

Aus dem Department für Veterinärwissenschaften der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

Arbeit angefertigt unter der Leitung von Univ.-Prof. Dr. Dr. h.c. em. Andreas Stolle

Arbeit angefertigt am Institut für Lebensmittelsicherheit und –hygiene, Vetsuisse-
Fakultät Universität Zürich (Prof. Dr. Roger Stephan)

Betriebsepidemiologische Abklärungen zum Vorkommen von *Listeria*
monocytogenes in einem Convenience-Betrieb und Erarbeiten von
Lösungsansätzen bei erkannten Schwachstellen

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Würde eines Doktors rer. biol. vet.
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

von Ursula Kuhn
aus Aalen

München 2011

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan:	Univ.-Prof. Dr. Braun
Berichterstatter:	Univ.-Prof. Dr. Dr. h.c. em. Andreas Stolle
Korreferent:	Univ.-Prof. Dr. Köstlin

Tag der Promotion:	12. Februar 2011
--------------------	------------------

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	9
1.1	Ökologie	10
1.2	Pathogenese und Virulenzfaktoren.....	11
1.3	Listeriose bei Tieren	12
1.4	Listeriose beim Menschen	13
1.5	Prävalenzen in Lebensmitteln, Quelle und Übertragungsart.....	15
1.6	Wachstum, Überleben und Stress-Resistenz	21
1.7	Auswirkung von <i>Listeria monocytogenes</i> auf die Lebensmittelindustrie	22
1.8	Große Rückrufaktionen	24
1.9	Strategien zur Risikominderung, Riskmanagement und Maßnahmen	25
2	Material und Methoden.....	26
2.1	Betrieb	26
2.2	Samplingstrategie Sandwichproduktion.....	27
2.2.1	Mitarbeiter.....	34
2.2.2	Produkte (Sandwiches, Feinkostsalate).....	34
2.2.3	Prozesse.....	35
2.2.3.1	Sandwichproduktion	35
2.2.3.2	Feinkostsalat-Herstellung	36
2.3	Reinigung und Desinfektion.....	37
2.3.1	Reinigung und Desinfektion der Sandwichabteilung.....	37
2.3.2	Reinigung und Desinfektion der Feinkost-Abteilung	37
2.4	Methoden zur Bestimmung von <i>Listeria</i> spp. in Lebensmitteln und Tupfer- proben	38
2.4.1	Prinzip der Bestimmung von <i>Listeria</i> Subspezies in Lebensmitteln und Tupfern von definierten und nicht definierten Flächen.....	38
2.4.2	Durchführung der Prüfung	39
2.4.2.1	Qualitativer Nachweis	39
2.4.2.2	Lebensmittel und Tupfer von definierten Flächen (40 cm ²)	39
2.4.2.3	Tupfer von nicht definierten Flächen.....	39

Inhaltsverzeichnis

2.4.3	Bestätigung und Auswertung	40
2.4.4	Auswahl charakteristischer Kolonien	40
2.4.5	Bestätigungsreaktionen	40
2.4.5.1	Gramfärbung.....	41
2.4.5.2	Katalase-Test.....	41
2.4.5.3	Hämolyse und CAMP-Test	41
2.4.6	Darstellung der Ergebnisse.....	42
2.4.6.1	Lebensmittel und Tupfer von definierten Flächen (40 cm ²).....	42
2.4.6.2	Tupfer von nicht definierten Flächen.....	42
2.5	Qualitativer Nachweis und Bestimmung von <i>Listeria monocytogenes</i> in Lebensmitteln und Tupfern mit dem Vidas®	42
2.5.1	Tupferproben	42
2.5.2	Prinzip.....	42
2.5.3	Durchführung der Prüfung	43
2.5.4	Qualitativer Nachweis von Lebensmitteln/Tupfer von Flächen	43
2.5.5	Ergebnisse und Interpretation.....	45
2.5.6	Bestätigung positiver Ergebnisse aus dem Screeningtest vom Vidas®	46
2.5.7	Bestätigung der Kolonien mit der AccuProbe (DNA-Sondenschnelltest) Probenvorbereitung	46
2.5.8	AccuProbe	47
2.6	Genotypisierung mit einer Makrorestriktionsanalyse mittels	
	Pulsfeldgelelektrophorese-Prinzip.....	48
2.6.1	Herstellen der Agaroseblöckchen	49
3.	Ergebnisse der betriebsepidemiologischen Abklärungen	53
4.	Lösungsansätze bei erkannten Schwachstellen Sandwichproduktion .	90
4.1.	Technik (Ausrüstung, Umgebung)	91
4.1.1	Maßnahmen.....	94
4.1.2	Verbesserungspotenzial	98
4.2	Reinigung.....	101

Inhaltsverzeichnis

4.2.1	Maßnahmen	103
4.2.2	Verbesserungspotenzial	103
4.3.	Betrieb	104
4.3.1	Maßnahmen	105
4.3.2	Verbesserungspotenzial	105
4.4	Qualitätsmanagement.....	105
4.4.1	Maßnahmen	107
4.4.2	Verbesserungspotenzial	107
5.	Zusammenfassung.....	108
6.	Summary	109
7.	Literaturverzeichnis.....	110
8.	Anhang	114

1. Einleitung

Ein aktueller und epidemiologisch abgeklärter Listerioseausbruch erfolgte in Kanada im August 2008. Es starben mindestens 9 Menschen an geschnittenem vorverpacktem Roastbeef. Nach den epidemiologischen Abklärungen war das Roastbeef vom Slicer mit *Listeria (L.) monocytogenes* rekontaminiert worden. Im Innern der Anlagen, die visuell kaum oder gar nicht sichtbar waren, konnten sich Produktrückstände ansammeln und somit das Wachstum von *L. monocytogenes* begünstigen [19].

Vorbeugende und daraus resultierende Kontroll-Maßnahmen basieren auf den betriebseigenen HACCP-Konzepten innerhalb der Lebensmittelindustrie, die in den letzten Jahren immer mehr an Bedeutung gewonnen haben sowie auf spezifischen Empfehlungen für Hochrisiko-Gruppen.

Aus betriebsepidemiologischer Sicht ist es wichtig, *L. monocytogenes* während und vor der Produktion von Lebensmitteln im betrieblichen Umfeld zu finden, die Quellen ausfindig zu machen, den Genotyp festzustellen und daraus die Maßnahmen festlegen zu können.

Der Genus *Listeria* ist eine Gruppe von gram-positiven nicht sporenbildenden Stäbchenbakterien. Taxonomisch ist die Gattung *Listeria* den Genera *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterococcus*, *Streptococcus* und *Staphylococcus* nah verwandt. Morphologisch sind sie Stäbchen ohne Kapsel, die bei Temperaturen unter 25°-30 °C durch peritrich angeordnete Flagellen beweglich sind. In der Natur werden sie aus mehreren Habitaten isoliert, wie z.B. Böden, Gewässer und verfaulendem Pflanzenmaterial, wo sie als Saprophyten leben. Aus Meeresfrüchten, Milch- und Fleischprodukten und asymptomatischen humanen Trägern und Tieren konnten auch einige *Listeria* Stämme isoliert werden. *Listeria* können im pH-Bereich von 4,5 bis 9, bei Salzkonzentrationen bis 10 % NaCl und bei Temperaturen zwischen 0 °C und 45 °C wachsen.

Der Genus *Listeria* besteht aus 8 Spezies:

- *Listeria monocytogenes*
- *Listeria innocua*
- *Listeria welshimeri*
- *Listeria ivanovii*
- *Listeria seeligeri*
- *Listeria grayi*
- *Listeria marthii*
- *Listeria rocourthiae*

Einleitung

Nur *L. monocytogenes* und *L. ivanovii* sind pathogen. *L. ivanovii* steht fast nur in Verbindung mit Infektionen bei Tieren, und *L. monocytogenes* kann schwere Erkrankungen bei Tier und Mensch verursachen. Bei den Tieren ist *L. monocytogenes* hauptsächlich mit neurologischen und reproduktiven Erkrankungen assoziiert. Beim Mensch tritt Listeriose in Form von Gastroenteritis, Meningoenzephalitis, Septikämie, Frühgeburten und pränatalen Infektionen auf [33].

1.1 Ökologie

Listerien sind in erster Linie Erdbewohner, man findet sie in Oberflächen von Brachflächen, sie lassen sich aber auch im Schlamm, auf Pflanzen, in Silage, Abwässern, im Stuhl gesunder und erkrankter Tiere und in geringem Umfang auch im Stuhl von gesunden Menschen nachweisen. Da sie ubiquitär sind, können Listerien in allen Lebensmitteln (Fleisch, Geflügel, Gemüse, Milch, Meerestiere, Salate) im Erdboden und in Oberflächenwasser vorkommen. Sie können lange Zeit im Wasser und Boden überleben (z.B. Wasser: 2 - 8°C, 790 - 928 Tage, steriler Boden: Winter/Frühjahr: 154 Tage [18]).

Trotz der Tatsache, dass 13 Serotypen beschrieben sind, wird die Mehrzahl der Listeriosen nur mit 3 Serotypen von *L. monocytogenes* in Verbindung gebracht: 1/2a, 1/2b und 4b [2]. Dies lässt den Schluss zu, dass gewisse *L. monocytogenes*-Untergruppen mehr an Umgebungen von Lebensmitteln und menschlichen Infektionen angepasst sind.

Da *L. monocytogenes* ubiquitär ist, gilt er in lebensmittelproduzierenden Betrieben als Hygieneindikatorkeim, da eine Re- bzw. Kreuz-Kontamination der Lebensmittel auf allen Stufen stattfinden kann [17].

Einleitung

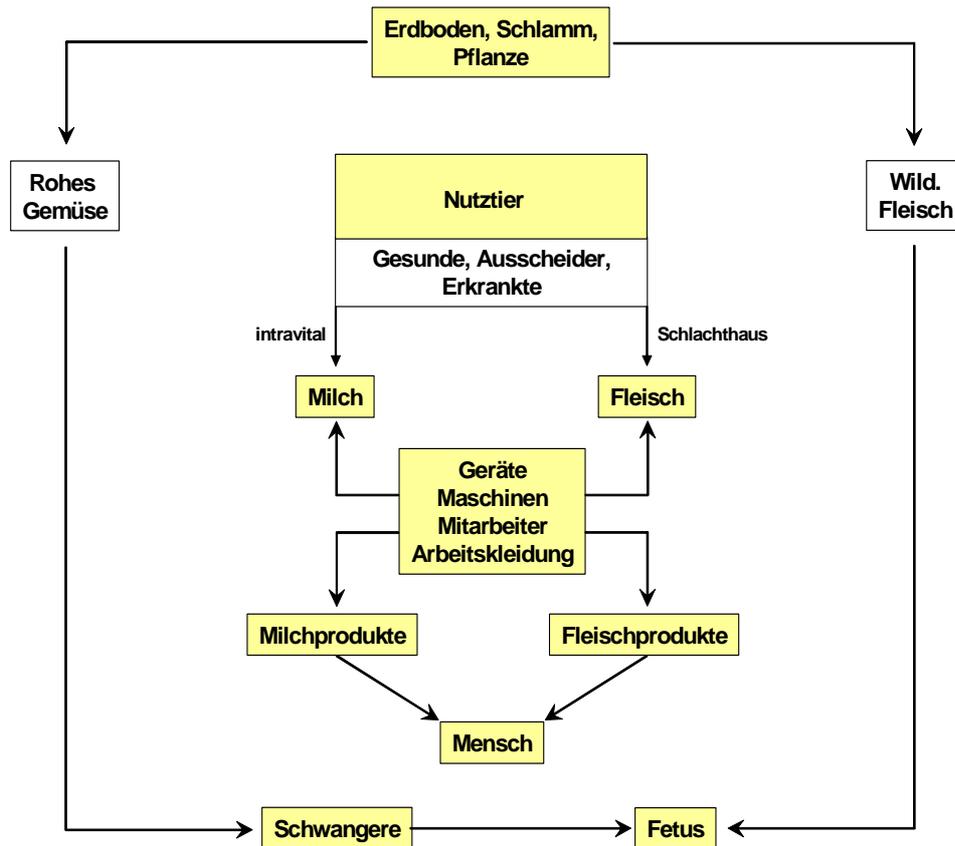


Abb. 1: Übertragung von *L. monocytogenes* [17]

1.2 Pathogenese und Virulenzfaktoren

Für Tiere und Menschen ist *L. monocytogenes* pathogen und es können keinerlei bevorzugte Wirtsorganismen festgestellt werden.

Die Krankheit wird in mehrere Stufen unterteilt:

- Eintritt in den Wirt
- Lysis von der phagosomalen Vakuole
- Überleben und Vermehrung im Wirtsorganismus (Vermehrung in der Cytosol)
- Direkte Ausbreitung von Zelle zu Zelle, indem die Actin-basierte Motilität genutzt wird

Die meisten Virulenz-Gene sind auf zwei verschiedenen DNA-Stellen als Gene gebündelt und werden hauptsächlich vom Protein A, als positiver regulatorischer Faktor beeinflusst.

Einleitung

Verschiedene Virulenz-Faktor-Gruppen, von denen man dachte, dass sie für die Pathogenität von *L. monocytogenes* Spezies wichtig sind, konnten kürzlich charakterisiert werden:

- Die Internaline, verschlüsselt von verschiedenen internalinen Genen, sind mitverantwortlich bei der Invasion in die Epithelzellen und scheinen gemeinsam verantwortlich für den Gewebetropismus von *L. monocytogenes* zu sein.
- Listeriolysin O, verschlüsselt vom Gen *hlyA* und phosphatidylinositolspezifische Phosphatase C, verschlüsselt vom Gen *plcA*, das daran teil hat in der Lysis von Phagosomen in der Wirtszelle und das intrazelluläre Wachstum von *Listeria* Zellen ermöglicht.
- Das reagierende A-Protein, das bei der Motilität beteiligt ist.
- Enzyme, solche wie Lecithinase, Zinkmetall-Protease und Serin-Protease.
- Ein Protein, das Fibronectin binden kann, ist kürzlich als ein neuer multifunktionaler Virulenzfaktor für *L. monocytogenes* beschrieben worden. Es scheint so, dass er an intestinalen Prozessen sowie bei Abläufen zur Ansiedlung in der Leber beteiligt ist [16].

1.3 Listeriose bei Tieren

L. monocytogenes ist pathogen für zahlreiche Tierarten wie, Schafe, Ziegen, Rinder und Geflügel. Die Anfälligkeit der Tiere gegenüber einer Listerieninfektion wird offenbar durch den Stress einer Massentierhaltung wesentlich gefördert. Ausgangspunkt der Tierinfektion ist häufig ungenügend gesäuerte Silage (> pH 5), die vor allem im Oberflächenbereich eine Vermehrung der Erreger zulässt. Die Listerieninfektion kann bei Tieren zum Abortus, zu neurologischen Symptomen und bei Kühen zur Mastitis führen [17]. *L. monocytogenes* und *Listeria* spp. wurden von verschiedenen EU-Mitgliedstaaten in verschiedenen Tiergattungen gefunden, aber im Allgemeinen mit relativ niederen Prävalenzen [11]. *Listeria* spp. werden im Stuhl von gesunden und kranken Tieren ausgeschieden, sodass schon eine Kontamination von Milch und Fleisch meist durch eine fäkale Verunreinigung im Melk- und Schlachtprozess erfolgen kann.

Einleitung

1.4 Listeriose beim Menschen

Listeriose ist überwiegend eine Lebensmittelinfektion. Sie ist durch eine hohe Mortalitätsrate von 20 - 30 % bei Personen gekennzeichnet, bei denen sich die Infektion entwickelt [24]. Beim Mensch tritt Listeriose in Form von Meningoenzephalitis, Septikämie, Frühgeburten, pränatalen Infektionen und Gastroenteritis auf [33].

Häufigste Eintrittspforte für die Erreger ist offenbar der Gastrointestinaltrakt nach Aufnahme kontaminierter Lebensmittel [17].

Gesunde Erwachsene sind trotz dauernder Exposition mit *L. monocytogenes* recht selten von Krankheitssymptomen betroffen. Die natürliche Trägerrate beträgt ca. 30 %. Listeriose betrifft vor allem immunokomprimierte Personen, Kleinkinder, ältere Menschen, Krebskranke, Alkoholiker sowie Schwangere.

„Der in den Körper eingedrungene Erreger kann lymphogen oder hämatogen streuen und zu generalisierten septischen wie meningitschen Krankheitsbildern führen

Bei schweren Fällen beträgt die Letalitätsrate bis zu 30 %.

Bei Schwangeren wird durch die Übertragung des Bakteriums über die Plazenta-Schranke der Fötus geschädigt. Es kommt zur pränatalen Infektion, wobei sich in fast allen Gewebetypen und Organen des Fötus oder Neugeborenen multiple Abszesse und Granulome bilden, sodass es durch die bakterielle Infektion zu Fehl- oder Totgeburten kommt“ [35].

„Wenn gesunde Wirte eine große Menge von *L. monocytogenes* Organismen aufnehmen hauptsächlich über Lebensmittel, kann eine mildere Form der Listeriose, einer fiebrigen Gastroenteritis, eintreten. Da eine minimale Infektionsdosis bei menschlichen Infektionen nicht bestimmt werden kann, variiert die aufgenommene Menge, je nach Gesundheitszustand des Wirtes, von 10^2 bis 10^9 koloniebildenden Einheiten. Die Inkubationszeit variiert beim Menschen 11 bis 70 Tagen.

Mit möglicher Beteiligung von Lebensmitteln/Trinkwasser wurden zwischen 2004 296 Fälle, 2005 512 Fälle und 2006 508 Fälle von Listeriose in Deutschland gemeldet“ [17].

