



Hohe Enterobakterien-/Coliformengehalte in Kase

Rohmilch kann und darf diese Keime enthalten. Meist kommt es jedoch nur in Verbindung mit einer schwachen Säuerung bzw. einer dominierend thermophilen Säuerung zu höheren Coliformengehalten.

Enterobakterien an sich müssen kein Problem darstellen. So findet man in speziellen franz. Weichkäsen bisweilen Enterobakterienkonzentrationen (an *Hafnia alvei*) bis 100.000.000 kbE/g. Dies ist hier sogar erwünscht – soll den typischen „farm house taste“ geben.

Eine unkontrollierte Enterobakterien-, i.b. E.colivermehrung kann jedoch auch kritisch sein, sofern nicht sichergestellt ist, dass die Rohmilch keine verotoxinbildenden E.coli (VTEC bzw. STEC) enthält. VTEC E.coli sind eine der häufigsten Ursachen für Rohmilchweichkäse-Rückrufe..

Allgemeine Anmerkungen zu Enterobakterien/Coliformen in Käse

Enterobakterien/Coliforme Keime sind kein „Sicherheitskriterium“ bzw. absolut pathogen. So sind Enterobakterien/Coliforme Indikatoren für die technologische Sorgfalt (R&D der Geräte, Säuerungstechnologie). Das natürliche Reservoir ist der Darm von Warmblütern. Enterobakterien reichern sich jedoch bevorzugt im wässrig-milchigen Milieu an – und sind somit in den meisten Betrieben Bestandteil der Käserei-/Anlageflora. In diesem Milieu findet man vor allem kältetolerante Spezies. Das wiederum bedeutet, dass aus der Anwesenheit von Enterobakterien bzw. Coliformen kein unmittelbarer Rückschluss auf fäkale Verunreinigungen etc. möglich ist – Enterobakterien bzw. Coliforme sind Indikatoren für mangelnde technologische Sorgfalt bzw. Reinigung.

- ☞ Die Keimgruppe der *Enterobakterien* fungiert daher als sogenanntes *Prozesshygienekriterium* VO(EG) Nr. 2073/2005. Enterobakterien die Zucker (Laktose) vergären werden unter der Gruppe „Coliforme“ zusammengefasst. Nach Entwicklung neuer elektiver Nachweisverfahren hat man den Begriff „Coliforme“ auf sämtliche Keime erweitert, die das Enzym β -Galactosidase besitzen

Laktosenegative, in der Regel eiweißspaltende Enterobakterien (wie *Serratia* ssp..) sind häufig kältetolerant und siedeln sich daher gerne in gekühlter, überlagerter Rohmilch an. Kritisch sind wässrige Oberflächen, vor allem bei Fehlen einer säurebildenden Schutzflora. Sofern sich diese Keime im Käse stärker vermehren – auf Grund keimreicher Milch oder zu hohen pH-Werten - kann es zu geschmacklichen Abweichungen, wie *unrein*, *bitter* etc. kommen. Spezielle Stämme von *Serratia* (*S. marcescens*, *S. rubidea*) können auf Oberflächen (u.a. Käse) rote Punkte/Stellen hervorrufen. Enterobakterien der *Proteus-group* (auch *lactoseneg.*, *Galactosebbauer*) bevorzugen das alkalische Milieu. Diese Keime findet man daher häufig auf Käsen mit Oberflächenreifung (Schmiere, Edelschimmel).

Eine Ursache für hohe Enterobakterienkeimzahlen ist nicht selten :

- ein erhöhter Restzuckergehalt (Galaktose). Daher sind ausschließlich thermophil hergestellte Weichkäse extrem anfällig für eine stärkere Enterobakterien-/Coliformenvermehrung.
- Die Coliformensituation kann man etwas entschärfen, indem man einen gewissen Anteil (20%) mesophile Laktokokken der Milch zusetzt. Aber auch hier kann es zu einer stärkeren Coliformenvermehrung kommen – vor allem in Verbindung mit einer Säuerungsschwäche (Bakteriophagen!) der mesophilen Kultur, der Laktokokken.
- Solche Käse haben generell Restzucker, und zwar noch Galactose. Anzustreben sind Galactosegehalte von $< 0,6\%$ im jungen Käse – ansonsten säuern die Käse länger nach – mit der Folge von Oberflächenproblemen (nassschmierig, Fremdschimmel) oder Lochungsfehlern (vor allem durch Coliforme und *Leuconostoc*).
- Je schneller die Oberfläche abtrocknet, desto geringer sind auch die Enterobakterienkeimzahlen. Bevorzugt vermehren sich die Enterobakterien im Bereich der Käseoberfläche.
- Diese Keime werden – bei Konzentrationen von >1 Mio. kbE/g – häufig im Rahmen der LM-Überwachung beanstandet – in Verbindung mit sensorischen Abweichungen.

Käsungstechnisch:

Da die Rohmilch immer Coliforme enthält - bis zu 50.000 kbE/ml - ist es hier besonders wichtig, mit säuerungsaktiven Kulturen (=Betriebskulturen, aktivierte Dirketstarter) zu arbeiten. Ist dies nicht der Fall - etwa bei Direktstartern - so ist auf äußerste RM-Hygiene zu achten.

- Gerade in Hinblick auf die in der Rohmilch enthaltenen Fremdkeime, wie Coliforme und koagulasepositive Staphylokokken, wird empfohlen, die die Vorreifungszeiten - auch bei Direktstartern - auf <60 Minuten zu begrenzen.
- Auch phagentechnisch sind zu lange Vorreifungszeiten zu vermeiden, da die Kulturenkeime vor allem in der *Startphase (bis zum Einlabungszeitpunkt)* sensibler gegen Phagenbefall sein sollen. Alternativ empfehlen wir daher, die jeweilige Kulturenmenge in einem separaten Ansatz in hochechitzter Milch (etwa UHT Milch) für 1-2 h bei $30-38^\circ\text{C}$ - je nach Säuerungstechnologie - vorzureifen.

