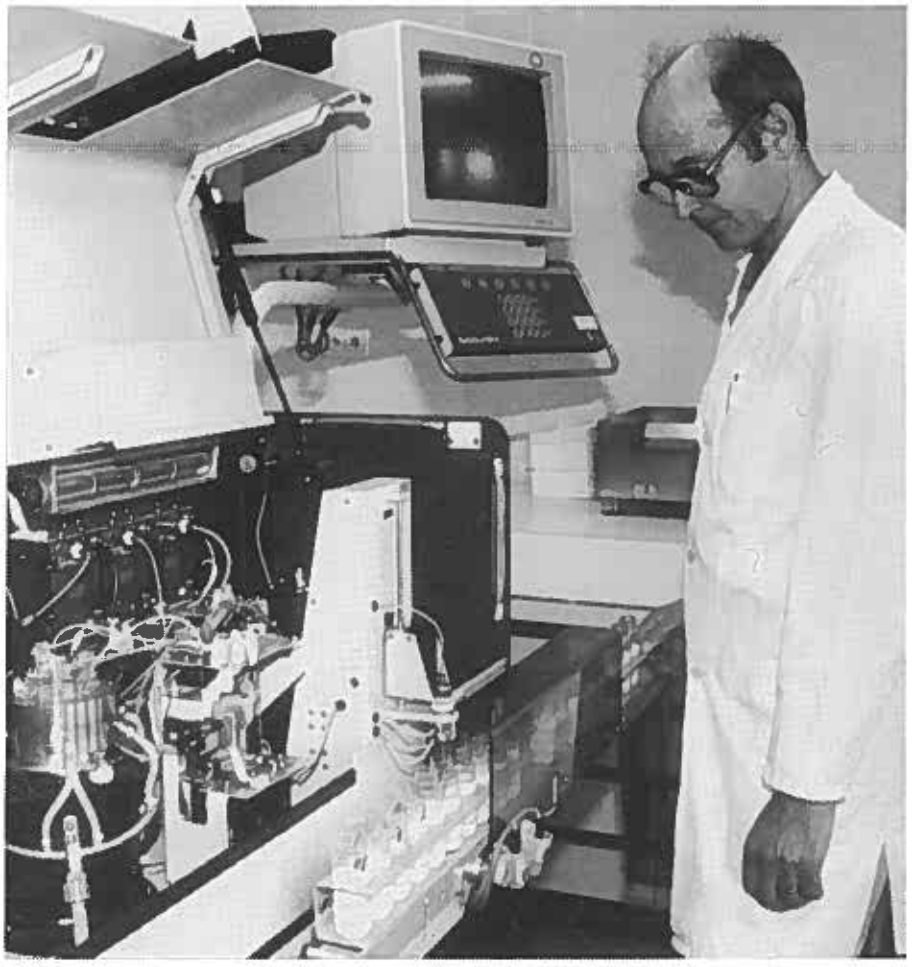
FAM INFORMATION

Juli 1996 / 327 P

Eidg. Forschungsanstalt
für Milchwirtschaft, Liebefeld
CH-3003 Bern

Qualitätskontrolle und -bezahlung der Verkehrsmilch

H. Glättli, R. Aebi



Agrarforschung **3** (3), 386-387 (1996)

Qualitätskontrolle und -bezahlung der Verkehrsmilch

Heinrich GLÄTTLI und Ricardo AEBI, Eidgenössische Forschungsanstalt für Milchwirtschaft (FAM), CH-3097 Liebefeld-Bern

Die Bestimmung der Zahl der koloniebildenden Einheiten (KbE/ml), um die Keimbelastung der Verkehrsmilch zu erfassen, ist nach heutigem Wissensstand nicht mehr zeitgemäss. Der Bundesrat hat kürzlich entschieden, für die Qualitätskontrolle und -bezahlung der Verkehrsmilch (QKB) eine neue Methode einzuführen: die fluoreszenzoptische Zählung der Einzelkeime. Diese ist präziser und wesentlich schneller. Somit stehen bei der Qualitätskontrolle für zwei Parameter je eine fluoreszenzoptische Methode zur Verfügung: für die Zählung der Einzelkeime und die der somatischen Zellen.

