

## 7 ZUSAMMENFASSUNG

Hackfleisch ist aufgrund seiner großen Oberfläche besonderen mikrobiologischen Belastungen ausgesetzt. Verderbniserreger und pathogene Keime können durch Kontakt mit Gerätschaften und Personal übertragen werden. Unter "Psychrotrophen" werden solche Mikroorganismen verstanden, die sich unterhalb von 5°C noch vermehren können. Quantitative Angaben zur Verteilung einzelner Keimgruppen und Spezies in der Hackfleischmikroflora gibt es kaum, da die Identifizierung der breit gefächerten psychrotrophen Mikroflora einen hohen labortechnischen Aufwand erfordert. Handelsübliche klinische Testbestecke zur Identifizierung der Isolate sind für die im Lebensmittelbereich relevanten Spezies oft nicht hilfreich.

Ziel dieser Arbeit war es, eine Gesamtanalyse der psychrotrophen Hackfleischmikroflora in vier verschiedenen handelsüblichen Hackfleischsorten, nämlich Rindergehacktem (RG), Schabefleisch (SF), Schweinegehacktem (SG) und Gemischtem Hackfleisch von Rind und Schwein (RS), sowohl qualitativ als auch quantitativ anhand klassischer Kulturverfahren und geeigneter phänotypischer Reaktionen vorzunehmen. Für die Identifizierung der *Acinetobacter*-Isolate wurde außerdem ein genotypisches Verfahren hinzugezogen. Dabei sollte beurteilt werden, inwieweit Hackfleisch eine Bedeutung als Vektor für psychrotrophe Bakterien als Infektionserreger erlangt.

Es wurden 35 Hackfleischchargen aus "industrieller" Produktion, bestehend aus jeweils 5 Teilproben, nach Anlage 2a der Fleischhygiene-Verordnung vom 29. Juni 2001 analysiert, und zwar: 8 Chargen RG, 10 Chargen SF, 8 Chargen SG und 9 Chargen RS, insgesamt 175 Proben. Diese waren vom Hersteller während der laufenden nächtlichen Produktion gezogen und bis zur Aufarbeitung nach 1 bis 4 Stunden bei  $2\pm 2^\circ\text{C}$  gelagert worden. Die Aufarbeitung der Proben erfolgte gemäß L 06.00-16 (Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LBMG). Von den für 48 Stunden bei  $25\pm 1^\circ\text{C}$  bebrüteten Plate-Count-Agar-Platten wurden gut abgrenzbare, koloniemorphologisch unterschiedliche Kolonien unter Erfassung ihrer Quantität isoliert. Mindestens 8 bis zu maximal 18 Isolate wurden von einem Chargenansatz genommen. Diese Isolate wurden einer Wachstumskontrolle auf

ISO-Agar und in ISO-Bouillon bei  $4^{\circ}\text{C}\pm 0,5$  für 7 bis 10 Tage unterzogen. Die weitere Identifizierung erfolgte auf klassischem Weg mit Hilfe geeigneter Testbestecke nach aktueller Literatur. Für die *Acinetobacter* spp. schloß sich außerdem eine Überprüfung auf molekularbiologischer Ebene mittels Sequenzanalyse eines partiellen hochvariablen 16S rDNA-Abschnittes im Institut für Hygiene und Mikrobiologie der Universität Würzburg in Verbindung mit dem dort entwickelten computergestützten System an (RIDOM: Ribosomal Differentiation of Medical Microorganisms).

Von 419 Hackfleischisolaten konnten 404 identifiziert werden. Bei den 17 *Acinetobacter*-Isolaten war in 14 Fällen eine Identifizierung bis auf Speziesebene möglich. Die psychrotrophen Gesamtkeimzahlen (pGKZ) lagen zwischen 4,24 und 6,47 lg KbE/g mit einem Median von 5,22 lg KbE/g. Wesentliche Unterschiede zwischen den Hackfleischsorten waren nicht zu verzeichnen. Eine Charge von Gemischtem Hackfleisch entsprach nicht den mikrobiologischen Kriterien der Hackfleischrichtlinie. Mehr als 2 Proben der Charge lagen zwischen dem Richtwert von 6,18 lg KbE/g und dem Grenzwert von 6,7 lg KbE/g.

