfen lassen. Nach erfolgreich durchlaufener Testung der Desinfektionsmittel werden die Gutachten dem „Ausschuss Desinfektion in der Veterinärmedizin“ vorgelegt, welcher dann über eine Listung entscheidet. Die Liste der DVG unterteilt sich für den Lebensmittelbereich derzeit in Bakterizidie und Fungizidie (DVG 2000). Mit der neuen Richtlinie (DVG 2007) erweitert sich die Liste um den Bereich Levurozidie, Viruzidie und Sporizidie. Zurzeit sind in der 6. Desinfektionsmittelliste der DVG für den Lebensmittelbereich 272 Präparate gelistet (DVG 2003). Die prozentualen Anteile des Vorkommens der verschiedenen Wirkstoffe innerhalb der DVG-Liste sind in Tabelle 2.12 dargestellt.

Tabelle 2.12: Prozentuale Anteile einzelner Wirkstoffe innerhalb der sechsten Desinfektionsmittelliste der DVG im Lebensmittelbereich (DVG 2003)

Wirkstoff	Prozentualer Anteil der Liste insgesamt
Quaternäre Ammoniumverbindungen	ca. 51,5 %
Amine	ca. 14,0 %
Alkohole	ca. 13,2 %
Na-Hypochlorit	ca. 9,6 %
Peressigsäure	ca. 6,6 %
Aktivchlor	ca. 3,3 %
Sonstige	ca. 3,0 %

3 Eigene Untersuchungen

3.1 Material

3.1.1 Desinfektionsmittel / Inaktivierungsmittel

Bei den Untersuchungen kam ein handelsübliches Peressigsäurepräparat zum Einsatz (PES 15/23, Firma Bactria GmbH & Co KG; Chargen Nr. 606-067). Die Lagerung erfolgte bei 7 °C.

Die Zusammensetzung war wie folgt:

Peressigsäure	ca. 15,3 %
Wasserstoffperoxid	ca. 24,1 %
Essigsäure und Wasser	in veränderlichen Anteilen

Folgende Inaktivierungsmittel wurden getestet:

Inaktivator 1:

Tween [®] 80 (Merck, Art. Nr. 8.22187)	30 g/l
Lecithin (Serva, Art. Nr. 27608)	3 g/l
Saponin (AppliChem, Art. Nr. 4518)	30 g/l
L-Histidin (AppliChem, Art. Nr. 3738)	1 g/l

Inaktivator 2:

Tween [®] 80	30 g/l
Lecithin	3 g/l
Natriumthiosulfat (Merck, Art. Nr. 6516)	5 g/l
L-Histidin	1 g/l

3.1.2 Testorganismen

Für die vorliegenden Versuche wurden ausschließlich *Bacillus cereus*-Stämme, bzw. deren Sporen verwendet. Es kamen die *B.cereus*-Stämme DSM 4384, DSM 318, DSM 4312 und DSM 4313 aus der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) zum Einsatz. Diese wurden regelmäßig frisch überimpft und auf ihre Reinheit hin kontrolliert. Welchen Ursprungs die Stämme sind, wird aus Tabelle 3.1 ersichtlich.

Tabelle 3.1: *B. cereus*-Stämme mit ihrem Ursprung und Eigenschaften

DSM Nr.	Quelle	Eigenschaften
318	Erbodenisolat	
4312	lebensmittelbedingter Krankheitsausbruch	Serotyp 1, Emetik
4313	lebensmittelbedingter Krankheitsausbruch	Serotyp 2, Diarrhoe
4384	lebensmittelbedingter Krankheitsausbruch	enterotoxisches Potenzial, ileal loop und dermonekrotische Aktivität

3.1.3 Testtemperaturen/Einwirkzeiten

Sämtliche Versuche wurden bei $20\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$, $15\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ und $10\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ im Wasserbad durchgeführt. Die Einwirkzeit des Desinfektionsmittels betrug jeweils 0 min., 5 min., 30 min. und 60 min.

3.1.4 Verdünnungsmittel/Nährmedien

Das Wasser standardisierter Härte (WSH) wurde, wie in der DVG-Richtlinie (DVG 2007) für den Lebensmittelbereich vorgeschrieben, hergestellt (siehe Kapitel 3.1.7).

Ein flüssiges und ein festes Nährmedium kamen zum Einsatz. Sowohl das Flüssignährmedium Caseinpepton Sojamehlpepton Bouillon (CSB) als auch der Festnährboden Caseinpepton Sojamehlpepton Agar (CSA) wurden als Trockennährmedien von der Firma Merck bezogen und nach Herstellerangaben angefertigt (siehe Kapitel 3.1.7).

3.1.5 Belastungssubstanzen

Die Eiweißbelastung für den Verdünnungs-Neutralisationstest (VNT) (DVG 2007) bestand aus bovinem Serum Albumin (BSA, Fraktion V, pulverisiert) gelöst in demineralisiertem Wasser (A. dest.). Sie wurde zehnfach vorkonzentriert angesetzt und bei 2 bis 8 °C maximal 14 Tage gelagert. Sie kam in der Endkonzentration von 3,0 g/l BSA (Fraktion V) zum Einsatz.

Beim qualitativen und quantitativen Suspensionstest (DVG 2000) war die Belastungssubstanz steriles und inaktiviertes Rinderserum (siehe Kapitel 3.1.7).

3.1.6 Laborausstattung

Brutschrank $37 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$	Memmert Typ B 80 800098
Heißluftsterilisator	Memmert Typ IJ 80
Autoklav	Webeco Nr. 74874
Laborstoppuhr	Junghans Nr. 312481000
Laborwaage	Sartorius, Anzeigenbereich 0,01 g
Mixer	KIKA Typ VF2
Schüttelwasserbad	Köttermann Typ 3047
Kühlwasserbad (Spezialanfertigung mit Umwälzthermostat)	Julabo F25-MC
Zentrifuge	Hermle Z 383 K
Camping Gaz	Typ Labogaz 206 Butan
Kühlschrank	Liebherr Profi Line Typ 200071
Gefrierschrank	Liebherr Typ GS 801-1/ 601
Magnetrührer	VWR Typ 620-S , 60 -1600 U/min
Glas-Messbecher (500 ml)	Schott Duran
Reaktionsgefäße	Eppendorf Typ 3810X, 1,5 ml
Pipettierhelfer	Brand Typ accu-jet [®] pro
Sterile Glasmesspipetten (1 ml, 5 ml, 10 ml und 25 ml)	Schott Duran
Petrischalen	
Sterile Pinzetten	
Impfösen	
Eppendorf-Pipetten (10 - 100µl, 100 µl, 50 - 200µl, 200 - 1000 µl)	
Drigalski Spatel	
Pasteurpipetten	

3.1.7 Chemikalien und Reagenzien

Nährboden

Caseinpepton Sojamehlpepton Agar

Hersteller war die Firma Merck (Art. Nr. 1.05458). 40 g des pulverförmigen Fertignährmediums wurden in 1 Liter A. dest. gelöst und anschließend autoklaviert. Der pH-Wert wurde mit Hilfe einer 2 molaren KOH-Lösung und einer 2 molaren HCl-Lösung auf $7,3 \pm 0,2$ eingestellt.

Zusammensetzung:

Pepton aus Casein	15,0 g/l
Pepton aus Sojamehl	5,0 g/l
Natriumchlorid	5,0 g/l
Agar-Agar	15,0 g/l

Flüssiges Nährmedium

Caseinpepton Sojamehlpepton Bouillon

Hersteller war die Firma Merck (Art. Nr. 1.05459).

30 g des pulverförmigen Nährmediums wurden in 1 Liter A. dest. gelöst und autoklaviert. Der pH-Wert wurde mithilfe von einer 2 molaren KOH-Lösung und einer 2 molaren HCl-Lösung auf $7,3 \pm 0,2$ eingestellt.

Zusammensetzung:

Pepton aus Casein	17,0 g/l
Pepton aus Sojamehl	3,0 g/l
D(+)-Glucose	2,5 g/l
Natriumchlorid	5,0 g/l
di-Kaliumhydrogenphosphat	2,5 g/l

Belastungssubstanzen

Rinderalbumin

Pulverförmige Albumin Fraktion V der Firma Roth (Art. Nr. 8076.2).

Rinderserum

Steriles Rinderserum, das bei 56 °C für 30 min. inaktiviert wurde (Firma elocin lab GmbH, Eppinhofer Str. 150, 45468 Mülheim an der Ruhr).

Wasser standardisierter Härte

Zur Herstellung von WSH wurden zwei Lösungen angesetzt.

Für **Lösung A** wurden 19,84 g MgCl_2 (anhydriert) und 46,24 g CaCl_2 (anhydriert) in 1000 ml A. dest. gelöst und autoklaviert. Die Lagerung erfolgte bei +2 bis +8 °C (max. einen Monat).

Zur Herstellung von **Lösung B** wurden 35,02 g NaHCO_3 in 1000 ml A. dest. gelöst und durch Membranfilter (0,22 μm) sterilisiert. Die Lagerung erfolgte bei +2 bis +8 °C (max. eine Woche).

Von der Lösung A wurden 6,0 ml und von der Lösung B 8,0 ml zu 700 ml A. dest. gegeben und auf 1000 ml A. dest. aufgefüllt. Der pH-Wert wurde auf $7,2 \pm 0,2$ eingestellt und wenn notwendig mit NaOH und HCl korrigiert. Das WSH wurde unter sterilen Bedingungen hergestellt und innerhalb von 12 h verbraucht.

3.2 Methoden

3.2.1 Herstellung der Sporensuspension

Keimanzüchtung:

Für den Versuchszeitraum wurden alle vier *B. cereus*-Stämme im 14 tägigen Abstand auf Caso-Agar frisch angezüchtet und mit einem fraktionierten Ösenausstrich auf Reinheit überprüft. Die Platten wurden in der Stammsammlung bei +2 bis +8 °C gelagert. Zusätzlich erfolgte bei jeder Entnahme, ein fraktionierter Ösenausstrich auf Caso-Agar um eventuelle Verunreinigungen auszuschließen. Zur Herstellung der Sporensuspension wurde von der Stammsammlung eine Einzelkolonie des jeweiligen Stammes entnommen und in Caso-Bouillon überführt. Nach 24 h Inkubation der Bouillon bei 37 °C, erfolgte mit dieser ein massiver Ösenausstrich auf Caso-Agar, welcher dann bei 37 °C für 10 Tage bebrütet wurde.

Abschwemmung:

Mit 7 ml physiologischer Kochsalzlösung (NaCl-Lösung) pro Platte und mit Hilfe eines sterilen Spatels wurde der Bakterienrasen von seinem Untergrund gelöst und mittels einer Pasteurpipette in Zentrifugenplastikröhrchen überführt.

Aufreinigung der Suspension und Abtötung vegetativer Keime:

Es folgten drei Zentrifugationen für 30 min. bei ca. 4500 U/min. Nach jedem Durchgang wurde der Überstand vorsichtig mit einer Pasteurpipette abpipettiert und das Bakteriensediment mit steriler NaCl-Lösung resuspendiert. Die entstandene

Suspension wurde in einem 70 °C heißen Schüttelwasserbad so platziert, dass der Wasserpegel die Bakteriensuspension vollständig überragte. Hier verblieben die Röhrrchen für 30 min. Im Anschluss wurden die Röhrrchen sofort in ein Eiswasserbad überführt und kühl gelagert.

Keimzählung der Sporensuspension und Einfrieren:

Die Sporensuspension wurde in einen sterilen Glaskolben überführt und mit Glycerin versetzt, so dass das Gemisch 7,5 % Glycerin enthielt. Danach erfolgte eine Überführung in sterile Eppendorf-Reaktionsgefäße, in denen die Sporensuspension bei -4 bis -2 °C eingefroren wurde. Von der gewonnenen Sporensuspension wurde die Keimzahl im Koch'schen Gussplattenverfahren mit Caso-Agar bestimmt.

3.2.2 Verdünnungstest

Der Verdünnungstest dient der Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration (MHK) und eines Inaktivators. Vom Desinfektionsmittel wurden geometrische Verdünnungsreihen mit und ohne Inaktivatoren angelegt (siehe Abbildung 3.1). Für einen mitgeführten Empfindlichkeitstest wurde eine zusätzliche geometrische Verdünnungsreihe mit Phenol hergestellt. Im Anschluss wurden alle Verdünnungsstufen mit jeweils 100 µl der Sporensuspension beimpft und bei 37 °C für 72 h bebrütet. Der Verdünnungstest erfolgte in zwei voneinander unabhängigen Ansätzen und gesondert für jeden *B. cereus*-Stamm.

Ermittlung des Inaktivators:

Es wurden Verdünnungsreihen ohne Inaktivator (Beispielhaft in Abbildung 3.1 skizziert) und mit drei unterschiedlichen Inaktivatoren (siehe Kapitel 3.1.1) angelegt. Der Inaktivator, der die MHK am weitesten heraufsetzte, wurde für alle weiteren Methoden in dieser Dissertation verwendet.

Ermittlung der MHK:

Die niedrigste Konzentrationsstufe des Desinfektionsmittels, die das Keimwachstum unterdrückte (Bakteriostase) wurde als MHK gewertet. Unterdrücktes Keimwachstum äußerte sich in Form eines klaren Röhrrcheninhalts. Eine Trübung der Röhrrchen wies auf Keimwachstum hin. In fraglichen Fällen wurde der Inhalt der Röhrrchen auf Caso-Agar ausgestrichen und nach 48 h Bebrütung bei 37 °C auf das Wachstum von *B. cereus* hin kontrolliert.

3.2.3 Qualitativer Suspensionstest

Für diesen Test kam das Prüfverfahren auf Bakterizidie modifiziert zum Einsatz (DVG 2000, 2007). Im qualitativen Suspensionstest (DVG 2000) wurde auf Sporizidie im eiweißbelasteten und unbelasteten Bereich getestet. Jeder Test erfolgte im Doppelansatz. Es wurde in Konzentrationen von 0,25 %, 0,5 %, 1,0 %, 1,5 % und 2,0 % geprüft. Die Einwirkzeiten betragen 0 min., 5 min., 30 min. und 60 min. Die Temperatur wurde jeweils konstant bei 10 °C ± 1, 15 °C ± 1 und 20 °C ± 1 gehalten. Als Testkeime dienten Sporen der verschiedenen *B. cereus*-Stämme (DSM 318, DSM 4312, DSM 4313 u. DSM 4384). Sie kamen als Sporensuspensionen zum Einsatz (siehe Kapitel 3.2.1).

Durchführung (siehe Abbildung 3.2):

10 ml der Desinfektionsmittelverdünnung (Desinfektionsmittel-Verdünnung in WSH) wurden mit 100 µl der Sporensuspension (ca. $5,0 \times 10^7$ KbE/ml) beimpft. Nach Ablauf der Einwirkzeit wurden aus dem Reaktionsgemisch 100 µl in 10 ml Caso-Bouillon mit Inaktivator überführt. Nach 72 h Bebrütung bei 37 °C zeigte ein klarer Röhrcheninhalt die Abtötung der inokulierten Sporenmenge (Wertung „-“), eine Trübung das Überleben und Auskeimen von Sporen an (Wertung „+“). Bei fraglichen Befunden erfolgte ein Ösenausstrich des Röhrcheninhalts auf CASO-Agar Platten. Nach 48 h Bebrütung bei 37 °C wurden die Platten auf das Wachstum von *B. cereus* hin überprüft.

Zur Abschätzung des Eiweißfehlers wurden 9 ml der DM-Verdünnung mit 1 ml Belastungssubstanz (siehe Kapitel 3.1.7) gemischt und anschließend mit 100 µl der Sporensuspension versetzt. Der Verdünnungsfaktor durch die Belastungssubstanz wurde durch eine Erhöhung der Konzentration der Desinfektionsmittel-Verdünnung kompensiert ($C_{Ist} = C_{Soll} \times 10/9$).

Kontrolle:

Bei allen Versuchen wurden Positivkontrollen in WSH mitgeführt, um eine wachstumshemmende Wirkung unter Prüfbedingungen auszuschließen.

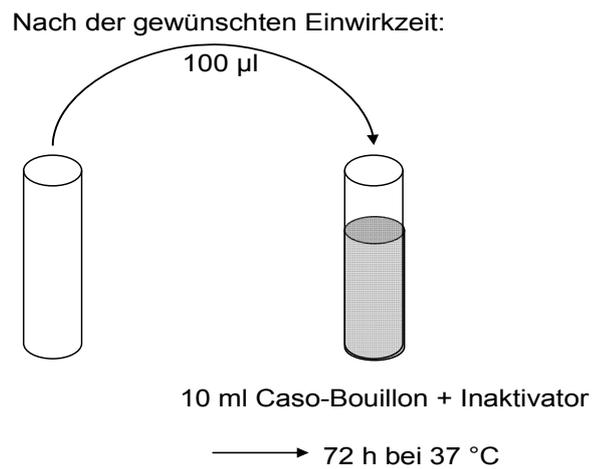
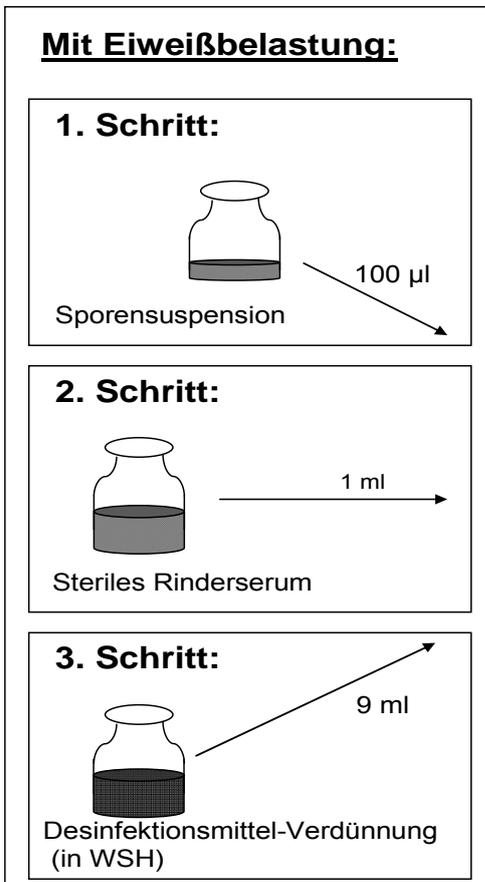
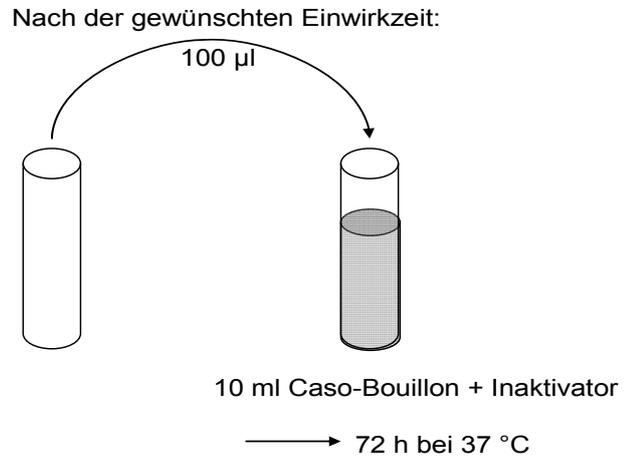
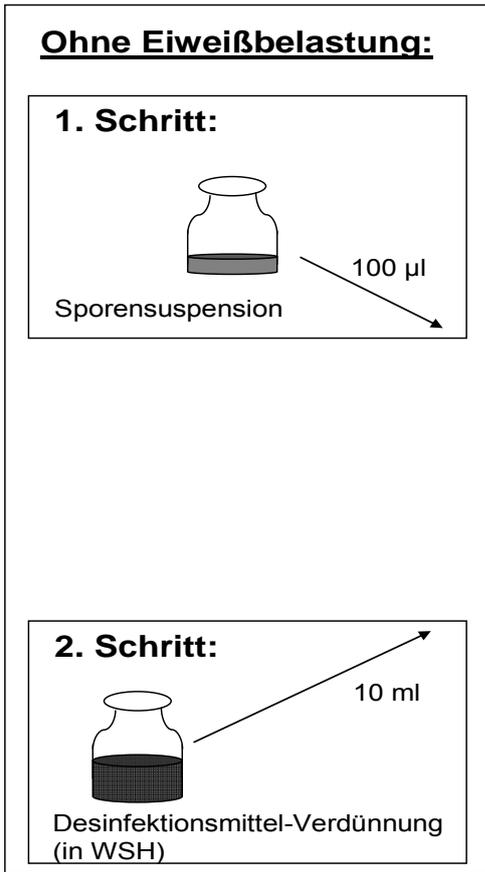


Abbildung 3.2: Durchführung des qualitativen Suspensionstests

3.2.4 Quantitativer Suspensionstest

Der quantitative Suspensionstest (DVG 2000) testet auf Sporizidie und bestimmt Keimzahlreduktionen. Es wurde in Konzentrationen von 0,25 %, 0,5 %, 1,0 %, 1,5 % und 2,0 % geprüft. Die Einwirkzeiten betragen 0 min., 5 min., 30 min. und 60 min. Jeder Test erfolgte im Doppelansatz, sowie mit und ohne Zusatz von Belastungssubstanzen. Die Temperatur wurde jeweils konstant bei $10\text{ °C} \pm 1$, $15\text{ °C} \pm 1$ und $20\text{ °C} \pm 1$ gehalten. Als Testkeime dienten Sporen der verschiedenen *B. cereus*-Stämme (DSM 318, DSM 4312, DSM 4313 u. DSM 4384). Sie kamen als Sporensuspensionen zum Einsatz (siehe Kapitel 3.2.1). Die Keimzahlreduktionen ergaben sich aus der Differenz der Keimzählungen zum Zeitpunkt 0 min. mit den Zeitpunkten 5 min., 30 min. und 60 min. Die Werte wurden als dekadischer Logarithmus angegeben ($\lg \text{ KbE/ml}$). Die Keimzählungen erfolgten im Plattengussverfahren mit Caso-Agar und anschließender Bebrütung für 48 h bei 37 °C .

Durchführung (siehe Abbildung 3.3):

Zu 10 ml der Desinfektionsmittelverdünnung wurden 100 μl der Sporensuspension (ca. $5,0 \times 10^7 \text{ KbE/ml}$) pipettiert. Nach Ablauf der Einwirkzeit wurde aus dem Reaktionsgemisch 1 ml in 9 ml Caso-Bouillon mit Inaktivator überführt. Nach einer 30 minütigen Inaktivierungszeit wurde eine Verdünnungsreihe mit Caso-Bouillon hergestellt. Aus den Verdünnungsstufen wurden jeweils 100 μl auf zwei leere Petrischalen gegeben und mit Caso-Agar übergossen. Nach 48 h Bebrütung bei 37 °C wurden die Kolonien auf den Platten gezählt und die Keimzahl im gewichteten arithmetischen Mittel berechnet.

Zur Abschätzung des Eiweißfehlers wurde 1 ml Belastungssubstanz (siehe Belastungssubstanzen) mit 100 μl der Sporensuspension gemischt und anschließend mit 9 ml der DM-Verdünnung versetzt. Der Verdünnungsfaktor durch die Belastungssubstanz wurde durch eine Erhöhung der Konzentration der DM-Verdünnung kompensiert ($C_{\text{Ist}} = C_{\text{Soll}} \times 10/9$).

Kontrolle:

Bei allen Versuchen wurden Positivkontrollen in WSH mitgeführt, um eine wachstumshemmende Wirkung unter Prüfbedingungen auszuschließen.

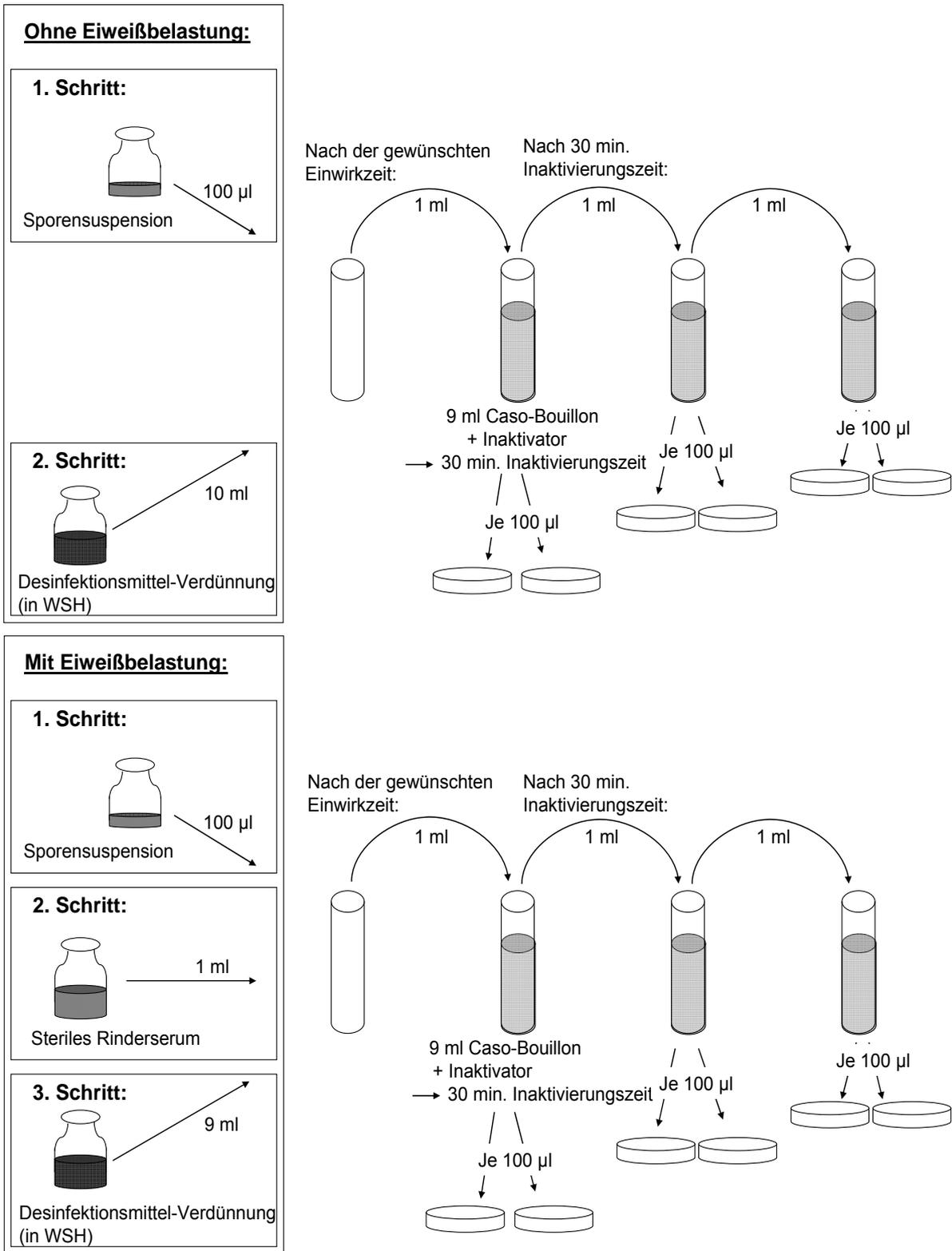


Abbildung 3.3: Durchführung des quantitativen Suspensionstests

3.2.5 Verdünnungs-Neutralisationstest (VNT)

Der Verdünnungs-Neutralisationstest (DVG 2007) wurde in Anlehnung an die DIN EN 1276 durchgeführt. Sporenprüfsuspensionen mit und ohne Eiweißbelastung kamen zum Einsatz. Es wurde in Desinfektionsmittel-Konzentrationen von 0,25 %, 0,5 %, 1,0 %, 1,5 % und 2,0 % geprüft. Als Testkeime dienten Sporen der verschiedenen *Bacillus cereus*-Stämme (DSM 318, DSM 4312, DSM 4313 u. DSM 4384). Die Prüftemperaturen betragen $10^{\circ}\text{C} \pm 1$, $15^{\circ}\text{C} \pm 1$ und $20^{\circ}\text{C} \pm 1$. Jeder Versuch wurde im Doppelansatz durchgeführt.

Durchführung (siehe Abbildung 3.4):

Zu 9 ml der Desinfektionsmittelverdünnung (Desinfektionsmittel-Verdünnung in WSH) wurde 1 ml der Sporensuspension (ca. $5,0 \times 10^7$ KbE/ml) pipettiert. Nach Ablauf der Einwirkzeit wurde aus dem Reaktionsgemisch 1 ml in 9 ml Caso-Bouillon mit Inaktivator überführt. Nach einer 5 minütigen Inaktivierungszeit wurde je nach Bedarf eine Verdünnungsreihe mit Caso-Bouillon hergestellt. Aus der gewünschten Verdünnungsstufe (Orientierungswerte aus dem quantitativen Suspensionstest) wurde jeweils 1 ml auf drei leere Petrischalen verteilt und mit Caso-Agar übergossen. Nach 48 h Bebrütung bei 37°C wurden die Kolonien auf den Platten gezählt und die Keimzahl im gewichteten arithmetischen Mittel berechnet.

Zur Abschätzung des Eiweißfehlers wurde 1 ml Belastungssubstanz (siehe Kapitel 3.1.7) mit 1 ml der Sporensuspension beimpft und nach $2 \text{ min.} \pm 10 \text{ s}$ mit 8 ml der DM-Verdünnung versetzt. Der Verdünnungsfaktor durch die Sporensuspensionszugabe ($C_{\text{Ist}} = C_{\text{Soll}} \times 10/9$), oder der Sporensuspensions- und Belastungssubstanzzugabe ($C_{\text{Ist}} = C_{\text{Soll}} \times 10/8$) wurde durch eine Erhöhung der Konzentration der Desinfektionsmittel-Verdünnung kompensiert.

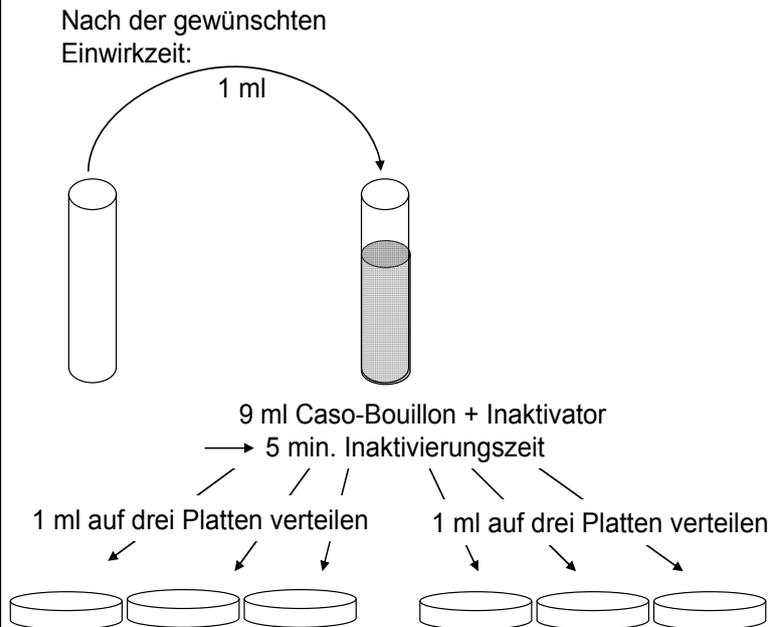
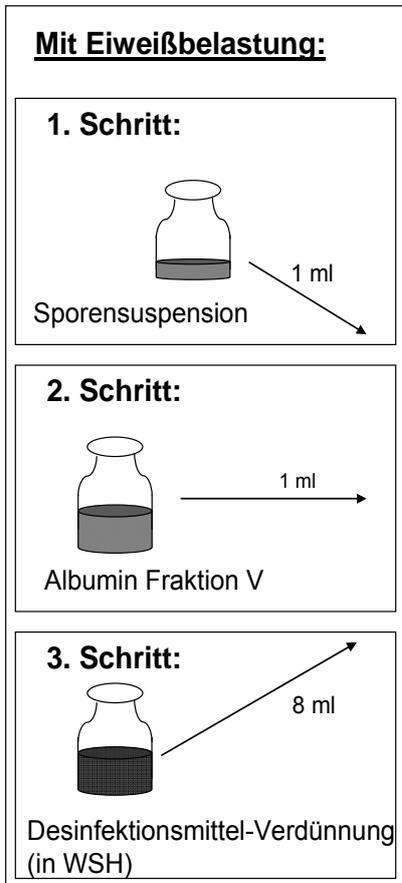
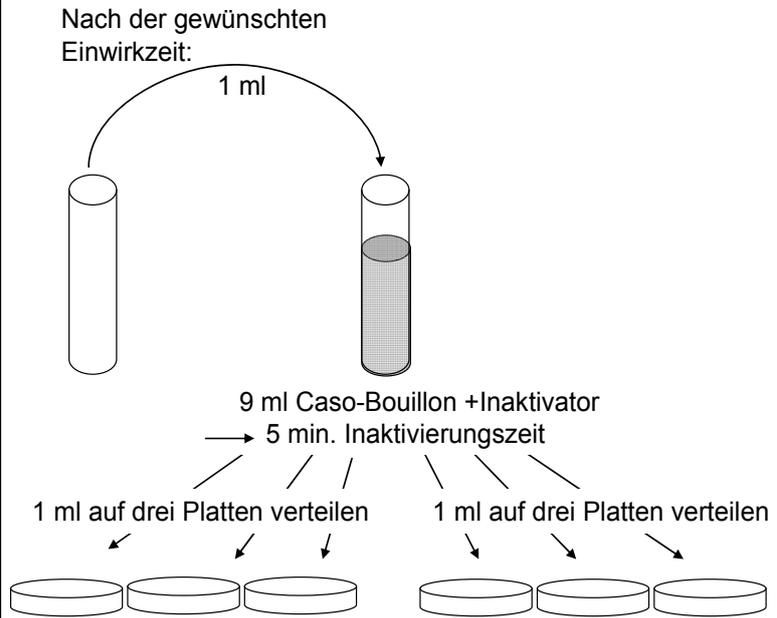
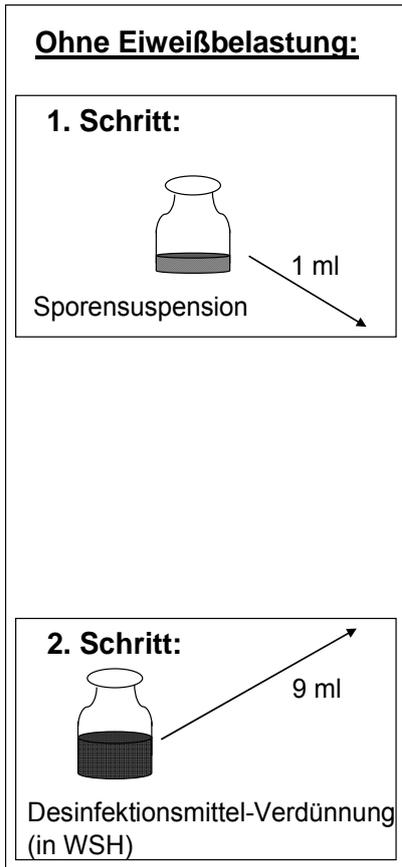


Abbildung 3.4: Durchführung des Verdünnungs-Neutralisationstests

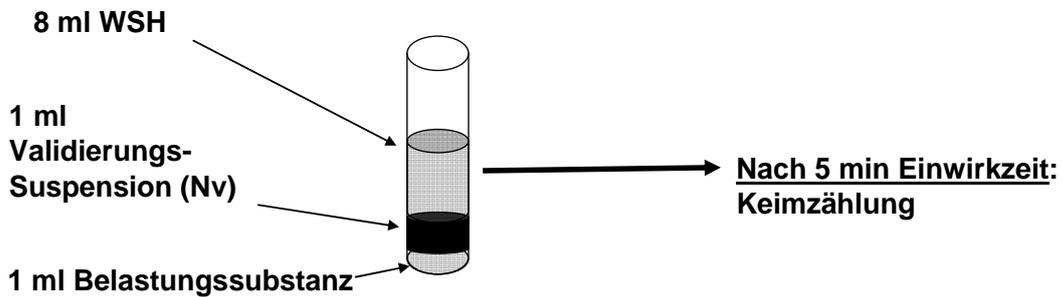
Kontrollen (siehe Abbildung 3.5):

Beim VNT wurden bei jedem Testansatz drei Validierungskontrollen mitgeführt. Für diese Validierungskontrollen wurde eine Validierungssuspension („Nv“ mit ca. 1×10^3 KbE/ml) hergestellt. Hierfür wurde mit der Sporensuspension (ca. 5×10^7 KbE/ml) eine dekadische Verdünnungsreihe in 9 ml Verdünnungsmittel (NaCl-Pepton-Lösung) angesetzt und 1 ml aus der Verdünnungsstufe 10^{-4} mit 4 ml Verdünnungsmittel verdünnt.

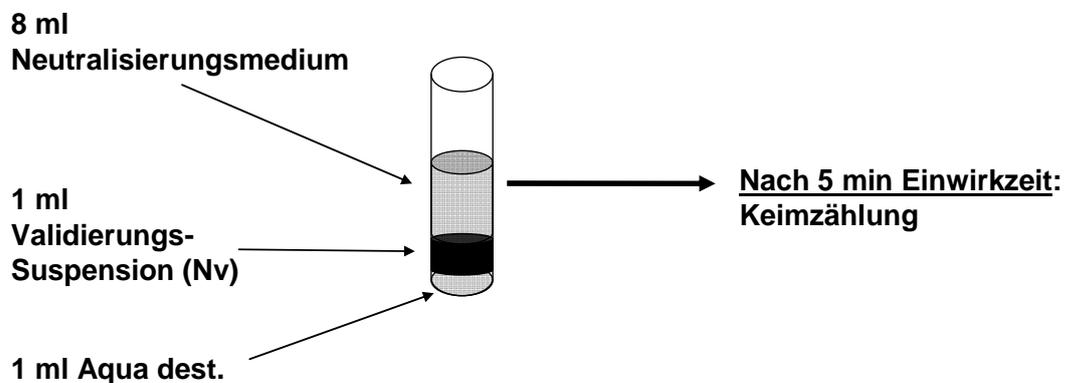
Kontrolle A diente der Abschätzung einer wachstumshemmenden Wirkung bei Prüfbedingungen. Hierfür wurde 1 ml Validierungssuspension mit 1 ml Belastungssubstanz und 8 ml WSH gemischt. **Kontrolle B** überprüfte die Toxizität des Inaktivators. 8 ml der Caso-Bouillon mit Inaktivator wurden mit 1 ml A. dest. und 1 ml Validierungssuspension inokuliert. Bei beiden Kontrollen wurde nach 5 minütiger Einwirkzeit eine Keimzählung im Plattengussverfahren durchgeführt.

Kontrolle C validierte das Neutralisierungsmedium. Zu 8 ml der höchsten Desinfektionsmittel-Verdünnung wurden 1 ml Belastungssubstanz und 1 ml NaCl-Pepton-Lösung gegeben. Hieraus wurde nach 5 minütiger Einwirkzeit 1 ml in 9 ml Neutralisierungsmedium (Caso-Bouillon mit Inaktivator) überführt. Es schlossen sich 5 min. Neutralisationszeit an. Im Anschluss wurde 1 ml der Validierungssuspension zugesetzt. Nach 30 min. Einwirkzeit wurde hieraus eine Keimzählung im Plattengussverfahren durchgeführt.

Kontrolle A: Prüfung der wachstumshemmenden Wirkung bei Prüfbedingungen



Kontrolle B: Prüfung der Toxizität des Neutralisierungsmediums



Kontrolle C: Validierung des Neutralisierungsmediums

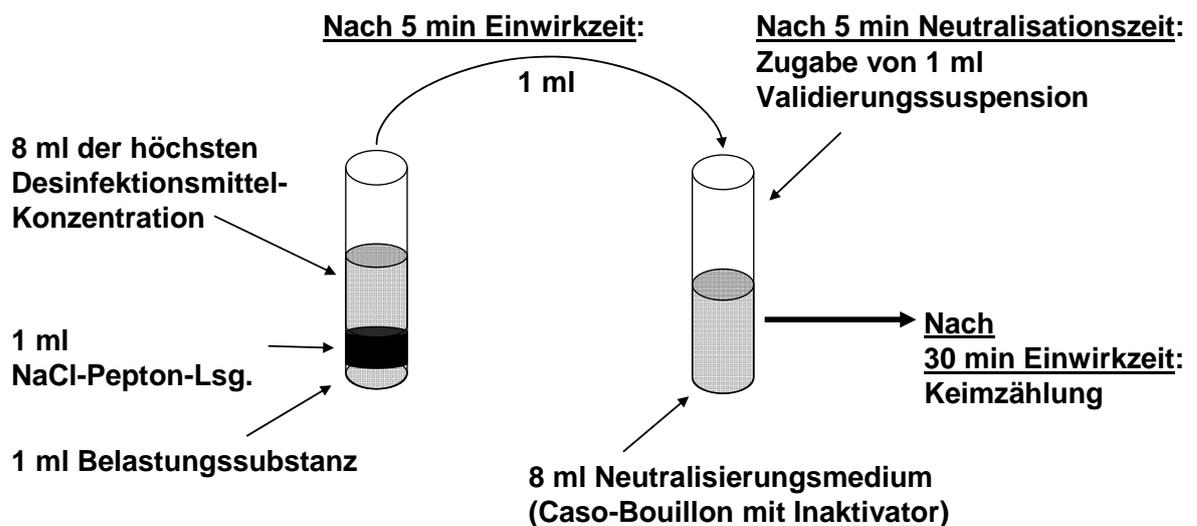


Abbildung 3.5: Validierungskontrollen A, B und C des Verdünnungs-Neutralisationstests

3.3 Statistische Auswertung

Qualitativer Suspensionstest

Die Auswertung des qualitativen Suspensionstests erfolgte rein deskriptiv.

Keimzahlbestimmung bei den quantitativen Testverfahren

Vor jeder Keimzählung wurden die Platten makroskopisch, bei Bedarf auch mikroskopisch, auf ihre Reinheit hin kontrolliert. Zur Auswertung der Keimzahlen wurden Platten mit ≥ 1 und ≤ 330 Kolonien pro Platte herangezogen. Die Berechnung der Keimzahl erfolgte nach der Farmiloe'schen Formel im gewogenen arithmetischen Mittel.

