

Pathogene Mikroorganismen

BEREITS VERÖFFENTLICHTE WERKE

DIE GESUNDHEIT DES DARMS - Finn Holm
FoodGroup Denmark - Dänemark - (November 2001)

GENMANIPULIERTE NAHRUNGSMITTEL - Finn Holm
FoodGroup Denmark - Dänemark - (Juni 2002)

DIE MYKOTOXINE - Jean-François Quillien
Institut National de la Recherche Agronomique - Frankreich - (Oktober 2002)

SENSOREN FÜR LEBENSMITTELQUALITÄT - Finn Holm
FoodGroup Denmark - Dänemark - (Januar 2003)

**FUNKTIONELLE BESTANDTEILE IN LEBENSMITTELN
KARDIOVASKULÄRE GESUNDHEIT**
Finn Holm - *FoodGroup Denmark* - Dänemark - (August 2003)

**FUNKTIONELLE BESTANDTEILE IN LEBENSMITTELN
KREBS UND OXIDATIVE DEGENERATIONSREAKTIONEN**
Finn Holm - *FoodGroup Denmark* - Dänemark - (Oktober 2003)

NEUE VERFAHREN DER LEBENSMITTELTECHNIK
D. Behnlian, M. regier, M. Stahl
BFE - Institut für Verfahrenstechnik - Deutschland - (November 2003)

VERPACKUNG - Mona Popa and Nastasia Belc
USAMVB & Institute of Food Bioresources - Romania - (November 2003)

RASCHE BESTIMMUNG VON MIKROORGANISMEN IN LEBENSMITTELN
József Farkas
Ungarische Wissenschaftliche Gesellschaft für die Lebensmittelindustrie (KEKI)
- Ungarn - (November 2003)

**NEUIGKEITEN IN DER LEBENSMITTEL-
GEFRIERFORSCHUNG IN EUROPA UND DARÜBER HINAUS**
Kostadin Fikiin - *Technische Universität von Sofia*
Bulgarien - (Dezember 2003)



Von Gunnar Mogensen *und* Finn Holm
FoodGroup Dänemark
Dänemark

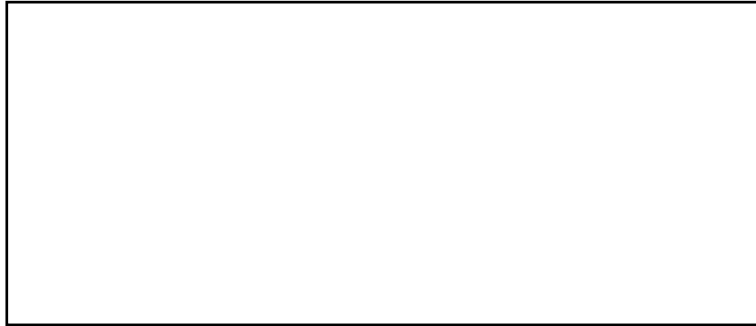


Project n° QLK1-CT - 2000 - 00040

N° ISBN : 2-7380-1149-7
Dezember 2003

Kleine und mittlere Unternehmen
N° 11





National Network Leader

Diese Unterlage wird im Rahmen des Projekts FAIR FLOW EUROPE 4 verbreitet. Sie ist Teil einer Reihe halbjährig erscheinender Informationen für Verbraucher, Angehörige der medizinischen Berufe sowie kleine und mittlere Unternehmen der Nahrungs- und Genussmittelbranche.

Fair Flow Europe 4 (FFE 4) ist ein Projekt, das direkt von der Europäischen Kommission in die Wege geleitet worden ist. Es bezweckt die Verbreitung der Ergebnisse der Forschungsarbeiten auf dem Gebiet der industriellen Nahrungs- und Genussmittel. Das Projekt ist in den Tätigkeitsbereich des 5. Rahmenprogramms für Forschung und technologische Entwicklung eingefügt, und 24 Länder nehmen daran teil.

Die beiden Ziele von FFE 4:

- 1 - Verbreitung der europäischen Forschungsergebnisse im Nahrungs- und Genussmittelbereich an die Nutzer, nämlich Unternehmen der Nahrungs- und Genussmittelbranche, Verbraucherverbände und Angehörige der medizinischen Berufe;
- 2 - Organisation eines Dialogs zwischen den verschiedenen Nutzergruppen und den Wissenschaftlern über Themen, welche die Forschung auf dem Gebiet der Nahrungs- und Genussmittel betreffen.



Institut National de la Recherche Agronomique
147, rue de l'Université 75338 PARIS cedex 07 - France

Koordinator : Jean-François Quillien
quillien@rennes.inra.fr

www.flair-flow.com

PATHOGENE MIKROORGANISMEN

eine Herausforderung für die europäische Politik in Hinblick
auf Lebensmittelsicherheit, Nährwert und Qualität des Essens

Von Gunnar Mogensen *und* Finn Holm

FoodGroup Dänemark
Dänemark

Finn.Holm@FoodGroup.DK
Gunnar@GM-Consult.dk

*Die in diesem Dokument vertretene Meinung liegt in der
Verantwortung der Autoren und reflektiert nicht notwendigerweise
die offizielle Meinung der Europäischen Kommission*

Kleine und mittlere Unternehmen
n° 11

Inhalt

	<i>Seite</i>
I- Vorwort	4
II- Einleitung	6
III- Pathogene in Lebensmittel – Stand der Kenntnis	10
IV- Methoden zur Beseitigung von Lebensmittelpathogenen	13
V- Risiko – Management	15
VI- EU – geförderte Forschung im Bereich Lebensmittelpathogene	17
VII- Literatur	28

Cover illustration: © INRA-Christophe Maitre

I- Vorwort

Pathogene Mikroorganismen können Bakterien, Pilze oder Amöben sein. Sie sind in der Lage verschiedenste Krankheiten entweder direkt durch Infektion oder durch in den Lebensmitteln produzierte Toxine auszulösen. Lebensmittel sind sehr empfindlich und so besteht die Möglichkeit der Kontamination und des Wachstums pathogener Mikroorganismen beginnend am Feld über alle Stufen bis hin zu fertigen Nahrung. Toxine, die durch pathogene Mikroorganismen im Lebensmittel gebildet werden, werden während der Verarbeitung der Lebensmittel nicht zerstört. Überlebende pathogene Mikroorganismen oder nach der Verarbeitung erfolgte Infektionen können auch weiterhin eine Gefahr bilden.

Die WHO schätzt, daß weltweit jährlich hunderte Millionen Fälle von Erkrankungen durch Lebensmittel auftreten. Ein Drittel der Bevölkerung in den industrialisierten Ländern dürfte durch derartige Erkrankungen beeinträchtigt werden, was zu beträchtlichem menschlichen Leid und hohen ökonomischen Verlusten im Ausmaß von Milliarden Euro führt. Daher sind viele vorbeugende Maßnahmen erforderlich, um das Problem zu verringern und die Lebensqualität der Bürger in den entwickelten als auch den weniger entwickelten Ländern zu verbessern.

Jüngste Entwicklungen der Lebensmitteltechnologie und die zunehmende Beachtung der Lebensmittelhygiene haben den mikrobiologischen Standard unserer Lebensmittel verbessert. Ein hoher mikrobiologischer Standard bedeutet jedoch noch nicht notwendigerweise ein insgesamt geringes Risiko von pathogene Mikroorganismen. Vielmehr bedeutet das auch eine fehlende mikrobiologische Konkurrenz und häufig auch neue Herausforderungen mit neuen und hoch virulenten Pathogenen.

Völlige Sterilisierung und aseptisches Verpacken aller Lebensmittel könnte einen Großteil des Problems lösen. Sterilisation jedoch beinhaltet eine sehr intensive Behandlung der Lebensmittel und kann wichtige Nährstoffe zerstören und damit die Qualität der Nahrung beeinträchtigen. Daher sind neue Techniken dringend erforderlich.

Die Qualität und Sicherheit von Lebensmittel hat Vorrang in Europas und die Europäische Kommission fördert Forschung die das Ziel hat, die Ökologie der pathogene Mikroorganismen auf Lebensmitteln, die Wechselwirkung zwischen pathogene Mikroorganismen und saprophytisch lebenden Mikroorganismen in Lebensmittel zu studieren. Weiters wurde der Entwicklung verbesserter analytischer Methoden zur Kontrolle von pathogenen Mikroorganismen Vorrang eingeräumt. Besonderes Augenmerk wurde auf Forschung im Bereich von Technologien zur Inaktivierung / Vermeidung von pathogenen Mikroorganismen in Lebensmitteln und auf die Entwicklung verlässlicher Systeme zur Risikoabschätzung und zum Risikomanagement gelegt.