Die Gram-positive Mikroflora dominierte beim Schabefleisch. Bei Rindergehacktem, Schweinegehacktem und in Gemischtem Hackfleisch waren die Unterschiede zwischen den Gram-positiven und Gram-negativen Mikrofloraanteilen nur gering. Die Gram-positive psychrotrophe Hackfleischmikroflora war im wesentlichen geprägt durch Milchsäurebakterien und *Brochothrix thermosphacta* mit durchschnittlichen Anteilen an der pGKZ von 21% bis 64% und Keimzahlmittelwerten ( $x_C$ ) von 3,71 bis 4,96 lg KbE/g, die über die Chargen einer Sorte gebildet wurden.

Die Gram-negative Mikroflora in allen vier Hackfleischsorten war wesentlich durch *Pseudomonas* spp. bestimmt mit durchschnittlichen Anteilen an der pGKZ von 21,6% bis 43,4% und durchschnittlichen Keimzahlen ( $x_C$ ) von 4,33 bis 4,79 lg KbE/g. *Pseudomonas fragi* und *Pseudomonas fluorescens* dominierten. Psychrotrophe *Enterobacteriaceae* traten unregelmäßig auf mit Anteilen von 2,3% bis 9,6% an der pGKZ. In Schweinegehacktem lag ihr Anteil bei 15,6% mit  $x_C$  von 2,99 lg KbE/g. Am häufigsten konnten *Serratia liquefaciens*-Isolate nachgewiesen werden. *Aeromonas hydrophila* wurde in einer Charge Schabefleisch mit einem Mittelwert von 2,88 lg KbE/g nachgewiesen. Die Anteile der *Acinetobacter*-Stämme an der pGKZ betragen 5,5% bis 17,4% mit  $x_C$  von 2,81 bis 3,32 lg KbE/g. Das RIDOM-System lieferte für die *Acinetobacter*-Isolate Ähnlichkeiten von 94,01% bis 99,88% zu den in

der Datenbank vorhandenen Referenzstämmen. *A. lwoffii* war am häufigsten vertreten und erreichte 4,74 lg KbE/g in einer Einzelprobe. *A. baumannii* und Genospezies 3, welche laut Literatur die bedeutendsten Erreger nosokomialer Infektionen sind, wurden nicht identifiziert.

Die Zusammensetzung der psychrotrophen Hackfleischmikroflora ist demnach auch bei "industrieller" Produktion, d.h. bei der Herstellung in Spezialbetrieben unter optimalen technischen Bedingungen und unter strikter Einhaltung der Kühlkette, vielgestaltig und je nach Hackfleischsorte qualitativ und quantitativ unterschiedlich. Die Gesamtbelastung des Hackfleisches aller vier Sorten mit psychrotrophen Mikroorganismen ist in etwa gleich stark. Die Gram-positive psychrotrophe Hackfleischmikroflora wird wesentlich von dem Verderbniserreger *Brochothrix thermosphacta* sowie von anderen Milchsäurebakterien bestimmt. Die Gram-negative Flora wird hauptsächlich von *Ps. fragi* und *Ps. fluorescens* dominiert. In dieser Hinsicht stellen Hackfleischsorten "industrieller" Herstellung in der Regel kein gesundheitliches Risiko dar. Sie kommen offensichtlich auch nicht als Überträger für potentiell pathogene psychrotrophe Infektionserreger in Betracht. Einzelne Chargen mit bedenklich hohen Keimgehalten werden durch die amtlichen mikrobiologischen Prozeßkontrollen identifiziert.

Eine schnelle Identifizierung der Gram-negativen psychrotrophen Hackfleischmikroflora gestaltet sich nach wie vor schwierig. Klassische Verfahren sind aufwendig und nicht in jeden Fall zuverlässig. Mit selektiven Kulturmedien sowie mit Schnelltests erscheint eine Verbesserung möglich. Die Identifizierung der *Acinetobacter* spp. aus dem Hackfleisch mit dem RIDOM-System ist nur bedingt sinnvoll, da die bisherigen Referenzstämmen überwiegend humanmedizinischen Ursprungs sind. Ob weitere molekularbiologische Methoden zur Identifizierung der psychrotrophen Hackfleischmikroflora angezeigt sind, kann noch nicht beantwortet werden. Der Kosten-Nutzeneffekt ist aufgrund dieser Untersuchung nicht belegbar. So wird es bei der Beurteilung des Hackfleischmikroflorastatus vorerst bei Überprüfungen nach klassischen Verfahren bleiben müssen. Untersuchungen dieses Umfanges können der grundsätzlichen Bestandsaufnahme dienen, für Routineuntersuchungen sind selektierte Indikatorverfahren, wie in der Hackfleischrichtlinie gefordert, angezeigt.