

## **2. SCHRIFTTUM**

### **2.1 Direktvermarktung von Rohmilch und Rohmilchprodukten**

#### **2.1.1 Bedeutung**

Landwirtschaftliche Direktvermarktung ist der Verkauf von Erzeugnissen unmittelbar an den Konsumenten ohne Zwischenschaltung von Handels- und Verarbeitungsbetrieben.

Die Direktvermarktung hat in den letzten Jahren stark zugenommen. Immer mehr Verbraucher wollen sich „bewußt“ ernähren und Einblick gewinnen in Herkunft und Herstellung der Lebensmittel. Dafür nehmen sie auch höhere Preise und längere Anfahrtswege zu den landwirtschaftlichen Betrieben in Kauf (ANONYM, 1997a). Die Landwirte hingegen sind aufgrund der landwirtschaftlichen Einkommensentwicklung der letzten Jahre auf der Suche nach neuen Einkommensquellen.

Direktvermarktung bedeutet die Wiedereingliederung zahlreicher Funktionen in den landwirtschaftlichen Betrieb. Dadurch findet nicht nur die Produktion der Rohstoffe, sondern auch die Verarbeitung, der Transport, die Lagerung und der Verkauf der Produkte im Betrieb statt (ANONYM, 1997a). An die Hygiene und die Fachkenntnisse im Betrieb der Direktvermarkter müssen folglich höhere Ansprüche gestellt werden.

Für das Bundesgebiet liegen keine genauen Statistiken über den Umfang der Direktvermarktung vor. Bayern und Hessen zählen Schätzungen nach zu den Spitzenreitern. In Schleswig-Holstein hingegen ist die Direktvermarktung nach Angaben der dortigen Landwirtschaftskammer nur schwach entwickelt (ANONYM, 1997b). Bei einer im Rheinland durchgeführten Befragung gaben 11 % der Betriebe an, daß sie ein zusätzliches Einkommen über die Direktvermarktung erzielen. Schätzungen gehen davon aus, daß die Zahl der direktvermarktenden Betriebe noch weit höher liegt (HEEGEWALDT, 1998).

Bei der Direktvermarktung reichen die Vermarktungsformen von der seit jeher durchgeführten Milch-ab-Hof-Abgabe bis zum Hofladen mit Komplettsortiment, das häufig Rohmilch und Rohmilchprodukte beinhaltet.

Nach Erhebungen von KLOPPERT et al. (1997) wird in ca. 50 % der rund 9000 hessischen Milcherzeugerbetriebe Milch-ab-Hof verkauft. Dabei schwankt die abgegebene Menge zwischen 0,5 und 30 l pro Tag. Hinzu kommt noch der Eigenverbrauch in den bäuerlichen Familien.

Vorzugsmilch wird bundesweit in etwa 60 Betrieben erzeugt und vermarktet. Vorzugsmilchbetriebe unterliegen entsprechend § 8 der Verordnung über Hygiene- und Qualitätsanforderungen an Milch und Erzeugnisse auf Milchbasis (MilchVO) einer weitaus stärkeren Kontrolle als die Milch-ab-Hof-Erzeuger.

Vorzugsmilch ist im Gegensatz zur Milch-ab-Hof zum Rohverzehr bestimmt.

Eine weitere Kategorie von Direktvermarktern betreibt eigene Hofkäsereien. In Hessen allein existieren etwa 70 Hofkäsereien (REDELBERGER, 1997). Dabei handelt es sich sowohl um konventionell als auch um ökologisch wirtschaftende Betriebe wie DEMETER oder BIOLAND, die in erster Linie Kuhmilch, aber auch Ziegen- und Schafmilch gewinnen und verarbeiten (KLOPPERT et al., 1997; REDELBERGER, 1997).

Die Spanne der in den Hofkäsereien angebotenen Produkte reicht von Weich- über Hart- und Schnittkäse bis zu Joghurt, Sahne, Butter und Sauermilch. Kräuter- oder Gewürzrohmlchkäse bereichern das Angebot zusätzlich. Im Regelfall wird auch die eigene Milch als Milch-ab-Hof angeboten. Die Vermarktungswege sind vielfältig. Die meisten Betriebe nutzen hierfür ihren Hofladen oder einen Stand auf dem Wochenmarkt. Andere Betriebe lassen ihren Rohmilchkäse über Naturkostläden oder Läden auf anderen Bauernhöfen vermarkten. Verkauf über den Naturkostgroßhandel kommt ebenfalls vor (REDELBERGER, 1997).

Auch im Internet sind Direktvermarkter zu finden. Die Organisation „Bioland“ hat Landkarten von jedem Bundesland herausgegeben, auf denen die Direktvermarkterbetriebe eingezeichnet sind.

Durch die Bundesregierung wird die Direktvermarktung zwar begrüßt, aber nicht finanziell gefördert. Manche Bundesländer hingegen unterstützen diese Entwicklung wie z.B Thüringen mit bis zu 4,6 Millionen DM 1997 (ANONYM, 1997b).

### 2.1.2 Gesetzliche Anforderungen

Es existieren folgende rechtliche Rahmenbedingungen:

#### Milchhygienerecht der EU

1. Richtlinie 92/46/EWG des Rates vom 16. Juni 1992 mit Hygienevorschriften für die Herstellung und Vermarktung von Rohmilch, wärmebehandelter Milch und Erzeugnissen auf Milchbasis
2. Richtlinie der EG-Kommission Nr. 89/362/EWG vom 26. Mai 1989 über die allgemeinen Hygienevorschriften für Milcherzeugerbetriebe (Allgemeiner Hygienekodex für Milcherzeugerbetriebe)

#### Nationales Milchhygienerecht

1. Gesetz zur Gesamtreform des Lebensmittelrechts vom 15.08.1974 Art. 1: Gesetz über den Verkehr mit Lebensmitteln, Tabakerzeugnissen, kosmetischen Mitteln und sonstigen Bedarfsgegenständen (Lebensmittel- und Bedarfsgegenständegesetz) (LMBG)
2. Verordnung über Hygiene- und Qualitätsanforderungen an Milch und Erzeugnisse auf Milchbasis (Milchverordnung (MilchVO)) vom 24. April 1995
3. Verordnung über die Güteprüfung und Bezahlung der Anlieferungsmilch (Milch-Güte-Verordnung) vom 09. Juli 1980

4. Verordnung über Milcherzeugnisse vom 15. Juli 1970 in der Fassung der Milchverordnung vom 24. April 1995 (MilchErzVO)
5. Käseverordnung in der Fassung der Bekanntmachung vom 14. April 1986 und in der Fassung der Milchverordnung vom 24. April 1995 (KäseVO)
6. Gesetz über Milch, Milcherzeugnisse, Margarinerzeugnisse und ähnliche Erzeugnisse (Milch- und Margarinegesetz) vom 25. Juli 1990
7. Verordnung über die Sachkunde zum Betrieb eines Unternehmens der Be- oder Verarbeitung von Milch und eines Milchhandelsunternehmens (Milch-Sachkunde-Verordnung) vom 22. Dezember 1972

Die Richtlinie 92/46/EWG bestimmt in Art. 1 Abs. 2:

Diese Richtlinie berührt nicht die einzelstaatlichen Regelungen für den vom Erzeuger an den Verbraucher erfolgenden Direktverkauf von Rohmilch aus amtlich anerkannt tuberkulosefreiem und amtlich anerkannt brucellosefreiem oder brucellosefreiem Bestand und von aus dieser Rohmilch im eigenen Betrieb hergestellten Erzeugnissen auf Milchbasis, sofern die hygienischen Bedingungen im Betrieb den von der zuständigen Behörde festgelegten Mindesthygienevorschriften entsprechen. Daraus folgt, daß Sonderregelungen der Mitgliedstaaten für den sog. Ab-Hof-Verkauf von Milch und Erzeugnissen auf Milchbasis beibehalten werden dürfen.

Diese Vorschriften beinhalten Anforderungen für die Direktvermarktung von Rohmilch und Rohmilchprodukten.

Die Direktvermarktung gehört zur landwirtschaftlichen Urproduktion und stellt kein Gewerbe dar.

Bei der Direktvermarktung von Milch und Milcherzeugnissen übernimmt der landwirtschaftliche Erzeugerbetrieb die Vermarktungsfunktion, wobei die Rahmenbedingungen so gestaltet sein sollen, daß einerseits der Gesundheitsschutz der Verbraucher gewährleistet ist und sich andererseits die wirtschaftlichen Aktivitäten der Selbstvermarkter entfalten können. An diese Gesichtspunkte knüpfen die spezifischen Vorschriften der Milchverordnung und der Produktverordnungen an, die nachfolgend zusammengestellt sind:

Grundsätzlich müssen Konsummilch gemäß § 5 Abs. 1 und Milcherzeugnisse vorbehaltlich der Vorschriften der Butterverordnung, der Käseverordnung und der Milcherzeugnisverordnung gemäß § 6 Abs. 1 der Milchverordnung wärmebehandelt sein.

Zu diesem Grundsatz sind Ausnahmen zugelassen. Im folgenden werden diese Ausnahmen und wichtige Voraussetzungen für diese Ausnahmen dargelegt. Die Voraussetzungen werden nicht abschließend aufgeführt. Hierzu muß auf die genannten Rechtsvorschriften verwiesen werden.

### 2.1.2.1 Vorzugsmilch-Abgabe

Das Wärmebehandlungsgebot bei Konsummilch (§ 5 Abs. 1 MilchVO) gilt auch nicht für Vorzugsmilch, die als Rohmilch in Fertigpackungen von besonders zugelassenen Erzeugerbetrieben in den Verkehr gebracht werden darf, § 7 MilchVO.

Die Vorzugsmilchabgabe ist unter folgenden Voraussetzungen der MilchVO gestattet:

Der Betrieb muß von der zuständigen Behörde zugelassen sein (§ 7 Abs. 3, MilchVO).

Die Anforderungen an den Tierbestand, Anlage 1, und an das Melken, das Behandeln der Milch, an Stallarbeiten im Erzeugerbetrieb und die damit befaßten Personen, Anlage 3, müssen erfüllt sein.

Die allgemeinen Hygienevorschriften für Räume, Ausrüstung und Personal in Milchsammel- und Standardisierungsstellen sowie Be- und Verarbeitungsbetrieben nach Anlage 5 müssen eingehalten werden.

Nach Anlage 9 Nr. 1.1.2 sind die Kühe monatlich auf Krankheiten, die die Beschaffenheit der im Betrieb gewonnenen Milch nachteilig beeinflussen können, zu untersuchen.

Vorzugsmilch muß bei monatlichen Stichprobenuntersuchungen im Erzeugerbetrieb folgende Anforderungen<sup>1)</sup> erfüllen (Tab. 1):

<b>Tab. 1: Anforderungen an Vorzugsmilch nach Anlage 9 Nr. 3, MilchVO</b>	
1. Keimzahl/ml bei +30 °C	m = 30.000, M = 50.000, n = 5, c = 2
2. Coliforme Keime/ml bei +30 °C	m = 20, M = 100, n = 5, c = 1
3. <i>S. aureus</i> /ml	m = 100, M = 500, n = 5, c = 2
4. <i>Streptococcus agalactiae</i> /0,1 ml	m = 0, M = 10, n = 5, c = 2
5. Anzahl somatischer Zellen/ml	m = 300.000, M = 400.000, n = 5, c = 2
6. Salmonellen/25 ml	m = 0, M = 0, n = 5, c = 0, n = 5; c = 2
Pathogene Mikroorganismen oder deren Toxine dürfen nicht in Mengen vorhanden sein, die die Gesundheit des Verbrauchers beeinträchtigen können. Sensorische Kontrolle: keine Abweichung Phosphatasenachweis positiv	
<sup>1)</sup> m = Schwellenwert; das Ergebnis gilt als ausreichend, wenn die einzelnen Proben diesen Wert nicht überschreiten. M = Höchstwert, das Ergebnis gilt als nicht ausreichend, wenn die Werte einer oder mehrerer Proben diesen Wert überschreiten. n = Anzahl der Proben. c = Anzahl der Proben mit Wert zwischen m und M; das Ergebnis gilt als akzeptabel, wenn die Werte der übrigen Proben höchstens den Wert m erreichen.	

Durch die ÄnderungsVO vom 03.12.1997 trat in Deutschland eine Ergänzung der Milchverordnung in Kraft, die eine Abgabe von Roh- und Vorzugsmilch in Einrichtungen der Gemeinschaftsverpflegung verbietet, um die Gefahr einer EHEC-Infektion in diesen Ge-

meinschaftseinrichtungen auszuschließen. Dort darf nur Milch als Lebensmittel abgegeben werden, die unter Anwendung eines anerkannten Verfahrens im Sinne der Anlage 6 Nr. 2 wärmebehandelt worden ist, § 18 Abs. 4, MilchVO.

Weiterhin wurde mit der vierten Änderung der deutschen Schulmilch-BeihilfeVO vom 24.06.1998 die Beihilfefähigkeit von Vorzugsmilch im Rahmen der geförderten Schulspeisung gestrichen.

#### 2.1.2.2 Milch-ab-Hof-Abgabe

§ 8 der MilchVO regelt als Ausnahme des o.a. Grundsatzes die Abgabe von Rohmilch, die als Konsummilch im Erzeugerbetrieb unmittelbar an Verbraucher abgegeben wird.

Die Milch-ab-Hof-Abgabe von Rohmilch ist unter folgenden Voraussetzungen der MilchVO gestattet:

Der Milcherzeuger muß zuvor die Abgabe bei der zuständigen Behörde anzeigen.

Die Anforderungen an den Tierbestand, Anlage 1, an Erzeugerbetriebe, Anlage 2, sowie an das Melken, das Behandeln der Milch, an Stallarbeiten im Erzeugerbetrieb und die damit befaßten Personen, Anlage 3, müssen erfüllt sein.

Die Milch darf keine anomalen sensorischen Merkmale aufweisen.

Sie muß nach den Vorschriften der Milch-Güteverordnung kontrolliert werden und hierbei seit dem 01.01.1998 die Anforderungen der Anlage 4 Nr. 1.1 erfüllen (Tab.2).

<b>Tab. 2: Anforderungen nach Anlage 4 Nr. 1.1, MilchVO</b>	
Keimzahl bei + 30 °C (pro ml)	≤ 100.000 <sup>1</sup>
Gehalt an somatischen Zellen (pro ml)	≤ 400.000 <sup>2</sup>
<sup>1)</sup> Geometrisches Mittel über zwei Monate bei mindestens zwei Probeentnahmen je Monat <sup>2)</sup> Geometrisches Mittel über drei Monate bei monatlich mindestens einer Probeentnahme	

Die Rohmilch muß am Vortag oder am Tag der Abgabe gewonnen sein.

An der Abgabestelle muß gut sichtbar und lesbar der Hinweis „Rohmilch, vor dem Verzehr abkochen“ angebracht sein.

Bei den Untersuchungen von KLOPPERT et al. (1997) wurde im überwiegenden Teil der Betriebe festgestellt, daß entgegen den gesetzlichen Bestimmungen nicht darauf hingewiesen wurde, daß Rohmilch vor dem Verzehr abzukochen ist.

Da die entsprechende Verbrauchergruppe gezielt Rohmilch erwirbt, ist ohnehin davon auszugehen, daß der Konsument von Milch-ab-Hof in der Regel die Milch nicht abkocht, um die „natürlichen“ Bestandteile zu erhalten. Es ist weiter damit zu rechnen, daß die

Milch-ab-Hof im Haushalt des Verbrauchers weiterverarbeitet wird. Daher wurden in dieser Arbeit die gleichen Kriterien für Milch-ab-Hof untersucht, die für Rohmilch, die zur Herstellung von Rohmilcherzeugnissen verwendet wird, gelten (Anlage 4, Nr. 1.3 MilchVO) (Tab. 3).

<b>Tab. 3: Anforderungen nach Anlage 4 Nr. 1.3, MilchVO</b>	
<i>Staphylococcus aureus</i> (pro ml)	n = 5, m = 500, M = 2000, c = 2
Salmonellen in 25 ml	n = 5, m = 0, M = 0, c = 0
sonstige Krankheitserreger und deren Toxine	dürfen nicht in Mengen vorhanden sein, die die Gesundheit der Verbraucher gefährden können

Unter den Voraussetzungen des § 8 Abs. 2 MilchVO gelten erleichterte Bedingungen.