Einleitung

Tab. 1: In der Literatur beschriebene Ausbrüche durch *L. monocytogenes* [16]
 Quellen (u.a.): Deutschland: [39]; international: [37, 14]; USA: [41]

Land	Jahr	Lebensmittel	Fälle	Tote
USA	1976	roher Salat	20	5
Neuseeland	1980	Fisch	22	7
Kanada	1981	Krautsalat	41	18
USA	1983	Milch	49	14
USA	1985	Weichkäse	142	48
Schweiz	1983 – 1987	Weichkäse	122	33
Großbritannien	1987 – 1989	Pasteten	355	94
Frankreich	1993	Schweinezungen in Aspik	279	unbekannt
Frankreich	1993	Schweinerillettes	38	10
USA	1994	Milch	45	0
Schweden	1994 – 1995	Fisch	9	2
Frankreich	1995	Weichkäse	17	4
Kanada	1996	Krabbenfleisch	2	0
Italien	1997	Salat	1566	0
USA	1998/1999	Hotdogs	50	> 8
Finnland	1998 – 1999	Butter	25	6
Finnland	1999	Fisch	5	unbekannt
Frankreich	1999 – 2000	Schweinerillettes	10	2
Frankreich	1999 – 2000	Schweinezungen in Gelée	32	10
USA	1999 – 2000	verpackte Hamburger	79	21
USA	2000	Putenfleisch	29	7
USA	2002	Fleischprodukte	46	7 und 3 Aborte
Schweiz	2005	Weichkäse	8	3 und 2 Aborte
Kanada	2008	Roastbeef	25	9

Die Tabelle 1 zeigt weltweite Ausbrüche von Listeriosen, die mit verschiedenen Lebensmitteln in Zusammenhang gebracht worden sind.

Einleitung

L. monocytogenes hat in den letzten 25 Jahren immer mehr als pathogener Keim in Verbindung mit Lebensmitteln an Bedeutung gewonnen. 2007 wurden von 26 Mitgliedstaaten total 1.554 bestätigte Listeriosefälle gemeldet. Die EU-Melderate von Listeriosefällen betrug 0,3 Fälle auf 100.000 Einwohner. Die höchsten Melderaten wurden in Dänemark, Finnland, Schweden und Luxemburg beobachtet. Die Anzahl der bestätigten Fälle erreichte fast den gleichen Level wie 2006. Die Listeriose kam hauptsächlich bei älteren Menschen, Alter über 65 Jahre, vor mit 53,1 % (die Meldungsrate lag bei 1,0 auf 100.000 Einwohner). Die Melderate bei Kindern, Alter unter 5 Jahre, lag bei 0,5 Fällen pro 100.000 Einwohner. Die Todesopferquote für menschliche Listeriose lag bei 20 % der Fälle, bei denen Information erhältlich gewesen ist, hauptsächlich davon betroffen waren ältere Menschen [11]. Wegen ihrer hohen Todesrate liegt die Listeriose an oberster Stelle der Todesfälle, die durch Lebensmittel übertragene Krankheiten verursacht werden. Infektionen von *L. monocytogenes* sind für die höchsten Hospitalisierungsraten (91 %) unter den bekannten Lebensmittelpathogenen verantwortlich und werden mit sporadisch auftretenden Vorfällen und mit großen, weltweiten Ausbrüchen menschlicher Krankheiten in Verbindung gebracht [16].

1.5 Prävalenzen in Lebensmitteln, Quelle und Übertragungsart

Verschiedene Tabellen zeigen Prävalenzzahlen für *L. monocytogenes* in verschiedenen Zutaten und verzehrfertigen Lebensmitteln.

Tab. 2: Prävalenzen Rohmilch und Käse 2009

Land	Produkt	Prävalenz (%)	Referenz	
China	Rohmilch	17,0	Chen et al., 2009 [7]	0 - 17 %
Spanien	Frischkäse	1,0	Cabedo et al., 2007 [6]	
Schweiz	Weichkäse	0,0	Zweifel et al., 2006 [37]	
Mexiko	Frischkäse	2,9	Moreno-Enriquez et al., 2006 [26]	
USA	Rohmilch	2,3	D'Amico et al., 2008 [10]	

Diese Tabelle zeigt, dass für die Matrizes Rohmilch, Frisch- und Weichkäse eine Prävalenz-Schwankungsbreite von *L. monocytogenes* zwischen 0 und 17 % gefunden wird.

Einleitung

Tab. 3: Prävalenzen von Fleischerzeugnissen

Land	Produkt	Prävalenz (%)	Referenz	11 – 20 %
Italien	Würste	20,0	Meloni et al., 2007 [25]	
Spanien	Schweinefleischwurst	11,0	Cabedo et al., 2007 [6]	

Die Tabelle 3 zeigt für Fleischerzeugnisse Prävalenzzahlen von *L. monocytogenes* in einer Schwankungsbreite zwischen 11 – 20 %.

Tab. 4: Prävalenz von *L. monocytogenes* in anderen verzehrfertigen Produkten [11]

Sandwiches und andere bearbeitete Lebensmittel							
Land	Stichprobenmenge (n)	Details	n auf Anwesenheit getestet	<i>L. m.</i> nachweisbar in 25 g % pos.	Anzahl der getesteten n	> entdeckt aber ≤ 100 KBE/g %	<i>L. m.</i> > 100 KBE/g %
Österreich	einzel	*	78	0	78	0	0
Tschechische Republik	Batch	Fleisch-Sandwiches während der Herstellung	704	10,2	-	-	-
Estland	einzel	beim Herstellen*	52	3,8			
	einzel	im Einzelhandel	-	-	33	0	0
Griechenland	einzel	im Einzelhandel, Sandwiches	28	0	-	-	-
		im Einzelhandel, andere bearbeitete LM u. vorbereitete Gerichte*	157	0,6	-	-	-
Irland	einzel	im Einzelhandel*	-	-	29	0	0
	einzel	im Einzelhandel* verzehrfertige LM	1.419	2,3	2.567	0 ¹	0,1
Polen	einzel	*	146	1,4	536	2,2	2
Slowakei	Batch	*	110	6,4	40	0	0
Slowenien	einzel	im Einzelhandel, Sandwiches	50	2	50	2	0
	einzel	im Einzelhandel*, verzehrfertige LM	550	2,7	550	2,5	1
Spanien	einzel	*	4.992	0,6	1.269	1,3	0,9
Vereinigtes Königreich	einzel	im Einzelhandel, Sandwiches	1.088	5,8	1.088	0,8	0,4
Total (Sandwiches und andere bearbeitete Lebensmittel (10 Mitgliedstaaten))			9.374	2,4	6.240	0,9	0,5

* nicht näher erläutert

¹ eine positive Stichprobe

LM = Lebensmittel

Einleitung

Verzehrfertige Salate							
Land	Stichprobenmenge (n)	Details	n auf Anwesenheit getestet	<i>L. m.</i> nachweisbar in 25 g % pos.	Anzahl der getesteten n	> entdeckt aber ≤ 100 KBE/g %	<i>L. m.</i> > 100 KBE/g %
Tschechische Republik	Batch	mit Mayonnaise *	519	4,6	111	9,9	0
	Batch	mit Mayonnaise **	-	-	167	0	0
Estland	einzel	*	46	8,7	-	-	-
	einzel	**	38	0	97	3,1	0
Portugal	Batch	**	-	-	165	0	0
Total (verzehrfertige Salate (3 Mitgliedstaaten))			603	4,6	540	2,6	0

* verzehrfertig beim Herstellen

** verzehrfertig im Einzelhandel

Tab. 5: Prävalenz von *L. monocytogenes* in verschiedenen Lebensmitteln [18]

Lebensmittel	Vorkommen (%)	Anzahl der Muster	Länder	(%)
Rohmilch	1,0	1004	Deutschland	0,5 – 45,3
	45,3	95	Spanien	
	4,4	137	Niederlande	
	5,4	315	Ontario	
	12,0	121	USA	
	4,0	200	Nebraska	
	4,2	350	USA	
Weichkäse	0,5	374	Mehrere Länder Großbritannien und andere	
	10,0	222		
Rohwurst, getrocknet	21,6	37	Frankreich	10 – 52
Frische Wurst	10,0	120	Frankreich	
Schweinswurst	52,0	23	USA, Maryland	
Fermentierte Wurst	15,6	96	Kanada	

Einleitung

Lebensmittel	Vorkommen (%)	Anzahl der Muster	Länder	(%)
Frischer Salat	7,0	60	Großbritannien	7 – 30,3
Gemüse	12,2	49	Taiwan	
Rettich	30,3	132	USA, Minnesota	
Gurken	10,9	92	USA, Minnesota	
Kohl	2,2	92	USA, Minnesota	
Pilze	12,0	92	USA, Minnesota	
Kopfsalat	1,1	92	USA, Minnesota	

Diese Tabelle zeigt Prävalenz-Schwankungsbreiten von *L. monocytogenes* für Rohmilch und Weichkäse zwischen 0,5 – 45,3 %, für Fleischerzeugnisse (fermentiert und unfermentiert) zwischen 10 – 52 % und für Gemüse und Salat zwischen 7 - 30,3 %.

Tab. 6: Prävalenzen Fischerzeugnisse 2009

Land	Produkt	Prävalenz (%)	Referenz	(%)
Belgien	geräucherter Heilbutt	33,0 %	Van Coillie et al., 2004 [32]	7 – 33 %
Frankreich	kaltgeräucherter Lachs	7,0 %	Beaufort et al., 2007 [4]	
Italien	geräucherter Fisch	12,0 %	Meloni et al., 2007 [25, 15]	
Spanien	Thunfisch	20,0 %	Cabedo et al., 2007 [6]	
	geräucherter Lachs	7,0 %	Cabedo et al., 2007 [6]	

Diese Tabelle von geräuchertem und ungeräuchertem Fisch zeigt Prävalenzzahlen von *L. monocytogenes* in einer Schwankungsbreite von 7 – 33 %.

Einleitung

Tab. 7: Prävalenz von *L. monocytogenes* in verschiedenen Lebensmitteln [18]

Lebensmittel	Vorkommen (%)	Anzahl der Muster	Länder	(%)
Rohmilch	1,0	1004	Deutschland	0,5 – 45,3
	45,3	95	Spanien	
	4,4	137	Niederlande	
	5,4	315	Ontario	
	12,0	121	USA	
	4,0	200	Nebraska	
	4,2	350	USA	
Weichkäse	0,5	374	Mehrere Länder	
	10,0	222	Großbritannien und andere	
Rohwurst, getrocknet	21,6	37	Frankreich	10 – 52
Frische Wurst	10,0	120	Frankreich	
Schweinswurst	52,0	23	Maryland	
Fermentierte Wurst	15,6	96	Kanada	
Frischer Salat	7,0	60	Großbritannien	7 – 30,3
Gemüse	12,2	49	Taiwan	
Rettich	30,3	132	Minnesota	
Gurken	10,9	92	Minnesota	
Kohl	2,2	92	Minnesota	
Pilze	12,0	92	Minnesota	
Kopfsalat	1,1	92	Minnesota	

Wie die bis jetzt aufgeführten Tabellen zeigen, kann *L. monocytogenes* bereits über das Rohmaterial in das verzehrfertige Produkt eingebracht werden.

L. monocytogenes kann aber auch durch eine Rekontamination, dies ist die zweite Möglichkeit, in das verzehrfertige Produkt gelangen.

Einleitung

Die folgenden beiden Tabellen zeigen Prävalenzen in verzehrfertigen Sandwiches.

Tab. 8: Nachweis von *Listeria* spp. in Sandwiches [36]

Zutat	n*	N*	%	4 – 50 %
Speck	2	4	50,00	
Speck und Salat	3	19	15,79	
Rindfleisch	4	19	21,05	
Rindfleisch und Salat	6	29	20,69	
Käse	0	6	0,00	
Käse und Salat	1	10	10,00	
Geflügel	25	137	18,25	
Geflügel und Salat	17	89	19,10	
Ei	7	31	22,58	
Ei und Salat	15	69	21,78	
Meeresfrüchte	1	25	4,00	
Meeresfrüchte und Salat	6	44	13,64	
Schinken	3	56	5,36	
Schinken und Salat	13	121	10,74	
Andere	3	9	33,33	
Salat	1	6	6,25	
Putenfleisch	1	7	14,29	
Putenfleisch und Salat	5	34	14,71	
Total	113	725	15,59	

n = Anzahl, die *Listeria* spp. enthalten; N = untersuchte Gesamtmenge

In dieser Tabelle 8 wurden 725 vorverpackte Sandwiches auf *Listeria* spp. untersucht. Die Schwankungsbreite der Prävalenzen von *L. monocytogenes* liegt zwischen 4 und 50 %.

Einleitung

Tab. 9: Prävalenzen Salat / Sandwich im Jahr 2009

Land	Produkt	Prävalenz (%)	Referenz	
Chile	Gemüsesalat	10,0 %	Cordano et al., 2009 [9]	
Italien	Gemüsesalat	2,0 %	Meloni et al., 2007 [25]	
Groß-britannien	Schweinefleisch-Sandwich	9,0 %	Little et al., 2009 [21]	2 – 10 %
	Geflügelsandwich	5,5 %	Little et al., 2008 [20]	
	Putensandwich	6,6 %	Little et al., 2008 [20]	
	Gemischter Salat mit Lachs	2,1 %	Little et al., 2007 [22]	
	Salat mit Geflügel und Speck	18,5 %	Little et al., 2007 [22]	

Diese Tabelle 9 von verzehrfertigen Sandwiches mit Salat zeigt eine Schwankungsbreite von Prävalenzen für *L. monocytogenes* von 2 – 10 %.

Wie aus den verschiedenen Tabellen hervorgeht, findet sich in verzehrfähigen Sandwiches *L. monocytogenes*. Für die Praxis bedeutet dies, dass man innerhalb der Herstellbereiche die mikrobiologische Qualität der eingesetzten Zutaten und Lebensmittel kennen muss und einer allfälligen Kreuz- und Rekontamination vorbeugen kann.

1.6 Wachstum, Überleben und Stress-Resistenz

Temperaturen

Listeria spp. wachsen bereits bei Kühltemperaturen 0 °C bis Maximumtemperaturen 44 °C. Ihr Optimum liegt zwischen 30 – 37 °C unter aeroben und fakultativ anaeroben Bedingungen.

pH-Wert

Das pH-Wert-Spektrum fürs Wachstum liegt zwischen 4,5 und 9,0; eine Absäuerung < 3,5 tötet die Erreger ab.

a_w-Werten

Die Vermehrung erfolgt bis a_w-Werte von 0,92 und für einige Stämme sogar bis 0,83. Das Optimum liegt bei 0,97.

Salztoleranz

Ebenfalls sind sie auch salztolerant und vermehren sich bei einem Kochsalzgehalt von 10 %, manche spp. sogar bei einem Salzgehalt von 12 % bei einem pH-Wert von 5,0, bei 8 – 30 °C. Zudem konnte nachgewiesen werden, dass

Einleitung

L. monocytogenes mindestens 150 Tage in reinem NaCl und 545 Tage in 0,85 % NaCl überleben können [18].

Erhitzung

Der D-Wert (Dezimale Reduktionszeit: Die Zahl in Minuten, die bei einer bestimmten Temperatur notwendig, die Keimzahl auf 10 % des Ausgangswertes zu reduzieren) bei einer Temperatur von 64 °C ist für *L. monocytogenes* 2,1 Minuten, mit einem Z-Wert (die Temperaturerhöhung, die notwendig ist, den D-Wert auf 1/10 zu reduzieren) von 7,5 °C.

Bei einer Temperatur von 72 °C beträgt die Zeit für eine 6D-Reduktion für *L. monocytogenes* 1 Minute, bei 75 °C 0,4 Minuten.

Somit ist die traditionelle Pasteurisation (15 Sek. bei 72 °C) im Fleischbereich ausreichend, um *L. monocytogenes* zu inaktivieren. Eine Kerntemperatur bei 80 °C bedeutet Sicherheit.

1.7 Auswirkung von *L. monocytogenes* auf die Lebensmittelindustrie

Man geht davon aus, dass die Listeriose hauptsächlich durch Lebensmittel verursacht wird und eine Infektion beim Menschen auslöst. Deshalb sind verlässliche Informationen über das Vorkommen in Lebensmitteln wichtig. Die Ergebnisse von *L. monocytogenes* in verzehrfertigen Produkten, die 100 KBE/g überschreiten, stellen ein direktes Risiko für die menschliche Gesundheit dar [11].

Die Produktionsmengen, die nur aus einem Produktionsbetrieb heute zur Versorgung des Detailhandels beitragen, werden immer größer, da die Auslastung der Betriebe und Anlagen, das Produktionsvolumen, die Effizienz und die Kostensparnis aus ökonomischer Sicht immer wichtiger werden. Eine Kontamination von *L. monocytogenes* auf ein Fertigprodukt könnte verheerende Folgen haben. Das Ausmaß eines Rückrufes von einem mit *L. monocytogenes* verunreinigten Produkt wäre riesig. Zum Einen ist das Ausmaß der Erkrankungen und der Letalitäten nicht vorhersehbar. Es ist mit sehr hohen Kosten und Verlusten für den Industriebetrieb zu rechnen. Auch der Vertrauensverlust beim Konsumenten ist nicht zu unterschätzen.

Daher ist es sehr wichtig, die Strukturen der Herstell- und Reinigungs-Prozesse inkl. Mitarbeiter und die Hygiene in der Praxis sehr gut zu kennen, zu definieren und zu dokumentieren, korrekt umzusetzen und Kontrollen in Form von Monitorings zu verstärken, u.U. aufzubauen und zu verbessern, damit die mikrobiologische Sicherheit der hergestellten Produkte gewährleistet werden kann.

Einleitung

Betriebsepidemiologie

Gesetzliche Vorgaben

Verordnung (EG) Nr. 2073/2005 DER KOMMISSION vom 15. November 2005 über mikrobiologische Kriterien für Lebensmittel [8, 34].

Für genussfertige Lebensmittel, welche die Vermehrung von *L. monocytogenes* nicht begünstigen können, gilt:

- Grenzwert $10^2/g$. Produkte mit einem pH-Wert von $\leq 4,4$ oder a_w -Wert von $\leq 0,92$, Produkte mit einem pH-Wert von $\leq 5,0$ und a_w -Wert von $\leq 0,94$ und Produkte mit einer Haltbarkeitsdauer unter fünf Tagen werden automatisch dieser Kategorie zugeordnet. Für den Probennahmeplan gilt $n = 5$ und $c = 0$.

Für genussfertige Lebensmittel, welche die Vermehrung von *L. monocytogenes* begünstigen können gilt:

- Grenzwert 10^2 pro g. Die verantwortliche Person muss nachweisen können, dass das Produkt den Grenzwert während der Haltbarkeitsdauer nicht übersteigt. Für den Probennahmeplan gilt $n = 5$ und $c = 0$.
- Grenzwert nicht nachweisbar in 25 g. Dieses Kriterium gilt für die Produkte, bevor sie die unmittelbare Kontrolle der verantwortlichen Person des Herstellerbetriebes verlassen, wenn diese nicht nachweisen kann, dass das Produkt den Grenzwert von 100 KBE/g während der Haltbarkeitsdauer nicht überschritten wird. Probennahmeplan gilt $n = 5$ und $c = 0$.

