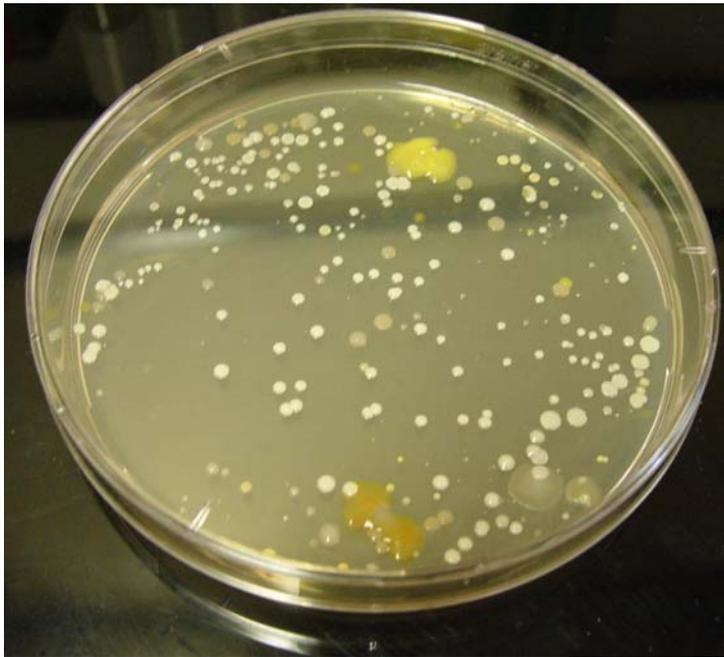


Mikrobiologische Kriterien in der Käsefabrikation

Diskussionsgruppen



Inhalt

1	Einleitung	4
2	Die Rohmilchflora	4
3	Indirekte Methoden zur Erfassung der mikrobiologischen Qualität der Milch	5
3.1	Reduktase	5
3.2	Säuregrad der Milch nach 11 Stunden bei 38 °C - „Luzernerprobe“	6
	Propionsäure	6
3.3	Gärprobe	7
3.4	„Impulse“ - Keimbelastung der Verkehrsmilch	8
4	Allgemeine, klassisch-mikrobiologische Prüfmerkmale	9
4.1	Aerobe, mesophile Keimzahl (AMK)	9
4.2	Aerobe, mesophile Fremdkeime (FKZ)	10
4.3	Salztolerante Keime	10
4.4	Psychrotrophe Keime	11
4.5	Lipolytische Keime (Lipolyten)	12
4.6	Proteolytische Keime (Proteolyten)	12
5	Selektive Bestimmung bestimmter Keimgattungen und -arten	13
5.1	Aerobe Sporen (Bacillus)	13
5.2	Buttersäuresporenzahl (Clostridien)	13
5.3	Clostridium tyrobutyricum	14
5.4	Fakultativ heterofermentative Laktobazillen	15
5.5	Obligat heterofermentative Laktobazillen	16
5.6	Propionsäurebakterien	16
5.7	Enterobakterien	18
5.8	Fäkalindikatoren	19
5.9	Koagulasepositive Staphylokokken	20
6	Durch schädliche Keime hervorgerufene Käsefehler	21
7	Richtwerte für Rohstoffe und Halbfabrikate	22
7.1	Lieferantenmilch	22
7.2	Fertiger- und Kessmilch	22
7.3	Emmentaler 24 h	22
7.4	Gruyère 24 h	22
7.5	Appenzeller 24 h	22
7.6	Trinkwasser unbehandelt (im Verteilernetz)	22
8	Gesetzliche Toleranzwerte für Käse und einige andere Milchprodukte	23

Abkürzungen

KBE	Koloniebildende Einheiten	OPA	Ortho-Phthaldialdehyd-Wert = Mass für die freien Aminosäuren
Fakhet	Fakultativ heterofermentative Lb.	SLMB	Schweiz. Lebensmittelbuch
GHP	Gute Herstellungspraxis	sp.	Spezies (Arten)
GW	Grenzwert	ssp.	Subspezies (Unterarten)
HyV	Hygieneverordnung	TW	Toleranzwert
MPN	wahrscheinlichste Zahl (Most Probable Number)	VHyMP	Verordnung über die Hygiene in der Milchproduktion
		wff	Wasser im fettfreien Käse

1 Einleitung

Es sind fast immer Mikroorganismen, die den Verderb von Milch und Milchprodukten verursachen. Selbst bei keimfreien UHT-Produkten sind es oft die von Bakterien der Rohmilchflora gebildeten Stoffe, welche die Haltbarkeit limitieren. Mikroorganismen sind auch die wichtigste Ursache von Käsefehlern. Der Käser weiss, dass sich nur aus qualitativ einwandfreier, frischer Milch und durch die sichere Lenkung des mikrobiologischen Geschehens qualitativ herausragender und gut lagerfähiger Käse herstellen lässt. In der Praxis sind die Reduktaseprobe und die Luzernerprobe sowie die gärtechnischen Kontrollen während der Fabrikation natürlich die wichtigsten Überwachungsinstrumente. In vielen Fällen sind aber mikrobiologische Untersuchungen auf ganz bestimmte Keime oder Keimgruppen notwendig. Beispiele:

- Rohmilchuntersuchung auf Fehlgärungserreger
- Rohmilchuntersuchung auf pathogene Keime (Monitoring)
- Trinkwasseruntersuchung
- Endproduktkontrollen

Im vorliegenden Diskussionsgruppenstoff werden die wichtigsten mikrobiologischen Kriterien in der Milchverarbeitung, ihre praktische Bedeutung und soweit möglich Richtwerte und Toleranzwerte für Rohmilch, Trinkwasser und Produkte vorgestellt. Von den pathogenen Keimen wird nur auf Staphylokokken eingegangen.

2 Die Rohmilchflora

Milch aus gesunden Eutern ist ein weitgehend steriles Sekret. Die bakterielle Verunreinigung beginnt beim Passieren des Strichkanals. Die wichtigsten Kontaminationsquellen liegen aber ausserhalb des Euters. Beispiele: Haut von Zitzen und Euter, Melkgeräte, Transportleitungen, Lager- und Transportbehälter, die Umgebungsluft, von Zitzenbechern aspirierter Schmutz usw. Auch der Faktoren Zeit und Temperatur spielen eine grosse Rolle, d.h. die Keimvermehrung zwischen der Gewinnung und der Verarbeitung der Milch.

Hinsichtlich der Verarbeitungstauglichkeit der Milch ist nicht nur die Keimbelastung insgesamt, sondern auch die Zusammensetzung der Keimflora entscheidend. Bekanntlich können schon wenige Buttersäuresporen in einer ansonsten absolut einwandfreien Milch ganze Käseproduktionen vernichten. Untersuchungen auf spezifische Keime oder Keimgruppen rechtfertigen sich aber nicht nur in Bezug auf spezifische Risikokeime. Die Zusammensetzung der Milchflora liefert auch wertvolle Hinweise auf die Herkunft der Keime und damit auf mögliche Kontaminationsquellen (siehe Tab. 1).

Die mikrobielle Flora von frischer Rohmilch besteht in der Regel vorwiegend aus grampositiven Keimen. Während der Kühllagerung der Milch vermehren sich aber vor allem gramnegative Keime, so dass nach 1-2 Tagen eine von gramnegativen Keimen dominierte Flora vorliegt.

Die Auswahl der Prüfparameter bzw. der Methoden richtet sich nach der Zielsetzung der Untersuchungen, der Art Probenmaterials und nicht selten auch nach den Kosten. Nachweise und Keimzählungen von bestimmten Keimen oder Keimgruppen sind oft nur in speziell eingerichteten Labors durchführbar und wesentlich teurer als die Praxismethoden, liefern aber in der Regel präzisere Informationen.