Weichkäse werden traditionell mit mesophilen, laktoseabbauenden Laktokokken hergestellt. Solche Käse können bis auf pH-Werte von 4,60–4,70 säuern und weisen im jungen Stadium daher einen Kern auf. Reifungstechnisch ist dies kein Problem, sofern die Säuerung spätestens nach 4 Tagen abgeschlossen ist - der Restzuckergehalt liegt dann bei $<0,1\%$. Werden nun zusätzlich thermophile Stämme, wie *Streptococcus thermophilus* eingesetzt, so wird die Laktose in die Einfachzucker *Glucose* und *Galaktose* gespalten. Wenn solche Käse nicht mit der dafür notwendigen Technologie (Wärmekammern) oder mit äußerster Anlagehygiene fabriziert werden, so ist die Vermehrung von galaktoseabbauenden Fremdkeimen, i.b. an Coliformen oder auch gasbildenden Laktobazillen und *Leuconostoc*, kaum zu vermeiden. Bei Mozzarella ergibt sich zusätzlich ein Pseudomonadenproblem.

- DENN: Die freigesetzte Galaktose wird von den thermophilen Stämmen nicht abgebaut! Die Laktokokkensäuerung ist bei Einsatz von Mischkulturen häufig zu schwach, da der überwiegende Teil der Laktose durch thermophile Streptokokken gespalten wird und somit nicht mehr für die Laktokokken verfügbar ist! Daher sollte die Anfangssäuerung, die Streptokokkenaktivität nicht zu stark sein.
 - Nun ist es jedoch so – bedingt durch den Restzucker und die Vermehrung von Coliformen (vor allem *Hafnia alvei*) oder auch Enterokokken (Ek. *Fäcium* bzw. *durans*) wird das Eiweiß bis auf Aminosäureebene abgebaut, was den für viele Rohmilch (Weichkäse) typischen Charakter velleiht.
- speziell bei Weichkäse und Käse mit Oberflächenreifung sind Reiferaumtemperaturen von >15 °C kritisch, da unter diesen Bedingungen vor allem proteolytische Enterobakterien bzw. Coliforme (wie: *Eb. cloacae*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus sp.* ...) sich stärker vermehren. Was *E. coli* anbelangt, so können sich diese Keime scheinbar nur dann noch im Käse vermehren, falls der Zucker - durch die zugesetzten Milchsäurebakterien - nicht vollständig (spätestens am 4. Tag nach Salzbad) abgebaut ist.

Lt. Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuch (LFGB) sollte das Lebensmittel so beschaffen sein, dass keine Beeinträchtigung durch den Konsum gegeben ist. Dies führt dazu, dass von Seiten der LM-Überwachung nicht selten Coliformengehalte von >1 Mio. kbE/g beanstandet werden, i.b. in Verbindung mit sensorischen Veränderungen. Was Coliforme anbelangt, so kommt es allerdings erst bei sehr hohen (>20 Mio. Colif./g) zu Qualitätsbeeinträchtigungen, wie etwa „unreines Lochbild, Verfärbungen im Bereich der Oberfläche und die Ausbildung eines dtl. ammoniakalischen Geruches.

Um zu vermeiden, dass sich die über die Rohmilch eingetragenen Keime im Käse zu stark vermehren, ist es von Vorteil, den Käse ausreichend (>2 % Kochsalz absolut) zu salzen. Rotschmierekäse hat meist >2,2 % NaCl. Hier kommt es dann auch selten zu einer Weitervermehrung der Coliformen.

Beachte: Enterobakterien/Coliforme sind häufig für den sog. „*Farm house character*“ von Rohmilchkäsen verantwortlich. Eine besondere Rolle spielen in diesem Zusammenhang Enterobakterien der Spezies *Hafnia alvei*. In Frankreich ist es daher (bei Camembert du Normandie, Coloumier,..) nicht unüblich, diese Keime bewusst der Käsereimilch zuzusetzen, sofern mit pasteurisierter Milch gearbeitet wird. Im Käse können so durchaus Enterobakterienkonzentrationen von 10⁸ kbE/g erreicht werden. Problematisch wird die Vermehrung, der Zusatz dieser Keime dann, sofern die zugesetzten Säuerungskulturen inaktiv sind (Hemmstoff, Phagen,..) – dann können diese *Hafnia Keime* auch Milchzucker unter CO₂ Bildung abbauen – der Käse ist offen – bis zu einer sog. *Frühblähung*.

Sofern erhitzt/thermisiert wird:

- Coliforme/*E. coli* sind vielfach Bestandteil der Anlage-/Betriebsflora (Laktosevergärer!). Werden die Anlagen nicht gründlich gereinigt, so können sich diese Keime in den Anlagen anreichern und somit in höherem Maße den Käse kontaminieren.
- Kritisch ist die Zwischenreinigungszeit, da sich in Dichtungen, Verschraubungen etc. die immer vorhandenen Keimreste vermehren und anreichern können - dies umso mehr, je höher die Außen- und somit Raumtemperaturen liegen.
- Hauptkontaminations-/Vermehrungsorte für Coliforme sind milchführende (Milchzucker) Systeme, Leitungen, Tanks. Die eigentliche Käsebereitung – in der Wanne, im Fertiger – stellt im Normalfall kein allzu großes Problem mehr dar, da zu diesem Zeitpunkt die Kulturenkeime das Säuerungs geschehen dominieren (sollten). Personalhygiene ist in diesem Bereich notwendig – war jedoch noch nie die Ursache für erhöhte Enterobakterien-/Coliformengehalte (siehe Diss. Dr.J.Hüfner: Herkunft und Entwicklung von Coliformen bei der Käseherstellung).

Nicht selten vermehren sich die Coliformen in past. Milch bzw. dem daraus hergestellten Käse besser als in Rohmilchkäse, da die Begleit-/Schutzflora fehlt. Bei der Verarbeitung von past. Milch ist daher die Anlagehygiene noch wichtiger als bei der Rohmilchverarbeitung.