In der EU-Richtlinie 2073/2005 [8] ist *L. monocytogenes* als Lebensmittelsicherheitskriterium in verzehrfertigen Lebensmitteln festgelegt [8]. Dies bedeutet für Sandwiches und Feinkostsalate, dass *L. monocytogenes* in 25 g nicht nachgewiesen werden darf, außer es kann durch mikrobiologische Analysen und Berichten den Behörden belegt werden, dass der Grenzwert von 100 KBE/g während der Mindesthaltbarkeit nicht überschritten wird. Deswegen ist es zwingend notwendig, die mikrobiologische Ist-Situation im Betrieb zu kennen, um die Einhaltung von diesem Lebensmittelsicherheitskriterium gewährleisten und / oder belegen zu können.

Die Ergebnisse von *L. monocytogenes* in verzehrfertigen Produkten, die 100 KBE/g überschreiten, stellen ein direktes Risiko für die menschliche Gesundheit dar [19].

Deswegen ist es aus betriebsepidemiologischer Sicht wichtig, *L. monocytogenes* vor und während der Produktion von Lebensmitteln im betrieblichen Umfeld zu finden, die Quellen ausfindig zu machen, den Genotyp festzustellen und daraufhin die Maßnahmen festlegen zu können.

Einleitung

Meine Literaturrecherche hat keine betriebsepidemiologischen Abhandlungen in Feinkostbetrieben (Herstellung von Sandwiches und Feinkostsalaten) ergeben.

1.8 Große Rückrufaktionen

In den letzten Jahren gab es immer öfter große Rückrufaktionen aufgrund von *L. monocytogenes*.

Tab. 10: Rückrufe aufgrund vom Nachweis von *L. monocytogenes* [30]

Land	Jahr/Woche	Lebensmittel / Grund	Basis der Mitteilung	Status
Italien	2009/13	Salami / <i>L. monocytogenes</i> 25 g	offizielle Kontrolle auf dem Markt	Verteilung auf dem Markt (möglich), Produkt muss vom Markt zurückgerufen werden
Polen	2009/14	Banquet-Wurst/ 1 von 5 Proben <i>L. monocytogenes</i>	Eigenkontrolle Betrieb	Verteilung auf dem Markt (möglich), Produkt muss zurückgerufen werden.
Slowenien	2009/20	Ware von Frankreich <i>L. monocytogenes</i> in Delikatessen	Eigenkontrolle Betrieb	Verteilung auf dem Markt (möglich), Produkt muss beim Konsumenten zurückgerufen werden

Tab. 11: Rückrufe aufgrund des Nachweises von *L. monocytogenes* [40]

Land	Jahr/ Monat	Lebensmittel / Grund	Basis der Mitteilung	Status
Italien	2009/07	Gorgonzolakäse	<i>L. monocytogenes</i> 300 KBE/g	Rückruf der betroffenen Ware
UK	2009/07	Geräucherter Lachs	<i>L. monocytogenes</i>	Rücknahme der betroffenen Ware vom Markt
Belgien	2009/07	Pastete mit Ananas	<i>L. monocytogenes</i> < 10 KBE/g	Rücknahme der betroffenen Ware vom Markt
Polen	2009/07	Geräucherter Lachs	<i>L. monocytogenes</i>	Rücknahme der betroffenen Ware vom Markt

Einleitung

1.9 Strategien zur Risikominderung, Riskmanagement und Maßnahmen

Im August 2008 erfolgte in Kanada ein epidemiologisch abgeklärter Listerioseausbruch. Es starben mindestens 9 Menschen an geschnittenem vorverpacktem Roastbeef. Nach den epidemiologischen Abklärungen war das Roastbeef vom Slicer mit *L. monocytogenes* rekontaminiert worden. Im Innern der Anlagen, die visuell kaum oder gar nicht sichtbar waren, konnten sich Produktrückstände ansammeln und somit das Wachstum von *L. monocytogenes* begünstigen [19].

Aufgrund der Einschätzung des Risikos im Feinkostbereich und den gesetzlichen Vorgaben ist das Ziel dieser Arbeit, eine Ist-Analyse in den Bereichen Sandwich und Feinkostsalat durchzuführen, das Vorkommen von *L. monocytogenes* in den beiden Herstellprozessen festzustellen, den Genotyp zu erkennen und daraus präventiv Lösungsansätze zur Verbesserung des Hygienestatus zu erarbeiten, konkrete Maßnahmen sowie Monitorings zu definieren und umzusetzen.

Meine Motivation und der Grund für diese Arbeit basieren auf der wachsenden Bedeutung an *L. monocytogenes* als lebensmittelpathogener Keim in der Lebensmittelproduktion. *L. monocytogenes* begleitet mich seit Jahren in meinen praktischen Tätigkeiten im Bereich der Hygiene und Mikrobiologie in verschiedenen Lebensmittelbetrieben. Daraus ergibt sich mein Interesse am Zusammenspiel von Produktion von Lebensmitteln, Hygiene (Mitarbeiter, Maschinen) und der Reinigung, das, aufgrund der immer größer werdenden Produktionsmengen aus einem Produktionsbetrieb, immer anspruchsvoller wird, nicht zuletzt auch, weil der Faktor Zeit auf allen Ebenen (Produktion, Lieferung, Reinigung) eine immer größere Rolle als limitierender Faktor spielt.

Mich interessiert, wo im Betrieb *L. monocytogenes* nachweisbar ist. Durch die Genotypisierung können eventuelle Quellen ausfindig gemacht werden. Daraus sind konkrete Maßnahmen bezüglich Hygiene (Mitarbeiter, Umfeld), des Reinigungsprozesses abzuleiten und im Betrieb umzusetzen. Wenn die Kontamination mit *L. monocytogenes* eliminiert werden kann, werden die Frisch-Feinkostprodukte sicher sein und das Risiko für den Konsumenten wird auf ein Minimum reduziert.

2. Material und Methoden

2.1 Betrieb

Die Feinkostabteilung innerhalb des Lebensmittelkonzerns hat vor mehr als 10 Jahren mit Produkten, wie Feinkostsalaten und Sandwiches, begonnen. Sämtliche Arbeiten von der Produktion über das Abfüllen von Salaten, Belegen von Sandwiches sowie das Verpacken der Produkte waren „handwerklich“ und wurden ohne jegliche maschinelle Hilfsmittel verrichtet.

Aufgrund der erhöhten Nachfrage und der steigenden Umsatzzahlen von Feinkost-Produkten wurde dieses Geschäftsfeld ausgelagert. Vorteil dieser Lösung war rasche Verfügbarkeit eines bestehenden Gebäudes mit allen Infrastrukturen inklusive Logistik und gekühlten Räumlichkeiten. Der Nachteil dabei war, dass die bestehende Struktur nicht den benötigten einfachen, klaren Wegen eines Produktionsbetriebes auf einer Ebene vom Wareneingang bis zur Kommissionierung und Warenausgang entspricht. Die verschiedenen Produktionen, Verpackungsabteilungen und Kommissionierung, befinden sich auf unterschiedlichen Stockwerken. Zudem reichen die Räumlichkeiten heute nicht mehr für die jährlich gestiegenen Produktionsmengen aus. Gangbare Lösungen dazu sind in Bearbeitung.

Das Sortiment besteht heute aus Feinkostsalaten, Sandwiches, Dipsaucen (v. a. saisonale Produkte) und Halbfertigprodukte, das Sortiment ist sehr schnelllebig und wechselt häufig. Das Sortiment besteht vor allem als Selbstbedienungsartikel (SB-Artikel) und wird in Verkaufsläden angeboten.

Die Nachfrage nach Halbfertig- sowie Frischprodukten nimmt zu, allen voran Sandwiches und Salate.

Die Anforderungen an die Haltbarkeit steigt bei Feinkost-Frischprodukten (v.a. Sandwiches und Salate) ständig. Die Kunden fordern eine 24-stündige Lieferbereitschaft, d.h. Verfügbarkeit aller Produkte von 100 %, sowie längere Logistikfristen, längere Verkaufsfristen in den Verkaufsläden und noch längere Haltbarkeitsfristen beim Konsument.

Diese Tatsache stellt eine große Herausforderung an Mitarbeiter, Prozesse, Reinigung und Desinfektion dar, um die tägliche Lebensmittelsicherheit bei diesen Produkten gleichbleibend gewährleisten zu können.

Als Produktgruppen wurden Sandwiches (Mehrtages- und Tagessandwiches) sowie Feinkostsalate definiert. Der Beginn des Listerienmonitorings wurde auf die Sandwichabteilung gelegt, da diese, abgetrennt vom restlichen Betrieb, gut zu beproben war.

Material und Methoden

Der Beprobungsplan wurde auf Umfeld und Gerätschaften sowie auf Material (Zutaten, Rohmaterial) und Fertigprodukte ausgelegt. Das Umfeld war definiert als Arbeitsgeräte und Gegenstände, die zur Herstellung benötigt wurden. Die Ausrüstung setzte sich aus Maschinen, Förderbändern, somit der gesamten Prozesslinie, zusammen. Umfeld und Ausrüstung wurden sowohl vor als auch nach der Reinigung und Desinfektion beprobt.

2.2 Samplingstrategie Sandwichproduktion

Das Listerien-Monitoring in der Sandwichabteilung erstreckte sich über 12 Monate. Der Ansatz und die Auswertung erfolgte im akkreditierten Labor des Instituts für Lebensmittelsicherheit und -hygiene an der Universität in Zürich [5]. Pro Woche wurden ca. 100 Proben erhoben. Die Probenentnahme erfolgte 2 x wöchentlich für Umfeldproben und Proben der Gerätschaften 1048 Stück, Produkteproben 152 (Rohmaterial und Endprodukte), Tupfer entlang der Prozesslinie (Linien / Umfeld / Mitarbeiter), während der Arbeit sowie von fertigen Produkten. Eine Kontrolle nach Reinigung und Desinfektion vor Arbeitsbeginn erfolgte mit 238 Tupferproben (Umfeldproben und Proben der Gerätschaften).

Zusätzlich wurden Sandwiches innerhalb des Routineprüfplans im betriebsinternen nicht akkreditierten Labor auf Listerien untersucht. Die positiven Resultate sind ebenfalls in die Probenbetrachtung mit einbezogen worden.

Umfeldproben nach Reinigung und Desinfektion



Abb. 2: Handwaschbecken

Material und Methoden



Abb. 3: Handschuhspender mit Handschuhen



Abb. 4: Papierhandtuchspender



Abb. 5: Plastikschrürzen

Material und Methoden



Abb. 6: Arbeitstisch



Abb. 7: Gitterband weiß

Material und Methoden



Abb. 8: Tomatenschneider



Abb. 9: rote Blockiertaste



Abb. 10: Förderband

Material und Methoden



Abb. 11: Förderband blau



Abb. 12: Handbrause



Abb. 13: Tastaturen

Material und Methoden



Abb. 14: Halbautomat geöffnet (Slicer)



Abb. 15: Füller

Material und Methoden



Abb. 16: Griff Druckluft

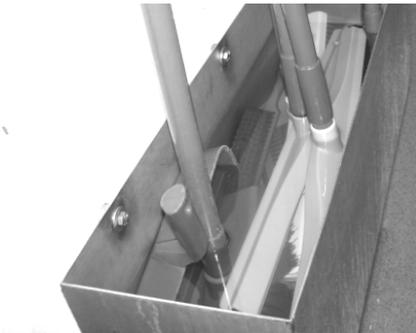


Abb. 17: Reinigungsutensilien für den Boden



Abb. 18: Rollwagen zum internen Transport



Abb. 19: Gummiwischer für Tische

2.2.1 Mitarbeiter

Es sind Mitarbeiter aus vielen Nationen beschäftigt. Aufgrund der verschiedenen Nationalitäten und Kulturen ist die Kommunikation untereinander besonders anspruchsvoll, da nicht überall Deutsch als Basis vorausgesetzt werden kann. Saubere Kleidung, Wärmekleidung und Schuhe werden jedem Mitarbeiter zur Verfügung gestellt. Der Kleiderwechsel erfolgt täglich, bei starker Beanspruchung und Verschmutzung mehrmals täglich. Die Wäsche wird in einer zentralen Wäscherei außer Haus gewaschen und wird dem Betrieb sauber wieder zur Verfügung gestellt.

Der Zugang zum Arbeitsplatz ist nur über eine Hygieneschleuse (Waschen der Hände, Desinfektion von Schuhen und Händen) möglich. Am Arbeitsplatz werden zusätzlich zur sauberen Kleidung und Kopfbedeckung, Plastikschrzen, Plastikarmstulpen, Mundschutz, sowie Einweghandschuhe als Schutzkleidung angezogen.

2.2.2 Produkte (Sandwiches, Feinkostsalate)

Die mikrobiologische Herausforderung liegt im Frischebereich bei den Sandwiches und Salaten, weniger bei den Halbfertigprodukten und Dipsaucen. Deswegen liegt der Schwerpunkt meiner Arbeit auf Sandwiches und Feinkostsalaten. Beide Produktarten werden als SB-Produkte in den verschiedenen Verkaufsstellen unter Kühlung angeboten.

Sandwiches

In der Sandwichabteilung wird normalerweise in 2 Schichten 7 Tage pro Woche gearbeitet. Bei Produktionsschwankungen kann kurzfristig auf einen 3-Schicht-Betrieb umgestellt werden.

Die Sandwiches werden in Mehrtages- und Tages-Sandwiches unterteilt.

Die Mehrtages-Sandwiches sind vorverpackte Sandwiches mit einer Gesamthaltbarkeit von 10 Tagen. Variationen entstehen durch verschiedene Brotsorten, verschiedene Aufstriche und Beläge und unterschiedliche Verpackungen. Diese variiert jeweils pro Kunde, ist aber verpackungstechnisch an die bestehenden Formate

Material und Methoden

gebunden. Alle Sorten der Mehrtages-Sandwiches werden unter Schutzatmosphäre verpackt. Die Ober- und Unterbahnfolien sind Hartfolien auf PET-Basis.

Die Tagessandwiches haben eine Haltbarkeit von 3 Tagen. Sie unterscheiden sich ebenfalls bezüglich Brotsorten, Brotformen und Belägen.

Die Tages-Sandwiches werden nicht unter Schutzatmosphäre abgepackt. Zum Verkauf angeboten werden sie in Beuteln, Kartons oder in Boxen mit Plastikdeckeln.

Feinkostsalate

Die Feinkostsalate werden ebenfalls unter Schutzatmosphäre verpackt. Nach Kundenwunsch werden sie in unterschiedlichen Größen angeboten.

Der Transport in die Verteilzentralen oder direkt in die Verkaufsstelle erfolgt immer gekühlt gemäß den gesetzlichen Vorgaben. Die Temperaturen der Kühlkette werden aufgezeichnet und die Einhaltung der Temperaturen kann jederzeit überprüft werden.

2.2.3 Prozesse

Sandwichherstellung

Die Sandwichherstellung an der Linie konnte in den letzten Jahren etwas automatisiert werden, trotz allem bleibt noch sehr viel Handarbeit bestehen.

Im Einzelnen läuft der Prozess folgendermaßen ab:

- Brotschneiden
- Streichen
- Belegen
- Sandwichschneiden (nur bei Mehrtages-Sandwiches)
- Verpacken
- Etikettieren
- Kommissionieren

2.2.3.1 Sandwichproduktion

Das Brot wird in einen Brotschneider eingelegt und die Brotscheiben fallen automatisch auf das Förderband. Ein Butterzuführer verteilt eine definierte Menge an Streichmasse auf jede Brotscheibe. Mindestens 4 Personen verteilen gleichmäßig mit einem Spatel die Streichmasse und belegen die Brotscheibe mit dem spezifischem Belag. Die Zutaten, wie z.B. Schinken, Salami, Käse, Eier, Lachs, Rohschinken, werden direkt an der Linie auf einer halbautomatischen Aufschnittmaschine (Halbautomaten) geschnitten. Tomaten werden auf einem separaten Tomatenschneider in Kisten mit Plastik vorbereitet und an die Linie gebracht. Beide Brot-

Material und Methoden

scheiben werden von Hand übereinandergelegt und mit einem Schneider in 2 Hälften geteilt. Anschließend werden die beiden Hälften manuell in die Verpackungsform eingelegt, mit der Oberbahnfolie verschlossen und gleichzeitig mit dem Schutzgas begast. Das Etikettieren erfolgt automatisch, danach werden die Produkte zur Kommissionierung ins Kühlager gebracht.

Der Ablauf auf der Tages-Sandwichlinie ist fast identisch. Er unterscheidet sich zu den Mehrtages-Sandwiches nur darin, dass die Sandwichmasse nicht über einen Butterzuführer, sondern von Hand aufgetragen wird.

Für die Produktion von Mehrtages-Sandwiches stehen zwei Linien und für die Produktion von Tages-Sandwiches steht eine Linie zur Verfügung.

2.2.3.2 Feinkostsalat-Herstellung

In diesem Prozess konnte auch nur teilweise eine Automatisierung erreicht werden. Es bleibt sehr viel Handarbeit bestehen.

- Vorbereiten der Zutaten (z.B. Öffnen von Dosen, Entfernen von Verpackungsmaterial, Wiegen von Gewürzen, Vorbereiten der Massen, Schneiden von Zutaten)
- Verwiegen von allen Zutaten nach Rezepturen
- Mischen gemäß Rezepturen
- Abfüllen
- Verpacken
- Etikettieren
- Kommissionieren

Sämtliche Zutaten werden aus den Originalbehältnissen in eigene Gebinde umgeschüttet. Gewürze werden gemäß Rezepturen verwogen. Die Zutaten für die Basismassen der Salatsaucen werden zerkleinert und homogenisiert und in fahrbaren Gebinden in den Vorbereitungskühlraum zum Verbrauch am gleichen Tag zur Verfügung gestellt. Verschiedene Fleischerzeugnisse werden auf einem Slicer geschnitten und ebenfalls für die Salatzubereitung im Kühlraum bereitgestellt. Müssen Zutaten gekocht werden (Fleischstücke, Teigwaren etc.) werden diese in der Kocherei mindestens einen Tag vor der Produktion vorbereitet.

Die Zutaten werden gemäß Rezepturen verwogen und in einem Mischer oder von Hand gemischt. In fahrbaren Gebinden werden die fertig gemischten Salate der Abfüllerei zur Verfügung gestellt.

Kleine Mengen werden von Hand in Schalen abgefüllt, große Mengen werden über Füller und einem Dosiersystem automatisch in die Schalen gefüllt, mit der Oberbahnfolie verschlossen und die Packung mit dem entsprechenden Schutzgas begast, etikettiert und das fertige Produkt dann im Kühlager zum Kommissionieren bereitgestellt. Es werden verschiedene Größen und Gewichte von Salatportionen je nach Kundenanforderung produziert.