Die Milch ist ein ausserordentlich guter Nährboden für viele Mikroorganismen. Damit eine starke Vermehrung vermieden werden kann, sind deshalb von der Milchgewinnung bis zur Verarbeitung bestimmte Vorkehrungen zu treffen. Eine Kühlung der Milch kann hier für eine begrenzte Zeit Wirkung zeigen. Unabdingbare Voraussetzung ist jedoch die Gewinnung einer keimarmen Milch aus einem gesunden Euter mit sauberen Gerätschaften. Was geschieht bei unsachgemässer Behandlung der Milch? Gewisse Bakterien können sich unter optimalen Bedingungen innert 20 bis 30 Minuten verdoppeln (Abb. 1).

Günstige Bedingungen finden Bakterien nicht nur in ungekühlten Verhältnissen (Raumtemperaturen). Gewisse Mikroorganismen - die Kältetoleranten (Psychrotrophe) - können sich relativ schnell an tiefere Temperaturen (weniger als 10°C) angewöhnen. Deshalb kann eine Kühlung der Verkehrsmilch nur während einer beschränkten Zeitspanne die Keimvermehrung verhindern beziehungsweise verlangsamen. Und dies nur unter der Voraussetzung, dass bereits vorhandene, adaptierte Keime nach dem Gebrauch der Gerätschaften durch eine sorgfältige Reinigung und Entkeimung eliminiert werden.

Grenzen der heutigen Methode

Bei den klassischen mikrobiologischen Nachweisverfahren bedient man sich indirekter Methoden: das keimhaltige Medium (Verkehrsmilch) wird in 10er Schritten verdünnt. Von diesen Verdünnungen werden je 1 ml auf einen geeigneten Nährboden übertragen und während einer gewissen Zeit bebrütet (im Falle der Keimzahlbestimmung in der Verkehrsmilch während 72 Stunden bei 30°C). Während dieser Zeit findet eine Vermehrung statt. Aus einem einzigen Bakterium entsteht mit der Zeit eine von Auge sichtbare Kolonie. Wenn wir also bei einer 1000fachen Verdünnung 50 Kolonien erhalten, heisst dies, dass wir hier eine Keimzahl von 50'000 haben. Bei der Keimzahlbestimmung für die Qualitätskontrolle und -bezahlung der Verkehrsmilch steht diese Methode in einer modifizierten Form zur Verfügung. Die Milch wird hier nicht verdünnt, sondern man entnimmt mit einer kalibrierten Öse einen Tausendstel Milliliter (1 µl) und beimpft damit den Nährboden (Ösen-Platten-Methode).

Gewisse Bakterien treten in der Natur selten als Einzelkeime auf. Das Entstehen von Keimverbänden (Keimagglomeraten) kann eine Eigenheit einer Bakterienspezies sein, wie zum Beispiel bei Streptokokken und Staphylokokken. Gewisse Organismen bilden auf der Bakterienoberfläche Schleim, der mehrere Keime zusammenhalten und zu Keimagglomeraten führen kann. Zu den Schleimbildnern gehören unter anderem auch die psychrotrophen Pseudomonaden.

Bei der Keimzahlbestimmung bildet ein Keimagglomerat gleich wie ein einzelnes Bakterium ebenfalls eine Kolonie. Das Wort Keimzahl - obwohl gebräuchlich - ist deshalb eigentlich nicht der richtige Ausdruck. Heute spricht man korrekterweise von koloniebildenden Einheiten (KbE).

Die vermehrt praktizierte Kühllagerung der Verkehrsmilch auf dem Hof kann dazu führen, dass sich bei unzweckmässiger Reinigung und Desinfektion der Gerätschaften eine psychrotrophe Flora ansiedelt, welche sich in der kühlen Milch vermehren kann. Da gerade bei den psychrotrophen Keimen Schleimbildner vorkommen, welche Keimagglomerate bilden können, wird das Resultat mit der bisher verwendeten Ösen-Platten-Methode unter Umständen verfälscht. Keimagglomerate bilden wie Einzelkeime nur eine Kolonie. Hier findet eine Vermehrung statt, die nicht nachgewiesen werden kann. Es ist unbestritten, dass mehrere Keime in einem Agglomerat zusammen eine höhere (verderbniserregende) Aktivität aufweisen als ein einziger Keim. Somit ist die bisherige Ösen-Platten-Methode zur Bestimmung des Hygieneparameters vor allem beim heutigen Trend zur Lagerung der Milch auf dem Hof in Frage gestellt.

