

5 Diskussion

5.1 Rechtlicher Hintergrund

Seit jeher wurde das Fleischhygienerecht auf der Grundlage neu erlangter Erkenntnisse auf dem Gebiet der Wissenschaft und Technik abgewandelt und ergänzt. Auch an wirtschaftliche und politische Belange und später über nationale Abkommen wurde die bestehende Gesetzgebung angepasst.

In der Fassung der Fleischhygieneverordnung von 1986 wird für die Sterilisationsbecken eine Wassertemperatur von +82 °C gefordert. Diese Temperaturvorgabe war zuvor schon in einigen EG- Vorschriften wie der Frischfleisch- Richtlinie oder der Drittland- Richtlinie enthalten. Das deutsche Fleischbeschaurecht, späteres EU- Recht (Frischfleisch Gesetz (heute: Richtlinie 64/433/EWG; Anhang I, Kap. 1.2), Mindestanforderungenverordnung, Geflügel- Mindestanforderungenverordnung) übernahm ebenfalls diese Vorgabe.

Zurückzuführen ist diese Regelung auf Vorgaben im angloamerikanischen Sprachraum (180 °F = 82 °C). In den frühen 70er Jahren hat sie auch Eingang in verschiedene Arbeitsunterlagen der FAO/WHO gefunden (WEISE und LEVETZOW 1976).

Weder aus den bundesdeutschen noch aus den für die EU geltenden Vorschriften oder aus entsprechenden Kommentaren ist ersichtlich, wie es zu diesem Wert gekommen ist (WEISE und LEVETZOW 1976).

Das Australien Department of Primary Industry schreibt in seinem „Manual of Instruction for Meat Inspection and Meat Handling Procedures (1969)“, dass Sterilisationsbecken eine Wassertemperatur von nicht unter 82,2 °C (180 °F) haben dürfen. 82 °C scheinen daher auch die in australischen Schlachtbetrieben allseits anerkannte Temperaturvorgabe zu sein. Eine Angabe zur Verweildauer der Messer in den Becken gibt es nicht (PEEL und SIMMONS 1978).

Nach SCHÜTT-ABRAHAM et al. (1988) wurde diese Vorschrift seit Inkrafttreten der Bestimmungen nicht nur in Fachkreisen häufig kritisiert, überdies stößt ihre Durchsetzung auch in der Praxis auf heftigen Widerstand.

Andererseits ist der Formulierung des Punktes 1.7.2. in Anlage 2, Kapitel I FIHV („In den Räumen müssen in größtmöglicher Nähe des Arbeitsplatzes in ausreichender Anzahl

Einrichtungen zur Reinigung und Desinfektion der Arbeitsgeräte mit Wasser von mindestens +82 °C oder mit einem anderen geeigneten Desinfektionsverfahren vorhanden sein.“) zu entnehmen, dass die FIHV abgewandelte Versionen der Reinigung und Desinfektion der Handgeräte zulässt. Voraussetzung ist lediglich, dass das gewählte Verfahren geeignet ist.

5.2 Notwendigkeit der vorliegenden Untersuchung

Die derzeit allgemein durchgeführte Art der Reinigung und Desinfektion der Handgeräte im Schlachtbetrieb weist Schwachstellen auf. Als limitierende Faktoren stellten sich die Zeit der Einwirkung und die Temperatur der zur Desinfektion verwendeten Flüssigkeit heraus. Daher war es Ziel der vorliegenden Arbeit, Verfahren zu überprüfen, die es ermöglichen, diese limitierenden Faktoren möglichst niedrig zu halten.

Schon seit Jahren bestehen Zweifel an der Effektivität der derzeit praktizierten Art der Reinigung und Desinfektion der Handgeräte im Schlachtbetrieb. Verschiedene Arbeitsgruppen (SNIJDERS et al. 1985 II; WOLTERS DORF und MINTZLAFF 1996; DÜNNEBIER et al. 2001; SCVPH 2001) konnten zeigen, dass die Handgeräte desöfteren nur unzureichend gereinigt und desinfiziert waren. Dies war besonders dann der Fall, wenn keine Vorreinigung stattgefunden hatte, welche groben Schmutz (organisches Material) von der Oberfläche der Geräte entfernt. So fungieren Handgeräte als Vektoren, die Mikroorganismen von einem Tierkörper zum nächsten weiterreichen können.

Messer, Hände oder Kleidung werden primär durch Kontakt mit stark verkeimten Oberflächen kontaminiert. Ein häufiges und regelmäßiges Reinigen garantiert nicht nur, dass die Messer nicht als Vektor fungieren, sondern ist auch vonnöten, um die Schärfe der Messer aufrechtzuerhalten.

Generell sollte dem Personal auf jeden Fall mehr als ein Messer zur Verfügung stehen. Bei der Fleischuntersuchung ist es notwendig, die Messer nach jeder Inzision zu reinigen und zu desinfizieren (SCVPH 2001).

In der Anlage 2, Kap. X, Punkt 1.3 der FIHV wird gefordert: „Für das Öffnen der Blutgefäße ist bei jedem Tier ein frisches gereinigtes Messer zu verwenden.“

Konkreter findet sich in Anlage 2, Kap. II, Punkt 2: „Räumen, Einrichtungsgegenstände und Arbeitsgeräte müssen ständig sauber und in einwandfreiem Zustand gehalten werden. Sie sind vor ihrer Wiederverwendung, bei Verunreinigungen und soweit sonst erforderlich, sowie am Ende jedes Arbeitstages sorgfältig zu reinigen und zu desinfizieren. (...)“.

Für beide Sachverhalte gilt die Verwendung der „Zwei-Messer-Technik“: Verwendung mehrerer Messer; eines ist in Gebrauch, während ein anderes sich im Sterilisationsbecken befindet (ZRENNER und HARTIG 1994).

