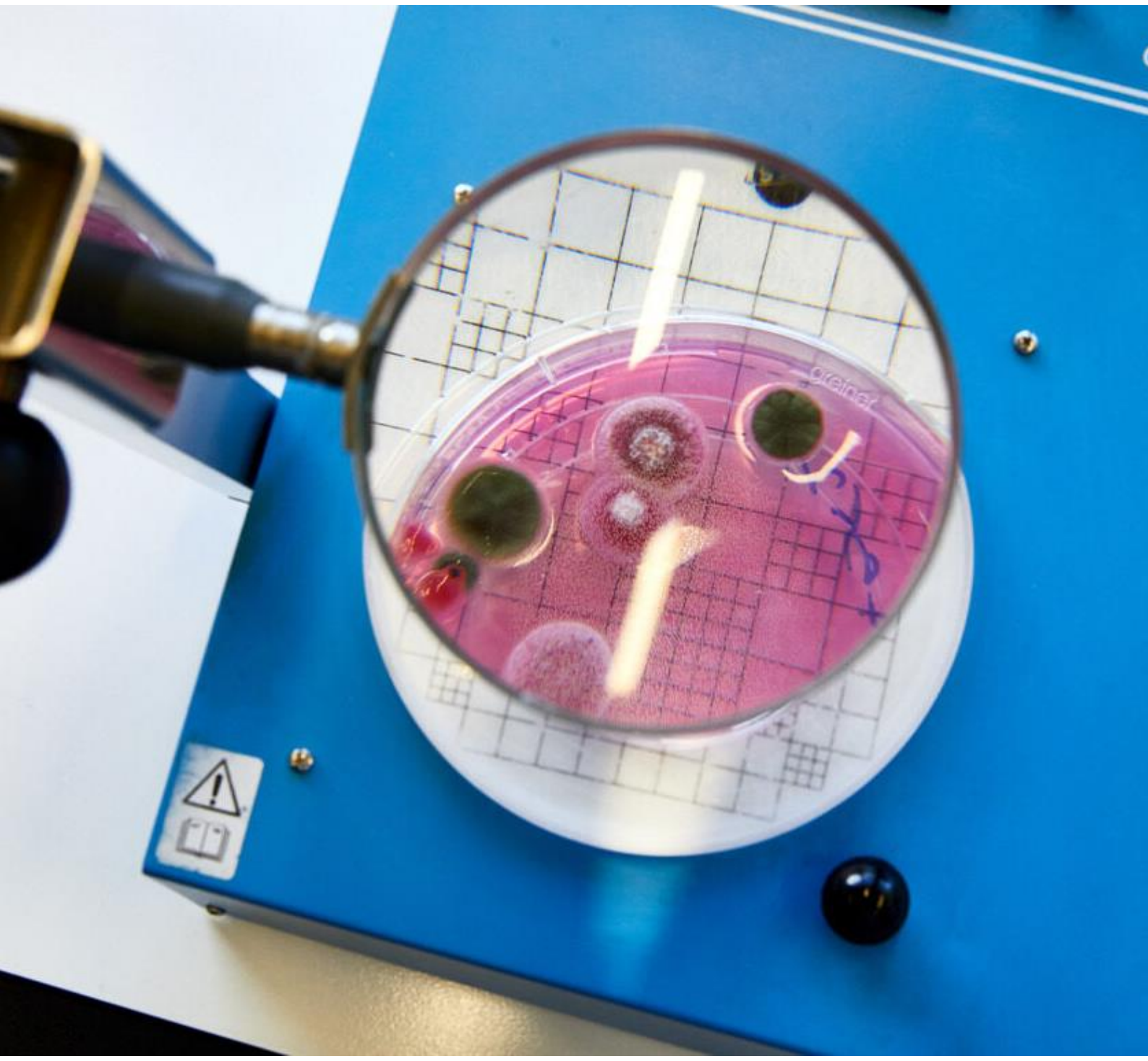


Erläuterung

# Mikrobiologie & Probennahme bei der Be-/Verarbeitung von Obst, Gemüse, Kartoffeln



Stand: 01.04.2022



# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Grundsätzliches</b>	<b>4</b>
<b>2</b>	<b>Hintergrund</b>	<b>4</b>
<b>3</b>	<b>Mikroorganismen</b>	<b>4</b>
<b>3.1</b>	<b>Übertragungswege und Temperatureinfluss</b>	<b>5</b>
<b>3.2</b>	<b>Aerobe mesophile Koloniezahl</b>	<b>6</b>
<b>3.3</b>	<b>Enterobacteriaceae</b>	<b>6</b>
3.3.1	<i>Escherichia coli</i> ( <i>E. coli</i> )	7
3.3.2	EHEC – Enterohämorrhagische <i>Escherichia coli</i>	7
3.3.3	<i>Salmonella</i> spp.	7
<b>3.4</b>	<b><i>Listeria monocytogenes</i> (<i>L. monocytogenes</i>)</b>	<b>7</b>
<b>3.5</b>	<b>Koagulase-positive Staphylokokken</b>	<b>8</b>
<b>3.6</b>	<b>Präsumtive <i>Bacillus cereus</i></b>	<b>8</b>
<b>3.7</b>	<b><i>Campylobacter</i> spp.</b>	<b>9</b>
<b>3.8</b>	<b>Hefen</b>	<b>9</b>
<b>3.9</b>	<b>Schimmelpilze</b>	<b>9</b>
<b>3.10</b>	<b>Viren</b>	<b>10</b>
3.10.1	Hepatitis A-Viren	10
3.10.2	Noroviren	11
<b>4</b>	<b>Mikrobiologische Untersuchungen</b>	<b>11</b>
<b>4.1</b>	<b>Allgemeines zur Lebensmittelhygiene inklusive Reinigung und Desinfektion</b>	<b>11</b>
<b>4.2</b>	<b>Probenahme, Probentransport und Dokumentation</b>	<b>12</b>
4.2.1	Allgemeine Hinweise zur Probenahmeplanung	12
4.2.2	Probenahme	12
4.2.3	Probentransport	13
4.2.4	Probenbegleitdaten und Dokumentation der Probenahme	13
4.2.5	Probenahmepläne	13
<b>4.3</b>	<b>Äußere Einflussfaktoren auf Produkt- und Umfeldproben</b>	<b>14</b>
4.3.1	Einflussfaktor Feld und Anbau: Landwirtschaftliches Betriebswasser	15
4.3.2	Einflussfaktor Feld und Anbau: Düngemittel	15
4.3.3	Einflussfaktor Feld: Klima und Standort	15
4.3.4	Einflussfaktor Feld: Tierische Wirte	15
4.3.5	Einflussfaktor Feld: Personalhygiene/Ernteteams	15
4.3.6	Einflussfaktor Feld: Hygienebedingungen Transportgebinde und Erntewerkzeug	15
4.3.7	Einflussfaktor Packbetrieb: Wasch- und Aufbereitungsprozesse	16
4.3.8	Einflussfaktor Packbetrieb: Kontaktflächen (Maschinen, Förderbänder, Geräte, Behälter)	16
4.3.9	Einflussfaktor Packbetrieb: Personalhygiene	16
<b>4.4</b>	<b>Probenahme für mikrobiologische Untersuchungen von Oberflächen und Einrichtungsgegenständen</b>	<b>16</b>
4.4.1	Abstrich-/Abwischverfahren	17
4.4.2	Abdruck-/Abklatschverfahren	17
4.4.3	Biolumineszenzverfahren	19
4.4.4	Spezielle Hinweise zum Listerienmonitoring	19
4.4.5	Bewertungsschema für mikrobiologische Untersuchungen von Oberflächen im Produktionsumfeld und von Ausrüstungsgegenständen	20

<b>5</b>	<b>Abkürzungs-/Begriffsverzeichnis.....</b>	<b>20</b>
<b>6</b>	<b>Literaturnachweis .....</b>	<b>22</b>

## 1 Grundsätzliches

Die nachfolgende Arbeitshilfe enthält Informationen zu Mikrobiologie und Probenahme. Sie dient zur Orientierung bei der Umsetzung der im Leitfaden „Bearbeitung/Verarbeitung Obst, Gemüse, Kartoffeln“ so wie in der Anlage 11.2 zum Leitfaden QS-GAP „Anforderungen an Bearbeitungsprozesse“ beschriebenen Anforderungen. Ebenso dient die Arbeitshilfe als Unterstützung zur Durchführung des mikrobiologischen Monitorings in den Filialen des Lebensmitteleinzelhandels (Kapitel „Schnippelküche/Bearbeitung im Lebensmitteleinzelhandel“). Die vorliegenden Informationen können als Entscheidungshilfe betriebspezifischer Maßnahmen herangezogen werden. Die Arbeitshilfe erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit der Angaben. Maßgebend für die unabhängige Kontrolle sind die in den Leitfäden beschriebenen Anforderungen.

## 2 Hintergrund

Neben natürlichen Vorgängen wie Atmung, Wasserabgabe und Abbau von Reservestoffen können Mikroorganismen die Qualität von Obst und Gemüse erheblich beeinflussen und deren Verderb verursachen. Obst und Gemüse enthalten Fruchtsäuren und andere antimikrobiell wirkende Substanzen, die sie eine Zeit lang vor dem mikrobiellen Verderb schützen. Dennoch ist eine angemessene Lagerung wichtig, um die Qualität von Obst und Gemüse aufrechtzuerhalten. Bei der Lagerung muss ein Kompromiss zwischen den Anforderungen an die Erhaltung der mikrobiellen und der allgemeinen Qualität hergestellt werden. D. h. die Luftfeuchtigkeit und die Temperatur müssen so gewählt werden, dass sie den physiologischen Anforderungen von Obst und Gemüse entsprechen und gleichzeitig das Wachstum der Mikroorganismen hemmen. Die Lagerung kann in einem Normallager, Frischluftlager, Normalkühlager oder im sogenannten Controlled atmosphere (CA)-Lager erfolgen. Das Lagerverhalten von Obst und Gemüse ist zum einen kulturspezifisch, zum anderen hängt es von den landwirtschaftlichen Maßnahmen wie Düngung, Bewässerung, Erntezeitpunkt usw. ab.

Der Verderb von Obst geht oftmals von der Oberfläche aus und wird in der Regel durch Pilze verursacht, da sie das saure Milieu im Inneren der Früchte gut tolerieren können. Pilze kommen in der natürlichen Umgebung vom Obst vor und dringen über Beschädigungen der Oberfläche, über natürliche Öffnungen aber auch direkt durch intaktes Abschlussgewebe in das Fruchtgewebe ein.

Gemüse weist einen pH-Wert auf, bei dem neben Pilzen auch Bakterien wachsen und zum Verderb der Lebensmittel führen können. Zudem wächst Gemüse häufig in unmittelbarer Nähe oder im Erdboden, sodass die Ernteprodukte naturgemäß immer mit Pilzen und Bakterien in Berührung kommen. Wenn mykotoxinbildende Pilze vermehrt auftreten, geht davon eine gesundheitliche Gefährdung aus. Des Weiteren können pathogene (krankmachende) Mikroorganismen (Bakterien, Viren) oder Parasiten (Wurmeier) mit dem Obst oder Gemüse durch den Verzehr aufgenommen werden. Solche Krankheitserreger können z. B. durch Anwendung organischer Düngemittel oder durch das Waschen bzw. Bewässern mit fäkal verunreinigtem Wasser auf das Obst und Gemüse gelangen. Dadurch können Salmonellen, Shigellen, *Escherichia coli* und anderen Bakterien sowie Viren, Protozoen und Wurmeiern übertragen werden. Mikrobiologisch besonders anfällig sind geschnittene Salate (Fresh Cut). Durch die Zerkleinerung, die damit verbundene Oberflächenvergrößerung und den Austritt von Zellsaft wird der natürliche Schutz der Pflanze weitgehend zerstört. In den Folienverpackungen entsteht aufgrund von Atmungsaktivität eine bestimmte Gaszusammensetzung, welche die Vermehrung pathogener Keime wie Salmonellen und *Listeria monocytogenes* fördert und somit zu einer Gesundheitsgefährdung führen kann.<sup>(1)</sup>

**Hinweis:** Zur Verminderung des Infektionsrisikos ist unter anderem möglichst keimarmes Ausgangsmaterial zu verwenden und die Kühlkette lückenlos einzuhalten.

