

Aus der Bundesforschungsanstalt für Getreideverarbeitung Detmold

Untersuchungen über das Auftreten coliformer Bakterien und fäkaler Streptokokken in Weizen- und Roggenmehlen*)

Von Dr. Gottfried Spicher

Das Angebot an Lebensmittelfertigerzeugnissen ist heutzutage größer denn je und es steigt noch laufend an. Für derartige Lebensmittel gelten strengere Anforderungen an die Qualität und die Reinheit. Dies betrifft auch Produkte, die unter Verwendung von Getreide und Mahlerzeugnissen bereitet werden. So bleibt es nicht aus, daß in jüngster Zeit vielfach auch den Mühlen von seiten der Abnehmer ihrer Mahlerzeugnisse bestimmte Auflagen über die Höhe des einzuhaltenden Keimgehaltes und die Art der noch zu duldbaren mikrobiellen Verunreinigung gemacht werden. Diese Festlegungen sollen sowohl der Kontrolle der hygienischen Qualität der zu verwendenden Getreideprodukte allgemein dienen, als auch der Verhütung der Verbreitung pathogener Bakterien und toxinogener Keime. Sie erfordern zumeist den Nachweis sog. coliformer Keime, fäkaler Streptokokken und insbesondere von *Escherichia coli*. Diese Keimgruppen werden als Indikator für eine fäkale Verunreinigung und das eventuelle Vorhandensein pathogener Keime gewertet.

Vom Standpunkt der Lebensmittelhygiene hat die Mikroflora der Getreideprodukte bislang allerdings nur vereinzelt eine Betrachtung gefunden. *Kent-Jones* und *Amos* (1930) berichteten, in 0,5 bis 0,01 g „patent flour“ *Escherichia coli* nachgewiesen zu haben. Sie räumten allerdings ein, daß einige positive Befunde durch nicht-fäkale *E.coli*-Formen hervorgerufen sein könnten. Eine Beziehung zwischen dem Umfang der Verunreinigung des Mehles mit *Coli*-Keimen und der Bakterienkeimzahl war nicht gegeben. Im weiteren findet sich bei *Dack* (1961) der Hinweis, daß fünf von zehn Mehlen (Gesamtkeimzahl 575 bis 18 300 Keime/g), die zur Bereitung von „precooked frozen foods“ herangezogen werden sollten, mit coliformen Bakterien verunreinigt waren (MPN zwischen 3,6 und 43 Keime/g). Außerdem kamen bei zwei der Mehle bis zu Verdünnungen vom 1:10 bzw. 1:100 koagulase-positive Staphylokokken zur Entwicklung. Gleichfalls wiesen *Graves, Rogers, Lyons* und *Hesseltine* (1967) in 18 % von 11 Weizenmehlen fäkale Streptokokken

in Mengen bis zu 3,6 Keime/g nach. Nach Aussage von *Bohtz* und *Christen* (1968) können im Hartweizengrieß sogar bis zu 1 000 Staphylokokken/g vorkommen.

Diese Angaben vermitteln allerdings noch keine ausreichenden Anhaltspunkte für die Interpretation der Befunde einer quantitativen und selektiven mikrobiologischen Analyse der Getreideprodukte im Sinne der Lebensmittelhygiene. Um einige eindeutige Hinweise auf den zu erwartenden „Normalwert“ zu erlangen, wurde erstmals eine größere Auswahl von Weizen- und Roggenmehlen, die in verschiedenen deutschen Mühlen ermahlen worden waren, einem „Hygienetest“ unterworfen.

Methoden

Die Feststellung über die Verunreinigung der untersuchten Mehle mit fäkalen Keimen erfolgte nach dem Verfahren der Ermittlung der „höchstwahrscheinlichen Keimzahl“ (MPN = most probable numbers). Bezog sich dieser Nachweis auf coliforme Bakterien, so diente eine Brillantgrün-Galle-Laktose Bouillon als Elektivnährmedium. Die Kultur erfolgte für 48 Stunden bei 37° C. Zur Bestimmung des Anteiles fäkaler Streptokokken wurden die zu untersuchenden Mehlsuspensionen in KF-Streptococcus-Brühe eingebracht und bei 35° C über 48 Stunden bebrütet. Die Ermittlung der Gesamtkeimzahl mesophiler Bakterien erfolgte in Anlehnung an die Standard-Methoden für Getreide, Mehl und Brot der Arbeitsgemeinschaft Getreideforschung e.V. Einzelheiten über das Vorgehen bei diesen Nachweisen werden in einer folgenden Veröffentlichung beschrieben.