Ein bisweilen mangelhaftes Ergebnis der Reinigung und Desinfektion kann vielerlei Ursachen haben. Die immer schneller werdenden Bandgeschwindigkeiten lassen oftmals keine Zeit zur ausreichenden Nutzung der Sterilisationsbecken. Während des praktischen Teils dieser Studie konnte an den Schlachtbetrieben häufig nur ein „Dippen“ der Messer in das Sterilisationsbecken beobachtet werden.

Ein weiterer Aspekt ist die Temperatur in den Sterilisationsbecken. Rechtlich ist eine Wassertemperatur von mindestens 82 °C gefordert, jedoch belegen Untersuchungen (DÜNNEBIER et al. 2001), dass diese Temperatur oftmals nicht erreicht bzw. sogar deutlich unterschritten wird. Dies liegt einerseits daran, dass die Sterilisationsbecken erst kurz vor Schlachtbeginn eingeschaltet werden und dann noch nicht ausreichend hochgeheizt sind. Andererseits stellt auch die Höhe der geforderten Temperatur ein Problem dar: Dies kann einerseits daran liegen, dass eine zu hohe Temperatur mit dem subjektiven Eindruck des Stumpfwerdens des Messers verknüpft wird (SCHÜTT-ABRAHAM et al. 1988). Dieser Sachverhalt hat allerdings weniger mit einem tatsächlichen Stumpfwerden der Schneide zu tun, als mit einer Ablagerung von Gewebspartikeln, welche aufgrund einer Hitzekoagulation von Fett und Eiweiß bei Temperaturen entstehen, wie sie in den Sterilisationsbecken gefordert werden. Auf polierten Klingen sind diese Ablagerungen jedoch viel geringer als auf geschliffenen (SCHÜTT-ABRAHAM et al. 1988).

Andererseits wird auch die Aerosolentwicklung durch das heiße Wasser als unangenehm empfunden (WEISE und LEVETZOW 1976; SNIJDERS et al. 1985 I).

Selbstverständlich spielt auch noch die Zeitdauer eine Rolle, welche die Sterilisationsbecken benötigen, um auf die rechtlich geforderte Temperatur hoch zu heizen.

Die Folge ist, dass die Becken entweder während der Arbeit von Zeit zu Zeit abgeschaltet werden oder der Temperaturregler von Beginn an schon nicht auf die gewünschten 82 °C eingestellt wird.

Bereits SCHMIDTHOFER (1972) hielt die Temperatur von 82 °C nicht für optimal:

Eiweißhaltige Schmutzpartikel koagulieren bei dieser Temperatur bereits, verkleben fest auf der Unterlage und lassen sich folglich nur mühsam von ihr ablösen. Darüber hinaus liege die optimale Wirkung der meisten Reinigungs- und Desinfektionsmittel in einem niedrigeren Temperaturbereich.

Kunststoffe an Geräten (Messergriffe, Schneidbretter u.a.) werden durch Temperaturen von mehr als +60 °C unter Umständen beschädigt. Es sei außerdem mit erhöhter Wrasenbildung in den Arbeitsräumen zu rechnen, und gemessen an der Wirkung wird ein nicht vertretbarer Energieaufwand betrieben.

WOLTERSDORF und MINTZLAFF (1996) beschäftigten sich mit der Verbesserung der Handhabungshygiene von Rücken- Spaltsägen. Bei dem Versuch, Spaltsägen in einem Becken mit einer Wassertemperatur von 82 °C zu desinfizieren, war eine ausreichende Desinfektion nicht ohne eine vorherige Grundreinigung möglich. Desweiteren störte auch hier die von heißem Wasser bewirkte Eiweiß- Koagulation, welche es unmöglich machte, die anhaftenden Mikroorganismen von der Säge zu lösen. Auch erschien die Schichtung der im Becken gelösten Teilchen als Problem: Da leichtere Teile (besonders Fett) an der Oberfläche schwimmen, kontaminieren diese das gereinigte bzw. desinfizierte Gut beim Herausnehmen aus dem Becken erneut.

Nach BÖHM (2002) wird die Wirksamkeit eines Reinigungs- und Desinfektionsvorganges auch von der zunehmenden Verschmutzung der Reinigungslösung beeinflusst. Je höher die Konzentration dieser Lösung ist, desto größere Mengen Schmutz können abgelöst und von der Lösung aufgenommen werden, ohne dass es zu einem erneuten Absetzen der Schmutzteilchen kommt oder die Wirkung nachlässt.

Es ergibt sich, dass sinnvolle Alternativen vor allem auf geringere Temperaturen und eine kurze Reinigungsdauer abheben sollten.

In Erwägung der genannten Umstände wurden Verfahren und Kombinationen geprüft, die niedrigere Temperaturen als die vorgeschriebenen 82 °C mit einer chemischen (Milchsäure) und einer physikalischen (Ultraschall) Einwirkung kombinieren, dies bei reproduzierbaren Zeiten.

5.3 Diskussion der Methodik

5.3.1 Die Nass-Trocken-Tupfer-Technik

Zur Darstellung der Mikroflora einer Oberfläche gibt es verschiedene Verfahren zur nicht-destruktiven Probennahme von Oberflächen. Neben der Nass-Trocken- Tupfertechnik sind Abwisch- Verfahren wie Schwämmchen, Abklatsch- Verfahren wie das direkte Verfahren mit Agar- Platten oder -Streifen oder das indirekte Abklatsch- Verfahren mit Klebestreifen oder Membranfiltern zu nennen (DIN 10113-1; DIN 10113-3; PURKL und BÜLTE 2002). Auch Abspülverfahren wie manuell mit dem Handspülgerät oder mit Vakuum-, Propeller-, Druckspül- oder Ultraschallgeräten sind zur Probennahme möglich und diskutiert worden (REUTER 1984; FRIES und JAHNKE-GRIMM 1984; FRIES und LENZ 1984).