Tabelle 1: Typische Keime der Rohmilchflora

	Typische Vorkommen	Psychrotroph
Grampositive Keime		
- aerobe Sporenbildner	Erde, Staub, Heu (sehr verbreitet)	teilweise
- anaerobe Sporenbildner (Clostridien)	Silo, gärendes Grünfutter, Morast	nein
- Enterokokken	Kot	nein
- Staphylokokken	Haut, Schleimhäute	nein
- Mikrokokken	Haut	teilweise
- Propionsäurebakterien	Haut	nein
- Milchsäurebakterien	Pflanzen, Silo, Milchrückstände, Schleimhäute	nein
- Coryneforme Bakterien	Haut, Boden	teilweise
Gramnegative Keime		
- Colibakterien (E. coli)	Kot	nein
- Enterobakterien	Pflanzen, Kot, Abwasser	teilweise
- Pseudomonaden	Wasser, Boden (sehr verbreitet)	ja
- Alcaligenes, Flavobacterium etc.	Wasser, Boden (sehr verbreitet)	ja
Hefen		
	Boden, Pflanzen (sehr verbreitet)	ja

3 Indirekte Methoden zur Erfassung der mikrobiologischen Qualität der Milch

3.1 Reduktase

Der in der Milchwirtschaft verbreitet angewandte Methylenblau-Reduktase-Test ist eine indirekte Methode zur einfachen Überwachung der mikrobiellen Belastung der Rohmilch. Als Qualitätskriterium findet man die „Reduktase“ teilweise auch in Milchkaufverträgen.

- Methode / Definition : Entfärbungszeit der Milch bei 38 °C nach Zugabe von Methylenblau (Vorbebrütete Reduktase: vorgängige Bebrütung bei 30°C/11 h)
- Anwendungsbereich : Qualitätskontrolle Lieferantenmilch, bakteriologischer Status der Kessmilch (Fabrikationskontrolle)
- Aussagewert : Ungefähres Mass für der Belastung der Milch mit rasch vermehrenden Keimen
- Einschränkungen : Abhängig vom Sauerstoffeintrag in die Milch
Abhängig von der Zusammensetzung der Flora
Für Schafmilch nicht anwendbar (sofortige Entfärbung)
- Anforderungen : Käseemilch > 6 h
Käseemilch > 30 min (vorbebrütet)

Beim Reduktase-Test wird die Keimbelastung der Milch indirekt anhand der Senkung des Redox-Potenzials gemessen, welche sich als Folge der mikrobiellen Stoffwechsellätigkeit ergibt. Vereinfacht gesagt: Die Mikroorganismen verzehren den in der Milch gelösten Sauerstoff, was mit der Entfärbung des Methylenblaus angezeigt wird. Milcheigene Enzyme und andere Milchinhaltstoffe wie Vitamin C, Riboflavin und Kupfer, aber auch Licht beeinflussen die Methylenblaureduktion. Ausserdem sprechen nicht alle Mikroorganismen gleich gut an (Tab. 2):

Tabelle 2: Reaktion verschiedener Keimgruppen im Methylenblau-Reduktasetest

Reduktasereaktion		
stark	mittel	schwach
Coliforme Keime	Staphylokokken	Anaerobe Sporenbildner
Enterokokken	Streptococcus salivarius ssp. thermophilus	Pseudomonaden
Laktokokken	Laktobazillen	Bacillus cereus
	Bacillus sp.	

Wie oben ersichtlich ist, bewirken Laktokokken und Coliforme eine schnellere Reduktasereaktion als andere Keime. Der Grund dafür liegt in der unterschiedlichen Stoffwechselaktivität und Wachstumsgeschwindigkeit. Dies bedeutet, dass sich Milchproben mit gleicher Reduktasezeit bezüglich der Keimzahl unter Umständen erheblich unterscheiden können. Tatsächlich kann eine mit 50'000 Keimen pro ml belastete Milch bei einer bestimmten Zusammensetzung der Keimflora unter Umständen die gleiche Reduktasezeit zeigen, wie eine andere Milch mit 250'000 Keimen pro ml.

Als fabrikationstechnische Kontrolle hat sich insbesondere die vorbebrütete Reduktase bewährt. Milch mit einer kurzen Entfärbungszeit ist oft vorreif und führt zu einem raschen Trocknen des Bruchkornes und später zu Käsefehlern wie z.B. Teig- und Geschmacksfehlern so wie ungenügende Haltbarkeit.

3.2 Säuregrad der Milch nach 11 Stunden bei 38°C - „Luzernerprobe“

Mit dieser Probe wird die Stoffwechsel-Aktivität von thermophilen säurebildenden Mikroorganismen mittels Säuremessung ermittelt.

- Methode / Definition : Säuregrad (°SH) nach Inkubation der Milch bei 38°C/11h
 Anwendungsbereich : Qualitätskontrolle Lieferantenmilch, bakteriologischer Status der Kessimilch (Fabrikationskontrolle)
 Aussagewert : Aussage zur Belastung der Milch mit Milchsäurebakterien
 Anforderungen : Käseimilch < 12 °SH

Milch mit erhöhtem Säuregrad weist oft unerwünschte Milchsäurebakterien auf, welche sich in vielen Fällen ungünstig auf die Käsequalität auswirken. Es muss mit Lochungs- und Teigfehlern wie Gläs, kurzer und weisser Teig gerechnet werden, wie nachfolgendes Beispiel zeigt (Tab. 3).

Tabelle 3: Einfluss unerwünschter Milchsäurebakterien auf die Käsequalität (Emmentaler).
 Ergebnisse im Käse 3 Monate (Durchschnittsprobe)

Prüfmerkmal [Einheit]		Kulturenmix A	Kulturenmix B	
Wasser	[g/kg]	367	373	
wff	[g/kg]	541	548	
Total fl. Carbonsäuren	[mmol/kg]	90.6	100	
Ameisensäure	[mol-%]	4.0	3.9	
Essigsäure	[mol-%]	42.8	41.2	
Propionsäure	[mol-%]	52.4	54.3	
Buttersäure	[mol-%]	0.3	0.4	
Capronsäure	[mol-%]	0.1	0.1	Richtwert
Freie Aminosäuren (OPA)	[mmol/kg]	105	286	< 160
Käsequalität		schöne Lochung, sehr gute Teigqualität	nestige Lochung, kurzer, weisser Teig	

3.3 Gärprobe

Die Gärprobe eignet sich nebst der Luzernerprobe und der vorbebrüteten Reduktase gut zur mikrobiologischen Kontrolle der Milch in der Käserei sehr gut.

- Methode / Definition : Visuelle Beurteilung des Gärbildes der Rohmilch nach Bebrütung bei 38°C nach 12 h und 24 h
- Anwendungsbereich : Qualitätskontrolle Lieferantmilch, bakteriologischer Status Kessmilch (Fabrikationskontrolle)
- Aussagewert : Sehr gut bewährter, einfacher Praxistest
Grobe Aussage zur Zusammensetzung der vermehrungsfähigen Keimflora der Rohmilch.
Erkennen von Milch mit potenziell käseschädlicher Flora
- Anforderungen : Gärprobe 12 h flüssig
Gärprobe 24 h flüssig oder gallertig

Die Kombination der Gärprobe mit der Reduktaseprobe, indem letztere weiter bebrütet wird, ist nicht empfohlen, da mit diesem Vorgehen Fehlbeurteilungen resultieren können.

Eine einwandfreie Gärprobe ist nach 12 h noch flüssig und zeigt schliesslich eine gallertige Gerinnung ohne Separation von Molke („käsigt“), Flockung („zigerig“) oder Gasbildung. Wie stark sich die Keimflora von Milchproben mit unerwünschten Gärbildern von normaler Milch unterscheiden kann, zeigt Tabelle 4. In diesem kleinen Versuch wurden 24-stündige Gärproben aus einer Käserei mikrobiologisch analysiert.

Tabelle 4: Mikrobiologische Untersuchung von Gärproben mit unterschiedlichen Gärbildern

Gärbild	Fremdkeime	Laktobazillen	Enterobacteriaceae	Escherichia coli	Enterokokken	Salztolerante Keime	Hefen	Proteolytische Keime
gallertig	++	+	+	-	+	-	-	+
käsigt k1	+++(+)	++++	+++	-	+	+	-	+++(+)
käsigt k3	++++	++++	+++	++	+	++	-	++++
zigerig mit Gas	+++(+)	+++(+)	+++	+++	-	-	-	+++(+)

- <100'000
- + 100'000-1'000'000
- ++ 1 Mio. - 10 Mio
- +++ 10 Mio. - 100 Mio
- ++++ > 100 Mio.

