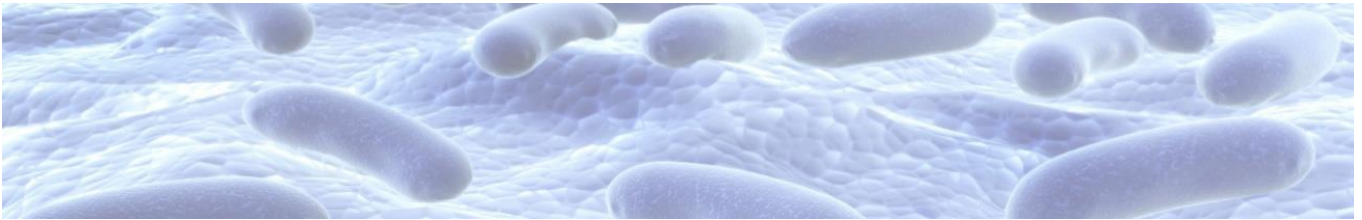


## Anmerkung zu den Verfahren der Probenahme und der mikrobiologischen Analyse



Zahlreiche Faktoren können die Wirksamkeit eines antimikrobiellen Bandes bei einer bestimmten Anwendung außerhalb des Labors beeinträchtigen. Wenn z. B. der antimikrobielle Wirkstoff auf Metallionen basiert, können die antimikrobiellen Eigenschaften des Bandes insbesondere durch die tägliche Reinigung unter Einsatzbedingungen beeinträchtigt werden.

Daher ist es von Interesse, Analyseverfahren zu entwickeln, mit denen die antimikrobiellen Eigenschaften der eingesetzten Bänder einer Anlage und insbesondere die Erhaltung derselben während der Lebensdauer des Bandes praktisch geprüft werden können.

### Ausschlaggebende Faktoren

Beim Vergleich der Ergebnisse eines unbenutzten Transportbandes mit den unter Einsatzbedingungen im Lebensmittelbetrieb erzielten Ergebnissen sind einige grundsätzliche Überlegungen zu beachten:

- Die Analysen müssen an Bändern durchgeführt werden, die bereits im Einsatz stehen. Andernfalls verfügt der Betreiber nur über die ursprünglichen Zertifikate der Bänder und es kann der Verdacht aufkommen, dass diese nur theoretische Eigenschaften ausweisen.
- Die Analysen müssen an Bändern durchgeführt werden, die zuvor einer wirksamen Hygienebehandlung unterzogen worden sind. Andernfalls sind die Ergebnisse nicht aussagekräftig und geben nicht die tatsächlichen antimikrobiellen Eigenschaften des Bandes wieder, weil sie vom Verschmutzungsgrad der Bandoberfläche abhängen.
- Im Fall von bestehenden Biofilmen auf dem Band werden die Mikroorganismen mit den üblichen Verfahren zur Probenahme im Betrieb (Abklatschplatten, Kontaktstreifen, Tupfer, Schwämme etc.) nicht vom Band gelöst. Die festgestellte Menge liegt dann mit hoher Wahrscheinlichkeit unter der tatsächlichen Menge und das Ergebnis ist nach unten verfälscht.

### Probenahmestellen

Transportbänder stellen aus der Sicht der Lebensmittelsicherheit typische Oberflächen mit hohem Risiko dar, ebenso wie Arbeitstische, Behälter und Gefäße, Handschuhe und Schürzen. Folgende Bänder bzw. Bereiche sind von allen Bändern einer Anlage am anfälligsten und daher bevorzugt als Probenahmestellen zu verwenden:

- Bereiche, in denen der stärkste Schmutz anfällt, und von diesen jene, die sich in der Nähe sauberer Bereiche befinden.
- Bereiche, die für die sachgerechte Durchführung von Hygienemaßnahmen nur schwer zugänglich sind.

- Bereiche, in denen organische Rückstände aus Zucker, Fetten oder Proteinen anfallen können. Zucker ist ein von Mikroorganismen leicht zu verwertender Nährstoff. Fette und Proteine begünstigen das rasche Anhaften der Mikroorganismen an den Oberflächen. Zusammen bilden sie ggf., in Abhängigkeit vom verarbeiteten Lebensmittel, eine schwer zu entfernende Schmutzschicht.
- Nasse oder feuchte Bänder bzw. solche, die sich in der Nähe von offenen Abflussrinnen befinden.
- Bereiche mit einer intensiven Tätigkeit des Bedienpersonals.
- Bereiche, wo ein Verdacht oder Beweis für die Bildung von Biofilmen besteht.
- Bereiche, in denen unmittelbar nach tödlichen Behandlungen eine Verarbeitung stattfindet.
- Verpackungsbereiche, in denen die Möglichkeit einer neuerlichen Kontamination besteht.

Die Feststellung kritischer Bereiche ist Bestandteil des HACCP-Systems. Wenn es viele solche Bereiche gibt, wird meist eine Wechselfolge festgelegt, sodass alle kritischen Bereiche innerhalb einer festgelegten Frist kontrolliert werden.