Flair Flow Europe hat bereits mehrere Berichte auf diesem Gebiet veröffentlicht, so " Rapid Detection of Microbial Contamination / Activity (38), New Methods in Food Processing (39), Food Quality Sensors (40) und Mykotoxine (41).

II- Einleitung

Gesundheit und Lebensqualität haben in der Europäischen Union (EU) einen hohen Stellenwert. Mit der von der Gemeinschaft geförderten Forschung unterstützt die EU die Politik einer maximalen mikrobiellen Sicherheit von Lebensmitteln in ganzheitlicher Weise und ohne die Freude am Essen und den Nährwert der Nahrung zu beeinträchtigen. Kürzlich stellte die Europäische Kommission ein Weißbuch vor, das die Gründung einer Europäischen Lebensmittel Agentur vorschlägt, um die Koordination der Anstrengungen im Bereich Lebensmittelsicherheit zu koordinieren. Diese Lebensmittelagentur hat insbesondere die Aufgabe die Risikoanalyse zu entwickeln und zu koordinieren, die auf drei Säulen ruht : Risikoabschätzung, Risikomanagement und Risikokommunikation.

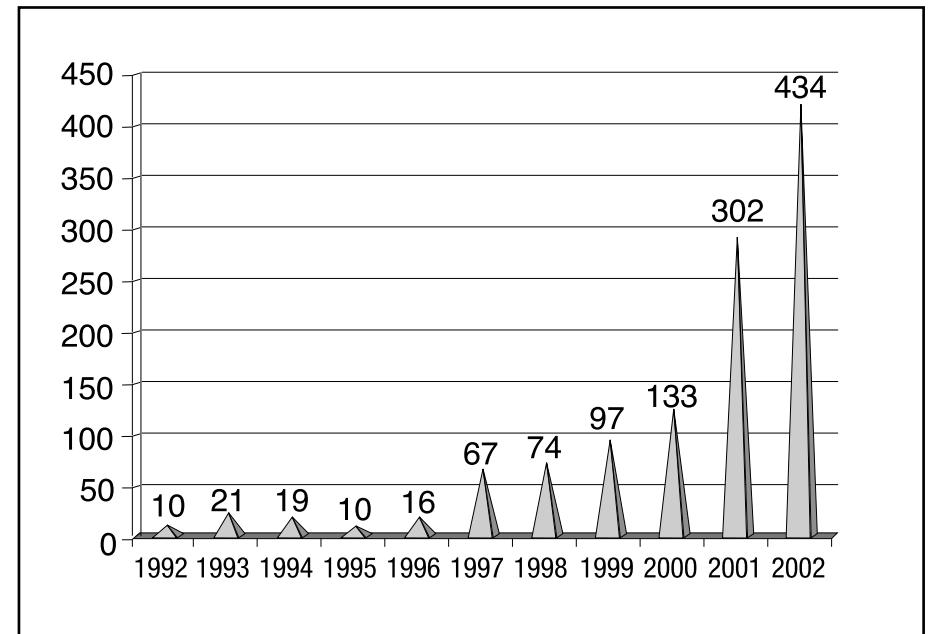
Bei der Produktion von Lebensmitteln wurden in den letzten 100 Jahren die sich exponentiell entwickelnde Kenntnis über Mikroorganismen angewendet. Der Einsatz der Hitzebehandlung, Kühlung, Filtration, Bestrahlung und der chemischen Konservierung haben größtenteils die Erkrankungen an traditionellen pathogene Mikroorganismen wie Enteritisfieber ausgelöst von Salmonellen, Shigellen, Coliformen Keimen usw verringert. Kenntnisse über die Wechselwirkung zwischen Mikroorganismen wurden von Herstellern fermentierter Lebensmittel eingesetzt und die Bedeutung der Zusammensetzung in Bezug auf Nährstoffe, Sauerstoff, Salzgehalt und pH-Wert, sowie natürliche Konservierungsmittel wurde eingesetzt, um die Risiken von Erkrankungen durch Lebensmittel weiter zu verringern.

Ferner wurde die Schwere und die Folgen einer gegebenen Infektion durch den Einsatz von Antibiotika deutlich verringert.

Während dieser positiven Entwicklung traten jedoch neue Typen von Erkrankungen auf. Neue bislang unbekannte Pathogene tauchten auf. Infektionen mit Pathogenen wie *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter* und *Helicobacter* wurden registriert. Amöbenausgelöste Infektionen wie *Cryptosporidium* nahmen zu. Virale Infektionen wie Grippe, Erkältungskrankheiten, Rotavirus werden zunehmend häufig. Die Anzahl von Überempfindlichkeiten und Ekzemen ist in den letzten Jahren geradezu explodiert.

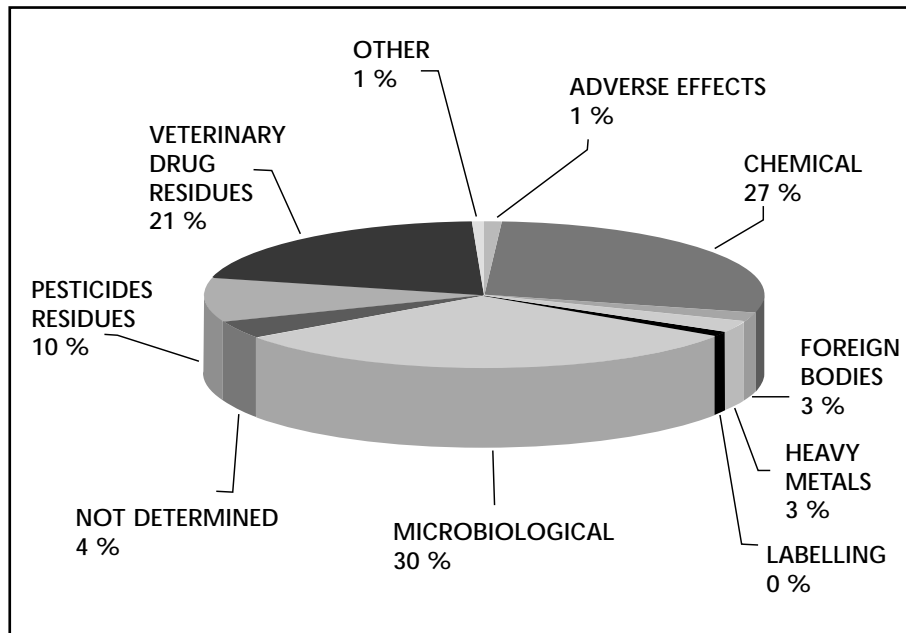
Zur gleichen Zeit sind auch Lebensmittelkontaminationen häufiger geworden. Die Beispiele sind zahlreich. Erkrankungen werden überwiegend von Staphylococcen ausgelöst, die hitzestabiles Veritoxin produzieren oder von Bazillen, die eine Hitzebehandlung überstehen. Das letzte Beispiel ist eine Veritoxin – Epidemie in Japan hervorgerufen durch das Wachstum von Staphylococcen in Milch aufgrund eines Stillstandes in der Produktionslinie.

In der jüngsten Vergangenheit wurde ein rasanter Anstieg von Fällen in den Food Alert Notifications (Warnberichte der Lebensmittelaufsicht) berichtet. Die nachstehenden Angaben zeigen die Zunahme an Warnungen innerhalb der EU im Zeitraum 1992 – 2002.



Alert notifications between 1992 and 2002

Ein wesentlicher Teil dieser Warnungen hat seine Ursache in mikrobiellen Kontaminationen wie die nächste Abbildung aus der gleichen Quelle zeigt.



Reasons for alert notifications in 2002

Wie aus der obigen Abbildung hervorgeht waren 30 % der Warnungen (Alert Notifications) auf die mikrobielle Kontamination von Lebensmitteln bezogen.

Die europäische Politik einen hohen Grad an Sicherheit bei Lebensmittel zu garantieren und gleichzeitig den Nährwert der Lebensmittel und die Freude am Lebensmittel zu erhalten ist eine bedeutende Herausforderung und erfordert eine ins Einzelne gehende gute Kenntnis der mikrobiellen Ökologie und des Verhaltens von Mikroorganismen. Nur durch die Nutzung von Kenntnissen darüber wie Mikroorganismen auf verschiedene technologische Prozessparameter wie Salzgehalt, Hitze, pH-Wert, Konservierung und Kühlung auf Basis der Vorgeschichte und der Zusammensetzung des Lebensmittels reagieren, ist es möglich einen hohen Grad an Lebensmittelsicherheit zu garantieren, ohne Nährwert und Freude am Lebensmittel zu schmälern.

