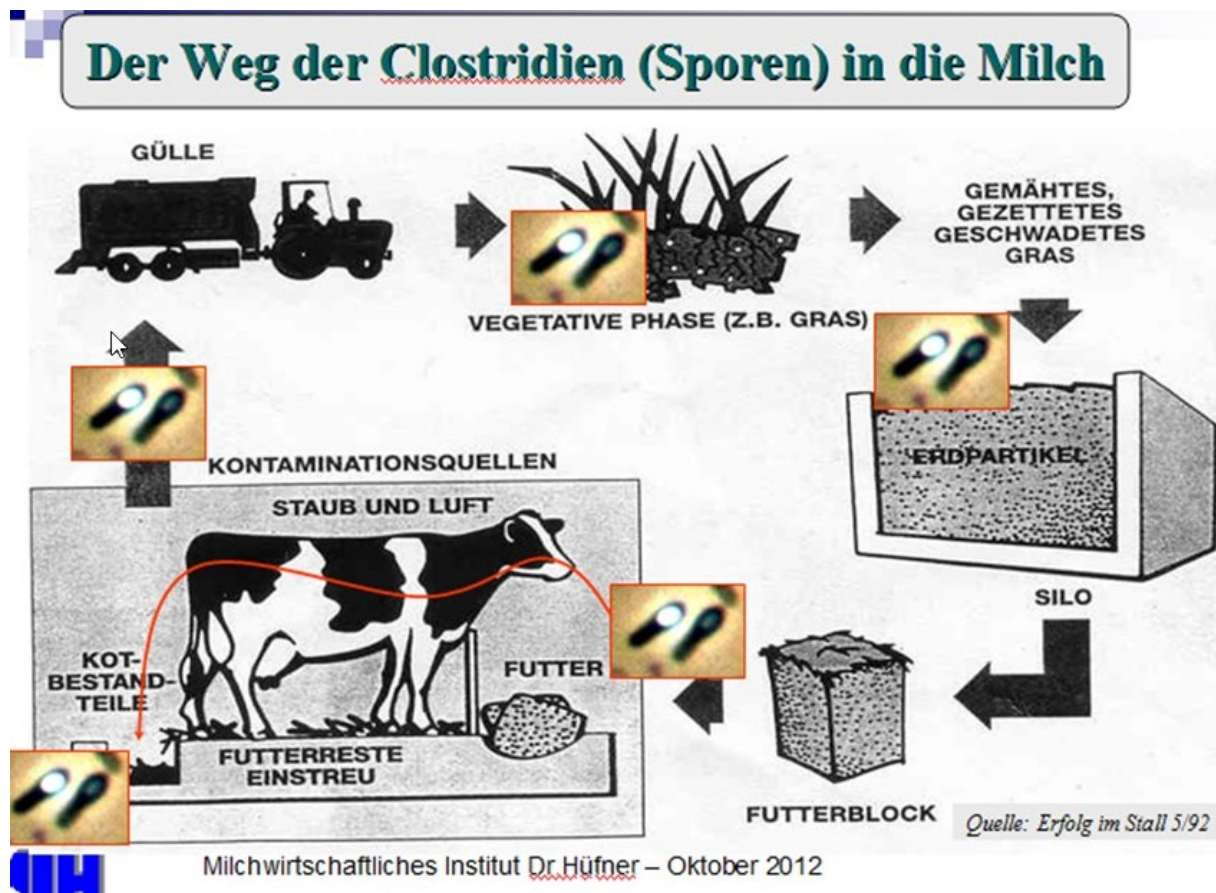


Dr. Josef Hübner

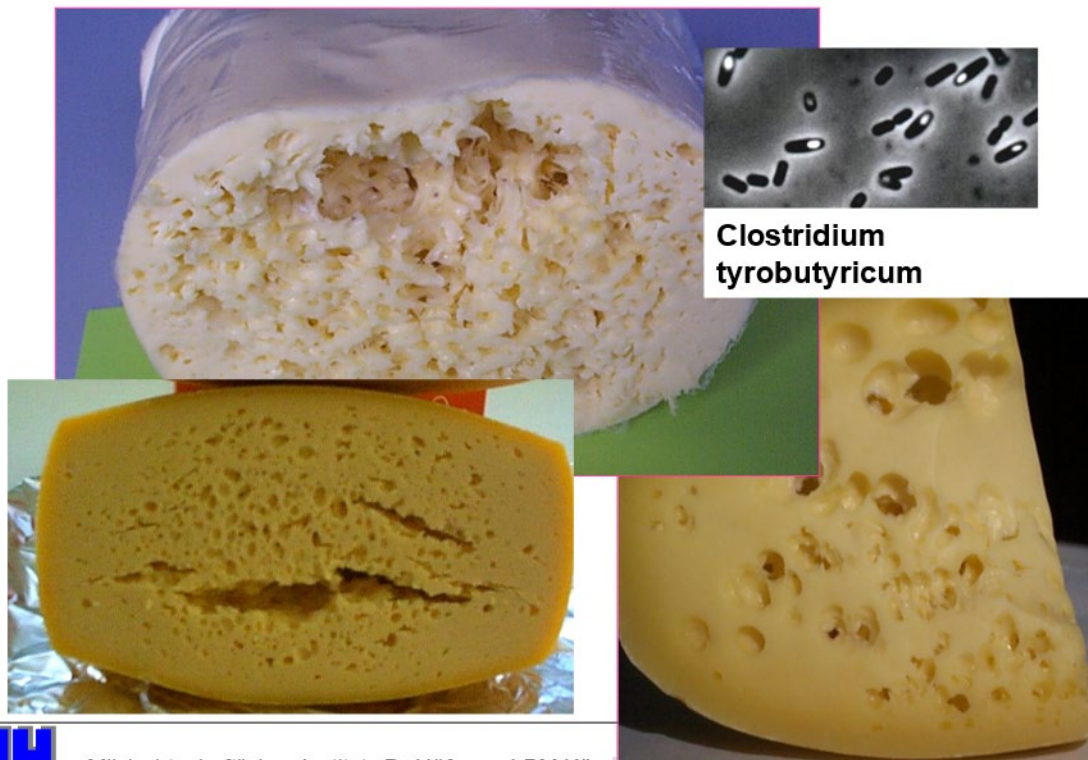
Clostridien – ein immerwährendes Problem Nutz- bzw. Schadkeime ?