Ergebnisse

Zu den Erhebungen über das Auftreten von coliformen Bakterien und fäkalen Streptokokken in Mehlen wurden je 25 Weizen- und Roggenmehle unterschiedlicher Ausmahlung (Type 405, 550 und 1050 bzw. 997, 1150 und 1370) herangezogen. Die Untersuchung ihres Gesamtkeimgehaltes an mesophilen Bakterien ergab eine Streubreite von 10 bis 75 000 Keimen/g Mehl. Da-

*) Nr. 3788 der Veröffentlichungen der BfG.

bei ging jedoch die Gesamtkeimzahl bei etwa 60 % der Ermittlungen nicht über 5000 Bakterien/g Mehl hinaus. (Abbildung 2)

Durch den „Hygienetest“ wurden etwa 8 % der Mehle als frei von coliformen Bakterien ausgewiesen (Abbildung 1). Desweiteren war die Verunreinigung mit coliformen Keimen bei etwa 21 % der Proben so gering, daß die höchstwahrscheinliche Keimzahl noch unterhalb von einem Keim je g Mehl lag. Auf der anderen Seite konnten jedoch in etwa gleicher Häufigkeit (21,8 %) Keimgehalte von mehr als 10 Keimen/g Mehl nachgewiesen werden. Zu etwa 6 % waren unter ihnen Mehle vertreten, die über 50 coliforme Keime/g (maximal: mehr als 110 Keime/g Mehl) enthielten.

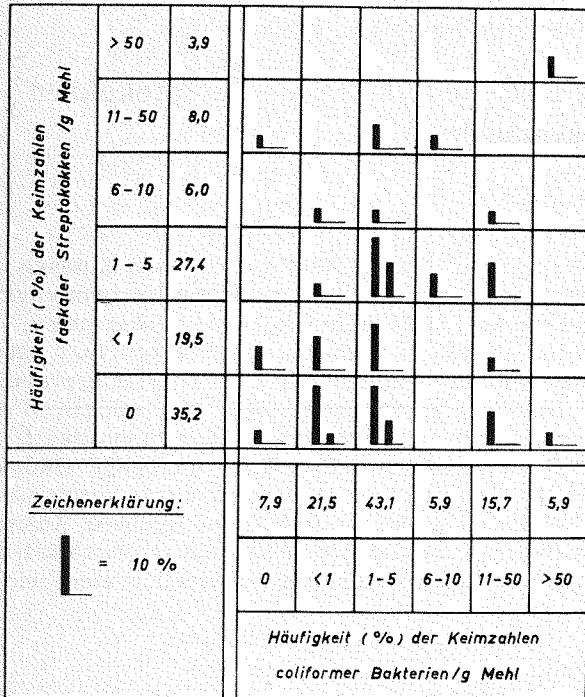


Abb. 1: Die Häufigkeitsverteilung der Keimzahlen coliformer Bakterien und fäkaler Streptokokken

Als Index für eine fäkale Verunreinigung von Lebensmitteln wird auch das Auftreten der sog. fäkalen Streptokokken herangezogen. Diese Gruppe von Mikroorganismen hat ebenfalls ihren natürlichen Standort im Darmtrakt. Mißt man den hygienischen Zustand an dieser Gruppe von Mikroorganismen, so sind die untersuchten Mehlproben ungleich besser zu beurteilen als anhand der Keimzahl coliformer Bakterien. Demnach wären über 35 % der Mehle nicht mit fäkalen Keimen verunreinigt gewesen (Abbildung 1). Bei den restlichen Proben ließen sich nur zu etwa 12 % Befunde ermitteln, die über einen höchstwahrscheinlichen Keimgehalt von 10 fäkalen Streptokokken/g Mehl hinausgingen. Im ungünstigsten Falle wurden allerdings mehr als 150 fäkale Streptokokken im Gramm Mehl nachgewiesen.