### 2.1.2.3 Rohmilchkäse und sonstige Erzeugnisse aus Rohmilch

Nach § 3 Abs. 3 der KäseVO unterliegt lediglich Käsereimilch zur Herstellung von Frischkäse und Sauermilchquark einem Wärmebehandlungsgebot gemäß § 4 Abs. 5 in Verbindung mit Anlage 6 der MilchVO. Hartkäse, Schnittkäse, halbfester Schnittkäse und Weichkäse dürfen somit aus eigener Milch hergestellt werden, die keiner Wärmebehandlung unterzogen worden ist.

Allerdings bestimmt Abs. 3a von § 3, KäseVO, daß Abs. 3 nicht für Frischkäse und Sauermilchquark gilt, der im Erzeugerbetrieb hergestellt und dort unmittelbar an Verbraucher abgegeben wird, wenn

- die Käsereimilch unter Einhaltung der Anforderungen von § 8 Abs. 1 Nr. 1 und 2 der MilchVO gewonnen und behandelt wurde und
- die Abgabe vom Erzeugerbetrieb der zuständigen Behörde angezeigt wurde. § 8 Abs. 2 der MilchVO gilt entsprechend.

§ 2 Abs. 1 der MilchErzVO schreibt grundsätzlich die Wärmebehandlung der Werkmilch oder der daraus hergestellten Erzeugnisse vor.

Nach § 2a der MilchErzVO, § 3 Abs. 2 ButterVO und § 3 Abs. 3a KäseVO sind bestimmte Erzeugnisse vom Wärmebehandlungsgebot ausgenommen, die im Erzeugerbetrieb hergestellt und dort unmittelbar an Verbraucher abgegeben werden. Voraussetzung ist, daß

- die zur Herstellung verwendete Milch unter Einhaltung der in § 8 Abs. 1 Nr. 1 und 2 der MilchVO genannten Anforderungen gewonnen und behandelt wird und
- die Abgabe zuvor vom Erzeugerbetrieb der zuständigen Behörde angezeigt worden ist. § 8 Abs. 2 der MilchVO gilt entsprechend.

Ferner darf Milch zur Herstellung von Rohmilcherzeugnissen nur verwendet werden, wenn sie den Hygieneanforderungen der Anlagen 4 Nr. 1.3, 2.2 und 3.2 entspricht (siehe § 6 Abs. 3 MilchVO).

Anlage 4 Nr. 1.3 stellt folgende Anforderungen an die Milch zur Herstellung von Rohmilcherzeugnissen auf (Tab. 4):

<b>Tab. 4: Anforderungen<sup>1)</sup> nach Anlage 4 Nr. 1.3, MilchVO</b>	
<i>S. aureus</i> (pro ml)	n = 5, m = 500, M = 2.000, c = 2
Salmonellen (in 25 ml)	n = 5, m = 0, M = 0, c = 0
sonstige Krankheitserreger und deren Toxine	dürfen nicht in Mengen vorhanden sein, die die Gesundheit der Verbraucher gefährden können
<sup>1)</sup> siehe oben	

An Erzeugnisse auf Milchbasis stellt Anlage 6, Nr. 3.3 folgende Ansprüche (Tab. 5).

<b>Tab. 5: Anforderungen nach Anlage 6 Nr. 3.3, MilchVO</b>		
	<b>Erzeugnisse</b>	<b>Anforderungen<sup>1)</sup> (ml oder g)</b>
<i>Listeria monocytogenes</i>	Käse außer Hartkäse	keine in 25 g
<i>Salmonella spp.</i>	Milcherzeugnisse	keine in 25 g
<i>S. aureus</i>	Käse aus Rohmilch <sup>2)</sup> Frischkäse	m = 1.000, M = 10.000, n = 5, c = 2 m = 10, M = 100, n = 5, c = 2
<i>Escherichia coli</i>	Käse aus Rohmilch	m = 10.000, M = 100.000, n = 5, c = 2
Ferner dürfen Krankheitserreger und deren Toxine nicht in Mengen vorhanden sein, die die Gesundheit der Verbraucher beeinträchtigen können.		
<sup>1)</sup> siehe oben		
<sup>2)</sup> Käse aus Rohmilch ist nach jeder Überschreitung der Anforderung „M“ bezogen auf <i>S. aureus</i> auf Toxingehalt zu überprüfen.		

Nach § 20 Abs. 2 der MilchVO bedürfen Betriebe, die ausschließlich im eigenen Erzeugerbetrieb gewonnene Rohmilch be- oder verarbeiten und diese Erzeugnisse unmittelbar, hinsichtlich Butter sowie Hart-, Schnitt-, halbfeste Schnitt- und Weichkäse auch mittelbar (an Geschäfte, Märkte, Gemeinschaftseinrichtungen) an Verbraucher abgeben, keiner Zulassung. Hier ist geregelt, daß nach wie vor im Rahmen der Milch-ab-Hof-Abgabe Milch, Sauermilcherzeugnisse und Frischkäse nur auf dem Erzeugerbetrieb an Verbraucher abgegeben werden dürfen.

Um Rohmilchkäse herstellen zu dürfen, wird in mehreren Bundesländern ein Sachkundenachweis nach § 4 Abs. 4 Nr. 2 des Milch- und Margarinegesetzes in Verbindung mit der Milch-Sachkunde-Verordnung verlangt, wenn die täglich verarbeitete Milchmenge unter

500 kg liegt. Werden mehr als 500 kg Milch verarbeitet, braucht der Landwirt eine zusätzliche Ausbildung in einem Molkereiberuf (Molkereifachgehilfe oder Milchwirtschaftlicher Laborant) (REDELBERGER, 1997; ANONYM, 1998a). Nach Mitteilung des Ministeriums für ländliche Räume, Landwirtschaft, Ernährung und Tourismus des Landes Schleswig-Holstein allerdings darf ein Sachkundenachweis nur dann von einem Direktvermarkter verlangt werden, wenn er mit seiner Verkaufstätigkeit die Grenze der „Urproduktion“ überschreitet und ein „milchwirtschaftliches Unternehmen“ geworden ist. Dies ist im Einzelfall zu prüfen. Werden die Grenzen der „Urproduktion“ eingehalten, so hätte dies zur Folge, daß vom Direktvermarkter kein Sachkundenachweis verlangt werden kann.

## **2.2 Gesamtkeimzahl und Somatische Zellen**

Die aerobe Gesamtkeimzahl und der Gehalt an somatischen Zellen stellen wichtige Beurteilungskriterien zur Bewertung der hygienischen Beschaffenheit und Qualität von Rohmilch dar.

Die aerobe Gesamtkeimzahl ist ein Parameter für die Qualität der durchgeführten Hygiene bei der Milchgewinnung, für die Sorgfalt bei der Reinigung von Melkanlage und Tank sowie für die Kühlung.

Der Zellgehalt ist ein Maßstab für die Eutergesundheit. Ein gesundes Euter hat einen Zellgehalt von  $\leq 100.000$  Zellen/ml. Anhand des Zellgehaltes läßt sich ein subklinisch erkranktes Euterviertel erkennen (HAMANN und GEDEK, 1994).

In den rechtlichen Vorschriften wird demgemäß die Qualität von Milch-ab-Hof und Vorzugsmilch u.a. an diesen Parametern gemessen. Seit dem 01.01.1998 müssen die Anforderungen der MilchVO an Keimzahl und Zellzahl erfüllt werden.

Folglich sind im Rahmen dieser Arbeit die Gesamtkeimzahl und der Gehalt an somatischen Zellen in diesen Produkten untersucht worden.

Tab. 6 zeigt die Ergebnisse verschiedener Untersuchungen zur Gesamtkeimzahl.

Tab. 7 zeigt die Ergebnisse verschiedener Untersuchungen zum Zellgehalt.

<b>Tab. 6: Untersuchungen zur Keimzahl</b>					
Untersuchungs- ort, Zeitraum	Probe	Proben- anzahl	Keimgehalt (cfu/ml) (Prozent)		Autor
			≤ 100.000	≥100.000	
Baden- Württemberg, 1986-1992	Vorzugs- milch	669	655 (97,9 %)	14 (2,1 %)	FRIEDRICH, 1993
Bayern, 1996	Rohmilch	k.A.	k.A. (94 %)	k.A. (6 %)	ELLNER, 1996
Brandenburg, 1993-1994	Bestands- milch	415	241 (58,1 %)	174 (41,9 %)	SPECKER, 1996
Hessen, 1995-1997	Milch-ab- Hof	50	48 (96 %)	2 (4,0 %)	KLOPPERT et al., 1997
Deutschland, 1996	Rohmilch	k.A.	k.A. (100 %)	k.A. (0 %)	SONNTAG, 1997
Deutschland, 1998	Rohmilch	150955 <sup>1</sup>	k.A. (97,5 %)	k.A. (2,5 %)	ANONYM, 1999

<sup>1</sup> Anzahl der Lieferanten

Im allgemeinen wird der Grenzwert von 100.000 cfu/ml, den die MilchVO vorgibt, von mehr als 95 % der Betriebe eingehalten (FRIEDRICH, 1993; ELLNER, 1996; KLOPPERT et al., 1997; SONNTAG, 1997; ANONYM, 1999). Die mit nur 58,1 % stark abweichenden Befunde aus Brandenburg (SPECKER, 1996) sind u.a. darauf zurückzuführen, daß 1993 dieser Grenzwert noch nicht bindend war.

<b>Tab. 7: Untersuchungen zur Zellzahl</b>					
Untersuchungs- ort, Zeitraum	Probe	Proben- Anzahl	Zellzahl /ml (Prozent)		Autor
			≤ 400.000	≥400.000	
Baden-Württem- berg, 1986-1992	Vorzugs- milch	669	635 (94,9 %)	34 (5,1 %)	FRIEDRICH, 1993
Bayern, 1996	Rohmilch	k.A.	k.A. (94 %)	k.A. (6 %)	ELLNER, 1996
Hessen, 1995-1997	Bestands- milch	1019	898 (88,1 %)	121 (11,9 %)	KLOPPERT et al., 1997
Deutschland, 1996	Rohmilch	k.A.	k.A. (100 %)	k.A. (0 %)	SONNTAG, 1997
Deutschland, 1997	Rohmilch	k.A.	k.A. (91,8 %)	k.A. (8,2 %)	ANONYM, 1999
Deutschland, 1998	Rohmilch	k.A.	k.A. (93,6 %)	k.A. (6,4 %)	ANONYM, 1999

Die Anforderung von  $\leq 400.000$  Zellen/ml wird von 88,1-100 % der Betriebe in diesen Untersuchungen erfüllt (FRIEDRICH, 1993; ELLNER, 1996; KLOPPERT et al., 1997; SONNTAG, 1997; ANONYM, 1999).

Das Inkrafttreten der Richtlinie 92/46/EWG am 01.01.1994 bedeutete einen Einschnitt. Danach kam es bundesweit zu einer deutlichen Verbesserung der Milchbeschaffenheit.

## **2.3 *Staphylococcus aureus***

### **2.3.1 Taxonomie (KLOOS und SCHLEIFER, 1986)**

Die Spezies *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) gehört dem Genus *Staphylococcus* an, das in die Familie der Micrococcaceae eingeordnet ist.

Neben *S. aureus* als dem wichtigsten pathogenen Keim werden noch weit über 20 weitere Arten unterschieden (BLOBEL und SCHLIESSER, 1994).

*S. aureus* wird nach der MilchVO als Nachweiskeim für mangelnde Hygiene bewertet.

### **2.3.2 Morphologie, Kultur und biochemische Eigenschaften (KLOOS und SCHLEIFER, 1986)**

*S. aureus* sind grampositive, unbewegliche Haufenkokken und 0,5-1,0  $\mu\text{m}$  groß.

Kapsel- oder Pseudokapselbildung sowie zellwanddefekte Formen kommen vor (L-Form).

Die runden Kolonien sind glatt, erhaben, glänzend, unterschiedlich pigmentiert und 1 - 3 mm groß, in Einzelfällen 6-8 mm.

*S. aureus* zeigt aerobes, fakultativ anaerobes Wachstum. Es kommen meist hämolysierende, aber auch nicht-hämolysierende Stämme vor. Der Keim zeigt unterschiedliche Hämolyseformen, da von ihm vier verschiedene Hämolysine gebildet werden.

*S. aureus* ist Katalase-positiv und Oxidase-negativ. Als Hauptkriterium zur Identifizierung dient das extrazellulär produzierte Enzym Koagulase. Dieses Enzym führt durch Aktivierung von Prothrombin zu einer Umwandlung von Fibrinogen zu Fibrin und damit zur Gerinnung von Blutplasma. Es wird vermutet, daß bei einem Infektionsprozeß dadurch eine Barriere aus Fibrin entsteht, die den Koagulase-produzierenden Keimen einen Schutz vor Phagozytose bietet (BLOBEL und SCHLIESSER, 1994).

Ein weiteres Kriterium zur Diagnose ist die extrazelluläre Bildung des hitzestabilen Enzyms Thermo-nuklease (TNase), das sowohl DNA als auch RNA abbauen kann.

Die Fähigkeit zur Koagulase- und/oder TNase-Bildung ist auch für andere Staphylokokken-Spezies beschrieben worden (KLOOS und SCHLEIFER, 1986; DE LA FUENTE et al., 1985; IGIMI et al., 1990). Eine weitere Differenzierung dieser Arten ist biochemisch möglich. Aus Milch werden diese Staphylokokken nur in sehr geringem Ausmaß isoliert (NIEDER, 1988; MARTIN und BERGMANN, 1993; MÜLLER, 1993).

Weiterhin verfügt ein großer Teil der *S. aureus*-Stämme über den Clumping factor, der ohne Aktivierung von Prothrombin eine direkte Bindung von Fibrinogen an zellwandständige Rezeptoren verursacht (BRÜCKLER et al., 1974). Nach anderen Untersuchungen entspricht der Clumping factor einem Teil der extrazellulären Koagulase, der eng mit der Zelloberfläche assoziiert ist (BODEN und FLOCK, 1989).

### 2.3.3 Enterotoxine

Ein Teil der *S. aureus*-Stämme besitzt das aus lebensmittelhygienischer Sicht wichtigste Pathogenitätsmerkmal der Enterotoxinbildung. Im kontaminierten Lebensmittel besteht in Abhängigkeit von geeigneten Bedingungen die Gefahr der Vermehrung der Keime und der damit verbundenen Bildung evtl. gesundheitsgefährdender Enterotoxinkonzentrationen.

Die Staphylokokken-Enterotoxine SEA, SEB, SEC<sub>1</sub>, SEC<sub>2</sub>, SEC<sub>3</sub>, SED und SEE werden serologisch unterschieden.

Die Enterotoxine SEG, SEH und SEI sind inzwischen ebenfalls identifiziert und charakterisiert worden (MUNSON et al., 1998).

Alle Enterotoxine sind Polypeptide, die gegenüber proteolytischen Enzymen resistent sind und daher nicht von Enzymen des Verdauungstraktes aufgelöst werden (ASPERGER, 1991). Außerdem sind diese Toxine hitzestabil, d.h., selbst wenn im Endprodukt die Bakterien durch Erhitzungsprozesse abgetötet werden, können die Toxine immer noch enthalten und wirksam sein. Voraussetzung ist, daß sich die Toxinbildner im rohen Ausgangsmaterial entsprechend vermehren konnten, um genügend Toxin zu produzieren (TRANTER, 1990).

SEA wird von *S. aureus*-Toxinbildnern produziert, die vom Menschen stammen, wohingegen Stämme, die beim Rind vorkommen, hauptsächlich SEC und SED produzieren (WIENEKE 1974; HARVEY und GILMOUR 1985; BERGDOLL, 1989).

### 2.3.4 Erkrankungen bei Mensch und Tier

Die Staphylokokken-Intoxikation wird ausgelöst durch die Aufnahme von im Lebensmittel präformierten Toxinen, die 1-6 h nach der Aufnahme als Hauptsymptom Durchfall und Erbrechen hervorrufen. Weitere Symptome sind Kopf- und Bauchschmerzen, Dehydratation, Muskelkrämpfe, erhöhte Körpertemperatur und Schweißausbrüche. Es werden Anzeichen verschiedener Schockstadien diagnostiziert. Die akute Phase erstreckt sich zumeist über 1-8 h, zum vollständigen Abklingen der Erkrankung kommt es in der Regel nach 1-2 Tagen. Erkrankungen mit Todesfolge sind selten (BERGDOLL, 1989). Die toxische Dosis beträgt etwa 10 µg Enterotoxin (RAJ und BERGDOLL, 1969). Zur Produktion von Toxinmengen, die eine Erkrankung auslösen können, sind Keimzahlen in der Größenordnung von mindestens 10<sup>5</sup> pro Gramm bzw. Milliliter Lebensmittel erforderlich (GILBERT, 1974).