Farmiloe'sche Formel:

$$\bar{c} = \frac{\sum c}{n_1 \times 1 + n_2 \times 0,1} \times d$$

- \bar{c} = gewogener Mittelwert, Anzahl KbE/ml
- $\sum c$ = Summe der KbE aller Platten, die zur Berechnung herangezogen werden (niedrigste und nächsthöhere auswertbare Verdünnungsstufe)
- n_1 = Anzahl der Platten der niedrigsten auswertbaren Verdünnungsstufe, die zur Berechnung herangezogen werden
- n_2 = Anzahl der Platten der nächsthöheren Verdünnungsstufe
- d = Faktor der niedrigsten auswertbaren Verdünnungsstufe (n_1)

Zur Bewertung der **Reproduzierbarkeit** eines Ergebnisses in zwei von einander unabhängigen Ansätzen wurden innerhalb der Testarten die Vergleichsstandardabweichungen der Doppelansätze betrachtet. Nach der Eliminierung von Ausreißern mittels Ausreißertest nach Grubbs (95 % Signifikanzniveau) wurde zur Berechnung der Vergleichsstandardabweichungen die Formel nach FORSTER (2003) herangezogen.

$$s = \sqrt{\frac{\sum (\log R_1 - \log R_2)^2}{2t}}$$

- s = Standardabweichung
- $\log R_1$ = erstes Ergebnis in \log_{10} KbE/ml
- $\log R_2$ = zweites Ergebnis in \log_{10} KbE/ml
- t = Anzahl der Wertepaare (mind. 8)

Die Vergleichsstandardabweichung der Doppelansätze wurde zur Bestimmung der Messunsicherheit mit dem Erweiterungsfaktor 2 (1,96 für eine Wahrscheinlichkeit von 95 %) multipliziert.

Die amtliche Methode L 00.00-88 gibt für die Wiederholpräzision bei Keimzählungen einen Grenzwert von $r = 0,25$ (\log_{10} KbE/ml) an (BVL 2005). Dieser Grenzwert „r“ wurde als Orientierungswert für die Messunsicherheit herangezogen.

Darstellung der Ergebnisse des QST und VNT

Bei den quantitativen Testarten wurden alle Keimzahlen (KbE/ml) nach dem gewichteten arithmetischen Mittel errechnet. Zur Auswertung herangezogen wurden Platten, auf denen mindestens eine und höchstens 330 KbE gezählt wurden. Die Ergebnisse werden sortiert nach den verschiedenen *B. cereus*-Stämmen dargestellt. Jeweils gleiche Versuchsanordnungen im quantitativen Suspensionstest, wie im VNT, wurden direkt aufeinander folgend dargestellt. Die Ausgangskeimzahl (N_0) ist die Keimzahl zum Zeitpunkt 0 min. Einwirkungszeit. Die Keimzahlen nach den verschiedenen Einwirkungszeiten (0, 5, 30 und 60 min.) wurden zur jeweiligen Ausgangskeimzahl in Relation gesetzt. Hierzu wurden alle Keimzahlen nach den jeweiligen Einwirkungszeiten logarithmiert (Basis 10) und die Differenz zur logarithmierten (Basis 10) Ausgangskeimzahl (N_0) gebildet. Positive Werte geben somit eine Keimzahlreduktion, negative Werte ein Keimwachstum an.

Die **Nachweisgrenzen** der beiden quantitativen Testarten ergeben sich aus dem Versuchsaufbau und der Ausgangskeimzahl (N_0) der eingesetzten Sporensuspension. Beim quantitativen Suspensionstest (QST) lag die Nachweisgrenze (höchste nachweisbare Log-Reduktion) bei der zur 10er Potenz logarithmierten Ausgangskeimzahl abzüglich vier Log-Stufen. Der Verlust von vier Log-Stufen ergab sich durch den Aufbau des Versuches und den sich daraus ergebenden Verdünnungsschritten. Beim Verdünnungs-Neutralisationstest lag die Nachweisgrenze bei $\log_{10}(N_0)$ abzüglich 2 Log-Stufen, da der Aufbau des Versuches und die sich daraus ergebenden Verdünnungsschritte einen Verlust von zwei Log-Stufen verursachten. Beim Überschreiten der Nachweisgrenze wurde dies mit dem Zeichen „größer als“ (>) und der entsprechenden Nachweisgrenze dargestellt.

Die statistische Auswertung der Ergebnisse der quantitativen Testarten erfolgte über eine **mehrfaktoriellen Varianzanalyse** (SAS Statistik Software). Die Zeitpunkte $t_5 = 5$ min., $t_{30} = 30$ min. und $t_{60} = 60$ min. Einwirkungszeit wurden als „repeated measurements“ eingestuft, über die verschiedenen Einflussfaktoren

(Proteinbelastung, Temperatur, Keimart, Konzentrationsstufen und Testarten) gemittelt und verglichen.

Weibull-Verteilung

Die statistische Auswertung, der in dieser Arbeit ermittelten Keimzahlreduktionen zur Erstellung von Absterbekinetik-Kurven wurde mittels Weibull-Verteilung durchgeführt (Gleichung 1) (FERNÁNDEZ et al. 2002; VIRTO et al. 2006). Die Darstellung der „Response surfaces“ (3D-Modelle) basiert auf einer nicht linearen und multiparametrischen Regressionsmethode (Gleichung 2) (beide Statgraphics Centurion XV).

Erstes Model (Weibull-Verteilung):

$$\text{Log } N/N_0 = -((t/a)^n) \quad \text{Gleichung 1}$$

a= Kinetik Parameter, n= Kurven-Form Parameter,
t= Einwirkungszeit bei den verschiedenen Temperaturen
Wenn n < 1 konkaver Kurvenverlauf
Wenn n > 1 konvexer Kurvenverlauf
Wenn n = 1 linearer Kurvenverlauf

Zweites Model („response surfaces“):

Der Zusammenhang zwischen der Konzentration von PES 15/23, der Umgebungstemperatur und dem Kinetik Parameter „a“ wurde mittels einer multiparametrischen Regression analysiert. Die Ergebnisse können in einem dreidimensionalen „response surface“ dargestellt werden.

$$\text{Log}_a = A+B*\text{Con}+C*T+D*\text{Con}*T + \text{error} \quad \text{Gleichung 2}$$

a = Kinetik Parameter
A,B,C,D sind Konstanten
T= Temperatur
Con= Konzentration von PES 15/23
error = Fehlerterm (Residuum)

Die ausführlichen Testergebnisse der Weibull-Verteilung für jede Absterbekinetik-Kurve sind im Anhang aufgeführt (siehe Tab. 9.1 bis 9.46). Diese beinhalten die Parameter „a“ und „n“, deren Standardabweichung, 95 % Vertrauens-Intervalle, die Anpassungsgüte und Informationen über die Anzahl der eingesetzten Daten. Die

Anpassungsgüte beinhaltet mehrere Parameter, die Auskunft darüber geben, wie gut die errechnete Kurve zu den erhobenen Daten passt. Drei dieser Parameter wurden von MOTULSKY und CHRISTOPOULOS wie folgt definiert (2004).

Absolute Sum of Squares

Die „sum-of-squares“ (SS) oder auch „absolute sum of squares“ ist die Summe der Quadrate der vertikalen Abstände der erhobenen Datenpunkte von der errechneten Kurve. Die nicht-lineare Regression arbeitet mittels Variation der Werte der Variablen, um die Summe der Quadrate zu minimieren (Methode der kleinsten Quadrate). Sie wird angegeben als Quadrat der Einheit, die die verwendete Y-Variable besitzt.

Sy.x

Der Wert Sy.x ist die Standard Abweichung der Residuen. Sie besitzt die gleiche Einheit wie die Y-Werte und wird über die (Absolute) Sum of Squares (SS) und die Freiheitsgrade wie folgt definiert:

$$S_{y.x} = \sqrt{\frac{SS}{df}}$$

Sy.x = Standardabweichung der Residuen, SS = Sum of Squares, df = Freiheitsgrade

Bestimmtheitsmaß R²

R² quantifiziert die Anpassungsgüte (Bestimmtheitsmaß). Sein Wert liegt zwischen 0 und 1 und besitzt keine Einheit. Es ist üblich, r² bei linearen und R² bei nicht-linearen und multiplen Regressionen zu gebrauchen. R² basiert auf Zerlegung der Gesamtstreuung in Streuungskomponenten. Die Gesamtvariation der erhobenen Datenpunkte von den Y-Werten der Kurve lässt sich zerlegen in durch die Regression erklärte und unerklärte Variation:

$$ASS = ESS + RSS$$

ASS = Absolute Sum of Squares,

ESS = Explained Sum of Squares, RSS = Residual Sum of Squares

R² ergibt sich als der Anteil der erklärten Variation an der Gesamtvariation:

$$R^2 = \frac{ESS}{TSS} = 1 - \frac{RSS}{TSS}$$

TSS = Gesamtvariation (Total Sum of Squares)

Je höher der Wert, umso näher liegt das statistische Model an den erhobenen Daten. Wenn $R^2 = 0$, passt die Kurve nicht besser als eine horizontale Linie durch den Mittelwert der Y-Werte. Falls $R^2 = 1$, liegen alle Punkte exakt auf der Kurve (ohne Streuung).

4 Ergebnisse

4.1 Verdünnungstest nach DVG Richtlinie (2000)

Der Verdünnungstest diente der Ermittlung der MHK (Sporistase) und der geeigneten Inaktivierungssubstanzen. Die gewonnenen Ergebnisse sind in Tabelle 4.1 dargestellt. Bei allen vier *B. cereus*-Stämmen und in beiden von einander unabhängigen Ansätzen lag die minimale Hemmkonzentration (MHK) ohne Inaktivator bei 0,125 % PES 15/23. Zur Empfindlichkeitsprüfung wurde die MHK von Phenol mitbestimmt. Diese betrug bei allen Prüfansätzen 0,25 %, mit Ausnahme des Prüfansatzes A beim DSM 318 (0,125 %) (siehe Tabelle 4.1). Die WSH-Kontrolle war in allen Fällen positiv. Bei Inaktivator 1 handelte es sich um die polyvalente Inaktivator-Kombination nach DVG, welche laut DVG-Richtlinie bei jedem Verdünnungstest mitgeprüft werden muss (DVG 2000). Inaktivator 2 war eine Inaktivator-Kombination mit 0,5 % Natriumthiosulfat (siehe Kapitel 3.1.1). Der Inaktivator, der die MHK am weitesten heraufsetzt, gilt als der Wirksamste. Inaktivator 2 erhöhte die MHK von 0,125 % um zwei Stufen auf 0,5 % und erwies sich somit, wie auch in früheren Publikationen bei Peressigsäurepräparaten, als geeignet (ERNST 2003).

Tabelle 4.1: Ergebnisse des Verdünnungstests mit PES 15/23 (MHK angegeben in Vol. %)

Prüfstamm		ohne Inaktivator	Inaktivator 1	Inaktivator 2	Phenol Kontrolle	KbE/ml
DSM 318	A	0,125	0,125	0,5	0,125	$3,7 \times 10^7$
	B	0,125	0,125	0,5	0,25	$4,0 \times 10^7$
DSM 4312	A	0,125	0,125	0,5	0,25	$6,8 \times 10^7$
	B	0,125	0,063	0,5	0,25	$5,9 \times 10^7$
DSM 4313	A	0,125	0,125	0,5	0,25	$2,4 \times 10^7$
	B	0,125	0,125	0,5	0,25	$2,8 \times 10^7$
DSM 4384	A	0,125	0,125	0,5	0,25	$2,0 \times 10^6$
	B	0,125	0,125	0,5	0,25	$1,4 \times 10^6$

A u. B = zwei unabhängige Ansätze; WSH-Kontrolle in allen Fällen positiv

4.2 Qualitativer Suspensionstest

Der qualitative Suspensionstest dient der Darstellung des Überganges der unwirksamen (grau hinterlegte Felder) zu den wirksamen Konzentrationsstufen (weißer Hintergrund) des eingesetzten Desinfektionsmittels. Wirksamkeit im qualitativen Suspensionstest definiert sich über das Ausbleiben eines Keimwachstums, nach der jeweiligen Einwirkungszeit des eingesetzten Desinfektionsmittels sowie anschließender Bebrütung der Röhrrchen (72 h bei 37 °C). Das Inokulum (Sporensuspension) liegt, bedingt durch den Versuchsaufbau, für jedes Röhrrchen 4 Log-Stufen niedriger als die Ausgangskeimzahl. Bei einer Ausgangskeimzahl von durchschnittlich ca. $5,0 \times 10^7$ KbE/ml entspräche dies einer eingesetzten Sporenmenge von ca. $5,0 \times 10^3$ KbE/ml. Wirksamkeit ist demnach nur bei einer Ausgangskeimzahl $> 1,0 \times 10^7$ KbE/ml gleichzusetzen mit Sporizidie, da sich diese über eine Reduktion der Bakteriensporen um mindestens 3 Log-Stufen definiert (DIN EN 13704). Die Ergebnisse des qualitativen Suspensionstests sind in den Tabellen 4.2 bis 4.14 dargestellt. Die *B. cereus*-Stämme werden in aufeinander folgenden Unterkapiteln abgehandelt. Alle *B. cereus*-Stämme wurden bei 0,25 %, 0,5 %, 1,0 %, 1,5 % und 2,0 % getestet. Bei Bedarf (DSM 4312 u. DSM 4313) wurden die Konzentrationen erhöht.

4.2.1 *B. cereus* DSM 318 (Erdbodenisolat)

In den Tabellen 4.2 bis 4.4 sind die wirksamen (-) und unwirksamen (+) Prüfansätze des DSM 318 bei den verschiedenen Temperaturen, Konzentrationsstufen von PES 15/23 und Einwirkungszeiten aufgeführt.

Kältefehler (DSM 318):

Wie aus dem Vergleich der drei Ansätze (Tabelle 4.2 bis 4.4) hervorgeht, steigert eine Erhöhung der Temperatur die Wirksamkeit von PES 15/23. Bei 10 °C (mit Proteinbelastung) wird zur Sporizidie über 60 min. Einwirkungszeit eine Konzentration von 2,0 % benötigt (siehe Tabelle 4.2), bei 15 °C sind es noch 1,5 % (siehe Tabelle 4.3) und bei 20 °C nur noch 1,0 % (siehe Tabelle 4.4). Derselbe Trend ist bei den Probenansätzen ohne Proteinbelastung zu erkennen. Hier ergab sich Sporizidie nach 60 min. und 1,5 % (10 °C) sowie 1,0 % (20 °C) (siehe Tabelle 4.2 und 4.4). Dies zeigt, dass bei einer Temperatursenkung um 10 °C die Desinfektionsmittelkonzentration um das 1,5- bis 2-fache erhöht werden muss, um die Wirksamkeit zu garantieren (Kältefehler vorhanden).

Tabelle 4.2: *B. cereus* DSM 318 im qualitativen Suspensionstest bei 10 °C

Prüfstamm DSM 318	Konz. V %	ohne Rinderserum Zeit in Minuten				mit 10 % Rinderserum Zeit in Minuten											
		0		5		30		60		0		5		30		60	
		A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
Ausgangs- keimzahl/ml: A: 4,9 x 10 ⁷ B: 5,3 x 10 ⁷	0,25	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	0,5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	1,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	1,5	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	
	2,0	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-
Kontrolle																	
Phenol	1,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

+ = Wachstum; - = kein Wachstum; A u. B = zwei unabhängige Ansätze; WSH Kontrollen positiv

Tabelle 4.3: *B. cereus* DSM 318 im qualitativen Suspensionstest bei 15 °C

Prüfstamm DSM 318	Konz. V %	ohne Rinderserum Zeit in Minuten				mit 10 % Rinderserum Zeit in Minuten											
		0		5		30		60		0		5		30		60	
		A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
Ausgangs- keimzahl/ml: A: 5,5 x 10 ⁷ B: 6,2 x 10 ⁷	0,25	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	0,5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	1,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	1,5	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-
	2,0	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
Kontrolle																	
Phenol	1,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

+ = Wachstum; - = kein Wachstum; A u. B = zwei unabhängige Ansätze; WSH Kontrollen positiv

Tabelle 4.4: *B. cereus* DSM 318 im qualitativen Suspensionstest bei 20 °C

Prüfstamm DSM 318	Konz. V %	ohne Rinderserum Zeit in Minuten				mit 10 % Rinderserum Zeit in Minuten											
		0		5		30		60		0		5		30		60	
		A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
Ausgangs- keimzahl/ml: A: 7,0 x 10 ⁷ B: 1,5 x 10 ⁷	0,25	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	0,5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	1,0	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	
	1,5	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-
	2,0	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
Kontrolle																	
Phenol	1,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

+ = Wachstum; - = kein Wachstum; A u. B = zwei unabhängige Ansätze; WSH Kontrollen positiv

Der Kältefehler lässt sich auch an der Anzahl der sporizid wirkenden Probenansätze verdeutlichen, die in Tabelle 4.5 für die einzelnen Temperaturen zusammengefasst wurden. Sporizidie wird, analog zur DIN EN 13704, als eine Reduktion der Bakteriensporen um mindestens 10^3 KbE/ml definiert. Im unbelasteten Bereich steigen die sporizid wirkenden Prüfansätze von sechs auf elf, und im belasteten Bereich von einem auf acht (siehe Tabelle 4.5).

Tabelle 4.5: Anzahl wirksamer Probenansätze von *B. cereus* DSM 318 bei den verschiedenen Temperaturen (mit und ohne Proteinbelastung)

Temperatur	Anzahl wirksamer Probenansätze	
	ohne Proteinbelastung	mit Proteinbelastung
10 °C *	6	1
15 °C *	7	5
20 °C *	11	8

*Ergebnisse bei den Konzentrationen 0,25 %, 0,5 %, 1,0 %, 1,5 % und 2,0 %

Eiweißfehler (DSM 318):

Der Zusatz von Rinderserum mindert die Wirksamkeit von PES 13/25. So ist im unbelasteten Bereich bei 10 °C eine 60minütige Einwirkungszeit mit 1,5 % zur Sporizidie ausreichend, im belasteten Bereich bedarf es bei gleicher Einwirkungszeit einer Konzentration von 2,0 % (siehe Tabelle 4.2).

Bei 10 °C sind von ursprünglich sechs wirksamen Probenansätzen (ohne Proteinbelastung) unter dem Zusatz von Protein nur noch einer positiv, bei 15 °C verlieren zwei Probenansätze ihre sporizide Wirkung und bei 20 °C sind es drei Probenansätze weniger (siehe Tabelle 4.5).

4.2.2 *B. cereus* DSM 4312 (Emetik-Toxintyp)

In den Tabellen 4.6 bis 4.8 sind die wirksamen (-) und unwirksamen (+) Prüfansätze von *B. cereus* DSM 4312 bei den verschiedenen Temperaturen, Konzentrationsstufen von PES 15/23 und Einwirkungszeiten aufgeführt. Da bei 10 °C bis zur Konzentrationsstufe von 2,0 % kein Prüfansatz Wirksamkeit zeigte, kamen hier höhere Konzentrationsstufen zum Einsatz. In Tabelle 4.6 wurden, um den Übergang zur Wirksamkeit darstellen zu können, die Ergebnisse der Konzentrationsstufen 2, 3, 4, 5 und 10 % abgebildet

Tabelle 4.6: *B. cereus* DSM 4312 im qualitativen Suspensionstest bei 10 °C

Prüfstamm DSM 4312	Konz. V %	ohne Rinderserum Zeit in Minuten				mit 10 % Rinderserum Zeit in Minuten											
		0		5		30		60		0		5		30		60	
		A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
Ausgangs- keimzahl/ml: A: $6,2 \times 10^7$ B: $3,7 \times 10^7$	2,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	3,0	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
	4,0	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-
	5,0	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
	10,0	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-
Kontrolle																	
Phenol	1,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+ = Wachstum; - = kein Wachstum; A u. B = zwei unabhängige Ansätze; WSH Kontrollen positiv

Tabelle 4.7: *B. cereus* DSM 4312 im qualitativen Suspensionstest bei 15 °C

Prüfstamm DSM 4312	Konz. V %	ohne Rinderserum Zeit in Minuten				mit 10 % Rinderserum Zeit in Minuten											
		0		5		30		60		0		5		30		60	
		A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
Ausgangs- keimzahl/ml: A: $5,2 \times 10^7$ B: $4,3 \times 10^7$	0,25	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	1,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	1,5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
	2,0	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+
Kontrolle																	
Phenol	1,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+ = Wachstum; - = kein Wachstum; A u. B = zwei unabhängige Ansätze; WSH Kontrollen positiv

Tabelle 4.8: *B. cereus* DSM 4312 im qualitativen Suspensionstest bei 20 °C

Prüfstamm DSM 4312	Konz. V %	ohne Rinderserum Zeit in Minuten				mit 10 % Rinderserum Zeit in Minuten											
		0		5		30		60		0		5		30		60	
		A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
Ausgangs- keimzahl/ml: A: $3,8 \times 10^7$ B: $8,4 \times 10^6$	0,25	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,5	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	1,0	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-
	1,5	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
	2,0	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
Kontrolle																	
Phenol	1,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+ = Wachstum; - = kein Wachstum; A u. B = zwei unabhängige Ansätze; WSH Kontrollen positiv

Kältefehler (DSM 4312):

Beim *B. cereus* DSM 4312 kamen bei 10 °C höhere Konzentrationen zum Einsatz, da Konzentrationen bis 2,0 % keine Wirksamkeit zeigten. In Tabelle 4.9 ist die Anzahl wirksamer Prüfansätze des Stammes DSM 4312 bei den drei Temperaturen und im belasteten sowie unbelasteten Bereich, für die Konzentrationsstufen 0,25, 0,5, 1,0, 1,5 und 2,0 % dargestellt. Die Temperaturerhöhung steigerte die Anzahl wirksamer Probenansätze von Null (10 °C) auf jeweils zwei bei 15 °C sowie 10 und 14 bei 20 °C (siehe Tabelle 4.9). Im unbelasteten Bereich zeigten 20 °C, 60 min. und 0,5 % Wirksamkeit (siehe Tabelle 4.6), bei 15 °C waren 60 min. und 2,0 % (siehe Tabelle 4.7) und bei 10 °C 60 min. und 3,0 % für eine Wirksamkeit notwendig (siehe Tabelle 4.8). Dies entspricht dem sechsfachen der ursprünglichen Konzentration, um die Temperaturdifferenz auszugleichen. Auch im belasteten Bereich musste die Konzentration bei 60 min. Einwirkungszeit von 1,0 % (20 °C) auf 3,0 % (10 °C), also um das dreifache angehoben werden (siehe Tabelle 4.8 und 4.6). Somit tritt beim Stamm DSM 4312 ein stärkerer Kältefehler auf als beim *B. cereus* DSM 318, der eine 1,5- bis 2-fache Konzentrationserhöhung benötigte.

Tabelle 4.9: Anzahl wirksamer Probenansätze von *B. cereus* DSM 4312 bei den verschiedenen Temperaturen (mit und ohne Proteinbelastung)

Temperatur	Anzahl wirksamer Probenansätze	
	ohne Proteinbelastung	mit Proteinbelastung
10 °C *	0	0
15 °C *	2	2
20 °C *	14	10

*Ergebnisse bei den Konzentrationen 0,25 %, 0,5 %, 1,0 %, 1,5 % und 2,0 %

Eiweißfehler (DSM 4312):

Der Zusatz von Protein sorgte bei 10 °C, 4,0 % und 30 min. für einen Wirksamkeitsverlust. Allerdings zeigte sich bei 10 % und 5 min. eine Wirksamkeit, die ohne Proteinbelastung fehlte (siehe Tabelle 4.6). Bei 15 °C zeigte sich ebenfalls unter Zugabe von Proteinen ein Wirksamkeitsverlust bei 60 min. und 2,0 % und eine Wirksamkeit bei 30 min. und 1,5 %, die ohne Proteinbelastung nicht eintrat (siehe Tabelle 4.7). Die Anzahl der wirksamen Probenansätze unter Proteinbelastung sank bei 20 °C von 14 auf 10 (siehe Tabelle 4.8 und 4.9).

4.2.3 *B. cereus* DSM 4313 (Diarrhoe-Toxintyp)

In den Tabellen 4.11 bis 4.13 sind die wirksamen (-) und unwirksamen (+) Prüfansätze des Stammes DSM 4313 bei den verschiedenen Temperaturen, Konzentrationsstufen von PES 15/23 und Einwirkungszeiten aufgeführt. Die Sporen des *B. cereus* DSM 4313 stellten sich im qualitativen Suspensionstest als die resistenstesten der vier *B. cereus*-Stämme dar. In allen drei Temperaturstufen musste die Konzentration angehoben werden, um den Übergang zur Wirksamkeit darstellen zu können. Bei 15 °C und 20 °C war eine Erhöhung auf 10 % und bei 10 °C sogar auf 15 % notwendig.

Kältefehler (DSM 4313):

Tabelle 4.10 fasst, um die Vergleichbarkeit der Temperaturen zu gewährleisten, die Anzahl der wirksamen Probenansätze des *B. cereus* DSM 4313 bei 2, 3, 4, 5, und 10 % zusammen. Die Anzahl der wirksamen Probenansätze steigerte sich von fünf und sechs bei 10 °C, auf acht und neun (15 °C) bis hin zu 17 und 19 bei 20 °C (siehe Tabelle 4.10). Zur Aufrechterhaltung der Wirksamkeit musste bei 60 min. Einwirkungszeit die Konzentration von 2,0 % (20 °C) auf 4,0 % (15 °C) bis hin zu 5,0 % (10 °C) angehoben werden (siehe Tabelle 4.11 bis 4.13). Dies entspricht einer 2,5-fachen Erhöhung der Konzentration von PES 15/23. Damit liegt der Kältefehler des *B. cereus* DSM 4313 zwischen den Stämmen DSM 318 (1,5- bis 2-fache Erhöhung) und DSM 4312 (3- bis 6-fache Erhöhung).

Tabelle 4.10: Anzahl wirksamer Probenansätze von *B. cereus* DSM 4313 bei den verschiedenen Temperaturen (mit und ohne Proteinbelastung)

Temperatur	Anzahl wirksamer Probenansätze	
	ohne Proteinbelastung	mit Proteinbelastung
10 °C *	5	6
15 °C *	9	8
20 °C *	19	17

*Ergebnisse bei den Konzentrationen 2,0 %, 3,0 %, 4,0 %, 5,0 % und 10,0 %

Eiweißfehler (DSM 4313):

Im belasteten Bereich ist bei 10 °C ein Probenansatz mehr wirksam, als dies ohne Proteinbelastung der Fall ist. Bei 15 °C und 20 °C sinkt die Anzahl wirksamer Probenansätze durch die Proteinbelastung von neun auf acht und von 19 auf 17 (siehe Tabelle 4.10).

Tabelle 4.11: *B. cereus* DSM 4313 im qualitativen Suspensionstest bei 10 °C

Prüfstamm DSM 4313	Konz. V %	ohne Rinderserum Zeit in Minuten				mit 10 % Rinderserum Zeit in Minuten											
		0		5		30		60		0		5		30		60	
		A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
Ausgangs- keimzahl/ml: A: $1,8 \times 10^7$ B: $5,2 \times 10^7$	5,0	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	
	7,5	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	
	10,0	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	
	12,5	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	
	15,0	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	
Kontrolle																	
Phenol	1,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

+ = Wachstum; - = kein Wachstum; A u. B = zwei unabhängige Ansätze; WSH Kontrollen positiv

Tabelle 4.12: *B. cereus* DSM 4313 im qualitativen Suspensionstest bei 15 °C

Prüfstamm DSM 4313	Konz. V %	ohne Rinderserum Zeit in Minuten				mit 10 % Rinderserum Zeit in Minuten											
		0		5		30		60		0		5		30		60	
		A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
Ausgangs- keimzahl/ml: A: $4,7 \times 10^7$ B: $5,7 \times 10^7$	2,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	3,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	4,0	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
	5,0	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
	10,0	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
Kontrolle																	
Phenol	1,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

+ = Wachstum; - = kein Wachstum; A u. B = zwei unabhängige Ansätze; WSH Kontrollen positiv

Tabelle 4.13: *B. cereus* DSM 4313 im qualitativen Suspensionstest bei 20 °C

Prüfstamm DSM 4313	Konz. V %	ohne Rinderserum Zeit in Minuten				mit 10 % Rinderserum Zeit in Minuten											
		0		5		30		60		0		5		30		60	
		A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
Ausgangs- keimzahl/ml: A: $6,1 \times 10^7$ B: $5,0 \times 10^7$	2,0	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+
	3,0	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-
	4,0	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
	5,0	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
	10,0	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
Kontrolle																	
Phenol	1,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

- = Wachstum; - = kein Wachstum; A u. B = zwei unabhängige Ansätze; WSH Kontrollen positiv

4.2.4 *B. cereus* DSM 4384 (Diarrhoe-Toxintyp)

In den Tabellen 4.15 bis 4.17 sind die wirksamen (-) und unwirksamen (+) Prüfansätze des *B. cereus* DSM 4384 bei den verschiedenen Temperaturen, Einwirkungszeiten und Konzentrationsstufen von PES 15/23 aufgeführt.

Kältefehler (DSM 4384):

Eine höhere Wirksamkeit bei höheren Temperaturen ist auch beim vierten *B. cereus*-Stamm zu erkennen. Tabelle 4.14 gibt einen Überblick über die wirksamen Probenansätze des Stammes DSM 4384. Mit der Temperatur stiegen auch die wirksamen Probenansätze von zehn und acht (10 °C), auf 14 und 11 (20 °C) (siehe Tabelle 4.14). Um den Wirksamkeitsverlust durch eine Absenkung um 10 °C im unbelasteten Bereich auszugleichen, musste nach 60 min. Einwirkungszeit die Konzentration von 0,5 % auf 1,0 % erhöht werden. Auch im belasteten Bereich wurde nach 60 min. Einwirkungszeit die Anhebung von 1,0 % auf 1,5 % benötigt, um den Kältefehler auszugleichen (siehe Tabelle 4.17 und 4.15). Es ist also eine Erhöhung der Konzentration, um das 1,5- bis 2-fache, notwendig. Der Kältefehler des *B. cereus* DSM 4384 ist demnach vergleichbar mit *B. cereus* DSM 318 (1,5- bis 2-fache Erhöhung). Beim *B. cereus* DSM 4313 trat er stärker in Erscheinung (2,5-fache Erhöhung) und beim *B. cereus* DSM 4312 war er am höchsten (3- bis 6-fache Erhöhung).

Eiweißfehler (DSM 4384):

Bei 10 °C verlor die Konzentration von 1,0 % (60 min. Einwirkungszeit) durch die Zugabe des Proteins ihre vorher in beiden Ansätzen vorhandene Wirksamkeit (siehe Tabelle 4.15). Derselbe Wirksamkeitsverlust trat bei 30 min. und 1,0 % (15 °C) in Erscheinung (siehe Tabelle 4.16). Drei Probenansätze verloren bei der Umgebungstemperatur von 20 °C und unter Zugabe des Eiweiß ihre Wirksamkeit (siehe Tabelle 4.14).

Tabelle 4.14: Anzahl wirksamer Probenansätze von *B. cereus* DSM 4384 bei den verschiedenen Temperaturen (mit und ohne Proteinbelastung)

Temperatur	Anzahl wirksamer Probenansätze	
	ohne Proteinbelastung	mit Proteinbelastung
10 °C *	10	8
15 °C *	12	10
20 °C *	14	11

* Ergebnisse bei den Konzentrationen 0,25 %, 0,5 %, 1,0 %, 1,5 % und 2,0 %

Tabelle 4.15: *B. cereus* DSM 4384 im qualitativen Suspensionstest bei 10 °C

Prüfstamm DSM 4384	Konz. V %	ohne Rinderserum Zeit in Minuten				mit 10 % Rinderserum Zeit in Minuten											
		0		5		30		60		0		5		30		60	
		A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
Ausgangs- keimzahl/ml: A: $2,1 \times 10^7$ B: $2,2 \times 10^7$	0,25	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	1,0	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	1,5	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
	2,0	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
Kontrolle																	
Phenol	1,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+ = Wachstum; - = kein Wachstum; A u. B = zwei unabhängige Ansätze; WSH Kontrollen positiv

Tabelle 4.16: *B. cereus* DSM 4384 im qualitativen Suspensionstest bei 15 °C

Prüfstamm DSM 4384	Konz. V %	ohne Rinderserum Zeit in Minuten				mit 10 % Rinderserum Zeit in Minuten											
		0		5		30		60		0		5		30		60	
		A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
Ausgangs- keimzahl/ml: A: $1,8 \times 10^7$ B: $1,1 \times 10^7$	0,25	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	1,0	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
	1,5	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
	2,0	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
Kontrolle																	
Phenol	1,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+ = Wachstum; - = kein Wachstum; A u. B = zwei unabhängige Ansätze; WSH Kontrollen positiv

Tabelle 4.17: *B. cereus* DSM 4384 im qualitativen Suspensionstest bei 20 °C

Prüfstamm DSM 4384	Konz. V %	ohne Rinderserum Zeit in Minuten				mit 10 % Rinderserum Zeit in Minuten											
		0		5		30		60		0		5		30		60	
		A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
Ausgangs- keimzahl/ml: A: $5,0 \times 10^6$ B: $3,2 \times 10^7$	0,25	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,5	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	1,0	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-
	1,5	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
	2,0	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
Kontrolle																	
Phenol	1,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+ = Wachstum; - = kein Wachstum; A u. B = zwei unabhängige Ansätze; WSH Kontrollen positiv

4.3 Quantitativer Suspensionstests und Verdünnungs-Neutralisationstest

4.3.1 Keimzahlreduktionen und Varianzanalysen

In diesem Abschnitt sind die ermittelten Keimzahlreduktionen (Log-Reduktionen) der beiden quantitativen Testarten dargestellt. Die Ergebnisse werden sortiert nach den verschiedenen *B. cereus*-Stämmen vorgestellt. In Tabellen werden jeweils gleiche Versuchsanordnungen im quantitativen Suspensionstest, wie im VNT, direkt aufeinander folgend dargestellt. Die weiß hinterlegten Felder innerhalb der Tabellen 4.19 bis 4.30, weisen auf eine sporizide Wirksamkeit hin. Diese wird, analog zur DIN EN 13704, als eine Reduktion der Bakteriensporen um mindestens 10^3 KbE/ml bzw. 3 Log-Stufen definiert. Die Ausgangskeimzahl (N_0) ist die Keimzahl zum Zeitpunkt 0 min. Einwirkungszeit. Die Keimzahlen nach den verschiedenen Einwirkungszeiten (0, 5, 30 und 60 min.) wurden zur jeweiligen Ausgangskeimzahl in Relation gesetzt. Hierzu wurden alle Keimzahlen nach den jeweiligen Einwirkungszeiten logarithmiert (Basis 10) und die Differenz zur logarithmierten (Basis 10) Ausgangskeimzahl (N_0) gebildet. Positive Werte geben somit eine Keimzahlreduktion, negative Werte ein Keimwachstum an. Beim Überschreiten der Nachweisgrenzen (siehe Kapitel 3.3), wurde dies mit dem Zeichen „größer als“ (>) und der entsprechenden Nachweisgrenze dargestellt.

Die **Messunsicherheit** der Doppelansätze beider quantitativer Testarten (QST und VNT) innerhalb dieser Arbeit, wurde in Anlehnung an WICHMANN-SCHAUER (2009) über die Vergleichsstandardabweichung der Doppelansätze mit identischen Prüffaktoren (Wertepaare) quantifiziert und in Tabelle 4.18 dargestellt. Nach der Eliminierung von Ausreißern mittels Ausreißertest nach Grubbs (95 % Signifikanzniveau) wurde zur Berechnung der Vergleichsstandardabweichung der Doppelansätze die Formel nach FORSTER (2003) herangezogen (siehe Kapitel Nr. 3.3). Die Vergleichsstandardabweichung der Doppelansätze wurde zur Bestimmung der Messunsicherheit mit dem Erweiterungsfaktor 2 (1,96 für eine Wahrscheinlichkeit von 95 %) multipliziert. Somit besitzen Ergebnis-Abweichungen zwischen zwei Testansätzen mit identischen Prüffaktoren im Bereich bis $0,50 \log_{10}$ KbE/ml (für den QST) und $0,30 \log_{10}$ KbE/ml (VNT) eine geringere Bedeutung. Die Werte könnten als Reproduzierbarkeit eines Ergebnisses innerhalb der jeweiligen Testart angegeben werden (siehe Tabelle 4.18).

Tabelle 4.18: Standardabweichungen zwischen den Doppelansätzen mit identischen Prüffaktoren, gemittelt über die Testarten und Keime

	Vergleichs- Standard- abweichung	Anzahl Werte gesamt*	Messunsicherheit= doppelte Vergleichs- Standard- abweichung
Prüfansätze QST	0,27 log ₁₀ KbE/ml	263	0,54 log ₁₀ KbE/ml
Prüfansätze VNT	0,15 log ₁₀ KbE/ml	297	0,30 log ₁₀ KbE/ml

*Wertepaare (Doppelansätze), die zur Berechnung herangezogen werden konnten
 QST = quantitativer Suspensionstest; VNT = Verdünnungs-Neutralisationstest

DSM 318 (Erdbodenisolat):

Jede zu prüfende Kombination (Zeit, Temperatur, Konzentration und Protein) wurde in zeitlich von einander getrennten Doppelansätzen durchgeführt. Die Tabellen 4.19 bis 4.21 beinhalten die Log-Reduktionen jedes Doppelansatzes des *B. cereus* DSM 318 aus beiden quantitativen Testarten (QST und VNT), bei den drei Temperaturen (10, 15 und 20 °C) den fünf Konzentrationsstufen (0,25, 0,5, 1,0, 1,5 und 2,0 %) und im belasteten sowie unbelasteten Bereich. Es werden jeweils beide Testansätze ohne Proteinbelastung gefolgt von den beiden Testansätzen mit Proteinbelastung aufgeführt. Bei der Bewertung der Log-Reduktionen ist zu berücksichtigen, dass jede Keimzahlbestimmung und somit auch Log-Reduktion gewisse Messunsicherheiten aufweist.

Temperatur (DSM 318)

Der Vergleich der Tabellen 4.19 bis 4.21 zeigt, dass mit der Steigerung der Temperatur auch die Anzahl sporizid wirkender Testansätze (grau hinterlegte Felder) zunimmt. Der Temperatureinfluss war nach 30 bzw. 60 min. stärker ausgeprägt als nach 5 min, daher ergaben sich auch lediglich bei t_5 (5 min. Einwirkungszeit) zwischen 10 und 15 °C keine signifikanten Unterschiede in den Log-Reduktionen (mit $p = 0,0503$ allerdings statistisch auffällig).

Testarten (DSM 318)

Die Varianzanalyse ergab beim Stamm DSM 318 zwischen dem quantitativen Suspensionstest (QST) und dem Verdünnungs-Neutralisationstest (VNT) keine signifikanten Unterschiede in den ermittelten Keimzahlreduktionen ($p = 0,083$ bei t_5 , $p = 0,615$ bei t_{30} und $p = 0,946$ bei t_{60}). Daher werden zur besseren Übersichtlichkeit im weiteren Verlauf nur die Varianzanalysen erwähnt, die über beide Testarten gemittelt wurden.

Proteinbelastung (DSM 318)

Die Zugabe des Eiweißes ergab mit $p = 0,231$ für t_5 , $p = 0,118$ für t_{30} und $p = 0,666$ für t_{60} keinen signifikanten Unterschied in der Anzahl der abgetöteten Sporen.

Konzentrationsstufen (DSM 318)

Innerhalb der einzelnen Zeilen der Tabellen ist der Trend (von links nach rechts) einer wachsenden Log-Reduktion mit steigender Konzentration des Desinfektionsmittels zu verfolgen. Zum Beispiel erhöht sich die Log-Reduktion im unbelasteten Bereich bei 10 °C und 60 min. von 0,19 bis auf > 5,48 (siehe Tabelle 4.22). Die fünf Konzentrationsstufen ergaben fast durchgängig signifikante Unterschiede in den Keimzahlreduktionen, einzige Ausnahmen waren bei 5 min. Einwirkungszeit die beiden Konzentrationsabstufungen von 0,25 % auf 0,5 % sowie 1,5 % auf 2,0 %.