Folgerung für den Käser:

Milch, welche nach 24 h ein käsiges oder zigeriges Gärbild aufweist, enthält sehr viel mehr proteolytisch aktive Keime, welche Teig, Geschmacks- und Lochungsfehler verursachen können.

3.4 „Impulse“ - Keimbelastung der Verkehrsmilch

Methode	: Keimbelastung der Milch (fluoreszenzoptische Zählung)
Prinzip der Methode	: Die Bakterienzellen werden mit einem Fluoreszenzfarbstoff markiert und anschliessen opto-elektronisch detektiert und gezählt (Bactoscan-Methode)
Anwendungsbereich	: Rohmilch inkl. Schaf- und Ziegenmilch
Aussagewert	: Mass für die Gesamtbelastung mit Bakterienzellen aller Art
Einschränkungen	: Tote und andere nicht vermehrungsfähige Bakterienzellen werden auch erfasst. Nur für Flüssigproben geeignet
Anforderungen	: Für Verkehrsmilch gemäss Art. 8, VHyMP <ul style="list-style-type: none">- Kuhmilch: 200'000 Impulse/ml (TW)- Rohmilch anderer Säugetierarten<ul style="list-style-type: none">o für die Herst. von Rohmilchprodukten 1 Mio. Impulse/mlo für die Herst. von sonstiger Produkte: 3 Mio. Impulse/ml

Seit 1998 kommt in der Schweiz bei der Qualitätskontrolle der Verkehrsmilch nur noch die instrumentelle Keimzählung (Abb. 1) zur Anwendung, welche gegenüber der klassischen Agarplattenmethode wesentlich kostengünstiger ist.



Abb. 1:
Vollautomatische Keimzählung in der Milch
mit dem Bactoscan (Bild: Foss, DK)

Als Referenzmethode bleibt die klassische Methode (siehe „aerobe, mesophile Keimzahl“) aber weiterhin von Bedeutung. Ausserdem arbeiten kleinere Labors in Frankreich noch heute mit der Agarplattenmethode. Um die Vergleichbarkeit der Ergebnisse sicherzustellen, werden in den EU-Ländern die bei der fluoreszenzoptischen Keimzählung anfallenden Impulszahlen in koloniebildende Einheiten (KBE/ml) umgerechnet. Die Schweizer Labors geben die Resultate ohne Umrechnung an, d.h. so wie sie die Geräte liefert, in Impulsen pro ml. Die Impulszahllimite von 200'000 Impulsen/ml entspricht der früheren Keimzahllimite von 80'000 KBE/ml.

2007 werden die Bactoscan-Geräte aus dem Jahre 1998 durch neue, verbesserte Geräte abgelöst. Die neuen Geräte liefern bei gleicher Keimbelastung deutlich höhere Impulszahlen, weshalb die gesetzliche Impulszahllimite neu festgelegt werden muss.

Das Bactoscanverfahren ist sehr zuverlässig und eignet sich darum gut für die Qualitätsbeurteilung der Milch. Über die Verunreinigung der Milch mit käsereschädlichen Keimen sagt die Impulszahl aber nichts aus. Darum haben die bewährten Praxismethoden und die klassisch-mikrobiologischen Labormethoden kaum an Bedeutung verloren.

4 Allgemeine, klassisch-mikrobiologische Prüfmerkmale

4.1 Aerobe, mesophile Keimzahl (AMK)

Methode	: Plattengussverfahren mit Plate Count Agar Koloniezählung nach 3 Tagen aerober Bebrütung bei 30°C
Anwendungsbereich	: Allgemein für Rohstoffe und nicht fermentierte Lebensmittel
Aussagewert	: Mass für die Belastung an aeroben und fakultativ anaeroben Keimen
Einschränkungen	: Nicht erfasst werden Keime, welche unter den Bedingungen der Methode innert 3 Tagen keine von blossen Auge sichtbaren Kolonien zu bilden vermögen (siehe Text).
Anforderungen	: Grenzwerte gemäss HyV Art. 48: <ul style="list-style-type: none">- Rohe Kuhmilch vor der Verarbeitung: 300'000 KBE/ml- Verarbeitete Milch vor der Weiterverarbeitung: 100'000 KBE/ml- Rahm für die Weiterverarbeitung: 300'000 KBE/ml

Für **nicht fermentierte Lebensmittel** stellt die AMK das wichtigste mikrobiologisch-hygienische Kriterium dar: Überschreitet die AMK bei 10 Mio. KBE/g, so ist mit ersten sensorisch wahrnehmbaren Veränderungen zu rechnen, bei Keimzahlen ab 100 Mio./g muss Lebensmittel als verdorben bezeichnet werden.

Die Bezeichnung der AMK als „Gesamtkeimzahl“ ist insofern falsch, als obligat anaerobe Keime an kühle und nährstoffarme Biotope angepasste Wasserkeime oder sehr anspruchsvolle oder generell sehr langsam wachsende Mikroorganismen mit der Methode nicht erfasst werden.



Abb. 2:
Bestimmung der aeroben, mesophilen Keime nach SLMB. Die nach 3 Tagen Bebrütung bei 30°C sichtbaren Kolonien werden gezählt.

☞ **Bei fermentierten Lebensmitteln macht die Bestimmung der AMK keinen Sinn. Die Resultate sind unzuverlässig und lassen sich kaum interpretieren.**

4.2 Aerobe, mesophile Fremdkeime (FKZ)

Synonym	: Fremdkeimzahl (FKZ)
Prinzip der Methode	: Plattengussverfahren mit Sugar Free Agar + Penicillin Koloniezählung nach 3 Tagen aerober Bebrütung bei 30°C Frühere SLMB Methode.
Anwendungsbereich	: Fermentierte Lebensmittel
Aussagewert	: Als „Fremdkeime“ erfasst werden vor allem die gramnegativen Verderbserreger (Pseudomonaden, Enterobacteriaceen usw.). Milchsäurebakterien und Hefen werden unterdrückt.
Einschränkungen	: Grampositive und anspruchsvollere gramnegative Fremdkeime werden auch unterdrückt.
Anforderungen	: Kessimilch < 20'000 KBE/ml

Achtung: Zur Bestimmung der aeroben, mesophilen Fremdkeime (FKZ) wie oben beschrieben gibt es eine **methodische Variante ohne den Zusatz von Penicillin**. Das Nährmedium ohne Antibiotikum liefert meist höhere Keimzahlen (Penicillin unterdrückt die grampositiven Keime praktisch vollständig). Bei Vergabe eines Analysenauftrags und bei der Interpretation der Ergebnisse ist darum immer genau zu klären, welche Methode angewandt werden soll bzw. wurde.

4.3 Salztolerante Keime

Prinzip der Methode	: Koloniezählung auf Mannit-Salz-Agar (7.5% NaCl) nach 2 Tagen Bebrütung bei 37°C.
Anwendungsbereich	: Rohmilch, Salzbad, Stufenkontrollen im Käseerbetrieb
Aussagewert	: Erfasst werden Mikrokokken, Staphylokokken, Enterokokken, salztolerante Hefen, gewisse aerobe Sporenbildner sowie typische Schmierebakterien (Brevibacterium & Arthrobacter) Erhöht bei mangelhafter Melkhygiene
Kontaminationsquellen	: Haut, Euter, Kot, Staub, Käseschmiere
Anforderungen	: Kessimilch: < 5000 KBE / ml Lieferantenmilch: < 5000 KBE / ml

Der Gehalt an salztoleranten Keimen ist ein seit Jahrzehnten angewandtes Qualitätskriterium für die Rohmilch und noch heute in vielen Milchkaufverträgen spezifiziert. Tatsächlich lassen hohe Werte bei den salztoleranten Keimen meist auf ungenügende Euterreinigung schliessen. Viele salztolerante Keime sind nämlich auf der Haut und im Haarkleid zu finden oder sind typische Darmbewohner (Enterokokken). Auch Euterentzündungen können sich in erhöhten Werten niederschlagen, insbesondere bei Infektionen mit pathogenen Staphylokokken.