Hauptursache für Intoxikationen ist nach TRANTER (1990) mangelnde Hygiene in Lebensmittelbetrieben und in Privathaushalten, wodurch es zur Kontamination der Lebensmittel durch Staphylokokkenträger kommt.

Die Häufigkeit des Auftretens der Erkrankung differiert in den einzelnen Ländern stark, abhängig von der Geographie und den lokalen Verzehrgewohnheiten (MOSSEL und VAN NETTEN, 1990). Während in den USA zwischen 1983 und 1987 von 600 näher untersuchten durch Bakterien verursachten Lebensmittelvergiftungen 47 (7,83 %) durch *S. aureus* ausgelöst wurden, gilt dies für den gleichen Zeitraum für nur 54 (1,9 %) von 2815 Ausbrüchen in England und Wales (TRANTER, 1990). Durch *S. aureus* ausgelöste Erkrankungen, die auf den Konsum von Milch zurückgehen, kommen selten vor (HALPIN-DOHNALEK and MARTH, 1989; TRANTER, 1990). Dies ist u.a. darauf zurückzuführen, daß über 95 % der konsumierten Milch einem technologischen Verarbeitungsprozeß mit umfassender Hygiene unterliegen, der durch Kühlung und anerkannte Wärmebehandlungsverfahren die Vermehrung und damit einhergehende Enterotoxinbildung von *S. aureus* normalerweise ausschließt. Auch wird Rohmilch in der Regel gekühlt und bald verzehrt, so daß die zur Toxinbildung nötigen Keimzahlen kaum erreicht werden können.

*S. aureus* in Rohmilchkäse stellt ein Problem dar. So wurden nach JERMINI et al. (1990) 1989 fünf Ausbrüche von *S. aureus*-Intoxikationen in der Schweiz gemeldet, die auf den Genuß von Rohmilchfrischkäse zurückzuführen waren.

In New York ereignete sich 1981 ein Ausbruch mit 16 Erkrankten, der durch mit *S. aureus* kontaminierten Käse verursacht wurde (ALTEKRUSE et al., 1998).

Ein Rohmilchkäse, der von einem ökologisch wirtschaftenden Betrieb in der Nähe von Göttingen angeboten wurde, löste bei 30 Konsumenten Vergiftungserscheinungen aus, die auf *S. aureus* zurückgeführt wurden (ANONYM, 1998b).

In Thüringen wurde 1998 ein *S. aureus*-Intoxikations-Ausbruch auf Rohmilchkäse zurückgeführt. Aus dem Rohmilchkäse, dem Gemelk einer Kuh des Milchviehbetriebes, aus dem die verwendete Rohmilch stammte, sowie bei Umgebungsuntersuchungen im Herstellerbetrieb wurde der gleiche *S. aureus*-Stamm nachgewiesen (Robert Koch Institut (RKI), 1999a).

*S. aureus* kommt ubiquitär auf Haut und Schleimhaut von Mensch und Tier vor (KLOOS, 1980).

Beim Rind gehört *S. aureus* zu den häufigsten Erregern subklinischer und klinischer Mastitiden. So wurden in verschiedenen Untersuchungen von klinisch oder subklinisch erkrankten Kühen in bis zu 45 % der Proben *S. aureus* gefunden (NISKANEN und KOIRANEN, 1977; STUMPF, 1988). Problematisch sind besonders die subklinischen Mastitiden, da die Milch optisch unverändert erscheint und Krankheitssymptome bei der Kuh fehlen, so daß die Rohmilch leicht in die Direktvermarktung gelangen kann.

Neben der Mastitis ist *S. aureus* auch beim Tier als Erreger von Hautinfektionen von Bedeutung (BLOBEL und SCHLIESSER, 1994).

Somit sind die beiden Hauptkontaminationsquellen für Rohmilch und Rohmilchprodukte die an Mastitis erkrankte Kuh und der Mensch (GILMOUR und HARVEY, 1990).

### 2.3.5 Verhalten in Rohmilch und Rohmilchprodukten

*S. aureus* vermehrt sich bei Temperaturen von 6,5-50 °C, wobei das Optimum bei 30-40 °C liegt. Der optimale pH-Wert für *S. aureus* liegt bei 7,0-7,5. Wachstum ist noch möglich bei einem pH-Wert von 4,2-9,3. *S. aureus* vermag sich in Lebensmitteln mit 15 % Salz zu vermehren (BAIRD-Parker, 1965; JAWETZ et al., 1982).

Auch bei geringer Wasseraktivität ( $a_w$ -Wert) können sich Staphylokokken noch vermehren. Ein  $a_w$ -Wert von 0,93 ist die Grenze für die meisten im Lebensmittel vorkommenden Mikroorganismen. Staphylokokken können sich hingegen noch bei einem  $a_w$ -Wert von 0,86 vermehren, wodurch sie in Lebensmitteln mit einem bestimmten  $a_w$ -Bereich einen Selektionsvorteil haben (TROLLER, 1976).

Zusammensetzung, pH-Wert und  $a_w$ -Wert von Milch ermöglichen *S. aureus* sowohl Wachstum als auch Toxinbildung (TATINI, 1973). Allerdings kann eine intakte Begleitflora in der Rohmilch Vermehrung und Enterotoxinbildung von *S. aureus* verhindern, zumindest solange nicht spezielle Bedingungen (Zugabe von Salz, inhibitorische Substanzen) ein selektives Wachstum von *S. aureus* erlauben (TATINI und JEZESKI, 1971; ASPERGER, 1994).

Auch Rohmilchkäse bietet *S. aureus*, abhängig von den Produktionsmethoden, gute Bedingungen für die Vermehrung und Enterotoxinproduktion (OLSON und MOCQUOT, 1980; GENIGEORGIS, 1989; OTERO et al., 1993).

Während Reifung und Lagerung ist je nach Käsetyp ein unterschiedlicher Keimzahlverlauf festzustellen. Für Hartkäse wird insgesamt über eine Abnahme der *S. aureus*-Zahl während Reifung und Lagerung berichtet (TUCKEY et al, 1964; GAYA et al., 1988; GOMEZ-LUCIA et al., 1986; NUNEZ et al., 1988; OTERO et al., 1993). *S. aureus* kann aber mehr als 60 Tage lang während der Reifung von Hartkäse persistieren (IBRAHIM et al., 1981; GOMEZ-LUCIA et al., 1986; GAYA et al., 1988; ECKNER und ZOTTOLA, 1991). Dabei kann noch Toxin nachgewiesen werden, wenn *S. aureus* nicht mehr festgestellt werden kann (VERNOZY-ROZAND et al., 1998).

In Käse mit höheren Wassergehalten wurden auch gegen Ende der Lagerungszeit noch Keimzahlen von  $10^6$ - $10^7$  cfu/g festgestellt (SANTOS und GENIGEORGIS, 1981; STECCHINI et al., 1991).

Bei Temperaturen  $<7^{\circ}\text{C}$  werden Vermehrung und Enterotoxinbildung fast vollständig verhindert, so daß Kühlung von Lebensmitteln in diesem Temperaturbereich eine wirksame Präventionsmaßnahme darstellt (MOSEL und VAN NETTEN, 1990).

Nach ASPERGER (1991) müssen zur Produktion von Toxinmengen, die zu einer Lebensmittelvergiftung führen, bei der Herstellung von Käse neben ungenügender Kühlung weitere Fehler vorgekommen sein wie lange Lagerungszeiten und Bedingungen, die das Wachstum der obligaten Reifungsmikroflora beeinträchtigen.

Bei Rohmilchweichkäse ist allerdings nach den Untersuchungen von MÜLLER et al. (1996) davon auszugehen, daß es auch unter optimalen Bedingungen zu Enterotoxinbildung kommen kann, vorausgesetzt, die verwendete Rohmilch ist mit Enterotoxinbildnern mit einer Ausgangskeimzahl von  $10^3$  cfu/ml kontaminiert. Weichkäse ist durch seinen hohen Wassergehalt und die kurze Reifungszeit ein sehr risikoreiches Produkt (ZANGERL und OSL, 1992).

Für Rohmilchfrischkäse konnten JERMINI et al. (1990) nachweisen, daß unter produktionsüblichen Bedingungen Keimzahlen innerhalb weniger Stunden erreicht werden können, die zur Toxinbildung führen.

Pasteurisierungsverfahren töten *S. aureus* zuverlässig ab.

### 2.3.6 Vorkommen und Häufigkeit in Rohmilch und Rohmilchprodukten

*S. aureus* wird häufig in Rohmilch festgestellt. Die Mehrzahl der aus Milch isolierten Stämme ist bovinen Ursprunges. Nur ein geringer Prozentsatz dieser Stämme ist humanen Ursprunges (REA et al., 1980).

So ist für Bestandmilch in ca. 35-50 % der Proben *S. aureus* nachweisbar, dabei liegen die Keimzahlen im Bereich von  $10^3$  cfu/ml (HARVEY und GILMOUR, 1985; GOLDBERG et al., 1991).

Die Angaben über den Anteil Enterotoxin-bildender *S. aureus* isoliert aus Rohmilch variieren von 5-74 %. Vor allem SEC- und SED-Produzenten werden aus Milch isoliert (TAKESHIGE et al., 1983; BECKER et al., 1989; JERMINI et al., 1990; GILMOUR und HARVEY, 1990; OMBUI et al., 1992; SCHLENSTEDT und KIELWEIN, 1994; MÜLLER et al., 1996). In Milchprodukten werden alle Enterotoxine A-E nachgewiesen, wobei das Enterotoxin A dominiert (PAYNE und WOOD, 1974).

Milch-ab-Hof, Vorzugsmilch bzw. Rohmilch zur Herstellung von Rohmilcherzeugnissen für die Direktvermarktung sind in folgenden Studien untersucht worden:

In Baden-Württemberg wurden zwischen Mai 1986 und Dezember 1992 669 Vorzugsmilchproben auf *S. aureus* untersucht. Alle Proben waren negativ (FRIEDRICH, 1993).

SCHNELLHARDT et al. (1997) untersuchten von März bis September 1996 210 Bestandsmilchproben (entspricht Bestandsmilch) aus 16 Kleinbetrieben in Oberbayern. Alle untersuchten Kleinbetriebe verkauften in Direktvermarktung Milch-ab-Hof oder Rohmilchprodukte aus Schaf- oder Ziegenmilch. In 72 (34,4 %) Proben wurden koagulasepositive Staphylokokken gefunden. Nur in einem Fall (1,4 %) wurde der Höchstwert  $M = 2000$  *S. aureus*/ml für Rohmilch zur Herstellung von Rohmilcherzeugnissen überschritten.

Von 13 österreichischen Milch-ab-Hof-Proben bewertete LESCHINGER (1993) sieben (54 %) als *S. aureus*-positiv. Nur in einer von sieben auswertbaren Proben konnten mehr als  $10^2$  cfu *S. aureus*/ml festgestellt werden.

Bei einer Untersuchung von hessischen Milcherzeugern mit Milch-ab-Hof-Abgabe bzw. Vorzugsmilchbetrieben (858 Bestandsmilchproben) wurde in 33,3 % der Proben ( $n = 286$ ) *S. aureus* nachgewiesen (KLOPPERT et al., 1997). Dabei lag die maximale *S. aureus*-Keimzahl bei  $5,1 \times 10^2$  cfu/ml. Die Ergebnisse von Vorzugsmilch und Milch-ab-Hof werden nicht einzeln aufgeführt.

Insgesamt ist nach diesen Untersuchungen in 0-54 % der Direktvermarkter-Proben *S. aureus* nachweisbar. Keimzahlen, die mit Enterotoxinbildung einhergehen, sind nicht festgestellt worden.

Eine Literaturübersicht zum Vorkommen und den Keimzahlen von *S. aureus* in Rohmilchprodukten zeigt Tab. 8.

<b>Tab. 8: Vorkommen und Keimzahlen von <i>S. aureus</i> in Rohmilchprodukten aus Direktvermarktung</b>						
Probe	Gesamtzahl Proben	<i>S. aureus</i> positiv	<i>S. aureus</i> -Keimzahl (cfu/g)			Autor
			$\leq 10^3$	$10^3-10^4$	$\geq 10^4$	
Rohmilch-frischkäse	59	70,0 %	k.A.	k.A.	60,0 %	JERMINI et al., 1990
Rohmilch-frischkäse	26	k.A.	34,6 %	19,2 %	46,1 %	ASPERGER et al., 1991
Rohmilch-labkäse	98	70,0 %	49,0 %	7,0 %	14,0 %	nach ZANGERL und OSL, 1992
Rohmilch-butter	22	59,0 %	36,0 %	23,0 %	0,0 %	nach LESCHINGER, 1993
Frischkäse	30 (83,3 %)	60,0 %	34,0 %	13,0 %	13,0 %	nach LESCHINGER, 1993
gereifte Käse	49 (91,8 %)	53,0 %	37,0 %	4,0 %	12,0 %	nach LESCHINGER, 1993
Rohmilch-käse	70	37,2 %	12,9 %	12,9 %	11,4 %	SCHLENSTEDT und KIELWEIN, 1994

Angaben in Klammern: Anteil der Rohmilchprodukte  
k.A.: keine Angabe

JERMINI et al. (1990) untersuchten in der Schweiz 59 Rohmilchfrischkäse (Formaggini) aus verschiedenen kleingewerblichen Produktionsbetrieben auf *S. aureus*. Aus den positiven Proben isolierten die Autoren 42 Stämme, die sie mittels ELISA (Fa. Bommeli) auf Enterotoxinbildung untersuchten. Von diesen untersuchten Stämmen bildeten 28 (66,6 %) mindestens ein Toxin. Von 24 Stämmen (57,1 %) und somit am häufigsten wurde SED gebildet.

26 konsumreife Rohmilchfrischkäse, hergestellt in bäuerlichen Betrieben, wurden von ASPERGER (1991) untersucht. Davon enthielten drei Proben (11,5 %) sogar mehr als  $10^6$  cfu/g, wodurch schon ein Bereich erreicht wird, bei dem gesundheitsgefährdende Toxinbildung auftreten kann.

Verschiedene Milchproduktproben aus bäuerlicher Direktvermarktung wurden von LESCHINGER (1993) untersucht.

Zu berücksichtigen ist, daß nach Angaben von LESCHINGER (1993) sowie von ZANGERL und OSL (1992) eine Erfassung der *S. aureus*-Keimzahlen von bis zu 100 cfu/g bei Butter, Frischkäse, Milch und bis zu 1000 cfu/g bei gereiftem Käse nicht möglich war und nur Produkte ausgewertet und als *S. aureus*-positiv gewertet werden konnten, in denen die Keimzahl diese Nachweisgrenze erreichte.

Bei einem Vergleich von Rohmilchkäse aus molkereimäßiger Herstellung und aus bäuerlicher Produktion war generell festzustellen, daß in den Rohmilchkäsen aus bäuerlicher Herstellung häufiger höhere Keimzahlen an *S. aureus* zu finden waren (SCHLENSTEDT und KIELWEIN, 1994). Von den 308 Rohmilchkäsen aus der Molkereiproduktion waren 79 Proben (25,6 %) *S. aureus*-kontaminiert und 8,4 % überschritten den Höchstwert von  $10^4$  cfu/g. Von den 70 Rohmilchkäsen aus bäuerlicher Produktion waren 26 (37,2 %) *S. aureus*-kontaminiert und 11,4 % überschritten den Höchstwert.

Bei der Untersuchung von Rohmilchweichkäse aus dem Handel waren 10,9 % *S. aureus*-positiv. Nur eine Probe überschritt den Höchstwert (MÜLLER, 1996).

In Käsen aus pasteurisierter Milch konnten BOWEN und HENNING (1994) sowie MÜLLER (1996) keine *S. aureus* nachweisen.

Insgesamt sind diesen Untersuchungen zufolge zwischen 37,2-70,0 % der Rohmilchprodukte aus Direktvermarktung *S. aureus*-kontaminiert. 12,9-49,0 % der Proben enthalten  $\leq 10^3$  cfu/g *S. aureus* und bleiben damit unter dem Schwellenwert m, den die Milch-VO für Rohmilchprodukte vorgibt. Die Keimzahl überschreitet in bis zu 60,0 % der Proben  $10^4$  cfu/g und damit den Höchstwert M.