Mikroorganismen können die Qualität von Obst und Gemüse erheblich beeinflussen und deren Verderb verursachen. Dementsprechend sind mikrobiologische Untersuchungen erforderlich. Die konkreten QS-Anforderungen an das mikrobiologische Monitoring der Produkte sowie die mikrobiologischen Untersuchungen innerhalb der Betriebsanlage können dem jeweiligen QS-Leitfaden entnommen werden.

## 3 Mikroorganismen

Mikroorganismen sind mikroskopisch kleine Lebewesen (Bakterien, Schimmelpilze, Hefen) bzw. organische Strukturen (Viren). Ihre Größe reicht von ca. 0,02 bis 0,04 µm bei Viren, über ca. 0,5 bis 5 µm bei Bakterien, ca. 5 bis 10 µm bei Hefen und bis zu ca. 1 bis 2 mm bei Schimmelpilzen.

Bei der Lebensmittelherstellung sind Mikroorganismen – bis auf wenige Ausnahmen – unerwünscht, da sie die Haltbarkeit und Genusstauglichkeit der Lebensmittel einschränken können.<sup>(2)</sup>

Einteilung der Mikroorganismen und deren Wirkung:

- Verderbniskeime
  - Führen durch Abgabe von Stoffwechselprodukten und/oder durch Abgabe bestimmter Enzyme zum Verderb von Lebensmittel (Geruch, Geschmack, Konsistenz, Aussehen)
  - z. B. Hefen, Schimmelpilze, Clostridien
- Pathogene Mikroorganismen
  - Diese haben die Fähigkeit, einen Organismus zu schädigen (pathogen = eine Krankheit verursachend)
  - z. B. Salmonellen, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter*
- Lebensmittelintoxikation
  - Bildung von Toxinen im Lebensmittel durch den Mikroorganismus. Nicht der Keim selbst ist „giftig“, sondern seine im Lebensmittel gebildeten Stoffwechselprodukte
  - z. B. *Clostridium botulinum*, *Staphylococcus aureus*
- Lebensmittelinfektionserreger
  - Der Mikroorganismus selbst ist krankmachend. Schädigende Wirkung findet im Wirts-Organismus selbst statt
  - z. B. Salmonellen, *Listeria monocytogenes*
- Toxikoinfektion
  - Mikroorganismus bildet nach Aufnahme im Wirts-Organismus Toxin, welches den Wirtsorganismus dann schädigt
  - z. B. EHEC (*enterohämorrhagische Escherichia coli*)

### 3.1 Übertragungswege und Temperatureinfluss

Die Übertragungswege von Mikroorganismen auf Lebensmittel können vielfältig sein. Die folgenden Punkte stellen eine Auflistung möglicher Übertragungswege dar:

- Lebensmittelreste: Veränderung durch chemische, physikalische und mikrobiologisch bedingte Prozesse
- Ablagerungen: Bildung aus unlöslichen Salzen
- Biofilme: Entstehung aus extrazellulär gebildeten polymeren Substanzen von Mikroorganismen
- Verunreinigungen, Schmutz: Staub, Abrieb, Dichtungs- und Schmierfette
- Übertragung durch schlechtes Nachspülwasser nach Reinigung und Desinfektion
- Luft
- Personal

Neben chemischen und physikalischen Einflüssen ist die Temperatur ein bedeutsamer Außenfaktor, der Einfluss auf das Überleben und die Vermehrung von Mikroorganismen hat:

- Kälte: Hemmung der Vermehrung.
- Wärme: Mäßige Wärme fördert die Vermehrung. Zwischen 20 °C und 40 °C vermehren sich die meisten Mikroorganismen am schnellsten.
- Hitze: Ab ca. 62 °C aufwärts werden die meisten Mikroorganismen abgetötet. Einige Sporenarten überleben bis ca. 134 °C.<sup>(3)</sup>

Tabelle 1 zeigt den Einfluss unterschiedlicher Temperaturen auf Mikroorganismen und wie Wärme- und Kältebehandlungen bei der Lebensmittelproduktion eingesetzt werden.

Tabelle 1: Temperatureinfluss auf Mikroorganismen

Temperatur	Behandlung von Lebensmitteln	Mikroorganismen
140 °C (für Sek.)	UHT (Ultrahoherhitzung)- Verfahren für Milch	Milch wird praktisch keimfrei
120 °C (für Min.)	Sterilisation von Konserven	Widerstandsfähigen Bakteriensporen werden fast alle abgetötet
100 °C (für Min.)	Siedepunkt Wasser	
90 °C (für Min.)	Temperaturbereich bei der Pasteurisation	Abtöten von Salmonellen und anderen hitzelabilen Bakterien in wenigen Minuten Über 60 °C: Bakterien sind nicht mehr wachstumsfähig
62 °C (für mind. 30 Min.)		
65 °C	Gefahrenzone	
40 °C	Kritische Gefahrenzone	Optimale Wachstumstemperaturen für Mikroorganismen
20 °C		
10 °C	Gefahrenzone	
-18 °C	Lagerung von Tiefkühlprodukten	Bakterienwachstum/Vermehrung gestoppt, aber Bakterien werden nicht abgetötet. Unter günstigen Bedingungen (Aufthauen, Aufwärmen) setzen Wachstum und Vermehrung wieder ein.

Quelle: modifiziert nach Almedica AG 2012, S. 18<sup>(4)</sup>

### 3.2 Aerobe mesophile Koloniezahl

Aerobe (sauerstoffliebende) mesophile (wärmeliebende) Keime sind Bakterien, die unter Sauerstoff und bei mittleren Temperaturen am besten wachsen. Die Koloniezahl ist ein Maß für den allgemeinen mikrobiellen Zustand eines Lebensmittels. Je nach Art des Lebensmittels können hohe Koloniezahlen auf Mängel in der Prozess-/Personalhygiene hinweisen. Die aerobe mesophile Koloniezahl wird auch als Hygieneindikator und bei Reinigungskontrollen herangezogen.<sup>(5)</sup>

**Hinweis:** Bei der Bewertung der aeroben mesophilen Koloniezahl sind u. a. die Art des Lebensmittels, die Aufwuchs- und Erntebedingungen sowie Verarbeitungsprozesse zu berücksichtigen.

### 3.3 Enterobacteriaceae

Unter dem Begriff *Enterobacteriaceae* werden verschiedene Bakterienarten zusammengefasst, die im Darm von Menschen und Tieren, aber auch im Boden, im Wasser oder auf Pflanzen vorkommen. Sie sind salz- sowie hitzeempfindlich und haben geringe Ernährungsansprüche, weswegen sie sich auf ungenügend gereinigten Oberflächen gut vermehren können. Unter den *Enterobacteriaceae* finden sich zudem eine Vielzahl von Krankheitserregern (bspw. *Salmonella*, *Shigella*, *EHEC/STEC/ VTEC*).

**Hinweis:** Bei der Bewertung der Koloniezahl der *Enterobacteriaceae* sind u. a. die Art des Lebensmittels, die Aufwuchs und Erntebedingungen sowie Verarbeitungsprozesse zu berücksichtigen. In gegarten Lebensmitteln deutet der Nachweis von *Enterobacteriaceae* auf Mängel im Erhitzungsprozess und/oder einer nachträglichen Verunreinigung des Lebensmittels hin.<sup>(6)</sup>

### 3.3.1 *Escherichia coli* (*E. coli*)

*E. coli* ist ein natürlich vorkommender Keim im Darm von Vögeln und warmblütigen Säugetieren. Er ist Bestandteil der Darmflora des Menschen. Bestimmte Stämme von *E. coli* können bei Tieren und Menschen schwerwiegende Erkrankungen hervorrufen (*EHEC/STEC/VTEC*)<sup>(7)</sup>. Eine Vielzahl von *E. coli* Stämmen ist aber apathogen und somit für die menschliche Gesundheit nicht gefährlich.

Vorbeugende Maßnahmen:

- Strenge Überwachung der Personal- und Produktionshygiene und der Wasserversorgung<sup>(8)</sup>
- Optimierung des Rohstoffmanagements

**Hinweis:** *E. coli* ist ein typischer Fäkalindikator. Kommt eine erhöhte Kolonieanzahl von *E. coli* in Lebensmitteln vor, so deutet dies auf Hygienemängel oder Fehler im Herstellungsprozess hin.<sup>(6)</sup>

### 3.3.2 *EHEC* – Enterohämorrhagische *Escherichia coli*

Enterohämorrhagische *Escherichia coli* (*EHEC*) bzw. Shigatoxin-bildende *Escherichia coli* (*STEC*)/

Verotoxin-bildende *Escherichia coli* (*VTEC*) kommen natürlicherweise im Darm von Wiederkäuern vor und werden mit dem Kot der Tiere ausgeschieden. Die Keime können direkt oder indirekt vom Tier auf den Menschen oder von Mensch zu Mensch übertragen werden und Krankheiten (Durchfall, Übelkeit, Erbrechen, ggf. Komplikationen (HU-Syndrom)) auslösen. Die wichtigsten Infektionsquellen für den Menschen sind rohe oder nicht durchgegarnte Rindfleischprodukte und Rohmilch.<sup>(1)</sup> Die Übertragung von *EHEC*-Keimen auf Obst und Gemüse kann z. B. durch *EHEC* kontaminiertes Wasser oder organischen Dünger erfolgen. Darüber hinaus kann es bei der Zubereitung von Speisen zu Kreuzkontaminationen kommen, wobei die Keime beispielsweise vom rohen Fleisch auf ein verzehrfertiges Lebensmittel (wie z. B. Salat) übertragen werden. Die Kontamination pflanzlicher Lebensmittel kann aber auch über Hände bzw. Küchenutensilien erfolgen.<sup>(8)</sup> *EHEC*-Stämme zeigen eine starke Säuretoleranz und überleben eine Lagerung in Lebensmitteln bei 4 °C sowie Gefriertemperaturen von -20 °C bis -80 °C für bis zu 9 Monate.<sup>(9)</sup>

Vorbeugende Maßnahmen:

- Strenge Überwachung der Personal- und Produktionshygiene und der Wasserversorgung<sup>(10)</sup>
- Optimierung der Hygiene
- Ggf. Berücksichtigung im HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point)-Konzept<sup>(1)</sup>

### 3.3.3 *Salmonella* spp.

Die stäbchenförmigen Bakterien der Gattung *Salmonella* spp. sind bedeutsame bakterielle Durchfallerreger beim Menschen. Hauptreservoir für die Salmonellen ist der Darmtrakt zahlreicher Tiere, wie Schweine, Rinder, Kälber, Geflügel, Wild, Nager, Tauben und Möwen. Die Übertragung erfolgt meist von dem Tier auf den Menschen durch den Verzehr tierischer Lebensmittel.<sup>(11)</sup> Besonders häufig werden Salmonellen in Geflügelbeständen nachgewiesen. Roheienthaltende Lebensmittel und Fleischprodukte sind die wichtigsten Infektionsquellen für Salmonellen. Die Übertragung auf andere Lebensmittel erfolgt über Kreuzkontaminationen bei bzw. nach der Verarbeitung von belasteten Lebensmitteln (z. B. Abtauwasser von tiefgefrorenem Geflügel).<sup>(1)</sup> Gemüse kann außerdem durch Düngung oder Waschen mit fäkal verunreinigtem Wasser kontaminiert werden. Besonders anfällig für mikrobiologische Kontaminationen sind Mischsalate, da der natürliche Schutz der Pflanze durch die Zerkleinerung weitgehend zerstört wird. Salmonellen können sich in der sauerstoffarmen Atmosphäre der Folienverpackung gut vermehren und stellen ein Gesundheitsrisiko dar.<sup>(1)</sup>