Tabelle 4.19: Ergebnisse des **quantitativen Suspensionstests (QST)** und **Verdünnungs-Neutralisationstest (VNT)** von *B. cereus* **DSM 318** bei **10 °C**, Daten dargestellt als $-\log_{10}(N_t/N_0)$

Protein- be- lastung	Einwirk- zeit [min.]	Konzentration von PES 15/23 [Vol. %]									
		0,25		0,5		1,0		1,5		2,0	
		QST	VNT	QST	VNT	QST	VNT	QST	VNT	QST	VNT
ohne	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0,09	0,20	0,16	0,11	0,07	0,29	0,43	0,36	0,31	0,52
	30	0,20	0,25	0,33	0,32	0,71	1,29	1,50	1,64	2,38	2,81
	60	0,31	0,38	0,84	0,56	1,10	1,51	2,48	3,38	> 3,54	4,67
ohne	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0,39	0,11	0,14	0,17	0,22	0,27	0,45	0,21	0,52	0,63
	30	0,80	0,26	0,46	0,47	0,80	1,06	1,43	1,74	2,11	3,37
	60	0,76	0,36	0,72	0,78	1,15	1,50	2,04	3,36	> 3,56	4,52
mit	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0,35	0,19	0,31	0,13	0,46	0,05	0,99	0,58	1,05	0,44
	30	0,47	0,29	0,81	0,44	1,27	0,67	2,50	2,18	3,59	2,72
	60	0,58	0,35	1,20	0,70	2,02	1,58	3,41	2,78	> 3,99	4,58
mit	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	-0,04	0,17	0,15	0,20	0,12	0,20	0,13	0,30	0,57	0,45
	30	0,03	0,20	0,46	0,28	0,72	0,66	1,19	1,91	2,14	2,59
	60	0,12	0,27	1,11	0,34	1,05	1,12	2,61	2,29	> 3,56	4,53

N_t = Keimzahl nach der jeweiligen Einwirkzeit, N_0 = Ausgangskeimzahl

Tabelle 4.20: Ergebnisse des **quantitativen Suspensionstests (QST)** und **Verdünnungs-Neutralisationstests (VNT)** von *B. cereus* **DSM 318** bei **15 °C**, Daten dargestellt als $-\log_{10}(N_t/N_0)$

Proteinbe- lastung	Einwirk- zeit [min.]	Konzentration von PES 15/23 [Vol. %]									
		0,25		0,5		1,0		1,5		2,0	
		QST	VNT	QST	VNT	QST	VNT	QST	VNT	QST	VNT
ohne	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0,38	-0,10	0,33	0,34	0,57	0,28	0,69	0,70	1,01	0,89
	30	0,69	0,12	0,82	0,70	1,76	1,35	2,75	4,71	> 3,67	5,09
	60	0,80	0,57	1,46	1,16	3,42	3,41	> 3,67	4,95	> 3,67	4,75
ohne	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0,09	-0,04	0,17	0,05	0,53	0,28	0,49	0,41	0,78	0,85
	30	0,32	0,34	0,92	0,61	2,18	1,51	3,18	4,42	> 3,32	4,59
	60	1,22	0,53	1,67	1,14	2,58	3,71	> 3,36	4,79	> 3,32	4,55
mit	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0,30	0,23	0,26	0,23	0,76	0,33	1,03	0,34	1,50	1,09
	30	0,40	0,41	0,67	0,53	1,84	1,41	> 3,91	3,16	> 3,92	3,03
	60	0,67	0,45	1,21	0,99	3,14	3,31	> 3,91	3,86	> 3,92	> 5,56
mit	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0,21	-0,08	0,27	0,09	0,48	0,17	0,74	0,32	0,87	0,78
	30	0,41	0,06	0,65	0,48	1,89	1,18	2,97	3,29	> 3,57	5,05
	60	0,48	0,14	1,49	0,88	3,27	3,24	> 3,74	4,10	> 3,57	> 5,70

N_t = Keimzahl nach der jeweiligen Einwirkzeit, N_0 = Ausgangskeimzahl

Tabelle 4.21: Inaktivierungskinetik von *B. cereus* **DSM 318** bei **20 °C** im **quantitativen Suspensionstest (QST)** und **Verdünnungs-Neutralisationstest (VNT)**, Daten dargestellt als $-\log_{10}(N_t/N_0)$

Proteinbe- lastung	Einwirk- zeit [min.]	Konzentration von PES 15/23 [Vol. %]									
		0,25		0,5		1,0		1,5		2,0	
		QST	VNT	QST	VNT	QST	VNT	QST	VNT	QST	VNT
ohne	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0,07	0,25	0,19	0,31	0,84	0,86	2,53	1,29	> 3,35	3,24
	30	0,42	0,65	1,27	0,99	> 3,51	3,84	> 3,31	> 5,71	> 3,35	> 5,58
	60	0,78	1,04	2,25	1,98	> 3,51	5,28	> 3,31	> 5,71	> 3,35	> 5,58
ohne	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0,39	0,14	0,68	0,02	0,81	0,60	1,91	1,16	2,99	2,65
	30	0,75	0,47	1,55	0,98	> 3,50	3,30	> 3,23	3,73	> 3,29	3,88
	60	1,22	0,97	2,39	1,87	> 3,50	3,48	> 3,23	3,75	> 3,29	3,85
mit	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0,12	0,15	0,36	0,29	0,81	0,65	1,70	0,90	1,80	1,60
	30	0,60	0,37	1,24	1,18	2,95	4,28	> 3,55	> 5,62	> 3,51	> 5,52
	60	0,95	0,75	2,44	1,81	> 3,70	> 5,68	> 3,55	> 5,62	> 3,51	> 5,52
mit	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	-0,03	-0,04	0,11	0,14	1,13	0,76	1,40	1,00	2,34	1,40
	30	0,38	0,40	1,07	1,12	3,21	3,41	> 3,38	> 5,64	> 3,43	> 5,49
	60	0,78	0,91	2,56	1,74	> 3,39	5,33	> 3,38	> 5,64	> 3,43	> 5,49

N_t = Keimzahl nach der jeweiligen Einwirkzeit, N_0 = Ausgangskeimzahl

DSM 4312 (Emetik-Toxintyp):

Die Tabellen 4.22 bis 4.24 beinhalten die Log-Reduktionen des Stammes DSM 4312 aus den beiden quantitativen Testarten bei 10, 15 und 20 °C.

Testarten (DSM 4312)

Auch für den Stamm DSM 4312 ergab sich mit $p = 0,157$ (t_5), $p = 0,885$ (t_{30}) und $p = 0,371$ (t_{60}) kein signifikanter Unterschied in den Keimzahlreduktionen der beiden Testarten (QST und VNT). Daher werden im weiteren Verlauf nur über beide Testarten gemittelte Varianzanalysen erwähnt.

Konzentrationsstufen (DSM 4312)

Je höher die gewählte Konzentrationstufe, desto höher die Menge der abgetöteten Sporen. Die Konzentrationsstufen ergaben bei 5 min. Einwirkungszeit nur zwischen 0,25 % und 0,5 % sowie zwischen 1,0 % und 1,5 % keinen signifikanten Unterschied. Nach 30 und 60 min. Einwirkungszeit waren die Keimzahlreduktionen mit jeder höheren Konzentrationsstufe auch signifikant höher.

Tabelle 4.22: Ergebnisse des **quantitativen Suspensionstests** (QST) und **Verdünnungs-Neutralisationstest** (VNT) von *B. cereus* **DSM 4312** bei **10 °C**, Daten dargestellt als $-\log_{10}(N_t/N_0)$

Proteinbe- lastung	Einwirk- zeit [min.]	Konzentration von PES 15/23 [Vol. %]									
		0,25		0,5		1,0		1,5		2,0	
		QST	VNT	QST	VNT	QST	VNT	QST	VNT	QST	VNT
ohne	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0,03	0,17	0,22	0,05	0,48	0,19	0,64	0,48	0,96	0,82
	30	0,30	0,13	0,64	0,74	1,38	1,31	1,74	2,30	2,36	3,31
	60	0,41	0,19	0,97	0,74	1,78	1,97	2,70	3,32	> 2,96	4,90
ohne	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0,14	0,23	-0,05	0,23	0,46	0,37	0,92	0,47	0,85	0,92
	30	0,36	0,45	0,57	0,62	1,51	1,38	2,21	2,50	3,11	5,32
	60	0,77	0,54	0,94	0,81	2,45	2,04	> 3,33	4,58	> 3,28	> 5,48
mit	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0,18	0,15	0,16	0,21	0,87	0,21	1,00	0,49	1,49	1,06
	30	0,22	0,34	0,33	0,50	1,53	1,22	2,27	2,43	3,27	3,94
	60	0,38	0,44	0,83	0,70	2,58	2,00	3,37	4,53	> 3,45	> 5,48
mit	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0,30	0,14	0,44	0,24	0,36	0,19	0,90	0,38	1,30	0,57
	30	0,38	0,30	0,76	0,50	1,32	1,22	2,09	2,49	> 3,14	4,94
	60	0,43	0,35	1,03	0,88	1,89	2,20	> 3,20	4,47	> 3,14	> 5,48

N_t = Keimzahl nach der jeweiligen Einwirkzeit, N_0 = Ausgangskeimzahl

Tabelle 4.23: Ergebnisse des **quantitativen Suspensionstests (QST)** und **Verdünnungs-Neutralisationstest (VNT)** von *B. cereus* **DSM 4312** bei **15 °C**, Daten dargestellt als $-\log_{10}(N_t/N_0)$

Proteinbe- lastung	Einwirk- zeit [min.]	Konzentration von PES 15/23 [Vol. %]									
		0,25		0,5		1,0		1,5		2,0	
		QST	VNT	QST	VNT	QST	VNT	QST	VNT	QST	VNT
ohne	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	-0,05	0,66	0,33	0,38	1,28	1,03	0,99	1,33	1,41	1,74
	30	0,62	0,43	1,27	1,48	2,39	3,09	> 3,29	> 5,52	> 3,15	> 5,51
	60	1,14	1,43	2,17	2,47	> 3,39	5,44	> 3,29	> 5,52	> 3,15	> 5,51
ohne	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0,18	0,38	0,23	0,28	0,83	0,75	0,90	1,13	1,48	1,18
	30	0,88	0,58	0,97	1,09	2,45	2,26	> 3,53	3,44	> 3,61	4,75
	60	1,31	1,00	1,82	1,66	> 3,47	3,49	> 3,53	5,50	> 3,61	5,28
mit	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0,42	0,10	0,44	0,17	0,58	0,54	1,04	0,76	1,22	1,03
	30	0,99	0,10	1,33	0,54	2,57	1,92	> 3,42	4,03	> 3,07	5,22
	60	1,34	0,43	1,84	1,46	> 3,38	3,88	> 3,42	> 5,51	> 3,07	> 5,40
mit	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0,14	0,12	0,37	-0,03	0,77	0,71	1,30	0,97	1,62	0,98
	30	0,62	0,31	1,09	0,63	2,31	1,92	> 3,27	4,51	> 3,00	> 5,30
	60	0,98	0,89	1,88	1,61	3,16	4,15	> 3,27	> 5,55	> 3,00	> 5,30

N_t = Keimzahl nach der jeweiligen Einwirkzeit, N_0 = Ausgangskeimzahl

Tabelle 4.24: Ergebnisse des **quantitativen Suspensionstests (QST)** und **Verdünnungs-Neutralisationstest (VNT)** von *B. cereus* **DSM 4312** bei **20 °C**, Daten dargestellt als $-\log_{10}(N_t/N_0)$

Proteinbe- lastung	Einwirk- zeit [min.]	Konzentration von PES 15/23 [Vol. %]									
		0,25		0,5		1,0		1,5		2,0	
		QST	VNT	QST	VNT	QST	VNT	QST	VNT	QST	VNT
ohne	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0,36	0,18	0,44	0,46	1,30	1,21	1,34	1,86	2,10	2,14
	30	0,98	0,96	1,60	1,96	2,70	3,58	> 3,16	4,71	> 2,96	5,03
	60	1,70	1,69	2,85	2,85	> 3,28	5,27	> 3,16	> 5,52	> 2,96	> 5,33
ohne	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0,67	0,16	0,79	0,39	1,73	1,13	1,99	2,39	2,57	2,68
	30	1,14	1,12	2,43	2,37	3,21	4,54	> 3,37	> 5,53	> 3,17	> 5,49
	60	2,18	1,87	3,60	3,15	> 3,39	> 5,41	> 3,37	> 5,53	> 3,17	> 5,49
mit	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0,13	0,37	0,37	0,37	1,16	0,99	1,97	1,80	2,48	2,26
	30	0,89	0,82	1,83	1,57	> 3,16	4,16	> 3,24	> 5,60	> 3,02	> 5,64
	60	1,46	1,18	> 3,30	3,30	> 3,16	> 5,56	> 3,24	> 5,60	> 3,02	> 5,64
mit	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0,21	0,33	0,63	0,40	1,31	1,00	1,32	1,68	2,70	2,16
	30	1,12	0,87	2,03	1,93	> 3,35	5,04	> 3,15	> 5,40	> 3,10	> 5,32
	60	1,60	1,44	> 3,46	2,76	> 3,35	> 5,52	> 3,15	> 5,40	> 3,10	> 5,32

N_t = Keimzahl nach der jeweiligen Einwirkzeit, N_0 = Ausgangskeimzahl

Proteinbelastung (DSM 4312)

Die Proteinbelastung ergab bei keiner Einwirkungszeit einen signifikanten Einfluss auf die Wirksamkeit von PES 15/23 ($p = 0,349$ für t_5 , $p = 0,191$ für t_{30} und $p = 0,23$ für t_{60}).

Temperatur (DSM 4312)

Je höher die Temperatur, umso besser war die Wirksamkeit von PES 15/23 gegenüber den eingesetzten Sporen. So stiegen die Anzahl der nachweislich sporizid wirkenden Prüfansätze von 21 bei 10 °C auf 51 bei 20 °C (siehe grau hinterlegte Felder in den Tabellen 4.22 bis 4.24). Dieser Temperatureinfluss erwies sich bei 30 und 60 min. durchgängig als signifikant, lediglich bei 5 min. Einwirkungszeit waren die Keimzahlreduktionen zwischen 15 und 20 °C mit $p = 0,114$ nicht signifikant.

DSM 4313 (Diarrhoe-Toxintyp):

Die ermittelten Keimzahlreduktionen (logarithmiert zur Basis 10) der quantitativen Testarten des Stammes DSM 4313 sind in den Tabellen 4.25 bis 4.27 dargestellt. Generell fällt auf, dass die Log-Reduktionen im Vergleich mit den drei anderen *B. cereus*-Stämmen, sehr gering ausfallen. Da die mittlere Keimzahlreduktion im QST nach 5 min. bei 0,142 Log-Stufen und die des VNT bei 0,058 Log-Stufen lag, und nur zwei von 120 Werten aus beiden Testarten die Messunsicherheit dieser Testart von 0,54 Log-Stufen (siehe Kapitel Nr. 4.3.1) überschritten, werden im Weiteren lediglich die Varianzanalysen von t_{30} und t_{60} erläutert.

Testarten (DSM 4313)

Beim Stamm DSM 4313 ergab sich, zwischen den ermittelten Log-Reduktionen der beiden quantitativen Testarten, nach 30 min. Einwirkungszeit mit $p = 0,0002$ ein signifikanter Unterschied, der sich nach 60 min. Einwirkungszeit hingegen nicht mehr darstellte ($p = 0,132$). Trotzdem werden die Signifikanzen für den DSM 4313 nach Testarten getrennt angegeben.

Proteinbelastung (DSM 4313)

Im VNT verursacht die Proteinbelastung bei 30 und 60 min. Einwirkungszeit keinen signifikanten Unterschied ($p = 0,539$ für t_{30} und $p = 0,472$ für t_{60}). Im QST wirkten die Prüfansätze mit Eiweiß signifikant besser ($p = 0,001$ für t_{30} und $p = 0,021$ für t_{60}).

Temperatur (DSM 4313)

Bei höheren Temperaturen ergaben sich nach 30 und 60 min. in beiden Testarten durchgängig signifikant höhere Keimzahlreduktionen. Bei 10 °C wirkte kein Testansatz sporizid, bei 20 °C hingegen waren es 14 Testansätze (siehe Tabelle 4.27).

Konzentrationsstufen (DSM 4313)

Aufgrund der relativ hohen Resistenz der Sporen von *B. cereus* (DSM 4313) gegen das Desinfektionsmittel blieben die Keimzahlreduktionen insgesamt recht gering. Hier kommt es daher häufiger zu nicht signifikanten Unterschieden zwischen den Konzentrationsstufen. Die Konzentrationsstufen im QST waren nach 30 min. und 60 min. Einwirkungszeit zwischen 0,25 % und 0,5 % sowie 1,5 % und 2,0 % nicht

signifikant unterschiedlich. Im VNT war dies zwischen 0,25 % und 0,5 % (t_{30} und t_{60}), 0,5 % und 1,0 % (t_{30} und t_{60}) sowie 1,0 % und 1,5 % (nur t_{30}) der Fall.

Tabelle 4.25: Ergebnisse des **quantitativen Suspensionstests (QST)** und **Verdünnungs-Neutralisationstest (VNT)** von *B. cereus* **DSM 4313** bei **10 °C**, Daten dargestellt als $-\log_{10}(N_t/N_0)$

Proteinbe- lastung	Einwirk- zeit [min.]	Konzentration von PES 15/23 [Vol. %]									
		0,25		0,5		1,0		1,5		2,0	
		QST	VNT	QST	VNT	QST	VNT	QST	VNT	QST	VNT
ohne	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0,05	0,08	0,27	0,11	0,19	0,12	-0,10	-0,03	-0,12	0,03
	30	0,06	0,03	0,30	0,08	0,16	0,22	-0,15	0,12	0,16	0,11
	60	0,24	0,17	0,42	0,26	0,48	0,35	0,29	0,82	0,58	0,85
ohne	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0,12	-0,08	-0,18	0	-0,29	0,13	0,05	0,05	0,19	0,17
	30	-0,02	-0,18	-0,10	0,14	-0,13	0,35	0,26	0,16	0,64	0,47
	60	-0,05	0,03	-0,14	0,16	0,18	0,44	0,69	0,42	0,88	0,90
mit	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0,09	-0,14	0,10	-0,08	0,30	-0,13	0,13	-0,14	0,20	0,06
	30	0,13	0	0,20	0,03	0,31	-0,02	0,49	0	0,73	0,16
	60	0,17	-0,11	0,29	-0,12	0,45	-0,08	0,73	0,23	1,14	0,72
mit	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	-0,17	0,07	-0,06	0,05	0,05	0,09	0,06	-0,09	0,07	0,03
	30	-0,15	0,07	0,10	0,05	0,43	0,12	1,03	0,01	0,97	0,28
	60	0,07	0,02	0,21	0,06	0,46	0,20	0,91	0,31	1,63	0,81

N_t = Keimzahl nach der jeweiligen Einwirkzeit, N_0 = Ausgangskeimzahl

Tabelle 4.26: Ergebnisse des **quantitativen Suspensionstests (QST)** und **Verdünnungs-Neutralisationstest (VNT)** von *B. cereus* **DSM 4313** bei **15 °C**, Daten dargestellt als $-\log_{10}(N_t/N_0)$

Proteinbe- lastung	Einwirk- zeit [min.]	Konzentration von PES 15/23 [Vol. %]									
		0,25		0,5		1,0		1,5		2,0	
		QST	VNT	QST	VNT	QST	VNT	QST	VNT	QST	VNT
ohne	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0	0,13	0,17	0,11	-0,16	0,05	-0,03	0,01	0,48	0,05
	30	0,10	0,17	0,24	0,16	0,12	0,15	0,33	0,25	0,96	0,83
	60	0,15	0,31	0,26	0,28	0,49	0,41	0,98	1,01	1,81	1,85
ohne	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0,15	0,15	0,01	0,09	0,33	0,08	0,15	0,05	0,33	0,16
	30	0,25	0,14	0,03	0,14	0,78	0,30	0,69	0,34	0,94	0,79
	60	0,32	0,17	0,30	0,13	1,29	0,43	1,23	1,18	1,81	1,58
mit	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0,19	0,02	0,02	0,01	0,13	0,05	0,26	0,09	0,34	-0,07
	30	0,34	0,08	0,20	0,05	0,44	0,27	0,89	0,48	1,36	0,74
	60	0,18	0,09	0,38	0,13	0,99	0,46	1,64	1,18	2,98	1,83
mit	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0,24	-0,01	0,23	0,01	0,19	0,03	0,35	0,07	0,20	0,11
	30	0,21	0,11	0,31	0,06	0,46	0,17	0,72	0,45	1,11	1,03
	60	0,30	0,14	0,47	0,08	0,92	0,30	1,76	1,10	2,30	2,19

N_t = Keimzahl nach der jeweiligen Einwirkzeit, N_0 = Ausgangskeimzahl

Tabelle 4.27: Ergebnisse des **quantitativen Suspensionstests (QST)** und **Verdünnungs-Neutralisationstest (VNT)** von *B. cereus* **DSM 4313** bei **20 °C**, Daten dargestellt als $-\log_{10}(N_t/N_0)$

Protein- be- lastung	Einwirk- zeit [min.]	Konzentration von PES 15/23 [Vol. %]									
		0,25		0,5		1,0		1,5		2,0	
		QST	VNT	QST	VNT	QST	VNT	QST	VNT	QST	VNT
ohne	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0,10	0,10	0,06	0,02	0,34	0,07	0,49	0,04	0,65	0,20
	30	0,46	0,06	0,66	0,06	1,37	0,57	1,96	1,32	2,77	1,92
	60	0,58	0,09	1,40	0,59	2,43	1,56	> 3,63	2,98	> 3,47	4,71
ohne	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	-0,25	0,16	0	0,26	0,06	0,27	0,23	0,04	0,42	0,09
	30	-0,11	0,10	0,28	0,14	0,69	0,62	1,06	0,98	2,03	1,64
	60	0,03	0,27	0,60	0,74	1,60	1,62	> 3,37	2,77	> 3,43	3,76
mit	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0,20	0	0,11	-0,01	0,47	0,09	0,49	0,19	0,80	0,19
	30	0,38	0,06	0,55	0,15	1,40	0,42	2,22	0,95	3,11	2,12
	60	0,48	0,05	0,88	0,24	1,91	1,04	3,66	3,27	> 3,92	> 5,63
mit	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0,20	-0,03	0,20	0,09	0,28	0,04	0,33	0,05	0,36	0,14
	30	0,34	-0,05	0,72	0,19	1,48	0,49	1,96	1,13	2,89	2,11
	60	0,46	0,08	0,80	0,27	2,16	1,38	3,33	2,99	> 3,67	5,26

N_t = Keimzahl nach der jeweiligen Einwirkzeit, N_0 = Ausgangskeimzahl

DSM 4384 (Diarrhoe-Toxintyp):

Die Keimzahlreduktionen des Stammes DSM 4384 werden folgend in den Tabellen 4.28 bis 4.30 aufgeführt. Der Stamm DSM 4384 stach durch relativ hohe Keimzahlreduktionen hervor. Weiterhin war zu beobachten, dass er nur schwer auf eine hohe Ausgangskeimzahl anzuzüchten war. Daraus resultieren die niedrigen Nachweisgrenzen der Log-Reduktionen im QST. Da die Nachweisgrenzen oft überschritten wurden, blieben nur wenige Beobachtungen, die zur Auswertung herangezogen werden konnten. So wurden nur die Konzentrationsstufen 0,25, 0,5 und 1,0 % ausgewertet.

Testarten (DSM 4384)

Die Log-Reduktionen der beiden Testarten (QST und VNT) zeigten nach 5 min. ($p = 0,026$) und 60 min. Einwirkungszeit ($p = 0,038$) signifikante Unterschiede. Bei einer Einwirkungszeit von 30 min. ergab sich hingegen kein signifikanter aber statistisch auffälliger Unterschied ($p = 0,090$). Für den *B. cereus* DSM 4384 werden die Varianzanalysen daher getrennt nach Testart angegeben.

Proteinbelastung (DSM 4384)

Die Proteinbelastung bewirkte nur beim VNT nach 60 min. Einwirkungszeit eine signifikant niedrigere Reduktion der Sporen des Stammes DSM 4384.

Tabelle 4.28: Ergebnisse des **quantitativen Suspensionstests** (QST) und **Verdünnungs-Neutralisationstest** (VNT) von *B. cereus* **DSM 4384** bei **10 °C**, Daten dargestellt als $-\log_{10}(N_t/N_0)$

Protein- be- lastung	Einwirk- zeit [min.]	Konzentration von PES 15/23 [Vol. %]									
		0,25		0,5		1,0		1,5		2,0	
		QST	VNT	QST	VNT	QST	VNT	QST	VNT	QST	VNT
ohne	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0,56	0,16	0,75	0,48	0,73	0,87	1,03	1,63	1,32	3,14
	30	0,67	0,62	1,05	1,16	1,71	3,88	> 2,71	> 5,03	> 2,60	> 4,88
	60	1,02	0,79	1,49	2,25	2,89	> 5,06	> 2,71	> 5,03	> 2,60	> 4,88
ohne	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0,19	0,15	0,29	0,26	0,67	0,76	0,89	1,40	1,14	3,15
	30	0,48	0,48	0,71	0,84	1,37	3,69	2,12	> 4,94	> 2,71	> 4,83
	60	0,64	0,57	1,11	1,55	2,18	> 5,03	> 2,72	> 4,94	> 2,71	> 4,83
mit	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0,64	0,10	0,96	0,16	1,21	0,67	1,91	1,16	> 2,60	2,53
	30	1,12	0,48	2,20	0,71	> 2,82	2,84	> 2,69	> 4,88	> 2,60	> 4,81
	60	1,46	0,62	> 3,05	1,39	> 2,82	> 4,96	> 2,69	> 4,88	> 2,60	> 4,81
mit	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0,33	0,18	0,28	0,32	0,73	0,64	0,78	1,78	1,31	3,33
	30	0,52	0,57	1,14	0,98	2,35	2,96	> 2,18	> 4,81	> 2,18	> 4,68
	60	0,75	0,63	1,53	1,50	> 2,81	4,09	> 2,18	> 4,81	> 2,18	> 4,68

N_t = Keimzahl nach der jeweiligen Einwirkzeit, N_0 = Ausgangskeimzahl

Tabelle 4.29: Ergebnisse des **quantitativen Suspensionstests (QST)** und **Verdünnungs-Neutralisationstest (VNT)** von *B. cereus* **DSM 4384** bei **15 °C**, Daten dargestellt als $-\log_{10}(N_t/N_0)$

Proteinbe- lastung	Einwirk- zeit [min.]	Konzentration von PES 15/23 [Vol. %]									
		0,25		0,5		1,0		1,5		2,0	
		QST	VNT	QST	VNT	QST	VNT	QST	VNT	QST	VNT
ohne	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0,18	0,32	0,17	0,74	0,44	1,70	0,83	4,32	0,87	> 4,32
	30	0,53	1,10	0,60	2,64	1,31	> 4,82	2,37	> 4,72	> 3,00	> 4,32
	60	0,64	1,26	0,83	3,40	2,32	> 4,82	> 3,09	> 4,72	> 3,00	> 4,32
ohne	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0	0,05	0,65	0,41	0,89	0,93	1,04	2,50	1,47	3,63
	30	0,77	0,48	1,33	1,73	2,31	4,15	> 2,56	> 4,96	> 2,49	> 4,69
	60	1,12	1,03	2,33	2,55	> 2,61	> 4,89	> 2,56	> 4,96	> 2,49	> 4,69
mit	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0,32	0,33	0,98	0,47	2,35	0,92	> 2,61	2,34	> 2,23	3,15
	30	1,05	0,68	> 2,88	1,28	> 2,74	3,93	> 2,61	> 4,91	> 2,23	> 4,63
	60	1,77	0,78	> 2,88	2,27	> 2,74	> 4,98	> 2,61	> 4,91	> 2,23	> 4,63
mit	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0,71	0,10	1,34	0,43	2,28	0,75	> 2,43	2,14	> 2,41	3,15
	30	1,50	0,62	2,97	1,38	> 2,83	3,52	> 2,43	> 4,94	> 2,41	> 4,68
	60	2,15	0,82	> 2,97	2,45	> 2,83	> 5,05	> 2,43	> 4,94	> 2,41	> 4,68

N_t = Keimzahl nach der jeweiligen Einwirkzeit, N_0 = Ausgangskeimzahl

Tabelle 4.30: Ergebnisse des **quantitativen Suspensionstests (QST)** und **Verdünnungs-Neutralisationstest (VNT)** von *B. cereus* **DSM 4384** bei **20 °C**, Daten dargestellt als $-\log_{10}(N_t/N_0)$

Proteinbe- lastung	Einwirk- zeit [min.]	Konzentration von PES 15/23 [Vol. %]									
		0,25		0,5		1,0		1,5		2,0	
		QST	VNT	QST	VNT	QST	VNT	QST	VNT	QST	VNT
ohne	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0,65	0,38	0,89	1,22	1,30	2,79	1,88	> 4,43	> 2,69	> 3,90
	30	1,40	1,78	2,56	4,11	> 2,84	4,79	> 2,62	> 4,43	> 2,69	> 3,90
	60	2,25	2,69	> 3,10	> 4,99	> 2,84	> 4,79	> 2,62	> 4,43	> 2,69	> 3,90
ohne	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0,62	0,60	0,78	1,07	1,41	2,18	1,59	> 4,31	1,93	> 4,13
	30	1,14	1,74	1,58	3,38	> 2,60	> 4,48	> 2,25	> 4,31	> 2,23	> 4,13
	60	1,47	2,76	2,03	> 4,86	> 2,60	> 4,48	> 2,25	> 4,31	> 2,23	> 4,13
mit	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0,91	0,56	1,76	0,82	> 2,64	2,54	> 2,11	3,99	> 1,51	> 4,06
	30	2,31	1,44	> 2,89	2,74	> 2,64	> 4,70	> 2,11	> 4,39	> 1,51	> 4,06
	60	3,05	2,35	> 2,89	4,64	> 2,64	> 4,70	> 2,11	> 4,39	> 1,51	> 4,06
mit	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0,62	0,48	0,78	1,16	1,32	2,13	1,60	> 4,20	> 2,25	> 3,98
	30	1,02	1,52	1,47	3,56	> 2,56	> 4,53	> 2,48	> 4,20	> 2,25	> 3,98
	60	1,38	2,08	2,46	> 4,92	> 2,56	> 4,53	> 2,48	> 4,20	> 2,25	> 3,98

N_t = Keimzahl nach der jeweiligen Einwirkzeit, N_0 = Ausgangskeimzahl

Temperatur (DSM 4384)

Je höher die Temperatur, umso effektiver wirkte PES 15/23 gegen die Sporen des Stammes DSM 4384. Während im QST zwischen 10 °C und 15 °C kein signifikanter Unterschied in der Keimreduktion vorherrschte, ergaben im VNT alle Temperaturen einen signifikanten Unterschied. Die Anzahl der nachweislich sporizid wirkenden Testansätze stieg von 25 auf 41 (siehe Tabelle 4.28 und 4.30).

Konzentrationsstufen (DSM 4384)

Ebenso ergaben alle auswertbaren Konzentrationsstufen (0,25, 0,5 und 1,0 %) im VNT mit einer Steigerung der Konzentration eine signifikant höhere Keimzahlreduktion. Im QST zeigten sich nach 5 min. Einwirkungszeit keine signifikant unterschiedlichen Keimzahlreduktion. Nach 30 und 60 min. traten die Wirksamkeiten der unterschiedlichen Konzentrationen besser hervor. Hier waren nur 0,25 und 0,5 % nicht signifikant unterschiedlich.

4.3.2 Weibull-Verteilung

Die Daten aus dem quantitativen Suspensionstest (QST) und dem Verdünnungs-Neutralisationstest (VNT) wurden mittels Weibull-Verteilung analysiert. Hierbei wurden zwei Parameter der Absterbekinetik errechnet. Der n -Parameter gibt an, ob die entsprechende Absterbekinetik-Kurve einen konvexen ($n > 1$) oder konkaven ($n < 1$) Verlauf besitzt. Wäre der n -Wert 1, besäße der Graph einen linearen Verlauf. Der zweite Parameter ist der a -Wert. Der a -Wert ist ein Kinetik-Parameter.

Je niedriger der a -Wert, desto besser die Wirksamkeit bzw. niedriger die Resistenz des eingesetzten Mikroorganismus.

Der a -Wert kann herangezogen werden, um Effekte der Konzentration, der Temperatur, der Proteinbelastung und auch die Resistenz der vier *B. cereus*-Stämme zu vergleichen. Die a -Werte des quantitativen Suspensionstest sind in den Tabellen 4.32 und 4.33, die a -Werte des VNT in Tabelle 4.35 dargestellt. Ebenso können die Absterbekinetik-Kurven in den Abbildungen 4.1 bis 4.3 (QST) und 4.4 bis 4.6 (VNT) diese Sachverhalte graphisch darstellen. Abschließend bieten die „responce surfaces“ eine dreidimensionale Darstellungsmöglichkeit. In diesen können die a -Werte in Abhängigkeit von Temperatur und Konzentration abgebildet werden (siehe Abbildung 4.7 bis Abbildung 4.14)

Weibull-Verteilung für den quantitativen Suspensionstest (QST)

In den Tabellen 4.32 und 4.33 sind nachfolgend die im QST ermittelten n- und a-Werte im belasteten und unbelasteten Bereich dargestellt.

Konzentrationsstufen (QST)

Über alle Stämme hinweg waren die a-Werte niedriger, wenn die Konzentration des Desinfektionsmittels erhöht wurde. Dies deutet auf eine niedrigere Resistenz der Mikroorganismen hin, wenn mehr Wirkstoff im Medium vorhanden ist (siehe Tabelle 4.32 und 4.33).

Proteinbelastung (QST)

Bei ca. 54 % (19 von 42 vergleichbaren a-Werten) waren die a-Werte ohne Proteinbelastung höher.

Resistenzunterschiede der *B. cereus*-Stämme (QST)

Tabelle 4.31 gibt die a-Werte der vier *B. cereus*-Stämme bei 20 °C und 0,5 % an. Dies ermöglicht einen Vergleich der Resistenz der Stämme gegenüber PES 15/23 (je höher der a-Wert, desto höher die Resistenz). Die dargestellte Temperatur-Konzentrations-Kombination besitzt hier beispielhaften Charakter, spiegelt aber die Resistenz-Rangfolge für den gesamten quantitativen Suspensionstest wider. Lediglich bei 15 °C und ohne Proteinbelastung ergab sich Platz 3 für den Stamm DSM 4384 und Platz 4 für den Stamm DSM 4312.

Tabelle 4.31: Kinetik Parameter der *B. cereus*-Stämme im QST, bei 20 °C und 0,5 % PES 15/23, ohne Proteinbelastung

<i>B. cereus</i> -Stamm	Toxintyp	Kinetik Parameter (a)
1. DSM 4313	Diarrhoe	48,94
2. DSM 318	Erdbodenisolat	11,65
3. DSM 4312	Emetik	7,61
4. DSM 4384	Diarrhoe	3,88

Temperatur (QST)

Ein Anheben der Temperatur verringerte die a-Werte ebenfalls, also ergibt sich eine niedrigere Resistenz bzw. bessere Wirksamkeit bei höheren Temperaturen. Vergleicht man die Absterbekinetik-Kurven aus Abbildung 4.1 und 4.2, so sieht man bereits bei einer Anhebung um 5 °C deutlich steilere Kurven.

Tabelle 4.32: Weibull Parameter „a“ und „n“ für den quantitativen Suspensionstest, ohne Proteinbelastung

10 °C	DSM Stamm							
	318		4312		4313		4384	
Konzentration	a	n	a	n	a	n	a	n
0,25 %	396,7	0.29	117.8	0.60	--	--	108.3	0.31
0,50 %	72.64	0.48	47.40	0.57	--	--	31.84	0.38
1,00 %	31.03	0.49	15.35	0.56	--	--	6.43	0.44
1,50 %	13.35	0.56	5.87	0.49	--	--	3.21	0.40
2,00 %	8.39	0.67	2.09	0.38	14.69	0.18	1.03	0.30
15 °C								
Konzentration	a	n	a	n	a	n	a	n
0,25 %	60.1	0.68	37.25	0.69	--	--	63.95	0.63
0,50 %	33.99	0.78	19.91	0.68	--	--	28.55	0.58
1,00 %	11.02	0.65	3.52	0.44	29.03	0.38	9.65	0.60
1,50 %	4.79	0.53	1.95	0.39	22.83	0.17	2.61	0.41
2,00 %	2.17	0.41	0.74	0.31	11.45	0.45	1.08	0.33
20 °C								
Konzentration	a	n	a	n	a	n	a	n
0,25 %	33.87	0.38	14.06	0.49	214	0.53	1.45	0.40
0,50 %	11.65	0.56	7.61	0.59	48.94	0.73	3.88	0.38
1,00 %	1.81	0.40	0.50	0.27	25.48	0.85	0.49	0.28
1,50 %	0.001	0.13	0.16	0.22	19.14	1.09	0.02	0.16
2,00 %	--	--	--	--	7.74	0.62	--	--

-- = keine Parameter ermittelt, da Daten unvollständig oder für die Weibull-Verteilung nicht auswertbar

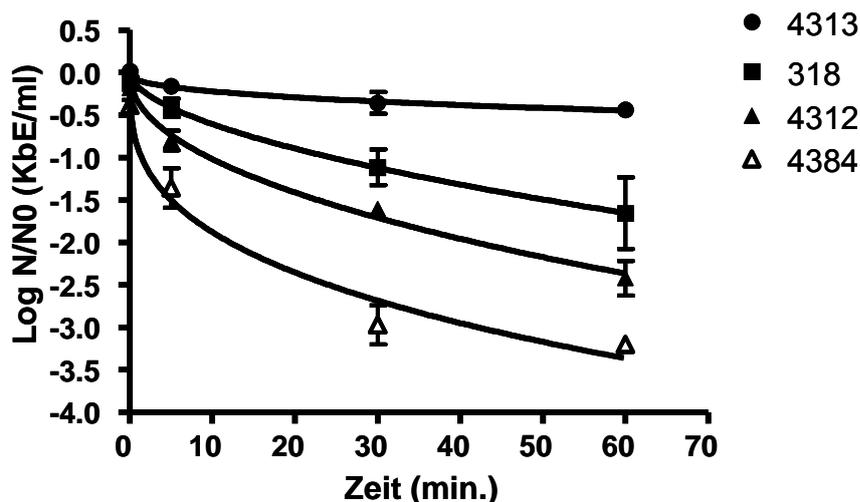
Tabelle 4.33: Weibull Parameter „a“ und „n“ für den quantitativen Suspensionstest, mit Proteinbelastung

10 °C	DSM Stamm							
	318		4312		4313		4384	
Konzentration	a	n	a	n	a	n	a	n
0,25 %	--	--	--	--	--	--	33.88	0.29
0,50 %	55.09	0.85	37.10	0.30	516	0.53	7.44	0.44
1,00 %	24.36	0.55	9.60	0.47	465	0.39	1.43	0.32
1,50 %	10.90	0.63	3.18	0.43	69.41	0.54	0.04	0.16
2,00 %	5.37	0.57	0.53	0.28	35.63	0.73	--	--
15 °C								
Konzentration	a	n	a	n	a	n	a	n
0,25 %	328.9	0.36	44	0.54	--	--	10.98	0.45
0,50 %	38.02	0.70	18	0.55	361	0.41	0.86	0.29
1,00 %	12.74	0.73	--	--	60.31	0.76	--	--
1,50 %	3.23	0.48	2.72	0.41	30.97	0.81	--	--
2,00 %	1.39	0.38	0.21	0.23	21.57	0.96	--	--
20 °C								
Konzentration	a	n	a	n	a	n	a	n
0,25 %	50.12	0.55	22.21	0.57	501	0.39	4.81	0.35
0,50 %	17.56	0.81	7.98	0.63	81.56	0.64	0.57	0.24
1,00 %	2.39	0.42	0.57	0.29	19.33	0.63	--	--
1,50 %	0.42	0.27	0.10	0.21	10.90	0.75	--	--
2,00 %	0.08	0.21	--	--	5.12	0.57	--	--

-- = keine Parameter ermittelt, da Daten unvollständig oder für die Weibull-Verteilung nicht verwertbar

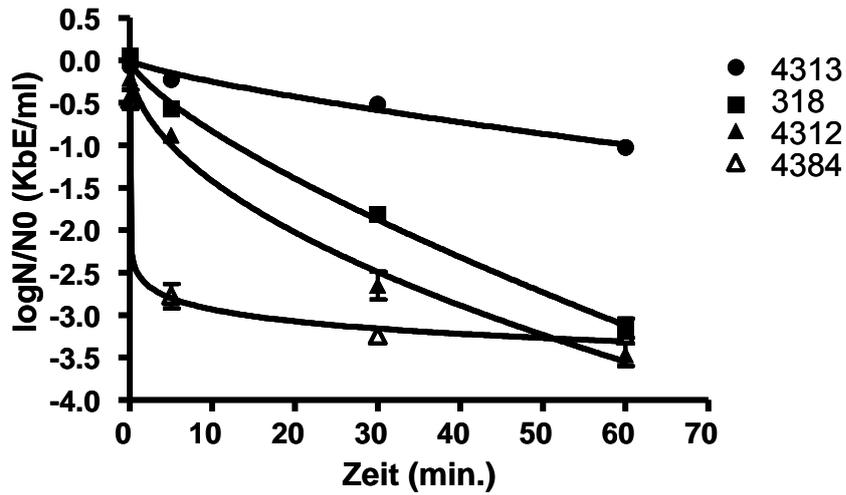
Absterbekinetik-Kurven des QST

Die Sporen des Stammes DSM 4313 stellten sich als die resistantesten der vier *B. cereus*-Stämme heraus, gefolgt von Stamm DSM 318 sowie Stamm DSM 4312, die sensibelsten waren die Sporen des Stammes DSM 4384. Die Abbildungen 4.1 bis 4.3 stellen beispielhaft einige der Absterbekinetik-Kurven dar, die auf Grundlage der gewonnenen Daten aus dem quantitativen Suspensionstest errechnet wurden. Alle drei Abbildungen, mit den jeweils vier verschiedenen Absterbekinetik-Kurven, verdeutlichen die Resistenzunterschiede zwischen den *B. cereus*-Stämmen graphisch (siehe Abb. 4.1 bis 4.3). Der Vergleich von Abbildung 4.1 mit 4.2 verdeutlicht den Einfluss des Temperaturunterschiedes von 5 °C auf die Absterbekinetik-Kurven, der Vergleich von Abbildung 4.1 mit 4.3 den Einfluss von Protein, der sich als nicht signifikant herausstellte.



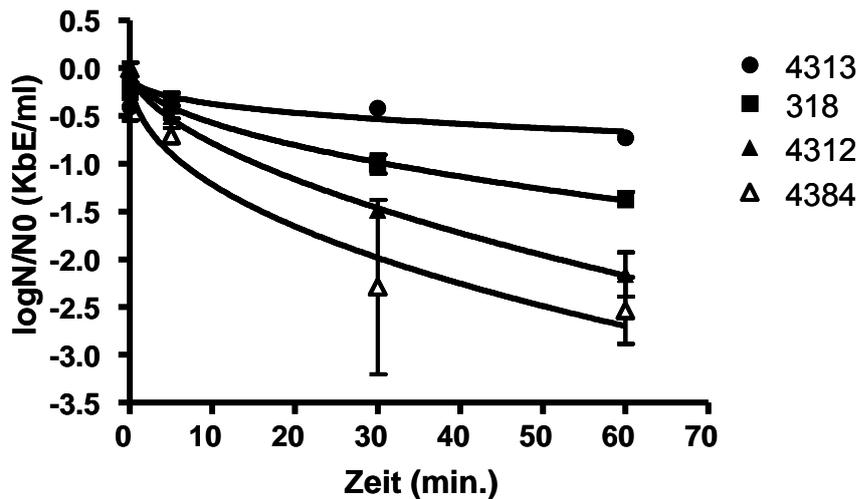
N = Keimzahl nach Einwirkzeit; N_0 = Ausgangskeimzahl

Abbildung 4.1: Absterbekinetik-Kurven der vier verschiedenen *B. cereus*-Stämme bei 10 °C, 1,0 % PES 15/23 und mit Proteinbelastung (QST)



N = Keimzahl nach Einwirkzeit; N₀ = Ausgangskeimzahl

Abbildung 4.2: Absterbekinetik-Kurven der vier verschiedenen *B. cereus*-Stämme bei 15 °C, 1,0 % PES 15/23 und mit Proteinbelastung (QST)



N = Keimzahl nach Einwirkzeit; N₀ = Ausgangskeimzahl

Abbildung 4.3: Absterbekinetik-Kurven der vier verschiedenen *B. cereus*-Stämme bei 10 °C, 1,0 % PES 15/23 und ohne Proteinbelastung (QST)

Weibull-Verteilung für den Verdünnungs-Neutralisationstest (VNT)

Bei der tabellarischen Darstellung, der mittels Weibull-Verteilung errechneten Ergebnisse auf Grundlage des VNT, wurden die Spalten R^2 und $Sy.x$ ergänzt, um die Anpassungsgüte der Kurven zu verdeutlichen (siehe Tabelle 4.35). R^2 besitzt einen Wert, der zwischen 0 und 1 liegt. Je höher der Wert, umso näher liegt das statistische Modell an den erhobenen Daten. Wenn $R^2 = 0$, passt die Kurve nicht besser als eine horizontale Linie durch den Mittelwert der Y-Werte. Falls R^2 den Wert 1 besitzt, liegen alle Punkte exakt auf der Kurve (ohne Streuung). Der Wert $Sy.x$ ist die Standardabweichung der vertikalen Abstände der erhobenen Datenpunkte von der errechneten Kurve. Da die Abstände der Datenpunkte von der Kurve die Residuen sind, ist $Sy.x$ die Standardabweichung der Residuen. Eine Kurve besitzt die X-Werte 0, 5, 30 und 60 [min. Einwirkungszeit] deren Y-Werte das Mittel von zwei erhobenen Datenpunkten darstellt (ausführliche Aufstellung der errechneten Daten in Tab. 9.1 bis 9.22). Fehlende Werte weisen auf eine schlechte Anpassungsgüte hin und wurden daher nicht mit aufgeführt.

