

Leitfaden - Ableitung von mikrobiologischen Orientierungswerten bei Futtermitteln

Autoren: E. Bucher und W. Wagner

1. Zweck und Anwendungsbereich

Der Besatz mit mesophilen aeroben Bakterien, Hefen, Schwärze- und Schimmelpilzen eines Futtermittels erlaubt eine Aussage über dessen mikrobiologische Beschaffenheit und Unverdorbenheit. Eine Umsetzung in Qualitätsstufen erfordert Vergleichswerte, die aus einer hinreichenden Anzahl von Untersuchungsdaten aus mehreren Laboren nach den Methoden des VDLUFA (28.1.1 und 28.1.2) aus verschiedenen Regionen und Erntejahren für ein betreffendes Futtermittel als sogenannte Orientierungswerte gewonnen werden.

Es wird die Vorgehensweise zur Ableitung von Orientierungswerten für Qualitätsbeurteilungen von Futtermitteln dargestellt.

2. Historie von Orientierungswerten (bis 2002)

Auf der Grundlage vorhandener „Richtwerte für die Beurteilung der mikrobiologisch-hygienischen Beschaffenheit bzw. des Verderbnisgrades aufgrund von Keimgehaltsgrößenordnungen“ (Dr. SCHMIDT, LUFA Speyer) war 1992 ein 3-stufiges Orientierungswert-Schema erstellt worden, worin Erfahrungswerte auch von Mitgliedern des Arbeitskreises „Futtermittelmikrobiologie“ der Fachgruppe VI (Futtermittel) des VDLUFA und der IAG/European Feed Microbiology Organisation berücksichtigt waren. Diese Richtwerte bezogen sich auf die Summe aller Bakterien und die Summe aller Pilze und Hefen.

Nach Vorbesprechungen über die Untersuchungsmethoden und die Festlegung der wesentlichsten Indikatorkeime (1991 bis 1992) sowie deren Zusammenfassung zu 7 Keimgruppen*) wurden nach einem vorgegebenen Verteilungsmuster 12 wichtige Einzel- bzw. Mischfuttermittel im Rahmen eines Pilotprojektes im Zeitraum Januar 1994 bis Februar 1996 bundesweit untersucht und die Ergebnisse in ein Orientierungswertschema (3-stufiges OW-Schema 1998) eingearbeitet. Nachfolgend sollte das OW-Schema um eine vierte Qualitätsstufe erweitert werden, um auch die Gesichtspunkte des § 3 Futtermittelgesetz und der Artikel 3 der Richtlinien 79/373/EWG bzw. 96/25/EG einzubeziehen, was mit dem Bericht vom 12.12.2002 umgesetzt wurde (1).

**) Hinweis: Die Keimgruppen und die hierin zusammengefassten Indikatorkeime sind in der Methode 28.1.3 des VDLUFA ersichtlich.*

3. Ableitung von Orientierungswerten (OWe)

Bei Keimgruppen, die mit einer Häufigkeit von mindestens 50 % vertreten sind, entspricht der Verlauf der Kurven für die Keimzahlen und deren Quantile weitgehend einer logarithmischen Normalverteilung (Beispiel: Klassenverteilung, Abb. 1).