Salmonellen werden jedoch auch in anderen pflanzlichen Lebensmitteln nachgewiesen. Beispielsweise können Kräutertees, die mit nicht ausreichend heißem Wasser aufgegossen werden, Salmonelleninfektionen insbesondere bei Kleinkindern hervorrufen. Zudem sind Gewürze, Würzmittel und Sesamsaat des Öfteren mit Salmonellen belastet.<sup>(12)</sup> Begünstigt wird die Verbreitung von Salmonellen durch eine unzureichende Kühlung von Lebensmitteln. Ihr Temperaturoptimum liegt bei

37 °C. Bei Temperaturen über 70 °C mit entsprechender Haltezeit (mindestens fünf Minuten) werden sie abgetötet.<sup>(11)</sup>

Vorbeugende Maßnahmen:

- Strikte Einhaltung der Kühlkette
- Hohe Hygieneanforderungen an Arbeitsflächen, Gerätschaften und Personal<sup>(10)</sup>

## 3.4 *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*)

*L. monocytogenes* ist ein Bakterium, das weit verbreitet in der Landwirtschaft (im Boden, auf Pflanzen, in Silage, Fäkalien, Wasser und Abwasser), in Aquakulturen und im Umfeld der Lebensmittelverarbeitung vorkommt.

Es ist gegenüber verschiedensten Umweltbedingungen, etwa einem hohen Salz- oder Säuregehalt, resistent. *L. monocytogenes* wächst bei niedrigem Sauerstoffgehalt sowie Kühltemperaturen und überlebt über längere Zeit in der Umwelt, auf Lebensmitteln, im Be-/Verarbeitungsbetrieb und im Kühlschrank des Verbrauchers. *L. monocytogenes* verursacht die invasive Listeriose, indem der Erreger die Schleimhautbarriere des Magen-Darm-Traktes überwindet und dann zu Infektionen im Körper führt. Infektionen mit *L. monocytogenes* können beim Menschen leichte grippeähnliche Erkrankungen hervorrufen, aber auch zu Magen-Darm-Erkrankungen, Hirnhaut- und/oder Gehirnentzündungen und zu Fehl- oder Frühgeburten führen.

*L. monocytogenes* kommt in verschiedensten Lebensmitteln wie z. B. rohem Gemüse, rohem Geflügel, sowie rohem und verarbeitetem Fleisch, Lachs und Rohmilchkäse vor. Der Keim kann sich in einem betroffenen Lebensmittel im Verlauf der Lagerung auch bei Kühltemperaturen vermehren. Wichtige Faktoren, die die Vermehrung von Listerien in einem Lebensmittel beeinflussen sind u. a. die Lagertemperatur des Lebensmittels, die Dauer der Lagerung, der pH-Wert sowie die Wasseraktivität (aw-Wert) des Lebensmittels.

Listerien können in solchen Bereichen eines Betriebes persistieren, die von den Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen nur schlecht erreicht werden (z. B. in Abwassersystemen, Innenseiten von Rohrleitungen und Kondenswasserstellen). Sie sind außerdem in der Lage, Biofilme zu bilden, in deren Matrix auch andere Mikroorganismen zu wachsen vermögen.<sup>(1)</sup>

Vorbeugende Maßnahmen:

- Einhaltung der Kühlkette
- Vermeidung von Rekontaminationen der Erzeugnisse
- Hygienische Ausstattung und Instandhaltung

### 3.5 Koagulase-positive Staphylokokken

Staphylokokken sind Bakterien, die natürlicherweise bei Mensch und Tier vorkommen. Die Bedeutung der Koagulase-positiven Staphylokokken liegt aus lebensmittelhygienischer Sicht in ihrer Fähigkeit, als Superantigene (SAGs) bezeichnete Staphylokokken-Enterotoxine (SE) und Enterotoxin-ähnliche SAGs (SE-like) zu bilden. Voraussetzung für die Entstehung einer Lebensmittelintoxikation durch Koagulase-positive Staphylokokken ist, dass sich die Erreger im Produkt ausreichend vermehren und hitzestabile Enterotoxine gebildet haben.<sup>(13)</sup>

#### 3.5.1 *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*)

Der wichtigste Vertreter der Koagulase-positiven Staphylokokken ist *S. aureus*, der als einer der häufigsten Entererreger gilt. *S. aureus* kann über offene Wunden, besonders an den Händen, auf Lebensmittel übertragen werden. Auch bei etwa 30 bis 40% aller gesunden Personen ist das Bakterium im Stuhl, auf den Schleimhäuten des Nasen-Rachen-Raumes sowie auf der Kopfhaut und in den Haaren nachweisbar. Einige der *S. aureus*-Stämme haben die Fähigkeit, Enterotoxine zu produzieren, die die Ursache von Lebensmittelvergiftungen sein können. Alle eiweiß- und kohlenhydrathaltigen Lebensmittel mit einem hohen Wassergehalt, auf welche die Keime übertragen wurden, bieten optimale Bedingungen für die Vermehrung der Bakterien und die Enterotoxinbildung.<sup>(1)</sup> Dominierende Symptome einer Staphylokokken-Intoxikation sind Erbrechen, Übelkeit, Durchfall und Kreislaufbeschwerden. Bereits äußerst geringe Toxinmengen können hierfür ausreichen.<sup>(13)</sup>

Vorbeugende Maßnahmen:

- Gute Personalhygiene (z. B. Ergreifen besonderer Maßnahmen für Mitarbeiter mit Entzündungen an den Händen oder anderen Hautstellen)
- Reinigung und Desinfektion der Hände, saubere Arbeitskleidung
- Haar- und Bartschutz
- Ausreichende Erhitzung der Speisen
- Kühlung nicht steriler Produkte
- Vermeidung längerer Standzeiten bei Temperaturen unter 65 °C<sup>(1)</sup>

### 3.6 Präsumptive *Bacillus cereus*

*Bacillus cereus* (*B. cereus*) kommt natürlicherweise im Erdboden vor. Es bildet zusammen mit anderen Arten (z. B. *Bacillus anthracis*, *Bacillus thuringiensis* und *Bacillus cytotoxicus*) die *B. cereus*-Gruppe. Das sporenbildende Bakterium kann durch sporenhaltige Erdbodenpartikel oder Staub sowohl auf tierische als auch auf pflanzliche Lebensmittel übertragen werden. Eine Hitzebehandlung tötet den Keim zwar ab, die Sporen aber überleben. Die vegetative Form des *B. cereus* wächst in einem Bereich von 10 bis 50 °C, mit einem Temperaturoptimum zwischen 30 und 40 °C und über einem pH-Wert von 4,8. Einzelne Kälte-tolerierende Stämme vermehren sich auch bei 4 bis 6 °C. Eine vollständige Vermeidung der Kontamination ist kaum möglich, eine geringe Keimzahl ist für den Verbraucher jedoch unbedenklich. Mangelhafte Lagerbedingungen führen zum Auskeimen der Sporen bzw. zur Vermehrung der Keime auf dem Lebensmittel.<sup>(14)</sup> *B. cereus* kann während seines Wachstums Toxine bilden, die entweder das Diarrhöe-Syndrom oder das Erbrechens-Syndrom auslösen können.<sup>(1)</sup>



Auch *Bacillus thuringiensis* ist in der Umwelt weit verbreitet. Einige Stämme werden zudem als biologische Insektizide im Pflanzenbau eingesetzt. In bisherigen Untersuchungen konnte die Fähigkeit zur Bildung des Cereulid-Toxins bei *Bacillus thuringiensis* nicht nachgewiesen werden. Es gibt jedoch Hinweise, dass zumindest einige der als Insektizid eingesetzten *Bacillus thuringiensis*-Stämme in der Lage sind, Enterotoxine zu bilden. Aufgrund der engen genetischen Verwandtschaft von *Bacillus cereus* und *Bacillus thuringiensis* ist eine Unterscheidung der beiden Keime im Rahmen der Routinediagnostik nicht sicher möglich.<sup>(15)</sup>

Um das Risiko, das von *Bacillus cereus* und *Bacillus thuringiensis* ausgehen kann, möglichst gering zu halten, rät die European Food Safety Authority (EFSA) dazu, *Bacillus thuringiensis* Präparate im Pflanzenschutz strikt nach Herstellerangaben zu verwenden. Sie empfiehlt außerdem nach der Ernte entlang der Lebensmittelkette eine Lagertemperatur von  $\leq 7\text{ °C}$  besser jedoch  $\leq 4\text{ °C}$  einzuhalten, um eine Keim-vermehrung zu verhindern.<sup>(16)</sup>

Vorbeugende Maßnahmen:

- Temperaturen unter  $100\text{ °C}$  ermöglichen das Überleben einzelner Sporen, daher ist eine sofortige Kühlung nach erfolgter Hitzebehandlung notwendig, um das Auskeimen zu verhindern.
- Einhaltung der Kühlkette<sup>(14)</sup>

### 3.7 *Campylobacter* spp.

Bei *Campylobacter* spp. handelt es sich um die derzeit häufigsten bakteriellen lebensmittelassoziierten Durchfallerreger des Menschen in Deutschland. Die Infektionsdosis beträgt ca. 500 KbE (Kolonie bildende Einheiten). *Campylobacter* spp. kommen im Darmtrakt und im Kot von Säugetieren und Vögeln vor, lassen sich aber auch in der Umwelt (Boden, Insekten) und als Kontamination auf unterschiedlichen Lebensmitteln (v. a. Geflügelfleisch, auch Schweinefleisch, Obst und Gemüse) finden. Als Reservoir für den Keim sind vor allem Geflügel, aber auch Schwein, Rind und Haustiere beschrieben.

*Campylobacter*-Infektionen des Menschen äußern sich vornehmlich in Fieber, Schwindel, Durchfall, Erbrechen, Bauch-, Kopf- und Muskelschmerzen. Als Komplikation sind auch Gelenkentzündungen beschrieben (Guillain-Barré-Syndrom).