Konzentrationsstufen (VNT)

Auch im VNT waren, über alle Stämme hinweg, die a-Werte niedriger, wenn die Konzentration des Desinfektionsmittels erhöht wurde. Dies deutet auf eine niedrigere Resistenz der Mikroorganismen hin, wenn mehr Wirkstoff im Medium vorhanden ist.

Temperatur (VNT)

Je höher die Temperatur desto niedriger der a-Wert (Resistenz des Mikroorganismus). So sinkt der a-Wert des Stammes DSM 318 bei 1,0 % von 22,86 (bei 10 °C) auf 4,58 (20 °C), der des DSM 4312 von 15,56 auf 1,96, der des DSM 4313 von 372 auf 42,56 und der des DSM 4384 von 3,58 auf 0,13 (siehe Tabelle 4.35).

Proteinbelastung (VNT)

Da sich die Keimzahlreduktionen mit Proteinbelastung nicht signifikant von denen ohne Proteinbelastung unterscheiden, weichen auch die a-Werte nicht weit von einander ab.

Resistenzunterschiede der *B. cereus*-Stämme (VNT)

Tabelle 4.34 gibt die a-Werte der vier *B. cereus*-Stämme bei 15 °C und 1,0 % im Verdünnungs-Neutralisationstest an. Dies ermöglicht einen Vergleich der Resistenz der Stämme gegenüber PES 15/23. Anhand des a-Wertes, ergab sich im VNT bei allen auswertbaren Temperaturen und Konzentrationen eine Resistenzreihenfolge, wie sie beispielhaft und repräsentativ für die übrigen Versuchsbedingungen in Tabelle 4.34 dargestellt ist.

Tabelle 4.34: Kinetik Parameter „a“ der *B. cereus*-Stämme im VNT, bei 15 °C und 1,0 % PES 15/23, ohne Proteinbelastung

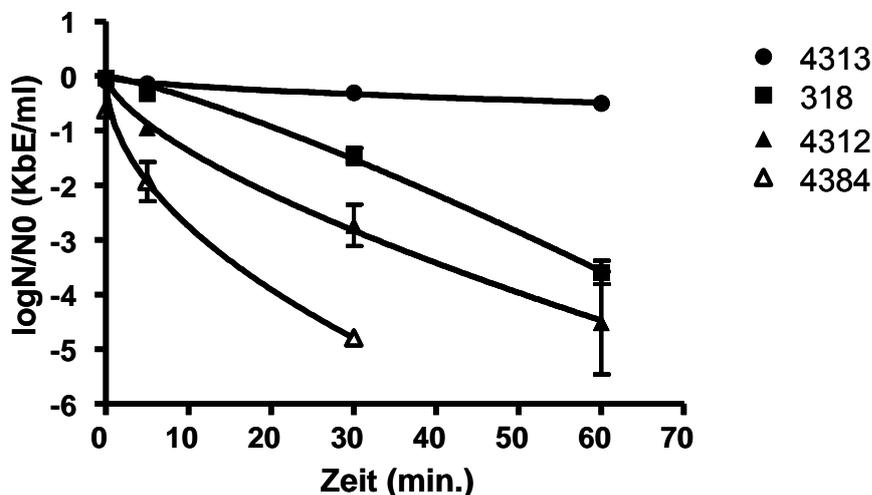
<i>B.cereus</i>-Stamm	Toxintyp	Kinetik Parameter (a)
1. DSM 4313	Diarrhoe	270,50
2. DSM 318	Erdbodenisolat	15,92
3. DSM 4312	Emetik	9,79
4. DSM 4384	Diarrhoe	3,54

Tabelle 4.35: Weibull Parameter „a“, „n“, R^2 und $Sy.x$ für den **Verdünnungs-Neutralisationstest**, mit und ohne Proteinbelastung

Stamm	Temperatur [°C]	PES 15/23 [%]	mit Proteinbelastung				ohne Proteinbelastung			
			a-Wert	n-Wert	R^2	$Sy.x$	a-Wert	n-Wert	R^2	$Sy.x$
DSM 318	10	0,25	1405	0,26	0,78	0,078				
		0,50	105,6	0,47	0,89	0,094				
		1,00	22,86	0,52	0,97	0,11	31,74	0,5377	0,7830	0,3147
		1,50	16,05	0,93	0,99	0,085	9,078	0,5377	0,9269	0,3392
		2,00	6,121	0,68	0,98	0,24	8,003	0,7753	0,9888	0,2238
	15	0,25								
		0,50	56,58	0,92	0,90	0,16	51,05	0,5198	0,9125	0,1230
		1,00	21,33	1,23	0,98	0,18	15,92	0,6548	0,9397	0,1695
		1,50	3,40	0,57	0,91	0,77	4,581	0,5879	0,9497	0,4517
		2,00	1,84	0,47	0,88	0,83	3,814	0,7084	0,8918	0,7326
	20	0,25	65,44	0,90	0,97	0,065	62,67	0,7120	0,8870	0,1314
		0,50	31,80	1,011	0,98	0,090	24,01	0,6866	0,9916	0,0762
		1,00	4,58	0,58	0,91	0,64	4,492	0,6685	0,9667	0,4426
		1,50	1,25	0,40	0,76	1,19	2,729	0,1225	0,9620	0,1313
		2,00	0,0004	0,1	0,98	0,26				
DSM 4312	10	0,25								
		0,50	70,37	0,45	0,78	0,19	81,21	0,4265	0,8757	0,1265
		1,00	15,56	0,59	0,97	0,14	17,63	0,6868	0,9699	0,1697
		1,50	8,18	0,71	0,96	0,32	8,395	0,7916	0,9907	0,1999
		2,00	2,36	0,53	0,89	0,80	4,408	0,8105	0,9675	0,4312
	15	0,25	59,22	0,57	0,77	0,24	91,16	0,7330	0,7170	0,1646
		0,50	20,78	0,69	0,95	0,20	34,07	0,9605	0,9303	0,1892
		1,00	6,25	0,66	0,91	0,59	9,786	0,7854	0,9734	0,2898
		1,50	1,85	0,51	0,89	0,89	2,826	0,6075	0,9777	0,3944
		2,00	1,24	0,45	0,96	0,48	1,159	0,4928	0,9152	0,8612
	20	0,25	21,94	0,67	0,97	0,12	34,06	0,5155	0,9734	0,0942
		0,50	8,10	0,59	0,96	0,46	11,56	0,7081	0,9714	0,2360
		1,00	1,96	0,51	0,96	0,46	3,822	0,7643	0,9786	0,3566
		1,50	0,65	0,41	0,98	0,27				
		2,00	0,36	0,38	0,98	0,31	0,6949	0,4643	0,9550	0,3337

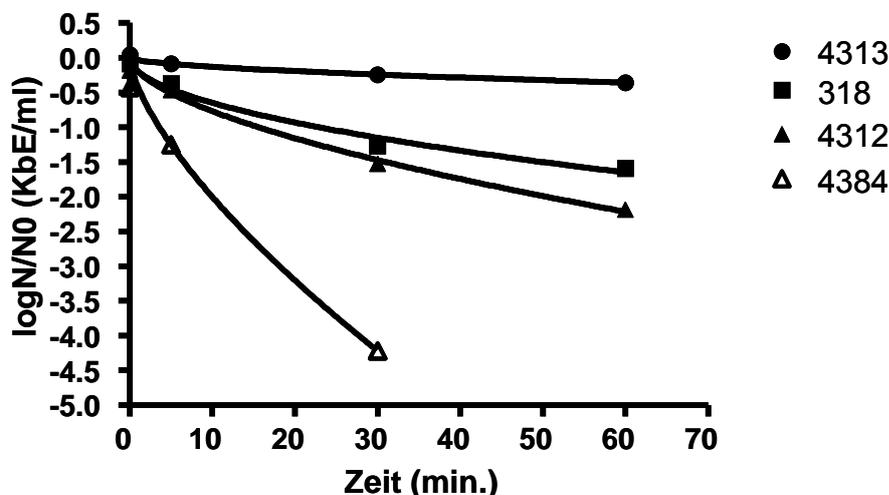
Absterbekinetik-Kurven des VNT

Beispielhaft werden drei Kurven auf Grundlage der Daten aus dem Verdünnungs-Neutralisationstests dargestellt, welche mit der Weibull-Verteilungs-Funktion ausgewertet wurden. Alle drei Abbildungen, mit den jeweils vier verschiedenen Absterbekinetik-Kurven, verdeutlichen die Resistenzunterschiede zwischen den *B. cereus*-Stämmen graphisch (siehe Abb. 4.4 bis 4.6). Auffällig ist, dass die Sporen des Stammes DSM 4313 kaum Log-Reduktionen aufweisen (bis zu 0,46 Log-Stufen), während der *B. cereus* DSM 4384 sehr hohe (bis zu 5 Log-Stufen) Reduktionen erfährt. Der Vergleich von Abbildung 4.4 mit 4.5 zeigt den Einfluss der Differenz von 5 °C in der Umgebungstemperatur. Der Vergleich von Abbildung 4.5 und 4.6 verdeutlicht den geringen Einfluss der Belastungssubstanz.



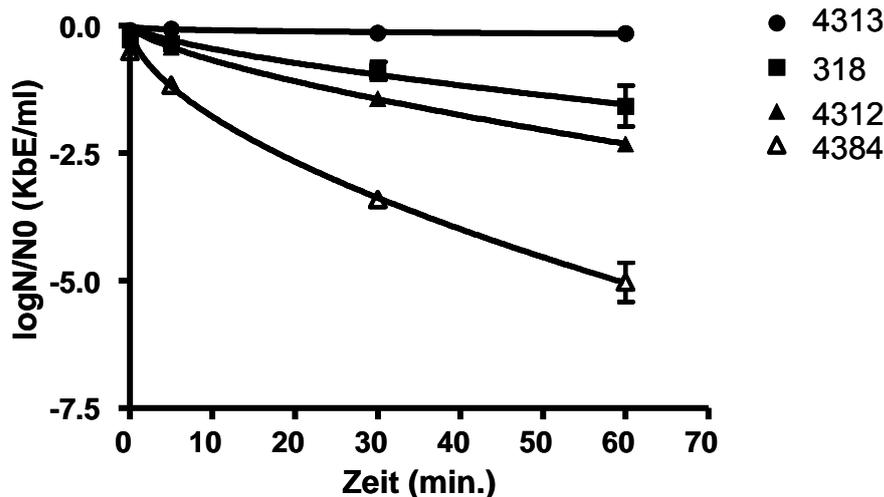
N = Keimzahl nach Einwirkzeit; N₀ = Ausgangskeimzahl

Abbildung 4.4: Absterbekinetik-Kurven der vier verschiedenen *B. cereus*-Stämme bei 15 °C, 1,0 % PES 15/23 und ohne Proteinbelastung (VNT)



N = Keimzahl nach Einwirkzeit; N₀ = Ausgangskeimzahl

Abbildung 4.5: Absterbekinetik-Kurven der vier verschiedenen *B. cereus*-Stämme bei 10 °C, 1,0 % PES 15/23 und ohne Proteinbelastung (VNT)



N = Keimzahl nach Einwirkzeit; N_0 = Ausgangskeimzahl

Abbildung 4.6: Absterbekinetik-Kurven der vier verschiedenen *B. cereus*-Stämme bei 10 °C, 1,0 % PES 15/23 und mit Proteinbelastung (VNT)

„Response surfaces“

Diese Modelle sind nützlich, um Veränderungen des Kinetik Parameters (α -Wert) in Abhängigkeit von sich verändernden Umweltfaktoren (Konzentration, Temperatur) abschätzen zu können. Hier werden stellvertretend der Stamm DSM 4312 (Emetik-Syndrom) und der Stamm DSM 4313 (Diarrhoe-Syndrom) dargestellt, da diese lebensmittelhygienisch eine hohe Relevanz aufweisen. Die Abbildungen 4.7 und 4.8 zeigen die „Response surfaces“ des Stammes DSM 4312 im quantitativen Suspensionstest, jeweils mit und ohne Proteinbelastung. Der Stamm DSM 4313 wird demgegenüber in Abbildung 4.9 und 4.10 dargestellt. Dies erlaubt den Vergleich der beiden Stämme und den des belasteten zum unbelasteten Bereich. Die „Response surfaces“ des Stammes DSM 4312 aus dem Verdünnungs-Neutralisationstest sind in den Abbildungen 4.11 und 4.12 dargestellt, die des Stammes DSM 4313 in den Abbildungen 4.13 und 4.14, beide jeweils mit und ohne Proteinbelastung.

Bei beiden Testarten verdeutlichen die dreidimensionalen „response surfaces“ noch einmal die unterschiedliche Resistenz der beiden Stämme. Weist der Stamm DSM 4312 bei 20 °C und 2,0 % α -Werte zwischen 0,21 und 4,41 auf, so liegen diese beim Stamm DSM 4313 zwischen 5,12 und 68,83. Somit erwiesen sich die Sporen des Diarrhoe-Stammes (DSM 4313) im Vergleich zu den Sporen des Emetik-Stammes (DSM 4312) um ein vielfaches resistenter. Der Einfluss von Protein erwies sich bei der Wirksamkeit von PES 15/23 gegen Sporen größtenteils als nicht relevant.

„Response surfaces“

Quantitativer Suspensionstest:

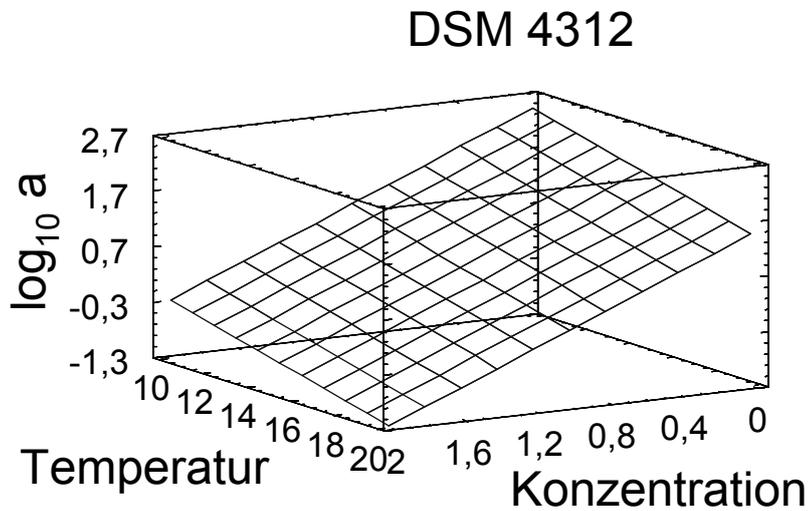


Abbildung 4.7: „Response surface“ des Stammes DSM 4312 gegenüber PES 15/23 im quantitativen Suspensionstest, **mit Proteinbelastung**

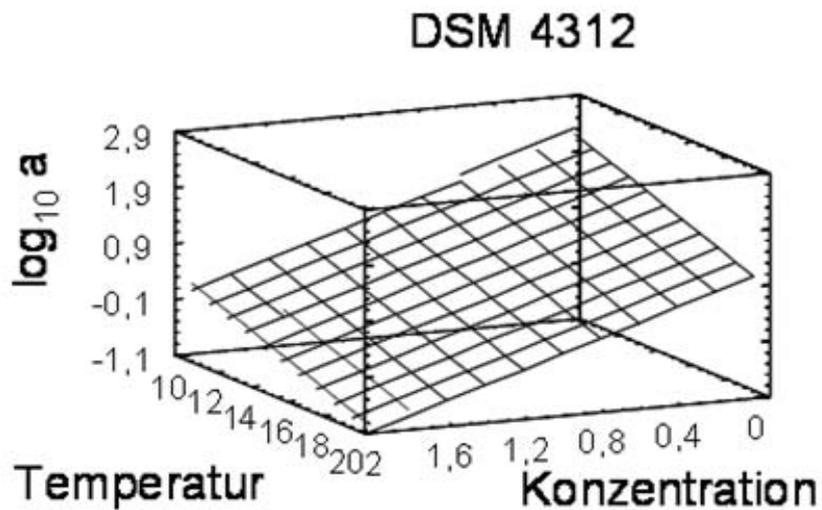


Abbildung 4.8: „Response surface“ des Stammes DSM 4312 gegenüber PES 15/23 im quantitativen Suspensionstest, **ohne Proteinbelastung**

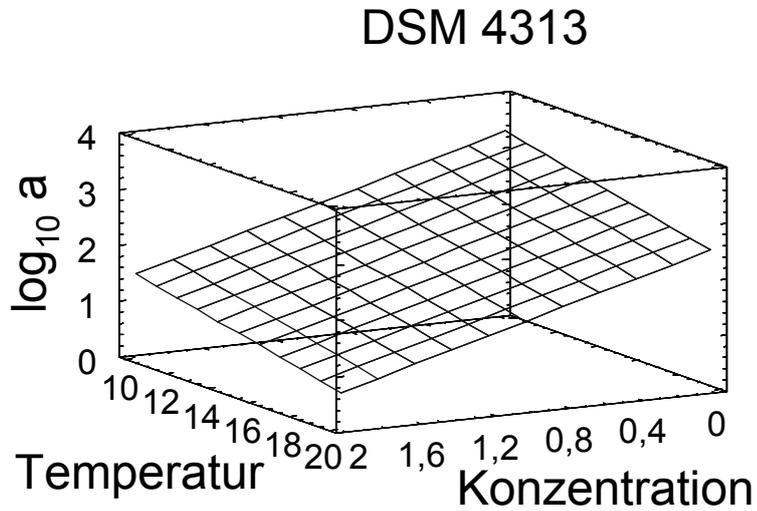


Abbildung 4.9: „Response surface“ des Stammes DSM 4313 gegenüber PES 15/23 im quantitativen Suspensionstest, **mit Proteinbelastung**

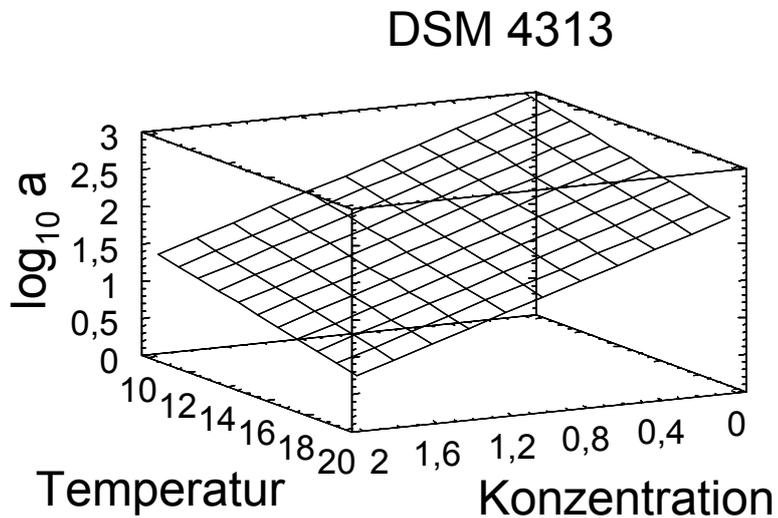


Abbildung 4.10: „Response surface“ des Stammes DSM 4313 gegenüber PES 15/23 im quantitativen Suspensionstest, **ohne Proteinbelastung**

„Response surfaces“

Verdünnungs-Neutralisationstest:

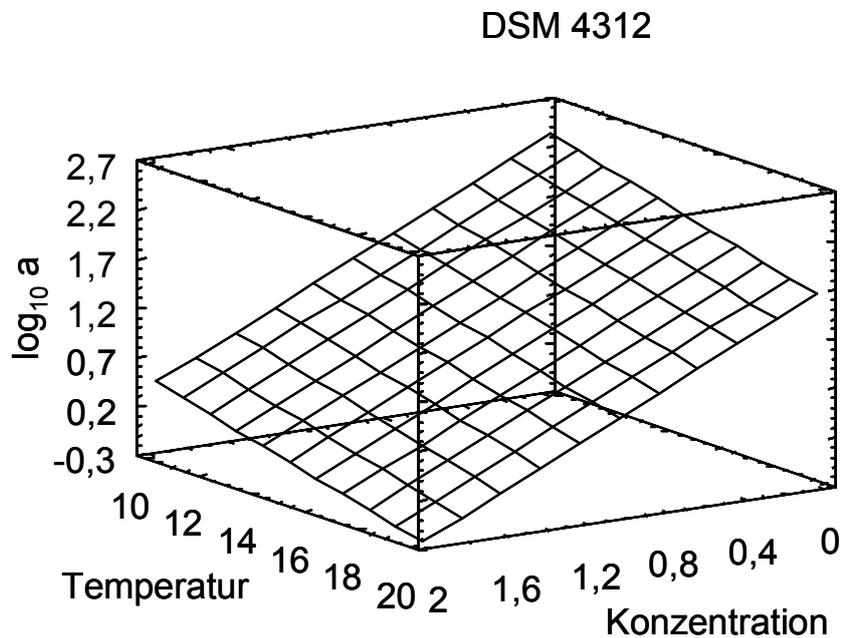


Abbildung 4.11: „Response surface“ des Stammes DSM 4312 gegenüber PES 15/23 im Verdünnungs-Neutralisationstest, **mit Proteinbelastung**

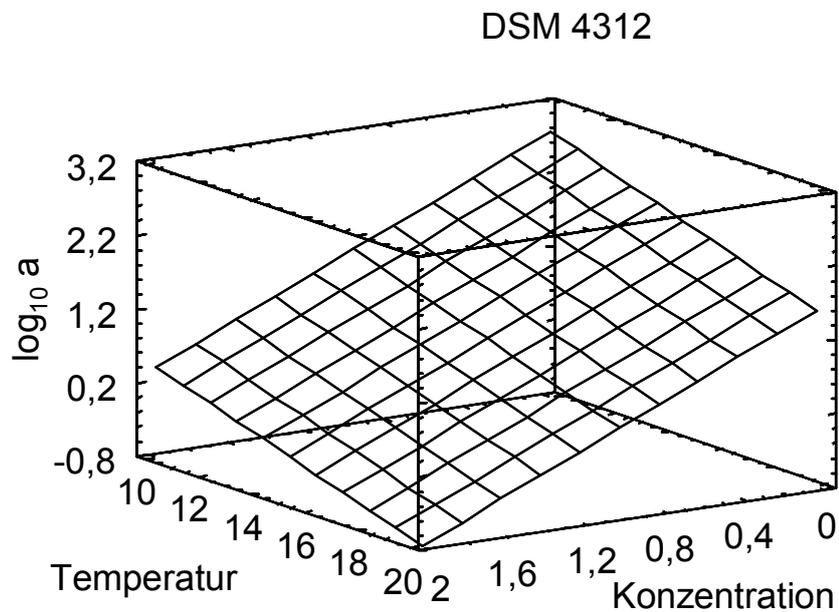


Abbildung 4.12: „Response surface“ des Stammes DSM 4312 gegenüber PES 15/23 im Verdünnungs-Neutralisationstest, **ohne Proteinbelastung**

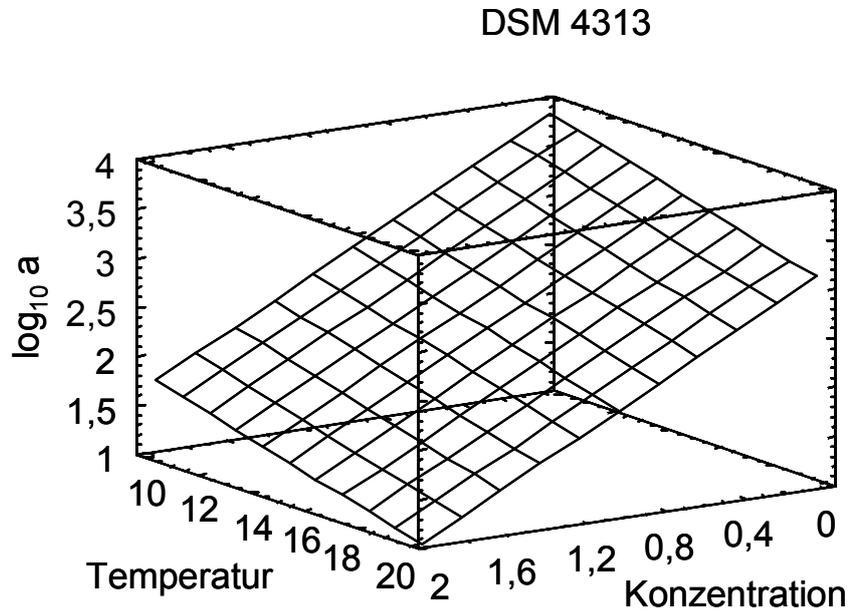


Abbildung 4.13: „Response surface“ des Stammes DSM 4313 gegenüber PES 15/23 im Verdünnungs-Neutralisationstest, **mit Proteinbelastung**

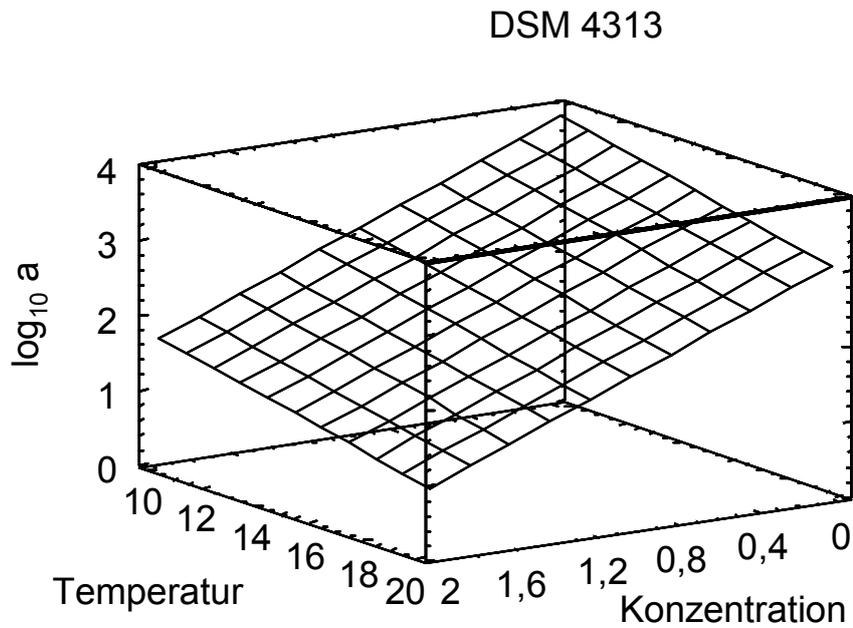


Abbildung 4.14: „Response surface“ des Stammes DSM 4313 gegenüber PES 15/23 im Verdünnungs-Neutralisationstest, **ohne Proteinbelastung**

5 Diskussion

5.1 Auswahl des Desinfektionsmittels

Um Absterbekinetiken der verschiedenen *B. cereus*-Stämme abbilden zu können, war das Hauptkriterium für die Wahl eines Desinfektionsmittels eine sporizide Wirksamkeit. Ein weiteres wichtiges Kriterium war die Anwendbarkeit im Lebensmittelbereich. Hierfür sollte ein passendes Präparat bestenfalls keine sensorische Beeinträchtigung des Lebensmittels hervorrufen, rückstandsfrei und nicht toxisch sein. Nur wenige Desinfektionsmittel besitzen eine sehr gute sporizide Wirksamkeit und erfüllen zusätzlich die weiteren genannten Kriterien. Für diese Studie kam die Wirkstoffgruppe Peressigsäure zum Einsatz, da sich ihre sporizide Wirksamkeit bisher schon mehrmals, insbesondere auch gegen Sporen von verschiedenen *Bacillus* spp., in der Literatur bestätigt hat (BOTZENHART u. JAAX 1985). Das eingesetzte Präparat „PES 15/23“ stellt mit seiner für Peressigsäurepräparate handelsüblichen Zusammensetzung ein repräsentatives Beispiel für ein Desinfektionsmittel dieser Wirkstoffgruppe dar. PES 15/23 bestätigte seine sporizide Wirksamkeit gegen alle vier *B.cereus*-Stämme dieser Studie. Der Zusatz der Belastungssubstanzen bewirkte keinen signifikanten Wirksamkeitsverlust. Die Absenkung der Umgebungstemperatur reduzierte die Wirksamkeit hingegen zum Teil erheblich. Diese Reduktion konnte allerdings durch eine Verlängerung der Einwirkzeit oder Erhöhung der Konzentration von PES 15/23 stets kompensiert werden.

5.2 Bakterien

Die genaue epidemiologische Bedeutung von *B. cereus* im Lebensmittelsektor ist schwierig zu beurteilen. *B. cereus* wurde für diese Studie ausgewählt, da er ein großes Risiko für die Lebensmittelqualität und -sicherheit darstellt. Ausgeprägte proteolytische Eigenschaften, seine hohe Prävalenz, Toxinbildungsvermögen und sein Wachstum in und auf Lebensmitteln bei 5 - 60 °C tragen hierzu bei (KOTIRANTA et al. 2000; BFR 2008). Seine Bedeutung wird allerdings aus mehreren Gründen unterschätzt. Ein Aspekt ist die Tatsache, dass nicht alle lebensmittelassoziierten Erkrankungen, insbesondere milde Formen, ausreichend

auf ihren epidemiologischen Ursprung hin untersucht werden (MEAD et al. 1999; DAHMS 2003). Die selbstlimitierende Symptomatik von ca. 24h (KRAMER u. GILBERT 1989), sowie die fehlende Meldepflicht begünstigen die Unterschätzung von *B. cereus* innerhalb öffentlicher Statistiken zusätzlich (MAHAKARNCHANAKUL u. BEUCHAT 1999; EFSA 2004; KREUZBERGER et al. 2008). Letztendlich geben die häufig milden und unspezifischen Symptome keinen eindeutigen Hinweis auf den zugrunde liegenden Mikroorganismus. Daher ist die Risikobewertung von *B. cereus* erheblich erschwert.

Die Studie von KLEER et al (2001) gibt einen näheren Einblick zur Prävalenz der verschiedenen lebensmittelassoziierten Infektions- und Intoxikationserreger. Die Tatsache, dass *B. cereus*-assoziierte Erkrankungen bei dieser Studie in den Jahren 1998 bis 2000 fast 70 % der Ausbrüche ausmachten, weist deutlich auf das erhebliche Risiko hin, welches von diesem Mikroorganismus ausgeht. Die Ursache hierfür scheint nicht allein die Tatsache zu sein, dass *B. cereus* Sporenbildner ist, denn *Clostridium perfringens* war mit ca. 10 % deutlich weniger stark vertreten. ANDERSSON et al. (1995) schätzen das Risiko von *Clostridium perfringens* im Vergleich zu *B. cereus* ebenfalls als deutlich geringer ein. Gründe seien das viel geringere Anheftungsvermögen der Sporen, das strikt anaerobe Wachstum des Organismus und die Tatsache, dass *Clostridium perfringens* auf 13 verschiedene Aminosäuren angewiesen ist, die es selbst nicht synthetisieren kann (BOYD et al. 1948). Die Bedeutung der *B. cereus*-bedingten Erkrankungen wird insbesondere in Gemeinschaftsverpflegungen, wie der Bundeswehr, Altenheimen, Krankenhäusern oder Kindergärten deutlich. Wenn es an diesen Stellen zu Ausbrüchen kommt, sind einerseits viele Menschen und andererseits oft auch Risikogruppen betroffen (VAN DER ZWET et al. 2000). Zur Prävention solcher Szenarien kann ein gutes Temperaturregime beitragen (BFR 2008), um aber auch die gefährlichen Kreuzkontaminationen von nicht erhitzten Lebensmitteln zu vermeiden, ist es wichtig, die Küchenhygiene, insbesondere die Desinfektion, zu verbessern. Um zukünftige Desinfektionsmaßnahmen gegen *B. cereus* zu optimieren und somit die Prävalenz dieser Erkrankungen zu reduzieren, wurde bei dieser Studie die Absterbekinetik der Sporen von *B.cereus*-Stämmen ermittelt. Da eine Vielzahl unterschiedlicher *B.cereus*-Stämme existiert, die auch in ihrem Toxinbildungsvermögen stark variieren, wurde neben drei Stämmen, die bei einem Krankheitsausbruch isoliert wurden, auch ein Erdbodenisolat geprüft.

5.3 Testarten

Der **Verdünnungstest** bestimmt die minimale Hemmkonzentration (MHK) von PES 15/23. Die Auswertung eines Verdünnungstests erfolgt anhand von Trübungen der Röhrrchen, welche durch das Wachstum der vegetativen Formen von *B.cereus* verursacht wird. Die MHK bezieht sich demnach auf die Wirksamkeit gegen ausgekeimte vegetative Formen und ist nicht gleich zu setzen mit der sporiziden Wirkung von PES 15/23. Dennoch leistet der Verdünnungstest die wichtige Aufgabe, eine geeignete Inaktivierungssubstanz für die weiteren Untersuchungen zu ermitteln.

Der **qualitative Suspensionstest** nach der Endpunktmethode der DVG testet die Wirksamkeit unterschiedlicher Konzentrations-Zeit-Kombinationen gegen die eingesetzte Keimart. Der qualitative Suspensionstest bietet die Möglichkeit Konzentrations-Zeit-Bedingungen, auch unter Belastung (Eiweiß u. Kälte), schnell und einfach zu ermitteln (REUTER 1988). Hierbei wird Wirksamkeit mit der Abtötung der inokulierten Keimmenge gleichgesetzt. Diese Tatsache bedingt eine Nachweisgrenze, die aufgrund der Verdünnungsschritte je nach Ausgangskeimzahl, relativ niedrig liegt. Bei einer Ausgangskeimzahl von 1×10^7 KbE/ml liegt die Nachweisgrenze bei einer Reduktion von 3 Log-Stufen. Liegt die Ausgangskeimzahl niedriger kann keine Aussage zur sicheren Sporizidie getätigt werden. Dennoch ist der qualitative Suspensionstest hilfreich bei der Ermittlung des Übergangs von unwirksamen zu wirksamen Anwendungskonzentrationen. Dabei ist er jedoch nur so genau, wie seine Abstufungen gewählt werden. Bei Abstufungen von 0,25, 0,5, 1,0, 1,5 und 2,0 % werden kleinere Abstufungen ($< 0,5$ %) außer bei dem Schritt von 0,25 % auf 0,5 % nicht erfasst. Ebenso neigen grenzwertige Konzentrations-Zeit-Kombinationen dazu, bei gleichen Versuchsanordnungen und mehreren Ansätzen, unterschiedliche Ergebnisse zu liefern. WERNER et al. (1975) geben die Wahrscheinlichkeit einer Falschaussage bei einem vergleichbaren qualitativen Suspensionstest mit 18,5 % an.

Zur sicheren Bestimmung der mit PES 15/23 erzielten Reduktionen, war es daher notwendig quantitative Testarten einzusetzen. Die **quantitativen Testarten** ermittelten die Wirksamkeit der verschiedenen Konzentrations-Zeit-Kombinationen, indem die Keimzahlen vor und nach der Behandlung bestimmt wurden. Somit konnten Aussagen zur noch vorhandenen Keimmenge nach den verschiedenen Einwirkzeiten getätigt und eine Absterbekinetik statistisch interpoliert werden.

Die Ergebnisse von mikrobiologischen Keimzählverfahren unterliegen immer einer gewissen Messunsicherheit (HILDEBRANDT u. WICHMANN-SCHAUER 2005). Die amtliche Methode L 00.00-88 gibt für die Wiederholpräzision einen Grenzwert von $r = 0,25$ (\log_{10} KbE/ml) an (BVL 2005). Dieser Grenzwert gibt demnach die Differenz von zwei von einander unabhängigen Untersuchungsergebnissen an, die vom gleichen Bearbeiter, mit gleichen Verfahren, im gleichen Labor, mit gleichen Gerätschaften innerhalb einer kurzen Zeitspanne an „identischem Untersuchungsmaterial“ erzielt wurden. Da die zu vergleichenden Keimzahlen in dieser Studie aber nicht an identischem Untersuchungsmaterial ermittelt wurden, sondern ein ganzer Testdurchlauf mit identischen Prüffaktoren (Temperatur, Konzentration, Proteinbelastung, Einwirkungszeit und Keim) wiederholt wurde, ist in diesem Fall mit einem höheren Grenzwert als $0,25 \log_{10}$ KbE/ml zu rechnen. Der prozentuale Anteil der Wertepaare, die eine größere Standardabweichung als 0,25 Log-Stufen aufwiesen, gibt mit 25,4 % einen weiteren Hinweis hierauf.

Um die Genauigkeit der erhobenen Wertepaare (aus den Doppelansätzen) dieser Studie zu quantifizieren und eine bessere Einschätzung der erhobenen Daten zu erhalten, wurden in Anlehnung an WICHMANN-SCHAUER (2009) eine Messunsicherheit zwischen den Doppelansätzen auf Grundlage der Vergleichsstandardabweichungen ermittelt. Für den quantitativen Suspensionstest ergab sich eine Messunsicherheit von 0,54 Log-Stufen und beim Verdünnungs-Neutralisationstest 0,30 Log-Stufen zwischen zwei Testansätzen (siehe Kapitel Nr. 4.3.1) und muß bei der Bewertung der Ergebnisse dieser Studie immer berücksichtigt werden. Der VNT zeigte demnach eine geringere Messunsicherheit als der quantitative Suspensionstest. Dennoch ergaben die beiden quantitativen Testarten vergleichbare Ergebnisse (kein signifikanter Unterschied), wobei der Verdünnungs-Neutralisationstest durch seine höhere Nachweisgrenze (siehe Kapitel Nr. 3.3), die Ergebnisse des quantitativen Suspensionstest ergänzen konnte.

5.4 Auswertung mittels Weibull-Verteilungsfunktion

Zur Quantifizierung, und um den Vergleich der Dekontaminationsaktivität von PES 15/23 im belasteten und unbelasteten Bereich darstellen zu können, wurden die in dieser Arbeit ermittelten Absterbekinetik-Kurven mithilfe eines statistischen Modells ausgewertet. Die übliche Herangehensweise zur Beschreibung von Absterbekinetik-

Kurven nach der Applikation eines chemischen Agens zur mikrobiellen Dekontamination ist es, von einer Kinetik 1. Ordnung (linearem Verlauf) auszugehen (VIRTO et al. 2006). Allerdings führt dieses Model bei nicht linearen Absterbekinetik-Kurven zu Unter- und auch Überschätzungen der Resistenz der Keime gegen das Desinfektionsmittel. In diesen Fällen ist es demnach ratsam, ein anderes mathematisches Model zu verwenden. Falls ermittelte Absterbekinetik-Kurven konkaven, konvexen oder linearen Verlauf aufwiesen, nutzten verschiedene Autoren die Weibull-Verteilungs-Funktion (siehe Kapitel Nr. 3.3) zur Auswertung ihrer Daten (FERNÁNDEZ et al. 2002; HAJMEER et al. 2006; VIRTO et al. 2006; GUILLOU et al. 2008). Wie bereits im Material und Methoden-Teil erwähnt, beinhaltet diese Verteilungsfunktion zwei Parameter. Der erste ist der a-Parameter, der als Kinetik Parameter angesehen werden kann. Der zweite ist der n-Parameter und gibt Aufschluss über die Verlaufsform der Absterbekinetik-Kurve. Die hohe Anpassungsgüte der ausgewerteten Daten (siehe Kapitel Nr. 9.1) bestätigt die Anwendbarkeit dieser mathematischen Funktion zur Auswertung der Daten und Ermittlung der Absterbekinetik.

5.5 Einfluss Proteinbelastung

Der Einfluss der Belastungssubstanzen zeigte sich in dieser Studie in der Summe der Prüfansätze als nicht signifikant. Weder das sterile Rinderserum (quantitativer Suspensionstest) noch das Albumin (VNT) konnten die Reduktionsraten stark herabsetzen. Auch in anderen Studien zeigte sich Peressigsäure nie stark anfällig für eine organische Belastung (LENSING u. OEI 1984; MÜCKE et al. 1989; HOLTON et al. 1994; ERNST et al. 2001). BOTZENHART und JAAX (1985) untersuchten die Zehrung von PES beim Zusatz verschiedener Belastungssubstanzen. Hierbei hatten 20 % Glukose und eingesetzte Sporensuspensionen keinen starken Einfluss, bei Humanalbumin hingegen war die Zehrung der PES beträchtlich. MÜCKE et al. (1989) testeten den Wirkungsverlust von PES bei Zugabe von 20 % Humanblut. Dieser Blutfehler stellte sich bei 0,2 %iger PES viel stärker heraus als bei 0,4 %iger PES. Demnach folgerten sie, dass bei der Zugabe des Blutes lediglich die der Belastung äquivalente PES Konzentration inaktiviert würde. Die Wirksamkeit unter Zugabe einer Belastungssubstanz würde daher bei höheren Konzentrationen, wie bei den hier vorliegenden Untersuchungen, immer nur geringfügig herabgesetzt werden.

TE GIFFEL et al. (1995) stellten die Hypothese auf, dass die Zugabe von organischen Substanzen die Auskeimung der Sporen begünstigt. Demnach würde die Wirkung gegen die vegetativen (ausgekeimten) Formen (Bakterizidie) fälschlicherweise der sporiziden Wirkung zugeschrieben werden. Diesen Effekt fanden TE GIFFEL et al. bei der Zugabe von 4 % Milch. Beim Einsatz des Rinderserums und des Albumins in dieser Studie bestätigte sich der beschriebene Effekt einer höheren Reduktion nicht. Möglicherweise werden die Sporen nur durch ein komplexes Medium (Milch) zur Auskeimung angeregt.

Die eingesetzte Belastung (0,3 %) dieser Studie simuliert eine hohe Belastung nach der Reinigung und PES 15/23 wurde in üblichen Anwendungskonzentrationen eingesetzt. Somit ist der Eiweißfehler in dieser Studie zu vernachlässigen. Zu erwähnen bleibt, dass in dieser Studie nur Suspensionstests eingesetzt wurden, die lediglich eine Aussage zum chemischen Eiweißfehler erlauben. Der physikalische Eiweißfehler, der sich aus der Umhüllung der Mikroorganismen mit der jeweiligen Belastungssubstanz ergibt (Schutzbarriere aus Blut, Serum etc.), kann nur in praxisnäheren Testarten (Keimträger-test) überprüft werden.