Clostridien sind in erster Linie Boden-, Moorst- und Wasserkeime (i.b. abgestandenes Wasser). Kritisch ist die Gärfutterherstellung, da hier relativ rasch Sauerstofffreiheit und erhöhte Temperaturen (exotherme Reaktion im Futter-/Gärstock) vorliegen. Je nachdem, wie stark einerseits der Schmutz (Clostridien-) eintrag und andererseits die Milchsäuregärung (in erster Linie durch Laktobazillen) abläuft, umso langsamer können sich Clostridien vermehren.

Abb.1:



Clostridien – Blähung bei Schnittkäse

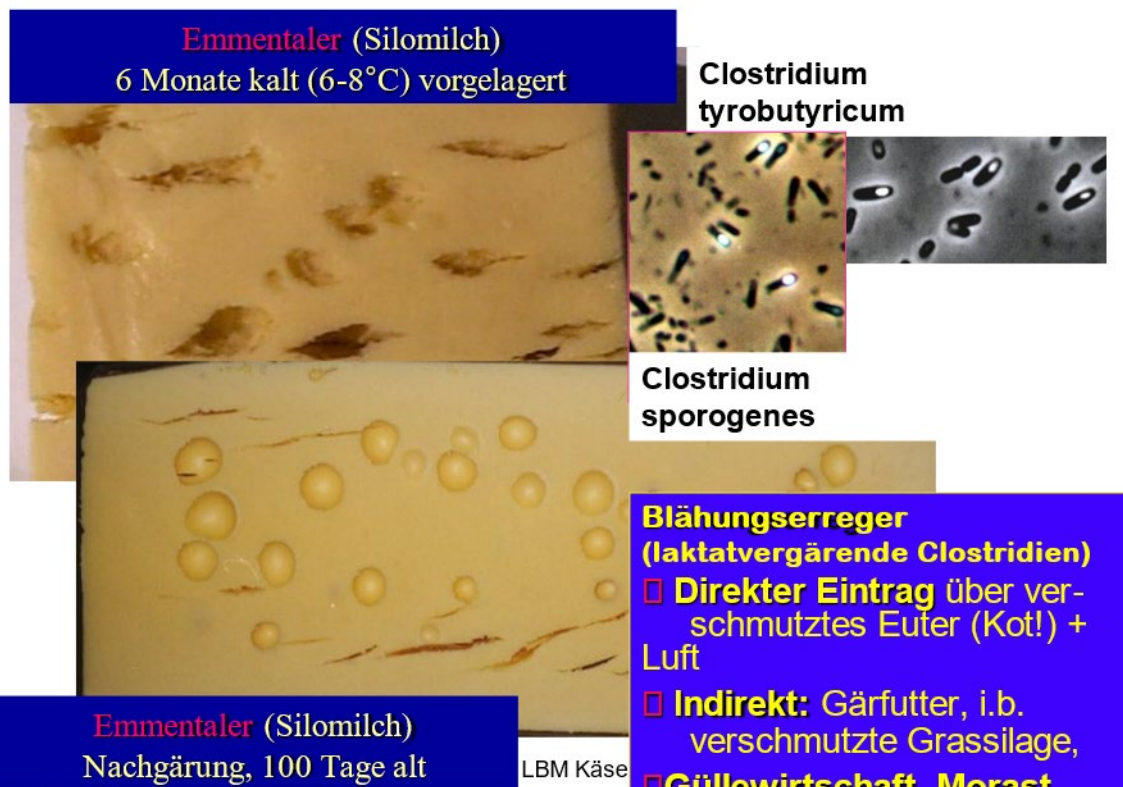


**Clostridium
tyrobutyricum**



Milchwirtschaftliches Institut Dr. Hufner – LBM Käse- und Milchtechnologie Sonderwegung 2017/2001

Nachgärungserscheinungen bei Hartkäse (ET)



Emmentaler (Silomilch)
6 Monate kalt (6-8°C) vorgelagert

**Clostridium
tyrobutyricum**

**Clostridium
sporogenes**

Blähungserreger (laktatvergärende Clostridien)

□ **Direkter Eintrag** über verschmutztes Euter (Kot!) + Luft

□ **Indirekt:** Gärfutter, i.b. verschmutzte Grassilage, Güllewirtschaft, Morast



Emmentaler (Silomilch)
Nachgärung, 100 Tage alt

LBM Käse

Tab.1:



LABOR DR. HÜFNER GmbH
Bahnhofstr. 1
88145 Hergatz

Telefon: 08385/921696
Telefax: 08385/922475
Mobil: 0172 8167566
eMail: info@mih-huefner.de

www.MIH-HUEFNER.DE

Clostridienspezies	Technologische Relevanz				
Laktat- und zuckervergärende Spezies	Spätblähung	Rissbildung	Weißfäule	Verderbskeim - Schmelzkäsezubereitungen	Oberflächenprobleme, "Geruchsware"
- Clostridium tyrobutyricum	✓	✓		✓	
- Clostridium sporogenes	✓	✓	✓	✓	
- Clostridium beijerinckii		✓		✓	
Proteolytische Spezies					
- Clostridium sporogenes	✓	✓	✓	✓	✓
- Clostridium oceanicum					✓✓✓

Tab.2:

	Vorkommen-Isolierung (% der Proben)		
	Silomilch	Heumilch (Bio)	Salzlake
Sporengehalt/10 ml	10-100	0,3-3,0	0,3-30
- Clostridium tyrobutyricum	> 90%	<10%	<1%
- Clostridium sporogenes	20-30%	20-40%	<10%
- Clostridium beijerinckii	~ 10%	~ 20%	<10%
- Clostridium perfringens	20-30%	20-60%	<10%
- Clostridium oceanicum	<1%	<1%	20-60%
- sonstige salztolerante Spezies	<10%	<10%	50%-90%

Wesentliche Kontaminationsquelle für Clostridien ist der Kot, der Verdauungstrakt (siehe Abb.1). Die Umgebung (Luft etc.) spielt bei den heutigen Melksystemen eher eine untergeordnete Rolle.

Der Clostridieneintrag erfolgt im wesentlichen über verunreinigtes Futter („Schmutz“, „Erdreich“). Je höher der Schmutzeintrag bzw. Rohaschegehalte (Siehe Tab. 6), umso höher sind die Clostridienkeimzahlen im (Gär-) Futter.