Die Einzelkeimzählung mittels BACTOSCAN-Gerät ist eine echte Alternative zur bisherigen Keimzahlbestimmung (Ösen-Platten-Verfahren). Die Methode basiert auf demselben Prinzip wie die Zellzahlbestimmung mit dem FOSSOMATIC-Gerät. Mit dem BACTOSCAN-Gerät wird es möglich, die einzelnen Keime auch in Keimagglomeraten zu bestimmen. Bei dieser Methode wird die Milch so vorbereitet, dass durch Zugabe einer Lysierlösung die somatischen Zellen und die Protein-Teilchen aufgelöst werden. Die Bakterien werden in einem weiteren Schritt in einer Ultrazentrifuge (Hochgeschwindigkeits-Zentrifuge) von der vorbehandelten Milch getrennt, mit einem spezifischen Fluorochrom-Farbstoff (Acridinorange) gefärbt und anschliessend kontinuierlich dünn auf eine rotierende Scheibe, die als Objekträger für ein Auflichtfluoreszenzmikroskop dient, aufgetragen. Der Farbstoff der angefärbten Bakterien wird durch UV-Licht angeregt und als Impuls von einem Detektorsystem aufgenommen, verstärkt und gezählt. Die Anzahl Impulse wird in 1'000 je ml ausgedrückt. Das Resultat wird hier also nicht als Keime pro ml, sondern als (Einzelkeim-)Impulse pro ml ausgedrückt.

Das BACTOSCAN-Gerät ist vollautoma-

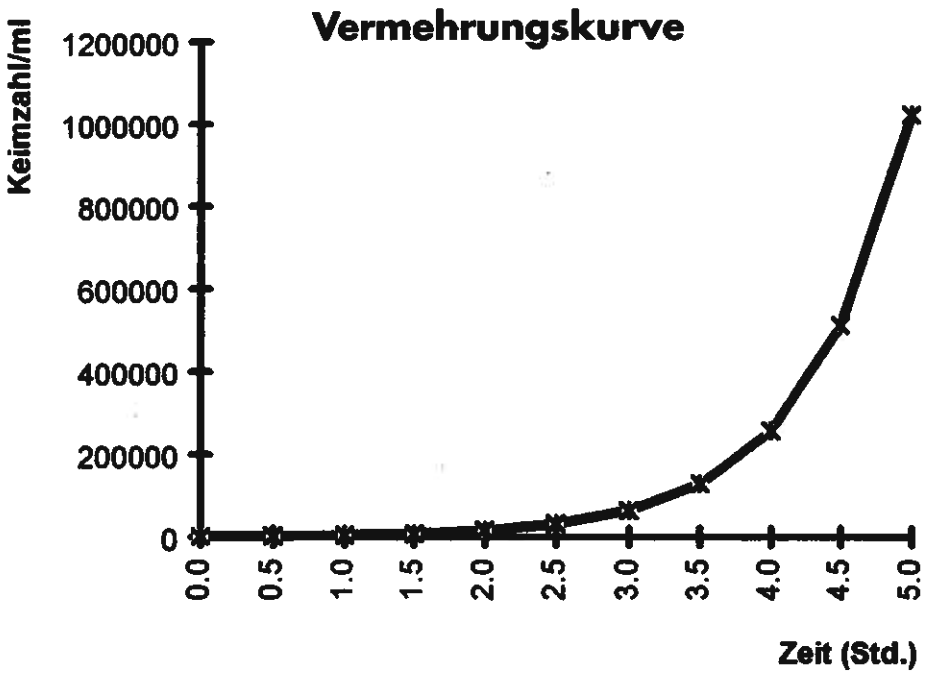


Abb. 1. Vermehrungskurve von Bakterien (theoretisch) bei einer Verdoppelungszeit von 30 Minuten.

tisiert und wird bereits in verschiedenen Ländern für die Qualitätskontrolle und -bezahlung der Milch eingesetzt. Es hat zudem den Vorteil, dass das Resultat bereits 20 Minuten nach dem Probenansatz vorliegt, weil keine Bebrütung erforderlich ist.

Zeit von der Probenahme bis zur Untersuchung?

Bei der Lagerung von zwei bis vier Gemelken stellt sich die Frage, wie lange die Milchprobe bis zum Probenansatz gelagert werden darf, ohne dass das Resultat beeinträchtigt wird. Eine chemische Konservierung der Proben kommt vorläufig nicht in Frage, weil umweltverträgliche Konservierungsmittel für diesen Zweck ungeeignet sind, da sie die Ergebnisse verfälschen. Von anderen Mitteln, welche eine Konservierung zulassen würden, jedoch biologisch nicht abbaubar sind, wird abgeraten. Wir haben in einem Versuch die maximal mögliche Konservierungsdauer für Milchproben aus gelagerter Milch mit bis zu vier Gemelken durch Kühllagerung ermittelt. Der Versuch wurde in verdankenswerter Weise durch den MIBD* Bern durchgeführt.