- ☞ So sind vor allem technisch (Citronen-, Milchsäure) gesäuerte Käse (Mozzarella, Grillkäse) sehr anfällig – hier liegt der volle Zuckergehalt (u.a. vor allem Lactose) vor!
- ☞ Bei Mozzarella werden im Kern – nach Filierung mit heißem (80°C-90°C) Wasser - Temperaturen von 58-60°C erreicht. Bei diesen Temperaturen erfolgt keine vollkommene Inaktivierung von Enterobakterien, i.b. *E.coli*. Diese Keime können sich bei rascher und tiefer (< 8°C) Kühlung kaum noch vermehren.
- Um einer Coliformen-Vermehrung während der Vorreifungs- und Käsebearbeitungsphase wirkungsvoll gegenzusteuern, ist es von Vorteil, schnellsäuernde Betriebskulturen (angezüchtet auf Milch oder Medium) zu verwenden.
- Was die Kulturenführung anbelangt, so haben die mesophilen Kulturen ihr Optimum im Bereich von 25–30 °C. Bei manchen Kulturen verlangsamt sich die Säuerungsaktivität drastisch, sofern Käsungstemperaturen von >37 °C angewendet werden.
- Wenn möglich, ist nicht mit einer Kultur, einer sog. Mischkultur (aus thermophilen und mesophilen Stämmen) zu arbeiten, sondern mit jeweils 1 thermophilen Kultur und 1 (besser 2) mesophilen Kulturen arbeiten. So kann – bei Säuerungsproblemen, wie zu hohe pH Werte vor Salzbad, nur die mesophile Komponente anteilmäßig erhöht werden. In der Praxis - bei franz. Technologie – hat sich ein Verhältnis von thermophil:mesophil von 80:20 bewährt.
- Auch in Erhitzungssystemen (im Austausch-/Anwärmer/Kühler) ist eine Anreicherung möglich. In der wärmeren Jahreszeit reichern sich vor allem die eher Wärme liebenden *E. coli* in Milch-/Wasser-/Molkeresten an. Es kann daher von Vorteil sein, die Anlagen, Geräte vor Verwendung nochmals heiß zu fahren. Beim Landwirt sind die Leierungen vor dem Melken nochmals zu spülen.
- So kann ein höherer *Acinetobacter* Gehalt der pasteurisierten Milch als ein Indikator für Erhitzungs-/Biofilmp Probleme gewertet werden. Diese Keime überdauern den unteren Kurzzeiterhitzungsbereich – sind darüber hinaus extrem robust gegen die üblichen Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen, da die meisten *Acinetobacter* Kolonien von äußerst zähe Konsistenz sind und somit an Oberflächen „festkleben“

- Viele Enterobakterien, i.b. Vertreter des *Enterobacter cloacae complex* sind starke Schleimbildner (es werden sogenannte *Exopolysaccharide* bzw. *EPS* gebildet). Somit sind diese Keime rel. geschützt gegen die üblichen DESI Maßnahmen – andererseits können hartnäckige Biofilme entstehen. Es ist daher wichtig, vor Desinfektionsmaßnahmen Produktreste sauber zu entfernen. Am effektivsten in diesem Zusammenhang ist nach wie vor die heiße (80-85°C) Laugenreinigungen (am besten mit Zusatz von Tensiden, Additiven). Erst dann wirken auch Desinfektionsmaßnahmen

Unter gesundheitlichen Aspekten spielen coliforme Bakterien, aber auch *E. coli*, im Normalfall keine Rolle - der Käse könnte allerdings schneller reifen und zu einer offenen Struktur neigen. In geschmacklicher Hinsicht sind in der Regel keine Nachteile zu erwarten.

Anmerkung zum erhöhten *E. coli*-Gehalt:

E. coli ist kein „Sicherheitskriterium“ bzw. absolut pathogen lt. Anlage 1 EG (VO) 2073/2005/EG fungieren *E. coli* als Prozesshygieneparameter, deren Vorkommen auf Mängel bei der Betriebshygiene (technologische Sorgfalt, R&D der Geräte, Säuerungstechnologie) hinweist. Sollten die lt. LM-Hygiene-VO gültigen Grenzwerte („M“ = 1000 kbE/g für Käse aus erhitzter Milch), sind Maßnahmen zur Verbesserung in der Herstellungshygiene und bei der Auswahl der Rohstoffe zu ergreifen. Durch Intensivierung der Eigenkontrollen und durch die Zustellung von Verfolgsproben ist sicherzustellen, dass die *E. coli*-Gehalte reduziert werden.

Da Rohmilch prinzipiell diese Keime enthalten kann und bei der Rohmilchkäsefabrikation nicht unbedingt während der Verarbeitung eingetragen wird, existieren für den Bereich der Rohmilch-Käseherstellung - im Gegensatz zur Verarbeitung erhitzter Milch - diesbezüglich keine Grenzwerte. Die Erfahrung zeigt jedoch, dass es möglich ist, auch in der Rohmilch den *E. coli*-Gehalt bei <100 kbE/ml (i.d.R.: <10 kbE/ml) zu halten. D.h., für diesen Fall sind auch *E. coli*-Gehalte von <100.000 kbE/g realisierbar.

Trotzdem kann es zu erhöhten Coliformen-/*E. coli*-gehalten kommen. Dies u.a. dann, wenn langsam säuernde Kulturen, wie z.B. Direktstarter - i.b. in Verbindung mit nicht optimal gewählten Käsungstemperaturen - eingesetzt werden. Eine stärkere Vermehrung dieser „Markerkeime“ (für ungenügende technologische Sorgfalt) ist dann kaum zu vermeiden. Wesentlich ist, mit aktiven Kulturen - bei Weich- und Schnittkäse am besten mit mesophilen Startern - zu arbeiten. Denn, die thermophilen Kulturen sind häufig nicht in der Lage, auch die Galaktose abzubauen. Gerade dieser Zucker wird dann bevorzugt durch Coliforme (*E. coli*) oder heterofermentative Milchsäurebakterien (wie *Leuconostoc*) abgebaut. Letztere können zu einem offen, nestigen Teigbild führen.

So wächst speziell *E. coli* nur solange, wie noch verwertbarer Zucker im Käse vorhanden ist. Weitere Enterobakterien bzw. Coliforme, wie i.b. *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella*, *Serratia*, etc. können auch im Käse noch wachsen, allerdings nur dann in stärkerem Maße, falls die Reifungstemperaturen erhöht sind. Kritisch sind bereits Temperaturen von >15°C! Optimal wären Reifungstemperaturen von 12–13°C.

Weiterhin sind vor allem Direktstarter häufig dem enormen Phagendruck bei der Rohmilchverarbeitung nicht „gewachsen“. Es ist daher von Vorteil, die Säuerungsaktivität auf der Presse bzw. im Abtropfraum mittels pH-Messung zu überwachen (die pH-Werte sollte bei sämtlichen Käsen nach ca. 8 h bei mind. 5.20 liegen!).

Bei Säuerungsschwäche der zugesetzten Kulturenkeime kommt es vor allem zu einer stärkeren Vermehrung von Coliformen.

