

Fleisch und Fleischerzeugnisse:

Mikrobiologie, Hygiene

Berichterstatter: Prof. Dr. E. HESS

Veterinär-medizinische Fakultät
der Universität Zürich CH

Die Fleischhygiene ist in ihren Ansätzen uralte. Früheste Anzeichen sind die heute noch bestehenden Tabus in bezug auf Schlachtung und Fleischgenuss. Wissenschaftliche Grundlage der Fleischhygiene ist die Mikrobiologie. Ihre Kenntnis ist Voraussetzung für die konsequente Einschränkung des bakteriellen Fleischverderbs und die Prophylaxe der Fleischvergiftungen.

Die gefürchtetste Lebensmittel- bzw. Fleischvergiftung ist der Botulismus. Mit der Dynamik des Auskeimens der Sporen von *Cl. botulinum* befasste sich MIERZEJEWSKI vom Forschungszentrum in Pulawy. In Modellversuchen an Konserven, die mit Sporen von *Cl. botulinum* Typ B kontaminiert waren, versuchte der Autor, Faktoren zu erfassen, welche das Auskeimen der Sporen hemmen. Er experimentierte mit Fleisch sowie Mischungen aus Fleisch und Gemüse. Dabei scheint Tomatensaft eine stimulierende Wirkung auf *Cl. botulinum* ausgeübt zu haben.

In der allgemein gehaltenen Schlussfolgerung wird die bekannte Tatsache wiederholt, wonach bei tiefem pH-Wert das Auskeimen und Vermehren von *Cl. botulinum* unterbleiben kann. Andere Einflüsse werden nur summarisch erwähnt.

Das hier anstehende Problem der Wachstumshemmung von *Cl. botulinum* wurde von Roberts und Ingram schon 1973 in umfassenden Untersuchungen bearbeitet. Die Autoren fanden eine enge, gegenseitige Wechselwirkung von pH-Wert, a_w -Wert bzw. Kochsalzgehalt und Nitrit-Konzentration.

Im Beitrag von MIERZEJEWSKI vermisst man Angaben über die experimentellen Daten. Insbesondere wäre von Interesse zu wissen, ob die Relation von ruhenden zu keimenden Sporen bzw. vegetativen Stäbchen mit Hilfe des Phasenkontrast-Verfahrens ermittelt wurde, wie das Baird-Parker und Barbara Freame (1967) empfohlen haben.

Zu den verhältnismässig häufigen Lebensmittelvergiftungen gehören die Enterotoxin-bildenden Staphylokokken. DEMPSTER vom Forschungszentrum Castleknock, Dublin, legt Untersuchungsergebnisse vor über das Vorkommen von Koagulase-positiven Staphylokokken in Schinkenlake. Aus 37 Proben konnte *Staphylococcus aureus* 22 mal isoliert werden. Die Zahl der Staphylokokken pro ml variierte zwischen 4-200 und betrug im Durchschnitt 27.

Auf Grund der Lysotypie wird angenommen, dass die isolierten Stämme tierischen Ursprunges seien. Der Autor empfiehlt indessen, durch weitere Untersuchungen abzuklären, ob in Schinkenlake auch Staphylokokken menschlicher Provenienz vorkommen.

Ueber m.o.w. regelmässiges Auftreten von *Staphylococcus aureus* in Schinkenlake berichteten 1962 Eddy und Ingram. Sie wiesen auch nach, dass sich ein Enterotoxin-bildender Stamm in vakuumverpacktem Schinken bei 25 °C intensiv vermehrt, wenn die antagonistische Flora ganz oder teilweise fehlt. Sie warnen vor Aufbewahrung von vakuumverpacktem Schinken bei über 20 °C.

In neuester Zeit ist eine ausgedehnte Staphylokokken-Intoxikation durch Schinken bei Passagieren der Japan Air Lines bekannt geworden. Hier ist allerdings erwiesen, dass die Kontamination erst durch einen Keimträger in der Küche erfolgte. Die anschliessende massive Keimanreicherung und Toxinbildung wurde dadurch begünstigt, dass die kontaminierten Schinkentranchen auf die noch warmen Omeletts gelegt, dann während 13 Stunden bei Zimmertemperatur

und während 15 Stunden bei +10 °C aufbewahrt wurden.