In den Abbildungen 2 und 3 ist darüber hinaus eine Aufgliederung der Keimzahlen coliformer Bakterien und fäkaler Streptokokken nach dem Gesamtkeimgehalt der Mehlproben an mesophilen Bakterien vorgenommen worden. Weder bei den coliformen Bakterien noch bei den fäkalen Streptokokken geben sich Zusammenhänge zwischen der allgemeinen mikrobiel-

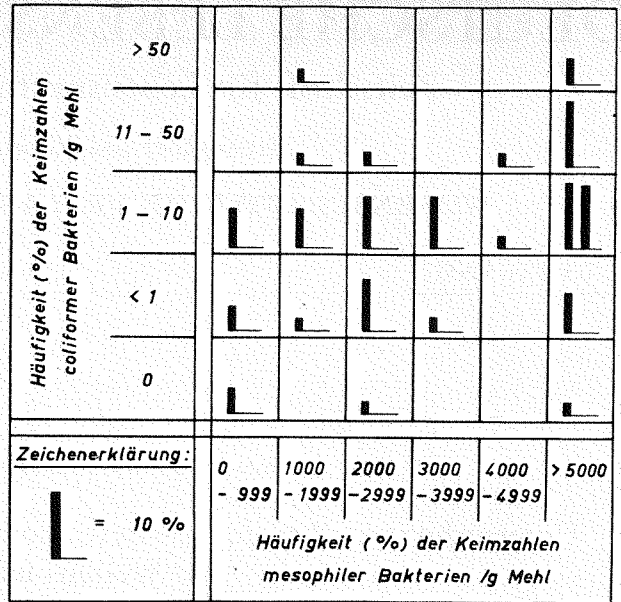


Abb. 2. Die Häufigkeitsverteilung der Keimzahlen coliformer Bakterien von Mehlen in Abhängigkeit von der Keimzahl mesophiler Bakterien

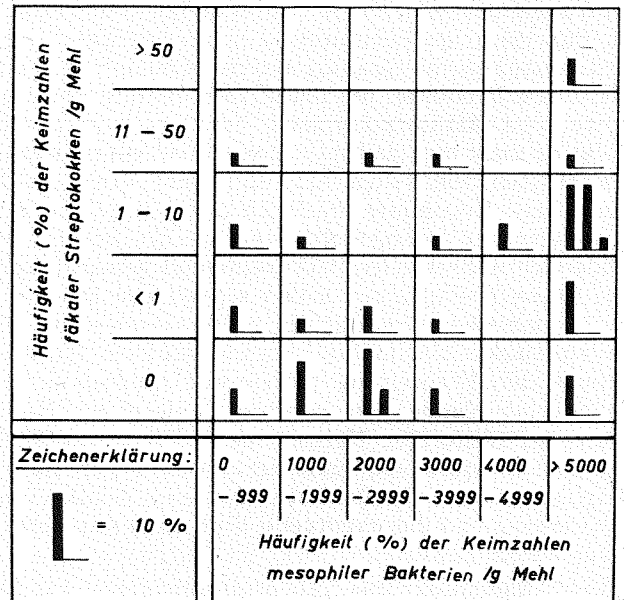


Abb. 3. Die Häufigkeitsverteilung der Keimzahlen fäkaler Streptokokken von Mehlen in Abhängigkeit von der Keimzahl mesophiler Bakterien

len Verunreinigung und dem Umfang ihres Auftretens in den untersuchten Mehlen zu erkennen.

Zur Frage nach der Beziehung zwischen dem Grad der Ausmahlung der Mehle und der Verunreinigung mit coliformen Keimen und fäkalen Streptokokken ließen die Befunde noch keine eindeutigen Aussagen zu.

Der direkt vom Lebensmittel ausgehende Nachweis coliformer Bakterien wird in der Routineuntersuchung allerdings nur als Vorprobe (orientierender Vortest/presumptive test) gewertet. Zur Sicherung muß diese Aussage durch eine eingehende Analyse der vorgefundenen Keime „bestätigt“ werden (confirmatory test). Diese Bestätigung dient insbesondere dem Nachweis von *Escherichia coli*, sowie seiner sicheren Identifizie-

rung und Abgrenzung von anderen Bakterien der coliformen Gruppe (insbesondere Enterobacter bzw. Aerobacter sp. und Citrobacter sp.). Um eine Aussage darüber zu erlangen, inwieweit mit dem Nachweis coliformer Keime das Auftreten von Escherichia coli (Fäkaltyp) im Zusammenhang steht, wurden von allen positiven Röhren der Ansätze zur Ermittlung der höchstwahrscheinlichen Keimzahl (Wachstum und Gasbildung) Abimpfungen vorgenommen bzw. Ausstriche auf der Oberfläche eines weiteren Elektivagars (Fuchsin-Laktose-Agar nach Endo) angelegt. Die nach 24 Stunden Kultur bei 37° C als verdächtig erscheinenden Kolonien wurden der biochemischen Differenzierung zugeführt. Es erfolgte u. a. die IMViC-Probe, die Prüfung auf Laktose-Vergärung bei 44° C, Gelatineverflüssigung, Harnstoffverwertung und H₂S-Bildung.