### 3.8 Hefen

Die einzellige Untergruppe der Pilze vermehrt sich durch Sprossung. Bei vorhandenem Sauerstoff (aerobe Bedingungen) erfolgt eine intensive Vermehrung mit der Bildung von viel Kohlendioxid und wenig Alkohol. Ohne Sauerstoff (anaerobe Bedingungen) kommt es zu keinem oder nur geringem Wachstum, jedoch zu einer alkoholischen Gärung. Diese führt bei süßen oder sauren Lebensmitteln zu sensorisch unerwünschten Veränderungen. Bei eingetretenem Gärprozess ist das Lebensmittel ungenießbar.<sup>(17)</sup>

Vorbeugende Maßnahmen:

- Gute Personal- und Prozesshygiene
- Rohstoffmanagement
- Zerstörung der Hefen durch Erhitzen

### 3.9 Schimmelpilze

Schimmelpilze sind Mikroorganismen, die sich unter Sauerstoff zum Teil über Sporen verbreiten und sich auf den Oberflächen von Lebensmitteln vermehren. Schimmelpilze können auf relativ trockenen Materialien wachsen. Sie sind hitzeempfindlich und wachsen gut im sauren Milieu.<sup>(17)</sup> Das Fadengeflecht (Myzel) ist im Inneren des Lebensmittels zu finden. Einige Schimmelpilze bilden für Menschen giftige Mykotoxine, wie z. B. das sehr hitzestabile Aflatoxin, welches stark krebserregend wirkt.<sup>(17)</sup>

Schimmelpilze sind die wichtigsten Verderbniserreger beim Obst, da sie das saure Milieu, das durch einen hohen Gehalt an Fruchtsäuren entsteht, gut tolerieren können. Früchte können sowohl vor als auch nach der Ernte über den Boden, die Obstbäume, abgestorbene Pflanzenteile usw. mit Pilzen kontaminiert werden. Während der Lagerung wachsen bestimmte Pilze je nach Lagerbedingungen weiter und führen zu erheblichen Lagerschäden. Zu den wichtigsten Lagerschäden beim Obst zählen *Botrytis*-Fäule (Graufäule), *Gloeosporium*-Fäule (Braune Bitterfäule), *Sclerotinia*-Fäule (*Monilia*-Fäule), *Penicillium*-Fäule (Grün- oder Blaufäule). Aber auch Gemüse und Kartoffeln werden durch Schimmelpilze befallen, was deren Verderb auslöst. Eine Übersicht über wichtige Mykotoxine, deren Vorkommen und Wirkung auf Mensch und/oder Tier gibt die Tabelle 2.<sup>(1)</sup>

Tabelle 2: Übersicht über wichtige Mykotoxine

Toxin	Häufige Erkrankung und Wirkungen auf Mensch und/oder Tier	Häufiger belastete Lebensmittel
Aflatoxine	Leberkrebs, Leberzirrhose, teratogen	Erdnüsse, Pistazien, Getreide
Ergotalkaloide	Ergotismus	Roggenmehlbrot
Ochratoxin A	Nephropathie, Enteritiden, Genotoxisch, mutagen, evtl. cancerogen	Getreide, Kaffee, Bier
Patulin	Übelkeit, Organtoxizität (Leber, Niere, Lunge u. a.)	Obst
Fusariumtoxine		
a) Zearalenon	Östrogenwirkung, Aborte, Sterilität	Getreide
b) Trichothecene	Haut-, Schleimhautschädigung	Getreide
c) Deoxynivalenol (DON)	Immunsuppressiv, Erbrechen	Getreide
d) Fumonisine	Evtl. cancerogen	Mais
Citrinin	teratogen	Getreide, faulende Tomaten
Citreoviridin	Nephrotoxisch, kardiale Beriberi	Reis
Sterigmatocystin	Leberkrebs	Nüsse, Getreide

Quelle: Krämer (2011)<sup>(1)</sup>

Vorbeugende Maßnahmen:

- Landwirtschaftliche Maßnahmen (gesundes Saatgut, richtige Düngung, Pflanzenschutz, sachgerechte Ernte)
- Optimale Lagerung und optimaler Transport des Erntegutes
- Hemmung des Pilzwachstums auf nicht sterilen Produkten durch konservierende Maßnahmen wie Kühlen, Tiefgefrieren, Zusatz von Konservierungsstoffen, aw-Wert-Absenkung oder CA-Lagerung(1)
- Aussortieren von verschimmelten Produkten bzw. Zurückweisen belasteter Partien
- Inaktivierung vorhandener Mykotoxine durch technologische Prozesse
- Abtötung der Pilze im Zwischen- oder Endprodukt durch Sterilisation bzw. Pasteurisation
- Vermeidung sekundärer Kontamination durch geeignete Verpackung

### 3.10 Viren

Im Gegensatz zu Bakterien, Hefen und Schimmelpilzen haben Viren keinen eigenen Stoffwechsel. Um sich zu vermehren, sind sie auf einen geeigneten Wirtsorganismus angewiesen. Die Stabilität der Viren hängt von vielen Faktoren ab. Da Viren im eigentlichen Sinne nicht „leben“, können sie auch nicht abgetötet, sondern nur „inaktiviert“ werden. Eine Inaktivierung ist je nach Virus durch physikalische Einflüsse wie Temperatur, Luftfeuchtigkeit/Trocknung, durch Strahlung oder durch chemische Einflüsse (u. a. Alkohole, Proteine, Salze, Detergenzien) möglich.

#### 3.10.1 Hepatitis A-Viren

Hepatitis A-Viren sind für den Menschen pathogen. Dieser ist Hauptwirt und Reservoir für Hepatitis A-Viren. Das Virus kann aber u. a. auch in Ab- und Nutzwasser, sowie als Kontamination auf verschiedenen Lebensmitteln

(u. a. Fleisch, Obst, Gemüse) nachgewiesen werden. Klinisch äußert sich eine Hepatitis A-Infektion beim Menschen in Form einer Leberentzündung, die mit Magen-Darm-Erkrankungen, Fieber, Gelbfärbung der Haut und der Schleimhäute sowie mit hellem Stuhl und dunklem Urin einhergehen kann. Auch Juckreiz und Hautausschläge sind beschrieben.

### 3.10.2 Noroviren

Noroviren sind für den Menschen pathogen. Die Infektionsdosis beträgt ca. 10-100 Viruspartikel. Noroviren sind derzeit der häufigste Erreger von humanen Magen-Darm-Infektionen in Deutschland. Reservoir für Noroviren ist der Mensch. Noroviren lassen sich aber u. a. auch in Ab- und Nutzwasser sowie als Kontamination auf verschiedenen Lebensmitteln (u. a. Fleisch, Obst, Gemüse) nachweisen. Die Infektion des Menschen mit Noroviren äußert sich klinisch in einer akuten Gastroenteritis mit schwallartigem heftigem Erbrechen und starkem Durchfall, welche von Übelkeit, Kopfschmerzen und Mattigkeit begleitet wird. Die klinischen Symptome dauern meist nur 12-48 Stunden an.

## 4 Mikrobiologische Untersuchungen

### 4.1 Allgemeines zur Lebensmittelhygiene inklusive Reinigung und Desinfektion

Unter dem Begriff „Lebensmittelhygiene“ werden gemäß der **VO (EG) Nr. 852/2004** Maßnahmen und Vorkehrungen verstanden, die notwendig sind, um Gefahren unter Kontrolle zu bringen und zu gewährleisten, dass ein Lebensmittel unter Berücksichtigung seines Verwendungszwecks für den menschlichen Verzehr tauglich ist. Der Begriff der „Lebensmittelhygiene“ kann aber durchaus auch noch weiter gefasst werden und auch solche Maßnahmen und Vorkehrungen einschließen, die für die Sicherung der Produktqualität und der Haltbarkeit eines Lebensmittels getroffen werden.

Das Eindringen von Mikroorganismen in das Umfeld der Produktion ist zu verhindern, u. a. durch:

- Reinigungs- und Desinfektionspläne
- Entsprechend dem Reinigungs- und Desinfektionsplan gereinigte und desinfizierte Arbeitsgeräte (Schneidbretter etc.)
- Toiletten mit Wasserspülung und Handwaschbecken (Warm- und Kaltwasser, Seife, Desinfektionsmittel)
- Saubere Transportfahrzeuge und Verpackungen
- Personal- und Produktionshygienemaßnahmen
- Hygieneschulungen

Im Folgenden sind einige wichtige Begriffsdefinitionen zum Aspekt „Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen“ aus der **DIN 10516 Lebensmittelhygiene – Reinigung und Desinfektion** aufgeführt:

- Verschmutzung: Jede unerwünschte Substanz, einschließlich Produktreste, Mikroorganismen, Reinigungs- oder Desinfektionsmittelrückstände
- Reinigung: Entfernung von Verschmutzungen
- Desinfektion: Chemisches und/oder physikalisches Verfahren zur Abtötung von Mikroorganismen auf ein Niveau, das weder gesundheitsschädlich ist noch die Qualität der Lebensmittel beeinträchtigt
- Sauber: Visuell frei von Verschmutzungen
- Desinfektionsmittel: Biozidprodukt, das dazu bestimmt ist, eine Desinfektion zu erzielen.
- Einwirkzeit: Zeit, die erforderlich ist, um Verschmutzungen abzulösen und/oder die erforderliche Desinfektionsleistung zu erzielen.

In Lebensmittel herstellenden, be- und verarbeitenden sowie inverkehrbringenden Betrieben wird nach heutigem Stand der Technik in der Regel eine kombinierte Hygienemaßnahme aus Trockenreinigung, Nassreinigung und Desinfektion nach **DIN 10516** durchgeführt. Diese Hygienemaßnahme läuft in den folgenden sechs Schritten ab:

- 1. Schritt: Grobvorreinigung
- 2. Schritt: Vorreinigung
- 3. Schritt: Hauptreinigung
- 4. Schritt: Nachreinigung inkl. Trocknungsphase
- 5. Schritt: Desinfektion
- 6. Schritt: Klarspülung

Die konkreten QS-Anforderungen an die mikrobiologischen Untersuchungen innerhalb der Betriebsanlage können dem jeweiligen QS-Leitfaden entnommen werden.

## 4.2 Probenahme, Probentransport und Dokumentation

### 4.2.1 Allgemeine Hinweise zur Probenahmeplanung

Um mikrobiologische Untersuchungen sinnvoll zu gestalten, sind vorab Überlegungen bezüglich geeigneter Probenahmestellen anzustellen. Dabei sollten folgende Punkte berücksichtigt werden:

- Identifikation von Quellen (Identifikation von Nischen)
- Identifikation des Warenflusses
- Identifikation der Personalwege
- Erkennen von Arbeits- und Reinigungsbereichen
- Identifikation potenzieller Quellen für Kreuzkontaminationen
- Beprobung des Endproduktes zu Verifikation erforderlich, für die Ursachenanalyse jedoch sekundär

Die mikrobiologischen Untersuchungen sollten auf wissenschaftlicher Basis und objektiv durchgeführt werden. Bei mikrobiologischen Untersuchungen gibt es unterschiedliche Untersuchungsanlässe, z. B.:

- Überprüfung, ob die Spezifikation eingehalten ist
- Verifizierung, dass gesetzliche Anforderungen eingehalten werden (z. B. Bestätigung der Verkehrsfähigkeit einer Partie)
- Spezifische, gesetzlich vorgeschriebene Untersuchungen (z. B. **VO (EG) Nr. 2073/2005**)
- Validierung von Prozessen
- Verifizierung von Prozessen und von Abhilfemaßnahmen
- Prozesssteuerung
- „Baseline-Study“ → Was ist statistisch „normal“, wenn der Prozess unter Kontrolle ist
- Monitoring/Trendanalyse → Indikation, dass Prozess nicht mehr unter Kontrolle ist
- Ermittlung von Risikofaktoren, auch auf der Basis aktueller Geschehnisse oder Schnellmeldungen (beispielsweise durch das RASFF (Rapid Alert System for Food and Feed) oder das Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit)

### 4.2.2 Probenahme

Die Probenahme ist ein wichtiger Schritt für eine mikrobiologische Untersuchung und beeinflusst entscheidend die Aussagekraft des Ergebnisses. Fehler bei der Probenahme können sich wesentlich gravierender auf das Gesamtergebnis auswirken als Fehler, die während der Untersuchung passieren. Folgendes muss bei der Probenahme beachtet werden<sup>(18)</sup>:

- Die unmittelbare Umgebung der Probenahmestelle sollte möglichst keimfrei sein. Die Hände müssen vor der Probenahme gereinigt und desinfiziert werden. Der Probenehmer sollte nicht husten oder niesen.
- Bei und nach erfolgter Probenahme ist darauf zu achten, das Muster nicht übermäßig zu berühren.
- Bei Obst- und Gemüse: bewusst „worst-case“ beproben, also nicht nur makellose Erzeugnisse
- Erfolgt eine Probenahme bei offenen Lebensmitteln, sollte diese möglichst schnell durchgeführt werden.<sup>(19)</sup>
- Probengefäße und Geräte müssen für die Probenahme steril sein und die Probenahme muss unter aseptischen Bedingungen erfolgen. Empfohlen wird steriles Einwegmaterial.
- Die Probenahme sollte möglichst repräsentativ (von verschiedenen Stellen des zu beprobenden Produktes) erfolgen. Je nach Chargengröße stellt eine Einzelprobe die mikrobiologische Qualität der Charge nicht hinreichend dar. In solchen Fällen kann die Repräsentativität gesteigert werden, indem mehrere Einzelproben einer Charge zu einer Sammelprobe zusammengefügt werden.
- Um Kreuzkontaminationen zu vermeiden,
  - sind bei der Entnahme von nicht verpackten Proben lebensmittelechte Einmalhandschuhe zu verwenden. Diese sind nach jeder durchgeführten Beprobung einer Partie zu wechseln.
  - ist jede Probe separat in ein neues, ausreichend großes für den Verwendungszweck geeignetes Behältnis (z. B. Folienbeutel, sterile Probenahmebeutel) zu verpacken und fest zu verschließen. Eine Kontamination durch Kontakt mit anderen Proben, Probenbegleitzettel, etc. ist auszuschließen. Die Proben sind eindeutig zu beschriften (wasserfest/abriebfest).
  - sollte vermieden werden, mehrere Proben nebeneinander in einem gleichen Gefäß (z. B. Folienbeutel, Transportkarton) zu platzieren und transportieren.
- Gekühlte Produkte sind unter Einhaltung der Kühlkette an das Labor weiterzugeben. Wurden Produktproben gezogen und der Transport erfolgt zeitversetzt, so sollten die Proben idealerweise in einem gekühlten Bereich (z. B. Kühlhaus/-kammer) aufbewahrt werden.
- Die Aufbewahrungszeit von Proben sollte 24 Stunden nicht überschreiten.
- Durch Einfrieren der Probe können vorhandene Mikroorganismen abgetötet werden. Die Keimzahlverminderung verändert in der Regel die Verderbnisanfälligkeit des aufgetauten Produktes nicht, würde aber verfälschte Ergebnisse liefern.<sup>(1)</sup>

Vor der Probenahme sollte die Reihenfolge der Abläufe festgelegt sein („step-by-step“). Die Probenahme erfordert Übung und sollte durch geschultes Fachpersonal erfolgen. Dabei handelt es sich um Personal, das mit der Thematik vertraut ist und über eine entsprechende Ausbildung verfügt. Nachweise sind z. B. Teilnahmebescheinigungen an Schulungen, Weiterbildungen, Informationsveranstaltungen und Zeugnisse.

#### 4.2.3 Probentransport

Die Proben sollten möglichst am selben Tag, spätestens aber am Folgetag im beauftragten Labor eintreffen. Bei mikrobiologischen Proben ist auf eine Beauftragung einer Express-Sendeoption zu achten. Idealerweise sind die einzelnen Probenahmegefäße/Behältnisse (Beutel) in einer Thermobox platziert und Kühlakkus beigelegt. Eine Kühltemperatur von 3-5 °C während des Transportes hat sich als geeignet erwiesen.

Bei Platzierung im Transportgebilde muss bei Obst- und Gemüseproben darauf geachtet werden, dass dieses für den Transport gut geschützt und verschlossen ist. Es muss vermieden werden, dass die Erzeugnisse (Proben) gequetscht oder verletzt werden. Zusätzlich müssen die Proben vor externer Kontamination geschützt werden und sollten in keinem Fall selbst zu einer Kontaminationsquelle werden.

#### 4.2.4 Probenbegleitdaten und Dokumentation der Probenahme

Für jede Probe müssen auf der Verpackung (des Probenahmebeutels oder Behältnisses) mindestens folgende Informationen angegeben werden:

- Name des Probenehmers/Unternehmens
- Datum der Probenahme
- Eindeutige Kennzeichnung für die Rückverfolgbarkeit (Probennummer, Lot, Feldschlag, usw.)

Außerdem muss für jede Probe ein entsprechendes Probenahmeprotokoll so ausgefüllt werden, dass es der Probe zuzuordnen ist. Je ausführlicher das Probenahmeprotokoll ausgefüllt wird, desto reibungsloser und schneller kann die Probe im Labor verarbeitet werden. In der Regel stellen Labore entsprechende Probenahmeprotokolle auf Anfrage zur Verfügung.

#### 4.2.5 Probenahmepläne

Für die Durchführung der mikrobiologischen Untersuchungen müssen Probenahmepläne erstellt werden. Durch die betriebliche Eigenkontrolle muss die Einhaltung der Probenahmepläne und Dokumentationen zum mikrobiologischen Status gewährleistet werden. Die mikrobiologische Qualität der Produkte ist nachzuweisen. Die mikrobiologischen Untersuchungen der Produkte sind auf Basis einer Risikoanalyse durchzuführen und dann als sinnvoll zu betrachten, wenn es Grund zur Annahme gibt, dass ein mikrobiologisches Problem bzw. Risiko vorliegt und die Untersuchungen helfen, das Problem zu kontrollieren bzw. das Risiko zu senken.

Mindestens sind die gesetzlichen Vorgaben hinsichtlich der mikrobiologischen Kriterien für Lebensmittel nach **VO (EG) Nr. 2073/2005** einzuhalten. Es muss sichergestellt werden, dass die Produkte während der Haltbarkeitsdauer unbedenklich sind und ihre spezifischen sensorischen Eigenschaften aufweisen.

Die konkreten QS-Anforderungen an das mikrobiologische Monitoring der Produkte können dem jeweiligen QS-Leitfaden entnommen werden.

Sofern für die mikrobiologischen Untersuchungen risikoorientiert Produktgruppen gebildet werden, sollten folgende Aspekte berücksichtigt werden:

- Sind die Aufwuchsbedingungen bei der Primärproduktion vergleichbar? Z. B.
  - Knollen/Beeren/Früchte/...
  - Freiland/Gewächshaus
  - Im Erdreich/bodennah/bodenfern/Strauch/Baum/Nährlösung
- Sind die Erntebedingungen vergleichbar? Z. B.
  - Inländische/Ausländische Ware
  - Erntesaison/Erntetemperatur
  - Hygienebedingungen
- Sind die Bedingungen bei Transport/Lagerung vergleichbar?
- Sind die Eigenschaften der Produkte vergleichbar? Z. B.
  - pH- Wert
  - aw-Wert
  - Zuckergehalt
- Sind die Be-/Verarbeitungsprozesse vergleichbar? Z. B.

- Kühlen
- Frosten
- Blanchieren
- geschält/ungeschält
- Zerkleinerung
- Sind die Verpackungsbedingungen vergleichbar? Z. B.
  - Schutzgas
  - Vakuum
  - Folie
  - Karton
  - Holzkiste

Bei vergleichbaren Rahmenbedingungen können z. B. Äpfel und Birnen oder Himbeeren und Brombeeren risikoorientiert in jeweils einer Produktgruppe zusammengefasst werden, während z. B. Erdbeeren und Äpfel u. a. aufgrund unterschiedlicher Aufwuchs-, Ernte- und Lagerbedingungen sowie aufgrund unterschiedlicher Produkteigenschaften (pH-Wert, Zuckergehalt, Haltbarkeit) i. d. R. nicht in eine Produktgruppe zusammengefasst werden können.

Unspezifische Pläne, z. B. mengenorientiert, helfen zwar eine Charge zu reklamieren, nicht jedoch Eintragsquellen und Risiken aus Anbau und Verarbeitung auszumachen. Es sollte daher immer die Situation vor Ort (Feld, Erzeugnis, Ernteprozess, Packbetrieb, Abläufe) beurteilt werden.

Durch systematisch risikoorientierte Probenahmepläne können mittels Analysen zielgerichtete Ableitungen für den Betrieb getroffen werden. Dadurch können mögliche Belastungen präventiv erkannt und wichtige Informationen über Sicherheitsaspekte in Bezug auf Umfeld, Abläufe und Produkte gewonnen werden.

Die Erstellung eines risikoorientierten Probenahmeplans für Obst- und Gemüseerzeugnisse sollte folgende Aspekte einbeziehen:

- Zielsetzung der geplanten mikrobiologischen Untersuchungen
- Festlegen der relevanten Test-Parameter („target organism“)
- Festlegen des jeweiligen Probenahmeverfahrens
  - Erzeugnis
  - Oberfläche
  - Mensch
- Ort/Stelle und Zeitpunkt der Probenahme in der Wertschöpfungskette
  - Kulturführung
  - Ernteprozesse
  - Aufbereitung (Arbeitsplätze, Oberflächen)
  - Packprozesse
  - Infrastruktur
- Anbauregion und Umfeld
  - Gülleeinsatz
  - Urbane Räume
  - Topografie
  - Benachbarte (Nutz-) Flächen

### 4.3 Äußere Einflussfaktoren auf Produkt- und Umfeldproben

Mikrobiologische Untersuchungen sollen zeigen, wie stark die Produktionsumgebung oder die Produkte selbst mit Mikroorganismen belastet sind. Es soll sichergestellt werden, dass die Erzeugnisse den Hygieneanforderungen an Lebensmittel genügen. Obst- und Gemüseerzeugnisse können bei Verzehr direkte Vehikel für die Übertragung von Keimen sein. Beispielsweise können Listerien, Salmonellen oder E. coli während des Anbau-, Ernte- und Verarbeitungsprozesses und auch den nachfolgenden Prozessschritten auf Erzeugnisse gelangen. Obst und Gemüse wird mitunter ungewaschen und unverarbeitet verzehrt und stellt daher ein erhöhtes Risiko dar. Die Verunreinigung der Erzeugnisse kann dabei auf eine Vielzahl äußerer Einflussfaktoren zurückgeführt werden. Die Entnahme von Produkt- und Umfeldproben in Feldern, Gewächshäusern oder Packbetrieben bietet die Möglichkeit, Kontaminationsrisiken zu monitoren. Dabei ist es auch von Bedeutung, nicht nur das Erzeugnis, sondern auch eingesetzte Betriebsmittel (u. a. Bewässerungswasser, Düngemittel) in die Probenahmeplanung miteinzubeziehen.

Im Folgenden wird erläutert, welche möglichen Einflussfaktoren auf den jeweiligen Prozessstufen bestehen und wie man diese überwachen kann.

#### **4.3.1 Einflussfaktor Feld und Anbau: Landwirtschaftliches Betriebswasser**

Enterobakterien (Salmonellen, *Campylobacter*, *VTEC* und Noroviren) spielen hierbei eine übergeordnete Rolle. Wasserquellen und Rohrleitungssysteme (z. B. Brunnen, Sprinkler, Dripper) sind von Relevanz, insbesondere in Relation zum Lageverhalten der jeweiligen Kultur (bodennahes Wachstum wie z. B. Salate, Beerenobst, Freilandgemüse). Bewässern der Kulturen mit möglicherweise fäkal verunreinigtem Wasser, das in direkten Kontakt mit den verzehrbaren Teilen der Erzeugnisse kommt, stellt ein Kontaminationsrisiko dar. Mögliche Eintragswege können einerseits Haus- und Wildtiere (auch Vogelkot) bei frei zugänglichen Flächen sein, andererseits nicht gewartete Brunnenanlagen und Leitungssysteme oder fehlende Abdeckungen von Reservoirs.

Sinnvoll sind Probenahmen von Betriebswasser unmittelbar an den Wasserbezugsquellen (Brunnen, Dripper). Sind die Ergebnisse der mikrobiologischen Analysen des Betriebswassers nicht zufriedenstellend, sollten spezifische Korrekturmaßnahmen etabliert werden.