## 2.4 *Listeria monocytogenes*

### 2.4.1 Taxonomie

Die Spezies *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*) gehört zum Genus *Listeria* und wird, ohne zu einer Familie gerechnet zu werden, zu den regulären, nichtsporenbildenden und grampositiven Stäbchen gezählt.

Zum Genus *Listeria* gehören folgende Spezies: *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. murrayi*, *L. grayi*, *L. ivanovii*, *L. seeligeri* und *L. welshimeri* (SEELIGER und JONES, 1984). Innerhalb dieser Gattung hat vor allem *L. monocytogenes* als Krankheitserreger Bedeutung erlangt.

### 2.4.2 Morphologie, Kultur und biochemische Eigenschaften

Listerien sind 0,4-0,5 µm breite und 0,5-2 µm lange aufgrund peritricher Begeißelung bewegliche Stäbchen. Sie sind grampositiv, aber in älteren Kulturen neigen sie zur Gramlabilität.

Die Kolonien messen 0,5-1,5 mm, sind rund und wirken durchscheinend. Sie sind bei normaler Beleuchtung von weißlich-grauer Farbe (SEELIGER und JONES, 1984).

Die Bakterien sind aerob und fakultativ anaerob. Weiterhin sind sie Katalase-positiv und Oxidase-negativ.

*L. monocytogenes* zeigt auf Blutagar eine β-Hämolyse und mit *S. aureus*, nicht jedoch mit *Rhodococcus equi*, das CAMP-Phänomen. Durch Hämolyse, CAMP-Phänomen und die Verwertung von Xylose und Rhamnose differenziert sich *L. monocytogenes* von den anderen Spezies der Gattung (SEELIGER und JONES, 1984).

### 2.4.3 Erkrankungen bei Mensch und Tier

Infektionen des Menschen kommen nur sporadisch vor. Bei gesunden Erwachsenen läuft die Erkrankung in der Regel als latente Infektion ab, die bei verändertem Immunstatus wie Immunsuppression oder Schwangerschaft zunächst mit grippeähnlichen Symptomen ausbrechen kann. Weiter ruft diese Erkrankung beim Menschen vor allem Symptome zentralnervösen Ursprungs hervor, manchmal begleitet von Septikämie (GRAY und KILLINGER, 1966). Die durch *L. monocytogenes* hervorgerufenen Erkrankungen betreffen vor allem Schwangere und deren Foeten, Neugeborene, ältere und andere Personen mit einem supprimierten Immunsystem. Der klinische Verlauf ist fulminant und bei Nichtbehandlung beträgt die Anzahl der tödlichen Fälle bis zu 70 %, mit Behandlung 30 % (NIEMAN und LORBER, 1980; NELSON et al., 1985; PRENTICE, 1994). Die Infektionsdosis für den Menschen ist nicht bekannt (LOVETT, 1989; FARBER und PETERKIN, 1991).

In Deutschland besteht für die angeborene Listeriose beim Menschen nach dem Bundesseuchengesetz Meldepflicht. Im Jahre 1998 wurden insgesamt 41 Fälle von angeborener Listeriose gemeldet (RKI, 1999b).

*L. monocytogenes*-Ausbrüche sind oft mit kontaminierten Lebensmitteln assoziiert (LOVETT, 1989; FARBER und PETERKIN, 1991). Milch und Milchprodukte wurden mehrfach als Verursacher von Ausbrüchen und Einzelerkrankungen angesehen (ORTEL, 1968; FLEMING et al., 1985; BANNISTER, 1987; LINNAN et al., 1988; SCHÖNBERG, 1988; GOULET et al., 1995). Tab. 9 bietet eine Übersicht zu diesen Untersuchungen.

<b>Tab. 9: <i>L. monocytogenes</i>-Erkrankungen durch Milch und Milchprodukte</b>					
Ort, Zeitraum <sup>1</sup>	Neugeborene u. Säuglinge	Erwachsene	Gesamt (Todesfälle)	Infektionsquelle	Bemerkungen
Halle, 1968	203	76	279 (109)	Milch und Milchprodukte vermutet	Infektionsquelle nicht gesichert
USA, 06.83-08.83	7	42	49 (14)	pasteurisierte Milch	ineffektive Pasteurisation
Großbritannien, 01/1987	-	1	-	Weichkäse	2 Wochen in Kühlschrank gelagert
Kalifornien, 01.-08.85	93 Fälle betrafen Schwangere und ihre Nachkommen		142 (48)	Mexican-style Weichkäse	Kontamination Rohmilch vermutet
Schweiz, 1987	-	10	10 (3)	Weichkäse (Vacherin Mont d'Or)	Käse wurde nicht thermisiert
Schweiz, 1995	k.A.	57	57 (18)	Weichkäse	
Frankreich, 03/1995	11 Schwangere betroffen		20 (-)	Rohmilchweichkäse (Brie de Meaux)	Infektionsquelle gesichert

<sup>1</sup> Monat/Jahr  
k.A. = keine Angabe

*L. monocytogenes* ist ein ubiquitärer Bodenkeim. Bis zu 50 % aller Rinder und bis zu 10 % der Menschen scheiden *L. monocytogenes* mit ihrem Kot aus, ohne erkrankt zu sein (HUSU, 1990; FARBER und PETERKIN, 1991).

Die Listeriose tritt beim Wiederkäuer vorwiegend in der zerebralen Form auf, in geringerem Umfang als Erkrankung tragender Tiere mit Abort oder Septikämie der Neugeborenen. Mastitis kommt relativ selten vor (PRENTICE, 1994).

#### 2.4.4 Verhalten in Rohmilch und Rohmilchprodukten

Das pH-Spektrum reicht von pH 4,5 bis pH 9,0 (SEELIGER und JONES, 1986; FARBER und PETERKIN, 1991). *L. monocytogenes* kann sich in Medien mit 10 % NaCl vermehren (MAYR et al., 1993, S. 721). Sie verfügen über ein Temperaturspektrum von +1 °C bis +44 °C und tolerieren einen  $a_w$ -Wert von bis zu 0,93 (PRENTICE, 1994). Die Optimaltemperatur beträgt 30-37 °C (SEELIGER und JONES, 1986).

*L. monocytogenes* vermag sich bei Temperaturen von 4 °C-35 °C in Rohmilch sowie in flüssigen Milchprodukten zu vermehren. Dieser Keim hat die Fähigkeit, die Herstellung und die Verarbeitung vieler verschiedener Käsesorten zu überstehen. In natürlich kontaminiertem Käse wurden bis zu  $10^7$  cfu/g gefunden (FARBER und PETERKIN, 1991). Als problemlos gelten Hart- und Schnittkäse insofern, als daß sie durch meist trockene Rinde und somit geringe Wasseraktivität bei langen Reifungszeiten mit wenig Waschvorgängen kaum Gelegenheit zur Kontamination bieten. Wird aber Rohmilch verwendet und ist diese kontaminiert, so kann *L. monocytogenes* Reifung bis zu 90 Tagen überleben (BACHMANN und SPAHR, 1995). Auch bilden Schnittkäse Ausnahmen, die während der Reifung geschmiert und feucht gehalten werden. Hierbei kann es ähnliche Probleme wie bei Weichkäse geben (HAMMER et al., 1989). Bei Schmierekäse steigt im Laufe der Reifung in der Rinde der pH-Wert. Durch die Alkalisierung der Rinde wird die Haftung und Vermehrung der Keime begünstigt (TERPLAN, 1986).

Durch Pasteurisierung wird *L. monocytogenes* abgetötet (BRADSHAW et al., 1985; BECKERS et al., 1987).

#### 2.4.5 Vorkommen und Häufigkeit in Rohmilch und Rohmilchprodukten

Aus der ubiquitären Verbreitung des Keimes ergeben sich eine Reihe von Kontaminationsmöglichkeiten für Rohmilch durch z.B. schlecht durchgegärrte Silage (pH-Wert 4,0), Faezes der Tiere oder Melkzubehör (FENLON, 1986; FEDIO und JACKSON, 1992; SANAA et al., 1993). Bei einer Untersuchung von auf Milchfarmen mit einem *L. monocytogenes*-Problem lebenden Geflügelarten schieden bis zu 70 % dieser Vögel das Bakterium aus (GARCIA et al., 1996).

In Tab. 10 findet sich eine Übersicht über Untersuchungen von Vorkommen und Häufigkeit von *L. monocytogenes* in Rohmilch.

1,5-47,3 % der Rohmilchproben aus den aufgeführten positiven Untersuchungen enthalten *L. monocytogenes*.

Bei dem extrem hohen Ergebnis von INGHAM et al. (1997) ist zu berücksichtigen, daß die Proben aus einem Molkereitank gezogen wurden, in dem sich die Milch vieler Betriebe sammelt. Betrachtet man die Proben, die sich auf einen Bestand beziehen, so wurden in 0-22,7 % *L. monocytogenes* gefunden.

In Tab. 11 findet sich eine Übersicht über Untersuchungen von Vorkommen und Häufigkeit von *L. monocytogenes* in Rohmilchprodukten.

LONCAREVIC et al. (1995) untersuchten insgesamt 333 Weichkäse aus dem Handel. Im Gegensatz zu den Rohmilchweichkäsen mit einem Anteil von *L. monocytogenes*-positiven Proben von 42 % wiesen die Weichkäsearten, die aus hitzebehandelter Milch hergestellt wurden, lediglich einen Anteil von *L. monocytogenes*-positiven Proben von 2 % auf.

In den hauptsächlich aus Rohmilch hergestellten Frisch- und Weichkäse, die in den tabellarisierten Untersuchungen aufgeführt wurden, wurden zwischen 0-86,6 % der Proben als *L. monocytogenes*-positiv diagnostiziert.

In den Rohmilchkäsen wurden zwischen  $10^2$ - $10^7$  *L. monocytogenes*/g gefunden (BECKERS et al., 1987; MICHARD et al., 1989; LONCAREVIC et al., 1995). Allerdings befand sich *L. monocytogenes* hauptsächlich auf und in der Rinde der Käse. (MICHARD et al., 1989; MASSA et al., 1990).

Ihr extrem hohes Ergebnis erklärten MICHARD et al. (1989) mit einer vermutlich starken Kontamination der Käserei, aus der sämtliche von ihnen untersuchten Proben stammten.

Zu berücksichtigen ist, daß sich die zu *L. monocytogenes* aufgeführten Untersuchungen nicht nur auf Produkte aus bäuerlicher Herstellung und Direktvermarktung bezogen, sondern auch auf Produkte, die unter in Milchindustrie und Handel üblichen Bedingungen und Auflagen hergestellt wurden.

**Tab. 10: Vorkommen von *L. monocytogenes* in Rohmilch**

Probe	Proben-Herkunft	Proben-Anzahl	<i>L. monocytogenes</i> -positiv (Prozent)	Autor
Bestandsmilch	Kanada	315	17 (5,4 %)	SLADE et al., 1988
Bestandsmilch	Schottland	540	14 (2,6 %)	FENLON und WILSON, 1989
Bestandsmilch	Kanada	445	6 (1,3 %)	FARBER et al., 1988
Rohmilch <sup>1</sup>	England/ Wales	361	13 (3,6 %)	GREENWOOD et al., 1991
Bestandsmilch	USA	292	12 (4,1 %)	ROHRBACH et al., 1992
Bestandsmilch	Nordirland	176	27 (15,3 %)	HARVEY und GILMOUR, 1992
Bestandsmilch	Irland	589	29 (4,9 %)	REA et al., 1992
Bestandsmilch	Spanien	110	25 (22,7 %)	RODRIGUEZ et al., 1993
Bestandsmilch	Großbritannien	160	25 (15,6 %)	FENLON et al., 1995
Bestandsmilch	Großbritannien	2009	102 (5,4%)	O'DONNELL et al., 1995
Bestandsmilch	Brandenburg	415	23 (5,5 %)	SPECKER, 1996
Rohmilch <sup>1</sup>	Spanien	20	1 (5 %)	MENENDEZ et al., 1997
Tankmilch, Molkerei	USA	95	45 (47,3 %)	INGHAM et al., 1997
Bestandsmilch	Frankreich	69	4 (5,8 %)	DESMASURES et al., 1997
Bestandsmilch	Österreich	133	2 (1,5 %)	DEUTZ et al., 1997
Bestandsmilch	Kanada	1720	47 (2,73 %)	STEELE et al., 1997
Vorzugsmilch	Deutschland	767	0,13 %	BgVV, 1997

<sup>1</sup> Probenmaterial nicht einheitlich oder nicht genauer angegeben

<b>Tab. 11: Vorkommen von <i>L. monocytogenes</i> in Rohmilchprodukten</b>				
Probe	Proben-Herkunft	Proben-Anzahl	<i>L. monocytogenes</i> -positiv (Prozent)	Autor
Weichkäse <sup>1</sup>	Niederlande	69	10 (14,4 %)	BECKERS et al., 1987
Rohmilch-weichkäse	Frankreich	23	20 (86,6 %)	MICHARD et al., 1989
Rohmilch-frischkäse	Schweiz	40	0 (0 %)	JERMINI et al., 1990
Weichkäse <sup>1</sup>	England/ Wales	1135	67 (5,9 %)	GREENWOOD et al., 1991
Rohmilchkäse	Spanien	49	1 (2,0 %)	QUINTO et al., 1994
Rohmilch-weichkäse	Schweden	31	13 (42 %)	LONCAREVIC et al., 1995
Rohmilch-weichkäse	Deutschland	52	17 (32,7 %)	EPPERT et al., 1995
Rohmilch-weichkäse	Belgien	159	35 (22 %)	VLAEMYNCK u. MOERMANS, 1996

<sup>1</sup> sowohl Rohmilchprodukte als auch hitzebehandelte Produkte

## 2.5. *Bacillus cereus*

### 2.5.1 Taxonomie

*Bacillus cereus* (*B. cereus*) gehört dem Genus *Bacillus* und der Familie der Bacillaceae an (SLEPECKY und HEMPHILL, 1992).

### 2.5.2 Morphologie, Kultur und biochemische Eigenschaften

Die Bakterien sind nach CLAUS und BERKELEY (1986) grampositiv, beweglich und stäbchenförmig mit der Fähigkeit zur Endosporenbildung. Sie sind zwischen 1,2-7,0 µm lang und 0,3-2,2 µm breit. Die Endospore liegt zentral oder parazentral, ohne das Sporangium anschwellen zu lassen.

Die Stäbchen bilden Ketten. Abhängig von der Stabilität dieser Ketten ist die Koloniemorphologie sehr unterschiedlich. Oft ist der Kolonienrand wellenförmig, aber ohne Ausläufer. Die Kolonieoberfläche ist stumpf und wachsartig.

Das Bakterium kann sich aerob und fakultativ anaerob vermehren. *B. cereus* ist Katalase-positiv und Oxidase-negativ.

Die thermotrophe Spezies *B. cereus* beinhaltet sowohl psychrotrophe als auch thermophile Stämme (TE GIFFEL et al., 1995). Durch die Ausbildung von Sporen gehört *B. cereus* zu den hitzeresistenten Bakterien.

### 2.5.3 Enterotoxine und emetische Toxine

Neben einer großen Vielfalt von toxischen Faktoren produziert *B. cereus* auch Enterotoxine und emetische Toxine (MURRELL, 1989).

Mehrere Enterotoxine wurden inzwischen identifiziert. Dazu zählen das sogenannte Enterotoxin (ET), das Hämolyysin BL, der Enterotoxinkomplex, das Enterotoxin T und das nicht-hämolyisierende Toxin. Alle Enterotoxine wirken cytotoxisch (SHINAGAWA et al., 1991; GRANUM und NIESSEN, 1993; BEECHER und WONG, 1994; AGATA et al., 1995b). SHINAGAWA et al. (1991) stellten weiterhin fest, daß ET hitzelabil ist und durch verschiedene Verdauungsenzyme sowie bei niedrigem pH zerstört wird. Nach GRANUM et al. (1993) gilt dies für alle Enterotoxine. Demnach sind nicht die im Lebensmittel präformierten Enterotoxine für eine Erkrankung entscheidend, sondern die von *B. cereus* während der Vermehrungsphase im Dünndarm gebildeten Enterotoxine (GRANUM et al., 1993).