Material und Methoden

Die Produktion richtet sich nach dem Bestellungseingang und ist mindestens 2-schichtig, bei hohen Bestelleingängen, auch saisonal bedingt 3-schichtig ausgelegt.

2.3 Reinigung und Desinfektion

2.3.1 Reinigung und Desinfektion der Sandwichabteilung

Eine komplette Reinigung und Desinfektion aller Maschinen, Hilfsmaterialien und Räumlichkeiten im Produktionsbereich erfolgt einmal pro Nacht nach Arbeitsende oder kurz davor, die von einer betriebseigenen Reinigungsequipe durchgeführt wird. Die Reinigung endet kurz bevor der neue Arbeitstag beginnt. Eine komplette Zwischenreinigung bei Schichtwechsel findet nicht statt. Anstatt einer Zwischenreinigung werden Förderbänder und Maschinenteile gereinigt. Wenn Brotbeläge mit spezifischen Gewürzen (z.B. Curry) verarbeitet worden sind, werden die Förderbänder, Butterzuführer, sonstige Geräte zwischengereinigt.

Die tägliche Grundreinigung von Böden, Abfluss-Systemen, Rinnen, Arbeitsoberflächen, Hygieneschleusen wird mit einem alkalischen Reinigungsmittel mit Chlorzusatz und alle 14 Tage zweimal pro Woche mit einem sauren Reinigungsmittel durchgeführt.

Die Oberflächen und Bänder werden am Reinigungsende desinfiziert. Es erfolgt eine kontinuierliche Bandreinigung während der Produktion. Für jede Abteilung ist ein spezifischer Reinigungsplan erstellt.

2.3.2 Reinigung und Desinfektion der Feinkost-Abteilung

Reinigung der Geräte- und Gebindewaschmaschine, Brätwagen-Waschmaschine:

Die Gerätschaften, Gebinde und Brätwagen werden in einem 2-geteilten, abgetrennten Raum gewaschen. Für die Brätwagen steht eine separate Waschmaschine zur Verfügung. Sie arbeitet mit einem chlorhaltigen Waschmittel. Die Geräte- und Gebindewaschmaschine steht in einem Nebenraum.

Die Salatfüllmaschinen werden jeweils nach Produktwechsel vom jeweiligen Mitarbeiter mit Wasser gereinigt.

Material und Methoden

2.4 Methoden zur Bestimmung von *Listeria* Subspezies in Lebensmitteln und Tupferproben

Dieses Vorgehen beschreibt eine Methode zur quantitativen und qualitativen Bestimmung von *Listeria* spp. in Lebensmitteln, sowie Tupfern [23, 28].

2.4.1 Prinzip der Bestimmung von *Listeria* Subspezies in Lebensmitteln und Tupfern von definierten und nicht definierten Flächen

Die Untersuchung erfolgt in mehreren aufeinanderfolgenden Schritten. Bei Lebensmitteln und Tupfern von definierten Flächen wird eine qualitative Bestimmung durchgeführt. Diese erfolgt über zwei Anreicherungsstufen. Die erste Anreicherung besteht aus einem Medium mit verminderter Konzentration an selektiven Agentien (Half Fraser Broth) und die anschließende zweite Anreicherung mit einem Medium mit vollständigen Konzentrationen an selektiven Agentien (Fraser Broth). Tupfer von nicht definierten Flächen werden qualitativ auf *Listeria* spp. untersucht.

Lebensmittel und Tupfer von definierten Flächen

25 g Lebensmittel bzw. die Tupfer werden in einem Anreicherungsmedium (Half Fraser Broth) homogenisiert bzw. suspendiert. Zur **qualitativen Bestimmung** wird von der zweiten Anreicherungsstufe nach Bebrütung je eine Öse auf zwei Selektivmedien ausgestrichen.

Morphologisch charakteristische Kolonien werden biochemisch bestätigt.

Aus dem Ergebnis der qualitativen Bestimmung ergibt sich die Aussage zur An- oder Abwesenheit von *Listeria* spp. in 25 g Lebensmitteln bzw. auf der definierten Fläche.

Tupfer von nicht definierten Flächen

Die Tupfer werden zunächst direkt auf zwei Selektivmedien ausgestrichen und dann unter Verwendung einer zweistufigen Anreicherung, der qualitativen Bestimmung und Bestätigung unterzogen.

Als Ergebnis ergibt sich die Aussage zur An- oder Abwesenheit von *Listeria* spp. an der Entnahmestelle des Tupfers.

Material und Methoden

2.4.2 Durchführung der Prüfung

2.4.2.1 Qualitativer Nachweis

Lebensmittel

25 g Probenmaterial in sterilen Stomachersack einwiegen.

225 ml Half Fraser Broth zugeben und im Stomacher homogenisieren.

Jeweils 0,1 ml der Erstverdünnung auf eine Palcam- und eine LA-CH-Agarplatte ausspateln.

Bebrütung der Selektivplatten: 42 - 48 h bei 37 °C.

Tupfer von definierten Flächen (40 cm²)

Die Tupfer im Stomachersack mit 20 ml Half Fraser Broth versetzen und mittels Stomacher homogenisieren.

Jeweils 0,1 ml dieser Suspension auf eine Palcam- und eine LA-CH-Agarplatte ausspateln.

Bebrütung der Selektivplatten: 42 - 48 h bei 37 °C.

2.4.2.2 Lebensmittel und Tupfer von definierten Flächen (40 cm²)

Erste Anreicherungsstufe (Half Fraser Broth):

Die Suspensionen werden nach der Entnahme der Teilmengen für den quantitativen Nachweis im Stomachersack bebrütet.

Bebrütung: 18 – 24 Stunden bei 37 °C.

Zweite Anreicherungsstufe (Fraser Broth):

Aus den bebrüteten Suspensionen der ersten Anreicherungsstufe (Half Fraser Broth) werden 0,1 ml zu 10 ml Fraser Broth pipettiert und gemischt.

Bebrütung: 18 – 24 Stunden bei 37 °C

Ausstrich auf Selektivmedien:

Nach der Bebrütung erfolgt ein Verdünnungsausstrich der Fraser Broth mit einer Einwegimpföse auf je eine Palcam- und LA-CH-Agarplatte.

Bebrütung der **Selektivplatten**: 42 – 48 Stunden bei 37 °C

2.4.2.3 Tupfer von nicht definierten Flächen

Direktausstrich:

Die Tupfer werden mit einer abgeflammt Pinzette direkt auf je einer Palcam und LA-CH-Agarplatte ausgestrichen.

Bebrütung: 42 – 48 Stunden bei 37 °C

Material und Methoden

Erste Anreicherungsstufe (Half Fraser Broth):

Die Tupfer werden nach dem Direktausstrich in die Stomachersäcke zurückgegeben und mit 10 ml Half Fraser Broth überschichtet. Zur Homogenisation wird der Stomachersack von Hand leicht geknetet (Stomacher nicht geeignet, da die abgebrochenen Holzstäbchen die Säcke verletzen).

Bebrütung: 18 – 24 Stunden bei 30 °C

Zweite Anreicherungsstufe (Fraser Broth):

Aus den bebrüteten Suspensionen der ersten Anreicherungsstufe (Half Fraser Broth) werden 0,1 ml zu 10 ml Fraser Broth pipettiert und gemischt.

Bebrütung: 18 – 24 Stunden bei 37 °C

2.4.3 Bestätigung und Auswertung

2.4.4 Auswahl charakteristischer Kolonien

Als für Listerien charakteristische Kolonien sind auf den Selektivmedien folgende Kolonien anzusehen:

Palcam-Agar:

Grüngraue Kolonien mit dunklem Zentrum, schwarzem Hof, 1,5 bis 2 mm Durchmesser, rund, flach gewölbt und glänzend.

Bacillus-Stämme können ebenfalls eine positive Aeskulinreaktion zeigen, sind aber aufgrund der Kolonienmorphologie deutlich zu unterscheiden. Enterococcus-Kolonien sind auch Aeskulin-positiv, aber meist nur stecknadelstichgroß.

Listeria-Agar chromogenic:

Blaugrüne Kolonien mit einem Durchmesser bis zu 1,5 mm und mit einem weißlich opaken Hof sind *L. monocytogenes* oder *L. ivanovii*.

2.4.5 Bestätigungsreaktionen

Von jeweils 3 verdächtigen Kolonien werden Bestätigungsreaktionen durchgeführt. Sind weniger als 3 verdächtige Kolonien vorhanden, sind alle Kolonien zu verwenden.

Von den Palcam-Platten werden Gram, Katalase, Hämolyse und CAMP-Phänomen bestimmt.

Ab den LA-CH-Platten werden nur die Hämolyse und das CAMP-Phänomen bestimmt, zur Unterscheidung von *L. monocytogenes* und *L. ivanovii*.

Material und Methoden

2.4.5.1 Gramfärbung

Von den verdächtigen Kolonien wird eine Gramfärbung gemacht. Der Ausstrich kann auch ohne NaCl gemacht werden. Listerien sind grampositive, kurze Stäbchen.

2.4.5.2 Katalase-Test

Von den verdächtigen Kolonien wird die Katalase bestimmt.

2.4.5.3 Hämolyse und CAMP-Test

Ein β -hämolytinbildender *S. aureus*-Laborstamm wird strichförmig quer über eine Blutagar-Platte geimpft. Im rechten Winkel dazu werden die zu bestätigenden Kolonien so geimpft, dass der Impfstrich knapp neben dem Staphylokokken-Impfstrich endet. Als Positivkontrolle ist ein *L. monocytogenes*-Kontrollstamm mitzuführen.

Bebrütung: 18 - 24 Stunden bei 37 °C

Der CAMP-Test wird positiv bewertet, wenn sich im Bereich der β -Hämolysezone des Staphylokokkenstammes eine vollständige Hämolysezone gebildet hat. Gleichzeitig wird der Hämolysetyp des fraglichen Stammes am Impfstrich beurteilt. *L. monocytogenes* weist unter dem Impfstrich eine Teilhämolyse auf.

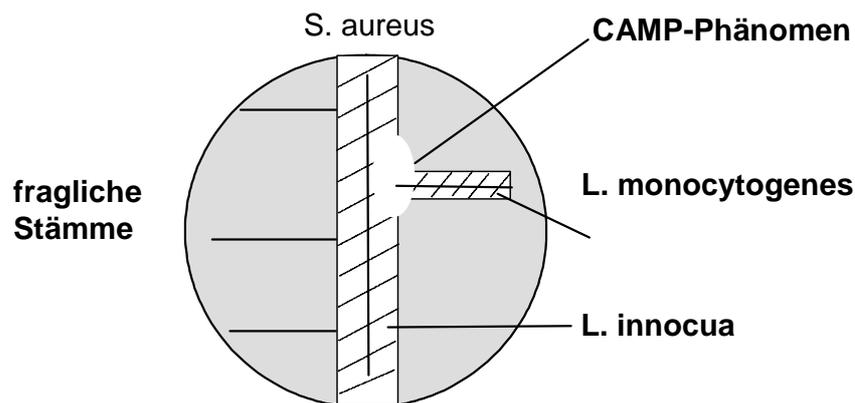


Abb. 20: CAMP-Test

Sind nur auf Palcam/Agar verdächtige Kolonien gewachsen, muss eine weiterführende Identifizierung vorgenommen werden. Zusätzlich zur Hämolyse und CAMP kann z.B. ein Api oder eine anderweitige biochemische Identifizierung herangezogen werden.

Material und Methoden

2.4.6 Darstellung der Ergebnisse

2.4.6.1 Lebensmittel und Tupfer von definierten Flächen (40 cm²)

Fall 1: Sind in der Anreicherung keine *Listeria* spp.-Kolonien nachgewiesen worden, lautet das Ergebnis:

Listeria spp. nicht nachweisbar in 25 g bzw. auf 40 cm².

Fall 2: Sind in der Anreicherung *Listeria* spp nachgewiesen worden, lautet das Ergebnis:

Listeria spp. nachgewiesen in 25 g bzw. auf 40 cm² nach Anreicherung.

2.4.6.2 Tupfer von nicht definierten Flächen

Fall 4: Sind sowohl im **Direktausstrich** als auch in der **Anreicherung** keine *Listeria* spp.-Kolonien nachgewiesen worden, lautet das Ergebnis:

Entnahmeort *Listeria* spp. nicht nachweisbar

Fall 5: Sind entweder im **Direktausstrich und/oder** in der in der **Anreicherung** *Listeria* spp.-Kolonien nachgewiesen, lautet das Ergebnis:

Entnahmeort *Listeria* spp. nachweisbar

2.5 Qualitativer Nachweis und Bestimmung von *Listeria monocytogenes* in Lebensmitteln und Tupfern mit dem Vidas[®]

[3, 29, 31]

„Enzyme Linked Fluorescent Assay (ELFA) mit dem Vidas[®] System. Das Protokoll BIO-12/11-03/04 wurde von der AFNOR VALIDATION als alternatives Analyseverfahren für alle Lebensmittel im Humanbereich und Umweltproben validiert. Diese Validierung erfolgte im Vergleich zur beschriebenen Referenzmethode im internationalen EN ISO Standard 11290-1/A1 (4) gemäß dem EN ISO Standard 16140 (9)“ [31].

2.5.1 Tupferproben

2.5.2 Prinzip

Es werden zuerst zwei Anreicherungsstufen durchgeführt und nach der Bebrütung der zweiten Anreicherung erfolgt der Screeningtest.

„Der Vidas[®] *L. monocytogenes* II Test ist ein alternativer Screening-Test für die bisherigen langwierigen und arbeitsaufwendigen Methoden. Dieser Test kann zum direkten Screening auf *L. monocytogenes* in Lebensmitteln und Umweltproben (= Tupferproben) eingesetzt werden.

Material und Methoden

Vidas® *L. monocytogenes* II (LMO2) ist ein enzymgebundener Fluoreszenzessay (ELFA) zum Nachweis von *L. monocytogenes* Antigenen mit dem automatisierten Vidas®-Gerät. Der Festphasenrezeptor (SPR®) dient gleichzeitig als Festphase und Pipettiersystem. Die SPR®-Innenseite ist mit Anti-*L. monocytogenes*-Antikörpern beschichtet. Die Testreagenzien für die immunologische Reaktion befinden sich gebrauchsfertig in den Reagenzriegeln. Alle Reaktionsschritte werden automatisch vom Gerät durchgeführt. Das Reaktionsmedium wird dabei mehrfach vom SPR® aspiriert und wieder abgegeben.

Ein Teil der Anreicherungsbouillon wird in den Reagenzriegel pipettiert. In der Probe vorhandene *L. monocytogenes*-Antigene binden an die an der SPR®-Innenseite fixierten Anti-*L. monocytogenes* Antikörper. Ungebundene Probenbestandteile werden durch Waschen entfernt. Mit alkalischer Phosphatase markierte Antikörper werden vom SPR® aspiriert und wieder abgegeben. Und binden an die am SPR® fixierten *L. monocytogenes*-Antigene. Erneute Waschschriffe entfernen ungebundenes Konjugat.

Während des letzten Nachweisschrittes wird das Substrat (4-Methyl-umbelliferon-Phosphat) im SPR® aspiriert und wieder abgegeben. Das Enzymkonjugat katalysiert die Hydrolyse dieses Substrats in ein fluoreszierendes Produkt (4-Methyl-Umbelliferon), dessen Fluoreszenz bei 450 nm gemessen wird.

Nach Beendigung des Tests (ca. 70 min) werden die Ergebnisse automatisch vom Analysensystem berechnet. Für jede Probe wird ein Testwert ermittelt. Dieser Testwert wird mit gespeicherten Grenzwerten verglichen und jedes Ergebnis wird als positiv oder negativ interpretiert“ [31].

2.5.3 Durchführung der Prüfung

2.5.4 Qualitativer Nachweis von Lebensmitteln / Tupfer von Flächen

Erste Anreicherungsstufe (Half Fraser Broth):

1. Tag

a) Lebensmittel

25 g Probenmaterial in sterilen Stomachersack einwiegen.

225 ml Half Fraser Broth zugeben und im Stomacher homogenisieren.

Bebrütung: 24 – 26 Stunden bei 30 °C.

b) Tupfer von Flächen

Sterile Proben tupfer werden vor Probenentnahme mit Peptonwasser befeuchtet. Dann wird die Probe entnommen und in 10 ml Half Fraser Broth Röhren gegeben.

Bebrütung: 24 – 26 Stunden bei 30 °C.

Material und Methoden

Zweite Anreicherungsstufe (Fraser Broth):

2. Tag

a) Lebensmittel

Aus den bebrüteten Suspensionen der ersten Anreicherungsstufe (Half Fraser Broth) werden 1 ml zu 10 ml Fraser Broth Röhrrchen pipettiert und gemischt.

Bebrütung: 24 – 26 Stunden bei 30 °C.

Diese Suspension max. 48 Stunden bei 2 – 8 °C aufbewahren und bei positivem Resultat zur Bestätigung verwenden.

b) Tupfer von Flächen

Aus der bebrüteten Suspension der ersten Anreicherungsstufe (Half Fraser Broth) werden 1 ml zu 10 ml Fraser Broth Röhrrchen pipettiert und gemischt.

Bebrütung: 24 – 26 Stunden bei 30 °C.

Bestätigungsreaktion: Ausstrich auf Selektivmedium

Nach der Bebrütung der ersten Anreicherung erfolgt zusätzlich ein Verdünnungsausstrich 0,1 ml von der Suspension der ersten Anreicherung mit einem Glasspatel auf eine ALOA-Agarplatte.

Bebrütung: 24 – 48 Stunden bei 37 °C.

Dieser Schritt ist laborintern eingefügt worden, da sich somit negativ / falsch-Resultate vom Vidas ausschließen lassen.

3. Tag

„Beschreibung des LMO2 Reagenzriegels und Durchführung des Screenings

Küvette	Reagenzien
1	Probenküvette: 500 µl Suspension der 2. Anreicherung, Standard oder Kontrolle in diese Küvette pipettiert.
2	Vorwaschpuffer (400 µl): Tris-NaCl (150 mmol/l)-Tween pH 7,6 und Konservierungsmittel.
3/4/5/7/8/9	Waschpuffer (600 µl): Tris-NaCl (150 mmol/l)-Tween pH 7,6 und Konservierungsmittel.
6	Konjugat (400 µl): Mit alkalischer Phosphatase markierte Anti- <i>L. monocytogenes</i> Antikörper und Konservierungsmittel.
10	Messküvette mit Substrat (300 µl): 4-Methyl-umbelliferyl-Phosphat (0,6 mmol) und Diethanolamin (DEA) (0,62 mol/l bzw. 6,6 %, pH 9,2) und Konservierungsmittel“ [31].