Somit kann man die Sporen dieser Keime sowohl in Rauh- als auch im Gärfutter, und natürlich vor allem Pellets vorfinden. Heumilch enthält in der Regel niedrigere Sporenzahlen – die kritische Vermehrungsphase wie im Gärfutter findet nicht statt.

Tabelle 6: Rohaschegehalt und Clostridienkeimzahl im Jahresverlauf (Mittel aus 4 Jahren)

	Aufwuchs 1	Aufwuchs 2	Aufwuchs 3	Aufwuchs 4
Rohaschegehalt [g/kg TM]	87 (b)	101 (ab)	107 (ab)	152 (a)
Clostridien [Keimzahl/g Gras]	49 (b)	172 (b)	413 (a)	616 (a)

Hinweis: Unterschiedliche Kleinbuchstaben bei Rohasche bzw. Clostridien bedeuten signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten!

Spittalhof, Diepholder et. al. 2020

Abb.2:

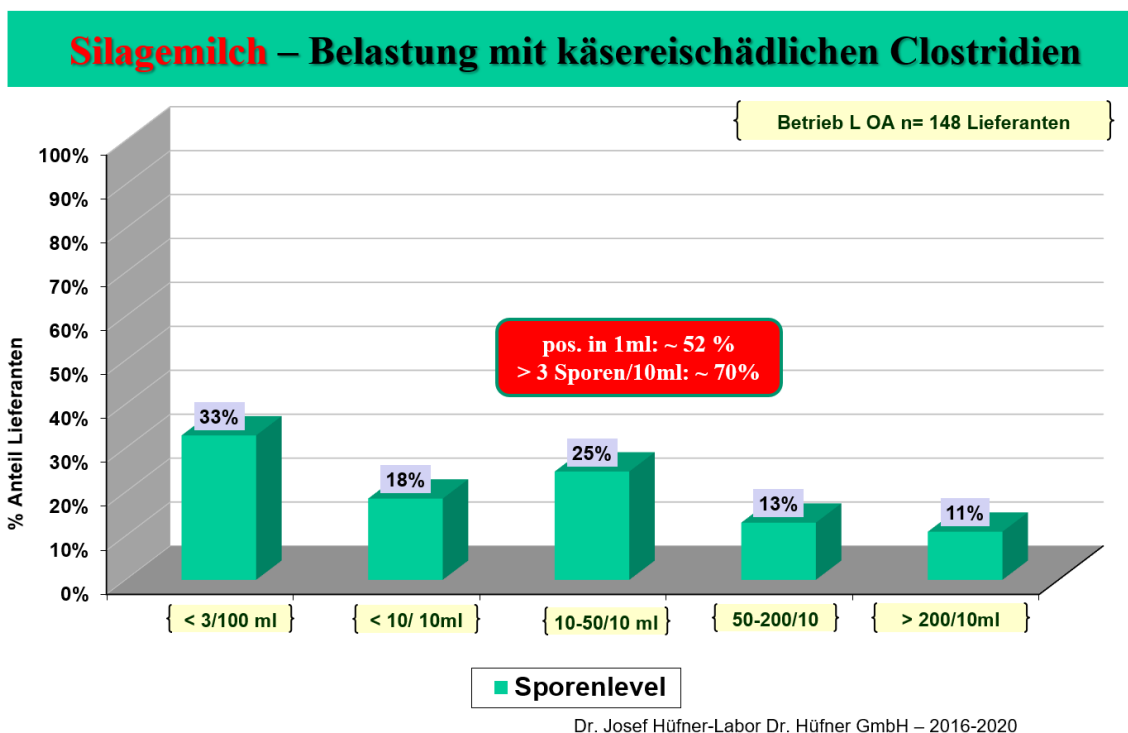


Abb.3:



LABOR DR.HÜFNER GmbH
Bahnhofstr. 1
88145 Hergatz

Telefon: 08385/921696
Telefax: 08385/922475
Mobil: 0172 8167566
eMail: info@mih-huefner.de