Für die durch Diarrhoe gekennzeichnete Verlaufsform sind mehrere Enterotoxine verantwortlich (GRANUM, 1994; LUND und GRANUM, 1996).

Die für die emetische Verlaufsform verantwortlichen Toxine sind stabil gegenüber Hitze, verschiedenen Verdauungsenzymen und tolerieren auch einen niedrigen pH-Wert (MELLING und CAPEL, 1978; GILBERT et al., 1981; AGATA et al., 1995a).

### 2.5.4 Erkrankungen bei Mensch und Tier

Neben anderen Erkrankungsformen kann *B. cereus* eine Lebensmittelvergiftung hervorrufen (GRANUM, 1994).

Die Lebensmittelvergiftung, die durch *B. cereus* verursacht wird, ruft zwei verschiedene Erscheinungsformen hervor, abhängig von den beteiligten Serotypen und den von diesen gebildeten Toxinen (TAYLOR et al., 1975). Man unterscheidet eine neben abdominalen Krämpfen und rektalem Tenesmus v.a. durch Diarrhoe gekennzeichnete und eine durch Erbrechen gekennzeichnete Verlaufsform.

Die Inkubationszeit beim Diarrhoe-Syndrom beträgt 8-16 h und beim emetischen Syndrom 1-5 h (KRAMER und GILBERT, 1989). Der Verlauf ist üblicherweise mild, aber auch Todesfälle können vorkommen (TAKABE und OYA, 1976; DIRNHOFER et al., 1977).

Eine minimale Infektionsdosis konnte bisher nicht festgelegt werden, aber die Gefahr starker Toxinbildung besteht bei Keimzahlen von mehr als  $10^6$  cfu/g (BEUTLING und BÖTTCHER, 1998).

Zu *B. cereus*-Lebensmittelvergiftungen kommt es hauptsächlich durch den Verzehr von Fleisch- und Fleischerzeugnissen, Getreide, vor allem Reis, und Getreideprodukten. Milch und Milchprodukte als auslösende Lebensmittel kamen von 1980 bis 1990 nur in einem einzigen Fall vor (JOHNSON, 1984; WHO Surveillance Programm, 1983; 1984; 1990; 1992).

HOLMES et al. (1981) berichteten über acht durch *B. cereus*-Intoxikation erkrankte Personen. Dieser Ausbruch konnte auf den Verzehr von Makkaroni und Käse in einer Cafeteria zurückgeführt werden. Diese Lebensmittel wiesen mehr als  $10^8$  *B. cereus* pro Gramm auf.

*B. cereus* ist in der Natur weit verbreitet und kann eine Vielzahl von Lebensmitteln während des Produktionsprozesses kontaminieren.

Beim Rind kann *B. cereus* gelegentlich Mastitiden und Aborte verursachen (WOHLGEMUTH et al., 1972).

#### 2.5.5 Verhalten in Rohmilch und Rohmilchprodukten

*B. cereus* ist als Lebensmittelverderber bekannt und verdirbt auch Milch und Milchprodukte (STONE, 1952; STONE and ROWLANDS, 1952; FRANKLIN, 1969; COX, 1975). Das pH-Spektrum reicht von 4,9-9,3 (FLUER und EZEPCHUK, 1970). *B. cereus* kann sich in Lebensmitteln mit einem  $a_w$ -Wert von 0,91 vermehren (BRYAN et al., 1981). Im Kulturmedium beeinträchtigen NaCl-Konzentrationen von mehr als 5 % das Wachstum von *B. cereus* (HELMY et al., 1984). Die Optimaltemperatur dieses Keimes ist 30 °C. Eine Vermehrung der vegetativen Zellen ist bis 48 °C möglich (GOEPFERT et al., 1972). Psychrotrophe *B. cereus* können sich auch bei 6 °C Lagertemperatur noch vermehren mit Generationszeiten zwischen 12 und 23 h (GRIFFITHS und PHILLIPS, 1990).

Auch Toxinproduktion in Milch bei niedrigen Temperaturen ist möglich, wobei die Toxinbildung mit steigender Temperatur ebenfalls zunimmt (WONG et al., 1988; CHRISTIANSSON et al., 1989; GRIFFITHS, 1990; VAN NETTEN et al., 1990).

Zur Produktion von Toxinmengen, die eine Erkrankung auslösen können, sind Keimzahlen in der Größenordnung von mindestens  $10^6$ - $10^7$  pro Gramm bzw. Milliliter Lebensmittel erforderlich (MURRELL, 1989; GRIFFITHS, 1990). Im Experiment konnte in pasteurisierter Milch innerhalb von zwei Wochen Lagerung bei 7,5 °C diese Keimzahl erreicht werden (LANGEVELD et al., 1996). Rohmilch kann nicht solange ohne Anzeichen des Verderbs gelagert werden.

*B. cereus* übersteht in Weichkäse eine Lagerung bei 4 °C, 8 °C und 20 °C. Bei Lagerung von 20 °C kommt es zur Vermehrung (LITTLE und KNOCHEL, 1994). In Frischkäse ist bei

Lagerungstemperaturen von 10 °C und 20 °C eine Vermehrung möglich (SIMS et al., 1989). Auch ist *B. cereus* nach mehrmonatigen Reifungsperioden noch aus Käse zu isolieren (MIKOLAJCIK et al., 1973; EL-DAIROUTY et al., 1990). Im Verlaufe der Reifungsphase versport *B. cereus* zunehmend (MIKOLAJCIK et al., 1973).

Durch Sporenbildung ist *B. cereus* hitzeresistent, so daß auch Kontaminationen von hitzebehandelter Milch und Milchprodukten auftreten (WONG et al., 1988b).

#### 2.5.6 Vorkommen und Häufigkeit in Rohmilch und Rohmilchprodukten

Tab. 12 zeigt eine Zusammenfassung der Ergebnisse verschiedener Untersuchungen.

<b>Tab. 12: Vorkommen von <i>B. cereus</i> in Rohmilch</b>					
Probe	Proben-Herkunft	Proben-Anzahl	positive Proben (Prozent)	<i>B. cereus</i> -Gehalt/ml	Autor
Rohmilch	USA	100	9 (9 %)	10 <sup>1</sup> -10 <sup>2</sup>	AHMED et al., 1983
Bestandsmilch	Hannover	106	34 (32 %)	k.A.	AVERBECK, 1990
Bestandsmilch	Alfeld,	81	23 (28,4 %)	k.A.	ZIEMANN et al., 1992
Bestandsmilch	USA	95	0 (0 %)	-	MEER et al., 1993
Bestandsmilch	Australien	24	6 (33 %)	< 10	RANGASAMY et al., 1993
Einzelgemelke	Niederlande	190	51 (27 %)	k.A.	TE GIFFEL et al., 1995
Sammeltanks, Molkerei	Niederlande	k.A.	k.A. (35 %)	k.A.	TE GIFFEL et al., 1996
Rohmilch	Kanada	298	2 (0,7 %)	k.A.	ODUMERU et al., 1997
Tankmilch, Molkerei	USA	95	5 (5,2 %)	< 10	INGHAM et al., 1997
Bestandsmilch	Niederlande	288	13 (5 %)	0,2-1	SLAGHUIS et al., 1997

Bei diesen Rohmilchuntersuchungen wurden zwischen 0 % und 33 % *B. cereus*-positive Bestandsmilchproben festgestellt. Bei insgesamt 401 in verschiedenen Regionen untersuchten Proben lag der *B. cereus*-Anteil bei etwa 30 % (AVERBECK, 1990; ZIEMANN et al., 1992; RANGASAMY et al., 1993; TE GIFFEL et al., 1995; 1996). Abgesehen von einer Arbeit (RANGASAMY et al., 1993) bezogen die Autoren ihre Ergebnisse aus einer

Probenmenge von mindestens 10 Millilitern (AVERBECK, 1990; ZIEMANN et al., 1992; TE GIFFEL et al., 1995; 1996). Die Ergebnisse der methodisch anders vorgehenden Untersuchungen weichen mit 9 %, 0 %, 0,7 % und 5 % hiervon deutlich ab (AHMED et al., 1983; MEER et al., 1993; ODUMERU et al., 1997; INGHAM et al., 1997). Der Keimgehalt ist nie höher als  $10^2$ /ml.

In Weichkäse wurden 5-31 % und in Schnitt- und Hartkäse 14-37 % *B. cereus*-positive Proben festgestellt (AHMED et al., 1983; NOOITGEDAGT und HARTOG, 1983; ARISPE und WESTHOFF, 1984).

Die Cytotoxizität von *B. cereus*-Stämmen in Milch und Milchprodukten wurde von verschiedenen Autoren untersucht (WONG et al., 1988a; CHRISTIANSSON et al., 1989). 58 % bis 98 % der isolierten Stämme wirkten cytotoxisch auf Verozellen.

## **2.6 *Escherichia coli* und Coliforme Keime**

### **2.6.1 Taxonomie**

*Escherichia coli* gehört zur Familie der Enterobacteriaceae und ist die wichtigste Spezies des Genus *Escherichia* (ØRSKOV, 1984). *E. coli* gilt als Indexkeim, der auf die mögliche Anwesenheit von Pathogenen fäkaler Herkunft hinweist.

Zur Gruppe der „coliformen Keime“ werden alle Gattungen der Familie der Enterobacteriaceae zusammengefaßt, die unter Gasbildung Lactose vergären. Ihre Bedeutung liegt heute in ihrer Funktion als Indikator für „gute Herstellungspraxis“ (GHP). Hohe Coliformenzahlen bei der Milchverarbeitung weisen auf fehlerhafte Verarbeitungsbedingungen hin, z.B. ungenügende Kühlung oder mangelhafte Reifungs- und Lagerungsbedingungen (ZANGERL und OSL, 1992). Die in der Milchwirtschaft wichtigsten Coliformen sind neben *Escherichia coli* *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.* und *Citrobacter spp.* (ANONYM, 1993).

### **2.6.2 Morphologie, Kultur und biochemische Eigenschaften**

Nach ØRSKOV (1984) sind *E. coli* gramnegative, nicht sporenbildende Stäbchen, 1,1-1,5 x 2,0-6,0 µm groß. Viele Stämme sind durch peritriche Begeißelung beweglich, auch liegt oft Kapselbildung vor.

Mehrere Kolonieformen werden unterschieden:

1. S (smooth)-Form: leicht konvex, grauweiß mit feuchter, glänzender Oberfläche und glattem Rand
2. R (rough)-Form: trocken mit rauher Oberfläche und gezähntem Rand
3. schleimproduzierende Formen.

*E. coli* ist Oxidase-negativ und Katalase-positiv.

Zur Differenzierung der Coliformen untereinander kann neben der IMViC-Reihe (Indolbildung, Methylrot-Reaktion, Voges-Proskauer-Reaktion und Citratverwertung) ein Nachweisverfahren für das Enzym  $\beta$ -Glucuronidase, über welches *E. coli* verfügt, genutzt werden (FENG und HARTMAN, 1982; HAHN, 1987; WATKINS et al., 1988).

Die Serotypisierung ist die wichtigste Form der Klassifizierung von *E. coli*-Stämmen (ØRSKOV et al., 1977; ØRSKOV, 1984; ØRSKOV et al., 1991).

### 2.6.3 Darmpathogene *E. coli*

#### 2.6.3.1 Übersicht

Außer den apathogenen *E. coli*, die physiologischerweise im Darm von Mensch und Tier vorkommen, existieren mehrere Gruppen diarrhoe-auslösender *E. coli*. Unterschieden werden enteropathogene *E. coli* (EPEC), enteroinvasive *E. coli* (EIEC), enterotoxinogene *E. coli* (ETEC), Verotoxin-bildende *E. coli* (VTEC), enteroaggregative *E. coli* (EAggEC) und diffus adhäsive *E. coli* (DAEC) (SCALETSKY et al., 1984; LEVINE, 1987; DONNENBERG und KAPER, 1992; LEVINE et al., 1993). In dieser Arbeit liegen die Schwerpunkte auf ETEC und vor allem auf VTEC als potentiellen enterohämorrhagischen *E. coli* (EHEC).

Die übrigen Coliformen sind generell keine Lebensmittelinfektionserreger. Eine Ausnahme stellt *Citrobacter freundii* dar, der mehrere Fälle von HUS auslöste (TSCHÄPE et al., 1995). Bei diesem Bakterium wurde Verotoxinproduktion festgestellt.

#### 2.6.3.2 Enterotoxinogene *E. coli*

ETEC produzieren hitzelabile (LT) und hitzestabile (ST) Toxine (DORNER, 1975).

Die hitzelabilen Toxine sind oligomere Proteine. LT1 ist dem Cholera-Toxin sehr ähnlich (CLEMENTS und FINCKELSTEIN, 1978; GILL et al., 1981; PICKETT et al., 1986). Bei den hitzestabilen Toxinen hingegen handelt es sich um Haptene (MADSEN und KNOOP, 1980; PICKEN et al., 1983). Eine Vielzahl von Serotypen ist bekannt (LEVINE, 1987).

#### 2.6.3.3 Verotoxin-bildende *E. coli*

Erste Voraussetzung für die Pathogenität von VTEC ist die Fähigkeit zur Bildung von Verotoxin.

Verotoxin 1 (VT1) und Verotoxin 2 (VT2) werden als Hauptgruppen unterschieden. VT1 ist mit Shiga-Toxin-Antiserum neutralisierbar. Aus diesem Grunde wurde auch der Begriff Shiga-like Toxin (SLT) verwendet (O'BRIEN et al., 1982; SCOTLAND et al., 1983; SMITH et al., 1983; 1984; O'BRIEN et al., 1984; STROCKBINE et al., 1986; MARQUES et al.,

1987; GYLES, 1992). Inzwischen ist auch die Bezeichnung shigatoxinbildende *E. coli* (STEC) verbreitet.

Außer durch das Verotoxinbildungsvermögen wird die Pathogenität durch weitere Virulenzfaktoren bedingt. Dazu zählen u.a. das Vorhandensein des *eae*-Gens (*E. coli* *attaching and effacing*) und die Fähigkeit zur Bildung von Enterohämolysin (KARCH et al., 1987; LEVINE et al., 1987; BEUTIN et al., 1988; YU und KAPER, 1992; SCHMIDT et al., 1995; BOCKEMÜHL et al., 1998; GALLIEN et al., 1998; DE VINNEY et al., 1999). Viele dieser Virulenzfaktoren werden durch mobile genetische Elemente codiert. Da diese unterschiedlich kombinierbar sind, ist eine Vielzahl von VTEC-Varianten entstanden (BOCKEMÜHL und KARCH, 1996; BOCKEMÜHL et al., 1997).

Aus Sicht der Lebensmittelhygiene sind VTEC pathogene Erreger mit unterschiedlicher Virulenz (DEUTSCHER BUNDESTAG, 1998). Entsprechend einer Empfehlung des RKI (RICHTER et al., 1998) sind derzeit alle VTEC, die aus Lebensmitteln oder von Tieren isoliert werden, als potentielle EHEC zu betrachten. Welche Virulenzfaktoren entscheidend sind, ist noch nicht ausreichend geklärt (GALLIEN et al., 1998). Allerdings ist die Wahrscheinlichkeit, daß es sich um EHEC handelt, bei Vorliegen des Verotoxinbildungsvermögens, des *eae*-Gens sowie der Fähigkeit zur Bildung von Enterohämolysin bereits sehr groß. Daher werden in einigen Bundesländern wie z.B. Bayern Lebensmittel, in denen VTEC mit diesen drei Merkmalen gefunden werden, als gesundheitsschädigend im Sinne des §8 LMBG eingestuft (DIEPOLDER, 1999).

#### Serotypisierung und Biotypisierung

Bei den ersten Ausbrüchen von hämorrhagischer Colitis durch EHEC wurde der Serotyp O157:H7 isoliert (RILEY et al., 1983). Inzwischen sind neben den Serotypen O157:H7 und O157:H- eine Reihe weiterer Serotypen isoliert worden (RÜSSMANN et al., 1995; BOCKEMÜHL et al., 1998).

1996 war die Serogruppe O157 in Deutschland nur noch für 70,5 % der HUS-Fälle und für 31,3 % der Enteritidfälle, in denen der Erreger nachgewiesen werden konnte, verantwortlich (BOCKEMÜHL et al., 1997).

Aufgrund dieser Vielzahl von Serovarietäten stellt die Serotypisierung kein geeignetes Nachweisverfahren für VTEC dar.