5.6 Einfluss Umgebungstemperatur

Die Umgebungstemperatur ist ein wichtiger Faktor, der bei Desinfektionsmaßnahmen mit chemischen Desinfektionsmitteln berücksichtigt werden muß (SCHULER 1972; REUTER 1994). Die bereits 1884 aufgestellte Reaktionsgeschwindigkeits-Temperatur-Regel (auch van't Hoff'sche Regel) besagt, dass chemische Reaktionen bei einer Temperaturerhöhung um 10 °C eine zwei- bis vierfache Beschleunigung erfahren. Wie stark der Einfluss der Umgebungstemperatur bei Peressigsäure ist, sei am Beispiel des besonders resistenten *B. cereus*-Stamm DSM 4313 erläutert.

Bei 20 °C wirkten 2,0 % PES 15/23 über 60 min. sicher sporizid. Bei 10 °C und 15 °C konnte in den Anwendungskonzentrationen bis 2,0 % allerdings keine Sporizidie erzielt werden. Bei 15 °C betrug die durchschnittliche Reduktion bei 2,0 % und 60 min. 2,04 Log-Stufen und bei 10 °C waren es nur noch 0,94 Log-Stufen. Diese Tatsache ist deshalb von besonderer Bedeutung, da hier das Risiko deutlich wird, welches besteht, wenn die Umgebungstemperatur bei Desinfektionsmaßnahmen außer Acht gelassen wird. Der qualitative Suspensionstest zeigte, dass auch bei

10 °C und 15 °C Sporizidie erreicht werden kann. Dafür mussten jedoch bei 15 °C 4,0 % über 60 min. und bei 10 °C 7,5 % über 30 min. einwirken (siehe Tabelle 5.1).

SCHLIESSER u. WIEST (1979) fanden bei ihren Untersuchungen im niedrig konzentrierten Bereich (0,015 % PES) ein paradoxes Temperaturverhalten, welches sie mit einer raschen O₂-Freisetzung aus Per-Verbindungen im Grenzbereich erklärten. In höheren Konzentrationen (0,03 % PES) hingegen, wie sie auch in dieser Studie zum Einsatz kamen, bestätigte sich der Kältefehler.

Der Kältefehler eines Peressigsäurepräparats gegenüber *B.cereus*-Sporen bestätigte sich auch schon bei früheren Studien (TE GIFFEL et al. 1995). Der Wirksamkeitsverlust, der bei niedrigeren Temperaturen eintrat, vermag jedoch nur die Wirksamkeit pro Zeit zu verringern, die Möglichkeit der Sporizidie hebt er nicht auf. So wurde beim Einsatz von Peressigsäure auch bis -40 °C noch Sporizidie nachgewiesen (JONES et al. 1967; ROBERTS u. HITCHINS 1969). MOHAN et al. (2009) testeten ein Peressigsäurepräparat gegen *B. atrophaeus*-Sporen bei 50, 60 und 70 °C. Selbst bei solch hohen Temperaturen bestätigte sich der „Kältefehler“. So bewirkte eine Temperaturerhöhung um 10 °C eine signifikant höhere Reduktion der Sporen. Die Beachtung des Kältefehlers ist, insbesondere in Kühllhäusern, Schlacht- und Zerlegebetrieben sowie Verarbeitungsstätten (Hackfleisch), von großer Bedeutung. Bei den dort vorherrschenden Temperaturen (ca. 0 bis 7 °C) muss eine höhere Anwendungskonzentration oder eine längere Einwirkungszeit zum Einsatz kommen, um die gewünschte Sporizidie zu garantieren.

5.7 Resistenz der Keime

Wie die statistischen Auswertungen darstellen konnten, existieren deutliche Sensibilitätsunterschiede zwischen den einzelnen *B. cereus*-Stämmen (siehe auch Tabelle 5.1). Bei der Reihenfolge von resistent bis sensibel belegten die verschiedenen Stämme die folgenden Plätze:

1. DSM 4313 (Diarrhoe Symptomatik),
2. DSM 318 (Erdbodenisolat),
3. DSM 4312 (Emetik Symptomatik),
4. DSM 4384 (Diarrhoe Symptomatik).

Die Tatsache, dass sowohl der resistensteste als auch der sensibelste *B. cereus*-Stamm ein Diarrhoe-Stamm ist, lässt vermuten, dass das Enterotoxinbildungsvermögen nicht gekoppelt ist mit der Resistenz eines Stammes.

Bisher existieren nur wenige Studien, die sich mit der Korrelation zwischen der Phänotypie oder dem Toxinbildungsvermögen und der Resistenz des Mikroorganismus beschäftigen. PARK et al. (2009) stellten beim Vergleich der Resistenz von vegetativen enterotoxin-produzierenden *B. cereus*-Isolaten mit Isolaten aus Reis und Cerealien gegenüber 15 Antibiotika lediglich bei Rifampin eine höhere Resistenz der Toxinbildner fest. Zur Verifizierung, ob wirklich kein Zusammenhang zwischen Toxinbildungsvermögen und der Resistenz eines Mikroorganismus existiert, wären weitere Studien nötig.

Mit der Resistenz von Sporen unterschiedlicher *Bacillus* spp. beschäftigten sich LENSING und OEI (1984). Sie fanden zwischen Sporen verschiedener *B. anthracis*-Stämme und einem *B. cereus*-Stamm keine auffälligen Resistenzunterschiede, allerdings wiesen Sporen eines *B. subtilis*-Stammes eine deutlich höhere Resistenz auf (LENSING u. OEI 1985). Die Ergebnisse dieser kleinen Stichprobe verschiedener *Bacillus* ssp. erlaubt keine Aussage zur Gesamtpopulation. Zur Abschätzung der Resistenzlage innerhalb der Sporen von *B. cereus* wären weitere Studien mit einer größeren Stichprobe notwendig.

Tabelle 5.1: Konzentrations-Zeit-Kombinationen, die bei den verschiedenen Temperaturen Sporizidie aufwiesen

Temp.	Test	DSM 4384	DSM 318	DSM 4312	DSM 4313
10 °C	qual.	1,0 %; 60 min.	1,5 %; 60 min.	3,0 %; 60 min.	5,0 %; 60 min.
	quant.	1,5 %; 60 min. Red.: 2,18* – 5,03*	2,0 %; 60 min. Red.: 3,54* – 4,67	2,0 %; 60 min. Red.: 2,96* – 5,48*	X
15 °C	qual.	1,0 %; 30 min.	1,5 %; 60 min.	2,0 %; 60 min.	4,0 %; 60 min.
	quant.	1,5 %; 60 min. Red.: 2,43* – 4,96*	1,5 %; 60 min. Red.: 3,36* – 4,95	1,0 %; 60 min. Red.: 3,16 – 5,44	X
20 °C	qual.	0,5 %; 60 min.	1,5 %; 30 min.	1,0 %; 60 min.	3,0 %; 60 min.
	quant.	1,0 %; 30 min. Red.: 2,56* – 4,79*	1,5 %; 30 min. Red.: 3,23* – 4,28	1,0 %; 60 min. Red.: 3,16* – 5,56*	2,0 %; 60 min. Red.: 3,47* – 5,63*

Temp. = Temperatur

qual. = Ergebnisse des qualitativen Suspensionstest (beide Doppelansätze kein Wachstum)

quant. = Ergebnisse der quantitativen Testarten (alle acht Ansätze sporizid)

Red. = Log-Stufen Reduktion;

* = Log-Stufen Reduktion höher als Nachweisgrenze, Wert entspricht der Nachweisgrenze

X = in keinem Prüfansatz (bis 2,0 %) sporizide Wirkung

5.8 Abschließende Diskussion und Ausblick

Diese Studie ist besonders für die Prozessoptimierung bei der Desinfektion interessant. Sichere Lebensmittel können nur nach erfolgreicher Desinfektion produziert werden, da andernfalls Re- oder Kreuzkontaminationen die Lebensmittelsicherheit gefährden. Die Kenntnis und Quantifizierung unterschiedlicher Einflussfaktoren bei der Desinfektion gegen Sporen sind Grundvoraussetzung, um die Desinfektion in diesem Bereich zu optimieren. In Ermangelung der Möglichkeit einen Feldversuch zu standardisieren (BESSEMS 1998), bieten Suspensionstests eine gute Alternative. Die Resistenz eines Keimes kann sich jedoch bereits allein durch das Anhaften an eine Oberfläche steigern (HOLAH et al. 1990; GIBSON et al. 1995; TE GIFFEL et al. 1995; ERNST et al. 2006). Suspensionstests sind demnach nicht in der Lage alle Umweltfaktoren, die eine Desinfektionsmaßnahme beeinflussen, zu berücksichtigen, aber aus Ihnen entwickelte Absterbekinetiken liefern wichtige Erkenntnisse zu deren Inaktivierungsverlauf. So können Keimrückstände während und nach einer durchlaufenen Desinfektion besser abgeschätzt und vermieden werden.

Die Konzentrations-Zeit-Kombinationen, die in einem Suspensionstest Wirksamkeit zeigen (hier Sporizidie), sind nicht als Anwendungsempfehlungen zu verstehen, sondern vielmehr als Orientierungswerte (BODE 1981).

6 Schlussfolgerungen

Die Ergebnisse dieser Arbeit ermöglichen es, die Einflussfaktoren Temperatur, Proteinbelastung, eingesetzter *B. cereus*-Stamm und eingesetzte Konzentration, bei Desinfektionsmaßnahmen gegen Sporen von *B. cereus* zu quantifizieren. Die Erkenntnisse sollen der Optimierung von Desinfektionsmaßnahmen gegen *B. cereus* dienen.

1. PES 15/23 weist generell eine abtötende Wirkung gegen Sporen der *B. cereus*-Stämme DSM 318, DSM 4312, DSM 4313 und DSM 4384 auf.
2. Die Weibull-Verteilungsfunktion konnte erfolgreich für die Erstellung von Absterbekinetiken der Sporen von *B. cereus* verwendet werden.
3. Es konnten Absterbekinetiken der *B. cereus*-Stämme DSM 318, DSM 4312, DSM 4313 und DSM 4384 gegenüber PES 15/23 ermittelt werden.
4. Gegen die Sporen aller vier *B. cereus*-Stämme kann mit PES 15/23 eine sporizide Wirksamkeit erzielt werden (≥ 3 Log-Stufen Reduktion).
5. Die ermittelten Keimzahlreduktionen beider quantitativen Testarten waren vergleichbar.
6. Je höher die Konzentrationsstufe, desto besser die Wirksamkeit gegen die Sporen von *B. cereus*.
7. Je länger die gewählte Einwirkungszeit, umso größer die erzielten Keimzahlreduktionen.
8. Der Einfluss beider zum Einsatz gekommenen Eiweißbelastungssubstanzen auf die Wirksamkeit von PES 15/23 erwies sich in dieser Arbeit als nicht signifikant.
9. Die Umgebungstemperatur hatte einen signifikanten Einfluss auf die Effektivität des PES 15/23 in der Abtötung der eingesetzten *B. cereus*-Sporen. Je niedriger die Umgebungstemperatur gewählt wurde, desto schlechter wirkte PES 15/23.

10. Die Sporen der vier *B. cereus*-Stämme zeigten sich unterschiedlich resistent. An erster Stelle und somit besonders resistent erwies sich der Stamm DSM 4313 (Diarrhoe). An zweiter und dritter Stelle stehen die Stämme DSM 318 (Erdbodenisolat) und DSM 4312 (Emetik), die in ihrer Resistenz nah bei einander lagen. Auf Platz vier und somit die geringste Resistenz besaß der Stamm DSM 4384 (Diarrhoe).

7 Zusammenfassung

Nadine Sudhaus

Ermittlung der Absterbekinetik von *Bacillus cereus*-Sporen gegenüber einem Peressigsäurepräparat

Bacillus cereus ist ein stark unterschätzter Lebensmittelintoxikationserreger. Er löst häufig milde und zeitlich begrenzte Erkrankungen aus, die von nationalen Statistiken und Meldesysteme nur selten erfasst werden. Es ist hier von einer sehr hohen Dunkelziffer auszugehen, die zu Fehlinterpretationen der Statistiken führen und somit das Risiko des Intoxikationserregers unterbewerten. Der Eintrag in die Lebensmittelkette kann über Kontaminationen mit Staub und Erdbodenpartikeln erfolgen. Bei mangelnder Küchenhygiene kann es dann schnell zu Kreuzkontaminationen anderer Lebensmittel kommen. *B. cereus* als Sporenbildner überlebt die meisten sich anschließenden lebensmitteltechnologischen Hürden (chemischer u. physikalischer Natur). Dies führt dazu, dass zusätzlich die kompetitive Begleitflora eliminiert wird. Durch Erhitzungsprozesse werden die Sporen zum Auskeimen angeregt. Wenn das fertige Produkt im Anschluss nicht genügend erhitzt (über 65 °C gehalten) und oder nicht schnell genug oder eventuell garnicht gekühlt wird, kann es zur Vermehrung von *B. cereus*, zur Bildung von Toxinen und zur Gefährdung des Verbrauchers kommen.

Sinnvoll ist es daher die Küchenhygiene, insbesondere Desinfektionsmaßnahmen von Oberflächen, zu optimieren. Dabei sollte nicht nur Bakterizidie (vegetative Formen), sondern auch Sporizidie angestrebt werden. Von großem Nutzen ist es, die Absterbekinetiken der Sporen von *B. cereus* zu kennen. Grundvoraussetzung zur Ermittlung der Kinetiken ist ein Desinfektionsmittel, das sicher sporizid wirkt. Zum Einsatz kam daher ein handelsübliches Peressigsäurepräparat (PES 15/23) mit sporizider Wirkung in praxisnahen Anwendungskonzentrationen (0,25 %, 0,5 %, 1,0 %, 1,5 % und 2,0 %). Bei der Desinfektion im Küchenbereich müssen Umweltfaktoren, wie eine eventuelle Belastung der Oberflächen (Eiweißrückstände) und niedrige Umgebungstemperaturen, berücksichtigt werden. Daher wurde in dieser Arbeit bei drei verschiedenen Temperaturen (10, 15 und 20 °C) und jeweils mit und ohne Eiweißbelastung getestet.

Der qualitative Suspensionstest, der quantitative Suspensionstest sowie der Verdünnungs-Neutralisationstest wurden angewendet. Die drei unterschiedlichen Testarten wurden herangezogen, um die Natur der Absterbekinetiken ohne starke methodenabhängige Schwankungen zu ermitteln. Da eine Vielzahl unterschiedlicher *B. cereus*-Stämme existiert, die sich in ihrem Toxinbildungsvermögen unterscheiden, wurden für diese Arbeit drei Stämme, die bei Krankheitsausbrüchen (zwei Diarrhoe- und ein Emetik-Toxintyp) isoliert wurden, und ein Erdbodenisolat verwendet.

Die ermittelten Absterbekinetik-Kurven zeigten teils konkave teils konvexe Verlaufsformen. Dieses nicht lineare Verhalten bestätigte sich in den verschiedenen Konzentrationen und Temperaturen. Weder der Zusatz des Rinderserums im quantitativen Suspensionstest, noch das Albumin des Verdünnungs-Neutralisationstests, hatten einen signifikanten Einfluss auf die Wirksamkeit der Peressigsäure gegen die Sporen. Demnach sind geringgradige Rückstände von Proteinen, die im Lebensmittelbereich auf rauen Oberflächen teils unvermeidlich sind, kein großes Problem beim Einsatz von PES 15/23.

Die Ergebnisse zeigten auch, dass für alle Stämme die Keimreduktion mit PES 15/23 am größten war, wenn die Umgebungstemperatur 20 °C betrug. Die Reduktionen verringerten sich über 15 °C bis hin zu 10 °C drastisch. Besonders wichtig ist es daher, den Wirksamkeitsverlust bei niedrigen Temperaturen zu kompensieren. Da sich jedoch die Inaktivierung mit der Länge der Einwirkungszeit und der Steigerung der Anwendungskonzentration kontinuierlich steigerte, bieten sich dem Anwender mehrere Möglichkeiten, eine erfolgreiche Desinfektion zu gewährleisten.

Die Reduktionsstufen in den gleichen Konzentrationsstufen variierten zwischen den Stämmen und Umgebungstemperaturen erheblich. Der Diarrhoe-Stamm DSM 4313 zeigte durchgängig die niedrigsten Reduktionen, gefolgt vom Erdbodenisolat und dem Emetik-Stamm. Der Diarrhoe-Stamm DSM 4384 stellte sich als der Sensibelste heraus. Bei dem besonders resistenten *B. cereus*-Stamm (DSM 4313) musste demnach eine viel höhere Anwendungskonzentration eingesetzt werden, um eine Wirksamkeit zu erzielen. Die eingesetzten Suspensionstests können zwar nicht die realen Umstände einer Desinfektionsmaßnahme widerspiegeln, liefern aber dennoch entscheidende und ausschlaggebende Informationen zur Prozessoptimierung.

Größere methodenabhängige Schwankungen sind bei dieser Studie auszuschließen, da sich die Ergebnisse der verschiedenen Testarten bestätigten. Zur eingangs erwähnten Optimierung von Desinfektionsmaßnahmen gegen Sporen von *B. cereus* sollte, aufgrund der unterschiedlichen Resistenz der Stämme, immer das

Absterbeverhalten des resistantesten Stammes (Diarrhoe-Stamm DSM 4313) zur Orientierung herangezogen werden.

8 Summary

Nadine Sudhaus

Inactivation kinetics of *Bacillus cereus* spores against a peracetic acid disinfectant

Bacillus cereus is a highly underestimated food associated pathogen. *B. cereus* associated intoxications often occur with mild symptoms and persist for a short period of time. Therefore many cases are not reported to national authorities. The estimated number of unreported cases might be very high, which leads to underestimation of the safety hazard caused by this agent. Dust and soil are possible vehicles for *B. cereus* to enter the food chain. Insufficient cleaning and disinfection can lead to the cross contamination of all foods treated in the kitchen. Spore-forming bacteria like *B. cereus* are able to survive almost all physical (e. g. heating) or chemical treatments (e. g. disinfection) that are routinely performed to inactivate hazardous microorganisms. Furthermore, heating procedures may initiate spore germination. Without a competitive flora *B. cereus* can proliferate very fast. Hence it is very important to store the food at proper temperatures (above 65 °C) or cool it down fast enough. Otherwise *B. cereus* might proliferate and produce toxins and hence be a hazard to the consumer.

Cleaning and disinfection of surfaces must be optimized in order to avoid this hazard. Beside vegetative forms, spores must also be regarded in disinfection procedures. Accurate microbial death models are of considerable help to the food industry for the development of effective disinfection regimes. This will in turn lead to safer foods with improved quality and shelf life. Therefore, the prime objective of this study was to produce accurate predictive models for the reduction of *B. cereus* spores which can be achieved during treatment with a disinfectant. Furthermore, the influence of environmental conditions was also evaluated.

Peracetic acid is known to be sporicidal and was therefore used in this study. The efficacy of the commercial peracetic acid disinfectant PES 15/23 against spores of *B. cereus* was confirmed. It was applied in standard concentrations of 0.25, 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 %. The factors protein load and temperature were identified and measured by testing at three temperatures (10, 15 and 20 °C) and in presence and absence of

protein respective. A qualitative suspension test, a quantitative suspension test and a neutralization test were carried out to evaluate the nature of inactivation kinetics. This procedure ensured reliable results without method-dependent variances. Spores of four different strains of *B. cereus* were tested. The strains DSM 4312 (emetic type), DSM 4313 and DSM 4384 (both diarrhoeal type) were toxin-producing strains isolated from foodborne diseases, the strain DSM 318 was isolated from soil. Those strains were chosen in order to have the ability to compare different toxinogenic types with each other and with a strain from the environment.

Temperature showed a significant effect on treatment effectiveness indicating that, for all strains, reductions in the number of survivors were highest when PES 15/23 was applied at the temperature of 20 °C. The effect of PES 15/23 diminished when the temperature decreased to 10 °C. The loss of efficacy at low temperatures could be compensated with higher concentrations or a longer contact time. The protein load did not significantly reduce the efficacy of the disinfectant. Low protein load usually occurs on rough surfaces in the kitchen. This study showed that those low residues did not have a considerable influence on the efficacy of peracetic acid.

The diarrhoeal strain DSM 4313 was more resistant to PES 15/23 than the other strains in this study. Thus the diarrhoeal strain should be considered as the target in the design of proper disinfection procedures using peracetic acid.

All three tests led to comparable results. The observed inactivation kinetics displayed tails and in some cases a shoulder. This nonlinear behaviour proved true in all concentrations and temperatures tested. Inactivation curves were calculated with the Weibull distribution model. By using this model to analyze the inactivation, good results at the three temperatures studied were achieved.

Suspension tests are not able to simulate disinfection in practice, but these models will enable food manufacturers to design more effective and efficient disinfectant procedures that can also cope with bacterial spores.

9 Anhang

9.1 Nicht lineare Analysenergebnisse der Weibull-Verteilungs-Funktion

Das verwendete Model war die Weibull-Verteilungs-Funktion. Diese Verteilung bietet sich an, wenn die ermittelten Absterbekinetik-Kurven, wie in dieser Studie, teils konkave und teils konvexe Verlaufsformen besitzen. Schwarz hinterlegte Felder sind nicht mit in die Auswertung einbezogen worden, da sie kein sinnvolles Ergebnis lieferten.

9.1.1 Daten des Verdünnungs-Neutralisationstests im unbelasteten Bereich

Die Tabellen 9.1 bis 9.11 stellen die ausführlichen Informationen der Daten des Verdünnungs-Neutralisationstests (VNT) im unbelasteten Bereich dar, die mittels Weibull-Verteilungs-Funktion ermittelt wurden.

Tabelle 9.1: Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (VNT) des Stammes DSM 318 bei 10 °C und im unbelasteten Bereich

DSM 318 bei 10°C, ohne Eiweiß im VNT	0,25 %	0,50 %	1,00 %	1,50 %	2,00 %
Weibull log					
Best-fit values					
a	13099	248,6	31,74	9,078	8,003
n	0,2243	0,3233	0,6818	0,5377	0,7753
Std. Error					
a	119278	400,0	7,333	3,476	1,311
n	0,3355	0,2505	0,2599	0,1238	0,06868
95% Vertrauens-Intervall					
a	-278800 bis 304971	-730,3 bis 1227	13,80 bis 49,69	0,5711 bis 17,58	4,795 bis 11,21
n	-0,5966 bis 1,045	-0,2896 bis 0,9361	0,04576 bis 1,318	0,2347 bis 0,8407	0,6073 bis 0,9434
Anpassungsgüte					
Freiheitsgrade	6	6	6	6	6
R ²	0,3663	0,4576	0,7830	0,9269	0,9888
Absolute Sum of Squares	0,1841	0,3195	0,5941	0,6903	0,3006
Sy.x	0,1752	0,2308	0,3147	0,3392	0,2238
Daten					
X-Werte	4	4	4	4	4
Werte pro X-Wert	2	2	2	2	2
Werte insgesamt	8	8	8	8	8
fehlende Werte	0	0	0	0	0

Tabelle 9.2: Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (VNT) des Stammes DSM 318 bei 15 °C und im unbelasteten Bereich

DSM 318 bei 15°C, ohne Eiweiß im VNT	0,25 %	0,50 %	1,00 %	1,50 %	2,00 %
Weibull log					
Best-fit values					
a	1203	51,06	15,92	4,581	3,814
n	0,2453	0,5197	0,6548	0,5878	0,7084
Std. Error					
a	3021	6,571	2,527	1,991	2,652
n	0,1661	0,1105	0,1495	0,1092	0,2479
95% Vertrauens-Intervall					
a	-6189 bis 8596	34,98 bis 67,13	8,902 bis 22,93	-0,2900 bis 9,452	-3,548 bis 11,18
n	-0,1612 bis 0,6519	0,2494 bis 0,7901	0,2399 bis 1,070	0,3205 bis 0,8552	0,02022 bis 1,396
Anpassungsgüte					
Freiheitsgrade	6	6	4	6	4
R ²	0,2968	0,9125	0,9397	0,9497	0,8918
Absolute Sum of Squares	0,1077	0,09082	0,1149	1,224	2,147
Sy.x	0,1340	0,1230	0,1695	0,4517	0,7326
Daten					
X-Werte	4	4	3	4	3
Werte pro X-Wert	2	2	2	2	2
Werte insgesamt	8	8	6	8	6
fehlende Werte	0	0	0	0	0

Tabelle 9.3: Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (VNT) des Stammes DSM 318 bei 20 °C und im unbelasteten Bereich

DSM 318 bei 20°C, ohne Eiweiß im VNT	0,25 %	0,50 %	1,00 %	1,50 % u. 2,00 %
Weibull log				konvergieren nicht
Best-fit values				
a	62,67	24,01	4,492	
n	0,7120	0,6866	0,6685	
Std. Error				
a	8,402	1,484	1,619	
n	0,1809	0,05215	0,1063	
95% Vertrauens-Intervall				
a	42,11 bis 83,23	20,37 bis 27,64	0,3283 bis 8,655	
n	0,2694 bis 1,155	0,5590 bis 0,8142	0,3951 bis 0,9418	
Anpassungsgüte				
Freiheitsgrade	6	6	5	
R ²	0,8870	0,9916	0,9667	
Absolute Sum of Squares	0,1035	0,03479	0,9793	
Sy.x	0,1314	0,07615	0,4426	
Daten				
X-Werte	4	4	4	
Werte pro X-Wert	2	2	2	
Werte insgesamt	8	8	7	
fehlende Werte	0	0	1	

Tabelle 9.4: Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (VNT) des Stammes DSM 4312 bei 10 °C und im unbelasteten Bereich

DSM 4312 bei 10°C, ohne Eiweiß im VNT	0,25 %	0,50 %	1,00 %	1,50 %	2,00 %
Weibull log					
Best-fit values					
a	701,7	81,21	17,63	8,395	4,408
n	0,2701	0,4265	0,6868	0,7916	0,8105
Std. Error					
a	1061	22,01	2,612	1,208	1,603
n	0,1299	0,1192	0,09405	0,06306	0,1578
95% Vertrauens-Intervall					
a	-1895 bis 3298	27,36 bis 135,1	11,24 bis 24,03	5,440 bis 11,35	-0,04146 bis 8,858
n	-0,04783 bis 0,5881	0,1349 bis 0,7180	0,4567 bis 0,9170	0,6373 bis 0,9459	0,3724 bis 1,249
Anpassungsgüte					
Freiheitsgrade	6	6	6	6	4
R ²	0,6981	0,8757	0,9699	0,9907	0,9675
Absolute Sum of Squares	0,06938	0,09601	0,1727	0,2397	0,7438
Sy.x	0,1075	0,1265	0,1697	0,1999	0,4312
Daten					
X-Werte	4	4	4	4	3
Werte pro X-Wert	2	2	2	2	2
Werte insgesamt	8	8	8	8	6
fehlende Werte	0	0	0	0	0

Tabelle 9.5: Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (VNT) des Stammes DSM 4312 bei 15 °C und im unbelasteten Bereich

DSM 4312 bei 15°C, ohne Eiweiß im VNT	0,25 %	0,50 %	1,00 %	1,50 %	2,00 %
Weibull log					
Best-fit values					
a	91,12	34,07	9,786	2,826	1,159
n	0,7335	0,9604	0,7854	0,6075	0,4928
Std. Error					
a	29,96	3,808	2,135	0,9514	1,029
n	0,3076	0,2029	0,1035	0,07603	0,1252
95% Vertrauens-Intervall					
a	17,82 bis 164,4	24,75 bis 43,39	4,561 bis 15,01	0,3798 bis 5,272	-1,486 bis 3,803
n	-0,01921 bis 1,486	0,4639 bis 1,457	0,5322 bis 1,039	0,4120 bis 0,8029	0,1709 bis 0,8146
Anpassungsgüte					
Freiheitsgrade	6	6	6	5	5
R ²	0,7170	0,9303	0,9734	0,9777	0,9152
Absolute Sum of Squares	0,1626	0,2147	0,5041	0,7777	3,709
Sy.x	0,1646	0,1892	0,2898	0,3944	0,8612
Daten					
X-Werte	4	4	4	4	4
Werte pro X-Wert	2	2	2	2	2
Werte insgesamt	8	8	8	7	7
fehlende Werte	0	0	0	1	1

Tabelle 9.6: Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (VNT) des Stammes DSM 4312 bei 20 °C und im unbelasteten Bereich

DSM 4312 bei 20°C, ohne Eiweiß im VNT	0,25 %	0,50 %	1,00 %	1,50 % u. 2,00 %
Weibull log				konvergieren nicht
Best-fit values				
a	34,06	11,56	3,822	
n	0,5155	0,7081	0,7643	
Std. Error				
a	2,818	2,356	1,181	
n	0,06821	0,09758	0,1183	
95% Vertrauens-Intervall				
a	27,16 bis 40,95	5,789 bis 17,32	0,5419 bis 7,102	
n	0,3486 bis 0,6824	0,4693 bis 0,9469	0,4360 bis 1,093	
Anpassungsgüte				
Freiheitsgrade	6	6	4	
R ²	0,9734	0,9714	0,9786	
Absolute Sum of Squares	0,05321	0,3343	0,5087	
Sy.x	0,09418	0,2360	0,3566	
Daten				
X-Werte	4	4	3	
Werte pro X-Wert	2	2	2	
Werte insgesamt	8	8	6	
fehlende Werte	0	0	0	

Tabelle 9.7: Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (VNT) des Stammes DSM 4313 bei 10 °C und im unbelasteten Bereich

DSM 4313 bei 10°C, ohne Eiweiß im VNT	0,25 %	0,50 %	1,00 %	1,50 %	2,00 %
Weibull log					
Best-fit values					
a	1,0734e+25		23946	124,6	68,34
n	0,04808	0,009233	0,3131	1,119	1,176
Std. Error					
a	5,2347e+027		175672	54,72	5,982
n	0,4302	0,3625	0,3503	0,5389	0,2729
95% Vertrauens-Intervall					
a			-405900 bis 453815	-9,324 bis 258,5	53,70 bis 82,97
n	-1,005 bis 1,101	-0,8778 bis 0,8963	-0,5440 bis 1,170	-0,2002 bis 2,437	0,5085 bis 1,844
Anpassungsgüte					
Freiheitsgrade	6	6	6	6	6
R ²	-0,7166	-0,7303	-0,2096	0,5482	0,9156
Absolute Sum of Squares	0,03637	0,03581	0,03820	0,07192	0,06260
Sy.x	0,07785	0,07726	0,07979	0,1095	0,1021
Daten					
X-Werte	4	4	4	4	4
Werte pro X-Wert	2	2	2	2	2
Werte insgesamt	8	8	8	8	8
fehlende Werte	0	0	0	0	0

Tabelle 9.8: Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (VNT) des Stammes DSM 4313 bei 15 °C und im unbelasteten Bereich

DSM 4313 bei 15°C, ohne Eiweiß im VNT	0,25 %	0,50 %	1,00 %	1,50 %	2,00 %
Weibull log					
Best-fit values					
a	4997	29305	270,5	51,40	27,93
n	0,3892	0,2690	0,4794	1,110	1,018
Std. Error					
a	17902	137274	172,9	1,709	2,235
n	0,2837	0,1848	0,1556	0,1239	0,1171
95% Vertrauens- Intervall					
a	-38810 bis 48804	-306600 bis 365213	-152,6 bis 693,6	47,21 bis 55,58	22,46 bis 33,39
n	-0,3051 bis 1,083	-0,1832 bis 0,7213	0,09851 bis 0,8602	0,8064 bis 1,413	0,7311 bis 1,304
Anpassungsgüte					
Freiheitsgrade	6	6	6	6	6
R ²	0,3686	-0,2121	0,7905	0,9830	0,9814
Absolute Sum of Squares	0,02582	0,01902	0,04141	0,02788	0,1007
Sy.x	0,06561	0,05630	0,08308	0,06816	0,1296
Daten					
X-Werte	4	4	4	4	4
Werte pro X-Wert	2	2	2	2	2
Werte insgesamt	8	8	8	8	8
fehlende Werte	0	0	0	0	0

Tabelle 9.9: Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (VNT) des Stammes DSM 4313 bei 20 °C und im unbelasteten Bereich

DSM 4313 bei 20 C, ohne Eiweiß im VNT	0,25 %	0,50 %	1,00 %	1,50 %	2,00 %
Weibull log					
Best-fit values					
a	570745	857,2	49,22	26,82	15,49
n	0,1804	0,4161	1,202	1,452	1,241
Std. Error					
a	8,5007e+006	1083	3,341	1,801	0,7352
n	0,2710	0,1670	0,2834	0,1286	0,04866
95% Vertrauens- Intervall					
a	-2,023e+07 bis 2,1372e+07	-1793 bis 3508	41,05 bis 57,40	22,41 bis 31,22	13,60 bis 17,38
n	-0,4829 bis 0,8436	0,007439 bis 0,8247	0,5090 bis 1,896	1,138 bis 1,767	1,116 bis 1,366
Anpassungsgüte					
Freiheitsgrade	6	6	6	6	5
R ²	-1,537	0,7144	0,9286	0,9901	0,9978
Absolute Sum of Squares	0,05791	0,02773	0,1406	0,1252	0,05079
Sy.x	0,09825	0,06798	0,1531	0,1445	0,1008
Daten					
X-Werte	4	4	4	4	4
Werte pro X-Wert	2	2	2	2	2
Werte insgesamt	8	8	8	8	7
fehlende Werte	0	0	0	0	1

Tabelle 9.10: Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (VNT) des Stammes DSM 4384 bei 10 °C und im unbelasteten Bereich

DSM 4384 bei 10°C ohne Eiweiß im VNT	0,25 %	0,50 %	1,00 %	1,50 % u. 2,00 %
Weibull log				konvergieren nicht
Best-fit values				
a	69,25	18,03	3,690	
n	0,2872	0,4683	0,5806	
Std. Error				
a	31,13	4,592	1,305	
n	0,1218	0,1150	0,08064	
95% Vertrauens-Intervall				
a	-6,923 bis 145,4	6,792 bis 29,26	0,4963 bis 6,884	
n	-0,01082 bis 0,5853	0,1868 bis 0,7498	0,3832 bis 0,7779	
Anpassungsgüte				
Freiheitsgrade	6	6	6	
R ²	0,6326	0,8792	0,9678	
Absolute Sum of Squares	0,1991	0,3074	0,8465	
Sy.x	0,1822	0,2264	0,3756	
Daten				
X-Werte	4	4	4	
Werte pro X-Wert	2	2	2	
Werte insgesamt	8	8	8	
fehlende Werte	0	0	0	

Tabelle 9.11: Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (VNT) des Stammes DSM 4384 bei 15 °C und im unbelasteten Bereich

DSM 4384 bei 15 °C ohne Eiweiß im VNT	0,25 %	0,50 %	1,00 %	1,50 %	2,00 %
Weibull log				konvergiert nicht	
Best-fit values					
a	19,58	4,095	1,364		0,9909
n	0,3894	0,4655	0,5073		1,006
Std. Error					
a	6,977	2,276	1,020		1,0870e+07
n	0,1429	0,1082	0,1374		6,8159e+06
95% Vertrauens-Intervall					
a	2,505 bis 36,65	-1,475 bis 9,665	-1,882 bis 4,609		-46770000 bis 4,6774e+07
n	0,03979 bis 0,7390	0,2008 bis 0,7302	0,07008 bis 0,9445		-29330000 bis 2,9329e+07
Anpassungsgüte					
Freiheitsgrade	6	6	3		2
R ²	0,7354	0,9105	0,9138		0,8520
Absolute Sum of Squares	0,4891	1,084	1,026		2,641
Sy.x	0,2855	0,4250	0,5847		1,149
Daten					
X-Werte	4	4	3		2
Werte pro X-Wert	2	2	2		2
Werte insgesamt	8	8	5		4
fehlende Werte	0	0	1		0

9.1.2 Daten des Verdünnungs-Neutralisationstests im belasteten Bereich

Die Tabellen 9.12 bis 9.22 beinhalten die Daten des Verdünnungs-Neutralisationstests im belasteten Bereich, die mittels Weibull-Verteilungs-Funktion ausgewertet wurden. Schwarz hinterlegte Felder sind nicht mit in die Auswertung einbezogen worden, da sie kein sinnvolles Ergebnis lieferten.

Tabelle 9.12: Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (VNT) des Stammes DSM 318 bei 10 °C und im belasteten Bereich

DSM 318 bei 10 °C, mit Eiweiß im VNT	0,25 %	0,50 %	1,00 %	1,50 %	2,00 %
Weibull log					
Best-fit values					
a	13099	248,6	31,74	9,078	8,003
n	0,2243	0,3233	0,6818	0,5377	0,7753
Std. Error					
a	119278	400,0	7,332	3,476	1,311
n	0,3355	0,2505	0,2601	0,1238	0,06868
95% Vertrauens-Intervall					
a	-278800 bis 304971	-730,3 bis 1227	13,80 bis 49,69	0,5711 bis 17,58	4,795 bis 11,21
n	-0,5966 bis 1,045	-0,2896 bis 0,9361	0,04545 bis 1,318	0,2347 bis 0,8407	0,6073 bis 0,9434
Anpassungsgüte					
Freiheitsgrade	6	6	6	6	6
R ²	0,3663	0,4576	0,7830	0,9269	0,9888
Absolute Sum of Squares	0,1841	0,3195	0,5941	0,6903	0,3006
Sy.x	0,1752	0,2308	0,3147	0,3392	0,2238
Daten					
X-Werte	4	4	4	4	4
Werte pro X-Wert	2	2	2	2	2
Werte insgesamt	8	8	8	8	8
fehlende Werte	0	0	0	0	0

Tabelle 9.13: Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (VNT) des Stammes DSM 318 bei 15 °C und im belasteten Bereich

DSM 318 bei 15 °C, mit Eiweiß im VNT	0,25 %	0,50 %	1,00 %	1,50 %	2,00 %
Weibull log					
Best-fit values					
a	1203	51,05	15,92	4,581	3,814
n	0,2453	0,5198	0,6548	0,5879	0,7084
Std. Error					
a	3021	6,565	2,527	1,990	2,652
n	0,1661	0,1105	0,1495	0,1092	0,2479
95% Vertrauens-Intervall					
a	-6189 bis 8596	34,99 bis 67,12	8,902 bis 22,93	-0,2878 bis 9,451	-3,548 bis 11,18
n	-0,1612 bis 0,6519	0,2493 bis 0,7903	0,2399 bis 1,070	0,3206 bis 0,8551	0,02022 bis 1,396
Anpassungsgüte					
Freiheitsgrade	6	6	4	6	4
R ²	0,2968	0,9125	0,9397	0,9497	0,8918
Absolute Sum of Squares	0,1077	0,09082	0,1149	1,224	2,147
Sy.x	0,1340	0,1230	0,1695	0,4517	0,7326
Daten					
X-Werte	4	4	3	4	3
Werte pro X-Wert	2	2	2	2	2
Werte insgesamt	8	8	6	8	6
fehlende Werte	0	0	0	0	0

Tabelle 9.14: Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (VNT) des Stammes DSM 318 bei 20 °C und im belasteten Bereich

DSM 318 bei 20 °C, mit Eiweiß im VNT	0,25 %	0,50 %	1,00 %	1,50 %	2,00 %
Weibull log				konvergiert nicht	
Best-fit values					
a	62,67	24,01	4,492		1,875
n	0,7121	0,6866	0,6685		0,5720
Std. Error					
a	8,395	1,484	1,619		2,9124e+07
n	0,1810	0,05215	0,1063		9,0586e+06
95% Vertrauens-Intervall					
a	42,13 bis 83,21	20,37 bis 27,64	0,3287 bis 8,655		-1,253e+08 bis 1,2532e+08
n	0,2693 bis 1,155	0,5590 bis 0,8142	0,3951 bis 0,9418		-3,898e+07 bis 3,8979e+07
Anpassungsgüte					
Freiheitsgrade	6	6	5		2
R ²	0,8870	0,9916	0,9667		0,9357
Absolute Sum of Squares	0,1035	0,03479	0,9793		0,1458
Sy.x	0,1314	0,07615	0,4426		0,2700
Daten					
X-Werte	4	4	4		2
Werte pro X-Wert	2	2	2		2
Werte insgesamt	8	8	7		4
fehlende Werte	0	0	1		0

Tabelle 9.15: Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (VNT) des Stammes DSM 4312 bei 10 °C und im belasteten Bereich

DSM 4312 bei 10 °C, mit Eiweiß im VNT	0,25 %	0,50 %	1,00 %	1,50 %	2,00 %
Weibull log					
Best-fit values					
a	701,7	81,21	17,63	8,395	4,408
n	0,2701	0,4265	0,6868	0,7916	0,8105
Std. Error					
a	1061	22,00	2,612	1,208	1,603
n	0,1299	0,1192	0,09405	0,06306	0,1578
95% Vertrauens-Intervall					
a	-1895 bis 3298	27,37 bis 135,1	11,24 bis 24,03	5,440 bis 11,35	-0,04146 bis 8,858
n	-0,04783 bis 0,5881	0,1349 bis 0,7181	0,4567 bis 0,9170	0,6373 bis 0,9459	0,3724 bis 1,249
Anpassungsgüte					
Freiheitsgrade	6	6	6	6	4
R ²	0,6981	0,8757	0,9699	0,9907	0,9675
Absolute Sum of Squares	0,06938	0,09601	0,1727	0,2397	0,7438
Sy.x	0,1075	0,1265	0,1697	0,1999	0,4312
Daten					
X-Werte	4	4	4	4	3
Werte pro X-Wert	2	2	2	2	2
Werte insgesamt	8	8	8	8	6
fehlende Werte	0	0	0	0	0

Tabelle 9.16: Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (VNT) des Stammes DSM 4312 bei 15 °C und im belasteten Bereich

DSM 4312 bei 15 °C, mit Eiweiß im VNT	0,25 %	0,50 %	1,00 %	1,50 %	2,00 %
Weibull log					
Best-fit values					
a	90,86	34,07	9,788	2,826	1,159
n	0,7368	0,9606	0,7855	0,6075	0,4928
Std. Error					
a	29,33	3,807	2,136	0,9516	1,027
n	0,3105	0,2030	0,1035	0,07604	0,1251
95% Vertrauens-Intervall					
a	19,09 bis 162,6	24,75 bis 43,39	4,561 bis 15,01	0,3793 bis 5,272	-1,482 bis 3,800
n	-0,02307 bis 1,497	0,4637 bis 1,457	0,5321 bis 1,039	0,4120 bis 0,8029	0,1711 bis 0,8146
Anpassungsgüte					
Freiheitsgrade	6	6	6	5	5
R ²	0,7170	0,9303	0,9734	0,9777	0,9152
Absolute Sum of Squares	0,1626	0,2147	0,5041	0,7777	3,709
Sy.x	0,1646	0,1892	0,2898	0,3944	0,8612
Daten					
X-Werte	4	4	4	4	4
Werte pro X-Wert	2	2	2	2	2
Werte insgesamt	8	8	8	7	7
fehlende Werte	0	0	0	1	