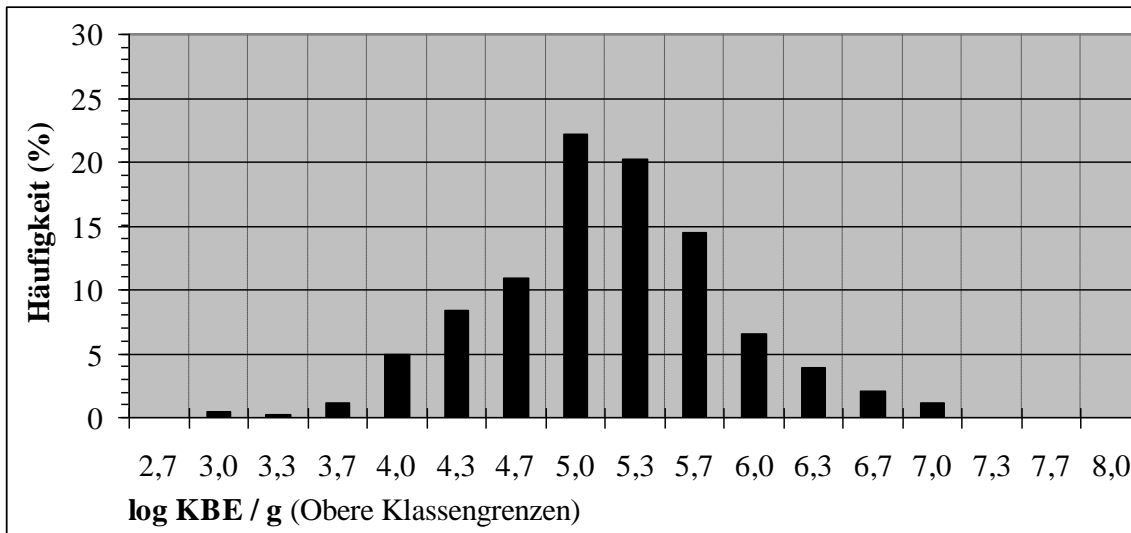


Abb. 1: **Normalverteilung** der **Keimgruppe 2** (Bacillus, Staphylococcus und Micrococcus) bei Extraktionsschroten (Soja und Lein), n= 429 Proben

Auf einen steilen Anstieg im unteren Quantilsbereich folgt meist ein annähernd gerader Kurvenverlauf bis in einen Bereich um das 90. Quantil (Abb. 2a + b). Dieser Bereich wurde zur Ableitung der Orientierungswerte als Obergrenze noch vertretbarer Keimzahlen der 7 Keimgruppen in Betracht gezogen. (2) (3)