Nach Thran (HAUCK 1983) muss eine ideale Probennahmetechnik folgende Kriterien erfüllen:

- Sie muss die gesamte auf einer Oberfläche befindliche Mikroflora erfassen.
- Sie muss sich der Oberfläche des zu beprobenden Objektes anpassen können.
- Sie muss reproduzierbare Ergebnisse liefern können (menschliche Einflussnahme muss so gut wie möglich ausgeschlossen werden können).
- Sie muss möglichst einfach und schnell zu handhaben sein.

Die Nass-Trocken- Tupfertechnik ist als ein nicht-destruktives Probenentnahmeverfahren als DIN 10113-1 beschrieben. Sie eignet sich als mikrobiologische Kontrolle für die Effektivität von Reinigungs- und Desinfektionsmitteln. Eine konstante Abnahmetechnik ist für die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zentral.

PURKL und BÜLTE (2002) haben in einem Vergleich der Nass-Trocken- Tupfertechnik mit der Schwämmchentechnik auf 330 Schlachttierkörpern eine Fläche von 400 cm² abgewischt. Mit der Schwämmchentechnik konnten im Mittel nur 0,03 Logarithmusstufen - bezogen auf

die GKZ K_bE/cm²- höhere aerobe mesophile Keimzahlen nachgewiesen werden als mit der Nass-Trocken- Tupfertechnik. Die Autoren empfehlen die Nass-Trocken- Tupfertechnik für kleinere (unter 100 cm² große) Probennahmeflächen. Für größere Areale sehen sie die Schwämmchentechnik im Vorteil.

Die in der vorliegenden Untersuchung zu beprobenden Flächen (V₂A- Plättchen) wiesen eine Fläche von 10 cm² auf. Da die Probennahme immer von derselben Person vorgenommen wurde, konnten reproduzierbare Ergebnisse ermittelt werden (Siehe Tabellen der Ergebnisse des Hautversuches im Ergebnisteil). Im Vorversuch konnte geklärt werden, dass durch die Tupfer die Flora einer Oberfläche vollständig erfasst wird (**Tab. 8.1**).

Die Nass-Trocken- Tupfertechnik wurde somit in einer abgewandelten Form für die hier vorgenommenen Untersuchungen gewählt. Eine Verwendung von Baumwollkompressen statt Tupfern erlaubte eine einfache Beprobung der Messer im Schlachtbetrieb.

5.3.2 Wahl des Materials und Belastung der Oberflächen

Grundsätzlich lassen sich Oberflächen um so besser reinigen, je glatter das Material ist (SCHLIESSER 1981). Die im Routineschlachtbetrieb verwendeten Messer bestehen auch deshalb generell aus poliertem Edelstahl.

SCHMIDT und CREMMLING (1981) haben Laborversuche zur Reinigung und SNIJDERS et al. (1985 II) zur Reinigung und Desinfektion von Messern auf V₂A- Stahlplättchen durchgeführt, die mit den hier vorgestellten Untersuchungen vergleichbar sind.

SNIJDERS et al. (1985 II) benutzten Edelstahlplättchen, die sie mit Tryptone Soya Broth Agar beschichteten (Direkte-Oberflächen-Agar-Platten- Methode). Die so präparierten Plättchen wurden in einem Wasserbad mit und ohne Zusatz von Milchsäure mit definierten Konzentrationen in unterschiedlichen Temperatur/Zeit- Kombinationen behandelt. Die Kontrolle des Desinfektionserfolges erfolgte mikrobiologisch. Die Autoren kamen zu Ergebnissen, die den hier vorgestellten Ergebnissen vergleichbar sind.

SCHMIDT und CREMMLING (1981) belasteten V₂A- Plättchen – vergleichbar mit der vorliegenden Untersuchung – mit Fett, Eiweiß und einer bekannten Mikroflora. Sie untersuchten jedoch einen Einsatz von Kunststoffbürsten (manuelle Reinigung), Hochdruck- (60 bar) und Dampfstrahlreinigern, jeweils mit und ohne Zusatz von Reinigungsmitteln, auf den Reinigungserfolg.

Der in der Fleischwirtschaft durch Reinigungsmaßnahmen zu entfernende Schmutz besteht hauptsächlich aus Fett- und Eiweißresten sowie aus Mischungen beider Komponenten (FRIES 2002 II; MROZEK 1996).

SCHMIDT und CREMMLING (1981) und SNIJDERS et al. (1985 II) haben Rinder- oder Schweinefett (Direktausstrich) als Kontamination auf die V₂A- Plättchen aufgebracht.

Als definierte Oberfläche für die in der vorliegenden Arbeit gemachten Untersuchungen wurden ebenfalls V₂A- Stahlträger verwendet, da dieses Material am besten den Gegebenheiten der im Schlachtbetrieb verwendeten Messer entspricht.

Da die Messer unter Praxisbedingungen auch mit Fett und Eiweiß behaftet sind, wurden die Stahlplättchen im Hauptversuch zusätzlich zur Belastung mit einer Keimsuspension mit Material dieser zwei Gruppen belastet. Obwohl Fett den Bakterien kaum Wachstumsmöglichkeiten bietet, kann es die Bakterien abschirmen und so den Reinigungserfolg behindern (GARNETT 1971; PEEL und SIMMONS 1978; SCHMIDT und CREMMLING 1981).

5.3.3 Die zur Oberflächenbelastung eingesetzten Keime

Zur Herstellung der Oberflächenbelastung der V₂A- Stahlplättchen wurden *S. aureus*, *L. monocytogenes* und *Eb. aerogenes* gewählt.