Tabelle 9.17: Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (VNT) des Stammes DSM 4312 bei 20 °C und im belasteten Bereich

DSM 4312 bei 20 °C, mit Eiweiß im VNT	0,25 %	0,50 %	1,00 %	1,50 %	2,00 %
Weibull log				konvergiert nicht	
Best-fit values					
a	34,06	11,56	3,822		1,461
n	0,5155	0,7081	0,7643		0,7447
Std. Error					
a	2,818	2,356	1,181		1,3512e+07
n	0,06821	0,09758	0,1183		5,5977e+06
95% Vertrauens-Intervall					
a	27,16 bis 40,95	5,789 bis 17,32	0,5419 bis 7,102		-5,814e+07 bis 5,8141e+07
n	0,3486 bis 0,6824	0,4693 bis 0,9469	0,4360 bis 1,093		-2,409e+07 bis 2,4087e+07
Anpassungsgüte					
Freiheitsgrade	6	6	4		2
R ²	0,9734	0,9714	0,9786		0,9550
Absolute Sum of Squares	0,05321	0,3343	0,5087		0,2226
Sy.x	0,09418	0,2360	0,3566		0,3337
Daten					
X-Werte	4	4	3		2
Werte pro X-Wert	2	2	2		2
Werte insgesamt	8	8	6		4
fehlende Werte	0	0	0		0

Tabelle 9.18: Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (VNT) des Stammes DSM 4313 bei 10 °C und im belasteten Bereich

DSM 4313 bei 10 °C, mit Eiweiß im VNT	0,25 %	0,50 %	1,00 %	1,50 %	2,00 %
Weibull log					
Best-fit values					
a	1,0734e+025		23946	124,5	68,33
n	0,04808	0,009281	0,3131	1,119	1,177
Std. Error					
a	5,2349e+27		175672	54,62	5,972
n	0,4302	0,3625	0,3503	0,5393	0,2731
95% Vertrauens-Intervall					
a	-1,28e+29 bis 1,2821e+28		-405900 bis 453815	-9,114 bis 258,2	53,72 bis 82,95
n	-1,005 bis 1,101	-0,8778 bis 0,8963	-0,5440 bis 1,170	-0,2010 bis 2,439	0,5083 bis 1,845
Anpassungsgüte					
Freiheitsgrade	6	6	6	6	6
R ²	-0,7166	-0,7303	-0,2096	0,5482	0,9156
Absolute Sum of Squares	0,03637	0,03581	0,03820	0,07192	0,06260
Sy.x	0,07785	0,07726	0,07979	0,1095	0,1021
Daten					
X-Werte	4	4	4	4	4
Werte pro X-Wert	2	2	2	2	2
Werte insgesamt	8	8	8	8	8
fehlende Werte	0	0	0	0	0

Tabelle 9.19: Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (VNT) des Stammes DSM 4313 bei 15 °C und im belasteten Bereich

DSM 4313 bei 15 °C, mit Eiweiß im VNT	0,25 %	0,50 %	1,00 %	1,50 %	2,00 %
Weibull log					
Best-fit values					
a	586,2	1320	47,49	24,24	12,30
n	0,3892	0,2690	0,4794	1,110	1,018
Std. Error					
a	1200	3409	9,663	2,249	2,084
n	0,2837	0,1848	0,1556	0,1239	0,1171
95% Vertrauens-Intervall					
a	-2351 bis 3523	-7022 bis 9662	23,84 bis 71,14	18,73 bis 29,74	7,205 bis 17,40
n	-0,3051 bis 1,083	-0,1832 bis 0,7213	0,09851 bis 0,8602	0,8064 bis 1,413	0,7311 bis 1,304
Anpassungsgüte					
Freiheitsgrade	6	6	6	6	6
R ²	0,3686	-0,2121	0,7905	0,9830	0,9814
Absolute Sum of Squares	0,02582	0,01902	0,04141	0,02788	0,1007
Sy.x	0,06561	0,05630	0,08308	0,06816	0,1296
Daten					
X-Werte	4	4	4	4	4
Werte pro X-Wert	2	2	2	2	2
Werte insgesamt	8	8	8	8	8
fehlende Werte	0	0	0	0	0

Tabelle 9.20: Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (VNT) des Stammes DSM 4313 bei 20 °C und im belasteten Bereich

DSM 4313 bei 20 °C, mit Eiweiß im VNT	0,25 %	0,50 %	1,00 %	1,50 %	2,00 %
Weibull log					
Best-fit values					
a	570745	857,2	49,22	26,82	15,49
n	0,1804	0,4161	1,202	1,452	1,241
Std. Error					
a	8,5007e+06	1083	3,341	1,801	0,7352
n	0,2710	0,1670	0,2834	0,1286	0,04866
95% Vertrauens-Intervall					
a	-2,023e+07 bis 2,1372e+07	-1793 bis 3508	41,05 bis 57,40	22,41 bis 31,22	13,60 bis 17,38
n	-0,4829 bis 0,8436	0,007439 bis 0,8247	0,5090 bis 1,896	1,138 bis 1,767	1,116 bis 1,366
Anpassungsgüte					
Freiheitsgrade	6	6	6	6	5
R ²	-1,537	0,7144	0,9286	0,9901	0,9978
Absolute Sum of Squares	0,05791	0,02773	0,1406	0,1252	0,05079
Sy.x	0,09825	0,06798	0,1531	0,1445	0,1008
Daten					
X-Werte	4	4	4	4	4
Werte pro X-Wert	2	2	2	2	2
Werte insgesamt	8	8	8	8	7
fehlende Werte	0	0	0	0	1

Tabelle 9.21: Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (VNT) des Stammes DSM 4384 bei 10 °C und im belasteten Bereich

DSM 4384 bei 10 °C, mit Eiweiß im VNT	0,25 %	0,50 %	1,00 %	1,50 % u. 2,00 %
Weibull log				konvergieren nicht
Best-fit values				
a	69,25	18,03	3,690	
n	0,2872	0,4683	0,5806	
Std. Error				
a	31,13	4,592	1,305	
n	0,1218	0,1150	0,08064	
95% Vertrauens-Intervall				
a	-6,923 bis 145,4	6,792 bis 29,26	0,4963 bis 6,884	
n	-0,01082 bis 0,5853	0,1868 bis 0,7498	0,3832 bis 0,7779	
Anpassungsgüte				
Freiheitsgrade	6	6	6	
R ²	0,6326	0,8792	0,9678	
Absolute Sum of Squares	0,1991	0,3074	0,8465	
Sy.x	0,1822	0,2264	0,3756	
Daten				
X-Werte	4	4	4	
Werte pro X-Wert	2	2	2	
Werte insgesamt	8	8	8	
fehlende Werte	0	0	0	

Tabelle 9.22: Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (VNT) des Stammes DSM 4384 bei 15 °C und im belasteten Bereich

DSM 4384 bei 15 °C, mit Eiweiß im VNT	0,25 %	0,50 %	1,00 %	1,50 %	2,00 %
Weibull log					konvergiert nicht
Best-fit values					
a	42,62	9,807	3,540	1,379	
n	0,3045	0,5360	0,6659	0,7848	
Std. Error					
a	12,03	2,803	1,182	1,9481e+07	
n	0,1071	0,09636	0,1086	8,6075e+06	
95% Vertrauens-Intervall					
a	13,18 bis 72,07	2,948 bis 16,67	0,2601 bis 6,820	-8,383e+07 bis 8,3828e+07	
n	0,04248 bis 0,5665	0,3002 bis 0,7718	0,3646 bis 0,9673	-3,704e+07 bis 3,7038e+07	
Anpassungsgüte					
Freiheitsgrade	6	6	4	2	
R ²	0,7731	0,9415	0,9715	0,8953	
Absolute Sum of Squares	0,1931	0,3845	0,4390	0,5264	
Sy.x	0,1794	0,2531	0,3313	0,5130	
Daten					
X-Werte	4	4	3	2	
Werte pro X-Wert	2	2	2	2	
Werte insgesamt	8	8	6	4	
fehlende Werte	0	0	0	0	

Für den Stamm DSM 4383 und 20 °C haben sich nicht genügend Werte ergeben, um eine Auswertung durchzuführen. Die Sensibilität dieses Stammes gegenüber PES 15/23 führte dazu, dass die Log-Reduktionen oft so hoch waren, dass die verbleibenden Keimzahlen unterhalb der Nachweisgrenze waren.

9.1.3 Daten des Quantitativen Suspensionstests im unbelasteten Bereich

Die Tabellen 9.23 bis 9.34 beinhalten die Daten des Quantitativen Suspensionstests (QST) im belasteten Bereich, die mittels Weibull-Verteilungs-Funktion ausgewertet wurden. Schwarz hinterlegte Felder sind nicht mit in die Auswertung einbezogen worden, da sie kein sinnvolles Ergebnis lieferten.

Tabelle 9.23: Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (QST) des Stammes DSM 318 bei 10 °C und im unbelasteten Bereich

DSM 318 bei 10°C ohne Eiweiß im QST	0,25 %	0,50 %	1,00 %	1,50 %	2,00 %
Weibull log					
Best-fit values					
a	396,7	72,64	31,03	12,35	8,392
n	0,2950	0,4881	0,4932	0,5613	0,6711
Std. Error					
a	795,0	19,44	5,204	1,935	1,303
n	0,2311	0,1598	0,1227	0,06358	0,05861
95% Vertrauens-Intervall					
a	-1549 bis 2342	25,06 bis 120,2	18,30 bis 43,77	7,613 bis 17,08	5,204 bis 11,58
n	-0,2703 bis 0,8604	0,09708 bis 0,8791	0,1929 bis 0,7936	0,4058 bis 0,7169	0,5277 bis 0,8145
Anpassungsgüte					
Freiheitsgrade	6	6	6	6	6
R²	0,5967	0,8033	0,8850	0,9794	0,9885
Absolute Sum of Squares	0,2480	0,1488	0,1991	0,1299	0,1836
Sy.x	0,2033	0,1575	0,1822	0,1472	0,1749
Daten					
X-Werte	4	4	4	4	4
Werte pro X-Wert	2	2	2	2	2
Werte insgesamt	8	8	8	8	8
fehlende Werte	0	0	0	0	0

Tabelle 9.24: Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (QST) des Stammes DSM 318 bei 15 °C und im unbelasteten Bereich

DSM 318 bei 15°C, ohne Eiweiß im QST	0,25 %	0,50 %	1,00 %	1,50 %	2,00 %
Weibull log					
Best-fit values					
a	60,11	33,99	11,02	4,794	2,175
n	0,6895	0,7842	0,6532	0,5302	0,4137
Std. Error					
a	13,03	1,898	2,716	2,016	1,564
n	0,2858	0,08037	0,1064	0,09820	0,09998
95% Vertrauens-Intervall					
a	28,23 bis 92,00	29,34 bis 38,63	4,371 bis 17,66	-0,1392 bis 9,728	-1,652 bis 6,001
n	-0,009748 bis 1,389	0,5876 bis 0,9809	0,3927 bis 0,9136	0,2899 bis 0,7705	0,1691 bis 0,6584
Anpassungsgüte					
Freiheitsgrade	6	6	6	6	6
R ²	0,7886	0,9855	0,9637	0,9525	0,9249
Absolute Sum of Squares	0,2937	0,04307	0,4183	0,8521	1,426
Sy.x	0,2212	0,08473	0,2641	0,3769	0,4876
Daten					
X-Werte	4	4	4	4	4
Werte pro X-Wert	2	2	2	2	2
Werte insgesamt	8	8	8	8	8
fehlende Werte	0	0	0	0	0

Tabelle 9.25: Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (QST) des Stammes DSM 318 bei 20 °C und im unbelasteten Bereich

DSM 318 bei 20°C, ohne Eiweiß im QST	0,25 %	0,50 %	1,00 %	1,50 %	2,00 %
Weibull log					konvergiert nicht
Best-fit values					
a	33,87	11,65	1,816	0,001900	
n	0,3859	0,5651	0,4076	0,1323	
Std. Error					
a	11,94	3,501	1,402	0,006349	
n	0,1915	0,1181	0,09997	0,04597	
95% Vertrauens-Intervall					
a	4,664 bis 63,08	3,082 bis 20,22	-1,614 bis 5,246	-0,01364 bis 0,01744	
n	-0,08280 bis 0,8546	0,2761 bis 0,8540	0,1630 bis 0,6522	0,01977 bis 0,2448	
Anpassungsgüte					
Freiheitsgrade	6	6	6	6	
R ²	0,6203	0,9297	0,9178	0,9418	
Absolute Sum of Squares	0,5787	0,4783	1,622	0,8336	
Sy.x	0,3106	0,2823	0,5199	0,3727	
Daten					
X-Werte	4	4	4	4	
Werte pro X-Wert	2	2	2	2	
Werte insgesamt	8	8	8	8	
fehlende Werte	0	0	0	0	

Tabelle 9.26: Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (QST) des Stammes DSM 4312 bei 10 °C und im unbelasteten Bereich

DSM 4312 bei 10°C, ohne Eiweiß im QST	0,25 %	0,50 %	1,00 %	1,50 %	2,00 %
Weibull log					
Best-fit values					
a	117,8	47,40	15,35	5,872	2,095
n	0,6669	0,5706	0,5684	0,4966	0,3825
Std. Error					
a	32,54	5,308	2,585	1,835	1,203
n	0,1764	0,1175	0,08057	0,07532	0,07345
95% Vertrauens-Intervall					
a	38,22 bis 197,5	34,41 bis 60,39	9,021 bis 21,67	1,381 bis 10,36	-0,8472 bis 5,038
n	0,2354 bis 1,098	0,2831 bis 0,8580	0,3712 bis 0,7655	0,3123 bis 0,6809	0,2027 bis 0,5622
Anpassungsgüte					
Freiheitsgrade	6	6	6	6	6
R ²	0,8949	0,9235	0,9710	0,9641	0,9462
Absolute Sum of Squares	0,04885	0,09536	0,1628	0,3889	0,7216
Sy.x	0,09023	0,1261	0,1647	0,2546	0,3468
Daten					
X-Werte	4	4	4	4	4
Werte pro X-Wert	2	2	2	2	2
Werte insgesamt	8	8	8	8	8
fehlende Werte	0	0	0	0	0

Tabelle 9.27: Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (QST) des Stammes DSM 4312 bei 15 °C und im unbelasteten Bereich

DSM 4312 bei 15°C, ohne Eiweiß im QST	0,25 %	0,50 %	1,00 %	1,50 %	2,00 %
Weibull log					
Best-fit values					
a	37,25	19,91	3,520	1,954	0,7407
n	0,6911	0,6840	0,4461	0,3972	0,3134
Std. Error					
a	2,776	2,334	0,7723	1,416	0,6389
n	0,1001	0,08239	0,03872	0,09380	0,07171
95% Vertrauens-Intervall					
a	30,46 bis 44,05	14,20 bis 25,63	1,630 bis 5,410	-1,511 bis 5,419	-0,9019 bis 2,383
n	0,4463 bis 0,9360	0,4823 bis 0,8856	0,3513 bis 0,5408	0,1677 bis 0,6267	0,1291 bis 0,4978
Anpassungsgüte					
Freiheitsgrade	6	6	6	6	5
R ²	0,9665	0,9771	0,9888	0,9282	0,9477
Absolute Sum of Squares	0,06938	0,1125	0,1535	1,301	0,7401
Sy.x	0,1075	0,1369	0,1600	0,4656	0,3847
Daten					
X-Werte	4	4	4	4	4
Werte pro X-Wert	2	2	2	2	2
Werte insgesamt	8	8	8	8	7
fehlende Werte	0	0	0	0	1

Tabelle 9.28: Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (QST) des Stammes DSM 4312 bei 20 °C und im unbelasteten Bereich

DSM 4312 bei 20°C, ohne Eiweiß im QST	0,25 %	0,50 %	1,00 %	1,50 %	2,00 %
Weibull log					konvergiert nicht
Best-fit values					
a	14,06	7,618	0,5015	0,1690	
n	0,4985	0,5933	0,2744	0,2286	
Std. Error					
a	3,518	1,836	0,3383	0,2087	
n	0,09966	0,07739	0,04314	0,05322	
95% Vertrauens-Intervall					
a	5,452 bis 22,67	3,125 bis 12,11	-0,3262 bis 1,329	-0,3418 bis 0,6798	
n	0,2546 bis 0,7424	0,4039 bis 0,7827	0,1688 bis 0,3800	0,09838 bis 0,3589	
Anpassungsgüte					
Freiheitsgrade	6	6	6	6	
R ²	0,9323	0,9734	0,9718	0,9488	
Absolute Sum of Squares	0,2857	0,3395	0,3927	0,7496	
Sy.x	0,2182	0,2379	0,2558	0,3535	
Daten					
X-Werte	4	4	4	4	
Werte pro X-Wert	2	2	2	2	
Werte insgesamt	8	8	8	8	
fehlende Werte	0	0	0	0	

Tabelle 9.29: Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (QST) des Stammes DSM 4313 bei 10 °C und im unbelasteten Bereich

DSM 4313 bei 10°C, ohne Eiweiß im QST	0,25 %	0,50 %	1,00 %	1,50 %	2,00 %
Weibull log	konvergiert nicht				
Best-fit values					
a		337551	213,9	84,66	43,88
n		0,09193	0,3220	0,3327	0,3850
Std. Error					
a		7,7772e+06	353,7	73,41	14,69
n		0,2217	0,2744	0,2552	0,1811
95% Vertrauens-Intervall					
a		-18690000 bis 1,9368e+07	-651,7 bis 1080	-94,98 bis 264,3	7,922 bis 79,83
n		-0,4505 bis 0,6344	-0,3495 bis 0,9935	-0,2917 bis 0,9571	-0,05812 bis 0,8281
Anpassungsgüte					
Freiheitsgrade		6	6	6	6
R ²		-1,572	-0,8131	-0,5298	0,4515
Absolute Sum of Squares		0,2936	0,4260	0,6384	0,4248
Sy.x		0,2212	0,2665	0,3262	0,2661
Daten					
X-Werte		4	4	4	4
Werte pro X-Wert		2	2	2	2
Werte insgesamt		8	8	8	8
fehlende Werte		0	0	0	0

Tabelle 9.30: Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (QST) des Stammes DSM 4313 bei 15 °C und im unbelasteten Bereich

DSM 4313 bei 15°C, ohne Eiweiß im QST	0,25 %	0,50 %	1,00 %	1,50 %	2,00 %
Weibull log					
Best-fit values					
a	4044	1456	29,03	22,83	11,45
n	0,1341	0,1185	0,3816	0,4557	0,4509
Std. Error					
a	26992	9302	13,97	7,761	4,507
n	0,1759	0,1838	0,2431	0,1799	0,1249
95% Vertrauens-Intervall					
a	-62000 bis 70093	-21310 bis 24218	-5,151 bis 63,21	3,836 bis 41,82	0,4173 bis 22,47
n	-0,2963 bis 0,5646	-0,3312 bis 0,5682	-0,2133 bis 0,9765	0,01549 bis 0,8958	0,1452 bis 0,7566
Anpassungsgüte					
Freiheitsgrade	6	6	6	6	6
R ²	-1,687	-2,995	0,3265	0,6189	0,8526
Absolute Sum of Squares	0,2528	0,4234	1,060	0,6152	0,5577
Sy.x	0,2052	0,2656	0,4204	0,3202	0,3049
Daten					
X-Werte	4	4	4	4	4
Werte pro X-Wert	2	2	2	2	2
Werte insgesamt	8	8	8	8	8
fehlende Werte	0	0	0	0	0

Tabelle 9.31: Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (QST) des Stammes DSM 4313 bei 20 °C und im unbelasteten Bereich

DSM 4313 bei 20°C, ohne Eiweiß im QST	0,25 %	0,50 %	1,00 %	1,50 %	2,00 %
Weibull log					
Best-fit values					
a	214,2	48,94	25,48	19,14	7,748
n	0,5324	0,7731	0,8592	1,099	0,6274
Std. Error					
a	307,3	7,955	4,004	2,677	1,618
n	0,4497	0,3025	0,1756	0,1459	0,07111
95% Vertrauens-Intervall					
a	-537,7 bis 966,2	29,47 bis 68,40	15,69 bis 35,28	12,59 bis 25,69	3,789 bis 11,71
n	-0,5679 bis 1,633	0,03289 bis 1,513	0,4294 bis 1,289	0,7422 bis 1,456	0,4534 bis 0,8014
Anpassungsgüte					
Freiheitsgrade	6	6	6	6	6
R ²	0,2351	0,7799	0,9435	0,9772	0,9816
Absolute Sum of Squares	0,3136	0,3538	0,3010	0,3449	0,2889
Sy.x	0,2286	0,2428	0,2240	0,2398	0,2194
Daten					
X-Werte	4	4	4	4	4
Werte pro X-Wert	2	2	2	2	2
Werte insgesamt	8	8	8	8	8
fehlende Werte	0	0	0	0	0

Tabelle 9.32: Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (QST) des Stammes DSM 4384 bei 10 °C und im unbelasteten Bereich

DSM 4384 bei 10°C, ohne Eiweiß im QST	0,25 %	0,50 %	1,00 %	1,50 %	2,00 %
Weibull log					
Best-fit values					
a	108,3	31,84	6,435	3,215	1,051
n	0,3133	0,3823	0,4446	0,4090	0,3056
Std. Error					
a	79,76	7,975	5,432	1,699	0,8150
n	0,1705	0,1319	0,1925	0,08335	0,06586
95% Vertrauens-Intervall					
a	-86,91 bis 303,4	12,32 bis 51,35	-6,857 bis 19,73	-0,9428 bis 7,373	-0,9430 bis 3,045
n	-0,1038 bis 0,7305	0,05955 bis 0,7050	-0,02644 bis 0,9156	0,2050 bis 0,6129	0,1445 bis 0,4668
Anpassungsgüte					
Freiheitsgrade	6	6	6	6	6
R ²	0,7297	0,8615	0,7975	0,9442	0,9468
Absolute Sum of Squares	0,2658	0,2903	2,212	0,7099	0,7000
Sy.x	0,2105	0,2200	0,6072	0,3440	0,3416
Daten					
X-Werte	4	4	4	4	4
Werte pro X-Wert	2	2	2	2	2
Werte insgesamt	8	8	8	8	8
fehlende Werte	0	0	0	0	0

Tabelle 9.33: Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (QST) des Stammes DSM 4384 bei 15 °C und im unbelasteten Bereich

DSM 4384 bei 15°C, ohne Eiweiß im QST	0,25 %	0,50 %	1,00 %	1,50 %	2,00 %
Weibull log					
Best-fit values					
a	63,95	28,55	9,656	2,618	1,086
n	0,6332	0,5866	0,6017	0,4158	0,3302
Std. Error					
a	12,07	9,259	4,521	1,675	0,9324
n	0,1998	0,2749	0,1734	0,09515	0,07900
95% Vertrauens-Intervall					
a	34,42 bis 93,48	5,889 bis 51,20	-1,407 bis 20,72	-1,481 bis 6,718	-1,195 bis 3,368
n	0,1443 bis 1,122	-0,08607 bis 1,259	0,1773 bis 1,026	0,1830 bis 0,6486	0,1368 bis 0,5235
Anpassungsgüte					
Freiheitsgrade	6	6	6	6	6
R ²	0,8714	0,7560	0,8871	0,9301	0,9301
Absolute Sum of Squares	0,1583	0,9044	1,291	1,114	1,099
Sy.x	0,1624	0,3882	0,4638	0,4309	0,4279
Daten					
X-Werte	4	4	4	4	4
Werte pro X-Wert	2	2	2	2	2
Werte insgesamt	8	8	8	8	8
fehlende Werte	0	0	0	0	0

Tabelle 9.34: Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (QST) des Stammes DSM 4384 bei 20 °C und im unbelasteten Bereich

DSM 4384 bei 20°C, ohne Eiweiß im QST	0,25 %	0,50 %	1,00 %	1,50 %	2,00 %
Weibull log					
Best-fit values					
a	11,45	3,885	0,4982	0,02147	1,5138e-05
n	0,4016	0,3807	0,2807	0,1664	0,08572
Std. Error					
a	3,659	2,390	0,6157	0,06748	1,918e-04
n	0,09142	0,09788	0,08057	0,07202	0,06288
95% Vertrauens-Intervall					
a	2,496 bis 20,41	-1,964 bis 9,734	-1,008 bis 2,005	-0,1437 bis 0,1866	-4,542e-04 bis 4,844e-04
n	0,1779 bis 0,6253	0,1412 bis 0,6202	0,08356 bis 0,4779	-0,009856 bis 0,3426	-0,06815 bis 0,2396
Anpassungsgüte					
Freiheitsgrade	6	6	6	6	6
R²	0,9263	0,9099	0,9074	0,8654	0,8742
Absolute Sum of Squares	0,3029	0,7962	1,427	1,642	1,588
Sy.x	0,2247	0,3643	0,4876	0,5231	0,5145
Daten					
X-Werte	4	4	4	4	4
Werte pro X-Wert	2	2	2	2	2
Werte insgesamt	8	8	8	8	8
fehlende Werte	0	0	0	0	0

9.1.4 Daten des Quantitativen Suspensionstests im belasteten Bereich

Die Tabellen 9.35 bis 9.46 beinhalten die Daten des Quantitativen Suspensionstests (QST) im belasteten Bereich, die mittels Weibull-Verteilungs-Funktion ausgewertet wurden. Schwarz hinterlegte Felder sind nicht mit in die Auswertung einbezogen worden, da sie kein sinnvolles Ergebnis lieferten.

Tabelle 9.35: Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (QST) des Stammes DSM 318 bei 10 °C und im belasteten Bereich

DSM 318 bei 10°C, mit Eiweiß im QST	0,25 %	0,50 %	1,00 %	1,50 %	2,00 %
Weibull log					
Best-fit values					
a	1524	55,09	24,36	10,90	5,375
n	0,3284	0,8575	0,5582	0,6562	0,5737
Std. Error					
a	5458	3,869	6,471	3,811	2,315
n	0,3082	0,1541	0,1840	0,1506	0,1134
95% Vertrauens-Intervall					
a	-11,830 bis 14,881	45,62 bis 64,56	8,530 bis 40,20	1,579 bis 20,23	-0,2883 bis 11,04
n	-0,4259 bis 1,083	0,4803 bis 1,235	0,1078 bis 1,009	0,2878 bis 1,025	0,2961 bis 0,8513
Anpassungsgüte					
Freiheitsgrade	6	6	6	6	6
R ²	0,4798	0,9610	0,8474	0,9276	0,9474
Absolute Sum of Squares	0,1422	0,06191	0,5102	0,8490	1,071
Sy.x	0,1539	0,1016	0,2916	0,3762	0,4226
Daten					
X-Werte	4	4	4	4	4
Werte pro X-Wert	2	2	2	2	2
Werte insgesamt	8	8	8	8	8
fehlende Werte	0	0	0	0	0

Tabelle 9.36: Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (QST) des Stammes DSM 318 bei 15 °C und im belasteten Bereich

DSM 318 bei 15°C, mit Eiweiß im QST	0,25 %	0,50 %	1,00 %	1,50 %	2,00 %
Weibull log					
Best-fit values					
a	328,9	38,02	12,74	3,234	1,398
n	0,3622	0,7035	0,7349	0,4830	0,3803
Std. Error					
a	150,1	3,845	1,251	1,705	1,038
n	0,07229	0,1418	0,05182	0,09680	0,08348
95% Vertrauens-Intervall					
a	-38,52 bis 696,3	28,61 bis 47,43	9,678 bis 15,80	-0,9374 bis 7,405	-1,142 bis 3,938
n	0,1853 bis 0,5391	0,3565 bis 1,050	0,6081 bis 0,8617	0,2462 bis 0,7199	0,1760 bis 0,5846
Anpassungsgüte					
Freiheitsgrade	6	6	6	6	6
R ²	0,9548	0,9377	0,9932	0,9471	0,9400
Absolute Sum of Squares	0,01686	0,1320	0,08241	1,126	1,259
Sy.x	0,05302	0,1483	0,1172	0,4331	0,4581
Daten					
X-Werte	4	4	4	4	4
Werte pro X-Wert	2	2	2	2	2
Werte insgesamt	8	8	8	8	8
fehlende Werte	0	0	0	0	0

Tabelle 9.37: Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (QST) des Stammes DSM 318 bei 20 °C und im belasteten Bereich

DSM 318 bei 20°C, mit Eiweiß im QST	0,25 %	0,50 %	1,00 %	1,50 %	2,00 %
Weibull log					
Best-fit values					
a	50,12	17,56	2,391	0,4264	0,08841
n	0,5546	0,8147	0,4217	0,2782	0,2153
Std. Error					
a	7,433	3,251	1,101	0,4098	0,09737
n	0,1449	0,1367	0,06723	0,06000	0,04138
95% Vertrauens-Intervall					
a	31,93 bis 68,31	9,605 bis 25,52	-0,3028 bis 5,085	-0,5763 bis 1,429	-0,1619 bis 0,3388
n	0,20 bis 0,9093	0,4801 bis 1,149	0,2572 bis 0,5862	0,1313 bis 0,4250	0,1089 bis 0,3217
Anpassungsgüte					
Freiheitsgrade	6	6	6	6	5
R ²	0,8616	0,9555	0,9643	0,9501	0,9753
Absolute Sum of Squares	0,1430	0,3487	0,6098	0,8501	0,3678
Sy.x	0,1544	0,2411	0,3188	0,3764	0,2712
Daten					
X-Werte	4	4	4	4	4
Werte pro X-Wert	2	2	2	2	2
Werte insgesamt	8	8	8	8	7
fehlende Werte	0	0	0	0	1

Tabelle 9.38: Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (QST) des Stammes DSM 4312 bei 10 °C und im belasteten Bereich

DSM 4312 bei 10°C, mit Eiweiß im QST	0,25 %	0,50 %	1,00 %	1,50 %	2,00 %
Weibull log					
Best-fit values					
a	5414	37,10	9,603	3,182	0,5330
n	0,1381	0,3081	0,4706	0,4317	0,2847
Std. Error					
a	20322	11,56	2,521	1,005	0,4666
n	0,09653	0,1235	0,07785	0,05209	0,05874
95% Vertrauens-Intervall					
a	-44310 bis 55143	8,828 bis 65,38	3,433 bis 15,77	0,7233 bis 5,641	-0,6087 bis 1,675
n	-0,09813 bis 0,3743	0,006040 bis 0,6102	0,2801 bis 0,6611	0,3043 bis 0,5592	0,1410 bis 0,4285
Anpassungsgüte					
Freiheitsgrade	6	6	6	6	6
R ²	0,6503	0,7231	0,9564	0,9761	0,9504
Absolute Sum of Squares	0,06702	0,2766	0,2541	0,2943	0,7476
Sy.x	0,1057	0,2147	0,2058	0,2215	0,3530
Daten					
X-Werte	4	4	4	4	4
Werte pro X-Wert	2	2	2	2	2
Werte insgesamt	8	8	8	8	8
fehlende Werte	0	0	0	0	0

Tabelle 9.39: Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (QST) des Stammes DSM 4312 bei 15 °C und im belasteten Bereich

DSM 4312 bei 15°C, mit Eiweiß im QST	0,25 %	0,50 %	1,00 %	1,50 %	2,00 %
Weibull log					
Best-fit values					
a	44,05	18,01	606,5	2,726	0,2191
n	0,5425	0,5565	0,7844	0,4194	0,2370
Std. Error					
a	3,487	1,580	46300	1,767	0,3010
n	0,07652	0,04662	23,43	0,09850	0,06435
95% Vertrauens-Intervall					
a	35,52 bis 52,59	14,14 bis 21,87	-112700 bis 113903	-1,597 bis 7,050	-0,5174 bis 0,9557
n	0,3552 bis 0,7297	0,4424 bis 0,6706	-56,55 bis 58,12	0,1784 bis 0,6604	0,07958 bis 0,3945
Anpassungsgüte					
Freiheitsgrade	6	6	6	6	6
R ²	0,9715	0,9890	0,0008429	0,9249	0,9196
Absolute Sum of Squares	0,04758	0,04596	39,80	1,165	1,037
Sy.x	0,08905	0,08752	2,575	0,4407	0,4158
Daten					
X-Werte	4	4	4	4	4
Werte pro X-Wert	2	2	2	2	2
Werte insgesamt	8	8	8	8	8
fehlende Werte	0	0	0	0	0

Tabelle 9.40: Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (QST) des Stammes DSM 4312 bei 20 °C und im belasteten Bereich

DSM 4312 bei 20°C, mit Eiweiß im QST	0,25 %	0,50 %	1,00 %	1,50 %	2,00 %
Weibull log					
Best-fit values					
a	22,21	7,983	0,5753	0,1081	2,206e-08
n	0,5742	0,6387	0,2966	0,2155	0,06118
Std. Error					
a	3,193	1,560	0,5663	0,1690	4,235e-07
n	0,09427	0,06869	0,06984	0,05877	0,05309
95% Vertrauens-Intervall					
a	14,40 bis 30,02	4,166 bis 11,80	-0,8105 bis 1,961	-0,3053 bis 0,5216	-1,0668e-06 bis 1,1109e-06
n	0,3435 bis 0,8049	0,4706 bis 0,8068	0,1257 bis 0,4675	0,07166 bis 0,3593	-0,07532 bis 0,1977
Anpassungsgüte					
Freiheitsgrade	6	6	6	6	5
R ²	0,9537	0,9809	0,9299	0,9291	0,9272
Absolute Sum of Squares	0,1452	0,2621	1,081	0,9959	0,8716
Sy.x	0,1556	0,2090	0,4245	0,4074	0,4175
Daten					
X-Werte	4	4	4	4	4
Werte pro X-Wert	2	2	2	2	2
Werte insgesamt	8	8	8	8	7
fehlende Werte	0	0	0	0	1

Tabelle 9.41: Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (QST) des Stammes DSM 4313 bei 10 °C und im belasteten Bereich

DSM 4313 bei 10°C, mit Eiweiß im QST	0,25 %	0,50 %	1,00 %	1,50 %	2,00 %
Weibull log					
Best-fit values					
a	1475	516,7	465,3	69,41	35,63
n	0,4538	0,5361	0,3908	0,5440	0,7331
Std. Error					
a	5046	457,8	518,4	23,64	5,313
n	0,4263	0,1868	0,1685	0,2544	0,2081
95% Vertrauens-Intervall					
a	-10870 bis 13821	-603,6 bis 1637	-803,2 bis 1734	11,55 bis 127,3	22,63 bis 48,63
n	-0,5893 bis 1,497	0,07889 bis 0,9932	-0,02156 bis 0,8032	-0,07856 bis 1,167	0,2240 bis 1,242
Anpassungsgüte					
Freiheitsgrade	6	6	6	6	6
R ²	-0,2816	0,7853	0,8133	0,7618	0,8945
Absolute Sum of Squares	0,07885	0,02062	0,05708	0,3193	0,2940
Sy.x	0,1146	0,05862	0,09754	0,2307	0,2214
Daten					
X-Werte	4	4	4	4	4
Werte pro X-Wert	2	2	2	2	2
Werte insgesamt	8	8	8	8	8
fehlende Werte	0	0	0	0	0

Tabelle 9.42: Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (QST) des Stammes DSM 4313 bei 15 °C und im belasteten Bereich

DSM 4313 bei 15°C, mit Eiweiß im QST	0,25 %	0,50 %	1,00 %	1,50 %	2,00 %
Weibull log					
Best-fit values					
a	3,7338e+12	361,8	60,31	30,97	21,57
n	0,05134	0,4170	0,7643	0,8108	0,9682
Std. Error					
a	2,0407e+14	215,0	4,472	2,737	2,993
n	0,1087	0,1072	0,1193	0,1178	0,1448
95% Vertrauens-Intervall					
a	-4,956e+14 bis 5,0310e+14	-164,3 bis 887,9	49,37 bis 71,26	24,28 bis 37,67	14,25 bis 28,90
n	-0,2145 bis 0,3172	0,1547 bis 0,6793	0,4724 bis 1,056	0,5226 bis 1,099	0,6138 bis 1,323
Anpassungsgüte					
Freiheitsgrade	6	6	6	6	6
R ²	0,7431	0,8907	0,9619	0,9691	0,9701
Absolute Sum of Squares	0,03080	0,02326	0,04087	0,1031	0,2624
Sy.x	0,07164	0,06226	0,08253	0,1311	0,2091
Daten					
X-Werte	4	4	4	4	4
Werte pro X-Wert	2	2	2	2	2
Werte insgesamt	8	8	8	8	8
fehlende Werte	0	0	0	0	0

Tabelle 9.43: Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (QST) des Stammes DSM 4313 bei 20 °C und im belasteten Bereich

DSM 4313 bei 20°C, mit Eiweiß im QST	0,25 %	0,50 %	1,00 %	1,50 %	2,00 %
Weibull log					
Best-fit values					
a	501,0	81,56	19,33	10,90	5,123
n	0,3986	0,6414	0,6324	0,7527	0,5725
Std. Error					
a	603,2	14,41	2,116	1,276	1,624
n	0,1814	0,1502	0,06965	0,05704	0,08164
95% Vertrauens-Intervall					
a	-975 bis 1977	46,29 bis 116,8	14,15 bis 24,51	7,776 bis 14,02	1,148 bis 9,098
n	-0,04532 bis 0,8426	0,2738 bis 1,009	0,4620 bis 0,8028	0,6131 bis 0,8923	0,3727 bis 0,7722
Anpassungsgüte					
Freiheitsgrade	6	6	6	6	6
R ²	0,8092	0,9344	0,9836	0,9919	0,9712
Absolute Sum of Squares	0,05871	0,06371	0,08759	0,1267	0,5852
Sy.x	0,09892	0,1030	0,1208	0,1453	0,3123
Daten					
X-Werte	4	4	4	4	4
Werte pro X-Wert	2	2	2	2	2
Werte insgesamt	8	8	8	8	8
fehlende Werte	0	0	0	0	0

Tabelle 9.44: Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (QST) des Stammes DSM 4384 bei 10 °C und im belasteten Bereich

DSM 4384 bei 10°C, mit Eiweiß im QST	0,25 %	0,50 %	1,00 %	1,50 %	2,00 %
Weibull log					
Best-fit values					
a	33,88	7,443	1,437	0,04663	4,7306e-07
n	0,2929	0,4409	0,3251	0,1686	0,06337
Std. Error					
a	10,53	5,534	1,073	0,1464	1,0504e-05
n	0,1149	0,1810	0,07334	0,08153	0,07277
95% Vertrauens-Intervall					
a	8,123 bis 59,64	-6,099 bis 20,98	-1,189 bis 4,063	-0,3117 bis 0,4050	-2,5230e-05 bis 2,6176e-05
n	0,01162 bis 0,5742	-0,001969 bis 0,8837	0,1456 bis 0,5046	-0,03088 bis 0,3681	-0,1147 bis 0,2414
Anpassungsgüte					
Freiheitsgrade	6	6	6	6	6
R ²	0,8338	0,7852	0,9298	0,7998	0,7799
Absolute Sum of Squares	0,2636	1,714	0,7719	1,665	1,812
Sy.x	0,2096	0,5345	0,3587	0,5267	0,5496
Daten					
X-Werte	4	4	4	4	4
Werte pro X-Wert	2	2	2	2	2
Werte insgesamt	8	8	8	8	8
fehlende Werte	0	0	0	0	0

Tabelle 9.45: Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (QST) des Stammes DSM 4384 bei 15 °C und im belasteten Bereich

DSM 4384 bei 15°C, mit Eiweiß im QST	0,25 %	0,50 %	1,00 %	1,50 % u. 2,00 %
Weibull log				konvergiert nicht
Best-fit values				
a	10,98	0,8601	1,1156e-06	
n	0,4525	0,2940	0,06722	
Std. Error				
a	2,507	0,7469	1,1583e-05	
n	0,07081	0,06748	0,03947	
95% Vertrauens-Intervall				
a	4,850 bis 17,12	-0,9677 bis 2,688	-2,7229e-05 bis 2,9460e-05	
n	0,2793 bis 0,6258	0,1289 bis 0,4591	-0,02936 bis 0,1638	
Anpassungsgüte				
Freiheitsgrade	6	6	6	
R ²	0,9588	0,9365	0,9495	
Absolute Sum of Squares	0,1858	0,7853	0,5416	
Sy.x	0,1760	0,3618	0,3004	
Daten				
X-Werte	4	4	4	
Werte pro X-Wert	2	2	2	
Werte insgesamt	8	8	8	
fehlende Werte	0	0	0	

Tabelle 9.46: Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (QST) des Stammes DSM 4384 bei 20 °C und im belasteten Bereich

DSM 4384 bei 20°C, mit Eiweiß im QST	0,25 %	0,50 %	1,00 %	1,50 %	2,00 %
Weibull log					konvergiert nicht
Best-fit values					
a	4,811	0,5759	0,007054	0,001027	
n	0,3572	0,2431	0,1485	0,1218	
Std. Error					
a	6,592	1,272	0,03467	0,007961	
n	0,2251	0,1303	0,08753	0,09252	
95% Vertrauens-Intervall					
a	-11,32 bis 20,94	-2,536 bis 3,688	-0,07777 bis 0,09188	-0,01845 bis 0,02051	
n	-0,1936 bis 0,9081	-0,07584 bis 0,5620	-0,06571 bis 0,3627	-0,1046 bis 0,3482	
Anpassungsgüte					
Freiheitsgrade	6	6	6	6	
R²	0,6178	0,7397	0,8154	0,7265	
Absolute Sum of Squares	3,465	2,784	2,706	3,275	
Sy.x	0,7599	0,6812	0,6716	0,7388	
Daten					
X-Werte	4	4	4	4	
Werte pro X-Wert	2	2	2	2	
Werte insgesamt	8	8	8	8	
fehlende Werte	0	0	0	0	

Für den Stamm DSM 4383 und 20 °C haben sich nicht genügend Werte ergeben, um eine Auswertung durchzuführen. Dies lag daran, dass dieser Stamm sehr sensibel war und sich daher oft nicht im auswertbaren Bereich der Testarten darstellte.