Ansonsten sind Coliforme/*E. coli* vielfach Bestandteil der Anlage-/Betriebsflora (Laktosevergärer!). Werden die Anlagen nicht gründlich gereinigt, so können sich diese Keime in den Anlagen anreichern und somit in höherem Maße den Käse kontaminieren. Auch in Erhitzungssystemen (im Austauscher/Anwärmer/Kühler) ist eine Anreicherung möglich.

In der wärmeren Jahreszeit reichern sich vor allem die eher wärmeliebenderen *E. coli* in Milch-/ Wasser-/Molkeresten an. Es kann daher von Vorteil sein, die Anlagen, Geräte vor Verwendung nochmals durchzuspülen.

Unter gesundheitlichen Aspekten spielen *E. coli* im Normalfall keine Rolle.
Anzustreben wäre allerdings, den *E. coli*-Gehalt bei <100.000 kbE/g zu halten. Was Coliforme anbelangt, so wird deren Vorkommen häufig überbewertet. In der Regel wirken sich die Peptidasen der Coliformen positiv auf die Reifung und den Geschmack aus. Bei Gehalten von >1 Mio. kbE/g kann es allerdings zu „offenen“ Käsen kommen.

Coliforme und *E.coli* gelangen zu > 90% über Milch-/Wasserreste der Anlage in die Käsereimilch, den Bruch und dann in den Käse. Das Personal an sich spielt bei der Naturkäseherstellung so gut wie keine Rolle. Wäre dem so, so müsste man auch in Käse aus past.Milch erhöhte Gehalte an Staph. aureus nachweisen können. Auch pathogene *E.coli*, sog. Shigatoxinbildende Stämme („STEC“) wurden bis dato ausschließlich bei der Rohmilchverarbeitung im Käse (oder auch Salzbad, Schmierwasser) nachgewiesen. Staphylokokken sind Haut-/Euterkeime und gelangen in erster Linie über die Milch bzw. die Milch euterkranker Tiere in den (Rohmilch-) käse. Pathogene *E.coli* Stämme werden bei der Pasteurisierung ausreichend inaktiviert!

Wie schon erwähnt sind Enterobakterien/Coliforme in erster Linie Kontaminationskeime, wobei die Reinigbarkeit der Anlage selbst eine große Rolle spielt. Je nach technischer Ausstattung (Koagulator, Wannen, Röhrenportionierung,..) oder Vorreifungstechnologie (kontinuierlich bzw. Chargenvorreifung) war bzw. ist es möglich, die Coliformen und *E.coli* Werte der Käsereimilch um 2-3 log Stufen (10-er Potenzen) zu senken. Somit reduzierte sich der Coliformengehalt, vor allem in neuen „*Wannenkäseereien*“ oder bei der *Koagulatortechnik* auf < 10.000 kbE/g Käse bzw. der *E.coli* Gehalt auf < 1000 kbE/g .

Wie schon erwähnt, spielen laktosenegative Enterobakterien in Bruch, Molke und Käse keine Rolle. Bei den Untersuchungen konzentrierte man sich daher ausschließlich auf den Parameter *Coliforme und E.coli*.

Auf Grund der in verschiedenen Weichkäseereien gewonnen Erkenntnisse wurden folgende Richtwerte für die Weichkäseherstellung empfohlen:

Milch – erhitzt	neg. in 100 ml
Milch (bei Einlaben)	neg. in 10 ml (Prod. Ende: < 1/ml)
Molke (Portionieren)	neg. in 10 ml (Prod. Ende: < 1/ml)

Hygienische Relevanz bei Käse

Enterobakterien/Coliforme , auch *E. coli* sind kein „Sicherheitskriterium“ bzw. absolut pathogen .

So sind Enterobakterien/Coliforme Indikatoren für die technologische Sorgfalt (R&D der Geräte, Säuerungstechnologie). Enterobakterien reichern sich bevorzugt im wässrig-milchigen Milieu an. Das natürliche Reservoir ist zwar der Darm von Warmblütern, im milch-sauren, lactosehaltigen Milieu von Milch-Wasserresten sind diese Keime, auch *E.coli* vor allem bei größeren Betrieben zwischenzeitlich Bestandteil der Produktionsanlagen-Flora. Vor allem kältetolerante Enterobakterienspezies, wie *Klebsiella*, *Raoultella*, *Serratia*, bestimmte Spezies der *Enterobacter cloacae* complex oder die für Rohmilchkäse charakteristischen *Hafnia alvei* dominieren zwischenzeitlich die Kontaminationsflora von Käsereien. Rückschlüsse auf fäkale Verunreinigungen etc. sind nicht möglich. Was den Enterobakterien/Coliformennachweis anbelangt, so sollte daher eher eine Bebrütungstemperatur von 30°C gewählt werden – zumindest bei den Anreicherungs-/MPN Verfahren, wie es die Methodenvorschriften vorgeben. Höhere (37°C) Bebrütungstemperaturen führen zu einer höheren Selektivität in Richtung Enterobakterien, da andere gramnegative Keimgruppen, i.b. die Pseudomonaden bei 37°C und Gußverfahren schlechter wachsen.-

- Bei der Käseherstellung fungieren *E.coli* lt. VO(EG) Nr. 2073/2005. lediglich als sogenanntes *Prozesshygienekriterium* Sollten die lt. LM-Hygiene-VO gültigen *E.coli* Grenzwerte („M“ = 1000 kbE/g für Käse aus erhitzter Milch), sind Maßnahmen zur Verbesserung in der Herstellungshygiene und bei der Auswahl der Rohstoffe zu ergreifen. Durch Intensivierung der Eigenkontrollen und durch die Zustellung von Verfolgspalten ist sicherzustellen, dass die *E. coli*-Gehalte reduziert werden.
- Enterobakterien bzw. die gesamte Gruppe der Coliformen ist nicht mehr Bestandteil der EU VO 2073, da diese Keime bei der Verarbeitung von Rohmilch obligater Bestandteil des Rohstoffes sind.

- Auch bei der Verarbeitung von Käse aus past.Milch ist die Gesamtgruppe der Enterobakterien nur sehr bedingt geeignet, Rückschlüsse auf die Personalhygiene bzw. den Eintrag von potentiell pathogenen Enterobakterien zu schließen, zumal es sogar üblich ist, bestimmte Enterobakterienstämme (*Hafnia alvei*) bewusst der Käsereimilch zuzusetzen.