Wenn man bedenkt, dass Sterilisierung von Lebensmitteln nicht allgemein anwendbar ist und sie mit beträchtlichen Verlusten des Nährwertes und der organoleptischen Qualität verbunden ist, so besteht praktisch immer ein gewisses Risiko bei Verzehr von Lebensmitteln. Das auch dann wenn der höchstmögliche Grad an Hygiene in Produktion und Kühlkette aufrecht erhalten wird. Das Wachstum der Mikroorganismen in Lebensmitteln hängt von mehreren Faktoren ab, in erster Linie von der nachträglichen Kontamination und der Lagertemperatur.

Um die Sicherheit von Lebensmitteln über die Kontrolle durch Produzenten und Verteiler hinaus zu verbessern ist es wichtig Kenntnisse über Pathogene in Lebensmittel an Konsumenten in einfacher und verständlicher Weise heranzubringen.

Europäische Maßnahmen, um dieses Ziel zu erreichen sind es, Forschung in diesem Bereich zu unterstützen und die Übermittlung dieser Ergebnisse an den Konsumenten und an Meinungsmacher im weitesten Sinn des Wortes sicher zu stellen.

Die Forschung konzentriert sich auf nachstehende Bereiche:

- Einrichtung einer Europäischen Agentur für Lebensmittelsicherheit (34,36)
- Einrichtung eines Warnsystems für Lebens- und Futtermittel (Rapid Alert System)
- Forschung um das Eindringen und die Vermehrung von Pathogenen in Lebensmittel zu verstehen
- Forschung um die Folgen für die Sicherheit in Bezug auf die Kontamination von Lebensmittel mit Pathogenen abzuschätzen
- Parameter zu verstehen, die die Entwicklung der Pathogenen in Lebensmittel bestimmen und solche Entwicklungen und ihre Folgen physiologisch wie auch mikrobiell durch Modelle abzuschätzen
- Forschung zur Rückverfolgbarkeit von Lebensmittel zur raschen und verlässlichen Feststellung und Beseitigung der Kontaminationsquellen.

III- Pathogene in Lebensmittel – Stand der Kenntnis

Im Rahmen der ersten gesamteuropäischen Konferenz über Lebensmittelqualität und –sicherheit in Budapest am 25.2.2002 schätzte die WHO, dass weltweit eine Milliarde Fälle von lebensmittelbedingten Erkrankungen jährlich auftreten. Ein Drittel der Bevölkerung in Industriestaaten werden jährlich durch solche Erkrankungen beeinträchtigt, was sich in menschlichem Leid und Verlusten von Milliarden von Euro (3/) niederschlägt.

Erkrankungen ausgelöst durch Bakterien, Pilze oder Viren in Lebensmitteln betragen in den USA jährlich 76 Millionen Fälle, davon 325.000 mit Spitalsaufenthalt und 5.000 Todesfälle. Die Infektiosität von Lebensmittelpathogenen ist schwierig abzuschätzen und vorherzusagen, weil diese nicht nur von der Art des Mikroorganismus sondern auch von Infizierten, dessen Milieu und seiner Umwelt abhängt.

Bakterien in Lebensmitteln

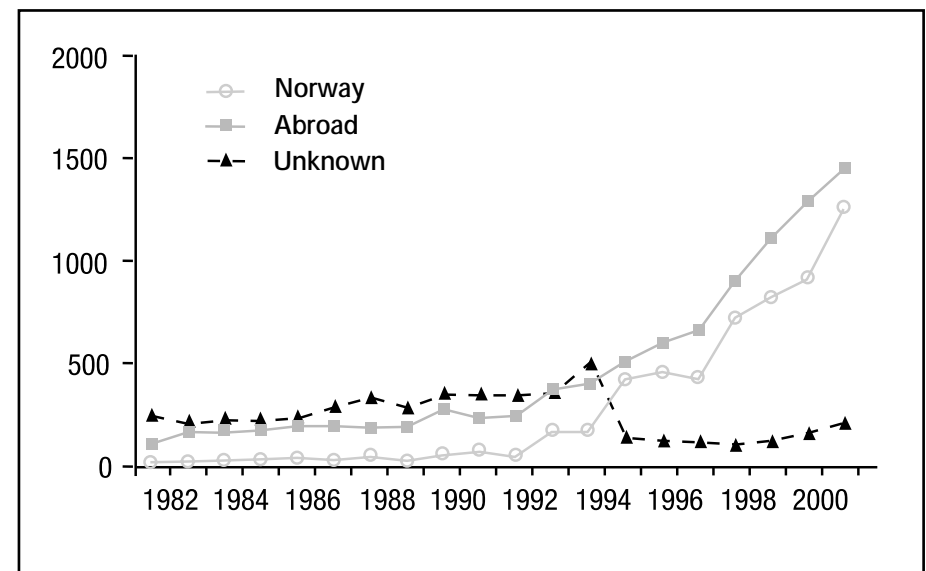
Im April 2000 veröffentlichte das Wissenschaftliche Komitee für Veterinärmedizinische Maßnahmen betreffend die öffentliche Gesundheit eine Stellungnahme über die Zoonosen in der Nahrungsmittelkette. Das Komitee nannte sieben Lebensmittel – Pathogene (*Salmonellen*, *Campylobakter*, *Verotoxinbildende Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Cryptosporidium*, *Echinococcus granulosus*, *Trichinella spiralis*) als hohes Risiko für die Gesundheit in Europa (1).

Es ist schwierig verlässliche statistische Angaben über von Lebensmitteln verursachte Erkrankungen zu erhalten, weil sie von unterschiedlichen Pathogenen stammen.

Nach Meinung des Wissenschaftlichen Komitee kann geschlossen werden, dass ein Anwachsen der von Lebensmitteln verursachte Erkrankungen seit den letzten 20 Jahren feststellbar ist. Es wurde allerdings auch festgehalten, dass verbesserte Diagnosemethoden und bessere Erfassungssysteme das Ergebnis beeinflusst haben könnten. Überlicherweise wird *Salmonella* als häufigste von Lebensmitteln verursachte Erkrankungen, die Darminfektionen mit schwerer Entwässerung und Durchfall verursacht, angesehen.

Allerdings ist in jüngster Zeit die Zahl der Salmonellosisfälle rückläufig – vermutlich wegen der besonderen Aufmerksamkeit, die *Salmonellosis* besonders von Geflügel erfahren hat.

Nach dem Jahresbericht des Communicable Disease Surveillance Centre in London wurden nur 14.000 Fälle von *Salmonellosis* in UK registriert, verglichen mit 56.000 Fällen von *Campylobacter* Infektionen. Die Mehrzahl der Fälle – bis zu 95% - von *Campylobacter* Infektionen war von *Campylobacter jejuni* verursacht. Die infektiöse Dosis von *C. jejuni* beträgt weniger als 500 Organismen. Die folgende Abbildung (32) zeigt die Entwicklung der *Campylobacter* Infektionen in Norwegen zwischen 1982 und 2000 unterteilt nach Infektionen die in Norwegen erfolgten, Infektionen von außerhalb und Infektionen unbekanntem Ursprungs.



Wie die Abbildung zeigt musste eine dramatische Steigerung von Campylobacteriosis ab 1995 festgestellt werden. Diese Entwicklung ist nicht auf Norwegen beschränkt sondern eine generelle Erscheinung in vielen europäischen Ländern wie Österreich, Dänemark, Finnland, Irland, Spanien und Schweden.

Pilze auf Lebensmitteln

Etliche Arten, vor allem *F. oxysporum*, *F. Solani*, *F. moniliforme* sind als Humanpathogene bekannt. Das Risiko bei Pilzen besteht in deren Fähigkeit verschiedene Toxine zu bilden, von denen Aflatoxin und andere Mykotoxine gut bekannt sind. Ein Flair Flow Bericht „Mykotoxine“ (41) befasst sich mit der Mykotoxinbildung auf Getreide, Nüssen und anderen Lebensmitteln.

Parasiten auf Lebensmitteln

Malaria ist mit Abstand die häufigste durch Parasiten verursachte Erkrankung weltweit. In gemäßigten Zonen können andere Parasiten dominieren. In Europa und den USA haben Infektionen mit *Cryptosporidium* dramatisch zugenommen (7,13) hingegen sind Nematoden-Infektionen gesunken.

Ein massiver Ausbruch von Cryptosporidiose in Milwaukee, USA, aufgrund einer Wasserversorgungsanlage mit filtriertem Wasser beeinträchtigte mehr als 400.000 Personen im Jahr 1993 (4).