#### **4.3.2 Einflussfaktor Feld und Anbau: Düngemittel**

Ausgebrachte Gülle, Kompost oder Klärschlamm können eine Kontaminationsquelle für Erzeugnisse darstellen. Salmonellen, *VTEC* und auch Noroviren können auf diesem Wege auf Erzeugnisse gelangen. Insbesondere Starkregen auf den Anbauflächen steigert das Kontaminationsrisiko durch verspritzte Boden- und Düngemittel. Ebenso ist das Risiko erhöht, wenn Wartezeiten zwischen Gülleausbringung und Ernte nicht eingehalten werden (bspw. 60 Tage bei Blattgemüse). Um das betriebliche Risiko diesbezüglich einzuschätzen, kann die Beprobung von Ausgangsmaterialien durchgeführt werden. Lässt sich bspw. *E. coli* in den entsprechenden Proben nachweisen, deutet dies auf eine Kontamination mit Fäkalkeimen hin.

#### **4.3.3 Einflussfaktor Feld: Klima und Standort**

Klimatisch bedingte Kontaminationsereignisse (Bewässerung, Überschwemmung, Niederschläge), insbesondere kurz vor Erntearbeiten, können ein weiteres Kontaminationsrisiko darstellen. Die Übertragung humanpathogener Keime kann so noch auf dem Feld, häufig im Rahmen der Erntearbeiten, erfolgen. Problematisch sind Erzeugnisse mit bodennahem Wachstum. Auch Ernte- und Transportgebinde können bei den Erntearbeiten in direkten Kontakt mit dem Boden kommen, ebenso Erntewerkzeuge (z. B. beim Putzen äußerer Salatblätter).

#### **4.3.4 Einflussfaktor Feld: Tierische Wirte**

Erfolgt angrenzend an die Anbauflächen Tierhaltung oder befindet sie sich in Nähe zu urbanen Räumen, kann eine mögliche Kontaminationsquelle bestehen. Haus-, Nutz- oder Wildtiere haben entsprechend Zugang zu den Flächen sowie zu Wasserbezugsquellen. Natürlich vorkommende Keime z. B. im Darm von Vögeln oder warmblütigen Säugetieren können auf verzehrbare Teile der Erzeugnisse gelangen. *E. coli* ist ein typischer Fäkalindikator. Wichtig sind regelmäßige Vorerntekontrollen, um mögliche Spuren, Kot oder Fraßschäden zu erkennen und entsprechend zu handeln (Beprobung Erzeugnisse).

#### **4.3.5 Einflussfaktor Feld: Personalhygiene/Ernteteams**

Kontaminationsgefahr v. a. mit Fäkalkeimen und die Übertragung humanpathogener Keime auf die Erzeugnisse kann durch mangelhafte Hygiene des Erntepersonals und dem direkten Kontakt mit dem Erzeugnis hervorgerufen werden. Ein besonders hohes Maß an Sauberkeit (auch Arbeitskleidung) und Handhygienemöglichkeiten muss hier geboten werden. In diesem Zusammenhang ist auch die Bereitstellung (mobiler) WCs ein wichtiger Baustein. Um den Erfolg getroffener Maßnahmen zu überprüfen, sollten Abklatschproben der Hände einzelner Mitarbeiter (Handinnenseiten), für mikrobiologische Untersuchungen durchgeführt werden. Details zu den unterschiedlichen Probenahmeverfahren können Kapitel 4.4 entnommen werden.

#### **4.3.6 Einflussfaktor Feld: Hygienebedingungen Transportgebinde und Erntewerkzeug**

Bei Erntearbeiten ist darauf zu achten, dass Erzeugnisse in möglichst gereinigten Ernte- und Transportgebinden gelagert und abtransportiert werden. Auch die eingesetzten Erntewerkzeuge (Messer, Schneidwerkzeug) sollten sauber sein. Während der Arbeit sollte der direkte Bodenkontakt vermieden werden. Für Ernte- und Transportgebinde ist der Einsatz einer Schutzunterlage möglich.

Unsaubere und auch beschädigte Gebinde erhöhen ein mögliches (Kreuz-)Kontaminationsrisiko. Erzeugnisse können mechanisch verletzt werden und dadurch mögliche Eintrittsstellen für Keime entstehen. Die Übertragung humanpathogener Keime ist häufig auf Erntearbeiten zurückzuführen.

Um die Effizienz umgesetzter Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen zu monitoren, sind Abdruck- und Abklatschverfahren z. B. in Erntegebinden oder Schneidwerkzeug sinnvoll. Ebenso kommen Tupfer- oder

Schwammproben in Frage. Details zu den unterschiedlichen Probenahmeverfahren können Kapitel 4.4 entnommen werden.

#### **4.3.7 Einflussfaktor Packbetrieb: Wasch- und Aufbereitungsprozesse**

Rohware wird im Zuge der Konfektionierungsschritte nach Ankunft vom Feld weiteren Verarbeitungsschritten sowie Wasch-, Transport- und Kühlprozessen zugeführt. Hierbei wird die natürliche Schutzbarriere, welche die Epidermis gegen die Entwicklung von Mikroben auf der Fruchtoberfläche bildet, beschädigt oder entfernt. Als Folge können weitere Verarbeitungsschritte sowie anschließende Lagerung zu verstärktem Verderb führen und letztlich zu einem erhöhten Kontaminationsrisiko u. a. durch *E. coli* oder Listerien werden. Waschprozesse sind eine der wichtigsten Ursachen für (Kreuz-)Kontaminationen.

Um die Qualität des verwendeten Wassers regelmäßig zu prüfen, bieten sich Wasseranalysen an. Details zu diesem Thema können der QS-Arbeitshilfe „Wasserqualität“ entnommen werden.

#### **4.3.8 Einflussfaktor Packbetrieb: Kontaktflächen (Maschinen, Förderbänder, Geräte, Behälter)**

Bei der Entleerung von Rohware nach Ankunft im Packbetrieb wird die Ware in weiterführende Transportgebinde und Behältnisse zur Einlagerung überführt oder direkt an die Packlinien verbracht (Förderbänder, Sortiertische, Arbeitsplätze). Rückstände und Kontaminationen von möglicherweise vorangegangenen und kontaminierten Chargen können dabei Kreuzkontaminationen der im Prozess befindlichen Charge verursachen. Ein besonderes Risiko stellt auch die Bildung sogenannter Biofilme dar. In diesen Biofilmen können sich Verderbniserreger und lebensmittelassoziierte Krankheitserreger wie Listerien, *EHEC* oder Salmonellen besonders gut vermehren. Die Haltbarkeit der Erzeugnisse kann eingeschränkt werden und Verbraucher bei Verzehr kontaminierter Lebensmittel erkranken.

Um die Erfolge von Reinigungs- und Desinfektionsprozessen an Arbeitsflächen, Maschinenteilen oder Verschraubungen und Transportgebinden sowie Förderbändern zu überprüfen, eignen sich Abstrich- oder Abwischverfahren mit trockenen oder befeuchteten Tupfern. Ebenso können mit Schwämmen diverse Oberflächen abgestrichen werden, um die Proben auf mikrobiologische Verunreinigungen zu prüfen. Details zu den unterschiedlichen Probenahmeverfahren können Kapitel 4.4 entnommen werden.

#### **4.3.9 Einflussfaktor Packbetrieb: Personalhygiene**

Wie für Erntepersonal spielt auch für Mitarbeiter von Packbetrieben die Personalhygiene eine zentrale Rolle in Bezug auf mögliche Kontaminationsrisiken. Produktspezifisch sind bei vielen Erzeugnissen aufwendige Arbeitsschritte zur Aufarbeitung der Rohware notwendig (Putzen, Einwaage, Sortierung). Dies bedingt intensives, manuelles Handling der Erzeugnisse. Insbesondere die Handhygiene der Mitarbeiter an Packlinien ist entscheidend um Übertragungswege durch infizierte Mitarbeiter einzudämmen.

Um den Status der Personalhygiene, ebenso wie Erfolge von Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen von Arbeitswerkzeug, zu überprüfen, bieten sich Abklatsch- sowie Abstrich Verfahren an. So können Handinnenseiten der Mitarbeiter mittels Abklatschverfahren beprobt und Messer sowie andere Arbeitsmittel per Schwamm abgestrichen werden. Details zu den unterschiedlichen Probenahmeverfahren können Kapitel 4.4 entnommen werden.

### **4.4 Probenahme für mikrobiologische Untersuchungen von Oberflächen und Einrichtungsgegenständen**

Um das Festsetzen von Keimen in der Produktionsumgebung und die damit verbundene

(Re-)Kontamination der Erzeugnisse zu verhindern, sind Umgebungsuntersuchungen unabdingbar. Oberflächen können mit unterschiedlichen Zielen beprobt werden. Dazu gehören beispielsweise die Kontrolle des Reinigungs- und Desinfektionserfolgs, die Stufenkontrolle sowie das Listerienmonitoring.

Erfolgt im Unternehmen eine Desinfektion der Betriebsanlage, sollten zur Kontrolle regelmäßig mikrobiologische Untersuchungen auf Oberflächen in den Be- und Verarbeitungsräumen durchgeführt werden. Die Probenahmen erfolgen an den relevanten Lebensmittelkontaktflächen (z. B. Geräte, Anlagen, Förderbänder, Messer, Handflächen) und an sonstigen relevanten Flächen (z. B. Tische, Türgriffe, Schalter, Behälter, Kisten). Diese Probenahmestellen sind anhand einer Gefahrenanalyse risikoorientiert zu bestimmen sowie in einem Probenahmeplan zu dokumentieren.

Der Probenahmeplan sollte gewährleisten, dass alle vorgesehenen Stellen im Betrieb in einem festgelegten Zeitraum beprobt werden. Um den Desinfektionserfolg zu prüfen, sollten während der Produktionsmonate mindestens monatlich Proben gezogen werden. Zu diesen Mindestvorgaben ist die Frequenz der Be- und Probenahme risikoorientiert zu wählen und anzupassen (ggf. zu erhöhen) an:

- Betriebsgröße



- Vorhandene Anlagen (Stellen, an denen gewaschene Produkte gehandhabt werden)
- Mikrobiologische Empfindlichkeit der hergestellten Produkte
- Ergebnisse vorangegangener Untersuchungen.

Die nachfolgend erläuterten Probenahmeverfahren können von den Mitarbeitern eigenständig durchgeführt werden. Gängige Probenahmeverfahren sind zum einen das Abstrich- oder Abwischverfahren, zum anderen das Abdruck- oder Abklatschverfahren. Des Weiteren gibt es die Möglichkeit, Biolumineszenzverfahren durchzuführen, mit denen Adenosintriphosphat (ATP) nachgewiesen wird (ATP-Test).

#### 4.4.1 Abstrich-/Abwischverfahren

In der **ISO 18953:2018** „Microbiology of the food chain – Horizontal methods for surface sampling“ sind verschiedene Techniken zur Oberflächenbeprobung beschrieben. Beim Abstrich- oder Abwischverfahren werden entweder mit einem trockenen (Einfachtupfer) oder befeuchteten und trockenen Tupfer (Nass-Trockentupfer-Technik) oder auch mit Schwämmen oder anderen geeigneten Materialien Oberflächen abgestrichen. Die nach der Probenahme in den Tupfern bzw. Schwämmen ggf. vorhandenen Mikroorganismen werden in weiteren Arbeitsschritten (im Labor) auf geeignete Nährmedien aufgetragen und nach Bebrütung ausgezählt (vgl. z. B. **DIN 10113-1** „Bestimmung des Oberflächenkeimgehaltes auf Einrichtungs- und Bedarfsgegenständen im Lebensmittelbereich“). Das Abstrich- oder Abwischverfahren ist im Gegensatz zum Abklatschverfahren besonders für unebene Flächen, Maschinenteile, Ventile, Verschraubungen usw. geeignet.