Eine Isolierung und Charakterisierung von VTEC anhand ihrer biochemischen Eigenschaften ist aufgrund der Diversität dieser Eigenschaften ebenfalls nicht möglich.

Daher muß eine Diagnose auf dem genotypischen oder phänotypischen Nachweis des Verotoxinbildungsvermögens basieren (ALEKSIC et al., 1992; BOCKEMÜHL et al., 1992).

## 2.6.4 Erkrankungen bei Mensch und Tier

### 2.6.4.1 Enterotoxinogene *E. coli*

ETEC sind in Entwicklungsländern von Bedeutung, aber nicht in den westlichen Industrieländern. Sie können bei Kindern in Ländern mit schlechten hygienischen Verhältnissen Durchfall verursachen. Bei erwachsenen Touristen sind sie als Erreger der „Reisediarrhoe“ bekannt (LEVINE, 1987; DOYLE und PADHYE, 1989; LEVINE et al., 1993).

Die Infektionsdosis beträgt etwa  $10^8$  cfu und ist damit vergleichsweise hoch (DU PONT et al., 1971).

Auf ETEC zurückzuführende Erkrankungen kommen in den Industrieländern nur extrem selten vor. Eine Erkrankung entsteht in der Regel durch den Verzehr von kontaminierten Lebensmitteln oder Wasser (LEVINE, 1987; NWANYANWU et al., 1987; BENOIT et al., 1993). Nur wenige Vorfälle, die mit dem Genuß von Milchprodukten assoziiert waren, sind dokumentiert (MACDONALD et al., 1985). Direktübertragung von Person zu Person ist unwahrscheinlich (LEVINE et al., 1980).

ETEC können bei Jungtieren Diarrhoe auslösen (ACRES, 1985; KLEMM, 1985; PLO-NAIT, 1988). Eine Ausscheidung mit der Milch ist in der zugänglichen Literatur nicht dokumentiert worden.

### 2.6.4.2 Verotoxin-bildende *E. coli*

VTEC sind weltweit verbreitet. Auch in der Bundesrepublik Deutschland kam es mehrfach zu Ausbrüchen (KARCH et al., 1990; REIDA et al., 1994) und häufig zu einzelnen Infektionen. In den letzten Jahren haben VTEC aufgrund der schweren Erkrankungen, die sie bei geringer Infektionsdosis und hoher Kontagiosität auslösen können, stark an Bedeutung zugenommen. Von BOCKEMÜHL et al.(1998) wurden für das Jahr 1997 eine Übersicht über die Erkrankungen durch EHEC zusammengefaßt. Demnach erwiesen sich EHEC gemeinsam mit *Campylobacter* hinter den Salmonellen als zweithäufigste Enteritiserreger.

Beim Menschen können VTEC verschiedene Erkrankungen auslösen:

#### 1. Hämorrhagische Colitis:

Nach einer Inkubationszeit von drei bis neun Tagen folgen schwere, kolikartige Darmkrämpfe, eventuell Erbrechen (RILEY et al., 1983). Später tritt ein wässriger, profuser Durchfall auf, der nach 12-48 h blutig wird (PAI et al., 1984). Fieber tritt nicht auf. Nach etwa einer Woche kommt es in den meisten Fällen ohne spezifische Therapie zur Heilung. Nach KARCH und BOCKEMÜHL (1989) kommt es in bis zu 20 % der Fälle zu Komplikationen, vor allem bei Risikogruppen wie Kindern, älteren Menschen sowie immuninkompetenten Personen.

## 2. HUS:

Diese systemische Komplikation ist gekennzeichnet durch eine Trias von Symptomen: akutes Nierenversagen, Thrombozytopenie und mikroangiopathische hämolytische Anämie. HUS ist eine der Hauptursachen für akutes Nierenversagen bei Kleinkindern, die Letalität kann bis zu 10 % betragen (KARMALI,1989). Weitere Komplikationen sowie symptomlose Infektionen kommen vor (BOCKEMÜHL et al.,1997).

Die Infektionsdosis ist mit weniger als 100 cfu extrem niedrig (GRIFFIN und TAUXE, 1991; BEUTIN und NIEMER, 1995).

Erkrankungen werden häufig auf den Verzehr von Lebensmitteln tierischer Herkunft, darunter besonders auf Hackfleisch, zurückgeführt (KARMALI, 1989).

Rohmilch und Rohmilchprodukte sind ebenfalls eine wichtige Infektionsquelle (Tab. 13).

BOCKEMÜHL und KARCH (1996) berichteten über 3 Erkrankungsfälle (Enteritis) 1995, hervorgerufen durch Rohmilchkäse aus dem süddeutschen Raum.

In mehreren dokumentierten Fällen stammte die Rohmilch bzw. der Rohmilchfrischkäse von einem benachbarten Bauernhof (BOCKEMÜHL et al., 1990; DESCHENES et al., 1996), so daß in diesen Fällen von Direktvermarktung ausgegangen werden kann.

**Tab. 13: VTEC-Erkrankungen durch Rohmilch und Rohmilchprodukte**

Land, Zeitraum <sup>1</sup>	Anzahl/Patienten (Alter)	HUS-Fälle	Infektions- quelle <sup>2</sup>	Serotyp	Bemerkunge
Kanada, 4/1986	mind. 43 (4-5 J., Erwachsene)	3	(Rohmilch)	O157:H7	Besuch einer Milc Nachweis von <i>E.</i> O157:H7 bei Tier milchliefernden B
Deutschland, 1/1989	1 (4 J.)	1	Rohmilch	O22:H8	Nachweis von <i>E.</i> O22:H8 in Milch u von Tieren des m fernden Betriebes
Großbritannien, k.A.	mehrere Fälle	k.A.	(Rohmilch)	O157	Nachweis von <i>E.</i> O157 bei Tieren milchliefernden B
Frankreich, 3/92-5/93	4 (9-15 Mon.)	4	Rohmilch- frischkäse	k.A.	Nachweis von VT VT2-Genen in Kä Ziegenmilch u. in Ziegen u. Kühen
England, 1996	9 (< 5 J., Erwachsene)	1	Rohmilch	O157	„Farmmolkerei“ m defekter Pasteuri anlage
Deutschland, 1997	1 (2 Jahre)	1	(Rohmilch)	O157 <sup>3</sup>	Nachweis von <i>E.</i> O157 in Kot der M

<sup>1</sup> Monat/Jahr

<sup>2</sup> Angaben in Klammern: mit Erkrankungen assoziierte Lebensmittel ohne Erregernachweis

<sup>3</sup> bei Patient nur Nachweis der Antikörper

k.A. = keine Angabe

Als Reservoir für VTEC gelten weltweit Rinder (ØRSKOV et al., 1987; WELLS et al., 1991; RICHTER et al., 1997). WILLSHAW et al. stellten 1993 in einer Milchviehherde von 180 Tieren 31 Tiere (17 %) fest, die VTEC-positiv waren.

In Deutschland variierte der Anteil der VTEC-Ausscheider bei verschiedenen Untersuchungen von Mastrindern und Milchviehbeständen in den letzten Jahren von 31 % bis 52 % (BUNDESMINISTERIUM FÜR ERNÄHRUNG, LANDWIRTSCHAFT UND FORSTEN, 1997; RICHTER et al., 1997; WEBER et al., 1997; HARTUNG, 1998a).

Weiterhin wurde festgestellt, daß die Nachweishäufigkeit innerhalb einer Untersuchungsgruppe zwischen den einzelnen Probenentnahmen erheblich differieren kann. So lag in einem Mastrinderbestand die Nachweisrate bei 5 % und zwei Wochen später bei über 72 % der beprobten Tiere. Demzufolge wird der Erreger alternierend ausgeschieden (BUNDESMINISTERIUM FÜR ERNÄHRUNG, LANDWIRTSCHAFT UND FORSTEN, 1997).

ZSCHÖCK et al. (1997) untersuchten in Hessen 103 Milchviehbetriebe mit Milch-ab-Hof-Abgabe. Dabei wurde in 11 Betrieben der Kot aller laktierenden Kühe beprobt, in 92 Betrieben wurden jeweils 10 % der laktierenden Tiere untersucht. In allen 11 Betrieben, in denen der Gesamtbestand untersucht wurde, konnten VTEC nachgewiesen werden. Bei den übrigen 92 Betrieben gelang der Nachweis bei 43,5 % der Herden.

BEUTIN et al. (1993) und GALLIEN et al. (1994) stellten fest, daß in Deutschland neben Rindern und Schweinen auch andere Haustiere wie Schafe und Ziegen, Hunde und Katzen als Überträger von VTEC in Betracht kommen.

Auch kontaminierte pflanzliche Produkte sind potentielle Infektionsquellen (BESSER et al., 1993; WHO, 1996).

Von zunehmender Bedeutung ist die Übertragung von Person-zu-Person (PAI et al., 1984; KARCH et al., 1995, BEUTIN et al., 1998). Im Verlauf des bisher größten in Deutschland bekannt gewordenen Ausbruchs wurden vier asymptomatische Ausscheider von *E. coli* O157:H7 ermittelt (REIDA et al., 1994).

Nach einer Studie über einen EHEC-Ausbruch, der sich 1995-1996 in Bayern ereignete, konnten für 198 der 300 Infizierten folgende potentielle Infektionsquellen ermittelt werden: 107 (36%) der Patienten hatten Kontakt zu einer Person mit Diarrhoe, 85 (43 %) der Patienten hatten Kontakt mit Tieren aus der Landwirtschaft und 36 Personen (18 %) waren Rohmilchkonsumenten (HUBER et al., 1998).

VTEC führen bei verschiedenen Tierarten zu Erkrankungen.

Bei Kälbern sind sie an Durchfallerkrankungen beteiligt (WIELER et al., 1998). Bei Schweinen verursachen VTEC die Ödemkrankheit (MARQUES et al. 1987).

## 2.6.5 Verhalten in Rohmilch und Rohmilchprodukten

*E. coli* können sich in der Regel bei Temperaturen von 2 °C bis 45 °C vermehren. Sie tolerieren einen pH von 4,4 bis 8,8. Im Lebensmittel benötigen sie einen minimalen  $a_w$ -Wert von 0,932 (SPAHR und URL, 1994). Einige *E. coli*-Stämme können viele Wochen in Hartkäse, wenn auch in geringer Anzahl, persistieren (KORNACKI und MARTH, 1982).

### 2.6.5.1 Enterotoxinogene *E. coli*

In Rohmilch können sich ETEC bei entsprechenden Temperaturen vermehren. Nach OLSVIK und KAPPERUD (1982) kann in Milch innerhalb einiger Tage sowohl bei 4 °C als auch bei 22 °C die Infektionsdosis erreicht werden. Das Erreichen der Infektionsdosis in Weichkäse ist ebenfalls möglich (MACDONALD et al., 1985).

### 2.6.5.2 Verotoxin-bildende *E. coli*

O157:H7 gilt als besonders säuretolerant. Unter bestimmten Bedingungen wurde noch bei einem pH-Wert von 4,0 eine Vermehrung dieses Serotyps und bis zu einem pH-Wert von 3,5 Überlebensfähigkeit festgestellt (CONNER und KOTROLA, 1995; GARREN et al., 1997).

In Milch kann O157:H7 persistieren und sich bei Temperaturen über 5 °C vermehren. Auch Toxinproduktion ist feststellbar (PALUMBO et al., 1997; WANG et al., 1997).

In Frischkäse wurde experimentiell die Möglichkeit der Vermehrung von O157:H7 festgestellt (AROCHA et al., 1992). Auch in Cheddarkäse kann O157:H7 sowohl die Herstellung als auch eine Lagerung von mehr als 60 Tagen überleben (REITSMA und HENNING, 1996).

## 2.6.6 Vorkommen und Häufigkeit in Rohmilch und Rohmilchprodukten

### 2.6.6.1 Enterotoxinogene *E. coli*

Zum Vorkommen von ETEC in Vorzugsmilch waren in der zugänglichen Literatur keine Daten vorhanden.

FRANKE (1982) untersuchte Milch und Milchprodukte auf ETEC. In Milch wurden keine ETEC festgestellt. Aus Camembert und Joghurt konnten fünf ETEC isoliert werden.

Bemerkenswert sind die Ergebnisse von ALLMANN et al. (1995), die durch PCR in 20 % (n = 18) von 90 untersuchten Rohmilch- und Milchproduktproben ETEC feststellten. Allerdings wurden diese Ergebnisse nicht kulturell bestätigt.

Die Ergebnisse verschiedener Untersuchungen sind in Tab. 14 dargestellt.

**Tab. 14: Vorkommen von ETEC in Milch und Milchprodukten**

Probe	Proben-Herkunft	Proben-Anzahl	positive Proben (Prozent)	Autor
Käse	USA	78	0 (0 %)	GLATZ und BRUDVIG, 1980
Rohmilch und Milchprodukte	Schweiz	90	18 (20 %)	ALLMANN et al., 1995 <sup>1</sup>
Rohmilchweichkäse	Spanien	221	3 (1,4 %)	QUINTO und CEPEDA, 1997

<sup>1</sup> Ergebnis durch PCR ermittelt, nicht kulturell bestätigt

#### 2.6.6.2 Verotoxin-bildende *E. coli*

Nachdem verschiedene Ausbrüche von Erkrankungen durch VTEC auf Lebensmittel zurückgeführt werden konnten, wurden weltweit zahlreiche Untersuchungen über die Verbreitung von VTEC in Lebensmitteln tierischer Herkunft durchgeführt.

Zu Rohmilch und Rohmilchprodukten sind unabhängig von der Art der angewandten Vermarktung eine Reihe von Untersuchungen durchgeführt worden.

In den folgenden Tabellen sind aktuelle Untersuchungsergebnisse zusammengefaßt, spezifisch für Rohmilch (Tab. 15) und Rohmilchprodukte (Tab. 16).

<b>Tab. 15: Vorkommen von VTEC in Rohmilch</b>					
Probe	Herkunft Proben	Anzahl Proben	positive Proben (Prozent)	Serotyp	Autor
Rohmilch	Hamburg	38	1 (2,6 %)	O25:H8 O25:H19	MONTAG, 1994
Rohmilch	Würzburg	50	4 (8 %)	O26:H11 O2:H1 O55:H18 Ont:H21	BOCKEMÜHL u. KARCH, 1996
Rohmilch	Nordbayern	245	2 (0,8 %)	O157	nach KUNTZE et al., 1996
Rohmilch	Schleswig- Holstein, Sachsen-Anhalt	81	2 (2,4%)	O157	nach KUNTZE et al., 1996
Rohmilch	Deutschland	127	5 (3,9 %)	O157:H7 O22:H8 O114:H4 O21:H21	KLIE et al., 1997
Rohmilch	7 Bundesländer	180	22 (12,2 %)	u.a. O157	GALLIEN et al., 1998
Vorzugsmilch	Raum Hamburg	110	1 (0,9 %)	O157:H4	BOCKEMÜHL u. KARCH, 1996
Vorzugsmilch	k.A.	50	1 (2 %)	k.A.	nach KUNTZE et al., 1996
Vorzugsmilch	Schleswig- Holstein u. Sachsen-Anhalt	69	1 (1,4 %)	k.A.	nach KUNTZE et al., 1996
Vorzugsmilch	Deutschland	146	3 (2,1 %)	On.t.:H7 O156:H2 5On.t.:H7	KLIE et al., 1997
Vorzugsmilch	6 Bundesländer	175	4 (2,3 %)	u.a. O157	GALLIEN et al., 1998

<b>Tab. 16: Vorkommen von VTEC in Rohmilchprodukten</b>					
Rohmilchprodukt	Herkunft Proben	Anzahl Proben	positive Proben (Prozent)	Serotyp	Autor
Rohmilchkäse	k.A.	55	1 (1,8 %)	O 9a,b:H <sup>-</sup>	BÜLTE et al., 1996
Rohmilchkäse	Nordbayern	15	0 (0 %)	-	nach KUNTZE et al., 1996
Rohmilcherzeugnisse	Nordbayern	133	0 (0 %)	-	nach KUNTZE et al., 1996
Rohmilchweichkäse	Raum Kiel	50	0 (0 %)	-	KNAPP-STEIN, 1996
Rohmilchkäse	k.A.	267	2 (0,7)	k.A.	BÜLTE und HECKÖTTER, 1997
Rohmilchkäse	k.A.	202	1 (0,5 %)	-	HECKÖTTER et al., 1997
Rohmilchweichkäse	Raum Berlin	72	2 (2,8 %)	O6:H10 O2:H27	TEUFEL et al., 1998

0,8-12,2 % der untersuchten Rohmilchproben, 0,9-2,3 % der untersuchten Vorzugsmilchproben und 0,0-2,8 % der untersuchten Rohmilchprodukte waren VTEC-positiv.