S. aureus, vor allem jedoch *L. monocytogenes* gehören laut SCVPH (2001) zu den bakteriellen Zoonoseerregern, die mit rohem Fleisch und mit Geflügelfleisch in Verbindung gebracht werden. *Eb. aerogenes* wurde als Vertreter der gramnegativen Enterobacteriaceae gewählt, deren Vertreter Darmerkrankungen bei Mensch (und Tier) hervorrufen können und die als Indexgruppe für mikrobielle Verunreinigungen fäkalen Ursprungs gelten. Die Daten in **Tab. 5.1** geben Aufschluss über die Hitzeresistenz der einzelnen Spezies. Bei einer Temperatur von 60 °C liegt der entsprechende D- Wert für *Eb. aerogenes* bei 3 min, für *L. monocytogenes* ebenfalls bei 1-3 min und bei *S. aureus* bei 10 min. Bei 70 °C verringern sich für alle Keime die D- Werte drastisch auf 1-4, 10 und 20 sek. Zu beachten ist, dass die Angaben jeweils milieuabhängig und nicht aus einer Vergleichsuntersuchung abgeleitet wurden.

Tab. 5.1: Angaben zu den D- Werten der 3 verwendeten Keime (KAMPELMACHER und MOSSEL 1989; MROZEK 1996; KRÄMER 1997; DOHERTY et al. 1998)

KEIM	ZEIT	TEMPERATUR
<i>Eb. aerogenes</i>	3 min	60 °C
	30 sek	65 °C
	10 sek	70 °C
<i>S. aureus</i>	3 sek	75 °C
	10 min	60 °C
	1 min	65 °C
	20 sek	70 °C
	5 sek	75 °C
<i>L. monocytogenes</i>	30,6 min	50 °C
	1-3 min	60 °C
	0,9-5 sek	70 °C

5.3.4 Verwendung des Ultraschallbeckens und der Milchsäure

Grundsätzlich kann zwischen physikalischen und chemischen Inaktivierungsverfahren unterschieden werden. Durch eine Kopplung beider Verfahren kann die Desinfektionswirkung gesteigert werden. Zu den physikalischen Verfahren zählen vor allem die Anwendung von Hitze, UV- Licht, und ionisierenden Strahlen sowie (mit Einschränkung) von Ultraschall (BÖHM 2002).

Als physikalisches Verfahren wurde hier die Verwendung von Ultraschall erprobt und als chemisches Inaktivierungsverfahren der Zusatz von Milchsäure.

Ultraschall und Milchsäure besitzen als additive Faktoren zur regulären Reinigung auch bakterizide Eigenschaften (SCHÜTT-ABRAHAM et al. 1992; BÖHM 2002; DOORES 1993; FRANK 1994). Auf ihre Effizienz wurde schon in mehreren Studien hingewiesen (SNIJDERS et al. 1985 I; GOODSON und ROWBURY 1989; DICKSON und KUNDURU 1995; DORSA et al. 1998; SCHÜTT-ABRAHAM et al. 1992; RASO et al. 1998; MANAS et al. 1999; OULAHAL-LAGSIR et al. 2000). Milchsäure kann auf dem Lebensmittelsektor

eingesetzt werden, da Milchsäure als GRAS- Substanz (Generally Recognized As Safe) (Directive 95/2/EG, FAO 1965; SCVPH 1998) eingestuft ist und die Auswirkung von Ultraschallschwingungen auf Lebensmittel ebenfalls als unbedenklich gilt (SAJAS und GORBATOW 1978; OULAHAL-LAGSIR et al. 2000). Ultraschall wurde in Schlachtbetrieben zur Reduzierung der Keimbelastung von Schlachtierkörperoberflächen (SAJAS und GORBATOW 1978) mit gutem Erfolg eingesetzt: SAJAS und GORBATOW konnten schon 1978 die Mikroorganismenbelastung einer definierten Oberflächen um das 24fache reduzieren, ohne dass eine nachteilige Wirkung des beschallten Fleisches auf den Konsumenten zu erkennen war.

5.4 Diskussion der Struktur der vorliegenden Arbeit

Die vorliegende Studie ist in 3 Teilbereiche gegliedert: den Vorversuch, den Feldversuch und den Hauptversuch. Die Durchführung des Vorversuches und des Feldversuches waren notwendig, um einerseits eine akzeptable Art und Weise der Probenaufarbeitung zu entwickeln und andererseits um Keimzahlen zu verwenden, die sich an realen Praxisbedingungen anlehnen. Der Hauptversuch bedient sich somit der Erkenntnisse der vorangehenden Untersuchungen.

5.4.1 Vorversuch zur Festsetzung der Beprobungsmethodik

Das Nass-Trocken-Tupfer- Verfahren (DIN 10113-1) ist ein quantitatives Tupferverfahren für Einrichtungs- und Bedarfsgegenstände. Es ist besonders zur Probennahme auf kleinen Oberflächen geeignet.

Für diese Arbeit musste ein reproduzierbares Verfahren entwickelt werden, das den Erfolg von Varianten der Reinigungs- und Desinfektionstechniken einzuschätzen erlaubt. In einem Vorversuch wurde, in Anlehnung an das bestehende DIN Verfahren 10113-1, das Nass-Trocken-Tupfer- Verfahren an die Belange dieser Untersuchung angepasst.

Die abgeleitete Technik ermöglichte eine Wiederfindungsrate (Verhältnis von aufgebrachtener zu zurückgewonnener Keimmenge), die gegen 1 tendierte.

In **Tab. 8.1** im Anhang ist die Entwicklung des Vorversuches zu verfolgen. Bei einer Verwendung von 2 Tupfern und letztendlich einem vierfachen Ausschütteln der Tupfer ließen sich die optimalsten Wiederfindungsraten erreichen.