LABOTS vom Zentralinstitut für Ernährungsforschung in Zeist versuchte, die voraussichtliche Haltbarkeit von pasteurisierten Dosenschinken durch kurzfristige Bebrütung mit anschliessender bakteriologischer Untersuchung zu ermitteln. Der mikrobielle Status von kurzfristig inkubierten gegenüber 6 Monate kühl gelagerten Dosen war indessen so unterschiedlich, dass eine Vorbebrütung zur Beurteilung der Haltbarkeit ungeeignet erscheint. Die Diskrepanz ist zurückzuführen auf die divergierenden Kardinaltemperaturen der Kontaminanten wie Enterokokken, Mikrokokken, aerobe und anaerobe Sporenbildner etc.. So entwickelten sich die hitzege-schädigten Enterokokken zwischen +5 °C und +37 °C, bevorzugt bei den höheren Temperaturen. Aerobe Sporenbildner fanden sich - mit einer Ausnahme - erst bei Lagerung ab +15 °C. Clostridien wurden hauptsächlich aus langfristig, kühl aufbewahrten Dosen isoliert.

Nach Beganović und Matić (1966) besteht eine weitere Schwierigkeit darin, dass jede Halbkonservendose derselben Charge eine individuelle Flora von überlebenden Keimen aufweist, so dass Stichproben nicht repräsentativ sind für eine ganze Produktion.

Auch nach Sinell (1974) ist die Beurteilung von Halbkonserven im Anschluss an eine Bebrütung schwierig. Die Temperaturbelastung von +37 °C, womöglich über eine Woche hinweg, wäre eine Zerreißprobe.

GARDNER und PATTON von Belfast isolierten aus Dosenschinken mit Kernerweichung *Sc. faecalis* var. *liquefaciens*. Sie versuchten, Milieu-Faktoren zu bestimmen, welche die Hitzeresistenz dieses verhältnismässig thermostabilen Keimes in Fleischprodukten beeinflussen. Sie experimentierten nicht nur mit den üblichen Nähr-

medien, sondern beimpften vergleichsweise frisch gepökelte, zerkleinerte Schinkenmuskulatur. Damit hofften sie Informationen zu gewinnen, welche direkt auf die Praxis übertragbar wären.

Die Autoren stellten fest, dass die Hitzeresistenz des geprüften Streptokokken-Stammes im Schinken wesentlich höher war als in APT-Bouillon.

In 16 gepökelten Schinken mit verschiedenen Kombinationen von Kochsalz-, Nitrat-, Nitrit-, Wasser-Gehalt und pH-Wert stieg die Hitzeresistenz bis zu einem gewissen Grad proportional zur Kochsalzkonzentration. Eine andere Beziehung zwischen der unterschiedlichen Pökellung der Schinken und der Hitzeresistenz von *Sc. faecalis* ist aus den Versuchsergebnissen nicht ersichtlich.

Nach Vrchlabský und Leistner (1970) weisen *Sc. faecalis* und *Sc. faecium* in Trypticase-Soy-Broth die höchste Thermoresistenz bei Zugabe von 6,6 % Kochsalz auf.

Kniewallner und Prändl (1970 und 1974) haben systematisch nach Substanzen gesucht, welche die Hitzeresistenz von Mikroorganismen signifikant erniedrigen. Sie experimentierten u.a. mit *Sc. faecium* und verwendeten ausser Traubenzucker-Bouillon flüssige und feste Emulsionen, aber auch Fleisch-, Fett- und Wassermenge. Sie fanden eine Reihe von Säuren, Salzen und Enzymen, welche allein oder in Kombination die Hitzeresistenz der Testkeime eindeutig herabsetzten. Der Effekt war wesentlich vom Milieu abhängig. Eine grosse Zahl der im wässrigen Medium wirksamen Substanzen zeigte in Gemengen von Fleisch, Fett und Wasser keinen oder nur einen sehr geringen Effekt, während andere sich als gut wirksam erwiesen. Hervorgehoben wird der schützende Einfluss von Fetten und Ölen auf Grund ihrer geringen Wärmeleitfähigkeit und ihrer Hydrophobie.