Nach den Aussagen dieser ergänzenden Untersuchungen war der positive Befund an coliformen Keimen zu etwa 43 % mit dem Vorkommen von Escherichia coli verbunden (Abbildung 4). Entsprechend internationaler Übereinkunft sind alle indolbildenden und bei 44° C fermentierenden Keime des Typs Esche-

höchstwahrscheinlichen Keimzahl war E.coli (Fäkaltyp) zumeist mit einem Keim bis zu 50 Keimen je g Mehl vertreten. In zwei Fällen erreichte die Verunreinigung sogar einen Wert von mehr als 110 bzw. 150 Keime/g Mehl. Zieht man diese beiden extremen Werte nicht in Betracht, dann ergibt sich bei positivem Befund eine Verunreinigung mit durchschnittlich 13 Keimen je g Mehl.

Die Beobachtungen über das Auftreten von Escherichia coli (Fäkaltyp) in Roggen- und Weizenmehlen stehen im Gegensatz zu den Befunden bei Getreide. Bei jenen Untersuchungen, über die an anderer Stelle berichtet wird (Spicher, 1970), zeigte sich, daß Bakterien, die im eigentlichen Sinne für einen nicht genügenden hygienischen Zustand von Lebensmitteln kennzeichnend sind, auf erntefrischem Getreide nur selten vorkommen (Abbildung 4). Sie waren einzig auf 2 % von 143 Proben der Weizen-Ernte 1969, die in verschiedenen Anbaugebieten gezogen worden waren, nachzuweisen. Zwar traten Keime des Darmtraktes von Warmblütern auf Getreide aus Lagerbeständen mehr als dreimal häufiger auf als unmittelbar nach der Ernte (auf 7,8 % von Weizenproben aus 2- bis 8-jährigen Lagerbeständen), doch immerhin noch eigentlich weniger als auf den untersuchten Mehlen.

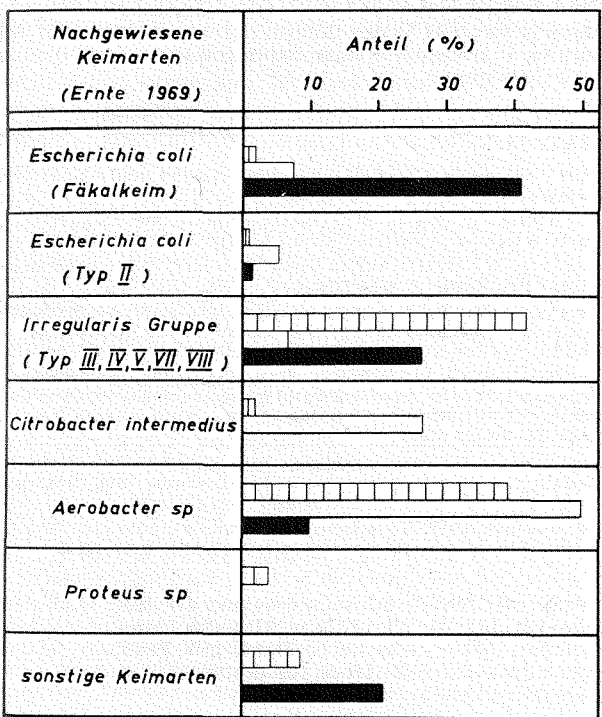


Abb. 4. Differenzierung der bei Getreide und Mehl nachgewiesenen Enterobacteriaceae.