Um das Verfahren auf die in der vorliegenden Studie anfallenden Gegebenheiten einzustellen, wurde wie folgt abgewandelt und konkretisiert:

- Die DIN 10113-1 ist ein quantitatives Verfahren. Die in dieser Studie eingesetzte Technik musste auch einen qualitativen Nachweis ermöglichen, da mit der im Feldversuch gefundenen Keimflora auch im Hauptversuch gearbeitet werden sollte. Die Versuchsbedingungen im Hauptversuch sollten so praxisnah wie möglich sein.
- In der DIN 10113-1 ist für das Ausschütteln der Tupfer sowohl ein elektromechanisches Ausschüttelgerät als auch ein Homogenisator (Stomacher) erlaubt. Hier wurde der elektromechanische Schüttler eingesetzt.
- Da in der Fleischwirtschaft Fett einen bedeutenden Anteil an den Verschmutzungen ausmacht, wurde zum Zwecke einer besseren Fettlöslichkeit 2 Tropfen handelsübliches Spülmittel der Spülflüssigkeit hinzugefügt.
- Zur Probennahme muss eine genaue Fläche definiert sein. Das ergab sich im vorliegenden Fall durch die verwendeten V₂A- Plättchen (10 cm²) im Vorversuch und im Hauptversuch. Im Feldversuch wurde die Größe eines durchschnittlichen Schlachtermessers (ca. 54 cm²; beide Seiten) als Vorgabe gewählt.
- Zu den Watteträgern sollte zum Ausschütteln laut DIN 10113-1 soviel Verdünnungsflüssigkeit (NaCl- Pepton) gegeben werden, dass das Gesamtvolumen in einem einfachen Verhältnis zur Probennahmefläche steht. Im Vor- und im Hauptversuch (V₂A- Plättchen = 10 cm²) wurden die Tupfer in 20 ml NaCl- Pepton geschüttelt. Im Feldversuch (durchschnittliche Fläche eines Schlachtermessers = 54 cm²) erwies sich eine Menge von 50 ml als praktikabel.
- Das Tupferpaar soll nur einmal geschüttelt werden (30 sek). In dieser Untersuchung erschien es notwendig, die Tupferpaare 4 mal hintereinander je 1 min zu schütteln und jede der gewonnenen Flüssigkeiten zu erfassen. Selbst in der vierten Schüttelflüssigkeit waren in den zwei niedrigsten Verdünnungsstufen noch Keime zu finden.
- Ausgehend vom institutsinternen Laborbuch wurden auf die Agarplatten je 0,1 ml der verschiedenen Verdünnungsstufen aufgebracht (die DIN 10113-1 gibt eine Menge von 0,05 ml vor). Die DIN 10113-1 schreibt eine Bebrütungsdauer von 72 Std bei 30 °C vor. Die Platten wurden in Anbetracht auf die zu erwartende Keimflora 24 Std bei 37

°C bebrütet. Im Feldversuch wurde 48 Std bei 30 °C bebrütet, um den Wachstumsbedingungen aller zu erwartenden Keime Rechnung zu tragen.

- Im Feldversuch war es notwendig, die Schlachtermesser direkt zu beproben. Da dies mit Wattetupfern kaum zufriedenstellend zu bewerkstelligen war, wurden Baumwollkompressen definierter Größe eingesetzt.

5.4.2 Die Feldstudie

Um für den Hauptversuch einsatzfähige Kenndaten bezüglich der auf den Handgeräten in der Praxis vorhandenen Keimzahlen zu erhalten, wurden in vier Schlachtbetrieben Daten zur Keimbelastung von Messern vor und nach der Reinigung und Desinfektion im Sterilisationsbecken erhoben. Die dort gefundenen Verhältnisse wurden in Relation auf Menge und Zusammensetzung der Flora auf die experimentelle Durchführung übertragen. Es sollte so vermieden werden, unrealistische Taxa und quantitativ nicht zutreffende Keimmengen zu testen. Die im Feldversuch in den Schlachtbetrieben gewählten Positionen zur Probennahme sind festgehalten in **Tab. 8.2** im Anhang und die Ergebnisse sind in den **Tab. 4.1**, **Tab. 4.2**, **Tab. 4.3** und in **Tab. 4.4** im Ergebnisteil zu finden.

5.4.3 Der Hauptversuch

Für den Hauptversuch wurden folgende Faktoren berücksichtigt und unterschiedlich kombiniert:

- Einsatz eines Wasserbades
- Einsatz der Ultraschalltechnik
- Wasserbad unter Zusatz von 2 % Milchsäure (End- Konzentration)
- Ultraschallbad unter Zusatz von 2 % Milchsäure (End- Konzentration)
- Temperatur der Reinigungs- und Desinfektionsflüssigkeit
- Dauer des Verbleibs der Versuchsplättchen im Wasser- bzw. Ultraschallbad

Für den Verbleib der Plättchen im Becken wurden 10, 30 und 60 Sekunden gewählt. Eine längere Verweildauer erschien widersinnig, da gerade der Faktor Zeit im Routinebetrieb der

Diskussion

Fleischgewinnung limitierend ist. Nach Vorliegen der ersten Ergebnisse wurde die niedrigste zeitliche Vorgabe (10 sek) ein weiteres Mal aufgesplittet in 5 und 1 sek. Auf diese Weise konnte der Erfolg der Methode in einem feineren Zeitraster betrachtet und präzisere Aussagen über die Zeit- Abtötungsrelation gewonnen werden.

Die Spanne der gewählten Wassertemperaturen wurde auf 40 °C bis 80 °C beschränkt. Die gewählte Obergrenze von 80 °C erschien plausibel, da sie in etwa der rechtlich geforderten Temperatur von 82 °C entspricht und es das Ziel der Arbeit war, eine Variante auf der Basis geringerer Temperaturen zu ermitteln.

Als untere Temperaturgrenze wurde 40 °C gewählt, da in diesem Temperaturbereich die Denaturierung von Proteinen beginnt. Aktin beginnt schon ab einer Temperatur von 30 °C zu denaturieren, während Chymotrypsin und Trypsinogen erst bei einer Temperatur von 57 °C bzw. 58 °C zu denaturieren beginnen (HAMM 1977).