Die Proben mit bis zu vier Gemelken wurden nach der Probenahme bei einer Temperatur von 5°C weitergelagert. Die Messungen wurden je mit der heutigen gültigen Methode (Ösen-Platten-Verfahren) und dem BACTOSCAN durchgeführt. Die Stichprobenzahl von je 700 garantierte eine saubere statistische Auswertung und Aussage.

Folgende Bedingungen bei der Lagerung der Verkehrsmilchproben müssen eingehalten werden:

- Die Konservierung der Proben erfolgt stets durch Kühlhaltung.
- Ein beziehungsweise zwei Gemelke sind ab Probeentnahme bis zur Untersuchung bei max. 5°C zu lagern. Der Analysenansatz muss innert 24 Stunden erfolgen.
- Ausnahmen:

Proben ab Hofabfuhr mit vier Gemelken sind innert folgenden Zeiten zu untersuchen:

- letztes Gemelk stammt vom Morgen: noch am selben Tag der Probefassung,
- letztes Gemelk stammt vom Abend: bis 10.00 Uhr des folgenden Tages.

Kühllagerung: wie oben beschrieben.

Handproben aus Sammelstellen mit einem und zwei Gemelken müssen ab Probenahme innert 24 Stunden analysiert sein. Falls die Transporttemperatur nicht bei 5°C, sondern bei maximal 8°C gehalten werden kann, sind die Proben innert folgenden Zeiten zu analysieren:

- letztes Gemelk stammt vom Morgen: noch am selben Tag der Probefassung,
- letztes Gemelk stammt vom Abend: bis 10.00 Uhr des folgenden Tages.

Die Resultate zeigten zudem, dass bei geringen Keimzahlen/Impulswerten eine längere Lagerung möglich wäre. Bei höheren Werten wird aber eine Vermehrung festgestellt. Zudem konnte im Versuch bestätigt werden, dass mit der Einzelkeimzählung (BACTOSCAN-Impulswerte) eine Vermehrung vor allem bei höheren Keimzahlwerten wesentlich stärker zum Ausdruck kommt als beim Ösen-Platten-Verfahren. Offenbar findet während der Kühllagerung eine Keimvermehrung mit Keimagglomeratbildung statt.

Wann wird umgestellt?

Die Umstellung auf das neue System kann frühestens ab 1. Juli 1996 erfolgen und muss spätestens am 31. Dezember 1997 abgeschlossen sein. Innerhalb dieses Zeitraumes kann jedes Labor, welches Untersuchungen für die Qualitätskontrolle und -bezahlung der Verkehrsmilch durchführt, den Umstellungszeitpunkt selbst wählen. Dies bedeutet, dass nicht in allen Regionen zur gleichen Zeit umgestellt wird. Man rechnet damit, dass mit den Umstellungen nicht vor dem Spätherbst 1996 begonnen wird.

Folgerung

Mit dem BACTOSCAN-Verfahren kann die Keimbelastung der Verkehrsmilch präziser erfasst werden als mit der bisherigen Ösen-Platten-Methode. Keimverbände (Agglomerate) von Bakterien, welche vor allem bei kühlgelagerter Milch («Hofabfuhr») vorkommen können, werden aufgeteilt und die einzelnen Keime erfasst. Somit kann es vorkommen, dass Lieferanten, welche bisher in der Verkehrsmilch relativ hohe Keimzahlen (jedoch noch unterhalb der Beanstandungsgrenze) hatten, bei der angesprochenen Einzelkeimzählung in den Abzugsbereich kommen können. Dies heisst aber nicht, dass dieser Lieferant ungerecht behandelt würde, sondern das Gegenteil trifft zu, weil hier eine genauere (gerechtere) Methode als bisher zur Verfügung steht. Mit der neuen Methode werden nicht mehr die koloniebildenden Einheiten gemessen, sondern die Einzelkeime (Einzelkeimimpulse). Wir erhalten somit höhere Einzelkeimergebnisse. Es werden aber auch neue Grenzen für die Abzugsbereiche festgesetzt, um eine generelle Verschärfung des Abzugssystems zu vermeiden. Das neue BACTOSCAN-Verfahren wird heute in verschiedenen Ländern bereits erfolgreich praktiziert.

*Milchwirtschaftlicher Inspektions- und Beratungsdienst