STOITSCHEV, RADEVA, DJEJEVA und TINKOVA vom Institut für Fleischforschung in Sofia untersuchten das kulturelle und biochemische Verhalten von aus Rohwürsten isolierten Hefestämmen. 2 Stämme zeichneten sich durch besonders intensiven Abbau von Kohlehydraten und Stickstoffverbindungen aus sowie durch hohe Katalase- und Peroxydase-Aktivität. Auf Grund dieser biochemischen Leistungen werden die beiden Hefestämme als Starterkulturen für die Rohwurstfabrikation empfohlen und eingesetzt.

In einer ergänzenden Arbeit untersuchten STOITSCHEV, DJEJEVA, RADEVA und TSCHERNEV die beiden als Starterkulturen verwendeten Hefestämme auf Katalase-Aktivität in Abhängigkeit zum pH-Wert des Nährmediums. Hervorgehoben wird, dass beide Stämme auch im sauren Bereich, d.h. bei pH 6,0-4,8, noch gutes Wachstum und intensive Katalase-Produktion zeigen.

Nach Reuter (1972) wäre die Anwesenheit einer säuretoleranten Mikroflora mit entsprechender Katalase-Aktivität wünschenswert, weil andere Katalasebildner, wie die Mikrokokken, bei tiefen pH-Werten auch zahlenmässig reduziert werden können.

Dabei ist zu berücksichtigen, dass, wie Wirth 1974 feststellte, das Redoxpotential während der Reifung der Rohwurst - in Abhängigkeit von verschiedenen Zusatzstoffen - m.o.w. weit in den reduktiven Bereich abfällt. Nach Price und Schweigert (1971) sollen Hefen, die fakultativ anaerob sind, auf Fleisch und Fleischprodukten schlecht wachsen. Es fragt sich deshalb, ob die empfohlenen Hefestämme beim tiefen Redoxpotential der reifenden Rohwurst ausreichende Aktivität entfalten.

Mit der schnellen Entwicklung von Technologie und neuen Vermarktungsformen stellt sich laufend die Frage der Haltbarkeitsgrenzen von Fleisch und Fleischwaren. Es ist deshalb sehr verdienst-

voll, dass ROEDEL, PONERT und LEISTNER von der Bundesanstalt für Fleischforschung, Kulmbach, objektive und einfach zu bestimmende Parameter zur Ermittlung der Lagerfähigkeit erarbeitet haben.

Nach den Autoren ist es möglich, die Haltbarkeit bzw. Verderblichkeit von Fleischerzeugnissen vorauszusagen, wenn man den a_w -Wert und den pH-Wert der Produkte sowie die Aufbewahrungstemperatur misst und berücksichtigt.

Die a_w -Werte und pH-Werte von je 10 Proben aus 37 verschiedenen Fleischprodukten wurden zur empirischen Haltbarkeit der entsprechenden Produkte in Beziehung gesetzt. Aus diesen Erfahrungsgrundlagen wird eine Einstufung der Erzeugnisse in 3 Haltbarkeitsgruppen abgeleitet.

Basierend auf den Grenzwerten pH 5,2 und a_w 0,950 unterscheiden ROEDEL und Mitarbeiter zwischen "leicht verderblichen", "verderblichen" und "lagerfähigen" Produkten. "Leicht verderbliche" Produkte überschreiten beide Grenzwerte; bei "verderblichen" Erzeugnissen wird eine der beiden Limiten erreicht bzw. unterschritten. Die "lagerfähigen" Fleischwaren haben a_w -Werte bis zu 0,950 und pH-Werte bis zu 5,2, oder aber nur a_w -Werte unter 0,91 oder nur pH-Werte unter 5,0. Bei "leicht verderblichen" Produkten empfehlen die Autoren Kühlung auf bzw. unter +5 °C; "verderbliche" Erzeugnisse sollen bei bzw. unter +10 °C gehalten werden. Unter diesen Voraussetzungen tolerieren sie Lagerfristen von maximal 4-6 Tagen für "leicht verderbliche" und von maximal 10 Tagen für "verderbliche" Fleischwaren. Die Fristen wurden empirisch ermittelt.

Wenn die Haltbarkeitsfristen in Form der mikrobiellen Hemmphase bestimmt worden wären, hätte ihre Beziehung zu a_w -Wert und pH-Wert bei vorgegebener Temperatur eindeutig gesichert werden können.