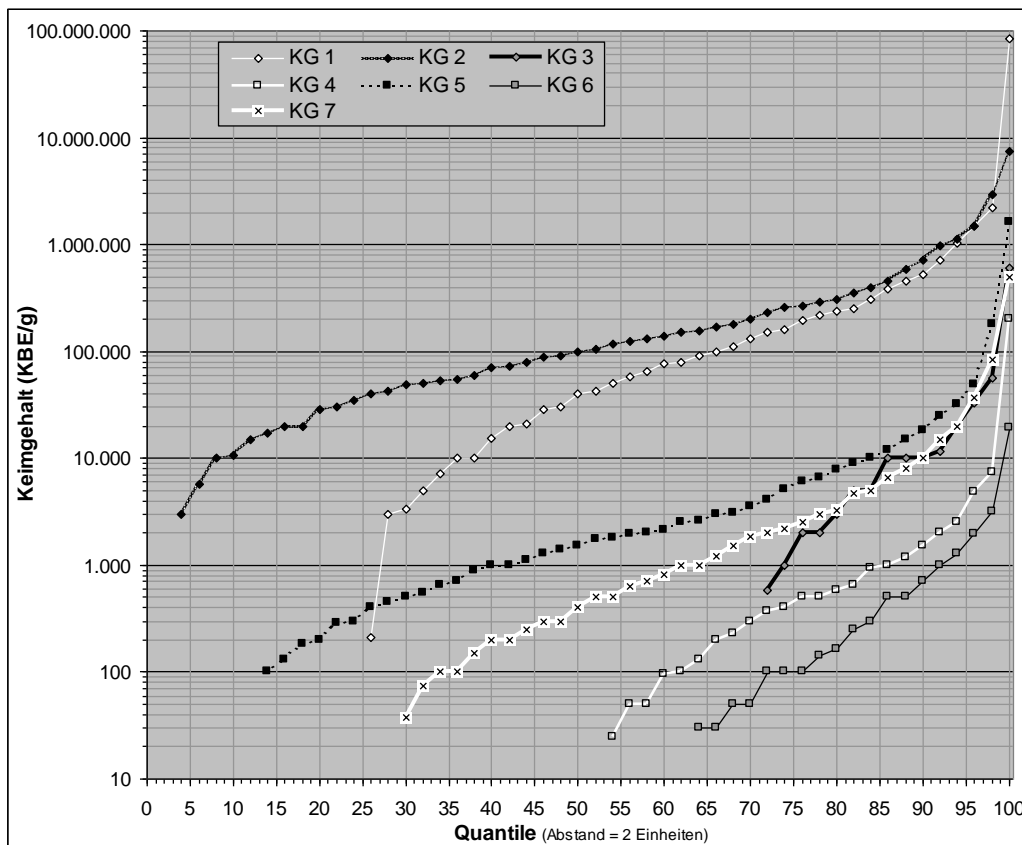


Abb. 2a: **Quantile** der Keimgruppen 1 bis 7 bei Extraktionsschroten (Soja und Lein), n= 429 Proben

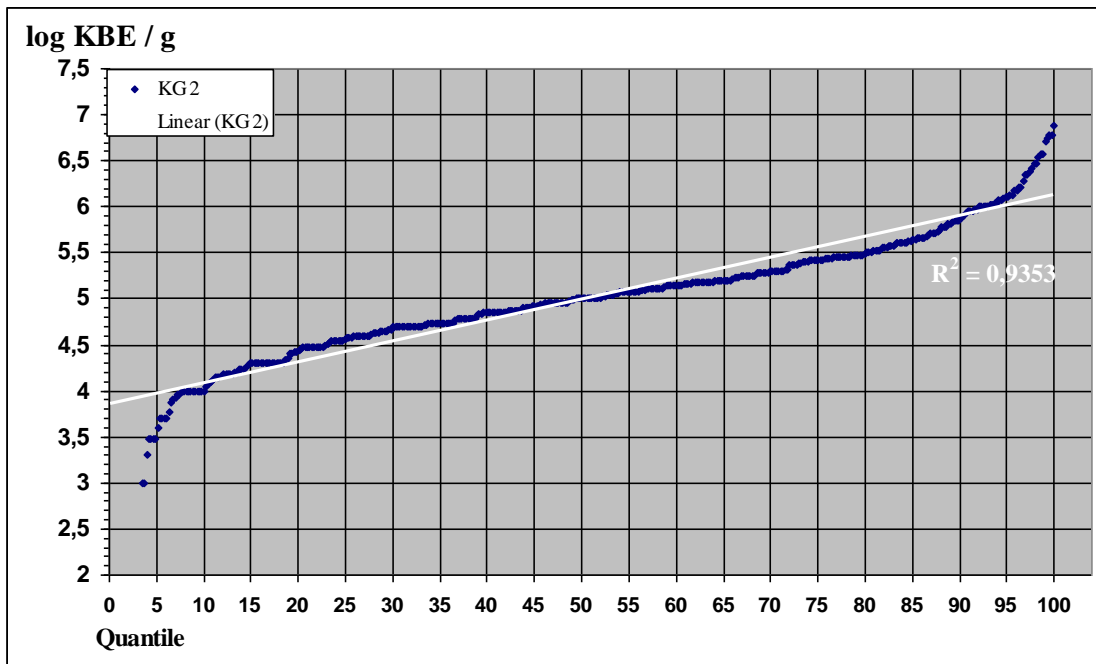


Abb. 2b: **Quantile** der Keimgruppe 2 (*Bacillus*, *Staphylococcus* und *Micrococcus*) bei Extraktionsschroten (Soja und Lein), n= 429 Proben

3.1 Ableitung von OWe für Futtermittel der Pilotstudie (Daten 1994-1996)

Es ergaben sich für die 4 Keimzahlstufen (KZS I bis KZS IV) der 7 Keimgruppen (KG) einige Besonderheiten und Ausnahmen von der Regel:

3.1.1 Häufungen der Zahlen 1 und 5 und deren Zehnerpotenzen (Abb. 3)

Dies ist methodisch bedingt durch das Verwenden von zwei Zähl-Platten je Verdünnungsstufe (VDLUFA-Methode 28.1.2). Wenn eine bzw. zwei Kolonien einer KG gefunden werden, so ergeben sich hieraus die gemittelten Zahlen 0,5 bzw. 1.