Salztolerante Keime zeigen – obwohl sie keine Sporenbildner sind - im Allgemeinen eine recht **grosse Widerstandsfähigkeit** gegen Trockenheit und hohe Salzkonzentrationen. Nicht selten widerstehen sich auch Säure und Wärme erstaunlich gut.

Viele der salztoleranten Keimen sind **starke Proteolyten** und fördern im Käse die Proteolyse in die Tiefe, was sich oft negativ auf die Käsequalität (kurzer Teig, Gläs) auswirkt. Diese Erkenntnis aus der Beratung und aus früheren Versuchen bestätigte sich auch in einer Erhebung in 30 Emmentalerkäsereien. Das Diagramm in Abb. 3 zeigt: Je höher die Salztoleranten in der Kessimilch, desto höher der NPN-Gehalt im reifen Käse.

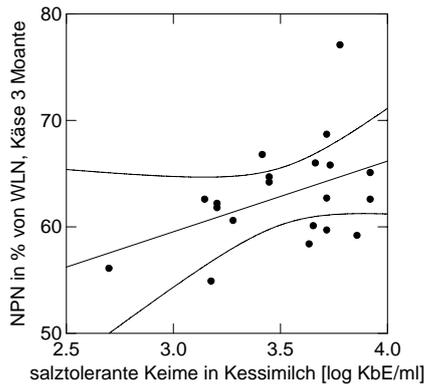


Abb. 3:
Gehalt der Kessimilch an salztoleranten Keimen und Proteinabbau in die Tiefe (NPN) beim Emmentaler.

Der Gehalt der Kessimilch an salztoleranten Keimen wirkte sich negativ auf die folgenden Qualitätsmerkmale in den 3 und 6 Monate alten Emmentalerkäsen aus:

- Lagerfähigkeit
- Lochung
- Teig

Der Nachweis von Salztoleranten eignet sich auch gut für die mikrobiologische Kontrolle des Käsebruches und des Käses (Hartkäse nur Randprobe) vor dem Salzbad. Nachfolgend zwei Beispiele ungenügender Ergebnisse bei Stufenkontrollen in der Praxis (Tab. 5):

Tabelle 5: Zwei Beispiele bezüglich salztoleranter Keime ungenügender Stufenkontrollen in Käsereibetrieben mit Qualitätsproblemen.

Betrieb	Halbhartkäserei (thermisiert) Pick, gross offen	Emmentalerkäserei nestig, weisser, kurzer Teig
Probenahmestelle:		
- Bassin / Tank	4'150	5'250 ↑
- Kessimilch	1'850	3'950
- Bruch	20'600 ↑	> 300'000 ↑↑
- Sirte Form	225	1'400 ↑
- Käse 1 Tag	91'000 ↑↑	2'800 ↑

Folgerung für den Käser:

- ☞ Hohe Gehalte an Salztoleranten erhöhen das Risiko von Fehlgärungen im Käse.

4.4 Psychrotrophe Keime

Prinzip der Methode : Koloniezählung auf Standard-Agar mit 0.1% Magermilchpulver nach 10 Tagen Bebrütung bei 6.5°C.

Anwendungsbereich : Rohmilch, Pastmilch

Aussagewert : Erfasst werden die bei < 7°C wachsenden Keime, d.h. die psychrotrophe Verderbsflora (Pseudomonaden, div. Enterobakterien und Bacillusarten, Hefen etc.)

Kontaminationsquellen : Rohrleitungen, Pumpen, nicht trockene Kannen, Wasser, Schmutz

Anforderungen : Kessimilch: < 3000 KBE / ml

Unter den psychrotrophen Keimen finden sich viele Lipolyten und Proteolyten, deren Enzyme nicht nur sehr aktiv sind, sondern teilweise auch sehr hitzeresistent. Auch in der Käseherstellung sind die psychrotrophen Keime wegen negativer Einflüsse auf den Geschmack unerwünscht. Psychrotrophe Keime bilden in der Regel kaum Säure.

4.5 Lipolytische Keime (Lipolyten)

- Prinzip der Methode : Koloniezählung auf Crossley Agar mit Butterfett (Oberflächenausstrich) nach 72 h aerober Bebrütung bei 30°C.
- Anwendungsbereich : Rohmilch, Butter
- Aussagewert : Typische Lipolyten sind Pseudomonaden, Hefen, div. Bacillus-Arten und einige Enterobacteriaceen. Erhöhte Keimzahlen von Lipolyten bedeuten ein erhöhtes Risiko für die Entstehung von ranzigem Geschmack.
- Kontaminationsquellen : Siehe → Psychrotrophe Keime

Die Methode dient der Zählung von Fett spaltenden Keimen (Lipolyten) in Milch und Milchprodukten. Diese Keime können zu ranzigem Geschmack bei Käse, Butter und anderen fetthaltigen Milchprodukten führen. Die Pseudomonaden, welche zum Teil starke Lipolyten sind, bilden Lipase, die extrem hitzeresistent sind. Darum können bei starker Belastung der Rohmilch (lange Kühllagerung!) selbst UHT-Produkte mit der Zeit ranzig werden.

In Tab. 6. zeigen die Untersuchungsergebnisse in einem Praxisfall aus jüngster Vergangenheit, in welchem ranzige Halbartkäse auftraten. Vom betroffenen Käse sowie von den gefrorenen Rückstell-Milchproben wurden die flüchtigen Fettsäuren bestimmt.

Tabelle 6: Bestimmung der freien flüchtigen Fettsäuren (direkt GC) in Lieferantemilchproben in einem Schadenfall wegen ranzigem Halbartkäse.

	Lieferantemilch								Käse
	a	b	c	d	f	g	h	i	
Buttersäure FI-%	1.3	0.5	2.0	0.8	0.0	0.0	11.7	4.6	4.1 mmol/kg
Capronsäure FI-%	0.3	0.0	0.3	0.0	0.0	0.0	2.7	0.8	1.1 mmol/kg

Das Ergebnis war eindeutig, die Ranzigkeit wurde von einer Lieferantemilch verursacht. Da die Fabrikationsmilch thermisiert wurde (65°C), liegt die Vermutung nahe, dass die Fettspaltung nicht durch die hitzelabile milcheigene Lipase verursacht wurde, sondern durch die Enzyme der Lipolyten.

4.6 Proteolytische Keime (Proteolyten)

- Prinzip der Methode : Koloniezählung auf Calcium Caseinat Agar nach Frazier und Rupp nach 3 Tagen aerober Bebrütung bei 30°C
- Anwendungsbereich : Rohmilch
- Aussagewert : Viele Bacillus-Arten, Pseudomonaden, diverse salztolerante Keime und *Lb. helveticus* sind starke Proteolyten
- Kontaminationsquellen : Siehe → Psychrotrophe Keime

Proteolyten sind für die „käsige“ Gerinnung der Gärprobe verantwortlich und können den Proteinabbau im Käse in unerwünschter Weise beeinflussen, z.B die Entstehung von Bittergeschmack, übermässige Proteolyse oder die Bildung biogener Amine begünstigen. Die Proteasen gewisser psychrotropher Proteolyten sind recht hitzestabil und können zur Süssgerinnung von UHT-Milch führen.

5 Selektive Bestimmung bestimmter Keimgattungen und -arten

5.1 Aerobe Sporen (Bacillus)

Synonym	: Aerobe Sporenbildner
Methode	: Pasteurisation der Probe bei 75°C/15 min, anschliessend Koloniezählung auf Standard Agar (Plate Count Agar) mit Casein. Bebrütung 3 Tage bei 30°C.
Anwendungsbereich	: Milch, flüssige Milchprodukte, selten Käse
Aussagewert	: Sporen der Gattung <i>Bacillus</i> Melkhygiene (Heustaub, Staub)
Kontaminationsquellen	: Heu, Boden, Luft Erhöht bei Heufütterung zur Melkzeit, Ansaugen von Schmutz bei Anhängen des Melkzeugs („Staubsaugen“)
Einschränkungen	: Vegetative Zellen sporenbildender Keime werden nicht erfasst

Die aeroben Sporenbildner sind (abgesehen von den typischen Rekontaminationskeimen *Pseudomonas* und Enterobakterien) die klar wichtigsten Verderbserreger bei pasteurisierten Milchprodukten, da sie oft auch psychrotroph sind. Mit *Bacillus cereus* gehört auch ein Erreger von Lebensmittelvergiftungen zu dieser Gruppe.