Wir haben bei verschiedenen Produkten die durchschnittliche Zeitspanne der Hemmphase, d.h. der mikrobiellen Stabilität, in Relation zur Lagertemperatur ermittelt. Dabei sind wir allgemein zu etwas restriktiveren Lagerzeiten bzw. Lagertemperaturen gekommen als ROEDEL und Mitarbeiter.

Eines haben wir überzeugend in Erfahrung gebracht: Die Haltbarkeit von Frischfleisch und verderblichen Fleischwaren wird proportional zum Grad der Zerkleinerung reduziert.

Nebenbei bemerkt würden wir auf Grund unserer Arbeiten und ausgiebiger Erfahrungen Bündnerfleisch oder Bindenfleisch ausnahmslos in die Kategorie der "lagerfähigen" und nicht alternativ in die Gruppe der "verderblichen" Produkte einreihen.

Ueber die Technologie der Herstellung von Bindenfleisch und die Dynamik seiner Mikroflora berichten HESS, BREER und LOTT aus dem Veterinär-bakteriologischen Institut der Universität Zürich.

Das Wort "Binde" ist ein Fachausdruck für die eigens präparierten Muskelpakete, die gepökelt und anschliessend - je nach Stückgrösse - während 1½ bis 5 Monaten langsam getrocknet werden. Dabei tritt ein Gewichtsverlust von 40 bis maximal 50 % auf.

Im Verlauf des Pökeln steigt die aerobe und anaerobe Gesamtkeimzahl an der Oberfläche rasch an, um während der Trocknung annähernd konstant zu bleiben. In der Tiefe stellen wir unregelmässige Keimvermehrung - bei einzelnen Binden sogar Keimfreiheit - fest. Die anaeroben Gesamtkeimzahlen sind praktisch identisch mit denjenigen der Laktobazillen. Hefen besiedeln nur die Oberfläche und reichern sich vor allem während des Pökeln an. Die Enterobacteriaceen verschwinden nach vierwöchiger Trocknung sowohl von der Oberfläche wie aus der Tiefe.

In 50 handelsüblichen, konsumreifen Binden konnten weder Enterobacteriaceen noch Clostridien nachgewiesen werden. Die Reifeflora bestand aus einer Mischung von Laktobazillen und Mikrokokken, wobei die eine oder andere Art dominierte.

In einer zweiten Arbeit untersuchten HESS, LOTT und BREER das Verhalten von Salmonellen während der Pökellung und Trocknung von Bindenfleisch. Da Bindenfleisch roh genossen wird, ist die Frage nach dem Ueberleben von eventuell vorhandenen Salmonellen während des Pökellungs- und Trocknungsprozesses besonders bedeutsam.

In einem ersten Modellversuch haben wir Binden von Frischfleisch mit *S. typhimurium* so massiv kontaminiert, dass auf 1 g Muskulatur durchschnittlich 7×10^4 Salmonellen entfielen. Schon am Ende der 14 tägigen Pökellung hatte sich die Salmonellenzahl auf 10 pro Gramm reduziert. Nach einer Trocknungsdauer von 11 Wochen waren selbst in Anreicherungen von je 300 g Fleisch keine Salmonellen mehr nachweisbar.

In einem zweiten Modellversuch ging es darum, den Einfluss der Komponenten Pökellung und Trocknung auf die Absterberate der Salmonellen gesondert zu testen. Die Anfangskontamination der frischen Binden betrug 10^5 Salmonellen pro Gramm. Bei Pökellung ohne Trocknung überlebten die Salmonellen am längsten. Trocknung ohne vorhergehende Pökellung hatte in der ersten Hälfte einen verzögerten, bei fortgeschrittener Trocknung aber einen analogen Effekt wie die Kombination.