www.MIH-HUEFNER.DE

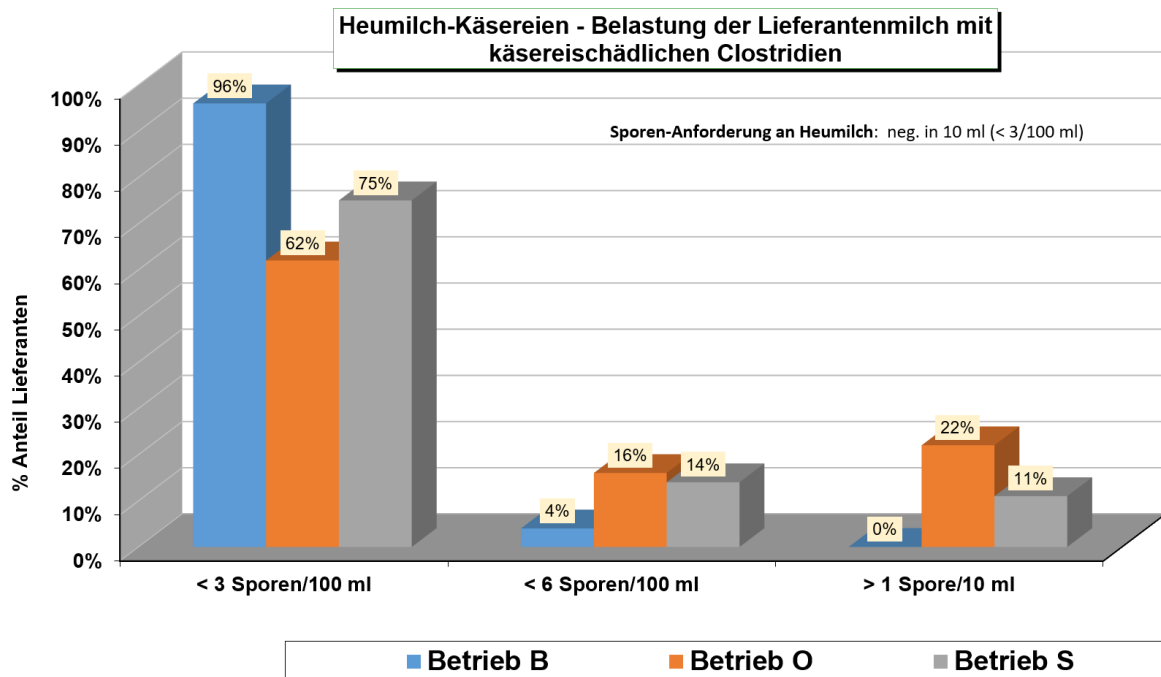
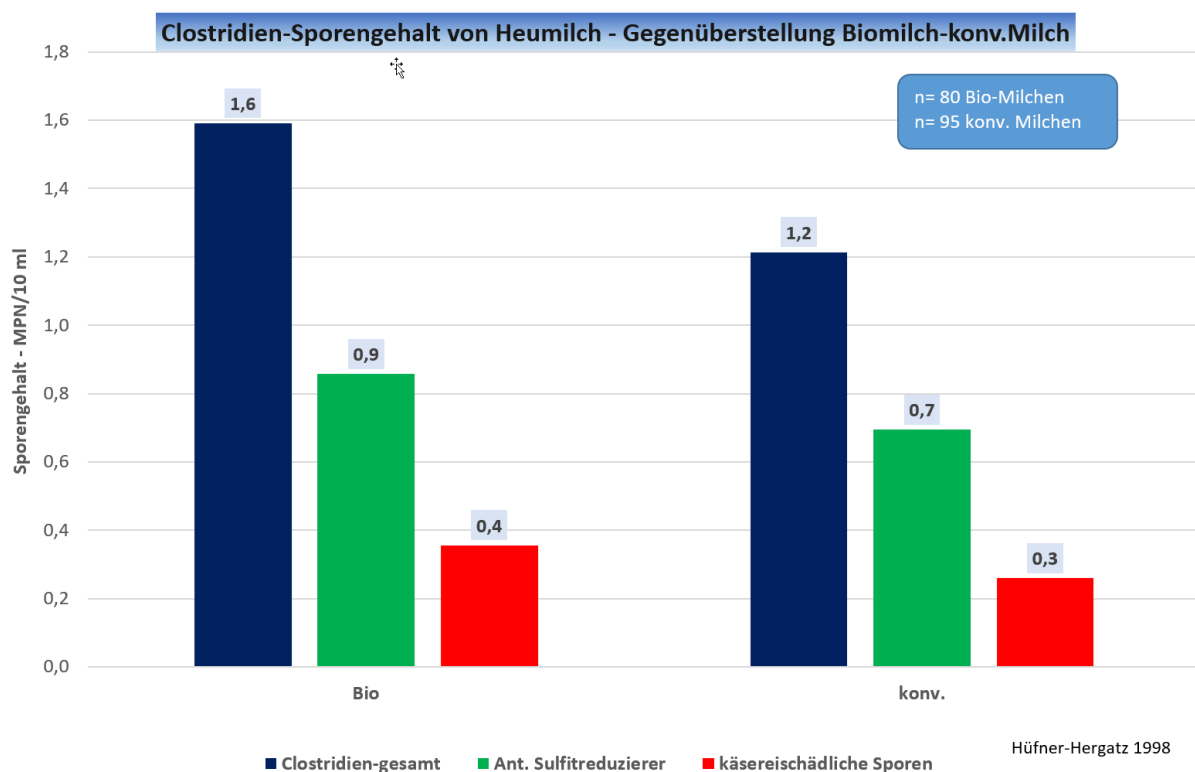


Abb.4:



Clostridiennachweis:



LABOR DR.HÜFNER GmbH
Bahnhofstr. 1
88145 Hergatz

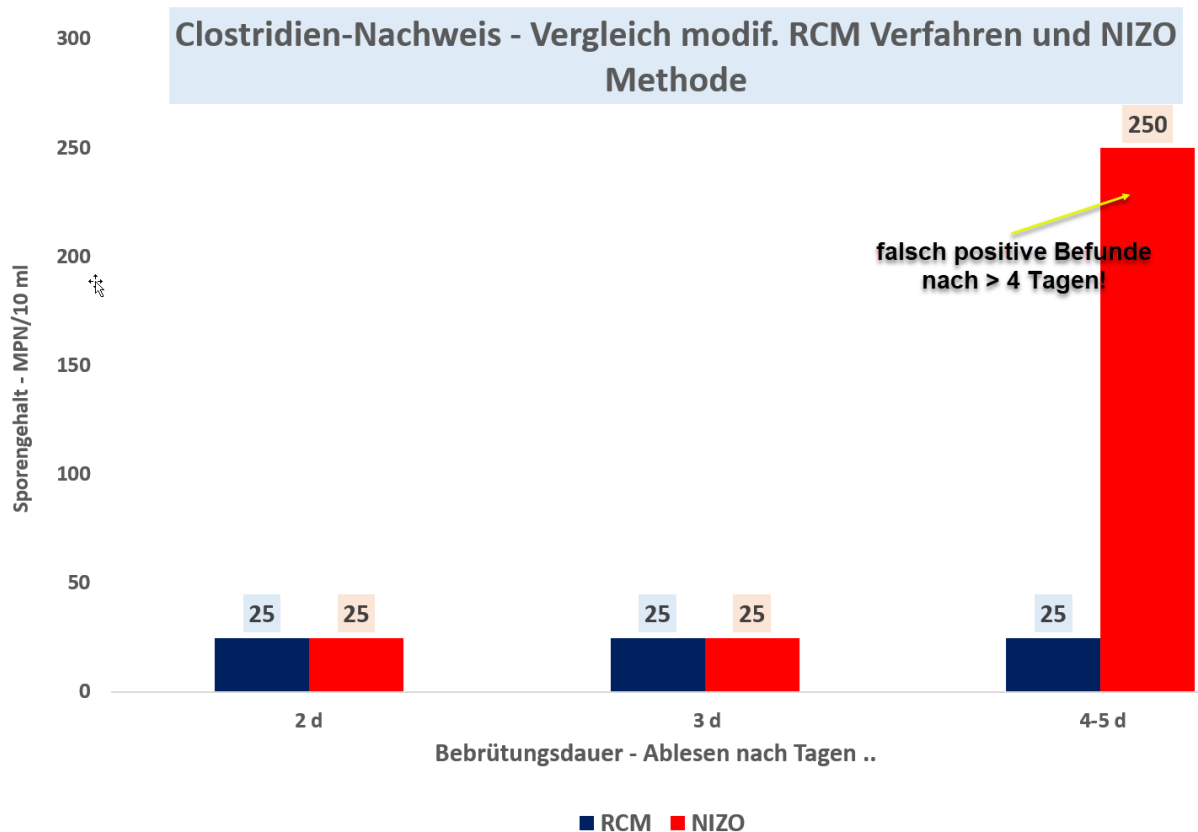
Telefon: 08385/921696
Telefax: 08385/922475
Mobil: 0172 8167566
eMail: info@mih-huefner.de

www.MIH-HUEFNER.DE

Für den selektiven Nachweis von käsereischädlichen, nachgärungsrelevanten Clostridien benutzen wir das im Handel erhältliche RCM Medium. Durch das Hinzusetzen von Milchsäure und eine pH Absenkung (pH 5,3-5,4) erreicht man eine selektive Vermehrung von Laktatvergärem. Das Handling erfolgt analog VDLUFA Methode M 4.7.18.3.1.