Material und Methoden

Durchführung

Der Reagenzriegel wird bei 2 – 8 °C im Kühlschrank gelagert, ist aber vor Probenbeginn mind. 30 Minuten auf Raumtemperatur zu bringen. Jeweils 500 µl von der Suspension der 2. Anreicherung nach Bebrütung, den Standard und die Kontrolle direkt in die Probenküvette des Vidas® LMO2-Reagenzriegels pipettieren. Den Reagenzriegel in das Gerät einfügen. Den Vidas® Test durchführen. Dieser dauert ca. 70 Minuten und durchläuft alle Schritte automatisch.



Abb. 21: LMO2-Reagenzriegel im Vidas-Gerät

2.5.5 Ergebnisse und Interpretation

„Nach Beendigung des Tests werden die Ergebnisse automatisch vom Gerät ausgewertet. Das Gerät führt für jede Probe zwei Fluoreszenzmessungen der Messküvette des Reagenzriegels durch. Die erste Messung ist eine Hintergrundmessung der Küvette und des Substrates, bevor der SPR® in das Substrat eintaucht. Die zweite Messung erfolgt nach der Inkubation des Substrates mit dem im SPR® vorhandenen Enzym. Aus der Differenz beider Messungen ergibt sich ein relativer Fluoreszenzwert (RFV), der auf dem Ergebnisblatt ausgedruckt wird.

Der RFV jeder Probe wird durch das Vidas® Gerät folgendermaßen interpretiert:

Berechnung: Testwert = $\text{RFV Probe} / \text{RFV Standard}$

RFV = Relative Fluorescence Value, relativer Fluoreszenzwert

Grenzwerte und Interpretation der Ergebnisse

Testwert	Interpretation
< 0,05	negativ
≥ 0,05	positiv

Material und Methoden

Ein Ergebnis mit einem Testwert unterhalb des Schwellenwertes zeigt an, dass die Probe kein *L. monocytogenes* Antigen oder *L. monocytogenes* Antigene in einer Konzentration unterhalb der Nachweisgrenze enthält.

Ein Ergebnis mit einem Testwert, der gleich oder größer ist als der Grenzwert, zeigt an, dass die Probe mit *L. monocytogenes* kontaminiert ist.

Jedes positive Vidas[®] LMO2 Ergebnis muss bestätigt werden.

Die Bestätigung wird mit der bei 2 – 8 °C gelagerten zweiten bebrüteten Anreicherungsbouillon durchgeführt“ [31].

2.5.6 Bestätigung positiver Ergebnisse aus dem Screeningtest vom Vidas[®]

Die bebrütete zweite Anreicherungsbouillon wird mit einer sterilen Impföse auf Palcam ausgestrichen.

Bebrütung: 24 – 48 Stunden bei 37 °C

Sind nur auf Palcam-Agar verdächtige Kolonien gewachsen, muss eine weiterführende Identifizierung vorgenommen werden. Diese erfolgt über einen DNA-Sondenschnelltest.

2.5.7 Bestätigung der Kolonien mit der AccuProbe (DNA-Sondenschnelltest) - Probenvorbereitung

Prinzip

„Die AccuProbe ist ein DNA-Sonden-Schnelltest, der nach dem Prinzip der Nukleinsäurehybridisierung arbeitet und die Identifizierung von *L. monocytogenes* aus Kulturoisolen ermöglicht. Die Nukleinsäure-Hybridisierungstests basieren auf der Fähigkeit komplementärer Nukleinsäuresequenzen, spezifisch zu hybridisieren und stabile Doppelstrang-Komplexe zu bilden. Der AccuProbe Test enthält eine einzelsträngige DNA-Sonde, an die ein Chemilumineszenzmarker gekoppelt ist. Diese Sonde ist der rRNA der Zielsequenz komplementär: Nachdem die rRNA des Zielorganismus freigesetzt ist, verbindet sich die Sonde mit dieser und bildet einen stabilen DNA-RNA Komplex. Ein Selektionsreagenz baut den Chemilumineszenzmarker der ungebundenen Sonde ab, während der Marker der gebundenen Sonde intakt bleibt. Das Luminometer misst das von den DNA-RNA-Hybriden abgegebene Lichtsignal. Ein positives Ergebnis liegt vor, wenn der vom Luminometer angezeigte Wert gleich oder größer ist als der Grenzwert. Liegt der Wert unterhalb des Grenzwertes, ist das Ergebnis negativ“ [1].

Material und Methoden

2.5.8 AccuProbe

1. Schritt

50 µl Zusatzreagenz 1 in Sondentube pipettieren. 1 µl (1 bis 3 Kolonien) der Kolonien vom Palcam Agar mit einer Einweg-Plastiköse dazugeben (möglichst ohne Nährboden) und gründlich mischen. Sonden-Reagenzröhrchen verschließen.

Es werden neben der zu bestätigenden Probe, auch jeweils ein Sondenröhrchen mit *L. monocytogenes* und *Listeria innocua*-Kontrollstämmen befüllt.

Bebrütung im Wasserbad: 5 Minuten bei 37 °C

2. Schritt: Hybridisierung

Die Sondenröhrchen aus dem Wasserbad entnehmen, öffnen und 50 µl des Zusatzreagenz 2 dazu pipettieren, wieder verschließen.

Bebrütung im Wasserbad: 15 Minuten bei 60 °C

3. Schritt: Selektion

Die Sondenröhrchen aus dem Wasserbad entnehmen, öffnen und 300 µl des Zusatzreagenz 3 in das bebrütete Sondenröhrchen pipettieren, verschließen und den Inhalt jetzt gut vermischen.

Bebrütung im Wasserbad: 5 Minuten bei 60 °C

Die Sondenröhrchen werden aus dem Wasserbad genommen und 5 Minuten bei Raumtemperatur (20 – 25 °C) abgekühlt. Die Sondentuben öffnen und die Messung im Luminometer durchführen.

4. Schritt: Detektion im Luminometer

Die beiden Schläuche des Luminometers nach drei Waschgängen mit destilliertem Wasser jeweils in die Reaktionsdetergenzien einsetzen. Nochmals drei Waschgänge mit den Reaktionsdetergenzien durchführen und danach die Kalibrierung sowohl mit der Negativprobe (*L. innocua*) als auch mit der Positivprobe (*L. monocytogenes*) durchführen. Dann das Muster eingeben und das Messprogramm durchlaufen lassen.

Interpretation der Ergebnisse

Ergebnisse, deren Lichtsignale unterhalb dem Grenzwert < 40 000 RLU liegen, werden als negativ bewertet. Ergebnisse, deren Lichtsignale oberhalb des Grenzwertes > 50 000 RLU liegen, werden als positiv bewertet. Bei Ergebnissen, die im Graubereich zwischen 40 000 und 49 999 RLU liegen, muss der Test wiederholt werden.“ [1].

Material und Methoden

Resultate qualitativ

Positiv: *L. monocytogenes* nachweisbar.

Negativ: *L. monocytogenes* nicht nachweisbar.

Auswertung über Palcam/ALOA-Agarplatten [29]

Als für Listerien charakteristische Kolonien sind auf den Selektivmedien folgende Kolonien anzusehen:

Palcam-Agar

Grüngraue Kolonien mit dunklem Zentrum mit schwarzem Hof, 1,5 bis 2 mm Durchmesser, rund, flach gewölbt und glänzend.

Enterococccen: Kleine, weiß bis graue Kolonien, < 1 mm Durchmesser mit einem grünen Hof.

Staphylokokken: Weiße oder gelbe Kolonien, 1,5 bis 3 mm Durchmesser, mit weißem Hof.

ALOA

L. monocytogenes: Blau bis blaugrüne, runde, regelmäßige Kolonien mit einem Durchmesser bis zu 1 bis 2 mm, mit einem opaken Hof. *L. monocytogenes* wachsen als typische Kolonien in 24 h [12].

2.6 Genotypisierung mit einer Makrorestriktionsanalyse mittels Pulsfeldgelelektrophorese

„Diese Art Elektrophorese ist anwendbar bei doppelsträngigen DNA-Molekülen von Restriktionsfragmenten und ganzen Chromosomen.

Die Pulsfeldgelelektrophorese-Technik arbeitet mit elektrischen Pulsfeldern anstelle von konstanten Feldern, wie das bei der konventionellen Gelelektrophorese der Fall ist. Das Prinzip besteht im Grund darin, dass die Spannung im drehenden Spannungsfeld sehr schnell an- und ausgeschaltet wird. Damit ist man in der Lage, große Nukleinsäurefragmente aufzutrennen.

Die Pulse werden in entgegengesetzter Richtung hin und her geschaltet und das Feld aus unterschiedlichen Richtungen gepulst (drehendes Spannungsfeld).

Bei der konventionellen Gelelektrophorese, die mit einem konstanten Feld arbeitet, bleiben Moleküle, die über 30 kbp groß sind, zusammen und die Moleküle wandern schnell. In Pulsfeldgelen bewegen sie sich dagegen langsamer und können voneinander getrennt werden. Das liegt daran, dass die Moleküle Zeit brauchen, um sich im umgepolten Feld neu zu orientieren. Diese Zeitdauer ist proportional zur Molekülgröße. Wählt man also das richtige Intervall für die Pulse, so kann man auch große Moleküle entsprechend ihrer Länge auftrennen.

Material und Methoden

Prinzip

Für die Untersuchung des sehr großen Genoms von Listerien ist es notwendig, Maßnahmen zu treffen, welche zufällige Strangbrüche der Chromosomen verhindern. Deshalb präpariert man die Proben für die Pulsfeldgelelektrophorese *in situ* und das Gemisch lässt man in Form eines kleinen Agaroseblöckchens erstarren.

Die Makrorestriktion der eingebetteten DNA wird mit einem dem GC-Gehalt entsprechenden, selten schneidenden Enzym vorgenommen. Ziel ist es, möglichst große Bruchstücke zu erhalten. Für *Listeria monocytogenes* eignen sich gemäß Literaturangaben mehrere Enzyme wie beispielsweise *Apa I*, *Asc I*, *Sse 8387 I* und *Sma I* [27]“ [13].

In unserem Fall kam das Enzym *Apa I* zur Anwendung.

2.6.1 Herstellen der Agaroseblöckchen

„1. Vorbereitungsarbeiten

Subkultivierung

Mit einer sterilen Öse wurde das Isolat dreifach fraktioniert auf eine Blutplatte ausgestrichen und 24 – 48 Stunden bei 37 °C bebrütet.

Anzüchtung

Von den Blutplatten mit den Reinkulturen der zu untersuchenden Spezies wurde mit einer sterilen Öse jeweils eine KBE in 10 ml BHI-Bouillon überimpft. Zusätzlich wurde ein BHI-Röhrchen als Negativkontrolle mitgeführt. Die beimpften Röhrchen wurden über Nacht bei 37 °C und 100 rpm im Schüttel inkubator inkubiert.

2. Fünf Stunden-Präparation (mod. nach Center for Disease Control (CDC), Atlanta, USA 1998)

Ernte

Von der Übernachtungsbouillon wurden jeweils 2 ml in Plastikküvetten überführt. Mit Hilfe des Photometers wurde die optische Dichte der Bakterienkulturen bei 610 nm gemessen. Die verbleibenden 8 ml Bouillon wurden 15 Minuten bei 4 °C und 5000 rpm zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen.

Blöckchenherstellung

Das Zellpellet wurde mittels Pasteurpipetten in einem anhand der OD_{610} berechneten Volumen TE (Tris-EDTA-Puffer, 10:1) resuspendiert, sodass eine $OD_{610} = 1,4$ erreicht worden ist. Von diesem TE-Zellgemisch wurden jeweils 240 µl in Eppendorf-Reaktionshütchen pipettiert.

Zu den 240 µl wurden 6 µl Lysozym-Lösung (Boehringer Mannheim, D) in einer Konzentration von 50 mg/ml pipettiert und vorsichtig resuspendiert.

Material und Methoden

Die Inkubation dauerte 10 Minuten bei 37 °C. Die Lysozym-Lösung zerstört die Zellwand von grampositiven Bakterien und kommt demzufolge nur bei grampositiven Bakterien zur Anwendung.

Nach der Bereitstellung des Agarose-Mixes [(20 %iges Natrium Dodexyl Sulfat, SDS, Proteinase K (Boehringer Mannheim, D) 20 mg/ml, 1,2 %ige Chromosomal Grade Agarose (Bio Rad USA)] im Wasserbad bei 54 °C wurden jeweils 300 µl davon zu den 240 µl TE-Zellgemisch pipettiert, resuspendiert und in Förmchen gefüllt. Pro Isolat wurden vier Blöckchen hergestellt.

Nach Erstarren der Blöckchen wurden diese in Lysis-Puffer plus Proteinase K gegeben (in sterilen Milchröhrchen) und im Wasserbad bei 53 °C und 50 rpm während 2 Stunden inkubiert.

Nach der Inkubation folgten zwei Waschschriffe in 53 °C warmem Aqua bidest während 30 min und zwei Waschschriffe in 53 °C warm em TE 10:1 während 30 Minuten. Bis zur Durchführung der Makrorestriktion wurden die Blöckchen in 3 ml TE 10:1 bei 4 °C aufbewahrt.

3. Makrorestriktion

Jeweils ein Blöckchen pro Isolat wurde mit einem sterilen Spatel den Milchröhrchen entnommen, auf einem frischen Objektträger in passende Stücke zerteilt und in Aqua bidest auf dem Schwenktisch für 15 Minuten gewaschen.

Das Aqua bidest wurde vorsichtig abgesaugt und durch je 200 µl Digestionspuffer ersetzt. Auch dieser Schritt wurde während 15 Minuten auf dem Schwenktisch durchgeführt.

Sodann erfolgte der Restriktionsenzymverdau, für den, wie eingangs bereits erwähnt, das Enzym *Apa I* verwendet wird. Der Restriktionsmastermix (Aqua bidest, Digestionspuffer *Apa I* wurde nach vorsichtigem Absaugen des Digestionspuffers zugegeben (50 µl pro Probe). Die Proben wurden während 4 bis 18 Stunden entsprechend der Wirkoptimumtemperatur, 25 °C im Falle von *Apa I*, inkubiert. Nach dem Restriktionsenzymverdau wurden die 50 µl Restriktionsmastermix vorsichtig abgesaugt und die Blöckchen in jeweils 500 µl TE 10:1 15 Minuten schwenkend gewaschen.

4. Charakteristik des Pulsfeldgelelektrophoresegerätes CHEF-DR III (Bio-Rad Laboratories, Richmond)

Es stehen verschiedene Elektrodenmodelle für die Pulsfeldgelelektrophorese zur Verfügung.

In unserem Fall kam das Modell CHEF-DR III (contour homogenous electric field) (Bio-Rad) zur Anwendung.

Material und Methoden

Funktionsbeschreibung

Nukleinsäuren sind negativ geladene Moleküle und wandern in einem elektrischen Feld zur positiven Elektrode. Die Pulsfeldgelelektrophorese ist eine Technik, durch die man DNA im Größenbereich chromosomaler DNA auftrennen kann.

Dadurch, dass die Richtung des angelegten elektrischen Feldes zwischen spezifisch angeordneten Elektroden innerhalb eines definierten Winkels (90° bis 120°) alternierend geändert wird, ist DNA bis in den Megabasenbereich in der Lage, sich im Agarosenetz zu orientieren und mit, je nach angelegter Stromspannung, unterschiedlicher Geschwindigkeit durch die Poren des Agarosegels Richtung Anode zu wandern. Es gilt: Je länger bzw. größer die Fragmente sind, die aufgetrennt werden sollen, umso länger müssen auch die Pulszeiten (switch time) gewählt werden.

Über die Auswahl der Parameter Gelkonzentration, Pufferkonzentration, Pufferart und -kühltemperatur, Feldstärke, Pulszeit, Laufdauer und Pulswinkel kann die Auftrennung der DNA beeinflusst werden. Ein Lauf dauert i. d. R. zwischen 10 Stunden und mehreren Tagen.

Besonderheiten

Um für DNA im Größenbereich chromosomaler DNA eine gute Auftrennung zu erreichen, muss der Laufpuffer entsprechend gekühlt (6 – 15 °C) werden. Die Pufferkammer ist über einen Schlauch mit dem Cooling Module und dieses wiederum mit einer Pumpe verbunden. Durch die Pumpe wird ein konstanter Pufferfluss aus der Pufferkammer heraus, wieder in sie hinein und durch sie hindurch an dem Gel vorbei gewährleistet. Es ist vor jedem Lauf auf korrekten Pufferfluss zu achten.

Elektrophorese

Die „verdauten“ Blöckchen wurden in das vorbereitete Pulsfeldgelelektrophorese-gel (1 %) geladen, wobei ein Marker (Bio-Rad, USA) im Gel mitgeführt worden ist. Das geladene Gel wurde in die Pufferkammer eingebracht, das entsprechende Laufprogramm gespeichert und der Lauf gestartet.

Laufprogramm, CHEF, für *L. monocytogenes*:

Initial switch time:	3 s
Final switch time:	33 s
Run time:	24 h
Volt/cm:	6 V/cm
Included angle:	120°

Material und Methoden

Färbung

Nach Abschluss der Elektrophorese wurde das Gel 15 Minuten in Ethidiumbromid-lösung gefärbt und anschließend 2 x 15 Minuten in Aqua bidest gewässert.

Auswertung

Die Auswertung des Gels erfolgt unter UV-Licht im UV-Table oder mittels Video Dokumentationssystem (Gel Doc 1000 video system, Bio-Rad Laboratories, Richmond, USA).

Für die weiterführenden, molekularbiologischen Untersuchungen (Nachweis der Gensequenzen *hlyA* und *plcA* im Anschluss an die DNA-Isolation) wurden die Isolate subkultiviert und anschließend in je 10 ml BHI-Bouillon angezüchtet (37 °C, 24 h) [13].

3. Ergebnisse der betriebsepidemiologischen Abklärungen

Die Probenentnahme zum Nachweis von *L. monocytogenes* und der anschließenden Genotypisierung wurde in 3 Beprobungsserien durchgeführt:

Sandwichproduktion

Insgesamt wurden von November 2008 bis November 2009 Proben erhoben und untersucht [5]. 3 Beprobungsserien wurden zweimal wöchentlich mit ca. 100 Proben durchgeführt.