So findet man spezielle in franz. Weichkäsen bisweilen Enterobakterienkonzentrationen (an *Hafnia alvei*) bis 100.000.000 kbE/g. Dies ist hier sogar erwünscht (teilweise werden diese Keime der Milch zugesetzt)– soll den typischen „farm house taste“ geben.

Auch rotgeschmierte Weich- und Schnittkäse enthalten im Bereich der Oberfläche obligat reifungsrelevante Enterobakterien – hier Vertreter der *Proteus group*. Die Anwesenheit dieser Keime stellt kein Hygieneproblem dar !

Eine unkontrollierte Enterobakterien-, i.b. E.colivermehrung kann jedoch auch kritisch sein, sofern nicht sichergestellt ist, dass über die Rohware keine verotoxinbildenden E.coli (VTEC bzw. STEC) eingetragen werden. Kritisch ist Rohmilch.

Um zu vermeiden, dass sich die über die Rohmilch eingetragenen Keime im Käse zu stark vermehren, ist es von Vorteil, den Käse ausreichend (>2 % Kochsalz absolut) zu salzen. Rotschmierekäse hat meist >2,2 % NaCl. Hier kommt es dann auch selten zu einer Weitervermehrung der Coliformen. Es ist dringend davon abzuraten, auf denselben Anlagen – incl. Salzlaken, Schmierwasser – parallel Käse aus Roh- und past.Milch herzustellen.

Fazit

E. coli ist kein „Sicherheitskriterium“ bzw. absolut pathogen . Lt. Anlage 1 EG (VO) 2073/2005/EG fungieren *E. coli* als Prozesshygieneparameter, deren Vorkommen auf Mängel bei der Betriebshygiene (technologische Sorgfalt, R&D der Geräte, Säuerungstechnologie) hinweist. Sollten die lt. LM-Hygiene-VO gültigen Grenzwerte („M“ = 1000 kbE/g für Käse aus erhitzter Milch), sind Maßnahmen zur Verbesserung in der Herstellungshygiene und bei der Auswahl der Rohstoffe zu ergreifen. Durch Intensivierung der Eigenkontrollen und durch die Zustellung von Verfolgsproben ist sicherzustellen, dass die *E. coli*-Gehalte reduziert werden.

Im Rahmen der amtl. LM-Überwachung orientiert man sich häufig am Schweizer LM Buch. So werden solche Käse häufig erst dann beanstandet, sofern die Enterobakteriengehalte bei $> 1.000.000$ kbE/g liegen – in Verbindung mit sensorischen Abweichungen.

Um die hygienisch, gesundheitliche Relevanz von Enterobakterien in Käse letztendlich einigermaßen beurteilen zu können, ist es unabdingbar, eine Keimdifferenzierung durchzuführen. So sind Enterobakterien der Spezies *Hafnia alvei* auch in Käse aus past. Milch nicht unbedingt als unerwünschte Kontamination anzusehen. Diese Keime prägen ganz wesentlich den Käsegeschmack (von Rohmilch-Weichkäsen), werden daher in Käseländern, wie z.B. Frankreich teilweise der past. Milch wieder zugesetzt. So ist es auch zu verstehen, dass der Parameter Enterobakterien/Coliforme in der EU VO 20723 nicht geregelt ist. Werden Käse geschmiert – mit einem salzhaltigen Wasser – so entwickelt sich auf der Käseoberfläche eine Schmiereflora, welche u.a. Enterobakterienkeimzahlen bis zu 10^7 kbE/g aufweisen kann. Hier handelt es sich dann um Vertreter der Proteus group (Proteus, Morganella, Providentia). Eine Beanstandung erfolgt auch hier dann meist in Verbindung mit deutlichen (stark ammoniakalischer Charakter) sensorischen Abweichungen.

Hergatz, 20.10.2020/2025


Dr. Josef Hüfner

Dr. Josef Hüfner

Institutsleitung
amtl. zugelassener Gegenprobensachverständiger

Literatur:

Prof. Busse, Freising: Enterobakterien als Indikatorkeime für Lebensmittel – ein kritische Betrachtung, Schweizerische Gesellschaft für LM-Hygiene, Heft 14, 1984

J. Hüfner: Herkunft und Entwicklung von Coluiformen bei der Herstellung von Weichkäse, Diss. TU-München, 1984

J. Hüfner: Sekundärstandards der Inustrie/des Handels für Enterobakterien und Hefen in Käse – Anspruch, Machbarkeit und Grenzen - „Molkereindustrie“ 1 2015 | moproweb.de

Nachweisverfahren – MPN Verfahren - Anreicherungsverfahren

Seit mehr als 100 Jahren hat sich der Coliformennachweis als brauchbare Methode zur Überprüfung des Anlagezustandes und der Anwesenheit unerwünschter Gasbildner (=Laktoseabbauer) erwiesen.

Was den Enterobakterien/Coliformennachweis anbelangt, so sollte daher eher eine Bebrütungstemperatur von 30°C gewählt werden – zumindest bei den Anreicherungs-/MPN Verfahren, wie es die Methodenvorschriften vorgeben. Höhere (37°C) Bebrütungstemperaturen führen zu einer höheren Selektivität in Richtung Enterobakterien, da andere gramnegative Keimgruppen, i.b. die Pseudomonaden bei 37°C und Gußverfahren schlechter wachsen.-

Wesentlich ist, dass über das Merkmal Säure- und Gasbildung ein sehr sensibler (Anreicherung von 10 ml Milch in Röhrchen) und darüber hinaus sehr rascher (E.coli < 8h in BRILA Medium mit Farbindikator) Nachweis einer Kontamination bzw. eines R&D Mangels möglich ist. (E.coli Nachweis: siehe VDLUFA Methode: M 7.2.2.2)

E.coli:

E.coli Keime wachsen bei 44°C. Gas- und säurebildende Coliforme, die bei 44°C wachsen werden unter dem Begriff *thermotrophe Coliforme* zusammengefasst. Zu > 99% dürfte es sich – zumindest in der Käserei – um Vertreter von E.coli handeln.

Ansonsten verfährt man so, dass man von den positiven LST Röhrchen (Coliformennachweis) in Peptonwasser impft und nochmals für 24h bei 44°C bebrütet. Danach prüft man mit Kovac's Reagenz (1 Tropfen) auf eine positive Indolreaktion.