Bitte beachte: längere Bebrütungszeiten (> 3 Tage) führen meist zu falsch positiven Resultaten!

Abb.5:



Käsereitechnische Aspekte

Clostridien sind rel. salzempfindlich. Nachgärungsaktivitäten können meist schon durch ein ausreichendes Salzen der Käse verhindert werden. Die Praxis zeigt, dass die Kochsalzkonzentrationen in der wässrigen Phase bei > 4,8% NaCl liegen sollten. Dies gilt sowohl für unentkeimte Heumilch als auch für entkeimte Silomilch.

Richtwerte (käsereischädliche Clostridien): - nach Dr. Josef Hüfner

Silomilch : neg. in 0,1 ml (< 3 Sporen/ml)
Gute Silomilch : neg. in 1 ml (<3 Sporen/10 ml)
Heumilch : neg. in 10 ml (< 6 Sporen/100 ml)
Gute Heumilch : neg. in 10 ml (< 3 Sporen/100 ml)

bei intensiver Bewirtschaftung (niederschlagsreiche Gegend) liegen die Sporengehalte häufig bei 1-3 Sporen/10 ml



LABOR DR.HÜFNER GmbH
 Bahnhofstr. 1
 88145 Hergatz

Telefon: 08385/921696
 Telefax: 08385/922475
 Mobil: 0172 8167566
 eMail: info@mih-huefner.de

www.MIH-HUEFNER.DE

Hinweis: Clostridien (*Cl.bejerinckii*), aber auch heterofermentative *Lactobacillen*, vor allem *Lb. (para) buchneri* und *Lb.brevis* sind häufig Bestandteil sog. *EM-Kulturen* („Effektive Mikroorganismen“). Auch Silierhilfsmittel können diese *Lactobacillen* enthalten. Die in den Silierhilfsmitteln enthaltenen *Lactobacillen Stämme* sind eher unproblematisch. Ein Zusatz zur Silage oder auch Gülle ist durchaus möglich. Wir raten jedoch vor einem direkten Einsatz (Zitzendippen, Reinigung,..) ab.

Die Praxis zeigt, dass **auch Heumilch** vielfach Sporengehalte von ~ 3 Sporen/10 ml aufweist. Dieser Sachverhalt ist bei Bio-Milchbetrieben deutlich häufiger gegeben. (siehe Abb.4)

In vielen Bio-Milchen lassen sich vor allem eiweißspaltende, sulfitreduzierende Spezies etwa *Cl.sporogenes*, *Cl.bejerinckii* und *Cl.perfringens* häufig in höheren Konzentrationen nachweisen. Hier dürften die Stallhaltungsbedingungen (Tieflaufstallböden,..) etc. eine Rolle spielen. Kritisch ist der vorgeschriebene Auslauf (morastige Böden, verkotete Flächen,...), sofern keine geeigneten Wiesen/Flächen vorhanden sind. Auch die Verwendung von *Cl.bejerinckii* haltigen EM-Kulturen („Effektive Mikroorganismen“) führt nicht selten zu einer höheren Belastung mit sulfitreduzierenden Clostridien.

D.h., auch die Verkäsung von Heumilch ist keine Garantie, dass die Milch in Hinblick Clostridien uneingeschränkt käseereitauglich ist.

Zwischenzeitlich haben jedoch sehr viele Betriebe – vor allem in Süddeutschland und Österreich – die Käseherstellung teilweise zu 100% auf die Verarbeitung von Heumilch umgestellt.

Vor diesem Hintergrund wird nun verstärkt die in Zukunft (ab 2025) verpflichtende Schleppschlauch- bzw. Schleppschuhtechnik für die Gülleausbringung diskutiert. (siehe Abb.1, Abb.6)

Gülleproblematik

Gülle ist in Bezug auf Clostridien generell problematisch. Um einem Clostridieneintrag über gegülltes Futter vorzubeugen, sollte man generell folgende Grundsätze beachten:

1. Nach dem Güllen sollte man mind. 4 Wochen Wartezeit einhalten – bis zum Abweiden, Mähen, Silieren etc.
2. Wettertechnisch ist es von Vorteil, wenn – bei Ausbringung von dünner, fließfähiger Gülle –im Anschluß an die Gülleausbringung mit Regen zu rechnen ist.
3. Gülle nicht auf hohe (>7 cm) Grasbestände ausbringen. Dies gilt vor allem bei der Schleppschlauch – und Schleppschuhtechnik. (siehe Abb.2: Wyss et. Al. Acroscope/CH 2019)
4. Gülle sollte nicht zu dickflüssig, zu fest sein. Dies gilt für den Breitverteiler, im Besonderen jedoch für die Schleppschlauchtechnik. Hier wird - von Seiten der Landwirtschaftsämter und auch der Landtechnik – empfohlen, wenn möglich zu separieren und mit Wasser zu verdünnen. Dies reduziert auch die Geruchsbelästigung,.
5. Ansonsten können auch geteilte Schleppschuhe verwendet werden, um die Ausbildung von sog. „Güllewürsten“ zu verhindern. Solche, schlecht verrottbaren „Würste“ stellen generell ein Problem dar – vor allem in Regionen mit 3-5 Schnitten im Jahr.



LABOR DR.HÜFNER GmbH
Bahnhofstr. 1
88145 Hergatz

Telefon: 08385/921696
Telefax: 08385/922475
Mobil: 0172 8167566
eMail: info@mih-huefner.de

www.MIH-HUEFNER.DE

6. Wenn möglich, sollten die Schleppschläuche auf dem Boden aufliegen.
7. Zwischenzeitlich gibt es auch Nachrüstmöglichkeiten für vorhandene Breitverteilersysteme, der sog. Schleppfix *Gülleverteiler* von der Brunner Spezialwerkstatt AG (Schweiz).
8. Kritisch sind stark verdichtete Flächen, Fahrspuren. Ist dies der Fall, so sollte man hier keine Gülle aufbringen.
9. Sollte ein höhere Feststoff-, Stroheintrag erfolgen, so ist es günstig, auf die Spaltenböden Steinmehl zu streuen. Dies fördert die Verrottung. Teilweise lecken dies die Rinder auch direkt ab.