Die 1. Serie diente zur Bestandesaufnahme und dauerte 5 Monate.

Die 2. Serie dauerte 4 Monate und diente zur Bestätigung und zum Aufzeigen der Schwachpunkte.

Die 3. Serie diente zum Umsetzen der Maßnahmen und dauerte 3 Monate.

Produktion Sandwiches

Tab. 12: Probenerhebung gesamt und Auswertung

Total Proben	positiv	positiv (%)
2411	109 (<i>L. monocytogenes</i>)	4,5

In Tabelle 12 ist die Gesamtprobenmenge der Sandwichabteilung und die Auswertung von positiven *L. monocytogenes* Ergebnissen zusammengestellt. 4,5 % der Proben waren positiv.

Während des Arbeitsprozesses

65 von 1649 Umfeldproben und Proben der Gerätschaften waren positiv (3,9 %)

- davon 64 *L. monocytogenes*
- v.a. Halbautomaten, Wasserschläuche, Druckluftpistolen

46 von 331 Produkte positiv (13,9 %)

- davon 34 *L. monocytogenes*
- u.a. Lachs-, Thunfisch- und Geflügel-Sandwiches

Nach Reinigung und Desinfektion

11 von 431 Umfeldproben und Proben der Gerätschaften positiv

2,6 % alle *L. monocytogenes*

- Druckluftpistolen, Förderbänder, Wasserschläuche

Ergebnisse

Aus diesen Proben wurden 109 *L. monocytogenes* Stämme genotypisiert (PFGE)¹.

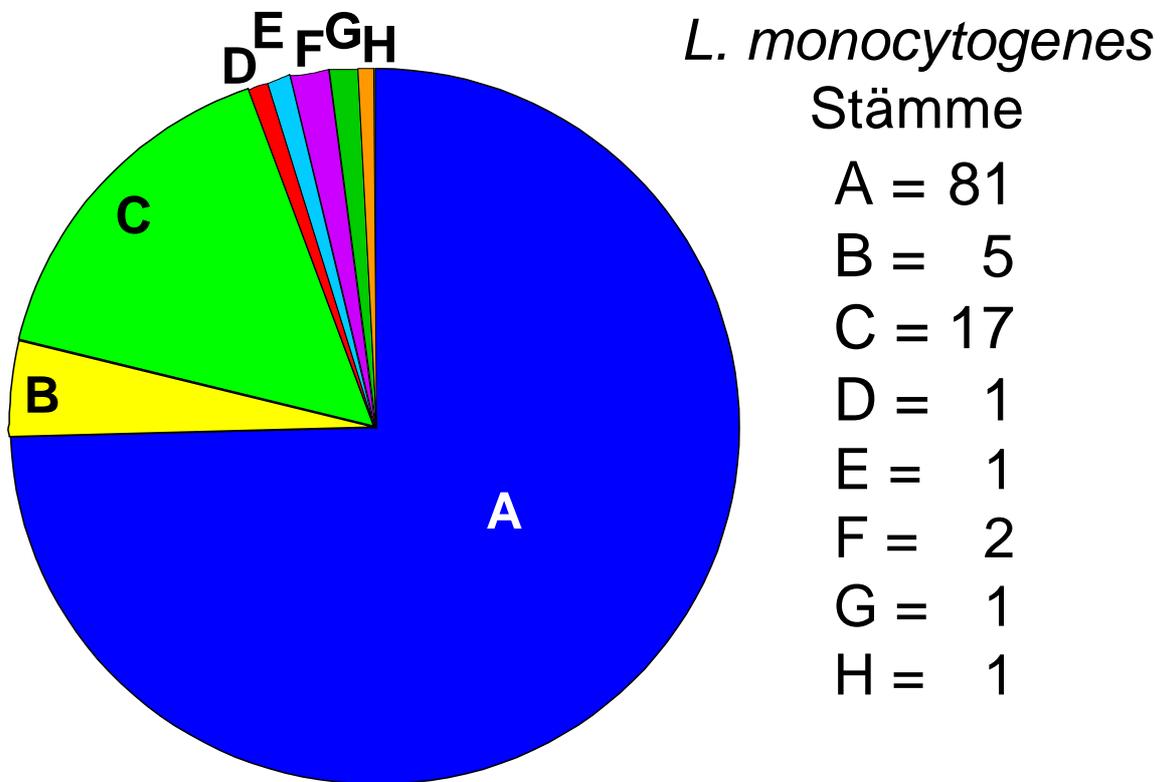


Abb. 22: Genotypisierung

In Abbildung 23 sind die Ergebnisse der Genotypisierung zusammengestellt. Dabei fällt auf, dass überwiegend 2 Genotypen dominant vorkommen. Die durchgeführte Serotypisierung ergab 101 Proben vom Serotyp 1/2a und 8 Proben vom Serotyp 1/2b [5].

¹ PFGE Pulsfield Gel Electrophorese

Ergebnisse

Tab. 13: Zusammenstellung der genotypisierten Proben mit den Probe-Entnahmestellen

PFGE-Typ	Anzahl	Kategorie	Anzahl der Proben pro Kategorie	Probe-Entnahmestellen
A	81	Einzelkomponenten / Produkte	21	v.a. Lachs-, Thunfisch- und Geflügel-sandwich
		Umfeld	16	Arbeitsgeräte und Gegenstände
		Ausrüstung	44	Maschinen, Förderbänder
B	5	Produkt	4	
		Umfeld	1	Arbeitsgeräte und Gegenstände
C	17	Einzelkomponenten / Produkte	4	
		Umfeld	9	Arbeitsgeräte und Gegenstände
		Ausrüstung	4	Maschinen, Förderbänder
D	1	Produkt	1	
E	1	Produkt	1	
F	2	Produkt	2	
G	1	Produkt	1	
H	1	Umfeld	1	Arbeitsgeräte und Gegenstände

In Tabelle 13 wurden die Entnahmestellen der Sandwichabteilung zusammengestellt, die mit *L. monocytogenes* positiv getestet worden sind. Die beiden Genotypen A und C verteilen sich auf Einzelkomponenten und Produkte, Umfeld und die Ausrüstung.

In der ersten Beprobungsreihe wurde *L. monocytogenes* sowohl im Umfeld, in den Gerätschaften nach Reinigung und Desinfektion als auch in den Produkten nach-

Ergebnisse

gewiesen. Die Maßnahmen waren in der Reinigung und Desinfektion festzulegen. Nach Umsetzen der eingeleiteten Maßnahmen in der Reinigung konnte *L. monocytogenes* weder im Umfeld, in den Gerätschaften noch im Endprodukt nachgewiesen werden.

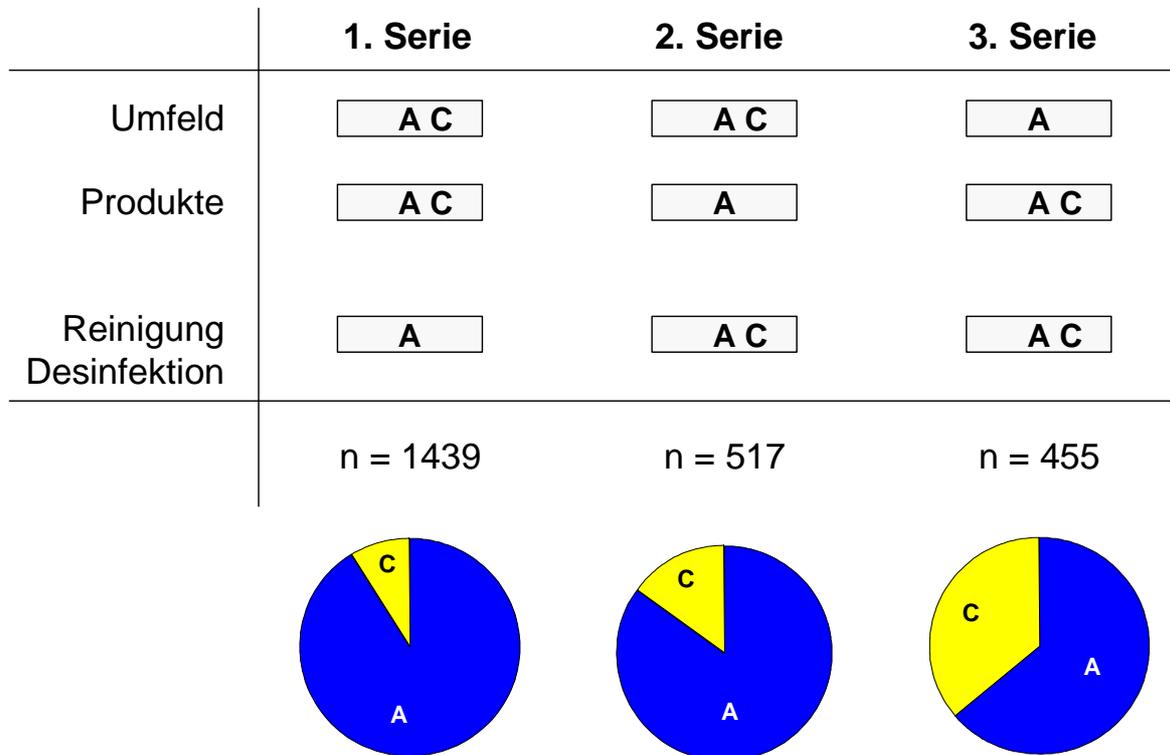


Abb. 23: Verteilung der Genotypen A und C von *L. monocytogenes* während der 3 Probenahmen-Serien

Aus dieser Zusammenstellung ist ersichtlich, dass in allen 3 Untersuchungsperioden Genotyp A und C vorkommen, davon der Genotyp A als dominant. Beide Genotypen sind weiterhin auch nach der Reinigung und Desinfektion nachweisbar.

Zutaten: Lachs

Die Annahme, dass *L. monocytogenes* über die Zutat Lachs eingebracht wird, wurde nicht bestätigt. 6 Proben vom Räucherlachs von verschiedenen Lieferanten wurden untersucht, und es konnten nur *Listeria* spp. nachgewiesen werden.

Ergebnisse

Produktion Feinkostsalate

Tab. 14: Probenerhebung gesamt und Auswertung

Total Proben	positiv	positiv (%)
567	24 (<i>L. monocytogenes</i>)	4,2

Die Gesamtprobenmenge der Feinkostsalate-Abteilung und die Auswertung von positiven *L. monocytogenes* Ergebnissen sind in Tabelle 14 zusammengestellt. 4,2 % der Proben waren positiv.

Während des Arbeitsprozesses 561 Proben

32 von 515 Umfeldproben und Proben der Gerätschaften waren positiv (6,2 %)

- davon 19 *L. monocytogenes*
- v.a. Abflussrinnen, Gummiwischer, Boden

5 von 46 Produkte waren positiv (10,9 %)

- davon alle *L. monocytogenes*
- u.a. Mais- und Pastasalat

Nach Reinigung und Desinfektion

- 1 von 6 Umfeldproben und Proben der Gerätschaften positiv (0,1 %, *Listeria* spp.)
- Wasserschlauch

Die Durchführung erfolgte in einer Beprobungsserie à 3 Monate, zweimal wöchentlich.

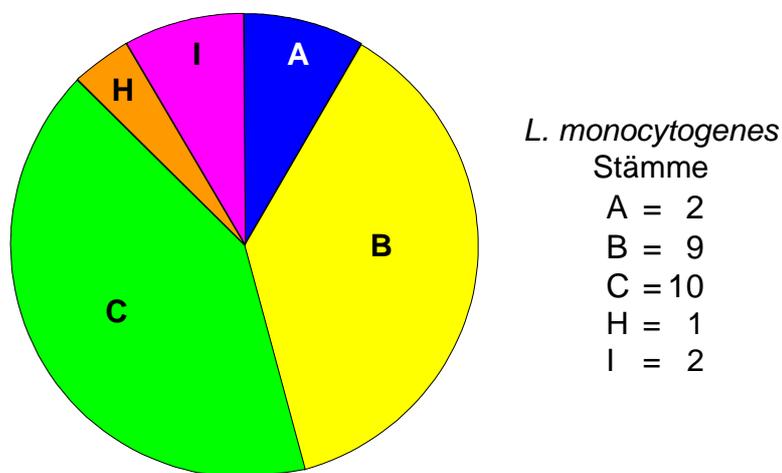


Abb. 24: Genotypisierung im Bereich der Feinkostsalatproduktion [5]

Ergebnisse

In Abbildung 24 sind die Ergebnisse der Genotypisierung in der Feinkostsalatproduktion zusammengestellt. Dabei fällt auf, dass überwiegend 2 Genotypen (B, C) dominant vorkommen [5].

Tab. 15: Zusammenstellung der genotypisierten Proben mit den Probeentnahmestellen

PFGE-Typ	Anzahl	Kategorie	Anzahl der Proben pro Kategorie	Probe-Entnahmestellen
A	2	Produkt	1	Pennesalat
		Umfeld	1	Abflussrinne
B	9	Umfeld / Ausrüstung	9	Reinigungsschlauch Waage, Gummiwischer, Waschbecken, Tisch
C	10	Produkte	2	Nudelsalat, Maissalat
		Umfeld / Ausrüstung	8	Boden, Waage Abflussrinne, Gummiwischer
H	1	Umfeld	1	Boden
I	2	Produkte	2	Paprikawürfel, Maissalat

In Tabelle 15 wurden die Entnahmestellen in der Feinkostsalat-Herstellung zusammengestellt, die mit *L. monocytogenes* positiv getestet worden sind. Zwei Genotypen B und C verteilten sich auf Einzelkomponenten und Produkte, Umfeld und die Ausrüstung.

Der Schwerpunkt der weiteren Arbeit wurde auf die Sandwichproduktion gelegt, da dieser Produktionsteil vom restlichen Betrieb klar abgrenzbar ist. Dies ist in der Salatproduktion nicht möglich. Da die Genotypen B und C dominant in der Salatproduktion vorkommen, wird angenommen, dass beide in die Sandwichproduktion eingebracht werden, da dort der Genotyp A dominant vorkommt.

Die Erfahrungen und Vorgehensweise zu *L. monocytogenes* in der Sandwichproduktion werden in einem 2. Schritt in der Salatherstellung Verwendung finden.

Ergebnisse

Ziel in der Sandwichherstellung ist es, die Quellen für *L. monocytogenes* im gesamten Prozess aufzufindig zu machen, die Genotypisierung durchzuführen zu lassen und daraus Maßnahmen zur Verbesserung festzulegen und diese umzusetzen. Dadurch soll eine Verschleppung in andere Produktionsbereiche eingeschränkt und eine grundsätzliche Verbesserung des mikrobiologischen Status erreicht werden.

Als Sofortmaßnahme wurden intensive Kontrollen der Reinigung und Desinfektion vor Arbeitsbeginn (visuell und mikrobiologisch) durchgeführt. Die erste Priorität lag auf der visuellen Kontrolle. Die mikrobiologischen Abstriche vom Umfeld und der Ausrüstung (Maschinen, Arbeitsgeräte, Bänder) dienten zur Bestätigung der visuellen Kontrolle. Im Folgenden werden die Nachkontrollen visuell beschrieben und die daraus abgeleiteten Sofort-Maßnahmen aufgezeigt. Anhand der mikrobiologischen Nachkontrollen und der jeweiligen Genotypisierung kann das Problem eingegrenzt und die Verbesserungen können aufgezeigt werden.

Visuelle Nachkontrolle

1. Nachkontrolle der Reinigung und Desinfektion vor Arbeitsbeginn

Bei der ersten Nachkontrolle wurden Mängel in der Grundhygiene und Ordnung festgestellt.

Hauptpunkte der visuellen Kontrolle

Folgende Abweichungen wurden festgestellt:

- Tische allgemein (Arbeitsflächen, Unterseite, Schraublöcher), Metallbänder sind nicht sauber.
- Kleinmaterial, Verpackungsutensilien während der Reinigung sind nicht weggeräumt worden.
- Handtuchspender (innen, außen, Papiertücher nass), z.T. defekt und nicht sauber.
- Griff Handbrause, Druckluft, Kleinteile nicht gereinigt, nicht wie Vorgabe in Desinfektionsmittel eingelegt.
- Rollwagen mit Betriebsmaterial steht nicht sauber gereinigt in der Abteilung während der Reinigung.
- Füller (innen, Füllöffnungen, Mischarm nicht demontiert) noch Schmutzreste, da nicht demontiert.
- Kunststoffband und Walzen Linie 1 weisen Schmutzreste auf.
- Metallband Linie 1 an den Maschinenwänden und darunter Verschmutzungen.
- Halbautomaten waren nicht demontiert, Schmutzreste.

Ergebnisse

- Ordnung: Kleingerätschaften und Betriebsmaterial in der Abteilung während der Reinigung belassen (z.B. Tüllen, Folien, Einlagepapier, saubere Gebinde)
- Gummiwischer für Boden und Tische werden zusammen aufbewahrt.
- Die Reinigungszeit ist nicht ausreichend: Die Produktion beginnt, wenn die Reinigung noch nicht komplett fertig ist.

Sofort-Maßnahmen

- Die gesamte Produktionsabteilung intensiv gründlich reinigen.
- Die Arbeitstische, Metallbänder (unten, innen und oben) sauber reinigen, bei Bedarf auswechseln.
- Die defekten Handtuchspender ersetzen, die Papierhandtücher vor der Reinigung entnehmen und trocken lagern, damit die Spender gereinigt werden können.
- Die Griffe der Druckluft und diverse Kleinteile (Spritztüllen, Spatel etc.) müssen nach der Reinigung in Desinfektionsmittellösungen eingelegt werden.
- Die Rollwagen nicht mehr nur mit Wasser abspritzen, sondern in der Waschmaschine reinigen oder einzeln einschäumen und abspülen.
- Alle Füller täglich komplett demontieren inkl. Rotor, Dichtungen und Rotorplättchen und vor Arbeitsbeginn zusammenbauen.
- Alle Halbautomaten täglich demontieren und reinigen.
- Das Kunststoffband und die Walzen täglich reinigen und das Band zum Trocknen aufstellen.
- Das Metallband und die Maschinenwände reinigen. Mit der Technik eine Lösung zur Demontage suchen.
- Den Balken vom Ausrichter täglich sauber reinigen.
- Gummiwischer: Für Boden und Tische separate Aufbewahrung einrichten.
- Das Reinigungsteam wird durch 3 Mitarbeiter aus der Produktion verstärkt, damit die Zeit zur Reinigung ausreicht und die Qualität verbessert werden kann.
- Allgemeine Ordnung: Sämtliches Betriebsmaterial muss vor der Reinigung aus der Abteilung entfernt werden.
- Die Dokumentation der visuellen täglichen Reinigungskontrolle auf die spezifischen Geräte anpassen und täglich vom Betrieb vor Arbeitsbeginn ausfüllen lassen.