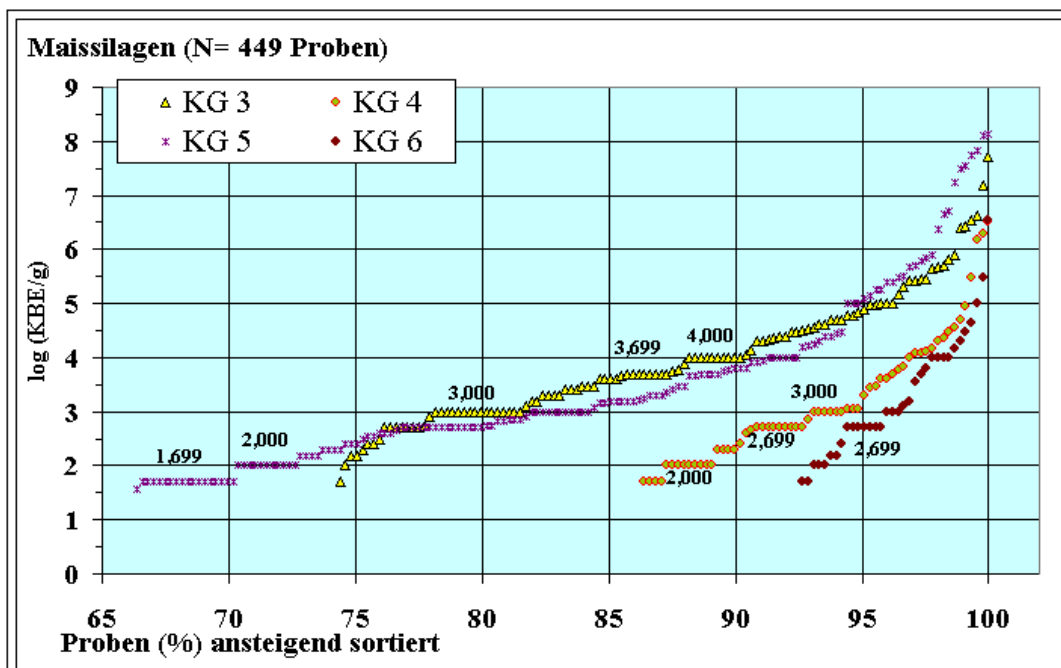


Abb.3 Methodische bedingte Häufung der Zahlen 1 bzw. 5 und deren Zehnerpotenzen am Beispiel eines Maissilagen-Kollektivs in halblogarithmischer Darstellung

3.1.2 Keine erkennbare log-Normalverteilung bei geringer Häufigkeit

von Indikatorkeimen in einer KG (Frequenz < 35 %)

3.1.3 Festsetzung fester Obergrenzen für verderbanzeigende Keimgruppen

KG 2: 1.000.000 KBE/g; KG 5: 50.000 KBE/g; KG 6 5.000 KBE/g

3.1.4 Konservierungsmittel: keine gesonderte Auswertung von Proben mit und ohne, da nur die Art der Konservierungsmittel deklarationspflichtig ist, nicht aber Konzentration und Einwirkdauer.

3.1.5 Das 90. Quantil entspricht nur dann der 90. Probe, wenn bei allen Proben ein Ergebnis über der Bestimmungsgrenze (BG) vorliegt (Häufigkeit = 100%).