9.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 2.1:	Vorkommen von <i>B. cereus</i> in Lebensmitteln.....	7
Tabelle 2.2:	Lebensmittelintoxikationen durch <i>B. cereus</i> , <i>C. perfringens</i> und <i>S. aureus</i> : Vergleich klinischer und epidemiologischer Daten, modifiziert nach KRAMER und GILBERT (1989).....	8
Tabelle 2.3:	<i>B. cereus</i> -assoziierte Intoxikationen des Menschen	11
Tabelle 2.4 :	Auszug aus den Prozesshygienekriterien im Bereich Milch und Milcherzeugnisse (ANONYM 2007)	16
Tabelle 2.5 :	Richt- und Warnwerte von <i>B. cereus</i> in diversen Produktgruppen (DGHM 2007)	17
Tabelle 2.6:	Wirkungsspektrum chemischer Desinfektionsmittel, modifiziert nach KRAMER et al. (2008)	20
Tabelle 2.7:	Eiweißfehler ausgewählter Desinfektionswirkstoffe gegen vegetative Formen von Mikroorganismen	21
Tabelle 2.8:	Eiweißfehler ausgewählter Desinfektionswirkstoffe gegen Sporen von <i>Bacillus anthracis</i>	22
Tabelle 2.9:	Materialverträglichkeiten der verschiedenen chemischen Desinfektionsmittel-Wirkstoffe nach SCHLIESSER (1981)	24
Tabelle 2.10:	Resistenzen gegenüber Desinfektionsmittelwirkstoffe	35
Tabelle 2.11:	Bereits existierende Euro Normen zur Prüfung chemischer Desinfektionsmittel für den Bereich Lebensmittel, Industrie, Haushalt und öffentliche Einrichtungen.....	37
Tabelle 2.12:	Prozentuale Anteile einzelner Wirkstoffe innerhalb der sechsten Desinfektionsmittelliste der DVG im Lebensmittelbereich (DVG 2003).....	38
Tabelle 3.1:	<i>B. cereus</i> -Stämme mit ihrem Ursprung und Eigenschaften	40
Tabelle 4.1:	Ergebnisse des Verdünnungstests mit PES 15/23 (MHK angegeben in Vol. %)	59
Tabelle 4.2:	<i>B. cereus</i> DSM 318 im qualitativen Suspensionstest bei 10 °C	61
Tabelle 4.3:	<i>B. cereus</i> DSM 318 im qualitativen Suspensionstest bei 15 °C	61
Tabelle 4.4:	<i>B. cereus</i> DSM 318 im qualitativen Suspensionstest bei 20 °C	61
Tabelle 4.5:	Anzahl wirksamer Probenansätze von <i>B. cereus</i> DSM 318 bei den verschiedenen Temperaturen (mit und ohne Proteinbelastung)	62
Tabelle 4.6:	<i>B. cereus</i> DSM 4312 im qualitativen Suspensionstest bei 10 °C ...	63
Tabelle 4.7:	<i>B. cereus</i> DSM 4312 im qualitativen Suspensionstest bei 15 °C ...	63
Tabelle 4.8:	<i>B. cereus</i> DSM 4312 im qualitativen Suspensionstest bei 20 °C ...	63
Tabelle 4.9:	Anzahl wirksamer Probenansätze von <i>B. cereus</i> DSM 4312 bei den verschiedenen Temperaturen (mit und ohne Proteinbelastung)	64
Tabelle 4.10:	Anzahl wirksamer Probenansätze von <i>B. cereus</i> DSM 4313 bei den verschiedenen Temperaturen (mit und ohne Proteinbelastung)	65
Tabelle 4.11:	<i>B. cereus</i> DSM 4313 im qualitativen Suspensionstest bei 10 °C ...	66
Tabelle 4.12:	<i>B. cereus</i> DSM 4313 im qualitativen Suspensionstest bei 15 °C ...	66
Tabelle 4.13:	<i>B. cereus</i> DSM 4313 im qualitativen Suspensionstest bei 20 °C ...	66
Tabelle 4.14:	Anzahl wirksamer Probenansätze von <i>B. cereus</i> DSM 4384 bei den verschiedenen Temperaturen (mit und ohne Proteinbelastung)	67
Tabelle 4.15:	<i>B. cereus</i> DSM 4384 im qualitativen Suspensionstest bei 10 °C ...	68
Tabelle 4.16:	<i>B. cereus</i> DSM 4384 im qualitativen Suspensionstest bei 15 °C ...	68
Tabelle 4.17:	<i>B. cereus</i> DSM 4384 im qualitativen Suspensionstest bei 20 °C ...	68
Tabelle 4.18:	Standardabweichungen zwischen den Doppelansätzen mit identischen Prüffaktoren, gemittelt über die Testarten und Keime. 70	

Tabelle 4.19:	Ergebnisse des quantitativen Suspensionstests (QST) und Verdünnungs-Neutralisationstest (VNT) von <i>B. cereus</i> DSM 318 bei 10 °C, Daten dargestellt als $-\log_{10} (N_t/N_0)$ 72	72
Tabelle 4.20:	Ergebnisse des quantitativen Suspensionstests (QST) und Verdünnungs-Neutralisationstests (VNT) von <i>B. cereus</i> DSM 318 bei 15 °C, Daten dargestellt als $-\log_{10} (N_t/N_0)$ 73	73
Tabelle 4.21:	Inaktivierungskinetik von <i>B. cereus</i> DSM 318 bei 20 °C im quantitativen Suspensionstest (QST) und Verdünnungs-Neutralisationstest (VNT), Daten dargestellt als $-\log_{10} (N_t/N_0)$ 73	73
Tabelle 4.22:	Ergebnisse des quantitativen Suspensionstests (QST) und Verdünnungs-Neutralisationstest (VNT) von <i>B. cereus</i> DSM 4312 bei 10 °C, Daten dargestellt als $-\log_{10} (N_t/N_0)$ 74	74
Tabelle 4.23:	Ergebnisse des quantitativen Suspensionstests (QST) und Verdünnungs-Neutralisationstest (VNT) von <i>B. cereus</i> DSM 4312 bei 15 °C, Daten dargestellt als $-\log_{10} (N_t/N_0)$ 75	75
Tabelle 4.24:	Ergebnisse des quantitativen Suspensionstests (QST) und Verdünnungs-Neutralisationstest (VNT) von <i>B. cereus</i> DSM 4312 bei 20 °C, Daten dargestellt als $-\log_{10} (N_t/N_0)$ 75	75
Tabelle 4.25:	Ergebnisse des quantitativen Suspensionstests (QST) und Verdünnungs-Neutralisationstest (VNT) von <i>B. cereus</i> DSM 4313 bei 10 °C, Daten dargestellt als $-\log_{10} (N_t/N_0)$ 78	78
Tabelle 4.26:	Ergebnisse des quantitativen Suspensionstests (QST) und Verdünnungs-Neutralisationstest (VNT) von <i>B. cereus</i> DSM 4313 bei 15 °C, Daten dargestellt als $-\log_{10} (N_t/N_0)$ 78	78
Tabelle 4.27:	Ergebnisse des quantitativen Suspensionstests (QST) und Verdünnungs-Neutralisationstest (VNT) von <i>B. cereus</i> DSM 4313 bei 20 °C, Daten dargestellt als $-\log_{10} (N_t/N_0)$ 79	79
Tabelle 4.28:	Ergebnisse des quantitativen Suspensionstests (QST) und Verdünnungs-Neutralisationstest (VNT) von <i>B. cereus</i> DSM 4384 bei 10 °C, Daten dargestellt als $-\log_{10} (N_t/N_0)$ 80	80
Tabelle 4.29:	Ergebnisse des quantitativen Suspensionstests (QST) und Verdünnungs-Neutralisationstest (VNT) von <i>B. cereus</i> DSM 4384 bei 15 °C, Daten dargestellt als $-\log_{10} (N_t/N_0)$ 81	81
Tabelle 4.30:	Ergebnisse des quantitativen Suspensionstests (QST) und Verdünnungs-Neutralisationstest (VNT) von <i>B. cereus</i> DSM 4384 bei 20 °C, Daten dargestellt als $-\log_{10} (N_t/N_0)$ 81	81
Tabelle 4.31:	Kinetik Parameter der <i>B. cereus</i> -Stämme im QST, bei 20 °C und 0,5 % PES 15/23, ohne Proteinbelastung 84	84
Tabelle 4.32:	Weibull Parameter „a“ und „n“ für den quantitativen Suspensionstest, ohne Proteinbelastung 85	85
Tabelle 4.33:	Weibull Parameter „a“ und „n“ für den quantitativen Suspensionstest, mit Proteinbelastung 85	85
Tabelle 4.34:	Kinetik Parameter „a“ der <i>B. cereus</i> -Stämme im VNT, bei 15 °C und 1,0 % PES 15/23, ohne Proteinbelastung 89	89
Tabelle 4.35:	Weibull Parameter „a“, „n“, R^2 und $Sy.x$ für den Verdünnungs-Neutralisationstest, mit und ohne Proteinbelastung 90	90
Tabelle 5.1:	Konzentrations-Zeit-Kombinationen, die bei den verschiedenen Temperaturen Sporizidie aufwiesen 106	106
Tabelle 9.1:	Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (VNT) des Stammes DSM 318 bei 10 °C und im unbelasteten Bereich 117	117

Tabelle 9.2:	Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (VNT) des Stammes DSM 318 bei 15 °C und im unbelasteten Bereich	118
Tabelle 9.3:	Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (VNT) des Stammes DSM 318 bei 20 °C und im unbelasteten Bereich	118
Tabelle 9.4:	Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (VNT) des Stammes DSM 4312 bei 10 °C und im unbelasteten Bereich	119
Tabelle 9.5:	Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (VNT) des Stammes DSM 4312 bei 15 °C und im unbelasteten Bereich	119
Tabelle 9.6:	Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (VNT) des Stammes DSM 4312 bei 20 °C und im unbelasteten Bereich	120
Tabelle 9.7:	Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (VNT) des Stammes DSM 4313 bei 10 °C und im unbelasteten Bereich	120
Tabelle 9.8:	Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (VNT) des Stammes DSM 4313 bei 15 °C und im unbelasteten Bereich	121
Tabelle 9.9:	Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (VNT) des Stammes DSM 4313 bei 20 °C und im unbelasteten Bereich	121
Tabelle 9.10:	Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (VNT) des Stammes DSM 4384 bei 10 °C und im unbelasteten Bereich	122
Tabelle 9.11:	Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (VNT) des Stammes DSM 4384 bei 15 °C und im unbelasteten Bereich	122
Tabelle 9.12:	Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (VNT) des Stammes DSM 318 bei 10 °C und im belasteten Bereich	123
Tabelle 9.13:	Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (VNT) des Stammes DSM 318 bei 15 °C und im belasteten Bereich	124
Tabelle 9.14:	Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (VNT) des Stammes DSM 318 bei 20 °C und im belasteten Bereich	124
Tabelle 9.15:	Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (VNT) des Stammes DSM 4312 bei 10 °C und im belasteten Bereich	125
Tabelle 9.16:	Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (VNT) des Stammes DSM 4312 bei 15 °C und im belasteten Bereich	125
Tabelle 9.17:	Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (VNT) des Stammes DSM 4312 bei 20 °C und im belasteten Bereich	126
Tabelle 9.18:	Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (VNT) des Stammes DSM 4313 bei 10 °C und im belasteten Bereich	126

Tabelle 9.19:	Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (VNT) des Stammes DSM 4313 bei 15 °C und im belasteten Bereich	127
Tabelle 9.20:	Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (VNT) des Stammes DSM 4313 bei 20 °C und im belasteten Bereich	127
Tabelle 9.21:	Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (VNT) des Stammes DSM 4384 bei 10 °C und im belasteten Bereich	128
Tabelle 9.22:	Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (VNT) des Stammes DSM 4384 bei 15 °C und im belasteten Bereich	128
Tabelle 9.23:	Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (QST) des Stammes DSM 318 bei 10 °C und im unbelasteten Bereich	130
Tabelle 9.24:	Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (QST) des Stammes DSM 318 bei 15 °C und im unbelasteten Bereich	131
Tabelle 9.25:	Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (QST) des Stammes DSM 318 bei 20 °C und im unbelasteten Bereich	131
Tabelle 9.26:	Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (QST) des Stammes DSM 4312 bei 10 °C und im unbelasteten Bereich	132
Tabelle 9.27:	Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (QST) des Stammes DSM 4312 bei 15 °C und im unbelasteten Bereich	132
Tabelle 9.28:	Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (QST) des Stammes DSM 4312 bei 20 °C und im unbelasteten Bereich	133
Tabelle 9.29:	Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (QST) des Stammes DSM 4313 bei 10 °C und im unbelasteten Bereich	133
Tabelle 9.30:	Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (QST) des Stammes DSM 4313 bei 15 °C und im unbelasteten Bereich	134
Tabelle 9.31:	Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (QST) des Stammes DSM 4313 bei 20 °C und im unbelasteten Bereich	134
Tabelle 9.32:	Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (QST) des Stammes DSM 4384 bei 10 °C und im unbelasteten Bereich	135
Tabelle 9.33:	Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (QST) des Stammes DSM 4384 bei 15 °C und im unbelasteten Bereich	135
Tabelle 9.34:	Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (QST) des Stammes DSM 4384 bei 20 °C und im unbelasteten Bereich	136
Tabelle 9.35:	Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (QST) des Stammes DSM 318 bei 10 °C und im belasteten Bereich	137

Tabelle 9.36:	Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (QST) des Stammes DSM 318 bei 15 °C und im belasteten Bereich	138
Tabelle 9.37:	Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (QST) des Stammes DSM 318 bei 20 °C und im belasteten Bereich	138
Tabelle 9.38:	Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (QST) des Stammes DSM 4312 bei 10 °C und im belasteten Bereich	139
Tabelle 9.39:	Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (QST) des Stammes DSM 4312 bei 15 °C und im belasteten Bereich	139
Tabelle 9.40:	Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (QST) des Stammes DSM 4312 bei 20 °C und im belasteten Bereich	140
Tabelle 9.41:	Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (QST) des Stammes DSM 4313 bei 10 °C und im belasteten Bereich	140
Tabelle 9.42:	Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (QST) des Stammes DSM 4313 bei 15 °C und im belasteten Bereich	141
Tabelle 9.43:	Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (QST) des Stammes DSM 4313 bei 20 °C und im belasteten Bereich	141
Tabelle 9.44:	Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (QST) des Stammes DSM 4384 bei 10 °C und im belasteten Bereich	142
Tabelle 9.45:	Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (QST) des Stammes DSM 4384 bei 15 °C und im belasteten Bereich	142
Tabelle 9.46:	Ausführliche Darstellung der mittels Weibull-Verteilung ausgewerteten Daten (QST) des Stammes DSM 4384 bei 20 °C und im belasteten Bereich	143

9.3 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 2.1:	Schematischer Aufbau einer Spore	5
Abbildung 2.2:	Schematische Darstellung von <i>B. cereus</i> Intoxikationen, modifiziert nach DROBNIIEWSKI (1993)	11
Abbildung 2.3:	Kriterien zur Auswahl eines Desinfektionsmittels im Lebensmittelbereich, nach MROZEK (1980)	18
Abbildung 2.4:	Chemische Struktur des Ethanols.....	26
Abbildung 2.5:	Chemische Struktur des Formaldehyds.....	27
Abbildung 2.6:	Chemische Struktur von Wasserstoffperoxid	29
Abbildung 2.7:	Gleichung der Inhaltsstoffe des Peressigsäurepräparates.....	30
Abbildung 2.8:	Auflistung von Mikroorganismen geordnet nach ihrer Sensibilität gegenüber Bioziden, modifiziert nach RUSSELL et al. (1997).....	33
Abbildung 3.1:	Durchführung des Verdünnungstest (schematische Darstellung) ..	45
Abbildung 3.2:	Durchführung des qualitativen Suspensionstests	47
Abbildung 3.3:	Durchführung des quantitativen Suspensionstests	49
Abbildung 3.4:	Durchführung des Verdünnungs-Neutralisationstests.....	51
Abbildung 3.5:	Validierungskontrollen A, B und C des Verdünnungs-Neutralisationstests	53
Abbildung 4.1:	Absterbekinetik-Kurven der vier verschiedenen <i>B. cereus</i> -Stämme bei 10 °C, 1,0 % PES 15/23 und mit Proteinbelastung (QST).....	86
Abbildung 4.2:	Absterbekinetik-Kurven der vier verschiedenen <i>B. cereus</i> -Stämme bei 15 °C, 1,0 % PES 15/23 und mit Proteinbelastung (QST).....	87
Abbildung 4.3:	Absterbekinetik-Kurven der vier verschiedenen <i>B. cereus</i> -Stämme bei 10 °C, 1,0 % PES 15/23 und ohne Proteinbelastung (QST)	87
Abbildung 4.4:	Absterbekinetik-Kurven der vier verschiedenen <i>B. cereus</i> -Stämme bei 15 °C, 1,0 % PES 15/23 und ohne Proteinbelastung (VNT).....	92
Abbildung 4.5:	Absterbekinetik-Kurven der vier verschiedenen <i>B. cereus</i> -Stämme bei 10 °C, 1,0 % PES 15/23 und ohne Proteinbelastung (VNT).....	92
Abbildung 4.6:	Absterbekinetik-Kurven der vier verschiedenen <i>B. cereus</i> -Stämme bei 10 °C, 1,0 % PES 15/23 und mit Proteinbelastung (VNT).....	93
Abbildung 4.7:	„Response surface“ des Stammes DSM 4312 gegenüber PES 15/23 im quantitativen Suspensionstest, mit Proteinbelastung	94
Abbildung 4.8:	„Response surface“ des Stammes DSM 4312 gegenüber PES 15/23 im quantitativen Suspensionstest, ohne Proteinbelastung.....	94
Abbildung 4.9:	„Response surface“ des Stammes DSM 4313 gegenüber PES 15/23 im quantitativen Suspensionstest, mit Proteinbelastung	95
Abbildung 4.10:	„Response surface“ des Stammes DSM 4313 gegenüber PES 15/23 im quantitativen Suspensionstest, ohne Proteinbelastung.....	95
Abbildung 4.11:	„Response surface“ des Stammes DSM 4312 gegenüber PES 15/23 im Verdünnungs-Neutralisationstest, mit Proteinbelastung.....	96
Abbildung 4.12:	„Response surface“ des Stammes DSM 4312 gegenüber PES 15/23 im Verdünnungs-Neutralisationstest, ohne Proteinbelastung	96
Abbildung 4.13:	„Response surface“ des Stammes DSM 4313 gegenüber PES 15/23 im Verdünnungs-Neutralisationstest, mit Proteinbelastung.....	97
Abbildung 4.14:	„Response surface“ des Stammes DSM 4313 gegenüber PES 15/23 im Verdünnungs-Neutralisationstest, ohne Proteinbelastung	97

9.4 Abkürzungsverzeichnis

A. dest.	Aqua dest illata
ATCC	A merican T ype C ulture C ollection
°C	Grad C elsius
<i>B. cereus</i>	Bacillus cereus
CaSo-Agar	C aseinpepton S ojamehlpepton A gar
CaSo-Bouillon	C aseinpepton S ojamehlpepton B ouillon
CIP	C ollection de l'Institut P asteur
DFG	D eutsche F orschungsgemeinschaft
DGHM	D eutsche G esellschaft für H ygiene und M ikrobiologie
DIN	D eutsches Institut für N ormung
DLG	D eutsche L andwirtschafts G esellschaft
DSMZ	D eutsche S ammlung von M ikroorganismen und Z ellkulturen
DVG	D eutsche V eterinärmedizinische G esellschaft e. V.
EN	E uropäische N orm
EPS	E xopolysacchariden
et al.	et alii (und andere)
FDA	F ood and D rug A dministration
GKZ	G esamtkeimzahl
HBL	H ämolysin BL
h	hour (Stunde)
IHO	I ndustrieverband für H ygiene und O berflächenschutz
KbE	K oloniebildende E inheiten
kDa	K ilo D alton
LFGB	L ebensmittel-, B edarfsgegenstände- und F uttermittelgesetzbuch
log	Dekadischer L ogarithmus
MAK	M aximale A rbeitsplatzkonzentration
MHK	M inimale H emmkonzentration
n.n.	nicht n achweisbar
NHE	nicht h ämolysierender E nterotoxinkomplex
PVP-Jod	P olyvinylpyrrolidon- J od
QST	Q uantitativer S uspensionstest
RKI	R obert K och Institut
RS	R inderserum
spp.	S pezies
TSB	T rypton S oya B roth
VAH	V erbund für a ngewandte H ygiene e. V.

VNT	Verdünnungs Neutralisations Test
WSH	Wasser standardisierter Härte

10 Literaturverzeichnis

- AGATA, N., M. OHTA, M. MORI u. M. ISOBE (1995):
A novel dodecadepsipeptide, cereulide, is an emetic toxin of *Bacillus cereus*.
FEMS Microbiol. Lett. 129 (1), 17-19
- AHMED, A. A. H., M. K. MOUSTAFA u. E. H. MARTH (1983):
Incidence of *Bacillus cereus* in milk and some milk products.
J. Food Prot. 46 (2), 126-128
- AIRES, G. S. B., E. H. M. WALTER, V. JUNQUEIRA, C. A. RIA, S. M. ROIG, J. FARIA u. A.F (2009):
Bacillus cereus in refrigerated milk submitted to different heat treatments.
J. Food Prot. 72, 1301-1305
- ANDERSON BORGE, G. I., M. SKEIE, T. SORHAUG, T. LANGSRUD u. P. E. GRANUM (2001):
Growth and toxin profiles of *Bacillus cereus* isolated from different food sources.
Int. J. Food Microbiol. 69 (3), 237-246
- ANDERSSON, A., U. RONNER u. P. E. GRANUM (1995):
What problems does the food industry have with the spore-forming pathogens *Bacillus cereus* and *Clostridium perfringens*?
Int. J. Food Microbiol. 28 (2), 145-155
- ANDERSSON, M. A., P. HAKULINEN, U. HONKALAMPI-HAMALAINEN, D. HOORNSTRA, J.-C. LHUGUENOT, J. MAKI-PAKKANEN, M. SAVOLAINEN, I. SEVERIN, A.-L. STAMMATI, L. TURCO, A. WEBER, A. VON WRIGHT, F. ZUCCO u. M. SALKINOJA-SALONEN (2007):
Toxicological profile of cereulide, the *Bacillus cereus* emetic toxin, in functional assays with human, animal and bacterial cells.
Toxicol 49 (3), 351-367
- ANONYM (2000):
Gesetz zur Verhütung und Bekämpfung von Infektionskrankheiten beim Menschen (Infektionsschutzgesetz - IfSG).
BGBl. I S. 1045, zuletzt geändert durch Artikel 16 des Gesetzes vom 17.12.2008 (BGBl. I S. 2586)
- ANONYM (2002):
Verordnung (EG) Nr. 178/2002 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 28. Januar 2002 zur Festlegung der allgemeinen Grundsätze und Anforderungen des Lebensmittelrechts, zur Errichtung der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit und zur Festlegung von Verfahren zur Lebensmittelsicherheit.
Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften, L 31/1
- ANONYM (2003):
Richtlinie 2003/99/EG des europäischen Parlaments und des Rates vom 17. November 2003 zur Überwachung von Zoonosen und Zoonoseerregern.

ANONYM (2005a):

Allgemeine Verwaltungsvorschrift zur Änderung der Verwaltungsvorschrift wassergefährdende Stoffe.
Bundesanzeiger Nr. 142a

ANONYM (2005b):

Verordnung (EG) Nr. 2073/2005 der Kommission vom 15. November 2005 über mikrobiologische Kriterien für Lebensmittel.
Amtsblatt der Europäischen Union, L 338/1

ANONYM (2007):

Verordnung (EG) Nr. 1441/2007 der Kommission vom 5. Dezember 2007 zur Änderung der Verordnung (EG) 2073/2005 über mikrobiologische Kriterien für Lebensmittel.
Amtsblatt der Europäischen Union, L 322/12

APETROAIE-CONSTANTIN, C., R. SHAHEEN, L. ANDRUP, L. SMIDT, H. RITA u. M. SALKINOJA-SALONEN (2008):

Environment driven cereulide production by emetic strains of *Bacillus cereus*.
Int. J. Food Microbiol. 127 (1-2), 60-67

ARNESEN, L. P. S., K. O'SULLIVAN u. P. E. GRANUM (2007):

Food poisoning potential of *Bacillus cereus* strains from norwegian dairies.
Int. J. Food Microbiol. 116 (2), 292-296

ASH, C., J. A. FARROW, M. DORSCH, E. STACKEBRANDT u. M. D. COLLINS (1991):

Comparative analysis of *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, and related species on the basis of reverse transcriptase sequencing of 16S rRNA.
Int. J. Syst. Bacteriol. 41 (3), 343-346

BANERJEE, M. u. P. K. SARKAR (2004):

Growth and enterotoxin production by sporeforming bacterial pathogens from spices.
Food Control 15 (6), 491-496

BAUMANN, L., K. OKAMOTO, B. M. UNTERMAN, M. J. LYNCH u. P. BAUMANN (1984):

Phenotypic characterization of *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus cereus*.
J. Invertebrate Pathol. 44 (3), 329-341

BEAN, N. H. u. P. M. GRIFFIN (1990):

Foodborne disease outbreaks in the United-States, 1973-1987 - Pathogens, Vehicles, and Trends.
J. Food Prot. 53 (9), 804-817

BECKER, H., T. A. EL-BASSIONY u. G. TERPLAN (1984):

Incidence of *Bacillus cereus* and various pathogenic microorganisms in food for infants and small children.
Zentralbl. Bakteriol. Mikrobiol. Hyg. B 179 (3), 198-216

- BECKER, H., G. SCHALLER, W. VON WIESE u. G. TERPLAN (1994):
Bacillus cereus in infant foods and dried milk products.
Int. J. Food Microbiol. 23 (1), 1-15
- BEECHER, D. J. u. J. D. MACMILLAN (1990):
A novel bicomponent hemolysin from *Bacillus cereus*.
Infect. Immun. 58 (7), 2220-2227
- BEECHER, D. J. u. A. C. WONG (1994a):
Improved purification and characterization of hemolysin BL, a hemolytic dermonecrotic vascular permeability factor from *Bacillus cereus*.
Infect. Immun. 62 (3), 980-986
- BEECHER, D. J. u. A. C. WONG (1994b):
Identification and analysis of the antigens detected by two commercial *Bacillus cereus* diarrheal enterotoxin immunoassay kits.
Appl. Environ. Microbiol. 60 (12), 4614-4616
- BEECHER, D. J., J. L. SCHOENI u. A. C. WONG (1995):
Enterotoxic activity of hemolysin BL from *Bacillus cereus*.
Infect. Immun. 63 (11), 4423-4428
- BEECHER, D. J. u. A. C. WONG (1997):
Tripartite hemolysin BL from *Bacillus cereus*. Hemolytic analysis of component interactions and a model for its characteristic paradoxical zone phenomenon.
J. Biol. Chem. 272 (1), 233-239
- BEECHER, D. J. u. A. C. WONG (2000):
Tripartite haemolysin BL: isolation and characterization of two distinct homologous sets of components from a single *Bacillus cereus* isolate.
Microbiol. 146 (Pt 6), 1371-1380
- BESSEMS, E. (1998):
The effect of practical conditions on the efficacy of disinfectants.
Int. Biodeterioration & Biodegradation 41 (3-4), 177-183
- BFR (2008):
Warmhaltetemperatur von Speisen sollte über 65°C betragen.
Stellungnahme Nr. 008/2008 des Bundesinstitut für Risikobewertung vom 14. Januar 2008
- BLACK, G. E., A. P. SNYDER u. K. S. HEROUX (1997):
Chemotaxonomic differentiation between the *Bacillus cereus* group and *Bacillus subtilis* by phospholipid extracts analyzed with electrospray ionization tandem mass spectrometry.
J. Microbiol. Methods 28 (3), 187-199
- BLAKISTONE, B., R. CHUYATE, D. KAUTTER, J. CHARBONNEAU u. K. SUIT (1999):
Efficacy of oxonia active against selected spore formers.
J. Food Prot. 62 (3), 262-267

- BLOOMFIELD, S. F. u. M. ARTHUR (1994):
Mechanisms of inactivation and resistance of spores to chemical biocides.
Soc. Appl. Bacteriol. symp. ser. 76, 91S-104S
- BODE, R. (1981):
Darstellung der Desinfektionsmittelprüfungen in Deutschland.
Hyg. Med. 6, 328-330 + 350-355
- BOTZENHART, K. u. R. JAAX (1985):
Inactivation rates of *Bacillus* spores during exposure to peracetic acid.
Zentralbl. Bakteriolog. Mikrobiol. Hyg. B 181 (1-2), 139-150
- BOYD, M. J., M. A. LOGAN u. A. A. TYTELL (1948):
The growth requirements of *Clostridium perfringens* (welchii) BP6K.
J. Biol. Chem. 174 (3), 1013-1025
- BRYAN, F. L., C. A. BARTLESON u. N. CHRISTOPHERSON (1981):
Hazard analyses, in reference to *Bacillus cereus*, of boiled and fried rice in
cantonese-style restaurants.
J. Food Prot. 44 (7), 500-512
- BUCK, J., M. SCHÜTZ u. H. U. WIESNER (1992):
Bacillus cereus in wärmebehandelter Schlagsahne.
Arch. Lebensmittelhyg. 43, 41-45
- BURDON, K. L., J. S. DAVIS u. R. D. WENDE (1967):
Experimental infection of mice with *Bacillus cereus* - Studies of pathogenesis and
pathologic changes.
J. Infect. Dis. 117 (4), 307-&
- BVL (2005):
Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB - Untersuchung
von Lebensmitteln.
Beuth Verlag, Berlin, Wien
- CALLEGAN, M. C., B. D. JETT, L. E. HANCOCK u. M. S. GILMORE (1999):
Role of hemolysin BL in the pathogenesis of extraintestinal *Bacillus cereus* infection
assessed in an endophthalmitis model.
Infect. Immun. 67 (7), 3357-3366
- CARLIN, F., M.-H. GUINEBRETIERE, C. CHOMA, R. PASQUALINI, A.
BRACONNIER u. C. NGUYEN-THE (2000):
Spore-forming bacteria in commercial cooked, pasteurised and chilled vegetable
purees.
Food Microbiol. 17 (2), 153-165
- CARLSON, C. R., D. A. CAUGANT u. A. B. KOLSTO (1994):
Genotypic diversity among *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* strains.
Appl. Environ. Microbiol. 60 (6), 1719-1725

CARLSSON, C., A. K. JOHANSSON, G. ALVAN, K. BERGMAN u. T. KUHLER (2006):

Are pharmaceuticals potent environmental pollutants? Part II: environmental risk assessments of selected pharmaceutical excipients.

Sci. Total Environ. 364 (1-3), 88-95

CDC (2000):

Surveillance for Foodborne-Disease Outbreaks -United States, 1993-1997.

Morbidity and Mortality Weekly Report 49, 1-61

CDC (2006):

Surveillance for Foodborne-Disease Outbreaks -United States, 1998-2002.

Morbidity and Mortality Weekly Report 55, 1-34

CHASTAIN, C. B. u. D. L. HARRIS (1974):

Association of *Bacillus cereus* with Food Poisoning in Dogs.

J. Am. Vet. Med. Assoc. 164, 489-490

CHICK, H. u. C. MARTIN (1908):

The principles involved in the standardization of disinfectants and the influence of organic matter upon germicidal value.

J. Hyg. (8), 654-697

CHITOV, T., R. DISPAN u. W. KASINRERK (2008):

Incidence and diarrhegenic potential of *Bacillus cereus* in pasteurized milk and cereal products in Thailand.

J. Food Saf. 28 (4), 467-481

CHRISTIANSSON, A., A. S. NAIDU, I. NILSSON, T. WADSTROM u. H. E. PETTERSSON (1989):

Toxin production by *Bacillus cereus* dairy isolates in milk at low temperatures.

Appl. Environ. Microbiol. 55 (10), 2595-2600

CLARK, F. E. (1937):

The relation of *Bacillus siamensis* and similar pathogenic spore-forming bacteria to *Bacillus cereus*.

J. Bacteriol. 33 (4), 435-443

COONROD, J. D., P. J. LEADLEY u. T. C. EICKHOFF (1971):

Bacillus cereus pneumonia and bacteremia. A case report.

Am. Rev. Respir. Dis. 103 (5), 711-714

COOPER, E. A. (1912):

On the relations of phenol and meta-cresol to proteins; A contribution to our knowledge of the mechanism of disinfection.

Biochem. J. 6 (4), 362-387

CRAVEN, D. E., B. MOODY, M. G. CONNOLLY, N. R. KOLLISCH, K. D. STOTTMEIER u. W. R. MCCABE (1981):

Pseudobacteremia caused by povidone-iodine solution contaminated with *Pseudomonas cepacia*.

N. Engl. J. Med. 305 (11), 621-623

CZERNOMYSY-FUROWICZ, D., A. J. FUROWICZ u. A. PERUZYNSKA (2000):
Bacillus cereus causes of food intoxication in chinchillas.
Med. Wet. 56 (2), 117-120

DAHMS, S. (2003):
Assessment and validation of dose-response relationships in food risk analyses.
Fleischwirtsch. 83 (3), 145-148

DAUER, C. C. u. D. J. DAVIDS (1960):
1959 summary of disease outbreaks.
Publ. Health Rep. 75, 1025-1030

DEBUONO, B. A., J. BRONDUM, J. M. KRAMER, R. J. GILBERT u. S. M. OPAL
(1988):
Plasmid, serotypic, and enterotoxin analysis of *Bacillus cereus* in an outbreak setting.
J. Clin. Microbiol. 26 (8), 1571-1574

DFG (2000):
DFG legt MAK- und BAT-Werte-Liste 2000 vor - Pressemitteilung Nr. 35 - 18. Juni
2000.
Deutsche Forschungsgemeinschaft

DFG (2003):
DFG legt MAK- und BAT-Werte-Liste 2003 vor - Pressemitteilung Nr. 33 - 22. Juli
2003.
Deutsche Forschungsgemeinschaft

DGHM (2007):
Veröffentlichte mikrobiologische Richt- und Warnwerte zur Beurteilung von
Lebensmitteln (Stand 30.11.2007).
Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie

DIERICK, K., E. VAN COILLIE, I. SWIECICKA, G. MEYFROIDT, H. DEVLIEGER, A.
MEULEMANS, G. HOEDEMAEKERS, L. FOURIE, M. HEYNDRIX u. J.
MAHILLON (2005):
Fatal family outbreak of *Bacillus cereus*-associated food poisoning.
J. Clin. Microbiol. 43 (8), 4277-4279

DROBNIEWSKI, F. A. (1993):
Bacillus cereus and related species.
Clin. Microbiol. Rev. 6 (4), 324-338

DRYDEN, M. S. (1987):
Pathogenic role of *Bacillus cereus* in wound infections in the tropics.
J. R. Soc. Med. 80 (8), 480-481

DUC, L. H., T. C. DONG, N. A. LOGAN, A. D. SUTHERLAND, J. TAYLOR u. S. M.
CUTTING (2005):
Cases of emesis associated with bacterial contamination of an infant breakfast cereal
product.
Int. J. Food Microbiol. 102 (2), 245-251

DVG (2000):

Richtlinien für die Prüfung chemischer Desinfektionsmittel.
Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft, Gießen

DVG (2003):

6. Desinfektionsmittelliste der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft (DVG) für den Lebensmittelbereich, zuletzt ergänzt durch 1. Nachtrag zur 6. Desinfektionsmittelliste der DVG für den Lebensmittelbereich im August 2006.
Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft, Gießen

DVG (2007):

Richtlinien für die Prüfung von Desinfektionsverfahren und chemischen Desinfektionsmitteln.
Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft, Gießen

DVG, VAH, BfR u.FLI (2010):

Gemeinsame Stellungnahme zur Bedeutung von Zertifizierung und Listung geeigneter Präparate zur chemischen Desinfektion im Tierhaltungs- und Lebensmittelbereich.
Rundschau Fleischhyg. u. Lebensmittelüberw. 62 (5), 166-167

EFSA (2004):

Opinion of the scientific panel on biological hazards on "*Bacillus cereus* and other *Bacillus* spp in foodstuffs".
EFSA J. 175, 1-49

EFSA (2006):

The Community summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents, antimicrobial resistance and foodborne outbreaks in the European Union in 2005.
EFSA J. 94, 211-226

EFSA (2007):

The Community summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents, antimicrobial resistance and foodborne outbreaks in the European Union in 2006.
EFSA J. 130, 247-266

EFSA (2008):

Assessment of the possible effect of the four antimicrobial treatment substances on the emergence of antimicrobial resistance.
EFSA J. 659, 1-26

EFSA (2009):

The Community summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents, antimicrobial resistance and foodborne outbreaks in the European Union in 2007.
EFSA J. 271, 48-65

EL-SHERBEENY, M. R., M. FAHMI SADDIK, H. EL-SAID ALY u. F. L. BRYAN (1985):

Microbiological profile and storage temperatures of egyptian rice dishes.
J. Food Prot. 48 (1), 39-43

ERBSLÖH, I. (2007):

Vorkommen und Charakterisierung des Toxinbildungsvermögens von *Bacillus cereus*-Isolaten aus ausgewählten Lebensmitteln.

München, Tierärztliche Fakultät der Universität München, Diss.

ERNST, C., J. SCHULENBURG u. G. KLEIN (2001):

Bacillus cereus in food supply facilities of the german federal armed forces - prevalence and importance for foodborne outbreaks, causes and prevention.

Arch. Lebensmittelhyg. 52 (4-5), 80-83

ERNST, C. (2003):

Optimierung von Desinfektionsverfahren in Verpflegungs- und Betreuungseinrichtungen der Bundeswehr im Hinblick auf die *Bacillus cereus*-Belastung von Oberflächen und Lebensmitteln.

Berlin, Freie Universität, Diss.

ERNST, C., J. SCHULENBURG, P. JAKOB, S. DAHMS, A. M. LOPEZ, G. NYCHAS, D. WERBER u. G. KLEIN (2006):

Efficacy of amphoteric surfactant- and peracetic acid-based disinfectants on spores of *Bacillus cereus* in vitro and on food premises of the german armed forces.

J. Food Prot. 69 (7), 1605-1610

EUZEBY, J. P. (2009):

LPSN - List of Prokaryotic names with standing in nomenclature.

<http://www.bacterio.cict.fr>

FABBI, M., E. SCANZIANI, M. LUINI u. G. CERVIO (1989):

An outbreak of acute mastitis in dairy cows due to *Bacillus cereus*.

Selez. Vet. 30, 745-753

FAGERLUND, A., O. WEEN, T. LUND, S. P. HARDY u. P. E. GRANUM (2004):

Genetic and functional analysis of the *cytK* family of genes in *Bacillus cereus*.

Microbiol. 150 (Pt 8), 2689-2697

FAGERLUND, A., T. LINDBACK, A. K. STORSET, P. E. GRANUM u. S. P. HARDY (2008):

Bacillus cereus Nhe is a pore-forming toxin with structural and functional properties similar to the ClyA (HlyE, SheA) family of haemolysins, able to induce osmotic lysis in epithelia.

Microbiol. 154 (Pt 3), 693-704

FANG, T. J., C. Y. CHEN u. W. Y. KUO (1999):

Microbiological quality and incidence of *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* in vegetarian food products.