In der Käserei sind hohe Belastungen der Kessmilch unerwünscht, da die Enzyme den Proteinabbau in der Kessmilch negativ beeinflussen können (siehe Proteolyten). Anders als die anaeroben Sporenbildner sind aber die aeroben Sporenbildner von käseertechnologisch sehr geringer Bedeutung, da sie sich im Käse kaum vermehren können.

5.2 Buttersäuresporenzahl (Clostridien)

Zu den anaeroben Sporenbildner zählen jene Keime, welche insgesamt für die grössten durch nicht pathogene Keime verursachten finanziellen Schäden in Käsereien verantwortlich sind: die Erreger von Buttersäuregärung (*Cl. butyricum*, *Cl. tyrobutyricum*) und Putrifikus (*Cl. sporogenes*). Schon 10 Sporen pro Liter Milch können unter Umständen eine Käseblähung hervorrufen.

Für den Nachweis von käseerschädlichen anaeroben Sporen kommen in der Schweiz v.a. zwei Methoden zur Anwendung, die ältere und weniger selektive so genannte MPN-Methode und die neuere, weiter unten beschriebene Filtrationsmethode, welche eine selektive Erfassung von *Cl. tyrobutyricum* erlaubt.

MPN steht für Most Probable Number (= wahrscheinlichste Zahl), d.h. für ein in der Mikrobiologie verbreitet angewandtes Verfahren zur statistischen Schätzung einer Keimzahl. Praktisch jede Keimart kann nach dem MPN-Verfahren quantifiziert werden. In der Milchwirtschaftlichen Praxis steht „MPN-Methode“ praktisch synonym für die Bestimmung der anaeroben Sporen nach der hier beschriebenen Methode

Bezeichnungen	: Buttersäuresporenzahl (BSBZ) – „MPN-Methode“
Methode	: Keimzahlschätzung mit Kartoffel-Dextrose-Medium (halbfest) in Röhrrchen (MPN-Verfahren) nach Pasteurisation bei 75°C/15 min. Anaerobe Bebrütung 9 Tage / 37°C. Gezählt werden alle Röhrrchen mit deutlicher Gasbildung.
Anwendungsbereich	: Rohmilch, Kessmilch, Käse
Aussagewert	: Erfasst unter Sauerstoffausschluss wachsende, gasbildende Sporen, insbesondere <i>Clostridium sporogenes</i> , <i>Clostridium butyricum</i> , <i>Clostridium tyrobutyricum</i> , <i>Clostridium bifermentans</i> . Guter Indikator für die allgemeine Stall- und Melkhygiene.
Einschränkungen	: Keine Differenzierung zwischen käsereschädlichen und anderen gasbildenden Sporen Methode gibt 3-4 x höhere Werte als Filtrationsmethode und mehr „falsch positive“ Befunde.
Bemerkungen	: Auch für schlecht oder nicht filtrierbare Probenarten geeignet (z.B. gefrorenen Milch, Schafmilch, Büffelmilch, Käse)
Anforderungen (Richtwerte ALP)	: Kessmilch: < 150 Sporen pro Liter Lieferantenmilch: < 300 Sporen pro Liter Wasser: < 50 Sporen pro Liter

Für nicht filtrierbare Probenarten ist die MPN-Methode praktisch die einzige Methode, mit welcher sich die anaeroben Sporen mit hinreichender Empfindlichkeit bestimmen lassen.

Für Milch verwendet ALP die MPN-Methode im Format 3x4, wobei jeweils 4 Röhrrchen Kartoffel-Dextrose-Medium mit je 6 ml Milch beimpft, weitere 4 mit je 3 ml und nochmals 4 mit je 1 ml beimpft werden. Das ergibt eine Nachweisgrenze von 25 Sporen pro Liter. In der Praxis gibt es aber auch vereinfachte Varianten der Methode mit weniger Röhrrchen. Solch vereinfachte Methoden sind aber weniger empfindlich (höhere Nachweisgrenze) und weniger präzise.

Der „MPN-Methode“ ähnlich ist der im Käsebedarfshandel erhältliche MRCM-Test. Der MRCM-Test scheint aber etwas selektiver in Richtung → *Cl. tyrobutyricum* als die eben beschriebene „MPN-Methode“.

5.3 *Clostridium tyrobutyricum*

Clostridium tyrobutyricum ist der Erreger der typischerweise nach 6-8 Wochen Reifezeit auftretenden Form der Buttersäuregärung (Spätblähung). Bei den Hartkäsen ist *Cl. tyrobutyricum* der klar bedeutendste Schädling. Deshalb hat ALP in den 90er-Jahren eine Methode zur selektiven Erfassung des Keims entwickelt: die Filtrationsmethode nach Bourgeois & Casey (Abb. 4).



Abb. 4:
Quantitative Bestimmung von *Clostridium tyrobutyricum* mit der Filtrationsmethode nach Bourgeois & Casey

Bezeichnungen	: <i>Clostridium tyrobutyricum</i> – „Filtrations-Methode“
Methode	: Membranfiltration von 40 ml Milch nach Pasteurisation bei 75°C/15 min und enzymatischer Behandlung. Die Filter werden auf RCM-Agar ausgelegt und 3 Tage bei 37°C anaerob bebrütet.
Anwendungsbereich	: Rohmilch (Kuh), Kessmilch, Wasser
Aussagewert	: Alle käseerschädlichen Clostridien wachsen auf dem Agar. Anhand von Geruch und Koloniemerkmalen kann <i>Cl. tyrobutyricum</i> differenziert und selektiv gezählt werden.
Einschränkungen	: Ungeeignet für nichtfiltrierbare Proben wie z.B. Schaf- und Büffelmilch (Viskosität), ausgeflockte Milch oder feste Proben. Falsch negative Befunde kommen vor.
Bemerkungen	: Bezüglich der Aussage zur Melkhygiene weniger aussagekräftig als die „MPN-Methode“
Anforderungen	: Kessmilch: ≤ 25 Sporen pro Liter Lieferantenmilch: ≤ 50 Sporen pro Liter

In der routinemässigen Überwachung von frischen Kessi- und Lieferantenmilch von Käsereien hat sich die Filtrationsmethode breit durchgesetzt und bewährt. Bei der Untersuchung von gefrorenen Rückstellproben ist im Schadenfall gleichwohl die Anwendung der „MPN-Methode“ empfohlen und zwar aus folgenden Gründen:

- Durch das Einfrieren bedingt Ausflockungen können bei der Filtration Probleme verursachen, stören bei der „MPN-Methode“ dagegen nicht.
- Die MPN-Methode ist labortechnisch robuster (Anaerobiose!).
- Sporen keimen im flüssigen Nährboden der MPN-Methode zuverlässig aus
- Die Gefahr negativer Befunde trotz geblähter Käse ist bei der MPN-Methode geringer.

5.4 Fakultativ heterofermentative Laktobazillen

Untersuchungen von Rohmilch auf fakultativ heterofermentative Milchsäurebakterien werden vor allem in der Gruyère-Fabrikation durchgeführt, da sie ähnlich wie die Propionsäurebakterien zu Nachgärung und Gläs führen können.

Bezeichnung	: Fakultativ heterofermentative Laktobazillen
Methode	: Koloniezählung mittels Oberflächenausstrich auf Selektivagar mit Mannit, Acetat und Vancomycin. Anaerobe Bebrütung 72 h / 37°C
Anwendungsbereich	: Rohmilch, Käse
Aussagewert	: Die fakultativ heterofermentative Laktobazillen können Milchzucker sowie Citrat unter Bildung von CO ₂ vergären. Die Citratvergärung spielt eine wichtige Rolle bei der Lochbildung von Halbhartkäsen, kann aber beim Gruyère Gläs verursachen.
Bemerkungen	: Semiquantitativ oder quantitativ (MPN)
Kontaminationsquellen	: Grünfutter, Silage, Melkutensilien, Dichtungen, Kannen, Fettsirtenkultur

Im Verdachtsfall ist auch die mikrobiologische Untersuchung der Käse angezeigt, da sich Fehlgärung durch „Fakhet“ anhand der üblichen gaschromatographischen Untersuchung kaum nachweisen lassen.