**Hinweis:** Zur Durchführung bedarf es mikrobiologischer Grundkenntnisse der Mitarbeiter.

Vorgehensweise:

- Bei der Nass-Trockentupfer-Technik wird eine definierte Oberfläche mit einem befeuchteten Tupfer abgestrichen. Mit einem trockenen Tupfer wird das gleiche wiederholt. Anschließend werden die Köpfe der Tupfer in steriler Verdünnungslösung ausgeschüttelt.
- Beim Einfachtupferverfahren wird nur ein Tupfer (trocken oder feucht) verwendet.
- Bei sehr keimarmen Flächen bzw. bei der Suche nach spezifischen Keimen kann das Abstrichröhrchen statt mit Verdünnungslösung mit spezifischer Nährbouillon befüllt und anschließend bebrütet werden.
- Anwendung bei z. B. aerober mesophiler Koloniezahl.(21)



Abb. 1: Tupfer

Quelle: LfL „Möglichkeiten und Bewertung von Hygienekontrollen im Haushalt“

#### 4.4.2 Abdruck-/Abklatschverfahren

Bei Abklatschverfahren wird ein geeigneter Nährboden in der Regel direkt auf die Oberfläche aufgedrückt, sodass die auf der Oberfläche ggf. vorhandenen Keime am Nährboden anhaften und in der Folge nach Bebrütung des Nährbodens ausgezählt werden können. Die Oberfläche kann aber auch z. B. mithilfe von sterilen Folien oder Klebestreifen beprobt werden, welche dann auf einen Nährboden aufgelegt oder aufgedrückt werden (indirektes Abklatschverfahren), der in der Folge bebrütet und ausgewertet werden kann.

**Hinweis:** Auch beim Abdruck- oder Abklatschverfahren benötigen die Mitarbeiter wie beim Abstrich- oder Abwischverfahren mikrobiologische Grundkenntnisse.

Bei den direkten Abklatschverfahren sind zwei verschiedene Systeme weit verbreitet:

- Replicate Organism Detection and Counting (RODAC-Platten) (Abbildung 2):
  - Die RODAC-Platte besteht aus einem durchsichtigen Nährbodenträger aus Kunststoff. Darauf ist der Nährboden mit konvexer Wölbung aufgebracht.
  - Der Nährbodenträger kann mit einem Deckel verschlossen transportiert und aufbewahrt werden.
- Nährbodenbeschichtete Kontaktträger, sogenannte „Contact Slides“ oder „Dip-Slides“ (Abbildung 3):
  - Sie bestehen aus einem mit Nährmedium beschichteten, flexiblen Kunststoffträger. Der Nährbodenträger befindet sich in einer sterilen Verpackung, meist in Form eines Röhrchens, die nach dem Abklatschen als wiederverschließbares Transportbehältnis und Inkubationskammer fungiert.

- Der Keimträger ist mit dem Deckel des Probengefäßes flexibel verbunden und die Träger weisen in sich eine gewisse Flexibilität auf. Abdruck- und Abklatschverfahren sind gut geeignet für glatte Oberflächen.



Abb. 2: RODAC-Platte  
Quelle: LfL „Möglichkeiten und Bewertung von Hygienekontrollen im Haushalt“



Abb. 3: Contact Slides  
© International PBI S.p.A.

### Vorgehensweise – Durchführung einer Abklatschprobe

**Hinweis:** Bei gebrauchsfertigen Produkten ist immer die Gebrauchsanweisung zu beachten!

Zuerst wird die Abklatschprobe vorbereitet: Hierfür ist die Schutzverpackung zu entfernen sowie die Klebeetiketten zu beschriften. Die Abklatschplatte wird dann geöffnet, ohne dass die Oberfläche berührt wird, und mit einem Druck von ca. 500 g 10 Sekunden lang auf die Prüffläche gedrückt. Die Hand muss dabei möglichst ruhig gehalten werden (keine Wisch- oder Drehbewegung). Bei einer Abklatschprobe der Hände werden drei Fingerkuppen (Handinnenseite) wie oben beschrieben auf eine Abklatschplatte gedrückt. Die Probenahmegefäße sollten direkt nach der Probenahme wieder verschlossen und in die Original-Schutzverpackung zurückgelegt werden. RODAC-Platten sind mit Klebeband für einen sicheren Transport zu verschließen. Die Entnahmestelle sollte nach der Probenahme von möglichen Nährmedium-Rückständen gründlich gereinigt werden.<sup>(22)</sup>

Vorteile der Abklatschproben :

- Mitarbeitermotivation zu größerer Eigenverantwortung
- Förderung des Interesses für Hygiene im Betrieb
- Erhöhung des Hygienestandards

Mikroorganismen, die mit Abklatschtests festgestellt werden können:

- Bakterien (z. B. Enterobakterien, Koagulase-positive Staphylokokken)
- Hefen und Schimmelpilze

### Bebrüten von Abklatschproben

Da Mikroorganismen für Wachstum und Vermehrung meist höhere Temperaturen benötigen, werden die Proben in Brutschränken bebrütet.<sup>(3)</sup> Die wieder verschlossenen Kunststoffgefäße werden in den vorgewärmten Inkubator (25 °C für Hefen/Schimmel, 30 °C für Pilze, 37 °C für Enterobakterien/Staphylokokken) gebracht und dort für 24 bis 48 Stunden aufbewahrt. Platten für den Nachweis von Hefen und Schimmelpilzen müssen für vier Tage bebrütet werden. Während dieser Zeit findet ein Vermehrungsprozess statt, so dass ein Abbild der Keimbelastung der geprüften Fläche entsteht.<sup>(23)</sup>

Die Entsorgung der Nährböden nach der Bebrütung muss sachgerecht erfolgen, da es sonst zu einer Verschleppung, Anzucht oder Vermehrung von Keimen im Betrieb oder zu einer Infizierung des Personals kommen kann.

Folgende Vorsichtsmaßnahmen sind zu beachten:

- Platzierung des Kleinwärmeschrankes außerhalb von Räumen, in denen mit Lebensmitteln gearbeitet wird oder Lebensmittel gelagert werden
- Einmalige Nutzung der Tests
- Entsorgung der bebrüteten Nähmedien gemäß Herstellerangaben bzw. gemäß rechtlicher Vorgaben
- Aufbewahrung der Tests geschützt vor Tageslicht und Zugluft und bei Zimmertemperatur
- Gebrauchte Tests nicht mehr öffnen
- Bei Kontakt mit Bakterienkolonien: Desinfektion der betroffenen Hautpartien bzw. betroffenen Stellen (Boden, Gegenstände)<sup>(4)</sup>

#### 4.4.3 Biolumineszenzverfahren

Mit Hilfe des Biolumineszenzverfahren wird ATP nachgewiesen. ATP ist die Abkürzung für Adenosintriphosphat, ein Stoffwechsellmolekül, das in allen Zellen niederer und höherer Lebewesen und somit auch in Zellen von Pflanzen und Tieren sowie in Mikroorganismen vorkommt. Je nach Intensität der Reinigung und Desinfektion verbleiben auf den Oberflächen unterschiedliche ATP-Konzentrationen von Mikroorganismen und nicht vollständig entfernten Produktresten zurück. Auf diese Weise fungiert das nachzuweisende Gesamt-ATP als Verschmutzungsindikator und kann daher zur Kontrolle und zum Monitoring des Hygienezustandes und der Reinigungseffizienz herangezogen werden.

Im Gegensatz zu den traditionellen Verfahren zur Keimzahlbestimmung werden mit dem ATP-Verfahren nicht die Mikroorganismen direkt, sondern das ATP, welches sich in allen tierischen, pflanzlichen und mikrobiellen Zellen als Energiespeicher befindet, nachgewiesen. Da gleichzeitig ATP aus Bakterien, Hefen und somatischen (tierischen und/oder pflanzlichen) Zellen undifferenziert nachgewiesen wird, handelt es sich bei der ATP-Biolumineszenz nicht ausschließlich um einen mikrobiellen Schnelltest, sondern um einen Schnelltest für organische und stoffwechselaktive Verunreinigungen. Die Ergebnisse aus mikrobiologischen Oberflächenuntersuchungen sind daher nicht unbedingt mit den Ergebnissen aus der ATP-Messung vergleichbar.

Zur Ermittlung der ATP-Menge wird gemäß **DIN 10124** „ATP-Messung - Grundlagen zur Erfassung des Hygienestatus mittels Biolumineszenz“ mittels Abstrichupfer eine Probe von dem zu untersuchenden Kontrollpunkt genommen. Die Extraktion des ATP und die nachfolgenden Reaktionen zwischen dem zugegebenen Enzym-Substratgemisch Luciferin-Luciferase und ATP führen zur Freisetzung von Lichtenergie. Die freigesetzte Lichtmenge wird mittels Luminometer als „Relativ Light Units“ (RLU) erfasst und ist proportional zur vorhandenen ATP-Menge. Das Ergebnis des Tests ist nach wenigen Minuten sichtbar.

#### 4.4.4 Spezielle Hinweise zum Listerienmonitoring

Hersteller von verzehrfertigen Lebensmitteln, von denen eine Gefährdung der Verbrauchergesundheit durch *Listeria monocytogenes* ausgehen können, sind nach den Vorgaben der **VO (EG) Nr. 2073/2005** verpflichtet, im Rahmen des Probenahmeplans Proben aus den Verarbeitungsbereichen und Ausrüstungsgegenständen auf *Listeria monocytogenes* zu untersuchen. Die Probenahme und Analyse müssen durch qualifizierte Personen durchgeführt und es müssen geeignete Verfahren verwendet werden. Wenn Restwirkungen von Desinfektionsmitteln zu erwarten sind, müssen zur Neutralisation von Desinfektionsmittelresten Enthemmer verwendet werden. Die Probenahme-Frequenz für das Routine-Umfeldmonitoring hängt von den zuvor beschriebenen Faktoren ab. Der Probenahmezeitpunkt ist abhängig von der Fragestellung. Mögliche Probenahmezeitpunkte können beispielsweise nach/während der Produktion, nach/während der Reinigung und Desinfektion oder unmittelbar vor Produktionsbeginn sein. Um einen repräsentativen Überblick zu erzielen, sollten die Probenahmezeitpunkte variieren.

Bei der Beprobung von Oberflächen sollten bei Untersuchungen auf Listerien möglichst große Flächen beprobt werden. Dabei hat sich die Verwendung von Schwämmen, mit denen Flächen von mehreren 1.000 cm<sup>2</sup> abgestrichen werden können, bewährt. Eine Wisch-Probe sollte so genommen werden, dass ggf. vorhandene Biofilme mit abgetragen werden. Gullis und Abläufe sollten ebenfalls beprobt werden. Die Verwendung von Tupfern sollte auf schwer zu erreichenden Stellen und Nischen beschränkt werden.