Jeder Versuchsaufbau wurde 10 Mal durchlaufen, um eine Verrechnung der Daten zu ermöglichen.

Vergleichbare Untersuchungen wurden von SNIJDERS et al. (1985 II) und SCHÜTT-ABRAHAM et al. (1992) durchgeführt:

SNIJDERS et al. (1985 II) belasteten V₂A- Plättchen

- (a) Mit einer *E.coli*- Kultur (10 ml einer definierten Keimmenge wurden auf 1 l Peptonwasser gegeben und die Plättchen 10 sek in dieser Mischung geschwenkt),
- (b) Mit einer Hackfleischemulsion (wenig Fett- und Protein- Partikel),
- (c) Mit einer Hackfleischemulsion (viel Fett- und Protein- Partikel)
- (d) Mit einer Kontaminationsmenge unter Praxisbedingungen, indem die Plättchen an der Wange eines frisch geschlachteten Schweins gerieben wurden.

Die Plättchen wurden anschließend 1, 2, 5, 10, 20, 30, 45 und 60 sek in Wasser von 20, 45, 60 und 82 °C gegeben. Dem Wasser wurde 0, 2, 5, 10 oder 20 % Milchsäure hinzugesetzt.

SCHÜTT-ABRAHAM et al. (1992) prüften den Einsatz von Ultraschall (23 kHz) in Einrichtungen zur Reinigung und Desinfektion von Messern am Arbeitsplatz in Schlacht- und Zerlegebetrieben. Geprüft wurden Fleischermesser. Die Autoren verzichteten bei der Belastung der Messer auf eine Keimsuspension, die Oberflächen der Messer wurden mit einer „Hackfleischemulsion“ belastet. Geprüft wurde bei Wassertemperaturen von 82 °C, 60 °C

Diskussion

und Raumtemperatur und bei Verweildauern der Messer von 60, 30 und 15 sek im Becken. Als Versuchsaufbau wurde einerseits das Wasserbad und anschließend das Ultraschallbad genutzt. Jeder Versuchsaufbau wurde 10 Mal durchlaufen. Der Reinigungserfolg einer Versuchsanordnung wurde bestimmt, indem die Messer getrocknet und anschließend in einer 1 %igen Kristallviolett-Lösung gefärbt wurden (Sichtbarmachung von Eiweißrückständen auf den Klingen). Eine mikrobiologische Analyse erfolgte nicht.

Die hier vorgestellte Untersuchung kann als Kombination aus den beiden oben genannten Versuchen angesehen werden. Die gewonnenen Aussagen sind jedoch insofern stärker reproduzierbar, als von einer definierten Mikroflora ausgegangen wurde.

Tab. 5.2: Vergleich der vorliegenden Studie mit den Untersuchungen von SNIJDERS et al. (1985 II) und SCHÜTT-ABRAHAM et al. (1992)

Kriterium	Studie von SNIJDERS et al. 1985 II	Studie von SCHÜTT- ABRAHAM et al. 1992	Vorliegende Studie
Verwendung von	V ₂ A- Plättchen	Fleischermesser	V ₂ A- Plättchen
Belastung mit	<i>E. coli</i> - Kultur oder Hackfleischemulsion oder Kontamination unter Praxisbedingungen	Hackfleischemulsion	Keimmischung + Fett + Eiweiß
Medien	Wasserbad mit und ohne Milchsäure (End- Konz. 0, 2, 5, 10 oder 20 %)	Wasserbad und Ultraschallbad	Wasserbad und Ultraschallbad mit und ohne Milchsäure (End- Konz. 2 %)
Verweildauer	1, 2, 5, 10, 20, 30, 45 und 60 sek	15, 30 und 60 sek	1, 5, 10, 30 und 60 sek
Temperatur	20, 45, 60 und 82 °C	Raumtemperatur, 60 °C und 82 °C	40, 50, 60, 70 und 80 °C
Kontrolle des Desinfektionserfolges	Mikrobiologisch	Optisch	Mikrobiologisch

5.5 Diskussion der Ergebnisse

5.5.1 Hitzeanwendung in Flüssigkeit

Wasser

Wasser zur Reinigung und Desinfektion von Handgeräten im Schlachtprozess muss in jedem Fall den Voraussetzungen der Trinkwasserverordnung entsprechen. Die Trinkwasserverordnung bezeichnet dieses Wasser als „Wasser für Lebensmittelbetriebe“. Darunter versteht die Trinkwasserverordnung per definitionem alles Wasser, ungeachtet seiner Herkunft und seines Aggregatzustandes, welches „in einem Lebensmittelbetrieb für die Herstellung, Behandlung, Konservierung oder zum Inverkehrbringen von Erzeugnissen oder Substanzen, die für den menschlichen Gebrauch bestimmt sind, sowie zur Reinigung von Gegenständen und Anlagen, die bestimmungsgemäß mit Lebensmitteln in Berührung kommen können, verwendet wird, soweit die Qualität des verwendeten Wassers die Genusstauglichkeit des Enderzeugnisses beeinträchtigen kann; ...“.

Dieses Wasser muss im Sinne der Trinkwasserverordnung frei von Krankheitserregern sein. In den Anlagen zur Trinkwasserverordnung sind Grenzwerte für bakterielle Verunreinigungen, chemische Parameter und Indikatorparameter genannt. Der Grenzwert für Coliforme Keime besagt beispielsweise, dass in 100 ml Trinkwasser keine Coliformen Keime zu finden sein dürfen. Fäkalstreptokokken dürfen in 100 ml Trinkwasser in keinem Fall enthalten sein. Als Richtwert darf die Koloniezahl 100 Keime pro ml bei einer Bebrütungstemperatur von 20 °C + 2 °C und einer Bebrütungstemperatur von 36 °C + 1 °C nicht überschreiten.