3.1.6 Abweichen von der Regel für KZS II: Diese Keimzahlstufe ergibt sich, wenn ein Orientierungswert (OW) überschritten wird und zwar bis zum 5-fachen (Faktor 5)

3.2 Ableitung von OWe für sehr keimreiche Futtermittel (Daten 1999-2008)

Der Bereich um das 90. Quantil erbrachte für die von Natur aus keimreichen Futtermittel wie Brauereinebenerzeugnisse, Stroh und Heu sowie Gärfutter für einige Keimgruppen sehr hohe Keimzahlwerte. Daher wurde der 2/3-Wert (66,6 Quantil) als Bezugspunkt herangezogen, der sich zur Erstellung von OWe für diese Futtermittel auch bewährte (4).

3.3 Ableitung von OWe für weitere gepresste Mischfuttermittel (Daten 2003-2010)

Für die in einem Zeitraum von 8 Jahren durch 8 bzw. 9 Laboratorien gesammelten Daten für Mischfutter für Pferde bzw. Kaninchen konnte das Modell des 66,6. Quantils jedoch keine belastbaren OWe erbringen.

In mehreren Besprechungen des Arbeitskreises "Mikrobiologie" der VDLUFA-Fachgruppe VI (Futtermittel *jetzt: Futtermitteluntersuchung*) wurden mathematische Modelle zur OW-Ableitung vorgestellt (Bucher) und diskutiert, wobei zu diesem Zeitpunkt noch kein Modell für die gesamte Bandbreite der Futtermittel genügte (Abb. 4).

		Extraktionsschrote Schweinefutter		Malzkeime lose Maisilage Anweilsilage		
dec.	Aus Kurve abgelesen	90. Wert	x			
dec.		95. Wert	x			
dec.	Quantile	Quantil 66.66		x	x	x
dec.		Quantil 95 (/10)	x		x	x
dec.		Quantil 75 (*2)		x	x	
dec.	lineare Regression	X=100 (/10)			x	x
dec.	Y= a+bX	X=100	x	x		
log	lineare Regression	X=100 (/10)		x	x	x
log	Y= a+bX	X=95	x	x		
log	Funktionen (Mittelwert / Standard- abweichung/ STD-Fehler)	$10^{(x+0,5*s)}$		x	x	
log		$10^{(x+s)}$				x
log		$(x*1,5-s)$			x	
log		$10^{(x+s)*\text{Freq.}*10}$	x	x		

Abb. 4: Mathematische Modelle zur Ableitung von Orientierungswerten am Beispiel von fünf ausgewählten Futtermitteln.
Legende: x markiert passende Modelle.

Eine für alle Futtermittel anwendbare Ableitungsmethode hat sich erst später herauskristallisiert (3.5).

3.4 Ableitung von OWe für Getreide und Mais als Update (Daten 2002-2010)

Gerste, Hafer und Mais waren in der Pilotstudie (3.1) nicht Gegenstand der Gemeinschaftsuntersuchung. Für diese wurden die OW-Ableitungen für Weizen/Roggen/Triticale unter Berücksichtigung der Eigentümlichkeiten dieser 3 Einzelfuttermittel auf Basis fachlicher Gründe modifiziert auf diese übertragen *).

Zitat *)

Vorschlag: Orientierungswertschema, Bericht vom 12.12.2002

"Die mit Weizen und Roggen erzielten Ergebnisse wurden auf Mais, Gerste und Hafer unter Berücksichtigung ihrer mikrobiologischen Eigentümlichkeiten übertragen. Mais zeigt häufig höhere Keimzahlen an Hefen (KG 7) als Getreide. Gerste weist eine stärkere Besiedlung mit feldbürtigen Bakterien (KG 1) und Schimmelpilzen /Schwärzepilzen (KG 4) als Weizen auf. Der Besatz mit diesen beiden KG ist beim Hafer nochmals etwas höher, weil sich Feuchtigkeit nach Niederschlägen zwischen den Spelzen länger hält. Darüber hinaus wird er von allen Getreidearten am spätesten geerntet und ist somit der Witterung am längsten ausgesetzt."