Viren in Lebensmitteln

Die Übertragung von Viren mit Lebensmitteln ist bekannt und steht oft in Beziehung mit Lebensmittel tierischer Herkunft, mit Fischen oder Gemüse, das mit Gülle gedüngt wurde oder tierische Abfälle aufweist. Das größte Risiko bilden rohe Lebensmittel wie Austern.

IV- Methoden zur Beseitigung von Lebensmittelpathogenen

Ausreichende Hygiene, Hitzebehandlung und Kühlung sind die wichtigsten Techniken, um das Risiko der Infektion mit Lebensmittelpathogenen zu verhindern.

Hitzebehandlung war die wesentliche Schutzmaßnahme seit ihrer Entdeckung durch Louis Pasteur 1865. Hitzebehandlung tötet die meisten Pathogene ab, ausgenommen manche Sporenbildner unter denen *Clostridium difficile* und *Bacillus cereus* die gefährlichsten Humanpathogene sind. *Clostridium botulinum* ist ein gefährlicher Toxinbildner, wiewohl der Organismus selbst nicht infektiös ist. Wie *Clostridium botulinum* ist auch *Staphylococcus* ein Toxinbildner. Im Gegensatz zum Botulinum Toxin welches bei etwa 90°C durch Hitze zerstört wird, ist das Toxin von *Staphylococcus* extrem hitzestabil und widersteht auch der Sterilisierung. Wird von *Staphylococci* Verotoxin produziert so wird durch Hitzebehandlung zwar der Organismus zerstört, nicht aber das Toxin, was es besonders gefährlich macht. Ein Beispiel aus Japan wo Milch der Snow Brand Molkerei zufällig mit Verotoxin produzierenden *Staphylococci* kontaminiert wurde, verursachte die Vergiftung einiger Personen in Tokio, obwohl der Mikroorganismus selbst durch Sterilisierung abgetötet war.

Pasteurisieren führt nicht zu Sterilität. Stärkere Hitzebehandlung führt zwar zur Sterilität, beeinträchtigt jedoch den Nährwert und die organoleptische Qualität der Lebensmittel.

Kühlen ist eine weitere effektive Schutzmaßnahme gegen das Wachstum von Mikroorganismen in Lebensmitteln. Psychotrope Organismen wie *Pseudomonas*, *Bacillus* und *Listeria* sind allerdings auch fähig sich bei niederen Temperaturen bis hinunter zu 4°C zu vermehren.

Die Hauptgefahr beim Einsatz der Kühlung ist das Risiko der Unterbrechung der Kühlkette wodurch die Kontrolle über das Wachstum der Mikroorganismen verloren geht.

Einsatz des geeigneten pH – Wertes oder antimikrobieller Stoffe sind weitere wirkungsvolle Maßnahmen der Kontrolle von Pathogenen in

Lebensmitteln. Bei pH Werten geringer als 5,3 zeigen die meisten Pathogenen keine Aktivität mehr. Ausnahmen sind *Listeria monocytogenes* und einige Arten von *Bacillus*.

Antimikrobielle Stoffe wie Sorbinsäure, phenolische Verbindungen und Antibiotika wie Pimaricin hemmen das Mikrobewachstum wirkungsvoll. Allerdings sind Antibiotika aus gesundheitlichen Gründen oft nicht annehmbar.

Bakteriocine sind besondere Arten von antimikrobiellen Stoffen.; sie werden von harmlosen Bakterien erzeugt und wurden mit gewissem Erfolg eingesetzt. Die üblichen und bekanntesten sind Nisin, Prdiococin, Reuterin u.a. Diese Bacteriocine werden auf natürlichem Weg von Mikroorganismen die etwa bei der Bier-, Wein-, Gemüseherstellung verwendet werden und als sicher gelten solange sie in diesen Fermentationsverfahren eingesetzt werden, gebildet.

Einige dieser Bacteriocine, die aus Fermentationsgemischen konzentriert und isoliert wurden, wie Nisin und Pediocin sind in einigen Ländern zu Konservierungszwecken zugelassen. Es besteht eine große Einsatzmöglichkeit für derartige „natürliche“ Inhibitoren, um Pathogene in Lebensmitteln zu kontrollieren. Ihre Beschränkung liegt in der Tatsache, dass sie nur begrenzt und sehr spezifisch wirksam sind. Um in nicht-fermentierten Lebensmitteln eingesetzt zu werden müssen sie isoliert und als Zusatzstoffe zugelassen werden.

Organismen, die solche Inhibitoren wirksam gegen Pathogene produzieren haben den größten Anwendungsbereich bei fermentierten Lebensmitteln wie Käse. Beträchtliche Forschungsanstrengungen werden gemacht Stämme von Mikroorganismen (Bakterien, Hefen, Schimmel) zu finden, die Inhibitoren von Pathogenen erzeugen können ohne dass Metaboliten die die Sicherheit oder sensorische Qualität beeinflussen, entstehen.

Die Entwicklung geht in Richtung des Einsatzes mehrerer unterschiedlicher Techniken, - das Konzept wird „Geringfügige Verarbeitung“ (minimal processing) genannt. Indem beispielsweise mäßiges Erhitzen, Kühlen und Konservierung unter kontrollierter Atmosphäre, o.ä kombiniert angewendet wird, scheint es möglich eine ausreichende Lagerdauer zu erreichen ohne Sicherheit oder Nährwert oder die sensorische Qualität wesentlich zu beeinflussen.

V- Risiko – Management

Um ein ausreichendes Maß an Sicherheit und Lagerdauer von Lebensmitteln zu gewährleisten, ohne den Nährwert, oder die Genusstauglichkeit zu beeinträchtigen oder Lebensmittel zu verbieten, die eine lange Tradition als besondere Delikatesse jedoch zweifelhaft mikrobiologische Sicherheit besitzen, ist es erforderlich in die Technologie der „geringfügigen Verarbeitung“ Hochtechnologie einzuführen.

Um dies zu erreichen sind ausreichende Kenntnisse bezüglich der verschiedenen Parameter die Physiologie, Wachstum und Hitzeresistenz des Lebensmittelpathogens kontrollieren und lenken können. Der Einfluß des Substrat, die Anwesenheit anderer Mikroorganismen u.ä, muß gleichfalls bekannt sein.

Zu allererst muß die Gefahr hinsichtlich Schaden / Nutzen Verhältnis bewertet werden. Es ist einleuchtend, dass das Lebensmittel sicher sein muß, jedoch ist Sicherheit relativ und es wird immer ein geringes Risiko bestehen, wenn Lebensmittel verzehrt werden. Die Gefahr muß kontrolliert werden und zwar so, dass ein annehmbares Maß nicht überschritten wird (**Risikobewertung**).

Mit dieser Kenntnis dürfte es dann möglich sein, Modelle zur Vorhersage des Risikos für verschiedene Lebensmittel unter verschiedenen Bedingungen zu entwickeln. In der Praxis jedoch ist dies äußerst schwierig verlässliche Modelle zu entwickeln, die die Entwicklung des Pathogens während der Herstellung und Lagerung beschreiben. Solche Modelle sind nötig zur Handhabung des Risikos (**Risiko Management**). Tatsächlich haben jüngste Forschungsergebnisse gezeigt, dass die Beziehung zwischen mikrobiologischer Qualität eines bestimmten Lebensmittels am Ende der Herstellung und seine Lagerfähigkeit schlecht ist und oft überhaupt nicht existiert.

EU – geförderte Forschung zur Erfassung der physiologischen Parameter verschiedener Lebensmittelpathogene und Versuche diese mit der Haltbarkeit und Sicherheit des Lebensmittels zu korrelieren laufen derzeit noch. Es ist noch ein langer Weg, jedoch umso besser die Kenntnis desto besser ist die Vorhersagemöglichkeit und desto besser auch die Möglichkeiten des Risiko – Managements.

Wissen um die Risiken mit denen der Verzehr von Lebensmitteln, die Pathogene enthalten verbunden ist und die Kenntnis jener Parameter, die ihre Entwicklung steuern sind die Grundlage für geeignete Maßnahmen. Deshalb ist es erforderlich, dass Forschungsergebnisse an die Öffentlichkeit gebracht werden und zwar so rasch wie möglich und in für Konsumenten und Handel verständlicher Sprache (Risikokommunikation).