## Ziel der Analysen

Ein für den Verkauf bestimmtes antimikrobielles Transportband muss die geltenden Bestimmungen in Bezug auf chemischen Austausch und niedrige Toxizität erfüllen, damit das transportierte Produkt nicht kontaminiert wird. Dies bedeutet, dass sein antimikrobieller Wirkstoff kein Bakterizid, sondern ein Bakteriostatikum sein sollte. **Der Wirkstoff soll verhindern, dass Mikroben vom Band auf das transportierte Produkt übertragen werden**, und das festzustellen ist das Ziel der Analysen. Von einem antimikrobiellen Band ist nicht zu erwarten, dass es die Aufgabe eines Desinfektionsmittels erfüllt.

**Damit bei den Analysen die Eigenschaften des Bandes und nicht die Wirksamkeit der Reinigung überprüft werden**, ist es wichtig, über eine Kontrollprobe zu verfügen. Die beste Kontrollprobe erhält man, wenn ein geprüftes Band aus zwei anschließenden Segmenten besteht. Ein Band mit „antimikrobieller Wirkung“ und ein Band ohne antimikrobielle Eigenschaften oder mit einem antimikrobiellen Band eines anderen Herstellers. Dann sind auf die Proben der beiden Abschnitte die gleichen Analyseverfahren anzuwenden und die Ergebnisse zu vergleichen. Um sicherzustellen, dass die beiden Proben einander nicht beeinflussen, sollten die Probenahmestellen nicht im Anschlussbereich der beiden Bänder liegen. Wenn das Band nicht ausgebaut werden kann, weil es aus Produktionsgründen weiter betrieben werden muss, können die Schnitte am Bandrand erfolgen.

## Mikrobiologische Analyseverfahren Abklatschplatten, Kontaktstreifen und Tupfer

Es gibt keine gesetzlichen Vorschriften in Bezug auf Häufigkeit, Verfahren und kritische Grenzwerte für die Reinigung und Desinfektion von Oberflächen, die in Kontakt zu Lebensmitteln stehen. Um geeignete hygienische Bedingungen herzustellen, legen die Betriebe Reinigungsprotokolle fest. Diese umfassen neben Sichtprüfungen auch Verfahren zur Probenahme und Analyse. Gängige Verfahren zur Probenahme für die mikrobiologischen Analyse sind RODAC-Platten, Kontaktstreifen und Tupfer.

Bei den Probenahmen mittels Abklatschplatten muss die Beprobungsfläche sauber und trocken sein. Die Abklatschplatte ist leicht anzudrücken, sodass ein 15 - 20 Sekunden dauernder Kontakt, der gesamten Platte mit der Beprobungsfläche gewährleistet ist. Im Fall der Kontaktstreifen ist das Verfahren identisch wie bei Abklatschplatten; nur das Material und die Auswertung sind unterschiedlich. Im Fall der Verwendung von Tupfern oder Schwämmen müssen diese mit Neutralisationslösungen befeuchtet werden, damit die aufgenommenen Mikroorganismen bis zur Analyse erhalten bleiben. Die Tupfer sind auf einer Beprobungsfläche von 100 cm<sup>2</sup> zu verwenden.

Im Fall einer größeren Beprobungsfläche ist ein Schwamm einzusetzen. In beiden Fällen ist der Tupfer bzw. Schwamm mit leichtem Druck zuerst in eine Richtung, dann im rechten Winkel dazu und dann schräg dazu über die ganze Beprobungsfläche zu ziehen.

Alle diese Verfahren sind sehr praktisch und im Betrieb leicht einsetzbar. Aufgrund der manuellen Form der Probenahme, des Zeitpunkts der Beprobung und der Umweltbedingungen lässt sich dabei jedoch ein gewisses Maß an Unsicherheit nicht vermeiden.

Darüber hinaus muss der für die Analyse verwendete Nährboden Wirkstoffe zur Neutralisation der eingesetzten Desinfektionsmittel enthalten. Dies ist aus Gründen der Identifikation und Dosierung ein weiterer Unsicherheitsfaktor. Das Problem kann umgangen werden, wenn der richtige Zeitpunkt zur Probenahme beachtet wird. Die Beprobung sollte vor der Wiederaufnahme der Produktion oder zumindest nicht direkt nach den Hygienemaßnahmen erfolgen. Der Grund dafür ist, dass eventuell vorhandene resistente Mikroorganismen wegen der aggressiven chemischen Produkte nach den Hygienemaßnahmen lebensfähig aber nicht kultivierbar sind. Daher ist es besser, einige Zeit verstreichen zu lassen, damit die chemischen Rückstände der Reinigungsmittel inaktiv werden und die Mikroorganismen ihre Schäden reparieren können. In diesem Fall kann auf die oben genannten Neutralisationsmittel verzichtet werden und die Ergebnisse der mikrobiologischen Analysen sind zuverlässiger.

Daraus folgt, dass die Probenahme am besten nach der nächtlichen Produktionsunterbrechung oder noch besser nach einer eventuellen Produktionsunterbrechung am Wochenende durchgeführt werden sollte. Dies ist jedoch mit der Schwierigkeit verbunden, um 6:00 Uhr morgens über entsprechendes technisches Personal zu verfügen.