5.5 Obligat heterofermentative Laktobazillen

Methode	Der Test erfolgt in RGs mit OH-Bouillon (modifiziertes flüssiges MRS Medium mit Melibiose und Raffinose) und Durhamröhrchen. Bebrütung: 3 Tage bei 37°C.
Anwendungsbereich	: Rohmilch, Käse
Aussagewert	: Die obligat heterofermentative Laktobazillen vergären Zucker unter CO ₂ -Bildung und können für Frühblähungen, Vielsatz, Nisser und unsaubere Lochung verantwortlich sein.
Einschränkungen	: Die Methode ist nicht geeignet für Produkte, wie z.B. Rohmilch, welche coliforme Keime oder Hefen enthalten, die unter den gewählten selektiven Bedingungen ebenfalls Gas zu bilden vermögen.
Bemerkungen	: Semiquantitativ oder quantitativ (MPN-Verfahren)
Kontaminationsquellen	: Gärendes Grünfutter, Silage, Milchrückstände, Dichtungen

Untersuchungen auf obligat heterofermentative Milchsäurebakterien werden nur selten durchgeführt. Da diese Keime aber bei genügend hoher Keimzahl schon während des Laktoseabbaus im frischen Käse Gas bilden können, sind heterofermentative Milchsäurebakterien bei unsauberer Lochung immer als Verursacher in Betracht zu ziehen.

5.6 Propionsäurebakterien

Methode	: Koloniezählung mittels Oberflächenausstrich auf Laktat-Agar Bebrütung 10 Tage bei 30°C, anaerob.
Anwendungsbereich	: Rohmilch, Käse
Aussagewert	: Nachgärungserreger v.a. bei Gruyère und Sbrinz P. können zudem braune Tupfen im Teig verursachen
Einschränkungen	: In Probenmaterial mit starker Begleitflora und geringe Prop-Keimzahlen sind die Zählergebnisse unzuverlässig bzw. ist die Nachweisgrenze erhöht.
Kontaminationsquellen	: Zitzen, Haut, Fell, Dichtungen, Tierläger

Selbst im Emmentalerkäse, bei welchem die Kessmilch mit Propionsäurebakterien beimpft wird, können wilde Stämme aus der Rohmilch Nachgärungsprobleme verursachen. Ist die Milch nämlich stark mit Propionsäurebakterien belastet, welche Asparaginsäure, eine Aminosäure, gut verwerten und durch die „Fakhet“ meist auch weniger gehemmt werden, dann können mit fortschreitender Proteolyse durchaus Nachgärungen entstehen.

In einem Versuch wurde der Einfluss von Kochsalz auf die Stoffwechselaktivität und das Wachstum von Propionsäurebakterien (Prop96 / Prop01) in schmieregereiften Hart- und Halbhartkäsen geprüft (Abb. 5a und b).

Wie erwartet, wurde sowohl die Prop96 als auch die Prop01 mit zunehmender Salzbaddauer bzw. NaCl-Konzentration in ihrer Propionsäuregärung gehemmt, wenn auch die Dynamik leicht unterschiedlich war. Die Prop01 bildet schon bei geringer Erhöhung der Salzbaddauer weniger Propionsäure.

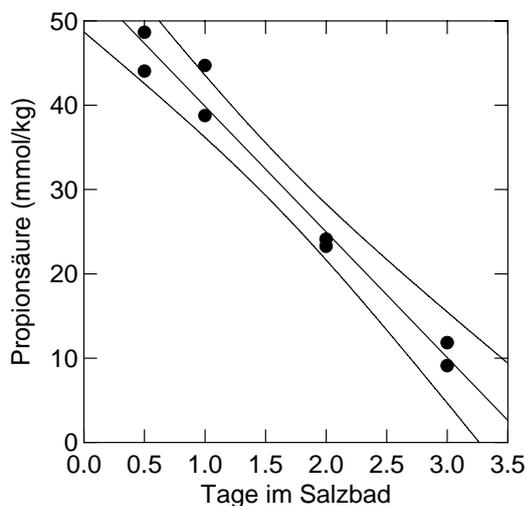


Abb. 5a: Propionsäuregehalt im reifen Käse hergestellt mit Prop96 (Vertrauensintervall = 0.95)

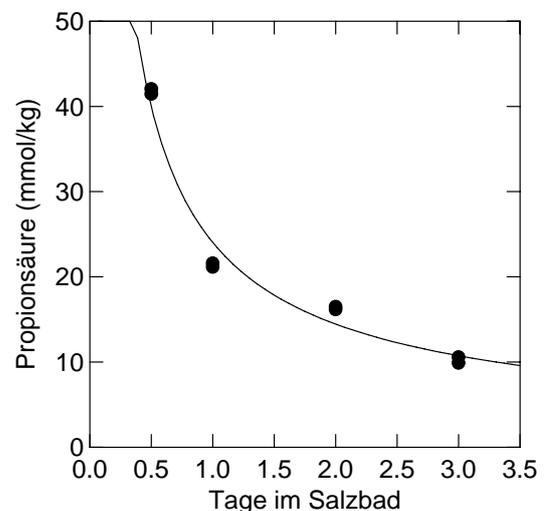


Abb. 5b: Propionsäuregehalt im reifen Käse hergestellt Prop01 (exponentielle Angleichung)

Beim Gehalt an Propionsäurebakterien (Abb. 6a und b) zeigte sich, dass die Prop96 mit zunehmender Salzbaddauer bzw. NaCl-Konzentration im Wachstum gehemmt wird, nicht jedoch die Prop01.

Mit anderen Worten: Salz hemmt die klassische Propionsäuregärung. Da die Prop96 nur über einen schwachen Aspartat-Metabolismus verfügt, ist sie für die Energiegewinnung auf die klassische Propionsäuregärung angewiesen; ihr Wachstum ist also gehemmt. Nicht so die Prop01, die dank ihrer hohen Aspartase-Aktivität für die Energiegewinnung auf die Vergärung von Aspartat ausweichen kann, was sie offensichtlich schon bei geringer Erhöhung der NaCl-Konzentration macht. Die Bestimmung des Gehaltes an Propionsäure reicht also nicht, um eine definitive Aussage zum Nachgärungsrisiko machen zu können. Denn aus dem Aspartat-Metabolismus entsteht pro Milchsäure-Molekül 3x mehr CO₂ als in der klassischen Propionsäuregärung. ALP plant weitere Abklärungen in dieser Richtung.

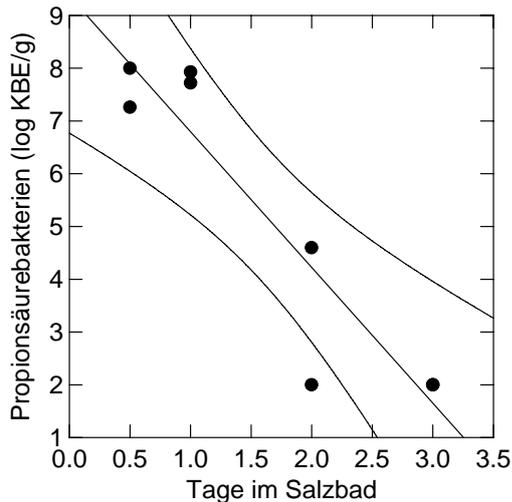


Abb. 6a. Propionsäurebakterien im 6 Monate alten Käse hergestellt mit Prop96 ($P = 0.95$)

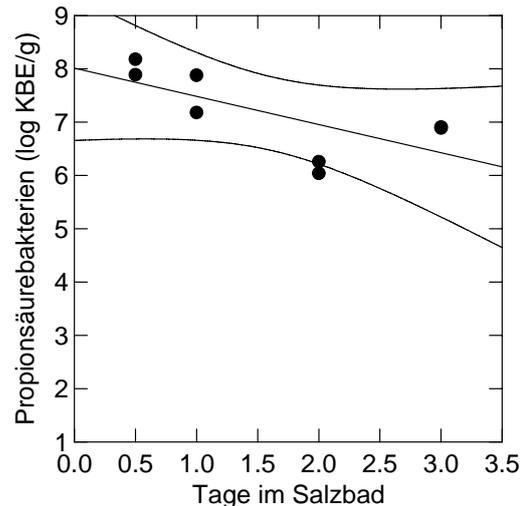


Abb. 6b. Propionsäurebakterien im 6 Monate alten Käse hergestellt mit Prop01 ($P = 0.95$)

Folgerung für den Käser: Prop-Stämme können sich unterschiedlich auf die Käsequalität auswirken. Daher müssen Kontaminationen mit „unbekannten Stämmen“ möglichst verhindert werden.