VI- EU – geförderte Forschung im Bereich Lebensmittelpathogene

Grundgelegt in der EU – Lebensmittelpolitik hat die Europäische Kommission mehrere gesamteuropäische Forschungsprojekte gefördert mit dem Ziel die Sicherheit der Lebensmittel zu erhöhen ohne jedoch deren Nährwert oder Genussfähigkeit zu beeinträchtigen und ohne das Recht der Bevölkerung anzutasten, in bestimmten Regionen Freude an lange und tiefverwurzelten traditionellen Lebensmittel zu haben. Um die Forschungsergebnisse bekannt zu machen und auszuwerten hat Flair Flow Europe mehrere Berichte publiziert. Der Bericht „Rapid Detection of Microbial Contamination / Activity“ und „Food Quality Sensors“ W (38,40) konzentrieren sich auf neue Analysetechniken; der Bericht „New Methods in Food Processing“ (39) befasst sich mit neuen Lebensmitteltechnologien während dieser Bericht über Lebensmittelpathogene, Kontamination, Entwicklung und Prävention berichtet.

Die Verunreinigung von Lebensmitteln mit Pathogenen ist die Ursache des Risikos von Infektion oder der Lebensmittelvergiftung durch Verzehr von Lebensmitteln.

Deshalb ist es wichtig Kontaminationswege und Träger von Kontaminationen zu identifizieren und damit das Risiko der Kontamination zu verringern.

Wird ein Lebensmittel verunreinigt ist es wichtig eine Technologie zur Hand zu haben, die das Lebensmittelpathogen so wirksam wie nur möglich inaktiviert und die Entwicklung des Pathogens bei unvollständiger Inaktivierung oder eine nachträgliche Infektion zu kontrollieren.

Um die Inaktivierungstechnologie zu optimieren ist eine sorgfältige und gute Kenntnis erforderlich wie verschiedene Pathogene auf das Inaktivierungsmedium reagieren (zumeist Hitze) und das unter verschiedenen Bedingungen wie Zusammensetzung (Fettgehalt, Wasseraktivität, pH, Salzgehalt usw), Vorgeschichte des Organismus und des Lebensmittels um das es geht. Es ist bekannt, dass

mikrobiologische Anpassung bei der thermischen Inaktivierung eine Rolle spielt und dass Parameter wie pH, Salz und Wasseraktivität kritische Parameter in Bezug auf die Hitzeinaktivierung sind.

Um Pathogene, die überlebt haben oder aus Kontaminationen nach der Verarbeitung stammen zu kontrollieren ist die Kühlung ein wichtiger Parameter. Jedoch wo machbar sollten auch andere Parameter in Kombination mit der Kühlung kontrolliert werden. Solche Parameter sind Anpassung des pH – Wertes, - entweder chemisch oder durch Fermentation – Anpassung des Salzgehaltes, Wasseraktivität und der Einsatz von Konservierungsmitteln einschließlich der Oberflächenbehandlung mit Konservierungsmitteln. Konservierungsmittel sind sehr wirkungsvoll jedoch können sie aufgrund von Konsumentenwünschen nicht immer angewendet werden. Die „Biokonservierung“ ist zwar vielversprechend – sie kann direkt (Nisin, Pediocin, Reuterin) oder indirekt durch Einsatz von Biocine produzierenden Mikroorganismen aus Gärprozessen erfolgen. Letztere wurden in fermentierten Lebensmitteln wie Milch, Käse, Fleisch oder Gemüse verwendet. Ihr Potential ist noch nicht ausgeschöpft und die Suche nach Mikroorganismen, die Bacteriocine produzieren geht weiter.

Es ist klar, dass die Kontrolle von Lebensmittelpathogenen extrem schwierig ist. Bei bestimmten Lebensmitteln ist die Beseitigung der Pathogenen möglich, bei anderen nicht. Betrachtet man diesen Umstand und die Komplexität der Parameter, die das Wachstum von Mikroorganismen in Produktion und Lagerung beeinflussen, so sind große Anstrengungen gemacht worden, um Modelle zur Vorhersage des Wachstums zu erstellen.

Innerhalb des 5. Rahmenprogrammes hat die Europäische Kommission insbesondere Forschungsprojekte gefördert, die eine höhere mikrobielle Sicherheit durch besseres Verständnis der Physiologie der Pathogene gewährleisten und die Konservierungs- und Inaktivierungstechnologie verbessert.

Einige dieser Forschungsprojekte und ihr Beitrag zum Fortschritt bei der Lebensmittelsicherheit und dem Risiko – Management werden nachstehend kurz beschrieben.

Distribution and reservoirs of emerging Campylobacteraceae in the food chain “CAMPYCHECK” (Ref. 29)

Das CAMPYCHECK Projekt hat das Ziel das steigende Vorkommen von Campylobacteriaceae in Kliniken, Faeces und der Lebensmittelkette in Europa und Nordamerika zu erfassen. Ein weiteres Ziel war es bestehende Detektions- und Identifizierungsmethoden so anzupassen, dass isolierte Kolonien einwandfrei bestimmt werden können und die Prävalenz auftretender Campylobacteriaceae in der Nahrungskette abgeschätzt werden kann.

Enterococci in food fermentations “ENTIP” (Ref. 11, 22)

Enterococci gehören zur Gruppe der milchsäureproduzierenden Bakterien. Enterococci spielen bei der Käsebereitung eine wichtige Rolle -. Insbesondere bei mediterranen Käsen.

In Rahmen dieses Projektes wurden insgesamt 405 Stämme Enterococci in Lebensmitteln, von Tieren und Menschen gesammelt. Von diesen 405 Stämmen zeigten 122 Inhibitorwirkung gegen *Listeria*, *Clostridium* und oder *Propionibacterium*. Von diesen waren 63 *E. faecium* Stämme, 41 *E. faecalis*, 8 *E. durans*, 5 *E. hirae*, 2 *E. gallinarum*, 1 *E. casseliflavus*, 1 *E. mundtii*, 1 *E. avium*.

8 Stämme von *E. faecalis* und 5 Stämme von *S. faecium* zeigten hämolytische Effekte bei menschlichen Blutzellen (3).

Zwei Stämme wiesen stark anti-*Listeria*- Aktivität auf (*E. faecium* RZS C5 und *E. faecium* DPC 1146) und wurden weiter untersucht (3).

Ihre Charakteristika waren folgende:

- Enterocinbildung in entrahmter Milch war geringer als auf MRS – Medium und erfolgte hauptsächlich in der stationären Phase
- Wenn Caseinhydrolysat zur Milch zugegeben wurden steigerte sich die Bacteriocin – Bildung und begann früher
- Co – Kulturen von Enterococci und Starter ergaben keine messbare Aktivität während der Milchfermentation
- Die spezifische Bacteriocin – Aktivität war größer wenn die Kultur bei pH 5,5 wuchs als bei pH 6,5, obwohl die Wachstumsgeschwindigkeit bei pH 6,5 größer war.

- Stämme von *Leuconostoc* und *Lactococci* wurden nicht inhibiert.

Daraus wurde geschlossen, dass bacteriocinproduzierende *E. faecium* Stämme keine hämolytische Aktivität besitzen und keine Cytolysin noch Vancomycin – Resistenzgene besitzen und als Starterkulturen nützlich wären.

Obwohl *E. faecalis* den größten Inhibitoreffekt zeigt wird empfohlen die Aufmerksamkeit auf *E. faecium* in Lebensmittelkulturen zu richten, da sie nur selten das Cytolysin bilden.

A risk assessment of *Cryptosporidium parvum* – an emerging pathogen in the food and water chain in Europe “CARAFE” (Ref. 18, 19, 26)

Dieses Projekt des 5. Rahmenprogramms zielt auf *C. parvum* in mehreren Bereichen, insbesondere auf die Entwicklung eines Systems zur Risikoabschätzung für *C. parvum* in Wasser und Lebensmittel.

Die geplante Abschätzung des mikrobiologischen Risikos für *C. parvum* im Lebensmittel (Fleisch, Salat) und im Wasser beruht auf Daten, die im Projekt produziert wurden und auf solchen der Literatur betreffend das Vorkommen und Exposition von Oocysten.

Daten der Literatur und aus dem Projekt wurden herangezogen, um den Prozeß zu modellieren, der zur Infektion mit *Cryptosporidium* durch Aufnahme von Wasser, Rindfleisch und Salat führt.

Die wesentlichen Ergebnisse dieses Projektes waren :

- *Cryptosporidium* Oocysten sind sehr resistent gegenüber den meisten Umweltfaktoren, die ansonsten für die meisten Mikroorganismen tödlich sind, wie Salzgehalt, niedere Temperatur, die meisten Desinfektionsmittel und pH.
- Das Risiko einer *Cryptosporidium* – Infektion von Trinkwasser ist gering, sie beträgt 1 – 5 Millionen / Jahr unter Normalbedingungen.
- Das Risiko einer *Cryptosporidium* – Infektion von Salat besteht in erster Linie in Abhängigkeit von der Düngung mit verunreinigtem

tierischen Dünger oder über verunreinigtes Oberflächenwasser. Unter normalen Bedingungen beträgt das Risiko einer *Cryptosporidium* – Infektion durch Verzehr von Salat nur 1 von 23.000 Portionen. Jedoch ist das Risiko deutlich höher in den Fällen, in denen der Salat einer Düngung mit tierischem Dünger oder Abfall ausgesetzt ist.