Die stetige Abnahme der Salmonellenzahl während des gewerbeüblichen Herstellungsprozesses beruht einerseits auf der Reduktion des a_w -Wertes - der durchschnittliche a_w -Wert von 50 Binden aus dem Handel betrug 0,8986 -. Andererseits ist der Rückgang der Salmonellenzahl auf die pH-Senkung zurückzuführen - in unseren Ver-

suchen über die Mikroflora des Bindenfleisches pendelte sich der pH-Wert während der Trocknung auf 5,6 ein. Ein antagonistischer Effekt ist von einer dominanten Laktobazillenflora zu erwarten. Hingegen war Kaliumnitrat in Dosen von 400 ppm bei unseren Parallelversuchen ohne Einfluss. In Analogie dazu stellten Leistner und Mitarbeiter (1974) fest, dass bei Salmonellen-kontaminierten Rohwürsten mit 600 ppm Kaliumnitrat keine zuverlässige mikrobielle Stabilität erreicht wird. Entscheidend sei allein, welche Nitritmenge zu Beginn der Reifung zur Verfügung stehe.

Um objektive Anhaltspunkte über den Hygienestatus von fleischverarbeitenden Betrieben zu gewinnen, untersucht RUOSCH vom Veterinär-bakteriologischen Institut der Universität Zürich seit 3 Jahren regelmässig Roh- und Halbfertigfabrikate auf aerobe Gesamtkeimzahl und Enterobacteriaceen einschliesslich Salmonellen.

Für die Bestimmung der aeroben Gesamtkeimzahl benützt er Keimzähl-Agar, die Enterobacteriaceen werden mit Kristallviolett-Neutralrot-Galle-Glukose-Agar erfasst.

Das Interesse an dieser freiwilligen Hygienekontrolle und die Zahl der angeschlossenen Betriebe nimmt von Jahr zu Jahr zu. Deshalb mussten diese quantitativen bakteriologischen Untersuchungen nach Möglichkeit vereinfacht werden.

Ursprünglich wurde mit dem Koch'schen Plattengussverfahren gearbeitet. Im Zuge der Rationalisierung führte RUOSCH an seiner Stelle die Tropfmethode ein.

Vergleichsuntersuchungen haben in bezug auf aerobe Gesamtkeimzahlen nur geringe Differenzen ergeben. Hingegen war das geometrische Mittel der Enterobacteriaceen mit der Tropfmethode etwa 3 mal so gross wie dasjenige auf Grund der Gussmethode.

Weil es äusserst schwierig war, die Oberflächenkolonien der Enterobacteriaceen anhand von Grösse, Farbe und Hofbildung als solche zu erkennen, mussten ganz einfach sämtliche roten Kolonien einbezogen werden. Um die auf unserem Nährmedium wachsenden, nicht Enterobacteriaceen-Abkömmlinge zu hemmen, versuchte RUOSCH, die nach der Tropfmethode inoculierten Platten anaerob zu bebrüten. Parallel-Untersuchungen von 126 Rohbrät- und Hackfleischproben auf Enterobacteriaceen ergaben eine sehr gute Übereinstimmung zwischen der Gussmethode und dem Tropfverfahren mit anaerober Bebrütung.

Zur Abklärung der Frage, ob gewisse Enterobacteriaceen-Stämme durch anaerobe Bebrütung gehemmt werden, führte RUOSCH an 37 verschiedenen Stämmen 1'332 Keimzählungen im aeroben und anaeroben Milieu durch. Dabei zeigte sich, dass die anaerobe Bebrütung zwar zu kleineren Kolonien, nicht aber zu einer Reduktion der Kolonienzahl führte. Enterobacteriaceen sind ja per definitionem aerob wie anaerob wachsende Keime.

Um die Treffsicherheit der Methode für die Praxis zu testen, wurde die Keimflora von 232 Fleischproben auf Kristallviolett-Neutralrot-Galle-Glukose-Agar sowohl aerob wie anaerob kultiviert. Bei 27 Proben divergierten die Zahlen der aerob bzw. anaerob gewachsenen Kolonien besonders stark. Aus diesem Material wurden 476 Kolonien mit Hilfe von anerkannten Bestätigungsreaktionen auf Zugehörigkeit zur Familie der Enterobacteriaceen geprüft, d.h. auf aeroben und anaeroben Glukoseabbau, Nitratreduktion und Oxydasebildung. Bei aerober Bebrütung betrug der Enterobacteriaceen-Anteil 41,4 %. Bei anaerober Inkubation stieg er auf 90,9 %. Der Rest bestand aus Angehörigen der Gattung *Aeromonas*.