Zeichenerklärung:

- □ □ □ □ = Getreide, z. Zt. der Ernte
- ▬ = Getreide, nach Lagerung
- = Mehl

richia coli I (= Fäkaltyp) als obligate Darmbewohner anzusehen. Somit kann bei etwa 41 % der Proben mit ausreichender Wahrscheinlichkeit angenommen werden, daß die nachgewiesene Verunreinigung mit coliformen Keimen fäkalen Ursprungs waren. Bei den übrigen Mehlen setzten sich die coliformen Bakterien aus Enterobakterien der sog. Irregularis-Gruppe und der Gattung Aerobacter zusammen. Nach Aussage der

Besprechung der Ergebnisse

Auf die Sauberkeit von Nahrungsmitteln und ihre Herstellung unter hygienisch einwandfreien Bedingungen wird mehr und mehr Wert gelegt. Es gibt manche Anzeichen, daß diesem Aspekt auch bei der Vermahlung des Getreides in Zukunft größere Beachtung zugemessen werden muß. Gewisse Abnehmer der Erzeugnisse der Müllerei — etwa die Konservenindustrie, die Hersteller von Fertigmahlzeiten und Diätahrung — stellen bereits heute ganz bestimmte Anforderungen an den Keimgehalt der zu verwendenden Getreideprodukte.

Die vorliegende Erhebung gibt zu erkennen, daß die Verunreinigung der Weizen- und Roggenmehle mit coliformen Bakterien und fäkalen Streptokokken bei etwa 70 % der Proben noch unter 10 Keime/g Mehl bleibt. Dieser Keimgehalt entspricht dem Grenzwert, der in der „Verordnung über diätetische Lebensmittel“ (1963) für Lebensmittel vorgeschrieben ist, die unter Verwendung von Milch und Milcherzeugnissen oder Milchbestandteilen hergestellt werden: in 0,01 g des trockenen oder eingedickt in den Verkehr gebrachten Lebensmittels sind Coli- und coliforme Bakterien nicht nachweisbar. Ebenso werden von den Mehlen die bakteriologischen Anforderungen für vorgekochte („instant“) Getreideprodukte, die von Mossel et al. (1959) empfohlen werden, zumeist eingehalten; Enterobakterien weniger als 10 Keime/g, fäkale Streptokokken weniger als 100 Keime/g. Allerdings ist bei über 40 % aller Nachweise coliformer Bakterien damit zu rechnen, daß unter ihnen Escherichia coli (Fäkaltyp) zugegen ist. Ebenfalls darf nicht außer acht gelassen werden, daß gelegentlich Mehle auftreten können, die je g mit 100 oder gar mehr coliformen Keimen verunreinigt sind.

Die Befunde der vorliegenden Untersuchungen vermitteln im weiteren einige Hinweis auf die Aussagefähigkeit von Keimzahlen. Als mikrobieller Maßstab zur Beurteilung der hygienischen Qualität von Ge-

treide und Getreideprodukten wird derzeit hauptsächlich die sog. Gesamtkeimzahl (Standard-Platten-Keimzahl) herangezogen. Dieses Vorgehen ist erlaubt, solange nur eine allgemeine Information über die mikrobielle Verunreinigung des Getreides angestrebt wird. Wie die Gegenüberstellung der Gesamtkeimzahlen mesophiler Bakterien mit den Keimzahlen coliformer Keime und auch den Keimzahlen fäkaler Streptokokken jedoch erkennen ließ, steht das Auftreten dieser Keimgruppen in keiner Beziehung zueinander. Somit vermag die Gesamtkeimzahl keine Aussage über die hygienischen Belange zu vermitteln.

Sind in dieser Hinsicht Forderungen an die Getreideprodukte gestellt, dann wird ein Nachweis der Indikatorkeime und ihre spezielle Analyse nicht zu umgehen sein.

Die Belastung des Mehles mit coliformen Keimen ist ungleich größer als beim Getreide, sei es zum Zeitpunkt der Ernte oder selbst gar nach längerer Lagerung. Im Jahre 1969 erwiesen sich 58 % aller untersuchten Getreideproben aus Lagerbeständen frei von coliformen Keimen (Spicher 1970). Ebenfalls tritt unter der Bakterienflora des Getreides der Fäkalkeim *Escherichia coli* kaum in Erscheinung (auf 2 % der Ernteproben und 7,8 % der Proben aus Lagerbeständen). Man wird nicht fehl gehen, die Quelle der Verunreinigung der Mahlprodukte mit den „Indikator-Organismen“ auf den Transportwagen des Getreides und bei gewissen Stationen der Vermahlung zu suchen.