- Das Risiko einer *Cryptosporidium* – Infektion vom Rind ist bedeutend, wenn das Fleisch nicht völlig gekocht oder nachträglich kontaminiert ist. Der Verzehr von rohem Rindfleisch stellt ein Risiko von 1 in 400 für eine Infektion mit *C. parvum* Oocysten dar.
- Kochen tötet *Cryptosporidium* Oocysten nachhaltig.
- Cluster von *Cryptosporidiosis* werden allgemein nach heftigen Regenfällen registriert, besonders in landwirtschaftlichen Gegenden, wo die Oocysten von infizierten Tieren den Boden verunreinigen und in die Wasserversorgung gespült werden.

Eine allgemeine Schlussfolgerung ist, dass die wesentlichen Faktoren die das Risiko von *Cryptosporidien* Oocysten die von Lebensmittel herrührt Hygiene und sachgerechte Behandlung von Lebensmitteln sind.

Das Ergebnis dieser Forschung – besonders die Beziehung zwischen Auftreten der *Cryptosporidiose* und verunreinigtem Wasser aus Bohrlöchern – hat bedeutende Rückwirkungen für künftiges Monitoring und die Behandlung dieses Typs der Wasserversorgung.

Verocytotoxigenic *E. coli* in Europe “VETEC” (Ref. 24)

Dieses Projekt ist eine „Concerted Action“ mit dem Ziel europäische Wissenschaftler zusammen zu bringen, um das Wissen über verocytotoxische *E. Coli* (VETEC) zu vereinen. VTEC werden von Tieren transportiert, überleben in Wasser und Böden und können auch in die Nahrungskette gelangen. Etwa 100 Serotypen von VTEC wurden identifiziert aber nur 6 – 7 wurden bisher in Lebensmitteln gefunden. Diese Forschungsanstrengungen ergaben Publikationen und ein Buch, das die Kenntnis über dieses Pathogen auf den neuesten Stand bringt und Empfehlungen für die Behandlung dieses Organismus gibt.

Bacillus cereus foodborne poisoning in Europe – Detecting hazardous strains, tracing contamination routes and proposing criteria for foods “BACILLUS CEREBUS” (Ref. 27)

Das Ziel dieses Projektes ist es, Erkenntnisse über die Identifizierung von hoch virulenten Lebensmittelvergifter – Stämmen von *B. cereus* zu erhalten und Methoden und Maßnahmen zu empfehlen, das Vorkommen in Lebensmitteln zu verringern.

B. cereus ist ein sporenbildender Mikroorganismus, der in Lebensmitteln vorkommt und Gastroenteritis, Durchfall oder das emetische Syndrom durch einige Enterotoxine und ein emetisches Toxin hervorrufen kann. In Abhängigkeit vom jeweiligen Stamm ist die Virulenz sehr hoch, obwohl noch keine Methoden der Differenzierung existiert. Das Bakterium wird in allen Lebensmitteln gefunden, aber Produkte die Gemüse oder Milch enthalten und durch Erde verunreinigt sind, sind besonders risikoreich.

Die Ergebnisse der Forschung zeigen, dass emetische Stämme nur 0 – 12% der *B. cereus* der Isolate ausmachen. Weiters haben die Teilnehmer an diesem Projekt neue besonders empfindliche immunologische Methoden entwickelt um das durchfallauslösende Toxin zu entdecken. Es wurden auch die Gene identifiziert, die für die Produktion des emetischen Toxins verantwortlich sind, womit eine PCR – Methode zu dessen Detektion entwickelt werden kann.

Virus safe seafood “V-S SEAFOOD” (Ref. 21)

Ziel des Projektes „V-S SEAFOOD“ ist es rasche Methoden zur Bewertung der Kontamination von Schalentieren mit menschlichen Viren zu liefern.

Die EU – Vorschriften schreiben eine Reinigung von Muscheln, die mit Bakterien verunreinigt sind, jedoch ist die Wirksamkeit des Reinigungsvorganges nicht gut dokumentiert.

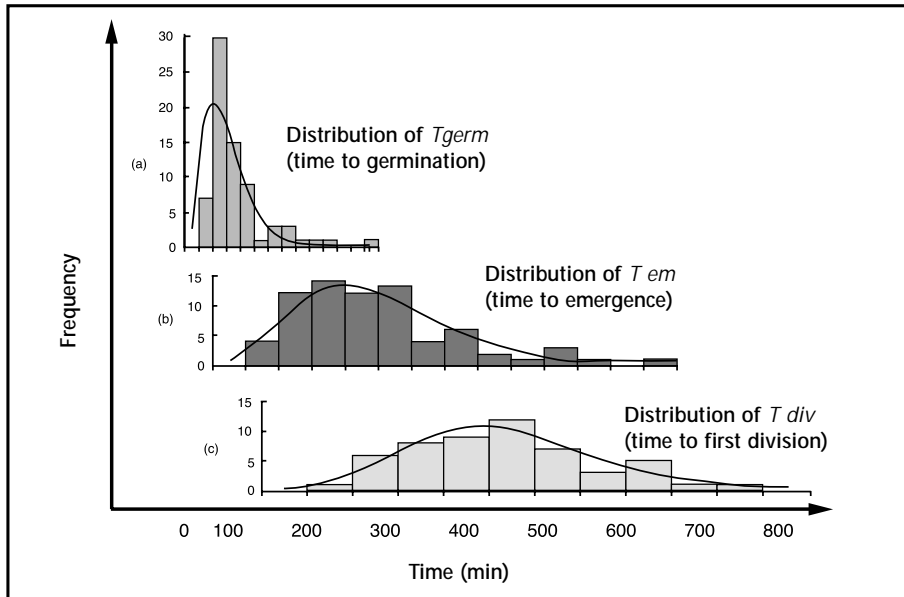
Es wird erwartet, dass das Projekt Informationen über das Ausmaß der Kontamination von Muscheln mit menschlichen Viren und die Wege solcher Kontaminationen gibt sowie die Wirksamkeit der Entfernung der Viruspartikel während des Reinigungsprozesses zeigt.

Optimisation of safe food processing methods based on accurate characterisation of bacterial lag time using analysis of variance techniques “BACANOVA” (Ref. 28)

Ziel dieses Projektes ist es eine Methode zur Verbesserung der mikrobiellen Sicherheit und Qualität von Lebensmittel basierend auf einem stochastischen mathematischen Modell. Es hat drei Ziele :

- den Einfluß von Verarbeitungsmethoden in Bezug auf mikrobielle Sicherheit und Lebensmittelqualität zu optimieren
- genauer die Wahrscheinlichkeit des Überlebens von Bakterien, lag - Zeit und Wachstum in Lebensmitteln vorhersagen
- entwickeln einer Methodologie mit der es möglich ist die Informationen über die individuelle Variabilität der Zellen zu verwenden und diese ergänzend zur derzeitigen Technik der voraussagenden Mikrobiologie zu verwenden.

Wie in der folgenden Abbildung gezeigt, beginnen Sporen von *Clostridium botulinum* innerhalb 12 Minuten nach Medienzugabe zu keimen. Die meisten Sporen (81%) keimen innerhalb von 20 bis 70 Minuten, obwohl das Keimen erst nach 450 Minuten zuerst beobachtet wurde. Die schnellste Zeit bis zum Auftreten war 80 Minuten, obwohl die meisten vegetativen Zellen (89%) zwischen 80 und 360 Minuten auftraten, jedoch einige brauchten länger als 600 Minuten. Die Zeit bis zur ersten Teilung schwankte zwischen 190 Minuten und über 700 Minuten.



Germination, Emergence and Division of *C. botulinum* spores as function of time (after Webb, et al.)(Ref. 20)

Obwohl eine Spore rasch keimen kann entsteht und vergrößert sie sich nicht notwendigerweise proportional zu seinen keimenden Konkurrenten.

Die Häufigkeitsverteilung zeigt beträchtliche Unterschiede bei der Zeit bis zum Keimen bzw. zur ersten Teilung. Dieser Umstand trägt zu den Schwierigkeiten bei, die beim Erstellen von Modellen über Keimung und Wachstum von Sporenbildnern bestehen.