5.7 Enterobakterien

Synonyme	: Enterobacteriaceen, Enterobacteriaceae
Methode	: Koloniezählung mittels VRBG-Agar. Bebrütung 24 h bei 37°C, aerob (überschichtet).
Anwendungsbereich	: Alle Lebensmittel
Aussagewert	: Enterobakterien sind hitzelabil und darum ein wichtiger Hygieneindikator bei erhitzten Lebensmittel. Ihr Vorkommen in erhitzten Lebensmitteln zeigt eine Rekontamination an.
Kontaminationsquellen	: Grünfutter, Kot, Schutz, Boden, Abwasser

Die Enterobakterien sind eine grosse Familie verschiedener Gattungen von gramnegativen, fakultativ anaeroben und nicht sporenbildende Stäbchen. Aufgrund des Namens (gr. Enteron = Darm) werden Enterobakterien fälschlicherweise oft mit Fäkalkeimen gleichgesetzt. Doch der kleinere Teil der verschiedenen Enterobakterien sind typische oder ausschliessliche Darmbewohner. Für Salmonellen und \rightarrow *Escherichia coli* trifft es allerdings zu.

Alle Enterobakterien sind hitzelabil und werden bei Pasteurisationsbedingungen sicher abgetötet. Wie oben erwähnt sind sie darum ein wichtiger Hygieneindikator bei erhitzten Lebensmitteln. Enterobakterien sind im Allgemeinen wenig säuretolerant und viele ausserdem psychrotroph. Darum sind sie wichtige Verderbserreger bei nicht sauren Frischprodukten. Bei nicht erhitzten Produkten ist die Bestimmung der Enterobakterien in der Regel nicht sinnvoll, sind die Ergebnisse schwierig zu interpretieren.

Bei thermisierten Halbhartkäse und generell bei Hartkäsen findet man nach 24 h bei sauberer Fabrikationsweise und einwandfreier Säuerung kaum noch Enterobakterien und damit natürlich auch keine \rightarrow Coliformen Keime oder \rightarrow *E. coli*.

5.8 Fäkalindikatoren

5.8.1 Coliforme Keime

Methode	: Koloniezählung mittels VRB-Agar und anderen Medien. Bebrütung 24 h bei 37°C, aerob
Anwendungsbereich	: v.a. bei Produkten für den Export
Aussagewert	: ähnlich → <i>Escherichia coli</i>
Kontaminationsquellen	: Kot, Schutz, Abwasser

Als coliforme Keime werden jene Arten aus der Familie der → Enterobakterien bezeichnet, welche Milchzucker vergären können. Wie der Name erahnen lässt, zielt die Bestimmung der Coliformen eigentlich auf den Fäkalkeim → *Escherichia coli*. Laktose positiv sind aber noch einige andere Enterobakterien (z.B. *Citrobacter freundii*) und werden daher miterfasst.

In der Schweiz haben die coliforme Keime ihre Bedeutung als mikrobiologisches Kriterium schon vor über 20 Jahren weitgehend verloren, da einfache Nährmedien zur selektiven Erfassung von *E. coli* verfügbar wurden. In gewissen Exportländern findet man aber das Kriterium „Coliforme“ noch immer in Produktspezifikationen oder Normen.

5.8.2 *Escherichia coli*

Synonyme	: "Coli", Colibakterien, <i>E. coli</i>
Methode	: Koloniezählung mittels Chromogen <i>E.coli</i> -Agar. Bebrütung 24 h bei 44°C, aerob.
Anwendungsbereich	: Alle Lebensmittel, Trinkwasser
Aussagewert	: Indikator für fäkale Verunreinigung, Melkhygiene, Produktionshygiene
Bemerkungen	: Erhöhte Werte in Rohmilch können im Käse zu Nisserlochung oder zu Frühblähung innert der ersten 24 h führen. <i>E. coli</i> ist thermophil, unter 8°C praktisch kein Wachstum
Kontaminationsquellen	Warmblüterdarm, Kot, Jauche

E. coli dienen in der Lebensmittelmikrobiologie allgemein als Indikator für fäkale Kontaminationen. In der Käseherstellung treten die Colibakterien vor allem als Verursacher von nisseriger Lochung in Erscheinung, wobei sowohl eine übermässige Verunreinigung der Milch, zu warme Milchlagerung als auch eine schlechte Säuerung (Antibiotika!) verantwortlich sein kann.

5.8.3 Enterokokken

Synonyme	: Fäkalstreptokokken, D-Streptokokken
Methode	: Koloniezählung mittels Kanamycin-Äsculin-Azid-Agar oder Slanetz-Bartley-Agar. Bebrütung 24 h bzw. 48 h bei 37°C, aerob.
Anwendungsbereich	: Alle Lebensmittel, Trinkwasser
Aussagewert	: Indikator für fäkale Verunreinigung
Bemerkungen	: Enterokokken gehören zu den Milchsäurebakterien. Sind sehr widerstandsfähig und zählen zu den → salztoleranten Keimen
Kontaminationsquellen	: Kot, Jauche

Wie *E. coli* dienen Enterokokken in der Lebensmittelmikrobiologie als Indikator für eine fäkale Kontamination. Da Enterokokken gegen Temperatur, Trockenheit und andere Einflüsse resistenter sind als *E. coli*, ist ihre Bestimmung v.a. in Trockenprodukten (z.B. Milchpulver) üblich. Aber auch nach einer fäkalen Kontamination von Trinkwasser können Enterokokken im Verteilernetz in der Regel über einen längeren Zeitraum nachgewiesen werden als *E. coli*.

In Rohmilchkäsen sind Enterokokken häufig und teilweise mit recht hoher Keimdichte zu finden. Enterokokken sind bekanntermaßen starke Proteolyten, denen auch ein positiver Einfluss auf das Käsearoma nachgesagt wird. Andererseits können Enterokokken zur verstärkten Bildung der unerwünschten biogenen Amine führen.

5.9 Koagulasepositive Staphylokokken

Synonym	: <i>Staphylococcus aureus</i> (näherungsweise)
Methode	: Koloniezählung mittels Baird Parker Agar mit Hasenfibrinogen Bebrütung 48 h bei 37°C, aerob.
Anwendungsbereich	: Alle Lebensmittel
Aussagewert	: In Rohmilch: Indikator für Eutergesundheit Produkte: Lebensmittelsicherheitskriterium (Gefahr der Toxinbildung bei > 100'000 Keimen)
Bemerkungen	: Staphylokokken gehören zu den salztoleranten Keimen
Kontaminationsquellen	: Kranke Euter, Wunden, Schleimhäute
Anforderungen	: Lieferantenmilch < 300 KBE/g Kessmilch < 100 KBE/g

Koagulasepositive Staphylokokken sind (wie teilweise auch die Listerien) in der Kessmilch praktisch immer nachweisbar. In der Regel stammen sie von Kühen, die an einer subklinischen Mastitis erkrankt sind. Normalerweise sind die Keimzahlen in Mischmilch klar unter 1000 KBE/g. ALP hat aber auch schon Lieferantenmilchproben mit über einer Million koagulasepositiver Staphylokokken pro ml beobachtet. Eine solche Milch stellt trotz der wahrscheinlichen Verdünnung durch andere Milch eine Gefahr für die Lebensmittelsicherheit dar. Je nach Milchlagerung, Milchbehandlung und Temperaturverlauf während der Fabrikation können sich die Staphylokokken durchaus noch um Faktor 10 vermehren. Ausserdem werden die Keime im Bruch aufkonzentriert. Wenn nun Toxin bildende Staphylokokken zu irgend einem Zeitpunkt der Fabrikation eine Keimzahl von 10^6 /g oder mehr erreichen, dann drohen Lebensmittelvergiftungen. Die Staphylokokken sterben zwar während der Reifung von Halbhart- und Hartkäsen ab, die Toxine bleiben jedoch im Teig. Deshalb sind im neuesten Revisionsentwurf zur Hygieneverordnung anstelle von Endproduktkontrollen so genannte Prozesshygienekriterien für koagulasepositive Staphylokokken definiert.