## 2.7 *Salmonella* spp.

### 2.7.1 Taxonomie

Die Gattung *Salmonella* zählt zur Familie der Enterobacteriaceae (LE MINOR, 1984). Sie wird untergliedert in die Spezies *Salmonella enterica* mit sechs Subspezies und *Salmonella bongori*, die nach dem KAUFMANN-WHITE-Schema anhand von O- und H-Antigenen in weit über 2000 Serovare eingeordnet werden (VLAEMYNCK, 1994).

### 2.7.2 Morphologie, Kultur und biochemische Eigenschaften

*Salmonella* spp. sind gramnegative, sporenlöse Stäbchen und 0,7-1,5 µm x 2,0-5,0 µm groß. Sie sind in der Regel beweglich und fakultativ anaerob.

Die Kolonien sind meistens 2-4 mm groß. Einige *Salmonella* spp. bilden Kolonien von nur 1 mm Durchmesser (LE MINOR, 1984).

Die Bakterien sind Oxidase-negativ und Katalase-positiv (LE MINOR, 1984).

Von anderen Mitgliedern der Familie der Enterobacteriaceae werden *Salmonella* spp. durch biochemische Reaktionen unterschieden. Ein wichtiges Merkmal ist die Nichtverwertung von Lactose. Auch bei *Salmonella* spp. wird zur Differenzierung die IMViC-Reihe verwendet.

### 2.7.3 Erkrankungen bei Mensch und Tier

Die meisten Salmonella-Serovarietäten können sowohl den Menschen als auch Tiere infizieren (GRAU, 1989). Einige Serovare wie *Salmonella* typhi und paratyphi sind nur für den Menschen und andere Serovare nur für bestimmte Tierarten pathogen (MAYR et al., 1993, S. 597).

Etwa 85 % der *Salmonellagastroenteriden* beim Menschen sind in den letzten Jahren von den Serovaren *Salmonella* enteritidis und *Salmonella* typhimurium ausgelöst worden (RKI, 1999b). Infektionen durch Enteritis-Salmonellen sind nach wie vor die häufigste erfaßte Ursache von Durchfallerkrankungen (GERICKE et al., 1999).

Die Symptome einer nichttyphoiden Salmonellenenteritis beim Menschen entwickeln sich 7-72 Stunden nach Aufnahme des Erregers mit unblutigem Durchfall, Fieber, Erbrechen und Erschöpfung. Normalerweise setzt bei immunkompetenten Personen innerhalb von Tagen die Erholung ein (D'AOUST, 1989; VLAEMYNCK, 1994). Bei abwehrgeschwächten Personen werden zunehmend schwere Krankheitszustände mit septikämischem Verlauf und z.T. mit Todesfolge beobachtet (SANDER, 1993). Nach Überstehen der Erkrankung ist in seltenen Fällen Ausscheidung bis zu mehreren Jahren beobachtet worden (SANDER, 1993; VLAEMYNCK, 1994).

Die Infektionsdosis ist abhängig von der Pathogenität der *Salmonella*-Serovarietät, dem Gesundheitszustand des Betroffenen, der Magenfüllung sowie dem Lebensmittel, durch das der Erreger aufgenommen wird. Bei geschwächten, sehr jungen oder sehr alten Personen können schon wenige Bakterien genügen, um eine Erkrankung auszulösen (D'AOUST, 1985; 1989). Auf Cheddarkäse zurückzuführende Ausbrüche haben gezeigt, daß je nach Lebensmittel nur wenige (1-6 cfu/g) Salmonellen ausreichen, um eine Erkrankung herbeizuführen.

Infektionen durch *Salmonella* spp. sind besonders bei Erwachsenen die häufigste erfaßte Ursache von Durchfallerkrankungen und werden überwiegend durch den Verzehr von kontaminierten Lebensmitteln tierischen Ursprungs ausgelöst. Am häufigsten sind die Lebensmittel Eier und Fleischwaren involviert. Übertragungen von Mensch zu Mensch spielen nur eine untergeordnete Rolle (RKI, 1999b).

Die Bedeutung von Milch und Milchprodukten für die Entstehung von Salmonellosen beim Menschen ist gering. Dies ist u.a. darauf zurückzuführen, daß über 95 % der konsumierten Milch einem technologischen Verarbeitungsprozeß mit umfassender Hygiene unterlie-

gen, der durch Kühlung und anerkannte Wärmebehandlungsverfahren die Vermehrung von *Salmonella spp.* normalerweise ausschließt. Trotzdem kam es durch den Verzehr von Rohmilch, Rohmilchprodukten oder durch nach der Anwendung eines Erhitzungsverfahrens stattfindender Kontamination wiederholt zu Einzelerkrankungen und zu Ausbrüchen. In den USA und in Schottland kam es in den achtziger Jahren zu einer Reihe von auf den Konsum von Milch und Milchprodukten zurückzuführenden Epidemien (BRYAN, 1983; REILLY et al., 1983; LECOS, 1986). In Tab. 17 sind einige Ausbrüche dargestellt.

*Salmonella spp.* bewohnen den Darmtrakt sowohl von Wild- als auch von Haustieren und werden mit dem Kot ausgeschieden.

Salmonellosen kommen bei vielen Tierarten vor. Neben den häufig vorkommenden latenten Infektionen tritt die Salmonellose klinisch in Erscheinung als Enteritis verschieden starker Ausprägung, als Septikämie (vor allem bei Jungtieren), als Abort und als Organerkrankung (MAYR et al., 1993, S. 597).

Die Salmonellose des Rindes ist anzeigepflichtig.

Auch Mastitiden beim Rind können *Salmonella spp.*, wenn auch ausgesprochen selten, hervorrufen. Kontamination der Rohmilch kann folglich direkt mit der Milchausscheidung aus dem Euter erfolgen oder später durch Ausscheidungen eines erkrankten oder klinisch inapparent mit Salmonellen infizierten Tieres. Auch die Umgebung bei der Rohmilchgewinnung und -verarbeitung bietet vielfältige Kontaminationsmöglichkeiten (VLAEMYNCK, 1994).

**Tab. 17: Salmonellosen durch Milch und Milchprodukte**

Land, Zeitraum	Anzahl/ Patienten	Infektions- quelle	Serotyp	Bemerkungen	Autor
Schleswig-Holstein, 1976	8	Milch-ab-Hof		Rohverzehr der Milch-ab-Hof	WUTHE und WITT, 1980
USA, 1980	8	Milch-ab-Hof	<i>S. derby</i>	Rohverzehr der Milch-ab-Hof	VOGT et al., 1981
Schottland, 1980-1982	1090	Rohmilch		21 Epidemien	REILLY et al., 1983
USA, 1985	16284	Milch	<i>S. typhimurium</i>	defekte Pasteurisation	LECOS, 1986
Kanada, 03-07/86	etwa 10000	Cheddar-käse	<i>S. typhimurium</i>	defekte Pasteurisation	RATNAM und MARCH, 1986
England, 1989	42	Rohmilch-weichkäse	<i>S. dublin</i>	faekale Kontamination der Rohmilch	MAGUIRE et al., 1992
Frankreich, 1993	237	Rohmilch-ziegen-käse	<i>S. paratyphi B</i>		DESENCLOS et al., 1996
USA, 09-10/94	82	Rohmilch-weichkäse	<i>S. berta</i>	Rohmilchprodukt aus bäuerlicher Direktvermarktung	ELLIS et al., 1998
Groß-britannien	86	Milch	<i>S. typhimurium</i>	defekte Pasteurisation	ANONYM, 1998c

#### 2.7.4 Verhalten in Rohmilch und Rohmilchprodukten

Vermehrung ist möglich innerhalb eines Temperaturbereiches von 5-47 °C und eines pH-Spektrums von pH 4,0 bis 9,0. *Salmonella spp.* sind relativ empfindlich gegenüber niedrigen  $a_w$  Werten (< 0.94 ) und hohen Salzkonzentrationen (9 %) (VLAEMYNCK; 1994).

Rohmilch bietet *Salmonella spp.* gute Überlebens- und Vermehrungsmöglichkeiten.

Die Überlebenswahrscheinlichkeit von *Salmonella spp.* in den verschiedenen Käsesorten ist sehr unterschiedlich und abhängig von verschiedenen Faktoren wie z.B. pH-Wert, Starterkultur und Dauer der Reifungsperiode (STECCHINI et al., 1991).

*Salmonella spp.* können sich in Cheddar-Käse vermehren und bis zu 40 Wochen bei Kühlschranktemperaturen überleben (HARGROVE et al., 1969; PARK et al., 1970; WHITE und CUSTER, 1976).

Pasteurisierungsverfahren überleben sie nicht (STREICHAN, 1967; ECKNER et al., 1990).

2.7.5 Vorkommen und Häufigkeit in Rohmilch und Rohmilchprodukten

In Tab. 18 findet sich eine Auswahl aktueller Erhebungen zu Vorkommen von *Salmonella* spp. in Rohmilch.

<b>Tab. 18: Vorkommen von <i>Salmonella</i> spp. in Rohmilch</b>				
Probe	Proben-Herkunft	Proben-Anzahl	positive Proben (Prozent)	Autor
Bestandsmilch	USA	678	32 (4,7 %)	McMANUS und LANIER, 1987
Rohmilch	Großbritannien	1138	2 (0,2 %)	HUMPHREY und HART, 1988
Bestandsmilch	England/Wales	1673	6 (0,4 %)	O'DONNELL, 1995
Bestandsmilch	Brandenburg	415	0 (0 %)	SPECKER, 1996
Bestandsmilch	USA	1720	3 (0,2 %)	STEELE et al., 1997
Bestandsmilch	Frankreich	69	2 (2,9 %)	DESMASURES et al., 1997
Bestandsmilch	Österreich	133	0 (0 %)	DEUTZ et al., 1997
Milch-ab-Hof	Hessen	50	0 (0 %)	KLOPPERT et al., 1997
Milch-ab-Hof	Deutschland	4211	0 (0 %)	HARTUNG, 1998b
Vorzugsmilch	Baden-Württemberg	669	0 (0 %)	FRIEDRICH, 1993
Vorzugsmilch	Deutschland	1682	0 (0 %)	HARTUNG, 1998b

In Tab. 19 findet sich eine Auswahl von Untersuchungen zum Vorkommen von *Salmonella* spp. in Rohmilchprodukten.

<b>Tab. 19: Vorkommen von <i>Salmonella</i> spp. in Rohmilchprodukten</b>				
Probe	Proben-Herkunft	Proben-Anzahl	positive Proben (Prozent)	Autor
Rohmilch-cheddarkäse	USA	181	1 (0,5 %)	WOOD et al., 1984
Rohmilch-frischkäse	Schweiz	22	0 (0 %)	JERMINI et al., 1990
Rohmilch-erzeugnisse	Deutschland	504	0 (0 %)	HARTUNG, 1998b

0-4,7 % der hier aufgeführten Rohmilchuntersuchungen waren *Salmonella*-positiv. In den in Deutschland untersuchten Proben wurden keine Salmonellen (0 %) gefunden (FRIEDRICH, 1993; SPECKER, 1996; KLOPPERT et al., 1997; HARTUNG, 1998b).

Ebenfalls 0 (0 %) wurden in den 2051 untersuchten Vorzugsmilchproben gefunden (FRIEDRICH, 1993; HARTUNG, 1998b).

0-0,5 % der tabellarisierten Rohmilchproduktuntersuchungen waren *Salmonella*-positiv. Nur eine der 707 untersuchten Rohmilchproduktproben enthielt *Salmonella spp.*

## **2.8 *Campylobacter jejuni***

### **2.8.1 Taxonomie**

Nach SMIBERT (1984) ist *Campylobacter jejuni* eine Spezies des Genus *Campylobacter* und wird der Sektion der aeroben/mikroaerophilen, beweglichen, helikalen/vibroiden und gramnegativen Bakterien zugeordnet. Diese Spezies wird in die Subspezies *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni*, entspricht *Campylobacter jejuni*, und *Campylobacter jejuni* subsp. *doylei* gegliedert (STEELE and OWEN, 1988; KIST, 1991; VANDAMME und GOOSSENS, 1992). In der vorliegenden Arbeit wird *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* als *Campylobacter jejuni* bezeichnet (*C. jejuni*).

### **2.8.2 Morphologie, Kultur und biochemische Eigenschaften**

*C. jejuni* sind schlanke, spiralgig gebogene, nicht sporenbildende, gramnegative Stäbchen und 0,2-0,5 µm x 0,5-5 µm groß. Ihre Fortbewegung ist typisch korkenzieherartig. Sie sind mono- oder bipolar monotrich begeißelt.

Zwei unterschiedliche, nicht hämolysierende Kolonieförmungen kommen vor:

1. niedrig, flach, gräulich, mit der Tendenz, sich entlang des Impfstriches auszubreiten. Sie können einen Durchmesser bis zu 10 mm erreichen und tendieren zum Schwarmwachstum.
2. runde, glatte, glänzende, 1-2 mm große Kolonien mit durchscheinendem Rand und dunklerem, schmutzigbraunem Zentrum.

*C. jejuni* ist Oxidase- und Katalase-positiv (SMIBERT, 1984).

### **2.8.3 Erkrankungen bei Mensch und Tier**

*C. jejuni* gehört zu den häufigsten Enteritiserregern weltweit (BUTZLER und SKIRROW, 1979; STERN und KAZMI, 1989; GRIFFITHS und PARK 1990; BOCKEMÜHL et al., 1998). In Deutschland sind *C. jejuni* gemeinsam mit EHEC hinter den Salmonellen zweithäufigste Enteritiserreger (BOCKEMÜHL et al., 1998).

*C. jejuni* verursacht beim Menschen Enteritiden. Dabei kommen sowohl wässrige, sekretorische als auch blutige Diarrhoen vor. Als weitere Symptome treten Fieber, krampfartige abdominale Schmerzen sowie Erbrechen auf (VARNAM und EVANS, 1991). Die Erkrankung kann bis zu 10 Tage lang andauern. Rückfälle sind häufig, über Todesfälle jedoch wird nur sehr selten berichtet (VARNAM und EVANS, 1991; BUTZLER und OOSTEROM, 1991). Zu den möglichen Komplikationen einer Campylobacteriose zählen das REITERS-Syndrom (Urethritis, Arthritis und Konjunktivitis), Erythema nodosum und das GUILLAIN-BARRE-Syndrom (Polyneuropathie) (MILLER, 1985; FIRESTINE et al., 1987; VARNAM und EVANS, 1991). Die Keime werden nach Abklingen der Erkrankung in der Regel noch zwei bis fünf Wochen ausgeschieden. Die Infektionsdosis ist mit etwa 500 koloniebildenden Einheiten sehr gering (ROBINSON, 1981).

Zwischen 1991 und 1997 wurden vom BgVV 17 durch *C. jejuni* ausgelöste Ausbrüche in Deutschland untersucht. 11 dieser Ausbrüche mit etwa 800 Erkrankten wurden durch den Verzehr von Rohmilch verursacht (THURM und DINGER, 1998). Bei drei dieser auf Rohmilch zurückzuführenden Ausbrüche handelte es sich um Vorzugsmilch. In zwei Fällen ist die Rohmilch erhitzt bzw. abgekocht worden, allerdings wahrscheinlich unzureichend. In den anderen sechs Fällen muß es sich um Milch-ab-Hof gehandelt haben, die, obwohl nicht für den Rohverzehr bestimmt, bewußt roh verzehrt worden ist. Tab. 20 zeigt eine Übersicht zu Campylobacteriose-Ausbrüchen in Deutschland.

Bewußt roh verzehrt worden ist die Rohmilch auch in dem Fall einer Urlauberfamilie auf einem Bauernhof. Fünf Mitglieder dieser Familie erkrankten, nachdem sie die Milch auf dem Bauernhof (kein Vorzugsmilchbetrieb) getrunken hatten. Auf einem Schulfest in Lübeck 1997 wurde Rohmilch bewußt an die Besucher ausgegeben, nachdem sie bei einem ortsansässigen Landwirt (kein Vorzugsmilchbetrieb) gekauft wurde. Die Folge waren mehrere Fälle von *C. jejuni*-Enteritis (RKI, 1997).