Characterisation of *Listeria monocytogenes* to provide tools to predict biofilm formation during cheese making "LMTOOCHE" (Ref. 30)

Listerien sind ein großes Risiko im Zusammenhang mit der Käseherstellung. Das „LMTOOCHE“ Projekt hat das Ziel *Listeria monocytogenes* aus Molkereiumgebung zu isolieren und die biochemische und physiologische Charakteristik der Stämme zu bestimmen.

Durch diese Charakterisierung hofft man jene Faktoren zu finden, die für die Persistenz der Listerien in der Molkereiumgebung verantwortlich bind. Vor allem die Bildung von Biofilmen soll bewertet werden. Das vorrangige Ziel ist es Maßnahmen zu finden, die Listerien zu kontrollieren erlaubt und die eine gute Herstellungspraxis erlaubt.

Research on factors allowing a risk assessment of spore-forming pathogenic bacteria in cooked-chilled foods containing vegetables "RASP" (Ref.23)

Ziel dieses Projektes ist es eine modulare Prozess Risiko Modell (MPRM) Methode zu entwickeln, die das mikrobielle Risiko quantitative anzuschätzen erlaubt (QMRA).

Bacillus cereus wurde als Modellorganismus im Modellexperiment verwendet.

Die Ergebnisse dieser Forschung und die Modelle sind in folgenden Publikationen niedergelegt (5,8,9,10,12,14,15,16,17).

Die wesentlichen Feststellungen des Projektes sind folgende :

- Es besteht eine beträchtliche Kluft in unserer Kenntnis über Sporulation und Keimung von Sporenbildnern
- *B. cereus* Gehalt am Ende des industriellen Herstellungsprozeß ist ein schlechter Indikator für den Gehalt bei Abgabe im Handel
- Empirische Modelle auf Basis der Weibull Verteilung wurden dazu verwendet die gemeinsamen Wirkungen von pH und Temperatur auf die Resistenz von *Bacillus cereus* in Gemüsen zu beschreiben.
- Bei 20°C verhindert Kaliumsorbat (0,2% w/v) und eine Kühltemperatur (8°C) das Wachstum von *Bacillus cereus* bei pH 6,7. Bei einem pH 5,0 waren 0,09% Sorbinsäure war ausreichend das Wachstum zu verhindern.
- Weder Wachstum noch Keimung von *Bacillus* Sporen wurde bei einem pH unter 5,7 und 12°C beobachtet
- Nisin in einer Konzentration von 0,15 µg/ml war wirksam bei der Kontrolle des Wachstums von *B. cereus*. Die Wirkung von Nisin

konnte durch Kombination mit Carvacrol verbessert werden. Der Effekt war größer bei 30°C als bei 8°C.

Die wesentliche Schlussfolgerung aus dieser Forschung war, dass es noch nicht möglich ist Wachstumsmodelle zur quantitativen Abschätzung des mikrobiellen Risikos (QMRA) heranzuziehen.

Entwicklung, Bestätigung und Bewertung von Vorhersagemodellen für Lebensmittelverderb (25).

Das allgemeine Ziel dieses Projektes war es zu demonstrieren, dass Lebensmittelverderb modelliert werden kann. Überdies wurde der Einfluß des Verderbsorganismus auf den Lebensmittelverderb bewertet. Lebensmittelverderber, die untersucht wurden waren in erster Linie psychotrope wie *Pseudomonas* und verwandte Organismen, *Enterobacteriaceae*, *Brochothrix thermosphacta*, Milchsäurebakterien, Hefen und *Bacillus* spp.,

Die Lebensmittelverderber wurden mit folgenden Lebensmittelmodellen untersucht :

Steriles Obers und ein Dessert
Steriles Lebensmittel auf Gemüsebasis
Steriles rohes und gekochtes Fleisch

Die folgenden Bedingungen wurden angewendet : Temperatur 2 – 20°C, pH 4 – 7,5 und Wasseraktivität 0,95 – 0,99.

Auf Basis der Ergebnisse wurden folgende Schlüsse gezogen:

- Modelle für die CO₂ Produktion können nicht als Vorhersage für den Zeitpunkt des Beginns der CO₂ Produktion oder zur Vorhersage der Rate der CO₂ Produktion herangezogen werden.
- Die Enzymproduktion kann nicht durch traditionelles Kurvenanpassen modelliert werden.
- Aus vielerlei Gründen ist das Modellieren des Wachstums auf Basis der Bildung flüchtiger organischer Metaboliten nicht machbar

- Die Enzymproduktion kann nicht mit dem Wachstum korreliert werden, möglicherweise weil die Enzymproduktion nur am Ende der logarithmischen Wachstumskurve beginnt
- In Ausnahmefällen tritt Proteaseaktivität bei 2°C auch auf wenn die Zahl der Mikroorganismen sehr gering ist und nur 10⁴–10⁵ cfu/ml beträgt. Überraschend konnte Lipasesynthese bei 6°C (bis zu 20°C) und Protease-Aktivität bei 2°C (bis zu 20°C).
- Im allgemeinen ist die Beziehung zwischen mikrobiellem Wachstum und Beginn des Verderbs nicht korreliert.
- Das Gesamtergebnis des Projektes zeigt, dass Messungen der lebensfähigen Organismen die verlässlichste Technik bleibt, um Daten für Vorhersagemodelle zu erhalten.
- Ein Rechenprogramm „SpoilPred“ das mit Exel funktioniert wurde im Rahmen des Projektes entwickelt.

VII- Literatur

1. Anon. (2000)

FOOD-BORNE ZOOSES
EUROPEAN COMMISSION
HEALTH & CONSUMER PROTECTION DIRECTORATE-GENERAL
Directorate B - Scientific Health Opinions
Unit B3 - Management of scientific committees II

2. Carlin, F., Girardin, H. Peck, M. W., Stringer, S. C., Barker, G. C., Martinez, A., Fernandez, A., Fernandez, P., Waites, W.M., Movahedi, S., van Leusden, F., Nauta, M., Moezelaar, R., Del Torre, M., Litman, S. (RASP) (2000)

Research on factors allowing a risk assessment of spore-forming
pathogenic bacteria in cooked chilled foods containing vegetables:
a FAIR collaborative project
International Journal of Food Microbiology 60: 117–135

3. De Vuyst, L., Foulquie Moreno, M. R., Revets, H. (2002)

Screening for enterocins and detection of hemolysin and vancomycin
resistance in enterococci of different origins.
International Journal of Food Microbiology 2635: 1– 20

4. De Vuyst, L., Foulquie Moreno, M. R. (1994)

Massive outbreak of cryptosporidiosis in Milwaukee, USA, in 1993
affected more than 400000 people.
N. Engl. J. Med. 331:161-167

5. Del Torre, M., Della Corte, M., Stecchini, M. L. (2001)

Prevalence and behaviour of *Bacillus cereus* in a REPFED of Italian origin.
International Journal of Food Microbiology 63: 199–207

6. Duffy, G., Garvey, P., McDowell, D. A. (2001)

Verotoxigenic *E. Coli*.
Book - Food and Nutrition Press, USA

7. Enemark, H. L., P. Ahrens, P., Lowery, C. J., Thamsborg, S. M., Enemark, J.M.D., Bille-Hansen, V., Lind, P. (2002)

Cryptosporidium andersoni from a Danish cattle herd: identification
and preliminary characterisation.
Veterinary Parasitology 107: 37–49

8. Fernandez, A., Collado, J., Cunha, L. M., Ocio, M. J., Martinez, A. (2002)

Empirical model building based on Weibull distribution to describe
the joint effect of pH and temperature on the thermal resistance
Bacillus cereus in vegetable substrate
International Journal of Food Microbiology 77: 147– 153

9. Fernandez, A., Ocio, M. J., Fernandez, P. S., Martinez. A. (2001)

Effect of heat activation and inactivation conditions on germination
and thermal resistance parameters of *Bacillus cereus* spores
International Journal of Food Microbiology 63: 257–264

10. Fernandez, A., Salmeron, C., Fernandez, P. S., Martinez, A. (1999)

Application of a frequency distribution model to describe the thermal
inactivation of two strains of *Bacillus cereus*.
Trends in Food Science & Technology 10: 158-162

11. Foulquie Moreno, M. R., M.C. Rea, M. C., Cogan, T. M., De Vuyst, L. (2002)

Applicability of a bacteriocin-producing *Enterococcus faecium*
as a co-culture in Cheddar cheese manufacture
International Journal of Food Microbiology 81: 73– 84

12. Guinebretiere, M. H., Girardin, H., Dargaignaratz, C., Carlin, F., Nguyen-The, C. (2002)

Contamination flows of *Bacillus cereus* and spore-forming aerobic
bacteria in a cooked, pasteurized and chilled zucchini purée processing
line.