Wichtig: Röhrchen sehr rasch auf 44°C anwärmen – daher auch die Bebrütung in Wasserbädern.

Indolreaktion: Man kann auch Kovac's Reagenz direkt auf LST Medium geben – hier sieht man dann auch eine schwach positive „Rotverfärbung“.

Ansonsten: Einfacher und unkomplizierter: aus positiven LST Röhrchen auf Chromocult Agar austreichen – 24h bei 32°C-37°C bebrüten. Blaue Kolonien sind E.coli. (siehe Anlage)

Nachweisverfahren – feste Medien

Seit mehr als 100 Jahren hat sich der Coliformennachweis als brauchbare Methode zur Überprüfung des Anlagezustandes und der Anwesenheit unerwünschter Gasbildner (=Laktoseabbauer) erwiesen.

Wesentlich ist, dass über das Merkmal Säure- und Gasbildung ein sehr sensibler (Anreicherung von 10 ml Milch in Röhren) und darüber hinaus sehr rascher (E.coli < 8h in BRILA Medium mit Farbindikator) Nachweis einer Kontamination bzw. eines R&D Mangels möglich ist.

Im Bereich der Lebensmittelherstellung gibt es jedoch nicht nur milchverarbeitende Betriebe. So spielt bei Wurst und vielen Feinkostprodukten Laktose nur eine untergeordnete Rolle; Glucose ist in irgendeiner Form jedoch in sämtlichen Lebensmitteln enthalten.

- Aus dem „Irrglauben“, dass nicht laktoseabbauende gramnegative Enterobakterien auf VRB nicht wachsen, hat man den sog. VRBD (G) konzipiert. 90% der Nutzer meinen tatsächlich, dass durch die Glucose ein besserer Enterobakteriennachweis möglich ist. Dies ist absolut nicht richtig – dies belegen auch die seit 10 Jahren vom Institut MIH organisierten PT-Tests (mikrobiologische Vergleichsuntersuchungen, siehe Grafik unten). Wie schon gesagt, wachsen sämtliche Enterobakterien – im Gegensatz etwa zu Laktobazillen – auch ohne Zucker, ansonsten wäre es ja unsinnig, für die Enterobakterien-Diagnostik das Reinigen auf einem zuckerfreien Nährboden (in Deutschland: DEV Nährboden) vorzuschreiben. Ich denke jedoch, dass die Hitzeempfindlichkeit von Glucose noch ein Grund sein könnte, dass häufig auf VRBD die Keimzahlen niedriger liegen als auf VRB.

Fazit:

Sofern möglich, sollte man intern auf jeden Fall wieder auf Coliforme untersuchen. Die Keimzahlen auf VRBD können bisweilen verwirren, vor allem, wenn auch Enterokokken mitgezählt werden,.

- In Bereichen, wo eine hohe Nachweisschärfe gefragt ist – Käse, Reismilch, Buttermilch,.. – sollte man mit Laurylsulfat (LST)- oder noch besser mit BRILA (mit Bromkresolpurpur) arbeiten. (siehe unten)
- Bei Produkten, bei Käse: VRB

Arbeitet man ohne Überschichtung oder noch besser im Oberflächen- bzw. Spatelverfahren, so ist sogar eine rel. rasche makroskopische Diagnostik zwischen

- Coliformen
- Laktoseneg. Keimen, wie lakt. neg. Enterobakterien und Pseudomonaden möglich.

Sollte natürlich ein Kunde unbedingt auf VRBD bestehen, so braucht man sich diesen nicht unbedingt zu zulegen, da sich „wirklich“ kein Unterschied ergibt. Auch wir benutzen keinen VRBD.

E.coli – Nachweis:

Nachweiskriterium für E.coli war traditionell Wachstum/Säurebildung und Indolbildung bei 44°C (im Wasserbad). Zwischenzeitlich wird als Nachweiskriterium der Nachweis der β -Gluronidaseaktivität genutzt (zu > 90%). Die im Handel erhältlichen chromogenen erlauben einen differenzierten Nachweis von Enterobakterien, Coliformen und E.coli. Üblich sind Bebrütungstemperaturen von 37°C – so wird das Wachstum weiterer gramnegativer Keimgruppen, wie Pseudomonaden etc. unterdrückt. Beachte: Solche Medien müssen nicht bei 44°C bebrütet werden, sofern ebenfalls der E.coli Nachweis gewünscht wird. Warum – Nachweiskriterium ist ausschließlich die positive β -Glucuronidasaktivität – die Gesamtgruppe der Coliformen ist β -Galactosidasepositiv. Diese Kolonien bilden z.B. auf *Chromocult* rötliche Kolonien, E.coli blaue Kolonien. Bei der quantitativen Ergebnisangabe ist jedoch zu beachten, dass Coliforme die Summe aus „rötlichen“ und „blauen“ Kolonien ist. (siehe unten, Anlage)