Der Käser wird in Zukunft die koagulasepositive Staphylokokken nicht mehr im Endprodukt überwachen, sondern anhand von Proben, die er zum Zeitpunkt der wahrscheinlich maximalen Anreicherung des Keims fasst. Beim Hartkäse werden dies Proben des Käsebruchs beim Erreichen der Brenntemperatur sein, sonst der Käse vor dem Salzbad.

Prozesshygienekriterien für koagulasepositive Staphylokokken:

Käse aus Rohmilch: Toleranzwert $m = 10'000$, Grenzwert $M = 100'000$ KBE/g

Andere gereifte Käse: Toleranzwert $m = 100$, Grenzwert $M = 1'000$ KBE/g

Nicht gereifte Weichkäse: Toleranzwert $m = 10$, Grenzwert $M = 100$ KBE/g

6 Durch schädliche Keime hervorgerufene Käsefehler

	Fremdkeime	Enterobacteriaceae	Escherichia coli	Enterokokken	Salztolerante Keime	Propionsäurebakterien	obligat heterofermentative Lb	fakultativ heterferm. Lb.	Hefen	Cl. butyricum	Cl. tyrobutyricum	Anaerobe Sporen (Clostridien)	Lipolytische Keime	Proteolytische Keime	Psychrotrophe Keime
Lochungsfehler															
nestige Lochung							+		+	+					
Nisser	+	+	+						+						
Vielsatz	+	+	+						+						
Frühblähung	+	+	+						+	+		+			
unsaubere Lochung	+	+	+				+		+						
Spätblähung											+	+			
Gläs	+			+	+	+		+				+		+	
Geschmacksfehler															
beissend, scharf, unrein	+	+	+	+	+				+			+		+	+
bitter	+			+	+				+					+	+
ranzig	+								+	+	+	+	+		+
süsslich						+									
Teigfehler															
braune Tupfen						+									
roter Teig (Weichkäse)	+			+	+									+	
weiss und kurz				+										+	
kurz				+										+	
Verfärbungen															

Lesebeispiele:

- 1) **unsaubere Lochung** kann auf folgende Keime oder Keimgruppen verursacht worden sein: Fremdkeime, Enterobacteriaceen, E. coli, obligat heterofermentative Lb. oder Hefen
- 2) **Hefen:** können nestige Lochung und Nisser (meist u.N.), Frühblähung und div. Geschmacksfehler hervorrufen.

7 Richtwerte für Rohstoffe und Halbfabrikate

7.1 Lieferantenmilch

Keimbelastung	< 50'000	Impulse/ml
Fremdkeime (nicht Säurebildner)	< 20'000	KBE/g
Staphylokokken, koagulasepositive	< 300	KBE/g
Enterobacteriaceae	< 500	KBE/g
Escherichia coli	< 50	KBE/g
Salztolerante Keime	< 5'000	KBE/g
Propionsäurebakterien	< 10	KBE/g
Anaerobe Sporenbildner (MPN)	< 300	Sporen/L
Cl. tyrobutyricum (Filtration)	< 50	Sporen/L
Lipolytische Keime	< 3'000	KBE/g
Psychrotrophe Keime	< 3'000	KBE/g
Fak. heterofermentative Laktobazillen	< 30	KBE/g

7.2 Fertiger- und Kessmilch

Aerobe, mesophile Fremdkeime	< 20'000	KBE/g	thermisiert: <10'000
Staphylokokken, koagulasepositive	< 100	KBE/g	
Escherichia coli	< 30	KBE/g	
Enterobacteriaceae	< 500	KBE/g	
Salztolerante Keime	< 5'000	KBE/g	
Propionsäurebakterien	< 10	KBE/g	
Anaerobe Sporenbildner (MPN)	< 140	Sporen/L	
Cl. tyrobutyricum (Filtration)	< 25	Sporen/L	
Lipolytische Keime	< 3'000	KBE/g	
Psychrotrophe Keime	< 5'000	KBE/g	

7.3 Emmentaler 24 h

Salztolerante Keime	< 1'000	KBE/g
Enterokokken	< 1'000	KBE/g

7.4 Gruyère 24 h

Aerobe, mesophile Fremdkeime	< 1'500	KBE/g
Salztolerante Keime	< 500	KBE/g
Propionsäurebakterien	< 10	KBE/g
Enterokokken	< 100	KBE/g
Fak. heterofermentative Laktobazillen	< 100	KBE/g

7.5 Tilsiter und Appenzeller Käse 24 h

Aerobe, mesophile Fremdkeime	< 50'000	KBE/g	thermisiert: <30'000
Salztolerante Keime	< 5'000	KBE/g	
Propionsäurebakterien	< 30	KBE/g	
Enterobacteriaceen	< 1'000	KBE/g	

8 Toleranzwerte für Trinkwasser (unbehandelt, im Verteilernetz)

Aerobe, mesophile Keime	< 300	KBE/ml	HyV*
Escherichia coli	n.n. in 100 ml		HyV*
Enterokokken	n.n. in 100 ml		HyV*
Anaerobe Sporenbildner (Clostridien)	< 25	Sporen/L	GHP Käse

* Hygieneverordnung des EDI vom 23. November 2005 (Stand am 27. Dezember 2005)

9 Gesetzliche Toleranzwerte für Käse und einige andere Milchprodukte

Produktgruppe	Kriterium	KBE/g	Quelle
Pasteurisierte Milch	Aerobe, mesophile Keime <i>Enterobacteriaceae</i>	100'000 10	HyV*
Joghurt	<i>Enterobacteriaceae</i> Hefen	10 1'000	HyV
Konsumrahm flüssig	Aerobe, mesophile Keime <i>Enterobacteriaceae</i>	100'000 10	HyV
Käse extrahart und hart (inkl. in geriebener Form)	<i>Escherichia coli</i> Koagulasepositive Staphylokokken	10 100	HyV
Käse halbhart (inkl. in geriebener Form)	<i>Escherichia coli</i> Koagulasepositive Staphylokokken	1'000 1'000	HyV
Weichkäse (inkl. essbarem Rindenanteil)	<i>Escherichia coli</i> Koagulasepositive Staphylokokken	1'000 1'000	HyV
Frischkäse	<i>Enterobacteriaceae</i> Koagulasepositive Staphylokokken	1'000 10	HyV
Butter aus past. Rahm	Aerobe, mesophile Keime (nur Süssrahmbutter) <i>Escherichia coli</i> Hefen	100'000 10 50'000	HyV
Butter aus unpast. Rahm	Aerobe, mesophile Keime (nur Süssrahmbutter) <i>Escherichia coli</i> Koagulasepositive Staphylokokken	1'000'000 10 100	HyV

* Hygieneverordnung des EDI vom 23. November 2005 (Stand am 27. Dezember 2005)

Herausgeber Forschungsanstalt Agroscope Liebefeld-Posieux ALP, CH-3003 Bern, Tel. +41 (0)31 323 84 18, Fax +41 (0)31 323 82 27, www.alp.admin.ch, e-mail: info@alp.admin.ch **Autoren** Ernst Jakob, Hans Winkler
Fotos/Redaktion Agroscope Liebefeld-Posieux **Layout** Ernst Jakob **Copyright** Nachdruck bei Quellenangabe und Zustellung eines Belegexemplars an die Herausgeberin gestattet.