Food Microbiol. 16 (4), 385-391

- FEHLHABER, K., I. HANKE u. G. KRUGER (2001):
Growth behaviour of aerobic spore-forming bacteria isolated from meat products in the upper temperature range.
Arch. Lebensmittelhyg. 52 (1), 4-6
- FERNÁNDEZ, A., J. COLLADO, L. M. CUNHA, M. J. OCIO u. A. MARTINEZ (2002):
Empirical model building based on Weibull distribution to describe the joint effect of pH and temperature on the thermal resistance of *Bacillus cereus* in vegetable substrate.
Int. J. Food Microbiol. 77 (1-2), 147-153
- FITZ-JAMES, P. C. u. I. E. YOUNG (1959):
Comparison of species and varieties of the genus *Bacillus*: Structure and nucleic acid content of spores.
J. Bacteriol. 78 (6), 743-754
- FORSTER, L. I. (2003):
Measurement uncertainty in microbiology.
J. AOAC Int. 86 (5), 1089-1094
- FRANKLAND, G. C. u. P. F. FRANKLAND (1887):
Studies on some new micro-organisms obtained from air.
Phil. Transact. Roy. Soc. Lond. B 178, 257-287
- FREER, P. C. u. F. G. NOVY (1902):
On the formation, decomposition and germicidal action of benzoyl acetyl and diacetyl peroxides.
Am. Chem. J. 27 (3), 161-192
- FRIES, R. (2002):
Reinigung und Desinfektion in der Fleischwirtschaft.
in: D. STRAUCH und R. BÖHM: Reinigung und Desinfektion in der Nutztierhaltung und Veredelungswirtschaft,
Enke Verlag, Stuttgart, S. 243
- FRÖHLICH, T. (1991):
Abszedierende desquamierende *B. cereus*-Dermatitis bei zwei Pferden.
Tierarztl. Umsch. 46, 390-393
- GAREIS, M. u. A. WALZ (1994):
Intoxication in Rottweiler puppies caused by milk powder contaminated with *Bacillus cereus*.
Tierarztl. Umsch. 49 (6), 319-322
- GAULIN, C., Y. B. VIGER u. L. FILLION (2002):
An outbreak of *Bacillus cereus* implicating a part-time banquet caterer.
Can. J. Public Health 93 (5), 353-355
- GEDEK, W. (1986):
Bacillus cereus mastitis in dairy cattle due to contamination of intramammary preparations 1. Characteristics of the isolates.
Tierarztl. Umsch. 41 (8), 526-530

GIACCONE, V., G. COLAVITA, S. TORRIANI, R. M. CIOCCA u. R. AUGELLI (1996): Occurrence of *Bacillus cereus* and other *Bacillus* spp in spices. Arch. Lebensmittelhyg. 47 (2), 47-49

GIANNELLA, R. A. u. L. BRASILE (1979): A hospital food-borne outbreak of diarrhea caused by *Bacillus cereus*: Clinical, epidemiologic, and microbiologic studies. J. Infect. Dis. 139 (3), 366-370

GIBSON, H., R. ELTON, W. PETERS u. J. T. HOLAH (1995): Surface and suspension testing: Conflict or complementary. Int. Biodeterioration & Biodegradation 36 (3-4), 375-384

GILBERT, R. J. u. A. J. TAYLOR (1975): Das Auftreten von *Bacillus cereus*-Lebensmittelvergiftungen in Großbritannien. Arch. Lebensmittelhyg. 26, 38

GIRISCH, M., M. RIES, M. ZENKER, R. CARBON, R. RAUCH u. M. HOFBECK (2003): Intestinal perforations in a premature infant caused by *Bacillus cereus*. Infection 31 (3), 192-193

GLATZ, B. A. u. J. M. GOEPFERT (1973): Extracellular factor synthesized by *Bacillus cereus* which evokes a dermal reaction in guinea pigs. Infect. Immun. 8 (1), 25-29

GLATZ, B. A., W. M. SPIRA u. J. M. GOEPFERT (1974): Alteration of vascular permeability in rabbits by culture filtrates of *Bacillus cereus* and related species. Infect. Immun. 10 (2), 299-303

GOEPFERT, J. M., W. M. SPIRA u. H. U. KIM (1972): *Bacillus cereus* - Food Poisoning Organism - Review. J. Milk Food Technol. 35 (4), 213-&

GRANUM, P. E. (1994): *Bacillus cereus* and its toxins. J. Appl. Bacteriol. Symp. Suppl. 76 (S23), 61S-66S

GRANUM, P. E. u. T. LUND (1997): *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins. FEMS Microbiol. Lett. 157 (2), 223-228

GRANUM, P. E., K. O'SULLIVAN u. T. LUND (1999): The sequence of the non-haemolytic enterotoxin operon from *Bacillus cereus*. FEMS Microbiol. Lett. 177 (2), 225-229

- GRAY, J., R. H. GEORGE, G. M. DURBIN, A. K. EWER, M. D. HOCKING u. M. E. MORGAN (1999):
An outbreak of *Bacillus cereus* respiratory tract infections on a neonatal unit due to contaminated ventilator circuits.
J. Hosp. Infect. 41 (1), 19-22
- GREENSPAN, F. P. u. D. G. MACKELLAR (1951):
The application of peracetic acid germicidal washes to mold control of tomatoes.
Food Technol. 5 (3), 95-97
- GREENWALD, M. J., L. G. WOHL u. C. H. SELL (1986):
Metastatic bacterial endophthalmitis: a contemporary reappraisal.
Surv. Ophthalmol. 31 (2), 81-101
- GUILLOU, S., I. LÉGUERINEL, N. GARREC, M. A. RENARD, J. M. CAPPELIER u. M. FEDERIGHI (2008):
Survival of *Campylobacter jejuni* in mineral bottled water according to difference in mineral content: Application of the Weibull model.
Water Research 42 (8-9), 2213-2219
- GUINEBRETIÈRE, M. H., V. BROUSSOLLE u. C. NGUYEN-THE (2002):
Enterotoxigenic profiles of food-poisoning and food-borne *Bacillus cereus* strains.
J. Clin. Microbiol. 40 (8), 3053-3056
- GUINEBRETIÈRE, M. H., A. FAGERLUND, P. E. GRANUM u. C. NGUYEN-THE (2006):
Rapid discrimination of cytK-1 and cytK-2 genes in *Bacillus cereus* strains by a novel duplex PCR system.
FEMS Microbiol. Lett. 259 (1), 74-80
- GUINEBRETIÈRE, M. H., F. L. THOMPSON, A. SOROKIN, P. NORMAND, P. DAWYNDT, M. EHLING-SCHULZ, B. SVENSSON, V. SANCHIS, C. NGUYEN-THE, M. HEYNDRICKX u. P. DE VOS (2008):
Ecological diversification in the *Bacillus cereus* group.
Environ. Microbiol. 10 (4), 851-865
- HAHN, W. (1981):
Desinfektionsmittel - Wirkungsweise, Wirkungsspektren und toxikologische Aspekte.
Hyg. Med. 6, 458-475
- HAJMEER, M., I. BASHEER u. D. O. CLIVER (2006):
Survival curves of *Listeria monocytogenes* in chorizos modeled with artificial neural networks.
Food Microbiol. 23 (6), 561-570
- HANSEN, B. M. u. N. B. HENDRIKSEN (2001):
Detection of enterotoxigenic *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* strains by PCR analysis.
Appl. Environ. Microbiol. 67 (1), 185-189

- HAQUE, A. u. N. J. RUSSELL (2005):
Phenotypic and genotypic characterisation of *Bacillus cereus* isolates from Bangladeshi rice.
Int. J. Food Microbiol. 98 (1), 23-34
- HARDY, S. P., T. LUND u. P. E. GRANUM (2001):
CytK toxin of *Bacillus cereus* forms pores in planar lipid bilayers and is cytotoxic to intestinal epithelia.
FEMS Microbiol. Lett. 197 (1), 47-51
- HAUGE, S. (1955):
Food poisoning caused by aerobic spore-forming *Bacilli*.
J. Appl. Microbiol. 18 (3), 591-595
- HE, H. Y., L. A. SILOSUH, J. HANDELSMAN u. J. CLARDY (1994):
Zwittermicin-A, an antifungal and plant-protection agent from *Bacillus cereus*.
Tetrahedron Lett. 35 (16), 2499-2502
- HEICKEN, K. (1949):
Über die Wertbestimmung chemischer Desinfektionsmittel zur Wäsche- und Kleiderdesinfektion.
Z. Hyg. 129, 303-331
- HEINRICHS, J. H., D. J. BEECHER, J. D. MACMILLAN u. B. A. ZILINSKAS (1993):
Molecular cloning and characterization of the hblA gene encoding the B component of hemolysin BL from *Bacillus cereus*.
J. Bacteriol. 175 (21), 6760-6766
- HEO, S.-K., J.-Y. LEE, S.-B. BAEK u. S.-D. HA (2009):
A Response surface model to describe the effect of temperature and pH on the growth of *Bacillus cereus* in cooked rice.
J. Food Prot. 72, 1296-1300
- HILDEBRANDT, G. u. H. WICHMANN-SCHAUER (2005):
Grenzwerte, Probenstreuung und Messungenauigkeit.
Fleischwirtsch. 12/2005, 111-114
- HILLIARD, N. J., R. L. SCHELONKA u. K. B. WAITES (2003):
Bacillus cereus bacteremia in a preterm neonate.
J. Clin. Microbiol. 41 (7), 3441-3444
- HINGST, V., M. MAIWALD u. H. G. SONNTAG (1987):
Investigations on the enzymatic degradation of formaldehyde by isolates of the species *Pseudomonas aeruginosa*.
Zentralbl. Bakteriolog. Mikrobiol. Hyg. B 184 (2), 167-181
- HINGST, V., K. M. KLIPPEL u. H. G. SONNTAG (1995):
Untersuchungen zur Epidemiologie mikrobieller Biozidresistenzen.
Zentralbl. Hyg. Umweltmed. 197 (1-3), 232-251

HOBBS, B. C. (1974):

Clostridium welchii and *Bacillus cereus* infection and intoxication.
Postgrad. Med. J. 50 (588), 597-602

HOLAH, J. T., C. HIGGS, S. ROBINSON, D. WORTHINGTON u. H. SPENCELEY (1990):

A conductance-based surface disinfection test for food hygiene.
Lett. Appl. Microbiol. 11 (5), 255-259

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

Bergey's Manual of Determinative Bacteriology.
9. Auflage, The Williams & Wilkins Co., Baltimore

HOLTON, J., P. NYE u. V. MCDONALD (1994):

Efficacy of selected disinfectants against mycobacteria and cryptosporidia.
J. Hosp. Infect. 27 (2), 105-115

HUGHES, S., B. BARTHOLOMEW, J. C. HARDY u. J. M. KRAMER (1988):

Potential application of a HEP-2 cell assay in the investigation of *Bacillus cereus* emetic-syndrome food poisoning.
FEMS Microbiol. Lett. 52 (1-2), 7-11

IN'T VELD, P. H., W. S. RITMEESTER, E. H. DELFGOU-VAN ASCH, J. B. DUFRENNE, K. WERNARS, E. SMIT u. F. M. VAN LEUSDEN (2001):

Detection of genes encoding for enterotoxins and determination of the production of enterotoxins by HBL blood plates and immunoassays of psychrotrophic strains of *Bacillus cereus* isolated from pasteurised milk.
Int. J. Food Microbiol. 64 (1-2), 63-70

IURLINA, M. O., A. I. SAIZ, S. R. FUSELLI u. R. FRITZ (2006):

Prevalence of *Bacillus* spp in different food products collected in Argentina.
LWT - Food Sc. Technol. 39 (2), 105-110

JENSEN, J. (1950):

Pre-vegetative processes in sporogenesis.
Zentralbl. Bakteriol. Parasitenk. Infektionskrankh. Hyg. 1 Originale 156 (2), 118-128

JENSON, H. B., S. R. LEVY, C. DUNCAN u. S. MCINTOSH (1989):

Treatment of multiple brain abscesses caused by *Bacillus cereus*.
Pediatr. Infect. Dis. J. 8 (11), 795-798

JEVON, G. P., W. M. DUNNE, JR., M. J. HICKS u. C. LANGSTON (1993):

Bacillus cereus pneumonia in premature neonates: a report of two cases.
Pediatr. Infect. Dis. J. 12 (3), 251-253

JOHN, A. B., E. A. RAZAK, E. E. RAZAK, N. AL-NAQEEB u. R. DHAR (2007):

Intractable *Bacillus cereus* bacteremia in a preterm neonate.
J. Trop. Pediatr. 53 (2), 131-132

- JOHNSON, K. M., C. L. NELSON u. F. F. BUSTA (1983):
Influence of temperature on germination and growth of spores of emetic and diarrhoeal strains of *Bacillus cereus* in a broth medium and rice.
J. Food Sci. 48 (1), 286-287
- JONES, L. A., JR., R. K. HOFFMAN u. C. R. PHILLIPS (1967):
Sporicidal activity of peracetic acid and beta-propiolactone at subzero temperatures.
Appl. Microbiol. 15 (2), 357-362
- JONES, T. O. u. P. C. TURNBULL (1981):
Bovine mastitis caused by *Bacillus cereus*.
Vet. Rec. 108 (13), 271-274
- KAMAT, A. S., D. P. NERKAR u. P. M. NAIR (1989):
Bacillus cereus in some indian foods, incidence and antibiotic, heat and radiation-resistance.
J. Food Saf. 10 (1), 31-41
- KAULFERS, P. M. u. R. LAUFS (1985):
Transmissible formaldehyde resistance in *Serratia marcescens*.
Zentralbl. Bakteriolog. Mikrobiol. Hyg. B 181 (3-5), 309-319
- KAULFERS, P. M. u. A. MARQUARDT (1991):
Demonstration of formaldehyde dehydrogenase activity in formaldehyde-resistant *Enterobacteriaceae*.
FEMS Microbiol. Lett. 79 (2-3), 335-338
- KHADRE, M. A. u. A. E. YOUSEF (2001):
Sporicidal action of ozone and hydrogen peroxide: a comparative study.
Int. J. Food Microbiol. 71 (2-3), 131-138
- KIM, S. K., K. P. KIM, S. S. JANG, E. M. SHIN, M. J. KIM, S. OH u. S. RYU (2009):
Prevalence and toxigenic profiles of *Bacillus cereus* isolated from dried red peppers, rice, and Sunsik in Korea.
J. Food Prot. 72 (3), 578-582
- KIM, Y. R., J. CZAJKA u. C. A. BATT (2000):
Development of a fluorogenic probe-based PCR assay for detection of *Bacillus cereus* in nonfat dry milk.
Appl. Environ. Microbiol. 66 (4), 1453-1459
- KITIS, M. (2004):
Disinfection of wastewater with peracetic acid: a review.
Environ. Int. 30 (1), 47-55
- KLEER, J., A. BARTHOLOMA, R. LEVETZOW, T. REICHE, H. J. SINELL u. P. TEUFEL (2001):
Foodborne bacterial infections and intoxications in german catering systems from 1985 to 2000.
Arch. Lebensmittelhyg. 52 (4-5), 76-79

- KNAYSI, G. (1964):
Effect of temperature on the rate of germination in *Bacillus cereus*.
J. Bacteriol. 87, 619-622
- KNAYSI, G. (1965):
Maximal temperatures of the two stages of germination in several mesophilic members of the genus *Bacillus*.
Appl. Microbiol. 13, 500-501
- KOTIRANTA, A., K. LOUNATMAA u. M. HAAPASALO (2000):
Epidemiology and pathogenesis of *Bacillus cereus* infections.
Microbes Infect. 2 (2), 189-198
- KRAETZL, W.-D. u. R. BOEHM (2008):
Der umkämpfte Desinfektionsmittelmarkt - "DVG-gelistet" bedeutet unabhängig wirksamkeitsgeprüft.
Rundsch. Fleischhyg. Lebensmittelüberw. (7), 272-273
- KRAMER, A. u. O. ASSADIAN (2008):
Wallhäußers Praxis der Sterilisation, Desinfektion, Antiseptik und Konservierung.
6. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart
- KRAMER, A., H. WIDULLE u. O. ASSADIAN (2008):
Vergleichende Charakteristik häufig in Desinfektionsmitteln und Antiseptika eingesetzter Wirkstoffe.
in: A. KRAMER und O. ASSADIAN: Praxis der Sterilisation, Desinfektion, Antiseptik und Konservierung,
Georg Thieme Verlag, Stuttgart und New York, S. 624-637
- KRAMER, J. M. u. R. J. GILBERT (1989):
Bacillus cereus and other *Bacillus* species.
in: M. P. DOYLE: Foodborne bacterial pathogens,
Marcel Dekker, New York, S. 21 - 70
- KREUZBERGER, C., M. MORAVEK, R. DIETRICH, R. SCHEURER u. E. MÄRTLBAUER (2008):
Characterisation of the toxicity of *Bacillus cereus* isolates from food supply facilities of the german federal armed forces.
Arch. Lebensmittelhyg. 59 (3), 92-98
- LAMBERT, R. J. u. M. D. JOHNSTON (2001):
The effect of interfering substances on the disinfection process: a mathematical model.
J. Appl. Microbiol. 91 (3), 548-555
- LANGSRUD, S., B. BAARDSEN u. G. SUNDHEIM (2000):
Potentiation of the lethal effect of peroxygen on *Bacillus cereus* spores by alkali and enzyme wash.
Int. J. Food Microbiol. 56 (1), 81-86

LAPIDUS, A., E. GOLTSMAN, S. AUGER, N. GALLERON, B. SEGURENS, C. DOSSAT, M. L. LAND, V. BROUSSOLLE, J. BRILLARD, M.-H. GUINEBRETIERE, V. SANCHIS, C. NGUEN-THE, D. LERECLUS, P. RICHARDSON, P. WINCKER, J. WEISSENBACH, S. D. EHRLICH u. A. SOROKIN (2008):

Extending the *Bacillus cereus* group genomics to putative food-borne pathogens of different toxicity.

Chemico-Biological Interact. 171, 236-249

LARSEN, H. D. u. K. JORGENSEN (1997):

The occurrence of *Bacillus cereus* in Danish pasteurized milk.

Int. J. Food Microbiol. 34 (2), 179-186

LECHNER, S., R. MAYR, K. P. FRANCIS, B. M. PRUSS, T. KAPLAN, E. WIESSNER-GUNKEL, G. S. STEWART u. S. SCHERER (1998):

Bacillus weihenstephanensis sp. nov. is a new psychrotolerant species of the *Bacillus cereus* group.

Int. J. Syst. Bacteriol. 48, 1373-1382

LEE, P. K., J. A. BUSWELL u. K. SHINAGAWA (1995):

Distribution of Toxigenic *Bacillus cereus* in Rice Samples marketed in Hong-Kong.

World J. Microbiol. Biotechnol. 11 (6), 696-698

LENSING, H. H. u. H. L. OEI (1984):

A study on the efficacy of disinfectants against anthrax spores.

Tijdschr. Diergeneeskd. 109 (13), 557-563

LENSING, H. H. u. H. L. OEI (1985):

Investigations on the sporicidal and fungicidal activity of disinfectants.

Zentralbl. Bakteriol. Mikrobiol. Hyg. B 181 (6), 487-495

LEVINSON, H. S. u. M. G. SEVAG (1953):

Stimulation of germination and respiration of the spores of *Bacillus megatherium* by manganese and monovalent anions.

J. Gen. Physiol. 36 (5), 617-629

LEVY, S. B. (2002):

Active efflux, a common mechanism for biocide and antibiotic resistance.

J. Appl. Microbiol. 92, 65S-71S

LEWIS, K. (2001):

Riddle of biofilm resistance.

Antimicrob. Agents Chemother. 45 (4), 999-1007

LIBERTI, L. u. M. NOTARNICOLA (1999):

Advanced treatment and disinfection for municipal wastewater reuse in agriculture.

Water Sc. Technol. 40 (4-5), 235-245

LIN, S., H. SCHRAFT, J. A. ODUMERU u. M. W. GRIFFITHS (1998):

Identification of contamination sources of *Bacillus cereus* in pasteurized milk.

Int. J. Food Microbiol. 43 (3), 159-171

- LOGAN, N. A. u. R. C. BERKELEY (1984):
Identification of *Bacillus* strains using the API system.
J. Gen. Microbiol. 130 (7), 1871-1882
- LOUWERS, J. u. G. KLEIN (1994a):
Zur Probenahmetechnik bei der mikrobiologischen Prozeßkontrolle.
In: 35. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes "Lebensmittelhygiene" der DVG, 27. - 30.09.1994, Garmisch-Partenkirchen
Teil 1, 65-74, Gießen, Eigenverlag
- LOUWERS, J. u. G. KLEIN (1994b):
Eignung von Probenahmemethoden zur Umgebungsuntersuchung in fleischgewinnenden und -verarbeitenden Betrieben mit EU-Zulassung.
Berl. Münch. Tierarztl. Wochenschr. 107 (11), 367-373
- LOUWERS, J., M. UPMANN, G. KLEIN u. G. REUTER (1995):
Zur Aussagekraft des Einfachen Tupfer-Verfahrens (DIN-Entwurf 10113-2) auf Modelloberflächen.
In: 36. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes "Lebensmittelhygiene" der DVG, 26. - 29.09.1995, Garmisch-Partenkirchen
Teil 1, 78-85, Gießen, Eigenverlag
- LOUWERS, J., G. KLEIN u. G. REUTER (1997):
Das Tupferverfahren nach DIN 10113-2 bei Hygienekontrollen gemäß § 11c (1) und (2) FLHV in fleischverarbeitenden Betrieben.
In: 38. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes "Lebensmittelhygiene" der DVG, 29.09.-02.10.1997, Garmisch-Partenkirchen
Teil 1, 490-495, Gießen, Eigenverlag
- LUND, T. u. P. E. GRANUM (1996):
Characterisation of a non-haemolytic enterotoxin complex from *Bacillus cereus* isolated after a foodborne outbreak.
FEMS Microbiol. Lett. 141 (2-3), 151-156
- LUND, T., M. L. DE BUYSER u. P. E. GRANUM (2000):
A new cytotoxin from *Bacillus cereus* that may cause necrotic enteritis.
Mol. Microbiol. 38 (2), 254-261
- MAHAKARNCHANAKUL, W. u. L. R. BEUCHAT (1999):
Influence of temperature shifts on survival, growth, and toxin production by psychrotrophic and mesophilic strains of *Bacillus cereus* in potatoes and chicken gravy.
Int. J. Food Microbiol. 47 (3), 179-187
- MAHLER, H., A. PASI, J. M. KRAMER, P. SCHULTE, A. C. SCOGING, W. BAR u. S. KRAHENBUHL (1997):
Fulminant liver failure in association with the emetic toxin of *Bacillus cereus*.
N. Engl. J. Med. 336 (16), 1142-1148
- MALCHESKY, P. S. (1993):
Peracetic-acid and its application to medical instrument sterilization.
Artif. Org. 17 (3), 147-152

- MATZ, L. L., T. C. BEAMAN u. P. GERHARDT (1970):
Chemical composition of exosporium from spores of *Bacillus cereus*.
J. Bacteriol. 101 (1), 196-201
- MCMURRY, L. M., M. OETHINGER u. S. B. LEVY (1998):
Overexpression of marA, soxS, or acrAB produces resistance to triclosan in
laboratory and clinical strains of *Escherichia coli*.
FEMS Microbiol. Lett. 166 (2), 305-309
- MEAD, P. S., L. SLUTSKER, V. DIETZ, L. F. MCCAIG, J. S. BRESEE, C. SHAPIRO,
P. M. GRIFFIN u. R. V. TAUXE (1999):
Food-related illness and death in the United States.
Emerg. Infect. Dis. 5 (5), 607-625
- MENESTRINA, G., M. D. SERRA u. G. PREVOST (2001):
Mode of action of beta-barrel pore-forming toxins of the staphylococcal alpha-
hemolysin family.
Toxicon 39 (11), 1661-1672
- MICHINO, H. u. K. OTSUKI (2000):
Risk factors in causing outbreaks of food-borne illness originating in schoollunch
facilities in Japan.
J. Vet. Med. Sci. 62 (5), 557-560
- MIDURA, T., M. GERBER, R. WOOD u. A. R. LEONARD (1970):
Outbreak of food poisoning caused by *Bacillus cereus*.
Publ. Health Rep. 85 (1), 45-48
- MIKAMI, T., T. HORIKAWA, T. MURAKAMI, T. MATSUMOTO, A. YAMAKAWA, S.
MURAYAMA, S. KATAGIRI, K. SHINAGAWA u. M. SUZUKI (1994):
An improved method for detecting cytostatic toxin (emetic toxin) of *Bacillus cereus*
and its application to food samples.
FEMS Microbiol. Lett. 119 (1-2), 53-57
- MILNER, J. L., L. SILO-SUH, J. C. LEE, H. HE, J. CLARDY u. J. HANDELSMAN
(1996):
Production of kanosamine by *Bacillus cereus* UW85.
Appl. Environ. Microbiol. 62 (8), 3061-3065
- MOHAN, A., J. DUNN, M. C. HUNT u. C. E. SIZER (2009):
Inactivation of *Bacillus atrophaeus* spores with surface-active peracids and
characterization of formed free radicals using electron spin resonance spectroscopy.
J. Food Sci. 74 (7), M411-M417
- MORAVEK, M., M. WEGSCHEIDER, A. SCHULZ, R. DIETRICH, C. BURK u. E.
MARTLBAUER (2004):
Colony immunoblot assay for the detection of hemolysin BL enterotoxin producing
Bacillus cereus.
FEMS Microbiol. Lett. 238 (1), 107-113

- MORENO, A. J., C. D. ORR, E. MORALES u. I. M. WEISMAN (1985):
Bacillus cereus, diarrhea, and home-dried apples.
Ann. Intern. Med. 102 (6), 868-869
- MOTULSKY, H. J. u. A. CHRISTOPOLOUS (2004):
Fitting models to biological data using linear and nonlinear regression: A practical guide to curve fitting.
Oxford University Press US, Oxford
- MROZEK, H. (1980):
Gesichtspunkte für eine zweckmäßige Auswahl geeigneter Desinfektionswirkstoffe.
Arch. Lebensmittelhyg. 31 (3), 91-99
- MÜCKE, E. (1979):
Further-studies on the protection of metals against the corrosive action of diluted peracetic-acid by the addition of certain phosphates.
Pharm. 34 (9), 573-573
- MÜCKE, H., P. WUTZLER u. S. RECKNAGEL (1989):
Untersuchungen zur geruchsfreien Flächendesinfektion mit Peressigsäure.
Z. Arztl. Fortbild. (Jena) 83 (22), 1125-1127
- NACLERIO, G., E. RICCA, M. SACCO u. M. DE FELICE (1993):
Antimicrobial activity of a newly identified bacteriocin of *Bacillus cereus*.
Appl. Environ. Microbiol. 59 (12), 4313-4316
- NAKAHARA, H. u. H. KOZUKUE (1982):
Isolation of chlorhexidine-resistant *Pseudomonas aeruginosa* from clinical lesions.
J. Clin. Microbiol. 15 (1), 166-168
- NAKAMURA, L. K. (1998):
Bacillus pseudomycooides sp. nov.
Int. J. Syst. Bacteriol. 48 Pt 3, 1031-1035
- NICKLAS, W., K. H. BOHM u. B. RICHTER (1981):
Studies on the corrosive action of some disinfectants suitable for aerosol-disinfection.
Zentralbl. Bakteriол. Mikrobiol. Hyg. B 173 (5), 374-381
- NIKODEMUSZ, I. u. K. CSABA (1959):
Die Bedeutung der aeroben Sporenbildner bei Lebensmittelvergiftungen.
Med. Microbiol. Immunol. 146 (2), 156-160
- NIKODEMUSZ, I. u. G. GONDA (1963a):
Beiträge zur Tierpathogenität aerober Sporenbildner.
Zentralbl. Bakteriол. Parasitenk. Infektionskrankh. Hyg. 1 Originale 189, 298-307
- NIKODEMUSZ, I. u. G. GONDA (1963b):
Die enteropathogene Wirkung aerober Sporenbildner bei Nagetieren.
Zentralbl. Bakteriол. Parasitenk. Infektionskrankh. Hyg. 1 Originale 190, 237-242

NIKODEMUSZ, I. (1965):

Die Reproduzierbarkeit der von *B. cereus* verursachten Lebensmittelvergiftungen bei Katzen.

Zentralbl. Bakteriол. Parasitenk. Infektionskrankh. Hyg. 1 Originale 196, 81-87

NIKODEMUSZ, I. u. G. GONDA (1966):

Die Wirkung langfristiger Verabreichung von *B. cereus* verunreinigten Lebensmitteln bei Katzen.

Zentralbl. Bakteriол. Parasitenk. Infektionskrankh. Hyg. 1 Originale 199, 64-67

NIKODEMUSZ, I. (1967):

Die enteropathogene Wirkung von *Bacillus cereus* bei Hunden.

Zentralbl. Bakteriол. Parasitenk. Infektionskrankh. Hyg. 1 Originale 202, 533-538

NISHIWAKI, H., K. ITO, K. OTSUKI, H. YAMAMOTO, K. KOMAI u. K. MATSUDA (2004):

Purification and functional characterization of insecticidal sphingomyelinase C produced by *Bacillus cereus*.

Eur. J. Biochem. 271 (3), 601-606

NOTERMANS, S. u. C. A. BATT (1998):

A risk assessment approach for food-borne *Bacillus cereus* and its toxins.

Symp. Ser. Soc. Appl. Microbiol. 27, 51S-61S

OLM, S. u. G. SCHEIBNER (1993):

Influence of pH, NaCl, Nitrite, and temperature on the formation of *Bacillus cereus* enterotoxin.

Fleischwirtsch. 73 (6), 691-692

OSTER, H. A. u. T. Q. KONG (1982):

Bacillus cereus endocarditis involving a prosthetic valve.

South. Med. J. 75 (4), 508-509

PARK, Y. B., J. B. KIM, S. W. SHIN, J. C. KIM, S. H. CHO, B. K. LEE, J. AHN, J. M. KIM u. D. H. OH (2009):

Prevalence, genetic diversity, and antibiotic susceptibility of *Bacillus cereus* strains isolated from rice and cereals collected in Korea.

J. Food Prot. 72 (3), 612-617

PENG, J.-S., W.-C. TSAI u. C.-C. CHOU (2002):

Inactivation and removal of *Bacillus cereus* by sanitizer and detergent.

Int. J. Food Microbiol. 77 (1-2), 11-18

PINNA, A., L. A. SECHI, S. ZANETTI, D. USAI, G. DELOGU, P. CAPPUCCINELLI u. F. CARTA (2001):

Bacillus cereus keratitis associated with contact lens wear.

Ophthalmol. 108 (10), 1830-1834

PIRHONEN, T. I., M. A. ANDERSSON, E. L. JAASKELAINEN, M. S. SALKINOJA-SALONEN, T. HONKANEN-BUZALSKI u. T. M. L. JOHANSSON (2005):
Biochemical and toxic diversity of *Bacillus cereus* in a pasta and meat dish associated with a food-poisoning case.
Food Microbiol. 22 (1), 87-91

PITTEN, F. A., H. P. WERNER u. A. KRAMER (2003):
A standardized test to assess the impact of different organic challenges on the antimicrobial activity of antiseptics.
J. Hosp. Infect. 55 (2), 108-115

POOLE, K. (2002):
Mechanisms of bacterial biocide and antibiotic resistance.
J. Appl. Microbiol. 92 Suppl, 55S-64S
PORTNOY, B. L., J. M. GOEPFERT u. S. M. HARMON (1976):
An outbreak of *Bacillus cereus* food poisoning resulting from contaminated vegetable sprouts.
Am. J. Epidemiol. 103 (6), 589-594

PRINCE, H. N., W. S. NONEMAKER, R. C. NORGARD u. D. L. PRINCE (1978):
Drug resistance studies with topical antiseptics.
J. Pharm. Sci. 67 (11), 1629-1631

REUTER, G. (1984):
Cleaning and Disinfection in Food Hygiene.
Fleischwirtsch. 64 (6), 668-674

REUTER, G. (1988):
Anforderungen an Desinfektionsmittel für den Lebensmittelbereich. 1. Liste geprüfter Desinfektionsmittel der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft (DVG).
Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr. 101 (6), 194-199

REUTER, G. (1994):
Zur Wirksamkeit von Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen bei der Fleischgewinnung und -verarbeitung.
Fleischwirtsch. 74 (8), 808-813

RIPABELLI, G., J. MCLAUCHLIN, V. MITHANI u. E. J. THRELFALL (2000):
Epidemiological typing of *Bacillus cereus* by amplified fragment length polymorphism.
Lett. Appl. Microbiol. 30 (5), 358-363

ROBERTS, T. A. u. A. D. HITCHINS (1969):
Resistance of spores.
in: G. W. GOULD und A. HURST: The bacterial spore,
Academic Press, London - New York, S. 611-670

ROWAN, N. J., J. G. ANDERSON u. A. ANDERTON (1997):
Bacteriological quality of infant milk formulae examined under a variety of preparation and storage conditions.
J. Food Prot. 60 (9), 1089-1094

- RUANO, M., J. EL-ATTRACHE u. P. VILLEGAS (2001):
Efficacy comparisons of disinfectants used by the commercial poultry industry.
Avian. Dis. 45 (4), 972-977
- RUSSELL, A. D. u. G. W. GOULD (1988):
Resistance of *Enterobacteriaceae* to preservatives and disinfectants.
Soc. Appl. Bacteriol. symp. ser. 17, 167-195
- RUSSELL, A. D., J. R. FURR u. J. Y. MAILLARD (1997):
Microbial susceptibility and resistance to biocides: an understanding.
ASM News 63 (9), 481-487
- RUSSELL, A. D. (1999):
Bacterial resistance to disinfectants: present knowledge and future problems.
J. Hosp. Infect. 43, S57-S68
- RUSUL, G. u. N. H. YAACOB (1995):
Prevalence of *Bacillus cereus* in selected foods and detection of enterotoxin using
TECRA-VIA and BCET-RPLA.
Int. J. Food Microbiol. 25 (2), 131-139
- RYAN, P. A., J. D. MACMILLAN u. B. A. ZILINSKAS (1997):
Molecular cloning and characterization of the genes encoding the L1 and L2
components of hemolysin BL from *Bacillus cereus*.
J. Bacteriol. 179 (8), 2551-2556
- RYU, J. H., H. KIM u. L. R. BEUCHAT (2005):
Spore formation by *Bacillus cereus* in broth as affected by temperature, nutrient
availability, and manganese.
J. Food Prot. 68 (8), 1734-1738
- SAGRIPANTI, J. L. u. A. BONIFACINO (1999):
Bacterial spores survive treatment with commercial sterilants and disinfectants.
Appl. Environ. Microbiol. 65 (9), 4255-4260
- SAKAGAMI, Y., H. YOKOYAMA, H. NISHIMURA, Y. OSE u. T. TASHIMA (1989):
Mechanism of resistance to benzalkonium chloride by *Pseudomonas aeruginosa*.
Appl. Environ. Microbiol. 55 (8), 2036-2040
- SALTON, M. R. (1963):
The relationship between the nature of the cell wall and the Gram stain.
J. Gen. Microbiol. 30, 223-235
- SCHEMMER, G. B. u. W. T. DRIEBE, JR. (1987):
Posttraumatic *Bacillus cereus* endophthalmitis.
Arch. Ophthalmol. 105 (3), 342-344
- SCHLIESSER, T. u. J. M. WIEST (1979):
About the temperature dependence of the bactericidal effect of some chemical
disinfectants.
Zentralbl. Bakteriol. Parasitenk. Infektionskrankh. Hyg. 1 Originale 169 (5-6), 560-566

- SCHLIESSER, T. (1981):
Grundlagen der Desinfektion.
in: T. SCHLIESSER und D. STRAUCH: Desinfektion in Tierhaltung, Fleisch- und
Milchwirtschaft,
Enke Verlag, Stuttgart, S. 1-69
- SCHMIDT, U. u. L. LEISTNER (1981):
Reinigung und Desinfektion in der Fleischwirtschaft.
in: T. SCHLIESSER und D. STRAUCH: Desinfektion in Tierhaltung, Fleisch- und
Milchwirtschaft,
Enke Verlag, Stuttgart, S. 373
- SCHULER, A. (1972):
Desinfizieren im Schlachthof und dessen Fleischkühlräumen: womit?
Fleischwirtsch. 10, 1268-1270
- SHAHEEN, R., M. A. ANDERSSON, C. APETROAIE, A. SCHULZ, M. EHLING-
SCHULZ, V.-M. OLLILAINEN u. M. S. SALKINOJA-SALONEN (2006):
Potential of selected infant food formulas for production of *Bacillus cereus* emetic
toxin, cereulide.
Int. J. Food Microbiol. 107 (3), 287-294
- SHINAGAWA, K., H. KONUMA, H. SEKITA u. S. SUGII (1995):
Emesis of rhesus-monkeys induced by intragastric administration with the Hep-2
vacuolation factor (cereulide) produced by *Bacillus cereus*.
FEMS Microbiol. Lett. 130 (1), 87-90
- SILO-SUH, L. A., B. J. LETHBRIDGE, S. J. RAFFEL, H. HE, J. CLARDY u. J.
HANDELSMAN (1994):
Biological activities of two fungistatic antibiotics produced by *Bacillus cereus* UW85.
Appl. Environ. Microbiol. 60 (6), 2023-2030
- SLIMAN, R., S. REHM u. D. M. SHLAES (1987):
Serious infections caused by *Bacillus* species.
Med. (Baltimore) 66 (3), 218-223
- SOMERVILLE, H. J. u. M. L. JONES (1972):
DNA competition studies within *Bacillus cereus* group of *Bacilli*.
J. Gen. Microbiol. 73 (Nov), 257-265
- SPIRA, W. M. u. J. M. GOEPFERT (1972):
Bacillus cereus-induced fluid accumulation in rabbit ileal loops.
Appl. Microbiol. 24 (3), 341-348
- STABB, E. V., L. M. JACOBSON u. J. HANDELSMAN (1994):
Zwittermicin A-producing strains of *Bacillus cereus* from diverse soils.
Appl. Environ. Microbiol. 60 (12), 4404-4412
- STANISICH, V. A., P. M. BENNETT u. M. H. RICHMOND (1977):
Characterization of a translocation unit encoding resistance to mercuric ions that
occurs on a nonconjugative plasmid in *Pseudomonas aeruginosa*.
J. Bacteriol. 129 (3), 1227-1233

- SULLER, M. T. u. A. D. RUSSELL (2000):
Triclosan and antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*.
J. Antimicrob. Chemother. 46 (1), 11-18
- SUTTON, L. u. G. A. JACOBY (1978):
Plasmid-determined resistance to hexachlorophene in *Pseudomonas aeruginosa*.
Antimicrob. Agents Chemother. 13 (4), 634-636
- SVENSSON, B., A. MONTHAN, R. SHAHEEN, M. A. ANDERSSON, M. SALKINOJA-SALONEN u. A. CHRISTIANSSON (2006):
Occurrence of emetic toxin producing *Bacillus cereus* in the dairy production chain.
Int. Dairy J. 16 (7), 740-749
- TAYLOR, A. J. u. R. J. GILBERT (1975):
Bacillus cereus food poisoning: a provisional serotyping scheme.
J. Med. Microbiol. 8 (4), 543-550
- TAYLOR, J. H., S. J. ROGERS u. J. T. HOLAH (1999):
A comparison of the bactericidal efficacy of 18 disinfectants used in the food industry against *Escherichia coli* O157:H7 and *Pseudomonas aeruginosa* at 10 and 20 degrees C.
J. Appl. Microbiol. 87 (5), 718-725
- TE GIFFEL, M. C., R. R. BEUMER, W. F. VAN DAM, B. A. SLAGHUIS u. F. M. ROMBOUTS (1995):
Sporicidal effect of disinfectants on *Bacillus cereus* isolated from the milk processing environment.
Int. Biodeterioration & Biodegradation 36 (3-4), 421-430
- TENNENT, J. M., B. R. LYON, M. T. GILLESPIE, J. W. MAY u. R. A. SKURRAY (1985):
Cloning and expression of *Staphylococcus aureus* plasmid-mediated quaternary ammonium resistance in *Escherichia coli*.
Antimicrob. Agents Chemother. 27 (1), 79-83
- TERPLAN, G. (1957):
Saprophyten als Mastitiserreger.
Arch. Lebensmittelhyg. 8, 37-38
- TERRANOVA, W. u. P. A. BLAKE (1978):
Bacillus cereus food poisoning.
N. Engl. J. Med. 298 (3), 143-144
- THERAUD, M., Y. BEDOUIN, C. GUIGUEN u. J. P. GANGNEUX (2004):
Efficacy of antiseptics and disinfectants on clinical and environmental yeast isolates in planktonic and biofilm conditions.
J. Med. Microbiol. 53 (Pt 10), 1013-1018
- TODD, E. C. D. (1992):
Foodborne disease in Canada - a 10-year summary from 1975 to 1984.
J. Food Prot. 55 (2), 123-132

- TOKIEDA, K., Y. MORIKAWA, K. MAEYAMA, K. MORI u. K. IKEDA (1999):
Clinical manifestations of *Bacillus cereus* meningitis in newborn infants.
J. Paediatr. Child Health 35 (6), 582-584
- TURNBULL, P. C. (1976):
Studies on the production of enterotoxins by *Bacillus cereus*.
J. Clin. Pathol. 29 (10), 941-948
- UMEZAWA, S., K. UMINO, S. SHIBAHARA u. S. OMOTO (1967):
Studies of aminosugars. XVII. Production of 3-amino-3-deoxy-D-glucose by *Bacillus*
species.
Bull. Chem. Soc. Jpn 40 (10), 2419-2421
- VAN DER ZWET, W. C., G. A. PARLEVLIE, P. H. SAVELKOUL, J. STOOFF, A. M.
KAISER, A. M. VAN FURTH u. C. M. VANDENBROUCKE-GRAULS (2000):
Outbreak of *Bacillus cereus* infections in a neonatal intensive care unit traced to
balloons used in manual ventilation.
J. Clin. Microbiol. 38 (11), 4131-4136
- VAN NETTEN, P., A. VAN DE MOOSDIJK, P. VAN HOENSEL, D. A. A. MOSSEL u.
I. PERALES (1990):
Psychrotrophic strains of *Bacillus cereus* producing enterotoxin.
J. Appl. Microbiol. 69 (1), 73-79
- VIRTO, R., D. SANZ, I. ALVAREZ, S. CONDON u. J. RASO (2006):
Application of the Weibull model to describe inactivation of *Listeria monocytogenes*
and *Escherichia coli* by citric and lactic acid at different temperatures.
J. Sc. Food and Agr. 86 (6), 865-870
- WARTH, A. D. (1978):
Relationship between the heat resistance of spores and the optimum and maximum
growth temperatures of *Bacillus* species.
J. Bacteriol. 134 (3), 699-705
- WEISSE, M. E., J. W. BASS, R. V. JARRETT u. J. M. VINCENT (1991):
Nonanthrax *Bacillus* infections of the central nervous system.
Pediatr. Infect. Dis. J. 10 (3), 243-246
- WERNER, H. P., G. REYBROUCK u. G. WERNER (1975):
A comparison of the results of 4 national methods for the evaluation of disinfectants
in 2 laboratories.
Zentralbl. Bakteriolog. Orig. B 160 (4-5), 368-391
- WICHMANN-SCHAUER, H. (2009):
Final Report of the ALTS-working group on "validation of microbiological
investigation" to determine the experimental uncertainty of quantitative
microbiological examination.
J. Verbrauch. Lebensm. 4, 76-84

- WIDULLE, H., A. KRAMER, S. REICHWAGEN u. P. HELDT (2008):
Oberflächenaktive Verbindungen.
in: A. KRAMER und O. ASSADIAN: Wallhäußers Praxis der Sterilisation,
Desinfektion, Antiseptik und Konservierung,
Georg Thieme Verlag, Stuttgart, S. 770-787
- WITTE, W., L. GREEN, T. K. MISRA u. S. SILVER (1986):
Resistance to mercury and to cadmium in chromosomally resistant *Staphylococcus aureus*.
Antimicrob. Agents Chemother. 29 (4), 663-669
- WOHLGEMUTH, K., E. J. BICKNELL u. C. A. KIRKBRIDE (1972a):
Abortion in cattle associated with *Bacillus cereus*.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 161 (12), 1688-1690
- WOHLGEMUTH, K., C. A. KIRKBRIDE, E. J. BICKNELL u. R. P. ELLIS (1972b):
Pathogenicity of *Bacillus cereus* for pregnant ewes and heifers.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 161 (12), 1691-1695
- WONG, H. C., M. H. CHANG u. J. Y. FAN (1988):
Incidence and characterization of *Bacillus cereus* isolates contaminating dairy
products.
Appl. Environ. Microbiol. 54 (3), 699-702
- YAMAMOTO, T., Y. TAMURA u. T. YOKOTA (1988):
Antiseptic and antibiotic-resistance plasmid in *Staphylococcus aureus* that possesses
ability to confer chlorhexidine and acrinol resistance.
Antimicrob. Agents Chemother. 32 (6), 932-935

11 Danksagung

Herrn Univ.-Prof. Günter Klein danke ich für die Überlassung des interessanten Themas, die wissenschaftliche Betreuung und die freundliche Unterstützung bei der Anfertigung dieser Arbeit.

Frau Prof.in Dr. V. Atanassova als Leiterin des mikrobiologischen Labors und Frau Prof.in Dr. M. Hoedemaker danke ich für ihre freundliche Unterstützung bei wichtigen Fragestellungen.

Meinen Kolleginnen und Kollegen des Instituts für Lebensmittelqualität und -sicherheit danke ich für die angenehme und freundliche Arbeitsatmosphäre.

Frau Dr. Helga Nagengast danke ich herzlich für die hilfsbereite Betreuung während meiner Anfangszeit. Frau Dr. Birte Ahlfeld, Frau Dr. Annika Boulaaba, Frau Dr. Asmien Brix, Herrn Dr. Marcus Langen, Herrn Dr. Felix Reich, Frau Dr. Julia Jähne, Herrn Dr. Nils Grabowski und Herrn Manfred Merle danke ich ebenfalls herzlich für die fachliche und freundliche Unterstützung bei Fragestellungen und Stolpersteinen bezüglich der Anfertigung einer Dissertation.

Herrn Dr. Antonio Martinez und Herrn Dr. M. Beyerbach danke ich vielmals für die Hilfestellung bei der Durchführung der statistischen Auswertung.

Den technischen Mitarbeitern des mikrobiologischen Labors, besonders Frau Sabine Korff, Frau Silke Ortaeri, Frau Birgit Führung und Herrn Andreas Schridde für ihre freundliche Unterstützung und für Ratschläge bei mikrobiologischen Herausforderungen.

Der Belegschaft des „Doktorandenzimmers“ der Mikrobiologie Herrn Konstantin Hirsch, Frau Yvonne Radke, Frau Caroline Maahs, Frau Nancy Walther, Frau Meike Stüber und Frau Kirsten Stüber für ein angenehmes und fröhliches Arbeitsklima.

Meiner Familie und meinem Partner danke ich für die liebevolle und umfangreiche Unterstützung sowie Motivation in jeder Lebenslage. Ich liebe Euch.