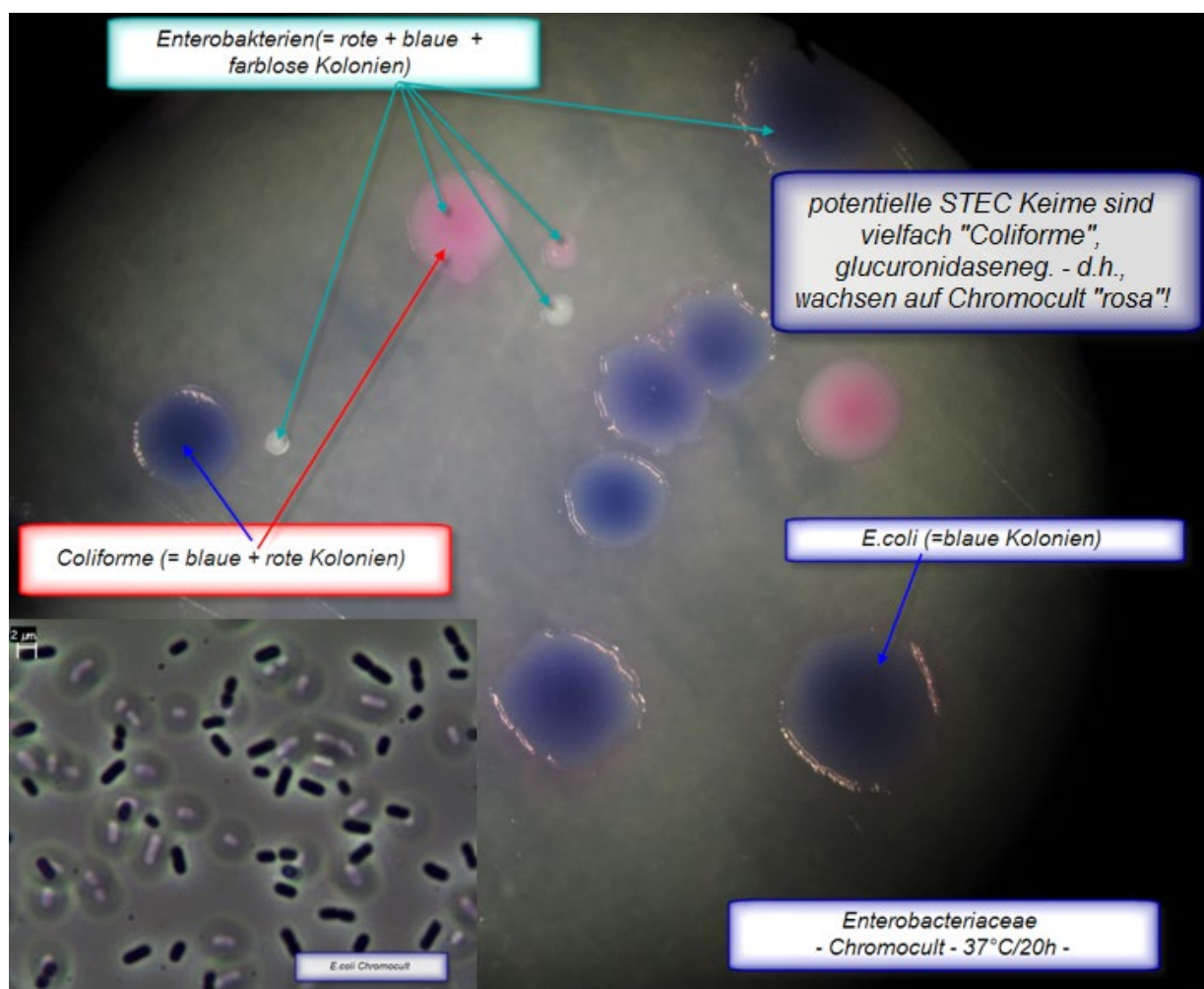
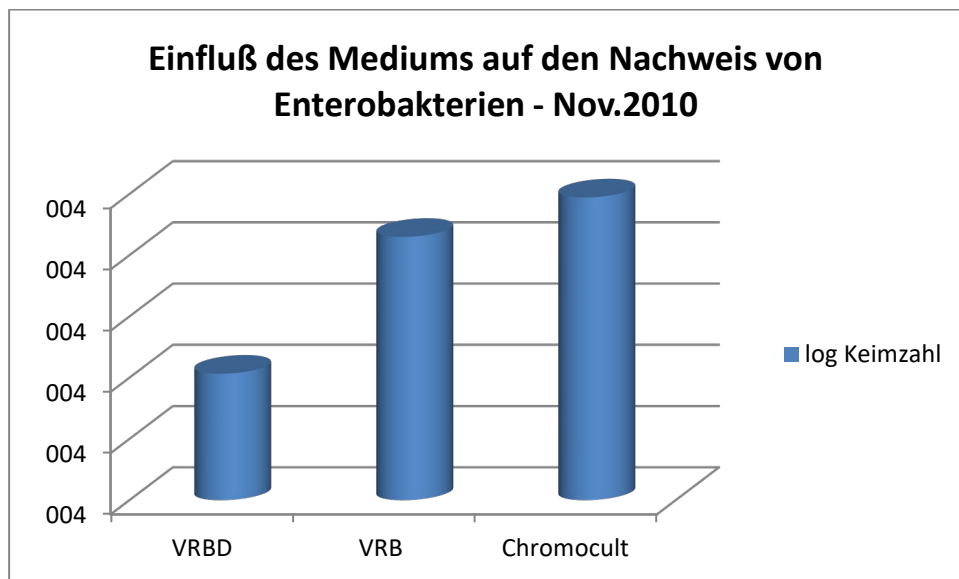
So ist es möglich, mit nur einer Untersuchung bzw. einem Nährboden