In den im Feldversuch beprobten Sterilisationsbecken befand sich Leitungswasser, das laut Aussage des Schlachthofpersonals jeden Tag gewechselt wird bzw. an einen Überlauf angeschlossen ist.

Auch das im Hauptversuch im Labor verwendete Wasser zur Befüllung des Ultraschallbeckens hatte Trinkwasserqualität. Das Wasserbad wurde mit Aqua dest. befüllt. Das Wasser im Wasserbad und das Wasser im Ultraschallbecken wurde täglich (spätestens nach zwei Versuchsanordnungen) gewechselt.

Einwirkzeiten

Nach Untersuchungen von GARNETT (1971) sind bei einer Temperatur von 82 °C 2 min nötig, um die Mikroflora auf den Messern auf Werte um $10^2/\text{cm}^2$ zu senken.

PEEL und SIMMONS empfahlen 1978 eine Eintauchzeit für die Messer von 10 sek bei einer Wassertemperatur von 82 °C.

Nach SNIJDERS et al. (1985 II) ist schon eine Verweildauer von 1 sek in einem Wasserbad von >82 °C ausreichend, um eine bakterielle Kontamination zu eliminieren, wenn auf den Messerklingen keine Fett- oder Eiweißrückstände vorhanden sind. Sind jedoch Rückstände von Fett oder Eiweiß auf den Messern vorhanden, so kann auch eine Verweildauer von 10 sek bei dieser Temperatur keine befriedigenden Ergebnisse liefern.

Die hier vorgelegten Werte indizieren, dass eine Zeit/Temperatur- Kombination von 10 sek bei 70 °C ausreichend war, um die vorhandene Mikroflora zu inaktivieren, sofern es sich um reine Desinfektion der Messer im Wasserbad (ohne Zusätze) handelt, bezogen auf den hier artifiziell erstellten Verschmutzungsgrad (Siehe Kapitel 3).

Es gelang, eine Mischflora aus 3 aufgebrachten Keimen (*S. aureus*, *L. monocytogenes* und *Eb. aerogenes*) im Wasserbad bei einer Temperatur von 70 °C schon nach 10 sek zu eliminieren. Dieses Ergebnis deckt sich mit den in der Literatur gefundenen Dezimalreduktionszeiten (siehe **Tab. 2.3**): *Eb. aerogenes* wird nach 10 sek bei 70 °C inaktiviert, *L. monocytogenes* nach 1-4 sek bei 71 °C. Lediglich für *S. aureus* ist eine längere Verweildauer (20 sek) der Keime in Wasser dieser Temperatur beschrieben (MROZEK 1996).

Verschmutzungsgrad der Messer

Bereits GARNETT (1971) als auch PEEL und SIMMONS (1978) wiesen auf die Bedeutung einer Fettschicht bezüglich einer ausreichend langen Reinigung der Messer sowie einer schützenden Wirkung für die Mikroorganismen hin.

WEISE und LEVETZOW (1976) erachten den keimreduzierenden Effekt hoher Temperaturen bei der Reinigung als gering. Die nach der Reinigung noch anhaftenden Schmutzpartikel bieten überlebenden Keimen gute Schutzmöglichkeiten und stellen einen guten Nährboden dar. Das Schwergewicht jeder Reinigung sei daher auf die Beseitigung von Eiweißresten und

Diskussion

Schmutzpartikeln zu richten, damit die verbleibenden Mikroorganismen bei der anschließenden Desinfektion besser erfasst werden können. Dies entspricht auch den Äußerungen anderer Autoren: Einerseits kann dies verwirklicht werden durch eine Vorreinigung mit kaltem oder mäßig temperiertem Wasser und anschließende Heißwasserreinigung (LESKOVA 1968; TIMM 1973; EDELMAYER 1974; GRACEY 1986) oder andererseits durch eine Reinigung in einem Waschgang mit möglichst warmem, d.h. über den Schmelzpunkt der meisten Fette, jedoch nicht über +50 °C temperiertem oder aber „heißem“ Wasser (nach STELLMACHER et al. 1974: 60 °C bis 70 °C).

SCHÜTT-ABRAHAM et al. (1992) stellten im Wasserbad bei einer Temperatur von 60 °C noch leichte Eiweißverschmutzungen auf den Messerklingen fest. Die Eiweißverschmutzungen waren geringer als bei einer Temperatur von 82 °C. Eine weitere Absenkung der Wassertemperatur auf Raumtemperatur erbrachte im Vergleich zu dem schon bei 60 °C erzieltm Erfolg keine nennenswerte Verbesserung des Reinigungserfolges.

Dagegen stellte KRÄMER (1997) fest, dass *S. aureus* als Kontaminant auf einer Messerklinge bei einer kurzen Verweildauer in 40 °C warmen Wasser nicht abgetötet, aber abgespült wird, da Fett und Eiweiß bei diesen Temperaturen nicht auf der Klinge festbacken.

Laut BÖHM (2002) koaguliert Eiweiß und brennt auf der Oberfläche fest, wenn Wasser über 60 °C über längere Zeit auf einweißhaltige Verschmutzungen einwirken kann, d.h., wenn die angewandte Mechanik zu gering ist, um den Schmutz innerhalb kurzer Zeit abzulösen oder wenn eine mechanische Bearbeitung überhaupt fehlt. In der vorliegenden Arbeit konnten bei einer an die Gegebenheiten der Praxis angelehnten Belastung schon bei 70 °C nach einer Verweildauer von 10 sek und bei 60 °C bei einer Verweildauer von 60 sek keine Keime mehr nachgewiesen werden.