International Journal of Food Microbiology 2565: xxx– xxx

- 13. Millary, B.C., Finn, M., Xiaox, L., Lowery, J. C., James S.G. Dooley, J. S. G., Moore, J. E. (2002)**
Cryptosporidium in foodstuffs—an emerging aetiological route of human foodborne illness.
Trends in Food Science & Technology 13: 168–187
- 14. Nautaa, M. J., Litmanb, S., Barkerc, G. C., Carlind, F. (2003)**
A retail and consumer phase model for exposure assessment of *Bacillus cereus*.
International Journal of Food Microbiology 83: 205– 218
- 15. Nauta, M. J. (2002)**
Modelling bacterial growth in quantitative microbiological risk assessment: is it possible?
International Journal of Food Microbiology 73: 297– 304
- 16. Nauta, M. J., Carlind, F. (2001)**
A modular process risk model structure for quantitative microbiological risk assessment and its application in an exposure assessment of *Bacillus cereus* in a REPFED
RIVM report 149106 007
- 17. Periago, P. M., Moezelaar, R. (2001)**
Combined effect of nisin and carvacrol at different pH and temperature levels on the viability of different strains of *Bacillus cereus*.
International Journal of Food Microbiology 68: 141–148
- 18. Simone Caccio, S., Spano, F., Pozio, E. (2001)**
Large sequence variation at two microsatellite loci among zoonotic (genotype C) isolates of *Cryptosporidium parvum*
International Journal for Parasitology 31: 1082–1086
- 19. Simone Caccio, S., Spano, F., Pozio, E. (2001)**
Large sequence variation at two microsatellite loci among zoonotic (genotype C) isolates of *Cryptosporidium parvum*.
International Journal for Parasitology 31: 1082–1086.
- 20. Webb, M.D., Stringer S.C., Pigott R.B., Baranyi, J., Peck, M.W.**
Germination and outgrowth of single spores of *Clostridium botulinum*,
Proceedings of the 2nd International Conference on analysis of microbial cells at the single cell level, Denmark, 2-4 June 2002.
<http://www.ifr.ac.uk/science/Posters/outgrowth.pdf>
- 21. QLK1-1999-00634-V-S SEAFOOD**
«Virus safe seafood».
<http://www.ifremer.fr/vsseafod/index.htm>
Dr. Monique Pommepuy
Ifremer – DEL, Laboratoire de Microbiologie
B.P. 70, 29280 Plouzané, FRANCE
Tel: + 33 2 98 22 43 49
Fax: +33 2 98 22 45 94 or +33 2 98 22 45 48
E-mail: pommepuy@ifremer.fr
- 22. FAIR-97-3078-SAFE/ENTIP**
«Enterococci in food fermentations, Functional and safety aspects».
<http://imol.vub.ac.be/IMDO/projects/ENTIP.html>
Dr. E. Tsakalidou,
Agricultural University of Athens, Dept. of Food Science and Technology,
Iera Odos 75, 118 55 Athens, GREECE.
Tel: +301-529 4676; Fax: +301-529 4672;
E-mail: et@auadec.aua.gr
- 23. FAIR-CT-97-3159-RASP**
«Research on factors allowing a risk assessment of spore-forming pathogenic bacteria in cooked chilled foods containing vegetables».
Dr. F. Carlin,
INRA, UMR408 Sécurité et qualité des produits d'origine végétale,
Site Agroparc, 84914 Avignon Cedex 9, FRANCE.
Tel: +33-432-722519; Fax: +33-432-722492;
E-mail: frederic.carlin@avignon.inra.fr

24. FAIR-CT98-3935-VTEC

«A European study on animal, food and biomedical aspects of verocytotoxigenic ecoli including serotype O157:h7 an emerging pathogen»

Geraldine Duffy

Teagasc, The National Food Centre,
Ashtown, Dublin 15, IRELAND

Tel: +353 1 8059500, Fax: +353 1 8059550

E-mail: g.duffy@nfc.teagasc.ie

URL: www.teagasc.ie/index.html

25. FAIR-CT-98-4083

«Development, verification and validation of predictive models for food spoilage»

Dr J.P. Sutherland

School of Health and Human Sciences
London Metropolitan University

166-220 Holloway Road

London N7 8DB, UK

Tel: + 44 (0)20 7133 2571

Fax: + 44 (0)20 7133 2571

E-mail: j.sutherland@londonmet.ac.uk

26. QLK1-1999-00775-CARAFE

«A risk assessment of Cryptosporidium parvum, an emerging pathogen in the food and water chain in Europe»

Dr. Geraldine Duffy

Teagasc, The National Food Centre,
Ashtown, Dublin 15, IRELAND

Tel: +353 1 8059500; Fax: +353 1 8059550

E-mail: g.duffy@nfc.teagasc.ie

27. QLK1-2001-00854-BACILLUS CEREBUS

«Preventing Bacillus cereus foodborne poisoning in Europe – Detecting hazardous strains, tracing contamination routes and proposing criteria for foods»

URL: http://www.avignon.inra.fr/BACILLUS_CEREUS/Page2/Project.htm

Christophe Nguyen The

INRA, Unité Mixte de Recherche A408 «Sécurité et qualité des produits d'origine végétale»

Domaine St-Paul, Site Agroparc

84914 Avignon cedex 9, FRANCE

Tel: +33 432722521 Fax: +33 432722492

E-mail: christophe.nguyenthe@avignon.inra.fr

28. QLK1-2001-01145-BACANOVA

«Optimisation of safe food processing methods based on accurate characterisation of bacterial lag time using analysis of variance techniques».

Dr József Baranyi

Institute of Food Research

Food Safety Science Division

Norwich Research Park, Colney

NR4 7UA Norwich

United Kingdom

Tel.: +44 1603 255 121

Fax: +44 1603 507 723

E-mail: jozsef.baranyi@bbsrc.ac.uk

29. QLK1-2002-02201-CAMPYCHECK

«Improved physiological, immunological and molecular tools for the recovery and identification of emerging Campylobacteraceae»

Prof C. William Keevil FIBiol FAAM

Environmental Healthcare Unit, School of Biological Sciences

Biomedical Sciences Building, University of Southampton

Bassett Crescent East, Southampton SO16 7PX, UK

Tel: 44 (0) 2380 594726; Fax: 44 (0) 2380 594459

E-mail: C.W.Keevil@soton.ac.uk

30. QLK1-CT-2002-02219-LMTOOCHE

«Characterisation of *Listeria monocytogenes* to provide tools to predict biofilm formation during cheese making»

Prof. P.W. Andrews

UNIVERSITY OF LEICESTER

University Road

LE1 7RH LEICESTER

UNITED KINGDOM

E-mail: pwa@le.ac.uk

31. Eurosurveillance Weekly archives 1997 > Volume 1 / Issue 16

32. Campylobacter in Norway

Eurosurveillance Weekly archives 2003> Volume 6 / Issue 24

33. ERS Economic research service, USA (2001)

(<http://www.ers.usda.gov/briefing/FoodborneDisease/>)

34. White Paper on Food Safety

DOC/00/1 (COM(1999)719) Brussels, 12 January 2000.

35. Risk assessment of foodborne bacterial pathogens:

Quantitative methodology relevant for human exposure assessment

EUROPEAN COMMISSION HEALTH & CONSUMER PROTECTION

DIRECTORATE-GENERAL

Directorate C - Scientific Opinions

C1 - Follow-up and dissemination of scientific opinions

(February 2002)

**36. REGULATION (EC) N° 178/2002 OF THE EUROPEAN
PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL**

28 January 2002 laying down the general principles and requirements of food law, establishing the European Food Safety Authority and laying down procedures in matters of food safety.

37. Economics of foodborne disease

(<http://www.ers.usda.gov/briefing/FoodborneDisease/>)

38. Rapid Detection of Microbial Contamination/Activity,

József Farkas, Hungarian Scientific Society for the Food Industry, Budapest, Hungary.

<http://www.flair-flow.com/industry-index.html>

39. New Methods in Food Processing,

D. Behnlian, M. Regier, M. Stahl.

<http://www.flair-flow.com/industry-index.html>

40. Food Quality Sensors,

Finn Holm, FoodGroup Denmark, Denmark. <http://www.flair-flow.com/industry-index.html>

41. Mycotoxins, Jean-Francois Quillien, INRA, France.

<http://www.flair-flow.com/industry-index.html>