Durch anaerobe Bebrütung des Kristallviolett-Neutralrot-Galle-

Glukose-Mediums werden Gram-negative, obligat aerobe Keime ausgeschaltet. Damit wird die Treffsicherheit in bezug auf die Zahl der Enterobacteriaceen-Kolonien gegenüber der aeroben Bebrütung sehr wesentlich erhöht und die Auswertung erleichtert.

Gestatten Sie mir zum Schluss, den Ueberblick über den Themenkreis "Mikrobiologie und Hygiene" abzurunden.

Die Mikrobiologie ist etwa 300 Jahre alt. Seit 100 Jahren ist sie Gegenstand einer intensiven und weitgespannten Forschung. Das Wissen um die Bedeutung der Mikrobiologie als Grundlage für die Lebensmittelhygiene ist aber bis heute noch nicht Allgemeingut geworden.

Zur Zeit besteht die Tendenz, echte Hygiene durch Kosmetik der Produkte und Make-up der Auslagen zu überspielen. Als Sachverständige und als Treuhänder des Konsumenten sollten wir in erster Linie dafür besorgt sein, dass das Schwergewicht der Fleischhygiene auf einer möglichst keimarmen Gewinnung und Bearbeitung dieses für bakteriellen Verderb so anfälligen Nahrungsmittels liegt.

Wir wissen, dass diese Forderung nicht leicht zu erfüllen ist. In Reihenuntersuchungen haben wir gezeigt, dass Schlachttiere mit Darminhalt, Klauenschmutz und Fell Milliarden von Enterobacteriaceen und anderen unerwünschten Keimen an den Schlachtplatz bringen. Dabei ist die Schmutzbelastung des Mastviehs bei der modernen Haltung im Laufstall sogar noch grösser als früher. Während des Schlachtablaufes muss das Fleisch, das intra vitam praktisch keimfrei war, vor massiver Kontamination geschützt werden.

In dieser Beziehung sind die Empfehlungen von Hyytiäinen, Pohja und Niskanen (1975) über mikrobiologische Untersuchungsmethoden und Qualitätsbeurteilung des Fleisches wegweisend. Die Autoren fordern eine laufende Kontrolle der Schlachthygiene anhand von Stichprobeweisen organoleptischen und bakteriologischen Untersuchungen der Tierkörper bzw. Hälften oder Viertel. Die Keimzahl entscheidet über Haltbarkeit und Hygienequalität. Ein überhöhter Oberflächenkeimgehalt in Verbindung mit organoleptischen Mängeln führt zu Ungeniessbarkeit des Tierkörpers. Grob zerlegtes und fein zerkleinertes Fleisch sowie Hackfleisch soll quantitativ und qualitativ bakteriologisch untersucht und entsprechend beurteilt bzw. gemassregelt werden. Der bakteriologische Status dieses bearbeiteten Fleisches wäre zugleich Massstab für die Betriebshygiene.

Neue Probleme haben die modernen Vermarktungsformen mit sich gebracht. Der Verkauf in Selbstbedienungsgeschäften zwingt zur Vorratshaltung von Frischfleisch und Fleischwaren in portionierten Stücken oder Tranchen. Nun ist aber jede Manipulation mit zusätzlicher Keimbelastung und jede Zerkleinerung mit Intensivierung der Keimvermehrung verbunden. Soll die mikrobiologische Stabilität der Produkte auch unter diesen - an sich ungünstigen - Voraussetzungen bis zum Verbraucher gewährleistet sein, so müssen sämtliche Möglichkeiten ausgeschöpft werden, um das Intervall zwischen Konfektionierung und Endverkauf zu raffen.

Dem Kampf gegen den Verderb der vom Tier stammenden Nahrungsmittel wird in Zukunft eine weltweite Bedeutung zukommen. Prof. Schürch von der Eidg. Technischen Hochschule Zürich schreibt: "Bis zum Jahr 2'000 sind zur Deckung des minimalen Nährstoffbedarfs der Weltbevölkerung mindestens 75 % mehr Proteine nötig als heute. Die grösste Steigerung erfordert aber die Er-

zeugung von hochwertigen tierischen Produkten. Bis zum Jahr 2'000 muss diese mindestens verdoppelt werden."