Das Problem der Zuverlässigkeit der Beprobung wird durch Biofilme noch verstärkt. Diese Bakteriengesellschaften werden durch die herkömmlichen betrieblichen Reinigungs- und Desinfektionsprotokolle meist nicht entfernt. Genauer gesagt: Wenn der verwendete Reiniger die extrazellulären polymeren Substanzen, die die Schutzmatrix der Biofilme bilden, nicht zerstört, so hat die nachfolgende Anwendung eines bioziden Desinfektionsmittels keine Auswirkungen auf die Stoffwechselfähigkeit der Bakterien, die von der Matrix geschützt werden. Mit Abklatschplatten, Kontaktstreifen, Tupfern oder Schwämmen können freie Bakterien festgestellt werden, jedoch keine Bakterien, die sich unter der Schutzmatrix des Biofilms befinden. Biofilme, die per Definition an der Oberfläche des Transportbands festkleben, können nicht mit Verfahren entdeckt werden, die diese Biofilme nicht lösen können. Dieses Problem wird durch den **Einsatz des Reinigers WASB** gelöst, der die Schutzmatrix der Biofilme zuverlässig zerstört und die Wirksamkeit des anschließend aufgetragenen Desinfektionsmittels sicherstellt.

## **Die Normen ISO 22196, ASTM E 2149, JIS Z 2801 und ihre Anwendung im Labor des Betreibers**

Die obigen Ausführungen zu den ausschlaggebenden Faktoren, Probenahmestellen und Analyseverfahren lassen es ratsam erscheinen, die antimikrobiellen Transportbänder im Rahmen der Maßnahmen zur Lebensmittelsicherheit zumindest gelegentlich von einem externen Referenzlabor nach der europäischen Norm ISO 22196 („Messung antibakterieller Aktivität auf Kunststoffoberflächen“), ihrer amerikanischen Entsprechung ASTM E 2149 oder ihrer japanischen Entsprechung JIS Z 2801 („Messung antibakterieller Aktivität auf Kunststoffoberflächen“) untersuchen zu lassen. Die genannten Normen messen die Hemmung des Wachstums von Mikroorganismen auf einem antibakteriellen Transportband im Vergleich zu einem nicht antibakteriellen Kontrollband. Das Kontrollband gewährleistet, dass nicht die Wirksamkeit des Reinigungsverfahrens gemessen wird.

Als Ersatz dafür können die Betreiber von Transportbändern die Verfahren der genannten Normen im eigenen Labor wie folgt nachvollziehen:

1. Ein ca. 5 x 5 cm großes Stück vom verwendeten, sauberen Transportband herausschneiden. Durch das Ausschneiden am Seitenrand wird die Aufnahmekapazität des Bandes (praktisch) nicht beeinträchtigt.
2. Ein 4 x 4 cm großes Stück eines sterilen Stomacher-Beutels (oder eines ähnlichen Beutels für Labormischer) unter sterilen Bedingungen ausschneiden.
3. Ein Reagenzglas mit destilliertem Wasser oder gepuffertem Peptonwasser mit dem zu prüfenden Mikroorganismus impfen. Die Menge an Inokulum sollte bei ca. 5 log KBE/ml liegen (KBE = koloniebildende Einheiten).
4. Das Bandstück in eine Petri-Schale legen. Das Reagenzglas mit dem Inokulum schütteln und 0,1 ml des Inhalts auf das Bandstück tropfen. Danach eine zuvor abgeschnittene sterile Kunststoffolie mit Hilfe steriler Pinzetten über die Probe legen und den Deckel auf die Petri-Schale setzen.
5. Die Petri-Schale in eine Kunststoffschachtel geben, die zuvor mit vollständig mit Wasser getränktem Papiertuch ausgelegt wurde. Das Papiertuch muss tropfen, um ein feuchtes Innenklima zu schaffen, damit die 0,1 ml Menge Inokulum nicht austrocknet. Es empfiehlt sich zu prüfen, dass die Schachtel innen feucht bleibt, damit die Probe nicht austrocknet.
6. 24 Stunden lang inkubieren, idealerweise bei 35 °C.
7. Auf die gleiche Weise ist mit der Kontrollprobe aus dem sauberen und ebenfalls verwendeten, nicht antimikrobiellen Transportband bzw. aus dem antimikrobiellen Transportbands eines anderen Herstellers zu verfahren.

Stand, Juni 2015

#### Quellen:

Dr. José Juan Rodríguez Jerez. Professor für Ernährungslehre und Bromatologie. Leiter der Forschungsgruppe Biorisc-GRISC. Veterinärmedizinische Fakultät. Universidad Autónoma de Barcelona  
M. Garriga, T. Aymerich, S. Bover-Cid, N. Grèbol, A. Fauquet, E. Tenorio, R. Encinas, C. Carretero, M. Toldrà, E. Saguer, A. Hueso und N. Bruch. Manual de seguridad alimentaria para el sector cárnico porcino (2013). Innovacc 4:22-23. Der Inhalt des vorliegenden Dokuments liegt im alleinigen Verantwortungsbereich des Bandherstellers.