Nach FRIES (2002 II) sind höhere Temperaturen zwar grundsätzlich erforderlich, jedoch empfiehlt er zur Entfernung von Proteinen eine Temperatur von bis zu 50 °C. Ab 60 °C könne die einsetzende Denaturierung eine höhere Konzentration eines Reinigungsmittels erforderlich machen. Für die Entfernung der auf Handgeräten vorkommenden Fettverschmutzung empfiehlt FRIES (2002 II) Temperaturen oberhalb des Schmelzpunktes

von Fetten. Dies ist ab 45 °C der Fall. Als Fazit wird eine Behandlung bei Wassertemperaturen zwischen 45 und 60 °C empfohlen. Dies entspricht der in dieser Arbeit erprobten Variante „Wasserbad 60 °C 60 sek“. Bei dieser Versuchsvariante konnten keine Keime mehr auf den Plättchen wiedergefunden werden.

5.5.2 Ultraschall

BÖHM (2002) geht davon aus, dass bei den in der Fleischwirtschaft vorkommenden Verschmutzungen mit steigender Wassertemperatur auch die Reinigungswirkung zunimmt. Daher seien bei 80 °C bessere Erfolge zu erzielen als bei niedrigeren Temperaturen. Der Autor begründet dies damit, dass das Eiweiß zwar bei Temperaturen über 60 °C schnell zu koagulieren beginnt, jedoch auf der Unterlage nicht festbrennt, solange genügend Feuchtigkeit und eine ausreichende Mechanik vorhanden sei.

SCHÜTT-ABRAHAM et al. (1992) verzeichneten im Ultraschallbad bei einer Temperatur von 82 °C eine erhebliche Reduzierung der Eiweißfällung auf den Klingen im Vergleich zum Wasserbad bei gleicher Temperatur. Bei einer Temperatur von 60 °C bewirkte das Ultraschallbad sogar ein weitgehendes Freisein der Klingen von einer Eiweißverschmutzung. Dies bestätigt die in der vorliegenden Studie bezüglich des Ultraschalls gemachten Erfahrungen genauso, wie die Forderungen von BÖHM (2002) nach mechanischer Behandlung.

Im Ultraschallbad konnten bei einer Temperatur von 60 °C nach nur 5 sek Verweildauer keine Keime mehr nachgewiesen werden. Ausgehend von den hier erzielten Ergebnissen ist allerdings die Dauer von Reinigung und Desinfektion auch generell von der Temperatur der verwendeten Flüssigkeit abhängig. So konnte in den erprobten Varianten im Wasserbad wie im Ultraschallbecken generell ein Abfall der wiedergefundenen Keimflora bei steigenden Temperaturen verzeichnet werden (siehe Kap. 4.3.).

Bezüglich der zeitlichen Vorgaben kamen SCHÜTT-ABRAHAM et al. (1992) zu dem Schluss, dass die Reinigungswirkung des Ultraschallbades nach 15 sek weitgehend abgeschlossen sein dürfte. Diese Aussage kann auf der Grundlage der vorliegenden

Untersuchung bestätigt werden, jedoch nur, wenn die Ultraschallbehandlung bei einer entsprechenden Temperatur stattfindet, bzw. Zusätze wie Milchsäure zugegeben werden.

5.5.3 Milchsäure

Laut GENIGEORGIS (1998) übt ein hoher bzw. niedriger pH Wert einen bedeutenden Einfluss auf die Thermotoleranz von Mikroorganismen aus. Extreme pH- Werte verringern den D- Wert eines Testkeimes (SANCHEZ et al. 1995).

SNIJDERS et al. (1985 I) konnten zeigen, dass unter Zugabe von Milchsäure schon bei einer Temperatur von 20 °C (Milchsäurekonzentration 5 %) oder bei einer Temperatur von 45 °C (Milchsäurekonzentration 2 %) der gleiche Effekt erzielt werden konnte wie bei einer Reinigung und Desinfektion im Wasserbad bei einer Temperatur von 82 °C.

Die Autoren gaben 2,7 % v/v Milchsäure zum 45 °C warmen Wasser des Sterilisationsbeckens. Nach 15 sek Verweildauer der Plättchen im Sterilisationsbecken kam es zu einer merklichen Reduktion der aeroben Koloniezahlen.

Auch diese Daten konnten in der vorliegenden Arbeit bestätigt werden. Die erprobten Alternativen unter Verwendung von Milchsäure in einer End- Konzentration von 2 % kamen mit deutlich geringeren Temperaturen aus, um einen vergleichbaren Reinigungseffekt zu erzielen (**Tab. 4.9** und **Tab 4.10**). So konnte in der vorliegenden Untersuchung gezeigt werden, dass bei einem Zusatz von 2 % Milchsäure zum Wasser des Wasserbades bei einer Temperatur von 40 °C nach nur 10 sek ein Freisein der Plättchen von der aufgebrachten Belastung zu verzeichnen war. Bei der Verwendung des Wasserbades ohne den Zusatz von Milchsäure konnten erst bei einer Temperatur von 70 °C nach einer Verweildauer von 10 sek keine Keime mehr gefunden werden.

5.5.4 Praktische Konsequenz

Die Zeitdauer der Inaktivierung und die Temperatur der Reinigungslösung sind als limitierende Faktoren bei der Reinigung und Desinfektion von Handgeräten in der Fleischgewinnung zu betrachten.

Als Alternative kommen daher Varianten in Betracht, die diese Faktoren niedrig halten können, jedoch einen optimalen Inaktivierungserfolg bieten, d.h. keine Restverschmutzung auf den Messern zurücklassen. Dies ist bei einem zusätzlichen Einsatz von physikalischen oder chemischen Hilfsmitteln der Fall.

In der vorliegenden Studie haben sich unter Laborbedingungen die Kombinationen der **Tabelle 5.3** als effizient erwiesen:

Tab. 5.3: Varianten zur Inaktivierung der verwendeten Mikroflora

Wasserbad	70 °C	10 Sekunden
Ultraschallbad	60 °C	5 Sekunden
Wasserbad + Milchsäure	40 °C	10 Sekunden
Ultraschallbad + Milchsäure	40 °C	5 Sekunden