Zusammenfassung

1. Eine Erhebung über die Verbreitung gewisser aus hygienischen Gründen zu beachtender Keimgruppen in Weizen- und Roggenmehlen wird angestellt.
2. Der Gesamtkeimgehalt an mesophilen Bakterien belief sich auf 10 bis 75 000 Keime/g Mehl. Bei 60 % der Mehle blieb der Gesamtkeimgehalt noch unter 5 000.
3. Nur 8 % der Mehle erwiesen sich frei von coliformen Bakterien. Bei jeweils etwa 21 % der Ermittlungen lag die höchstwahrscheinliche Keimzahl unterhalb von 1 Keim/g Mehl und oberhalb von 10 coliformen Bakterien/g Mehl.
4. Fäkale Streptokokken waren bei mehr als 35 % der Mehle nicht nachzuweisen. Zu etwa 12 % ging die höchstwahrscheinliche Keimzahl über 10 fäkale Streptokokken/g Mehl hinaus.
5. Bei etwa 41 % der Ermittlungen coliformer Bakterien konnte der Nachweis von *Escherichia coli* (Fäkaltyp) geführt werden.

Summary

1. A study has been made concerning the distribution of certain hygienically important germ groups in wheat and rye flours.
2. Total germ content of mesophile bacteria was found to be 10—75,000 germs per g of flour. With 60 % of the flours sampled, total germ content was less than 5,000.

3. Only 8 % of the flours were free from coliform bacteria. A most probable germ figure of under 1 germ/g of flour and of over 10 coliform bacteria/g of flour was encountered in 21 % of the samples, each time.
4. Intestinal streptococci could not be traced in more than 35 % of the flours tested. About 12 % of them had a most probable germ figure of over 10 intestinal streptococci/g of flour.
5. For 41 % of the flours containing coliform bacteria, *Escherichia coli* (intestinal type) could be identified.

Résumé

1. On a fait une recherche sur la diffusion de certains groupes de germes dans des farines de blé et de seigle auxquels il faut faire attention pour certaines raisons hygiéniques.
2. Le contenu total en bactéries mésophiles s'élevait de 10 à 75.000 germes/g farine. Dans 60 % des farines examinées, le contenu total en germes était inférieur à 5.000.
3. Il n'y avait que 8 % des farines examinées qui étaient libres de bactéries coliformes. Chaque fois, dans 21 % des recherches, le nombre maximum probable de germes se situait au-dessous de 1 germe/g farine et au-dessus de 10 bactéries coliformes/g farine.
4. On ne pouvait pas mettre en évidence des streptocoques fécaux dans plus de 35 % des farines. Dans 12 % environ le nombre maximum probable des streptocoques fécaux était supérieur à 10 streptocoques fécaux/g farine.
5. Dans environ 41 % des déterminations de bactéries coliformes, la présence d'*Escherichia coli* (type fécal) pouvait être déterminée.

LITERATUR:

- 1) Bohtz, G., u. J. Christen, Problemi igienici nella produzione della pasta Tec. Molit. 19, 677-682 (1968).
- 2) Kent-Jones, D. W., u. A. J. Amos, Preliminary Studies in the Bacteriology of wheat and flour Analyst LV 248-268 (1930).
- 3) Dack, G. M., Public health significance of flour bacteriology Cereal Sci. Today 6, 9-10 (1961).
- 4) Graves, R. R., R. F. Rogers, A. J. Lyons u. C. W. Hesseltine, Bacterial and Actinomycete flora of Kansas-Nebraska and Pacific Northwest wheat flour Cereal Chem. 44, 288-299 (1967).
- 5) Mossel, D. A. A., u. Krugers, E. L. Dagneaux, Bacteriological requirements for and bacteriological analysis of precooked („instant“) cereales and similar foods. Antonie von Leewenhoek 25, 230-236 (1959).
- 6) Spicher, G., Studien zur Frage der Hygiene des Getreides, Bericht, 5. Welt-Getreide- und Brotkongreß 1970, Sektion 4, Lagerung und Gesundheitszustand von Getreide.
- 7) Verordnung über diätetische Lebensmittel vom 20. Juni 1963 i. d. Fassung vom 22. Dezember 1965 (BGBl. I, S. 2140).

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft, Bad Godesberg, danke ich für die finanzielle Unterstützung der Untersuchungen. Mein besonderer Dank gilt Fräulein O. Sudwischer und Herrn H. Mack für die sorgfältige und zuverlässige Mitarbeit.

Anschrift des Verfassers:

Dr. Gottfried Spicher

Bundesforschungsanstalt für Getreideverarbeitung
4930 Detmold, Am Schützenberg 9, Postfach 23