Was die Clostridienflora der Gülle an sich anbelangt, so dominieren sulfitreduzierende Clostridien der Spezies *Cl.perfringens* die Flora. Diese Clostridien können Enterotoxine bilden – spielen jedoch bei der klassischen Naturkäseherstellung (aktive Säuerung der Milch) keine große Rolle, zumal der Käse keine Glucose enthält.

Kritisch sind in erster Linie solche Clostridien, die in der Lage sind, auch Milchsäure/Laktat - unter Gas- und Säurebildung - zu verstoffwechseln. Kritisch sind in erster Linie Vertreter der Spezies *Cl.tyrobutyricum* bzw. *Cl.tyrobutyricum-ähnliche* (Eintrag über Gärfutter), aber auch eiweißabbauende Spezies, wie *Cl.sporogenes*. Diese Keime findet man häufig in schlechten (erdhaltigen) Silagen - abgestandenem Wasser und verdichtetem Bodenmaterial. Daher haben diese Keime sowohl bei Silage- als auch Heumilch eine käseereitechnologische Relevanz (Rissbildung, Weißfäule).

Cl.sporogenes steht den toxinbildenden, pathogenen *Cl.botulinum* Spezies sehr nahe. Mit den üblichen, klassischen Diagnostiksystem ist eine Unterscheidung zwischen dem „Clostridium botulinum Stamm proteolytischer Typ B“ und den normalen *Cl.sporogenes* Stämmen nur schwer möglich.

- ☞ Es ist jedoch so – bis dato konnte in naturgereiften, klassisch fabrizierten Käsen nur die nicht pathogene Spezies *Cl.sporogenes* diagnostiziert werden.
- ☞ Auch in Gülle selbst spielen die pathogenen *Cl.botulinum* Stämme keine Rolle sofern keine „Kadaver“ eingeschwemmt werden.

Abb.6:



LABOR DR.HÜFNER GmbH
Bahnhofstr. 1
88145 Hergatz

Telefon: 08385/921696
Telefax: 08385/922475
Mobil: 0172 8167566
eMail: info@mih-huefner.de

www.MIH-HUEFNER.DE



https://www.agrarforschungschweiz.ch/wp-content/uploads/2019/12/2017_04_2265.pdf

Abb.7:

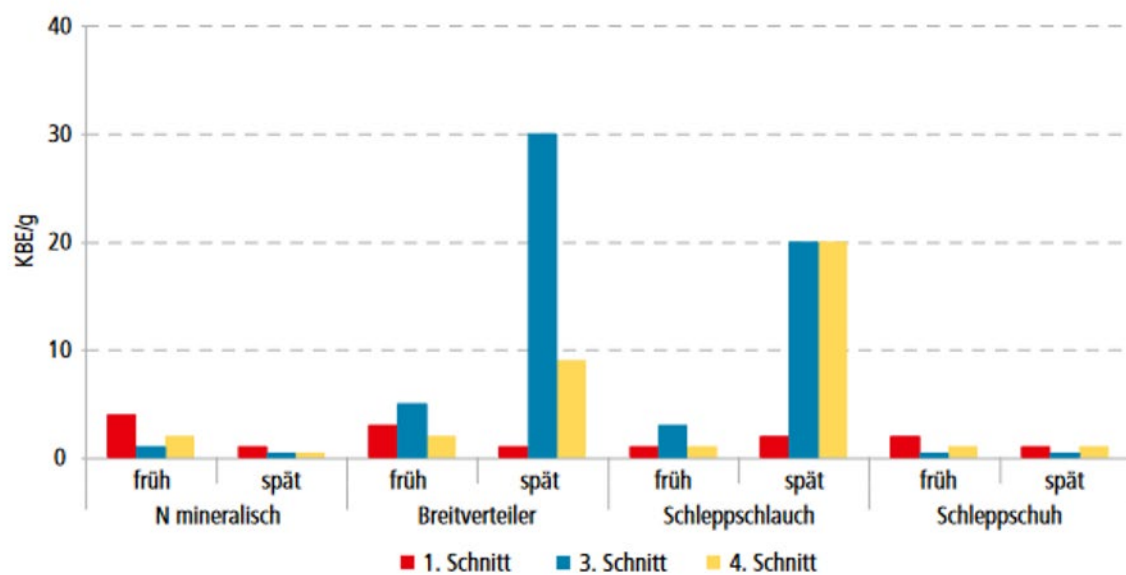


Abb. 1 | Clostridienbesatz auf dem frischen Futter bei unterschiedlichen Gülleapplikationsverfahren und Zeitpunkten – Ergebnisse 2013 (KBE: koloniebildende Einheiten).

Wyss et. al. Acroscope/CH 2019

Abb.8:

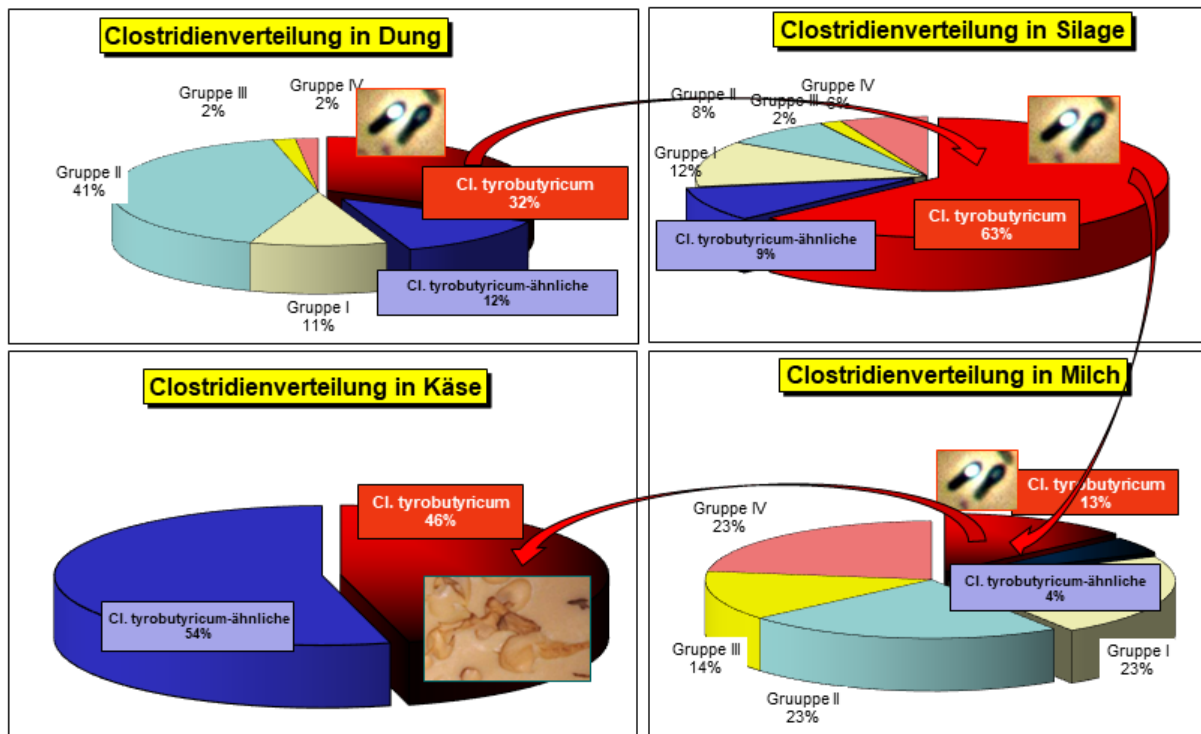


LABOR DR.HÜFNER GmbH
Bahnhofstr. 1
88145 Hergatz

Telefon: 08385/921696
Telefax: 08385/922475
Mobil: 0172 8167566
eMail: info@mih-huefner.de

www.MIH-HUEFNER.DE

Clostridienflora von Gülle, Silage, Milch und Käse



Clostridienprojekt 1988 – Dr. J. Hüfner/MLF-Wangen

Clostridien sind zunächst Zuckervergärer. Erst im sauren, milchsäurehaltigen Milieu des Futterstockes kommt es dann zu einer selektiven Vermehrung von Laktatvergärem, wie *Cl. tyrobutyricum* und *Cl. tyrobutyricum-ähnlichen*. (siehe Abb. 8: „Clostridienverteilung in Silage“). In Laborversuchen konnte man feststellen, dass diese Keime zunächst auch Zuckerabbauer waren/sind – in Anwesenheit von Laktat den Stoffwechsel jedoch umstelle können.

Gelangen diese Keime oder auch Sporen (überdauern Temperaturen bis 130°C) in die Milch und dann in den Käse, so können diese Keime sogar zu einer Frühblähung führen – sofern die aktive Säuerungsflora sehr schwach ist (Vorsicht bei zu starkem Waschen bei höher gebrannten Hartkäsen!) und vergärbare Zucker zurückbleibt. Eine effektive Sporenentfernung ist nur mittels Entkeimungszentrifugen bzw. Microfiltration möglich.

Ansonsten bauen diese Keime, und zwar Clostridien der Spezies *Cl. tyrobutyricum* in ähnlicher Weise wie *Propionibakterien* Milchsäure/Laktat ab. Dabei kommt es zu einer kräftigen CO₂- und somit Lochbildung. Das Lochbild von *Clostridien* und *Propionibakterien* in Großlochkäsen ist sehr ähnlich. In Verbindung mit einer stärkeren Vermehrung von citratabbauenden Lactobacillen (*Lb. casei* sp.) ergibt sich bisweilen ein eher rauhschaliges Lochbild.

Folienreifung – Großlockkäse - Oberflächenproblematik

Im Unterschied zu Propionibakterien können Clostridien auch Wasserstoffgas (H₂) freisetzen. Wasserstoff ist im Gegensatz zu CO₂ weniger löslich – somit kommt es zu einer rascheren Lochbildung. Um ein vergleichbares Lochbild zu erzielen, wird bei einer Mischgärung (Clostridien+Propionibakterien) deutlich weniger Laktat verstoffwechselt.

Diese Eigenschaft nutzt man zwischenzeitlich ganz bewusst, etwa bei der Herstellung von Großlockkäse nach Emmentaler-Art. Im Gegensatz zu der holländischen bzw. „Maasdamer Technologie“ werden Großlockkäse vom Typ „Emmentaler“ nach wie vor mit thermophilen Kulturen (*Streptokokkus thermophilus*, *Lactobacillus delbrückii lactis*) hergestellt, sofern auf Temperaturen von > 42°C nachgewärmt wird. Bei Käse mit reduzierter Trockenmasse (60%) werden allerdings auch mesophile Laktokokkenkulturen miteingesetzt und nicht mehr nachgewärmt.

Im Gegensatz zur klassischen Emmentalertechnologie wird mit deutlich höheren Propionisäurebakteriendosagen gearbeitet. Trotzdem liegt die Verweildauer im Gärraum (~ 22°C) - nach einer kurzen Vorlagerung – in der Regel bei > 20 Tagen. Bei der Maasdamer-Technologie, wo man mit hohen Dosagen an citratabbauenden Laktokokken arbeitet, betragen die Ausheizzeiten selten länger als 15 Tage.

Sofern eine Naturkäsereifung – ohne Folie – erfolgt, so ist die Länge der Verweildauer im Gärraum selten problematisch. 40-45 Tage waren früher üblich. Bei der Folienreifung kann sich unter der Folie jedoch ein feucht-warmes anaerobes Klima entwickeln. Dies wird nicht selten durch die heute üblichen kurzen Presszeiten und somit höheren Restzucker- (Galactose-) Gehalte begünstigt. Mit Einführung der Folienreifung – Ende der 80-er Jahre – traten dann die ersten Oberflächenprobleme („Stinker“) auf. Die Oberflächen werden weiß, der Geruch ist äußerst stechend. Ursache sind hohe Konzentrationen an sog. Iso-Fettsäuren, wie iso-Valerian- und iso-Caprinsäure. In den 90-er Jahren konnten wir dann auch den Verursacher für diese Oberflächenprobleme diagnostizieren.