<b>Tab. 20: Campylobacteriose-Ausbrüche durch Rohmilch in Deutschland</b> (auszugsweise nach THURM und DINGER, 1998)			
Land/Zeitraum	Anzahl der Patienten	Infektionsquelle	Bemerkungen
Hessen, 1992	25	Vorzugsmilch	Direktverzehr
Sachsen, 1994	289	Rohmilch	Verarbeitung nach Erhitzung
Schleswig-Holstein, 1995	91	Rohmilch	Direktverzehr
Sachsen, 1996	13	Rohmilch	Direktverzehr auf Bauernhof
Hessen, 1996	≥ 114	Rohmilch	Direktverzehr auf Bauernhof
NRW, 1996	14	Rohmilch	Direktverzehr auf Bauernhof
Niedersachsen, 1996	19	Vorzugsmilch	Direktverzehr auf Bauernhof
Sachsen-Anhalt, 1997	186	Rohmilch	Verarbeitung nach Erhitzung
Niedersachsen, 1997	18	Vorzugsmilch	Direktverzehr
NRW, 1997	5	Rohmilch	Direktverzehr
Schleswig-Holstein, 1997	≥ 3	Rohmilch	Direktverzehr

In der zugänglichen Literatur fanden sich kaum aussagekräftige Hinweise auf *C. jejuni*-Ausbrüche, die durch kontaminierte Rohmilchprodukte ausgelöst wurden. Bei einem *C. jejuni*-Ausbruch in Tschechien 1988 war der mutmaßliche Auslöser ein Schafskäseprodukt aus Rohmilch, aus dem *C. jejuni* allerdings nicht isoliert werden konnte (KOURILOVA und KOLTAN, 1990).

*C. jejuni* kommt ubiquitär vor. Viele Haus- und Wildtiere sind latente Träger und Ausscheider von *C. jejuni* (WOLFERS, 1981; DOYLE und ROMAN, 1982; OOSTEROM et al., 1982; ROSEF et al., 1983; NEUMANN, 1986; PALICOVA et al., 1992). Das Haupterregerreservoir für *C. jejuni* bilden wildlebende Vögel sowie auch Zucht- und Nutzgeflügel (TEUFEL, 1984; WEBER, 1985).

Zwar existieren Berichte über *C. jejuni*-Enteritiden, die mutmaßlich durch den Kontakt mit infizierten Tieren ausgelöst wurden (WEBER et al., 1983; WEBER, 1985), doch in der Mehrzahl der Fälle werden die Erreger über kontaminierte Lebensmittel aufgenommen (SKIRROW, 1991). Kontaktinfektionen spielen nur bei Kindern eine Rolle (THURM und DINGER, 1998).

Die wichtigsten Übertragungswege sind Rohmilch und Frischgeflügel (KIST, 1991; WOOD et al., 1992; THURM und DINGER, 1998). In die Rohmilch gelangt *C. jejuni* vor allem

durch faekale Kontamination durch symptomlose Ausscheider (DOYLE und ROMAN, 1982b; POTTER et al., 1983; BEUMER et al., 1988; HUMPHREY und HART, 1988).

*C. jejuni* wird als Erreger der Winterdysenterie des Rindes angesehen, kann auch bei anderen Tieren Enteritiden und Aborte beim Schaf auslösen (WEBER et al., 1983). Mastitiden beim Rind durch *C. jejuni* können zwar experimentell ausgelöst werden (LANDER und BASKERVILLE, 1982), werden aber nur selten beschrieben (MORGAN et al., 1985; ORR et al., 1995). Erkrankungsfälle durch den Konsum von Rohmilch einer gesund erscheinenden Kuh, die *C. jejuni* direkt mit ihrer Milch ausschied, wurden durch ORR et al. (1995) beschrieben.

#### 2.8.4 Verhalten in Rohmilch und Rohmilchprodukten

*C. jejuni* vermehrt sich nur bei Temperaturen von über 30 °C und bis 46 °C. Das Temperaturoptimum liegt bei 42-45 °C. Bei Raumtemperatur (20-25 °C) kann eine schnelle Keimzahlreduktion beobachtet werden. Die Überlebensdauer ist wesentlich verlängert bei einer Temperatur von 4 °C (DOYLE und ROMAN, 1981). Zum Wachstum benötigt wird eine mikroaerobe Atmosphäre: 5% O<sub>2</sub>, 10% CO<sub>2</sub>, 85% N<sub>2</sub> (SMIBERT, 1984). Der Einfluß des pH-Wertes ist abhängig von der Lagertemperatur des Lebensmittels und variiert von Stamm zu Stamm. DOYLE und ROMAN (1981) geben einen Wachstumsbereich von pH 5,5-8,0 an, mit einem Optimum zwischen pH 6,5-7,5. Das Bakterium wächst bereits nicht mehr bei einem Gehalt von zwei Prozent Natriumchlorid (DOYLE und ROMAN, 1982a). Daten zum a<sub>w</sub>-Wert waren nicht verfügbar.

Die Bakterien reagieren empfindlich auf Hitzeeinwirkung, Trockenheit, Sauerstoff und pH-Wert-Veränderungen. Bei Temperaturen über 60 °C erfolgt in Milch und Milchprodukten eine schnelle und sichere Abtötung (DOYLE und ROMAN, 1981; EHLERS et al., 1982).

Die Überlebensdauer der Keime in Rohmilch bei Kühlschranktemperaturen variiert stark von Stamm zu Stamm und beträgt 0-25 Tage, abhängig von der Zahl des Inokulums (DOYLE und ROMAN, 1982; DE BOER et al., 1984; NEUMANN, 1986; CUK et al., 1987).

Die Überlebensfähigkeit in Rohmilch ist als schlecht zu beurteilen.

Die Versuche von EHLERS et al. (1982) zeigten, daß *C. jejuni* noch aus dem Bruch von Cheddarkäse nach dem Ablassen der Molke und dem Salzen isoliert werden konnten. Nach 30tägiger Lagerung wurde *C. jejuni* nicht mehr nachgewiesen. Im Gegensatz hierzu ergaben die Experimente von BACHMANN und SPAHR (1995), daß während der Produktion von halbfestem Käse und Hartkäse *C. jejuni* sicher abgetötet wird.

Die Sensibilität von *C. jejuni* ist bei Probennahme und v.a. beim Transport von Proben unbedingt zu berücksichtigen.

#### 2.8.5 Vorkommen und Häufigkeit in Rohmilch und Rohmilchprodukten

Zu Rohmilch und Rohmilchprodukten sind unabhängig von der Art der angewandten Vermarktung eine Reihe von Untersuchungen durchgeführt worden, doch konnte das Bakterium trotz Anwendung anerkannter kultureller Verfahren nur relativ selten isoliert werden (DOYLE u. ROMAN, 1982; OOSTEROM et al., 1982; McMANUS u. LANIER, 1987; SCHEIRLE, 1988; WEIK u. KAUFMANN, 1991; LOEWENHERZ, 1995; SPECKER, 1996; KLOPPERT et al., 1997; STEELE et al., 1997).

HUMPHREY und HART hingegen (1988) fanden unter Einsatz einer Filtermethode, mit der sie je 250 ml Probe auf *C. jejuni* untersuchten, insgesamt 67 (5,9 %) *C. jejuni*-positive Proben in 1138 untersuchten Proben. Das Probenmaterial setzte sich zusammen aus 985 zum Rohverzehr bestimmten Rohmilchen sowie 153 Bestandmilchen. Die Proben wurden innerhalb einer Stunde nach Probennahme verarbeitet.

Relativ hohe Ergebnisse erzielte auch SCHÄFER (1992) bei der Untersuchung von 1147 Bestandmilchen und 1980 Einzelgemelken mit 65 (5,8 %) und 58 (2,9 %) positiven Proben. Dabei wurde Columbia-Bouillon als flüssiges Basismedium mit Zusatz von *Campylobacter*-Anreicherungssupplement und den Antibiotikasupplementen nach BLASER-WANG, nach PRESTON bzw. nach BUTZLER verwendet. Die Anreicherungsmedien wurden drei Tage und die Selektivmedien zwei Tage bei 42 °C im Gas-Pak-Topf in mikroaero-philer Atmosphäre bebrütet. Alle Proben wurden nach der Entnahme gekühlt und innerhalb von zwölf Stunden verarbeitet.

Bemerkenswert hoch sind die Ergebnisse von ROHRBACH et al. (1992), die in den USA 292 Bestandmilchen untersuchten und in 36 (12,3 %) Proben *C. jejuni* fanden. Sie untersuchten je 25 ml der Proben innerhalb der ersten 24 Stunden. Zur Anreicherung benutzten sie BHI mit BLASER-WANG-Supplement (42 °C/24 h). Selektivmedium war blutfreier *Campylobacter*-Agar (Oxoid), der wieder bei 42 °C inkubiert und nach 24 h, 48 h und 72 h untersucht wurde.

Tab. 21 zeigt eine Auswahl von Rohmilch-Untersuchungen.

*C. jejuni* wurde in 0-12,3 % der untersuchten Rohmilchen, aber in keinem Fall in den untersuchten Vorzugsmilchen isoliert. Zu berücksichtigen ist, daß bei einigen Untersuchungen *Campylobacter spp.* erfaßt wurden (STEELE et al., 1997; KLOPPERT et al., 1997; HARTUNG, 1998).

In 22 Rohmilchfrischkäse aus kleingewerblichen Produktionsbetrieben im Südtessin, die von JERMINI et al. (1990) zwischen Frühling 1988 und Herbst 1989 untersucht wurden, konnte kein *C. jejuni* nachgewiesen werden.

SCHÄFER (1992) untersuchte 90 Käse unterschiedlicher Sorten und konnte *C. jejuni* nicht nachweisen. Im Untersuchungsmaterial befanden sich fünf Proben halbfester Schnittkäse aus einem Milcherzeugerbetrieb, in dessen Milch *C. jejuni* nachgewiesen worden war. Der Käse wurde im Betrieb selbst aus Rohmilch hergestellt und als Bauernhofkäse vermarktet.

In 74 untersuchten Rohmilcherzeugnissen konnte kein *C. jejuni* nachgewiesen werden (HARTUNG, 1998b).

Interessant sind die Ergebnisse von WEGMÜLLER et al. (1993). Bei 93 mit PCR auf *E. coli* und *C. jejuni* untersuchten Rohmilch- und Rohmilchproduktproben wurden insgesamt sechs positive Proben gefunden. Dabei handelte es sich u.a. um einen Weichkäse und einen Schafskäse. Die parallel stattfindende kulturelle Anzucht gelang nicht.

<b>Tab. 21: Vorkommen von <i>C. jejuni</i> in Rohmilch</b>				
Probe	Proben-Herkunft	Proben-Anzahl	positive Proben (Prozent)	Autor
Bestandsmilch	USA	108	1 (0,9 %)	DOYLE u. ROMAN, 1982b
Bestandsmilch	Niederlande	200	0 (0 %)	OOSTEROM et al., 1982
Bestandsmilch	USA	237	1 (0,4 %)	McMANUS u. LANIER, 1987
Bestandsmilch, Vorzugsmilch-Einzelgamelke	Bayern	120 67	0 (0 %)	SCHEIRLE, 1988
Rohmilch <sup>2</sup>	Großbritannien	153 985	9 (5,9 %) 58 (5,9 %)	HUMPHREY u. HART, 1988
Bestandsmilch	Kanada	192	3 (1,5 %) <sup>1</sup>	DAVIDSON et al., 1989
Bestandsmilch	Schweiz	496	0 (0 %)	WEIK u. KAUFMANN, 1991
Bestandsmilch	USA	292	36 (12,3 %)	ROHRBACH et al., 1992
Bestandsmilch, Einzelgamelke	Hessen	1147 1980	65 (5,6 %) 58 (2,9 %)	SCHÄFER, 1992
Bestandsmilch	Brandenburg	415	0 (0 %)	SPECKER, 1996
Bestandsmilch	Kanada	1720	8 (0,47 %) <sup>1</sup>	STEELE et al., 1997
Rohmilch ab Hof	Deutschland	257	1 (0,39 %) <sup>1</sup>	HARTUNG, 1998
Vorzugsmilch	Hessen	70	0 (0 %)	LOEWENHERZ, 1995
Vorzugsmilch/Milch-ab-Hof	Hessen	54	0 (0 %) <sup>1</sup>	KLOPPERT et al., 1997
Vorzugsmilch	Deutschland	542	0 (0 %) <sup>1</sup>	HARTUNG, 1998b

<sup>1</sup> Untersuchung auf *Campylobacter spp.*  
<sup>2</sup> zum Rohverzehr bestimmt

## 2.9 Grundsätze einer Risikobewertung bzw. -einschätzung

Ein Risiko ist definitionsgemäß die Eintrittswahrscheinlichkeit der Gesundheitsschädigung, multipliziert mit der Schwere der Erkrankung (FAO/WHO, 1995; UNTERMANN et al., 1996).

Eine Risikoanalyse besteht aus der Risikobewertung, der Risikoverwaltung und der Risikovermittlung (Codex Alimentarius, 1996).

Bei der Risikobewertung sollte nach den Vorstellungen des Codex Alimentarius aufgrund wissenschaftlicher Daten die Wahrscheinlichkeit des Eintreffens von Lebensmittelvergiftungen und die Schwere bekannter oder potentieller gesundheitsgefährdender Faktoren quantifiziert werden. Hierzu können bei ausreichender Datendichte mathematische Modelle entwickelt werden (WALLS and SCOTT, 1997).

Die Risikobewertung setzt sich zusammen aus

1. Identifizierung der Gefahren (hazards)
2. Charakterisierung der Gefahren
3. Bestimmung/Berechnung der möglichen Belastung des Konsumenten
4. Charakterisierung des Risikos.

Identifizierung der Gefahren bedeutet für diese Arbeit Identifizierung der Bakterien, die einem „hazard“ entsprechen und der Rohmilchtypen und Rohmilchprodukte, die diese Gefahren enthalten.

Bei der Charakterisierung der Gefahren muß eine ganze Reihe von Faktoren berücksichtigt werden, von denen die Wahrscheinlichkeit einer Infektion abhängt. Hierzu gehört die Infektionsdosis, die mit dem fraglichen Lebensmittel aufgenommen werden kann, die Virulenz der betroffenen Bakterien sowie die Empfindlichkeit der Konsumenten (CORDIER, 1997). So sind Kinder, ältere Personen sowie Menschen, deren Immunsystem geschwächt ist, empfänglicher für durch Lebensmittel übertragene Krankheiten als die Durchschnittsbevölkerung (COUNCIL FOR AGRICULTURAL SCIENCE AND TECHNOLOGY, 1994). Dazu kommen noch das Verhalten der Konsumenten, Handhabung und Zubereitung der Produkte, die Möglichkeiten einer direkten Übertragung von Tier zu Person oder sogar von Person zu Person und die unmittelbaren und langfristigen Effekte der pathogenen Keime (CORDIER, 1997).

Um die mögliche Belastung des Konsumenten bestimmen und/oder berechnen zu können, muß die Zahl der mit der Nahrung aufgenommenen Organismen sowie die Mengen an verzehrten Lebensmitteln, in diesem Falle Rohmilch und Rohmilchprodukte, bekannt sein. Außerdem muß das Verhalten dieser Bakterien im Lebensmittel berücksichtigt werden, wie z.B. Absterben, Überleben, Wachstum und mögliche Toxinbildung (s. Kap. 2.3.5, 2.4.4, 2.6.5, 2.7.4, 2.8.4). Auch die heterogene Verteilung von Keimen in Lebensmitteln ist zu berücksichtigen.

Die Ergebnisse dieser Risikobewertung sollten zur Überprüfung der Politik der Gesundheitsschutzbehörden führen und gegebenenfalls zur Einführung geeigneter vorbeugender Schutzmassnahmen (Risikoverwaltung), die aufgrund von Diskussionen mit beteiligten und interessierten Partnern wie der Lebensmittelindustrie und Verbraucherorganisationen definiert wurden (Risikovermittlung) (Codex Alimentarius, 1996; FAO/WHO, 1995; 1997).

Reichen die vorliegenden Daten für eine Risikobewertung nicht aus, so kann eine Risikoeinschätzung vorgenommen werden, um auf mögliche Risiken hinzuweisen, die jedoch nicht eindeutig quantifiziert werden können.