2010 wurde im Arbeitskreis Mikrobiologie beschlossen, eine Datengrundlage für alle Getreidearten zu schaffen bzw. diese zu aktualisieren. Hierzu wurden Ergebnisse von Proben aus der amtlichen Kontrolle der zurückliegenden ca. 10 Jahre herangezogen und die OWe dahingehend überprüft, ob diese noch dem Stand der bisherigen Produktionstechnik und Sorteneigenschaften unter den differenten Witterungsbedingungen entsprechen und ggf. korrigiert werden müssen.

3.5 Methode zur Ableitung von OWe für alle Futtermittel

Neben relativ keimarmen Einzel- und Mischfuttermitteln, bei denen man die Unverdorbenheit (KZS I) meist um das 90. Quantil festmachen konnte (3.1), verlassen sehr keimreiche Futterstoffe diese Keimzahlstufe um etwa das 66. Quantil (3.2).

In der Regel liegt bei einem Zahlenkollektiv eine Normalverteilung der log-Zahlen für die Keimgruppen vor. Für die Daten (ohne Nullwerte) erwies sich das 50. Quantil plus einem Zuschlag als ein robustes Modell.

Die Höhe des Zuschlags (= Korrekturfaktor) wurde festgemacht am Median, der sich im Gegensatz zum arithmetischen Mittelwert gegenüber extremen Werten (z. B. Verderb) robuster verhält.

3.5.1 Festlegung des Korrekturfaktors

Die Unterscheidung zwischen keimarmen und keimreichen Futtermittel kann über die Keimzahl aller Bakterien (aus einem Nachweismedium) und der Keimzahl aller Hefen, Schimmel- und Schwärzepilze (differenziert aus 2 Nachweismedien) getroffen werden:

Formel 1 (relativ keimarme Einzel- und Mischfuttermittel)

Wenn Median

Summe **KG 1 bis 3** = $\leq 1.000.000$ KBE/g bzw. Summe **KG 4 bis 7** = ≤ 25.000 KBE/g

dann: log-Zahlen **50. Quantil plus 1**

Formel 2 (sehr keimreiche Futtermittel)

Wenn Median

Summe **KG 1 bis 3** = **>1.000.000** KBE/g bzw. Summe **KG 4 bis 7** = **>25.000** KBE/g
dann: log-Zahlen **50. Quantil plus 0,5**

Hierzu wird aus einem hinreichend großen Kollektiv von Proben eines Futtermitteltyps mit den logarithmischen Zahlen für KG (1+2+3) und KG (4+5+6+7) der Median berechnet, entweder mit größtmäßig unsortierten Daten (Anlage 2) oder mit aufsteigend sortierten Daten (Anlage 1), bei denen zugleich das Intercept (Schnittpunkt der Regressionsgeraden mit der Y-Achse) berechnet werden kann.

3.5.2 Anwendung des Korrekturfaktors

Nachfolgend werden die **50. Quantile plus Korrekturfaktor** aus den unsortierten Daten der 7 Keimgruppen errechnet

$$10^{\log(50.\text{Quantil} + 1)}$$

$$10^{\log(50.\text{Quantil} + 0,5)}$$

und die Ergebnisse in dezimale Zahlen transformiert (Anlage 2).

3.5.3 Vorläufige Festlegung von Orientierungswerten

Die aus diesen mathematischen Berechnungen (3.5.2) sich ergebenden Zahlen werden auf ihre Relevanz für die **7 Keimgruppen** hinsichtlich der hieraus sich ergebenden

- **Keimzahlstufen (KZS)** geprüft,
- die **Anteile der Qualitätsstufen I bis IV** ermittelt, sowie des sich hieraus ergebenden
- **Quantilsrang der KZS I** (Anlage 2) betrachtet.