Zu 90% sind Clostridien der Spezies *Cl.oceanicum* für diese Käsefehler verantwortlich. Wie der Name sagt, es handelt sich um Clostridien, die ein salziges Umfeld mögen. So konnten diese Clostridien bis dato somit vor allem im Salzbadbereich (Gitterroste, Stellagen, Käseförderbänder,...) nachgewiesen werden.

Es ist zu vermuten, dass diese Keime, die Sporen dieser Clostridien möglicherweise über das Salz zu einem Zeitpunkt „x“ in den Betrieb, in das Salzbad eingeschleppt wurden. In Rohmilch etc. waren diese Clostridien bis dato noch nicht nachweisbar.

Die üblichen Maßnahmen, wie Salzbadfiltration sind unter Umständen nur bedingt wirksam – können sogar das Gegenteil bewirken, da die Schutz-/Konkurrenzflora entfernt wird. Die Sporen dieser Clostridien sitzen jedoch häufig unter Salzkrusten, Abdeckungen etc..

Auf jeden Fall ist eine zu starke Nachsäuerung – meist als Folge zu kurzer Presszeiten (bei der thermophilen Technologie) – sehr kritisch. Dies gilt es zu vermeiden. Bei bestehender Anlagentechnologie und automatisierten Prozessabläufen ist letztere Maßnahme heute jedoch vielfach nicht mehr umsetzbar. Eine gute Alternative ist das Umsetzen der Käse (nach der Presse) in sogenannte Sekundärformen.



LABOR DR.HÜFNER GmbH
Bahnhofstr. 1
88145 Hergatz

Telefon: 08385/921696
Telefax: 08385/922475
Mobil: 0172 8167566
eMail: info@mih-huefner.de

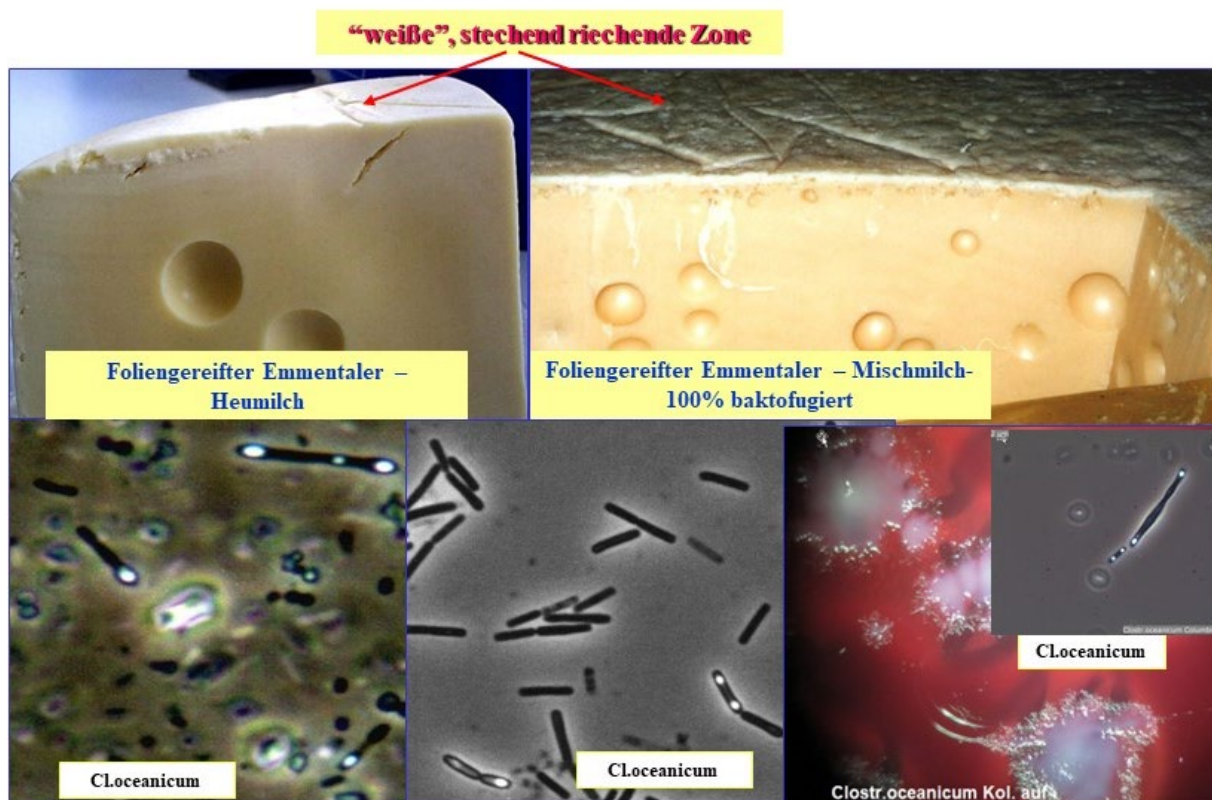
www.MIH-HUEFNER.DE

Als sehr kritisch hat sich weiterhin - bei der ET-Technologie- die Voll-Entkeimung (2-fach Entkeimung) der Käsereimilch erwiesen. So konnte man feststellen, dass diese Maßnahme ganz wesentlich zu einer Verlängerung der Gärraumweilzeit führt. Es gibt Betriebe, wo mittlerweile schon Gärraumzeiten von > 20 Tagen kritisch sind.

Somit ist es die logische Folge – bei der Herstellung von foliengereiften Großlochkäsen mittels ET Technologie teilweise komplett auf die Entkeimung zu verzichten – und nur zu „reinigen“. Üblich ist zwischenzeitlich eine sogenannte Teil-Entkeimung. Dabei wird wieder unentkeimte, erhitzte Milch der Käsereimilch zugeführt – im Sommer bis zu 25% - im Winter 10%. Bei dieser Technologie verkürzt sich die Gärraumdauer auf < 20 Tage. So fabrizierte Käse haben bisweilen ein abgerundeteres sensorisches Profil. Neben der Propionsäure wird das Käsearoma weiterhin durch Essigsäure und geringe Anteile (bis 250 mg/kg) an Buttersäure geprägt.

Abb.9

**“Oberflächenprobleme” (“Stinker-Käse”) verursacht durch
salztolerante proteolytische Clostridien**



Dr.J.Hüfner – Hergatz – 1994-2023



LABOR DR.HÜFNER GmbH
Bahnhofstr. 1
88145 Hergatz

Telefon: 08385/921696
Telefax: 08385/922475
Mobil: 0172 8167566
eMail: info@mih-huefner.de

www.MIH-HUEFNER.DE