Es wird empfohlen, die Umfeldproben in Abhängigkeit des von der jeweiligen Stelle ausgehenden Kontaminationsrisikos für das Lebensmittel in Zonen aufzuteilen. Dabei sollte zumindest eine Unterteilung in „produktberührende“ und „nicht produktberührende Fläche“ erfolgen. Ggf. ist auch die Unterteilung in weitere Zonen sinnvoll. Anbei ein Beispiel, in dem 4 Zonen unterschieden werden:

- Zone 1
  - Lebensmittelkontaktflächen wie z. B. Tischoberflächen, Bänder, Messer, Innenseiten von Rohren und Schläuchen, Transportbänder, Kisten, Paletten, Handschuhe, Verpackungsmaterial
- Zone 2
  - Nicht Lebensmittelkontaktflächen in direkter Nachbarschaft zu Lebensmitteln und Lebensmittelkontaktflächen wie z. B. Geräte-/Maschinenoberflächen, Bedienterminals, ggf. Transportwagen Wände, Böden, Abflüsse
- Zone 3
  - Weiter entfernte Nicht Lebensmittelkontaktflächen, die innerhalb oder in der Nähe von Produktionsbereichen liegen, in denen mit Lebensmitteln umgegangen wird und zur Kontamination von Zone 1 oder Zone 2 führen können, z. B. Gabelstapler, Hubwagen, Transportwagen, Wände, Böden, Abflüsse, Hygieneschleusen, Stiefel-/Schuhehlen

- Zone 4
  - Nicht Lebensmittelkontaktflächen, die außerhalb von Produktionsbereichen liegen, in denen mit Lebensmitteln umgegangen werden und von wo aus Listerien aus der Umwelt eingetragen werden könnten, wie z. B. Umkleidebereich, Cafeteria, Kistenlager

#### 4.4.5 Bewertungsschema für mikrobiologische Untersuchungen von Oberflächen im Produktionsumfeld und von Ausrüstungsgegenständen

Zur Bewertung des mikrobiologischen Status von Oberflächen im Produktionsumfeld und von Ausrüstungsgegenständen stehen derzeit keine gesetzlich vorgeschriebenen Grenzwerte zu Verfügung. Es liegt somit in der Verantwortung des Lebensmittelunternehmers, betriebsspezifische Grenzwerte festzulegen. Orientierung bei der Festlegung von Grenzwerten bieten die **DIN 10516** sowie die verschiedenen QS-Leitfäden, -Anlagen und -Arbeitshilfe. Daraus lässt sich z. B. das in Tabelle 3 dargestellte Bewertungs-schema ableiten.

Tabelle 3: Auswertungsschemata mikrobiologische Untersuchung von Oberflächen im Produktionsumfeld und von Ausrüstungsgegenständen (in Anlehnung an DIN 10516, QS-Leitfaden für das Fleischerhandwerk<sup>(17)</sup> und die Arbeitshilfe Listerien-Prävention für die Schlachtung, Zerlegung und Verarbeitung<sup>(20)</sup>)

Bereich und Zeitpunkt der Probenahme	Keimart	Grenzwert
	Aerobe mesophile Keimzahl	< 100 KbE/100 cm <sup>2</sup>
Oberflächen mit Lebensmittelkontakt unmittelbar <i>nach der Reinigung und Desinfektion</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	0 KbE/100 cm <sup>2</sup>
	<i>Listeria monocytogenes</i>	nicht nachweisbar (Fläche möglichst > 1000 cm <sup>2</sup> )
Oberflächen mit Lebensmittelkontakt unmittelbar <i>vor der Produktion</i>	Aerobe mesophile Keimzahl	≤ 10 KbE/cm <sup>2</sup>
	<i>Enterobacteriaceae</i>	≤ 1 KbE/cm <sup>2</sup>
	<i>Listeria monocytogenes</i>	nicht nachweisbar (Fläche möglichst > 1000 cm <sup>2</sup> )

Bei nicht annehmbaren Ergebnissen sind vor allem folgende Maßnahmen relevant:

- Überprüfung der durchgeführten Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen
- Ggf. Wechsel der Reinigungsart oder des Reinigungs- bzw. Desinfektionsmittel
- Schulung der Mitarbeiter
- Wiederholung der Reinigung und Desinfektion
- Erneuter Test nach wiederholter Reinigung<sup>(21)</sup>
- Bei Listerien: Ausschluss eines möglichen Einflusses auf die Lebensmittelsicherheit, ggf. markbezogene Maßnahmen

## 5 Abkürzungs-/Begriffsverzeichnis

- ATP = Adenosintriphosphat
- aw-Wert = Wasseraktivität
- *B. cereus* = *Bacillus cereus*
- CA = Controlled Atmosphere

- EFSA = European Food Safety Authority
- EHEC = *enterohämorrhagische Escherichia coli*
- HACCP = Hazard Analysis Critical Control Point
- KbE = Kolonie bildende Einheiten
- Koagulase (lat. coagulare = gerinnen) ist ein Enzym, dass Blutgerinnung bewirkt. Manche Bakterien bilden dieses Enzym. Sie werden dann als Koagulase-positive Bakterien bezeichnet.
- *L. monocytogenes* = *Listeria monocytogenes*
- RASFF = Rapid Alert System for Food and Feed
- RODAC = Replicate Organism Detection and Counting
- *S. aureus* = *Staphylococcus aureus*
- SAgS = Superantigene
- SE = Staphylokokken-Enterotoxine
- STEC = *Shigatoxin bildende Escherichia coli*
- UHT = Ultrahocherhitzung
- VTEC = *Verotoxin bildende E. coli*

## 6 Literaturnachweis

- (1) Krämer Johannes (2011)  
Lebensmittelmikrobiologie, 6. Auflage, Verlag Eugen Ulmer Stuttgart
- (2) Fachpresse-Verlag Hamburg (2009)  
„Fleischhygiene – Einführung in das EU-Hygienerecht“, Hamburg
- (3) Agrarmarkt Austria Marketing GesmbH (2005)  
Merkblatt: Beprobung von Arbeitsflächen, „Durchführung und Bewertung der bakteriologischen Eigenkontrolle von gereinigten und desinfizierten Oberflächen“
- (4) Almedica AG (2012)  
„Handbuch Hygiene-Selbst-Kontroll-Konzept“
- (5) Becker Maria (2011)  
„Untersuchungen zur mikrobiologischen Beschaffenheit von Lebensmitteln und zur Umfeldhygiene im Küchenbereich von Kindertageseinrichtungen“
- (6) Kantonales Labor Zürich (2011)  
„Erläuterung zu den mikrobiologischen Untersuchungen“ [http://www.klzh.ch/downloads/Erlaeuterungen\\_mo.pdf](http://www.klzh.ch/downloads/Erlaeuterungen_mo.pdf)  
(Stand: 01.11.2012)
- (7) BfR (2011a) -Bundesinstitut für Risikobewertung  
„Escherichia coli“, 2011 [http://www.bfr.bund.de/de/escherichia\\_coli-54352.html](http://www.bfr.bund.de/de/escherichia_coli-54352.html)  
(Stand: 01.04.2017)
- (8) BfR (2011d) -Bundesinstitut für Risikobewertung  
„Fragen und Antworten zu EHEC-Infektionen durch pflanzliche Lebensmittel“  
[http://www.bfr.bund.de/cm/343/fragen\\_und\\_antworten\\_zu\\_ehec\\_infektionen\\_durch\\_pflanzliche\\_lebensmittel.pdf](http://www.bfr.bund.de/cm/343/fragen_und_antworten_zu_ehec_infektionen_durch_pflanzliche_lebensmittel.pdf)  
(Stand: 01.04.2017)
- (9) BfR (2011b) - Bundesinstitut für Risikobewertung  
„EHEC- Enterohämorrhagische Escherichia coli“, [http://www.bfr.bund.de/de/a-z\\_index/ehec\\_\\_\\_enterohaemorrhagische\\_escherichia\\_coli-5233.html](http://www.bfr.bund.de/de/a-z_index/ehec___enterohaemorrhagische_escherichia_coli-5233.html)  
(Stand: 01.04.2017)
- (10) Sinell Hans-Jürgen (2004)  
„Einführung in die Lebensmittelhygiene“, 4. Auflage, Georg Thieme Verlag
- (11) BfR (2002) - Bundesinstitut für Risikobewertung  
„Bedeutung der Salmonellen als Krankheitserreger“, [http://www.bfr.bund.de/de/bedeutung\\_der\\_salmonellen\\_als\\_krankheitserreger-537.html](http://www.bfr.bund.de/de/bedeutung_der_salmonellen_als_krankheitserreger-537.html)  
(Stand: 01.04.2017)
- (12) Noack Daniela (2010) CVUA Karlsruhe () -Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt Karlsruhe, Krankheitserreger in pflanzlichen Lebensmitteln - Gesundheitsrisiken durch veränderte Verbrauchergewohnheiten  
[http://www.ua-bw.de/pub/beitrag.asp?subid=2&Thema\\_ID=2&ID=1296&Pdf=No](http://www.ua-bw.de/pub/beitrag.asp?subid=2&Thema_ID=2&ID=1296&Pdf=No)  
(Stand: 01.04.2017)
- (13) BfR (2007) - Bundesinstitut für Risikobewertung  
„Nationales Referenzlabor für koagulasepositive Staphylokokken einschließlich Staphylococcus aureus“, [http://www.bfr.bund.de/de/nationales\\_referenzlabor\\_fuer\\_koagulasepositive\\_staphylokokken\\_einschliesslich\\_staphylococcus\\_aureus-8813.html](http://www.bfr.bund.de/de/nationales_referenzlabor_fuer_koagulasepositive_staphylokokken_einschliesslich_staphylococcus_aureus-8813.html)  
(Stand: 01.04.2017)

- (14) BfR (2011c) -Bundesinstitut für Risikobewertung  
„Bacillus cereus“, [http://www.bfr.bund.de/de/bacillus\\_cereus-54344.html](http://www.bfr.bund.de/de/bacillus_cereus-54344.html)  
(Stand: 01.04.2017)
- (15) Langen, Marcus, Bacillus cereus und Bacillus thuringiensis in Salat - Eine Risikoeinschätzung, QS-Report:  
Obst, Gemüse, Kartoffeln | Ausgabe September/2016
- (16) EFSA BIOHAZ Panel (EFSA Panel on Biological Hazards), 2016. Scientific opinion on the risks for public health related to the presence of Bacillus cereus and other Bacillus spp. including Bacillus thuringiensis in food-stuffs. EFSA Journal 2016;14(7):4524, 93 pp. doi:10.2903/j.efsa.2016.4524
- (17) Leitfaden Fleischerhandwerk, QS Qualität und Sicherheit GmbH, Version 1.1.2022
- (18) Carl (2004)  
Muva Kempten, „Grundlegende Überlegungen zur richtigen Probenahme“
- (19) Andrei Paul (2005)  
„Praxishandbuch Hygiene und HACCP“, Behr Verlag
- (20) Arbeitshilfe Listerien-Prävention für die Schlachtung, Zerlegung und Verarbeitung, QS Qualität und Sicherheit GmbH (2020)(21) LfL (2012) -Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft  
„Möglichkeiten und Bewertung von Hygienekontrollen im Haushalt“, [http://www.technikerschule-kaufbeuren.bayern.de/aktuelles/linkurl\\_6.pdf](http://www.technikerschule-kaufbeuren.bayern.de/aktuelles/linkurl_6.pdf)  
(Stand: 01.11.2012)
- (22) „Hygiene-Selbstkontrolle“ bioexam, Merkblatt: Beprobung von Arbeitsflächen“, AMA
- (23) Deflorin, Binz, Gerber (2011)  
„Hygiene-Selbstkontrolle“

Erläuterung  
**Mikrobiologie und Probenahme bei der Be-/Verarbeitung von  
Obst, Gemüse, Kartoffeln**

**Gender Disclaimer**

Aus Gründen der besseren Lesbarkeit und leichteren Verständlichkeit verwendet QS in einschlägigen Texten das in der deutschen Sprache übliche generische Maskulinum. Hiermit sprechen wir ausdrücklich alle Geschlechteridentitäten ohne wertenden Unterschied an.

**QS Fachgesellschaft Obst-Gemüse-Kartoffeln GmbH**

Geschäftsführer: Dr. A. Hinrichs

Schwertberger Straße 14, 53177 Bonn

T +49 228 35068 -0

F +49 228 35068 -10

E [info@q-s.de](mailto:info@q-s.de)

Foto: QS

[q-s.de](http://q-s.de)