Ergebnisse

1. Mikrobiologische Nachkontrolle

Tab. 16: 1. Nachkontrolle der Reinigung und Desinfektion vor Arbeitsbeginn,
Sandwichabteilung

Manuelle Sandwichlinie

Mikrobiologische Entnahmestellen

- 01 Luftdruckpistole Griff (nicht eingelegt)
- 02 Gelierbecken: Mittelstange unten und Seite
- 03 Handtuchhalter innen (nass und schmutzig)
- 04 Handbrause: Griff Auslauf unten (schmutzig)
- 05 Gelatinebecken: Abdeckung außen am Rand (steht auf dem Boden)
- 06 Tisch 1: Löcher innen
- 07 Tisch 2: Rand unten innen
- 08 Tisch 4: Rand unten innen
- 09 Tisch 3: Rand unten innen
- 10 Tisch 8: Rand unten innen
- 11 Griff Handbrause am Schlauch für Boden
- 12 Kurzes Metallförderband innen Rand (schmutzig)
- 13 Metallband nach Gelieranlage innen unten
- 14 Gebinde innen (nass, stand während der Reinigung in der Sandwich-
abteilung)
- 15 Halbautomat außen Rand (Beschriftung Lachs)

Sandwichlinie 1

Mikrobiologische Entnahmestellen

- 16 Handtuchspenderausgang unten (schmutzig)
- 17 Brotband: Metall innen, unten (schmutzig)
- 18 Brotband: Metall unten innen links (schmutzig)
- 19 Bebutterungsband Gummi
- 20 Brotband: Metall unten innen rechts (schmutzig)
- 21 Kunststoffband innen rechts (schmutzig)
- 22 Füller Streichmasse: Füllrohr innen (schmutzig)
- 23 Füller Streichmasse: Gewinde mit Gummidichtung (schmutzig)
- 24 Walze Plastikband unten
- 25 Griff Handbrause (schmutzig)
- 26 Füller Dreharm (schmutzig mit Currymasse)
- 27 Füller Ausstoßrohr (schmutzig Currymasse)
- 28 Balken Ausrichter unten (schmutzig)

Ergebnisse

Tab. 17: Zusammenstellung der Proben und Auswertung der 1. Nachkontrolle

Nach Reinigung und Desinfektion (R + D)

Total Proben	positiv	positiv (%)
28	3 (<i>L. monocytogenes</i>)	10,7

Die Tabelle 17 zeigt die Resultate der 1. Nachkontrolle der Reinigung und Desinfektion vor Arbeitsbeginn. Es fällt auf, dass bei 10,7 % der Proben *L. monocytogenes* nachgewiesen werden konnte.

Tab. 18: Identifizierte positive Stellen

***L. monocytogenes* positive Entnahmestellen**

17	Metallband
18	Metallband
25	Griff Handbrause

2. Visuelle Nachkontrolle

Der 2. Rundgang zur Nachkontrolle der Reinigung und Desinfektion erfolgte innerhalb von 2 Wochen.

Hauptpunkte der visuellen Kontrolle

Resultat der Reinigungsarbeiten:

- Die Grundreinigung war durchgeführt worden und war soweit optisch in Ordnung.
- Alle Halbautomaten waren demontiert und sauber.
- Die defekten Arbeitstische waren ersetzt und die anderen sauber gereinigt.
- Das Reinigungsteam ist aufgestockt worden, aufgrund von Krankheit im Moment nur durch 2 Mitarbeiter.
- Die visuelle Kontrolle wurde durchgeführt und dokumentiert. Die Dokumentation wurde überarbeitet und verbessert.
- Sämtliches Betriebsmaterial war während der Reinigung entfernt worden.

Keine zufriedenstellende Umsetzung der bestehenden Punkte und neue Punkte

- Füller (Kunststofflamellen, Füllerausgänge) waren nicht komplett demontiert, eine saubere Reinigung war nicht durchgeführt worden.
- Die Ordnung zur Bevorratung der Geräte, Gerätschaften ist noch nicht zufriedenstellend gelöst.

Ergebnisse

- Brotband aus Metall (innen) zeigte immer noch Schmutzreste, eine gründliche Reinigung war nicht durchgeführt worden oder aufgrund der technischen Konstruktion der Linie war dies nicht möglich.
- L1 Griff Handbrause war optisch nicht sauber.
- L1 Balken Ausrichter unten, optisch nicht sauber.
- Die Rollwagen zum Transport der Gebinde waren nicht gereinigt worden.
- Die Gummiwischer werden noch nicht separat aufbewahrt.
- Neu: L1 Brotabstapler aufgeschraubt innen, war komplett verunreinigt.
- Neu: L1 Greifer unterhalb Brotabstapler war optisch nicht sauber.
- Neu: Verfügbare Werkzeuge in der Sandwichabteilung waren nicht sauber.
- Neu: Bestehende, nicht gebrauchte Steckdosen an der Linie sind schmutzig.
- Neu: Bandwaschanlage: Behälter und Deckel in geöffnetem Zustand, innen
- Neu: L4 Metalltisch unterhalb vom Kunststoffband

Sofort-Maßnahmen

- Den Brotabstapler, Greifer vonseiten Technik demontieren lassen, die Anlage dann gründlich reinigen.
- Die Bandwaschanlage (Behälter, Schläuche) aufschrauben, gründlich reinigen.
- L1 Die Steckdosen entfernen lassen, da sie nicht gebraucht werden.
- Die Rollwagenreinigung in der Waschmaschine oder durch Schäumen organisieren.
- Füller täglich komplett demontieren und reinigen.
- L1 Balken Ausrichter täglich reinigen.
- Das Brotband gründlich manuell reinigen, technische Unterstützung anfordern, da eine Demontage nicht möglich ist.
- L4 Den Metalltisch unterhalb vom Kunststoffband gründlich reinigen.
- Die verfügbaren Werkzeuge vor dem Aufräumen reinigen.
- Den Punkt: Ordnung zur Bevorratung der Geräte, Gerätschaften bearbeiten.
- Die Gummiwischer (Tisch und Boden) müssen getrennt aufbewahrt werden.

Ergebnisse

2. Mikrobiologische Nachkontrolle

Tab. 19: 2. Nachkontrolle der Reinigung und Desinfektion vor Arbeitsbeginn, Sandwichabt.
Bereitgestellte Maschinen und Geräte

Mikrobiologische Entnahmestellen

- 01 Stecker Slicer nach Reinigung
- 02 Halbautomat: Messer
- 03 Messer zum Geflügelschneiden
- 04 Füller: Kasten für Füllrohre (Schmutzreste)
- 05 Füller: Füllrohr
- 06 Schaltbrett kleiner Füller
- 07 Füller innen, ohne Rotor (Schmutzreste)
- 08 Füller: Kunststoffplättchen für Rotor
- 09 Füller: Gummidichtung und Innenfläche, wo die Dichtung aufsitzt (Schmutzreste)
- 10 Rollwagen
- 11 Rollwagen
- 12 Abdeckfolie in Sandwichabteilung

Sandwichlinie 1

Mikrobiologische Entnahmestellen

- 13 Metallband Brot (Schmutzreste)
- 14 Metallband Brot (Schmutzreste)
- 15 Greifer unterhalb vom Brotabstapler (Schmutzreste)
- 16 Sechskantset: Schmutzreste (Lebensmittel)
- 17 Brotabstapler aufgeschraubt (stark verschmutzt)
- 18 Abdeckplatte Brotstapler (stark verschmutzt)
- 19 Bandwaschanlagebehälter innen (schmieriger Belag)
- 20 Steckdose innen unterhalb der Linie (stark verschmutzt)
- 21 B-Gebinde zum Aufstellen des Bandes (Schmutzreste)
- 23 Tiefzugmaschine Verpackungsmaschine (Abdeckung Metall schmutzig)
- 24 Tiefzugmaschine (Einlegebereich) Abdeckblech
- 25 Tiefzugmaschine (Einlegebereich) Abdeckblech
- 26 Tiefzugmaschine Messer oberhalb Stanzwerkzeug (stark verschmutzt)
- 27 Tiefzugmaschine Messer unter Stanzwerkzeug (stark verschmutzt)
- 28 Tiefzugmaschine Messer unter Stanzwerkzeug (stark verschmutzt)
- 29 Wasserschlauch Griff Linie

Ergebnisse

Tab. 20: Zusammenstellung der Proben und Auswertung der 2. Nachkontrolle

Nach Reinigung und Desinfektion (R + D)

Total Proben	positiv	positiv (%)
28	5 (<i>L. monocytogenes</i>)	17,9

Die Tabelle 20 zeigt die Resultate der 2. Nachkontrolle. Es fällt auf, dass wieder *L. monocytogenes* nachgewiesen werden konnte.

Tab. 21: Identifizierte positive Stellen

***L. monocytogenes* positive Entnahmestellen**

13	Metallband
14	Metallband
15	Brotabstapler
17	Greifer
19	Bandwaschanlage: Behälter innen

3. Visuelle Nachkontrolle

Der 3. Rundgang zur Nachkontrolle der Reinigung und Desinfektion erfolgte nach der Wochenendproduktion.

Hauptpunkte der visuellen Kontrolle nach der Wochenendarbeit

Es wurde nur an 2 Linien gearbeitet.

- Füller wurden nicht komplett demontiert, keine saubere Reinigung durchgeführt.
- Sandwichlinie nicht komplett demontiert, keine saubere Reinigung durchgeführt.
- Bandwaschanlage nicht komplett demontiert, keine saubere Reinigung durchgeführt.
- Die allgemeine Ordnung (Bereitstellung der Geräte, Gerätschaften) war nicht zufriedenstellend.
- Die Reinigung der Rollwagen ist noch nicht umgesetzt.

Insgesamt zeigte die Grundreinigung am Wochenende kein zufriedenstellendes Ergebnis. Die Organisation der Reinigung am Wochenende ist anders geregelt als während der Woche. Die Reinigungsmannschaft, die während der Woche arbeitet, arbeitet nicht am Wochenende, deswegen reinigen die Mitarbeiter der Linien nach Arbeitsende selbst.

Ergebnisse

Sofort-Maßnahmen

- Beide Linien, an denen über das Wochenende gearbeitet worden ist, wurden vor Arbeitsbeginn komplett nachgereinigt.
- Die Reinigung über das Wochenende muss zwingend neu organisiert werden.

3. Mikrobiologische Nachkontrolle

Tab. 22: 3. Nachkontrolle der Reinigung und Desinfektion nach Produktion vom Wochenende vor Arbeitsbeginn, Sandwichabteilung

Bereitgestellte Maschinen und Geräte

Mikrobiologische Entnahmestellen

- 01 Füller: Mischarm (noch Schmutzreste)
- 02 Füller: Gummidichtung und darunter (Schmutzreste sichtbar), war am Wochenende nicht in Gebrauch.
- 03 Kleiner Halbautomat (Aufschnittmaschine): Messer (Schmutzreste waren sichtbar)
- 04 Türknauf: Eingang Sandwichabteilung, innen und außen
- 05 Geflügelfleischschneider: Messer (Schmutzreste vom Wochenende sichtbar)
- 06 Dosenöffner (schmutzig)
- 07 Dreipunktfüller: Gummirohr (sichtbare Schmutzreste)
- 08 Schaufel im Desinfektionsmittelbad (sichtbare Schmutzreste)

Sandwichlinie 1 (L1)

Mikrobiologische Entnahmestellen

- 09 Metallband innen (sieht sauber aus)
- 10 Abdeckgriff beim Brotgreifer
- 11 Bandwaschanlage: Rohr innen für sauberes Wasser (schmutzig)
- 12 Bandwaschmaschine: Gummirohr innen für Schmutzwasser (schmutzig)
- 13 Ultraschallmesser
- 14 Brotabstapler innen (Schmutzreste)

Sandwichlinie 2 (L2) (am Wochenende in Benützung)

Mikrobiologische Entnahmestellen

- 15 Metallband (Glieder sind schmutzig)
- 16 Brotgreifer (Schmutzreste)
- 17 Bandreinigung: Schmutzwasserauslauf (schmutzig)
- 18 Bandreinigung: Behälter innen (schmutzig)

Ergebnisse

- 19 Kistenablage oberhalb Linie (Schmutzreste)
- 20 Bandreinigung: Blech unter Linie (schmutzig)
- 21 Ultraschallmesser
- 22 Band unterhalb Ultraschallmesser (schmutzig)

Linie 4 (L4)

Mikrobiologische Entnahmestellen

- 23 Kunststoffförderband
- 24 Tiefzugmaschine: Einlegebereich (schmutzig)
- 25 Metall unter Kunststoffförderband
- 26 Steckdose (schmutzig)
- 27 Wasserschlauch: Stopper
- 28 Griff Ketchuptank

Tab. 23: Zusammenstellung der Proben und Auswertung der 3. Nachkontrolle

Nach Reinigung und Desinfektion (R + D)

Total Proben	positiv	positiv (%)
28	4 (<i>L. monocytogenes</i>)	14,3

Die Tabelle 23 zeigt die Resultate der 3. Nachkontrolle nach Reinigung und Desinfektion vor Arbeitsbeginn. Es fällt auf, dass in den Gerätschaften und Umfeld wieder *L. monocytogenes* nachgewiesen werden konnte.

Tab. 24: Identifizierte positive Stellen

***L. monocytogenes* positive Entnahmestellen**

- 09 L1 Metallband innen (optisch sauber) Genotyp A
- 14 L1 Brotabstapler, Genotyp A
- 25 L4 Metall unter Kunststoffband, Genotyp A
- 27 Gummistopper Wasserschlauch, Genotyp C

Ergebnisse

4. Visuelle Nachkontrolle

Der 4. Rundgang zur Nachkontrolle der Reinigung und Desinfektion erfolgte in derselben Woche nach der Kontrolle der Wochenendproduktion.

Hauptpunkte der visuellen Kontrolle

Resultat der Reinigungsarbeiten

- Der allgemeine visuelle Eindruck bzgl. Sauberkeit und Ordnung war zufriedenstellend.
- Die Halbautomaten waren alle visuell sauber.
- Alle Teile der Dreipunktfüller waren in Desinfektionsmittel eingelegt und sauber.
- Visuell waren alle Transportbänder inkl. die aus Metall, sauber.
- Der Balkenausrichter war sauber gereinigt.
- L4 Der Metalltisch unterhalb vom Kunststoffband war sauber.

Keine zufriedenstellende Umsetzung der bestehenden Punkte

- Die Füller waren demontiert, nicht aber die Dichtungsringe, unter denen Schmutzreste geblieben sind.
- Bandreinigungsbehälter, Schraub- und Rohrverbindungen sind nicht komplett demontiert worden, es war keine saubere Reinigung durchgeführt worden.
- Die Reinigung der Rollwagen ist nicht durchgeführt worden.
- L1 Unterhalb vom Metallband sind immer noch sichtbare Schmutzreste. Ohne technische Unterstützung ist keine Reinigung möglich.
- Die Gummiwischer sind immer noch nicht getrennt aufbewahrt.
- L1 Die Steckdosen sind noch nicht demontiert.

Sofort-Maßnahmen

- Bandwaschanlage: Die Demontage von allen Schraubverbindungen und Leitungen ist mit der Technik zu planen. Ein technischer Support ist notwendig, da die Demontage der verschiedenen Teile (Brotabstapler, Greifer) nicht von den Mitarbeitern durchgeführt werden kann. Die Zeit zum Aus- und Einbau muss in der Produktion eingeplant werden.
- Die Demontage des Brotabstaplers, Greifers und der Metallbänder ist mit der Technik geplant. Es ist zusätzlich geplant, die Linie zugänglich zu machen und innerhalb der Produktion organisiert.
- Die Reinigung der Rollwagen ist noch nicht organisiert.
- Der Punkt Ordnung zur Bevorratung der Geräte, Gerätschaften ist nicht zufriedenstellend gelöst.

Ergebnisse

- L1 Die Steckdosen sind noch nicht entfernt.
- Die Gummiwischer (Tisch und Boden) werden immer noch zusammen aufbewahrt.

4. Mikrobiologische Nachkontrolle

Die 4. mikrobiologische Nachkontrolle der Reinigung und Desinfektion erfolgte in derselben Woche nach der Kontrolle der Wochenendproduktion der Reinigung und Desinfektion vor Arbeitsbeginn, Sandwichabteilung

Tab. 25: Die 4. mikrobiologische Nachkontrolle der Reinigung und Desinfektion erfolgte in derselben Woche nach der Kontrolle der Wochenendproduktion der Reinigung und Desinfektion vor Arbeitsbeginn, Sandwichabteilung

Abstriche

Bereitgestellte Maschinen und Geräte

Mikrobiologische Entnahmestellen

- 01 Räder Rollwagen (schmutzig)
- 02 Füller: Mischarm (Schmutzreste) war nicht ausgebaut

Sandwichlinie 1

Mikrobiologische Entnahmestellen

- 05 Bandwaschanlage: Rohr außen und Düsen
- 06 Handgriff Brause

Sandwichlinie 2

Mikrobiologische Entnahmestellen

- 03 Bandwaschanlage: Arm oberhalb Düsen (Belag, nicht sauber)
- 04 Bandwaschanlage: Rohr außen und Düsen
- 07 Bandwaschanlage: Rohr innen von den Düsen (Belag, nicht sauber)

Sandwichabteilung

Mikrobiologische Entnahmestellen

- 08 Griff Ketchuptank (verschmutzt)
- 09 Verlängerungskabel (Schrank)
- 10 Boden Kühlhaus

Ergebnisse

OG Kutter- und Slicerraum

Mikrobiologische Entnahmestellen

11	Fläche unter Slicermesser (Slicermesser ausgebaut)
12	Slicermesser (nicht sauber, Schmierbelag)
13	Einlegebereich Slicer (nicht sauber)
14	Blech Slicer: Übergang Schneiden auf Transportband
15	Kutter: Schüsselrand unten (verschmutzt)
16	Slicerband in Gebinde

Tab. 26: Zusammenstellung der Proben und Auswertung der 4. Nachkontrolle

Nach Reinigung und Desinfektion (R + D)

Total Proben	positiv	positiv (%)
16	3 (<i>L. monocytogenes</i>)	18,8

Die Tabelle 26 zeigt die Resultate der 4. Nachkontrolle nach Reinigung und Desinfektion vor Arbeitsbeginn. Es fällt auf, dass wieder *L. monocytogenes* nachgewiesen werden konnte.