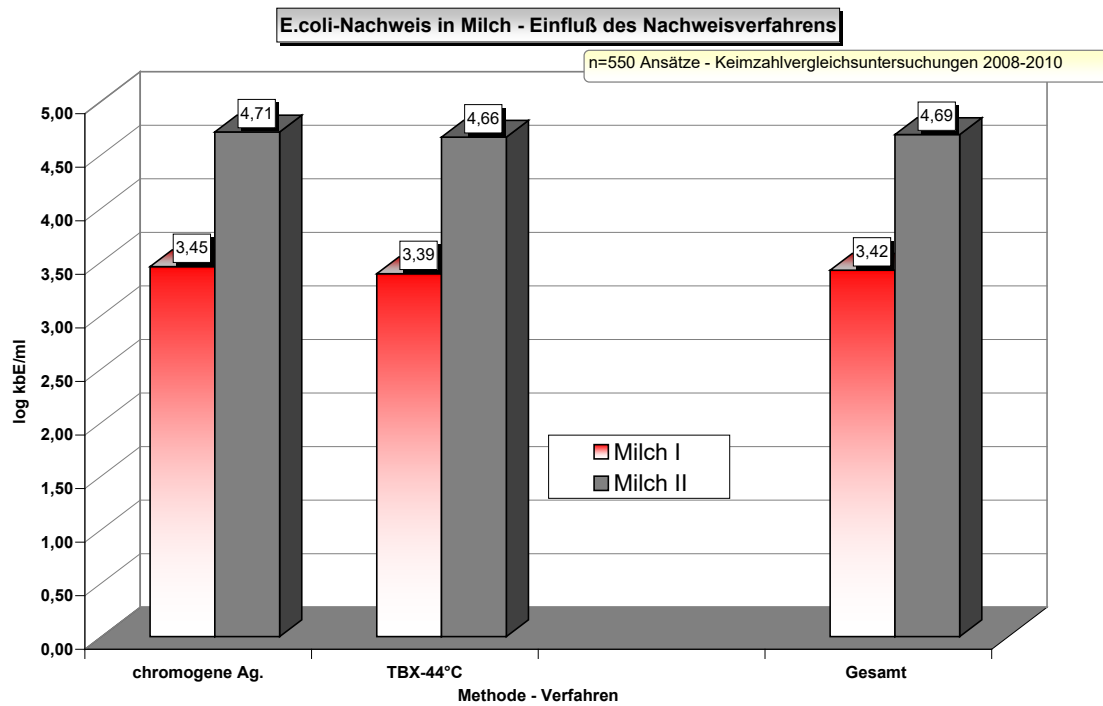
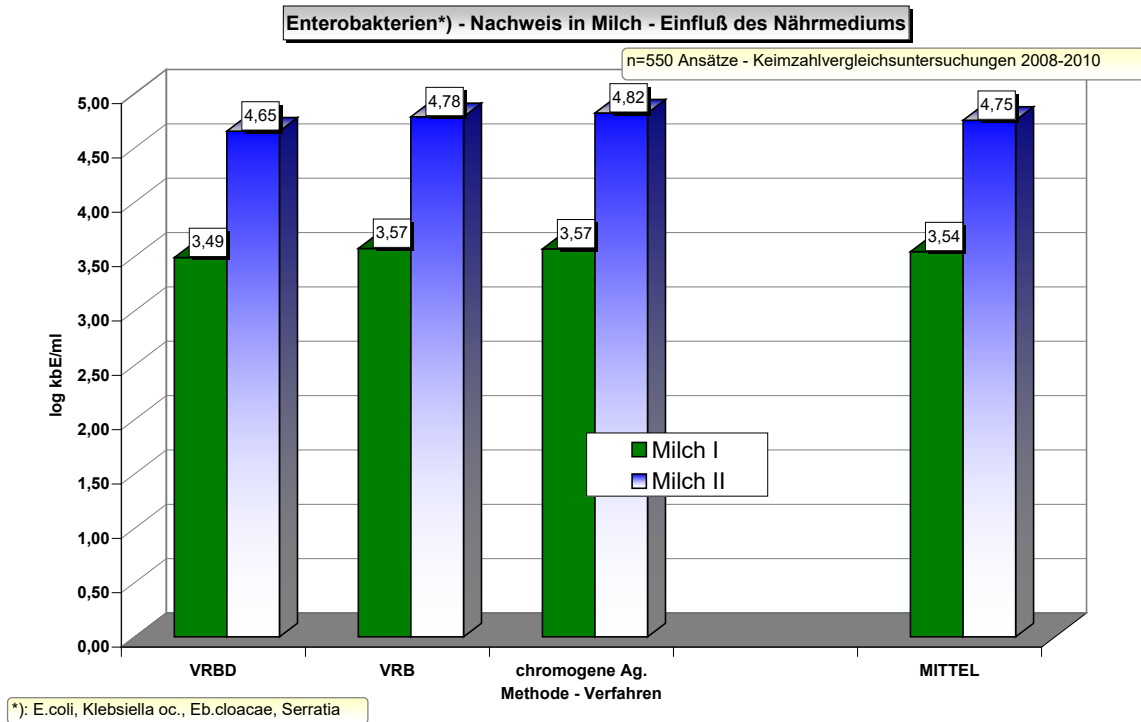
1. Enterobakterien (=sämtliche Keime bei 37°C)
2. Coliforme = β -galaktosidaspos., bzw. rote Kolonien auf Chromocult und
3. E.coli = β -glucuronidaspos. blaue Kolonien auf Chromocult nachzuweisen.

Das Selektivum für E.coli ist in diesem Fall nicht der pos. Indolnachweis bei 44°C bzw. das Wachstumsvermögen bei 44°C, sondern die β -Glucuronidasaktivität.

Bei 44°C können auch noch einige andere Coliforme wachsen – allerdings nicht Indol bilden. Nimmt man als Selektivum die β -Glucuronidaseaktivität, so ist es egal, ob man bei 37°C oder 44°C bebrütet. Hier ist es sogar so, dass die „schlimmen“ E.coli (EHEC etc.) bei dieser Temperatur gar nicht erfasst werden. Auch diesbezüglich haben sich die Keimzahlvergleichsuntersuchungen als nützlich im Sinne einer Methodenvvalidierung erwiesen. So führen Bebrütungstemperaturen von 37°C zu keinen signifikanten Keimzahlunterschieden im Vergleich zu der lt. LFGB vorgeschriebenen Temperatur von 44°C. (Hier wird von TBX geredet – man kann natürlich genauso andere β -glucuronidasehaltige Medien verwenden).

Die von den Medienherstellern empfohlene Bebrütungstemperatur von 37°C hat jedoch den Vorteil, dass man auch die Gesamte Gruppe der Enterobakterien und Coliformen erfassen kann, was bei 44°C nicht möglich ist.





Laurylsulfat-Tryptose-Lactose-Lösung

Art.-Nr. CM 451

Zum Nachweis und zur Koloniezahlbestimmung coliformer Keime aus Wasser und Abwasser, Lebensmitteln und Molkereiprodukten.

Der Nährboden entspricht der DIN 10172¹ und dem § 35 LMBG².

Typische Zusammensetzung	(g/l)
Tryptose	20,0
Lactose	5,0
Natriumchlorid	5,0
Dikaliumhydrogenphosphat	2,75
Kaliumdihydrogenphosphat	2,75
Natriumlaurylsulfat	0,1
pH 6,8 ± 0,2	

Kulturverfahren nach § 35 LMBG² (MPN-Methode)⁵

Zur Bestimmung der coliformen Keime in Milch, Milchprodukten, Butter, Käse oder Speiseeis die entsprechend vorbereiteten Proben in mindestens drei Verdünnungsstufen (z.B. 3 x 1,0; 3 x 0,1; 3 x 0,01 g bzw. ml) in je drei Parallelröhrchen ansetzen.

Die Röhrchen 48 ± 2 Stunden bei 30°C bebrüten und nach Ermittlung der Index-Ziffern mit Hilfe der MPN-Tabellen für Verdünnungsreihen mit dreifachem Ansatz auswerten.

Literatur

1. DIN 10172: "Mikrobiologische Milchuntersuchung. Bestimmung der coliformen Keime. Verfahren mit flüssigen Medien."
2. BGA: "Ämtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG." LL 01.00-2: "Bestimmung der coliformen Keime in Milch, Milchprodukten, Butter, Käse und Speiseeis".