3.5.4 Festlegungen im Arbeitskreis

- Die Zahlen der vorläufigen Ergebnisse nach 3.5.3 werden nachfolgend im Arbeitskreis unter fachlichen Gesichtspunkten und Besonderheiten diskutiert, angepasst und gerundet. Hierbei spielen Herstellungsprozesse, Gesichtspunkte aus der Tierernährung, andere mikrobiologische Aspekte und sonstige Erkenntnisse (z. B. Mikroskopie) eine Rolle.
- In einer Abstimmung (28.05.2010) des Arbeitskreises wurde dieses Modell für eine mathematische Ableitung für zukünftige Orientierungswerte mit 11 Ja-Stimmen und einer Enthaltung angenommen. Einige schon bestehenden OWe der Pilotstudie wurden mit diesen Formeln nachberechnet und korrigiert.
- Erhebungen von Daten für Futtermittel für die noch keine Orientierungswerte bestehen sind in Arbeit bzw. vorgesehen. Die Daten sind nach den Vorgaben in Punkt 3.5 zu verrechnen.

3.5.5 Anmerkung

Der Y-Achsenabschnitt (Intercept) korrespondiert insbesondere bei keimreichen Futtermitteln mit dem Median (Anlage 3, Blatt 2). Eine Einbeziehung des Intercepts in die Ableitung von OWe wurde im Arbeitskreis bisher noch nicht beschlussfähig diskutiert.

4. Schrifttum bzw. Fundstellen

(1) Vorschlag: Orientierungswertschema zur Auswertung der Ergebnisse mikrobiologischer Untersuchungen zwecks Beurteilung von Futtermitteln nach § 7 (3) Futtermittelgesetz unter Berücksichtigung der Gesichtspunkte des § 3 des Futtermittelgesetzes und der Artikel 3 der Richtlinien 79/373/EWG bzw. 96/25/EG

vorgelegt vom Arbeitskreis „Futtermittelmikrobiologie“ der Fachgruppe VI (Futtermittel) des Verbandes Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten (VDLUFA)-Bearbeiter: Dr. E. Bucher, Oberschleißheim und Dr. A. Thalmann, Karlsruhe

(2) Bucher E. und A. Thalmann: Orientierungswerte für Futtermittel – ein Beitrag zur Bewertung mikrobiologischer Ergebnisse

115. VDLUFA Kongress, 2003 Saarbrücken _ VDLUFA-Schriftenreihe 59 (2004)

(3) Bucher E. and Thalmann A.: Microbiological examination of feeds - Orientation values to assess soundness. Feed Magazine/Kraftfutter, 6/2006, 16-23.

(4) Erwin Bucher, Birte Andreas, Hanna Wolf and Gerhard Strauss: Development and definition of orientation values in silage. Meeting EFMO 2007 in Grub (D)_www.efmo.org

5. Kurzübersicht zum Inhalt der Anlagen

	Anlage 1	Anlage 2	Anlage 3
Bezeichnung	Median	Daten-OW Abl.	Median+ Intercept
	1 Blatt	3 Blätter	3 Blätter
Inhalte			
Daten	sortiert	unsortiert	
Daten Dimension	log KBE/g	log KBE/g	log KBE/g
Median	Summe KG (1+2+3)		
Median	Summe KG (4+5+6+7)		
Häufigkeit	KG (1+2+3) KG (4+5+6+7)	KG (1+2+3) KG (4+5+6+7) jede KG einzeln	
Modell 50Q. +1	Vorschlag	Berechnung	
Modell 50Q. +0,5	Vorschlag	Berechnung	
Modell 90Q.		90. Quantil	
Modell (2/3 Wert)		66,6. Quantil	
Intercept (Y-Achse)	Ja		KG (1+2+3) KG (4+5+6+7)
Quantilsrang (QR)			
QR 50 +1		jede KG	
QR 50 +0,5		jede KG	
QR 66,6 (keimreiche Futtermittel)		jede KG nur einige Futtermittel	
Orientierungswerte		beschlossen	