Tab. 27: Identifizierte positive Stellen

L. monocytogenes positive Entnahmestellen

09	Verlängerungskabel (Schrank), Genotyp A
10	Boden Kühlhaus, Genotyp C
16	Slicerband in Gebinde, neuer Genotyp

Die 5. Nachkontrolle nach dem Wochenende und vor dem Arbeitsbeginn - nach Reinigung und Desinfektion ergab folgende Resultate:

5. Visuelle Nachkontrolle

Der 5. Rundgang zur Nachkontrolle der Reinigung und Desinfektion erfolgte wieder nach der Wochenendproduktion, umfasste aber die gesamte Abteilung nicht nur die am Wochenende benutzten Linien und Maschinen.

Ergebnisse

Hauptpunkte der visuellen Kontrolle

Resultat der Reinigungsarbeiten

- Die beiden Linien, an denen am Wochenende gearbeitet worden ist, waren sauber.
- Die Gummiwischer werden separat aufbewahrt und sind farblich zu den anderen Abteilungen gekennzeichnet.

Keine zufriedenstellende Umsetzung der bestehenden Punkte

- Füller: Der Dichtungsring war zum Reinigen nicht entfernt worden, eine saubere Reinigung war nicht durchgeführt worden.
- Bandreinigungswaschanlage: Weist visuell immer noch große Mängel auf. Komplette Demontage der Anlage vonseiten der Technik ist zwingend notwendig.
- Rollwagen sind nicht gereinigt worden.
- Gummistopper der Reinigungsschläuche waren nicht sauber gereinigt.

Sofort-Maßnahmen

- Bandwaschanlage: Die Demontage von allen Schraubverbindungen und Leitungen ist mit der Technik geplant und wird durchgeführt.
- Der Zugang des Brotabstaplers, Greifers und der Metallbänder wird vonseiten der Technik modifiziert, sodass die Reinigungssequipe reinigen kann. Eine Grundreinigung ist mit der Technik und dem Betrieb organisiert.
- Die Reinigung der Rollwagen muss organisiert werden.
- Für die Gummistopper der Wasserschläuche muss eine andere Lösung gefunden werden. Die Verschraubungen können nicht sauber gereinigt werden.
- Der qualitative Unterschied der Wochenendreinigung zur Wochenreinigung muss behoben werden.

5. Mikrobiologische Nachkontrolle

Tab. 28: 5. Nachkontrolle (am Wochenende) nach der Reinigung und Desinfektion und vor Arbeitsbeginn, Sandwichabteilung

Bereitgestellte Maschinen und Geräte

Mikrobiologische Entnahmestellen

10 Füller: Dichtungsring mit Schmutzresten vom Freitag

Ergebnisse

Sandwichlinie 1

Mikrobiologische Entnahmestellen

- 01 Bandwaschanlage: Wasserbehälter Filter innen
- 02 Bandwaschanlage: Wasserbehälter innen Stopfen
- 03 Bandwaschanlage: Wasserbehälter innen Messingteil mit Schimmel
- 04 Metallband Brot
- 06 Bandwaschanlage: Schublade unter Band Rohrausgang geöffnet
- 08 Bandwaschanlage: Schublade unter Band Rohr innen (Düsen)

Sandwichlinie 2

Mikrobiologische Entnahmestellen

- 05 Bandwaschanlage: Zwischenraum unterhalb Motor
- 07 Bandwaschanlage: Schublade unter Band Rohrausgang geöffnet

Sandwichabteilung

Mikrobiologische Entnahmestellen

- 08 Schrankunterseite

Tab. 29: Zusammenstellung der Proben und Auswertung der 5. Nachkontrolle

L. monocytogenes positive Entnahmestelle

Nach Reinigung und Desinfektion (R + D)

Total Proben	positiv	positiv (%)
10	0 (<i>L. monocytogenes</i>)	0,0

Die Tabelle 29 zeigt die Resultate der 5. Nachkontrolle nach Reinigung und Desinfektion vor Arbeitsbeginn. Weder bei den Gerätschaften noch im Umfeld konnte *L. monocytogenes* nachgewiesen werden.

Keine identifizierten positiven Stellen.

Ergebnisse

6. Visuelle Nachkontrolle

Die 6. Nachkontrolle nach dem Wochenende, aber vor Arbeitsbeginn und nach Reinigung und Desinfektion ergab folgende Resultate

Hauptpunkte der visuellen Kontrolle

Resultat der Reinigungsarbeiten

- Der Brotabstapler und die Greifer waren gründlich gereinigt worden und optisch sauber.
- Bei der Bandwaschanlage waren sämtliche Schläuche ersetzt. Die komplette Demontage hat nicht stattgefunden.
- Die Rollwagen waren alle in der Waschmaschine gereinigt worden.
- Sämtliche Halbautomaten waren optisch sauber.
- Alle Dreipunktfüller waren sauber.
- Der optische Eindruck der Abteilung war sehr gut.

Keine zufriedenstellende Umsetzung der bestehenden Punkte

- Füller waren demontiert, nicht aber alle Dichtungsringe, unter denen Schmutzreste geblieben sind (Wochenendreinigung).
- Metallband L1 und L2: Die Schmutzreste unterhalb den Metallbändern, die sich aber oberhalb vom Motor der Linie befinden, können ohne technische Unterstützung (Ausbau des Motors oder Demontage des Bandes) nicht entfernt werden. Die Lösung muss mit der Technik gefunden werden.
- Bandreinigungsbehälter, Schraub- und Rohrverbindungen sind nicht komplett demontiert worden, es war keine saubere Reinigung durchgeführt worden.
- Die am Wochenende benutzten Maschinenteile der Dreipunktfüller müssen auch nach der Reinigung in Desinfektionsmittel eingelegt werden
- Der qualitative Unterschied der Wochenendreinigung zur Wochenreinigung muss behoben werden.

Sofort-Maßnahmen

- Die Bandwaschanlage ist komplett mit Pumpe, Motor und Schraubverbindungen zu demontieren.
- Die Metallbänder müssen entweder demontierbar gemacht oder aber ein Ausbau des Motors der Linie mit der Technik geprüft werden. Die Schmutzreste lassen sich so nicht entfernen und eine gründliche Reinigung ist unmöglich.
- Die Maschinenteile der Dreipunktfüller müssen immer nach der Reinigung in Desinfektionsmittellösung eingelegt werden, auch am Wochenende.

Ergebnisse

- Die Reinigung am Wochenende muss verbessert werden. Schulung der Mitarbeiter zum Reinigungsvorgang und Nachkontrollen vonseiten der Abteilungsleiter durchführen.

6. Mikrobiologische Nachkontrolle

Tab. 30: 6. Nachkontrolle der Reinigung und Desinfektion vor Arbeitsbeginn, Sandwichabteilung

Bereitgestellte Maschinen/Geräte

Mikrobiologische Entnahmestellen

- | | |
|----|---|
| 01 | Füller: Dichtungsring |
| 02 | Füller Rotor-Innenraum |
| 09 | Schaufel (in Desinfektionsmittellösung) |
| 10 | Rollwagen nach Waschmaschine |
| 14 | Halbautomat: Messer |
| 15 | Halbautomat 2: Zwischenraum bei fehlender Silikondichtung |
| 16 | Messer für Geflügelfleisch |
| 17 | Kolben vom Dreipunktfüller |
| 18 | kleines mobiles Förderband in Kiste |
| 19 | Kolben Dreipunktfüller |

Reinigungsraum

Mikrobiologische Entnahmestellen

- | | |
|----|---|
| 03 | Füller: Öffnung für Abdrehgerät |
| 04 | Füller: Rille für Dichtung (war hier entfernt) |
| 05 | Füller: Mischarm (war ausgebaut und visuell sauber) |
| 06 | Füller: Auslauf zum Vakuum |
| 07 | Füller: Rotor-Innenraum |
| 08 | Füller: Kunststoffplatten (lagen nach der Reinigung in schmutzigem Gebinde) |
| 11 | Handschuhhalterung |
| 12 | Handschuhe (während der Reinigung in Halterung verblieben) |
| 13 | Gummistopper Wasserschlauch |

Manuelle Sandwichproduktion

Mikrobiologische Entnahmestellen

- | | |
|----|------------------------------------|
| 20 | Handschuhe |
| 21 | Luftdruckpistole (nicht eingelegt) |

Ergebnisse

Sandwichlinie 1

Mikrobiologische Entnahmestellen

- 22 Handtuchspender 1 (leichte Schmutzreste)
- 23 Handtuchspender 2 (visuell sauber)
- 24 Griff Handbrause (Schmutzreste sichtbar)
- 25 Schlauch Handbrause
- 26 Metallband (Schmutzreste, aber Reinigung unmöglich)
- 27 Metallband (visuell sauber)
- 28 Metallband (Schmutzreste, aber Reinigung unmöglich)
- 29 Brotabstapler: Deckel innen (optisch sauber), komplett gereinigt
- 30 Brotabstapler: Behälter innen (optisch sauber), komplett gereinigt
- 31 Brotabstapler: Greifer, komplett gereinigt
- 32 Förderband
- 33 Bandwaschanlage: Schublade unter Band Rohr innen (Düsen, Schmutzreste, ungereinigt)
- 34 Bandwaschanlage: Wasserbehälter Filter innen (Schmutzreste, ungereinigt)
- 35 Bandwaschanlage: Wasserbehälter innen Gummischwimmer (Schmutzreste)
- 36 Bandwaschanlage: Wasserbehälter innen Messingteil
- 37 Bandwaschanlage: Frischwasserbehälter Auslauf
- 38 Gitterband weiß

Sandwichlinie 2

Mikrobiologische Entnahmestellen

- 39 Metallband
- 40 Greifer
- 41 Förderband
- 42 Bandwaschanlage: Gummischwimmer
- 43 Bandwaschanlage: Schublade unter Band Rohr innen (Düsen, Schmutzreste, ungereinigt)
- 44 Bandwaschanlage: Frischwasserbehälter Auslauf
- 45 Boden: Abflusssrinne zwischen L1 und L2
- 46 Boden: Abflusssrinne zwischen L1 und L2
- 47 Boden zwischen L1 und L2
- 48 Brotabstapler innen, komplett gereinigt
- 49 Brotabstapler Deckel innen, komplett gereinigt

Ergebnisse

50	Gummiwischerblatt
51	Gummistopper Wasserschlauch
52	Wasserschlauch
53	Tisch: Loch

Linie 4

Mikrobiologische Entnahmestellen

54	Metall unter Förderband
55	Handtuchspender

Tab. 31: Zusammenstellung der Proben und Auswertung der 6. Nachkontrolle

Nach Reinigung und Desinfektion (R + D)

Total Proben	positiv	positiv (%)
55	3 (<i>L. monocytogenes</i>)	5,5

Die Tabelle 31 zeigt die Resultate der 6. Nachkontrolle nach Reinigung und Desinfektion vor Arbeitsbeginn. Es fällt auf, dass bei den Gerätschaften und im Umfeld wieder *L. monocytogenes* nachgewiesen werden konnte.

Tab. 32: Identifizierte positive Stellen

L. monocytogenes positive Entnahmestellen

13	Gummistopper Wasserschlauch L2
26	Metallband (Schmutzreste, Reinigung ohne technische Unterstützung nicht möglich) L1
28	Metallband (Schmutzreste, Reinigung ohne technische Unterstützung nicht möglich) L1

7. Visuelle Nachkontrolle

Die 7. Nachkontrolle (während der Woche) vor Arbeitsbeginn nach Reinigung und Desinfektion ergab folgende Resultate

Hauptpunkte der visuellen Kontrolle

Resultat der Reinigungsarbeiten

- Der visuelle Eindruck der Abteilung war gut

Es waren keine Sofort-Maßnahmen notwendig.

Ergebnisse

7. Mikrobiologische Nachkontrolle

Tab. 33: 7. Nachkontrolle der Reinigung und Desinfektion vor Arbeitsbeginn, Sandwichabteilung

Bereitgestellte Maschinen/Geräte

Mikrobiologische Entnahmestellen

20 Füller

Manuelle Sandwichproduktion

Mikrobiologische Entnahmestellen

- 01 Gitterband nach Gelieranlage, seitliche Bleche, Innenseite
- 02 Tisch Nr. 7 Unterseite
- 03 Förderband an der Wand, seitliche Bleche, Innenseite
- 04 Gelieranlage
- 05 Tisch Nr. 6, Unterseite
- 06 Tisch Nr. 4, Unterseite
- 07 Tisch Nr. 2, Metall, Unterseite

Linie 1

Mikrobiologische Entnahmestellen

- 08 Brotabstapler Transportkette, Bleche
- 09 Brotabstapler: Greifer
- 10 Bandwaschanlage: Stehender Zylinder Innenseite
- 11 Bandwaschanlage: Gefäß mit Schwimmer
- 12 Förderband lang: Achsen am Ende

Diverses

Mikrobiologische Entnahmestellen

- 13 Gummistopper Wasserschlauch Linie 2

Ergebnisse

Linie 2

Mikrobiologische Entnahmestellen

14	Brotabstapler: Transportkette/Bleche
15	Brotabstapler: Greifer
16	Bandwaschanlage: Stehender Zylinder, Innenseite
17	Bandwaschanlage: Gefäß mit Schwimmer
18	Förderband lang: Achsen am Ende
19	Abflussrinne zwischen Linie 1 und 2

Tab. 34: Zusammenstellung der Proben und Auswertung der 7. Nachkontrolle

Nach Reinigung und Desinfektion (R + D)

Total Proben	positiv	positiv (%)
20	3 (<i>L. monocytogenes</i>)	15,0

Die Tabelle 34 zeigt die Resultate der 7. Nachkontrolle nach Reinigung und Desinfektion vor Arbeitsbeginn. Es fällt auf, dass in den Gerätschaften und im Umfeld wieder *L. monocytogenes* nachgewiesen werden konnte.

Tab. 35: Identifizierte positive Stellen

Listeria monocytogenes positive Entnahmestellen

08	Brotabstapler: Transportkette/Bleche
10	Bandwaschanlage: stehender Zylinder, Innenseite
19	Abflussrinne Linie 1/2

8. Visuelle Nachkontrolle

Die 8. Nachkontrolle (während der Woche) vor Arbeitsbeginn nach Reinigung und Desinfektion ergab folgende Resultate

Hauptpunkte der visuellen Kontrolle

Resultat der Reinigungsarbeiten

- Alle bereitgestellten Maschinen/Geräte waren optisch sauber.
- Manuelle Sandwichabteilung: alle Arbeitsgeräte / Maschinen / Tische waren sauber.
- Die Linien 1 - 4 waren, mit einer Ausnahme Linie 1, alle optisch sauber.
- Sämtliche Rollwagen werden in der Waschmaschine nach Gebrauch gewaschen.

Ergebnisse

Keine zufriedenstellende Umsetzung der bestehenden Punkte

- Manuelle Sandwichabteilung: Der Boden, der zur Wand zugeht, weist Schmutzreste auf.
- Linie 1: Der Greifer am Brotabstapler weist Schmutzreste auf.
- Manuelle Sandwichabteilung: Die Handschuhe und Handtücher verblieben während der Reinigung in der Abteilung.

Sofort-Maßnahmen

- Nachreinigung der oben genannten Punkte vor Arbeitsaufnahme.

8. Nachkontrolle der Reinigung und Desinfektion vor Arbeitsbeginn, Sandwichabteilung

Tab. 36: Zusammenstellung der Proben und Auswertung der 8. Nachkontrolle

Nach Reinigung und Desinfektion (R + D)

Total Proben	positiv	positiv (%)
20	3 (<i>L. monocytogenes</i>)	15,0

Die Tabelle 36 zeigt die Resultate der 8. Nachkontrolle nach Reinigung und Desinfektion vor Arbeitsbeginn. Es fällt auf, dass in den Gerätschaften und im Umfeld wieder *L. monocytogenes* nachgewiesen werden konnte.

9. Mikrobiologische Nachkontrolle

Tab. 37: 9. Nachkontrolle der Reinigung und Desinfektion vor Arbeitsbeginn, Sandwichabteilung

Bereitgestellte Maschinen und Geräte

Mikrobiologische Entnahmestellen

01	Rollwagen vor der Abteilung
16	Butterzuführer: Band und Spachtel
17	Slicer (nur für Lachs): Sammelprobe
18	Füller: Sammelprobe
21	Kaltsaucen: Verbindungsrohr Homogenisator
22	Kaltsaucen: Homogenisator unten

Reinigungsraum

Mikrobiologische Entnahmestellen

19	Abflussrinne
20	Wasserstopper, Wasserschlauch

Ergebnisse

Manuelle Sandwichproduktion

Mikrobiologische Entnahmestellen

- 04 Tisch Nr. 1, Unterseite (Schmutzreste sichtbar)
- 05 Tisch Nr. 6, Unterseite
- 06 Boden unter Partybrotlinie (Schmutzreste sichtbar)
- 07 Förderband manuelle Sandwichabteilung
- 08 Bodenrinne manuelle Sandwichabteilung

Linie 1

Mikrobiologische Entnahmestellen

- 03 Bandwaschanlage (lose Teile)
- 09 Metallbrotband bei Motor
- 10 Brotgreifer (Schmutzreste sichtbar)
- 11 Fotozelle oberhalb Belegeband
- 12 Bandwaschanlage: Behälter
- 14 Metallbrotband: vorne, unten

Linie 2

Mikrobiologische Entnahmestellen

- 02 Bandwaschanlage
- 13 Metallbrotband bei Motor, vorne, unten

Diverses

Mikrobiologische Entnahmestellen

- 15 Abflussrinne zwischen Linie 1 und 2, nahe Ultraschneider

9. Nachkontrolle der Reinigung und Desinfektion vor Arbeitsbeginn, Sandwichabteilung

Tab. 38: Zusammenstellung der Proben und Auswertung der 9. Nachkontrolle

Nach Reinigung und Desinfektion (R + D)

Total Proben	positiv	positiv (%)
22	0 (<i>L. monocytogenes</i>)	0,0

Die Tabelle 39 zeigt die Resultate der 9. Nachkontrolle nach Reinigung und Desinfektion vor Arbeitsbeginn. Weder in den Gerätschaften noch im Umfeld konnte *L. monocytogenes* nachgewiesen werden.

Ergebnisse

10. Visuelle Nachkontrolle

Die 10. Nachkontrolle (unter der Woche) vor Arbeitsbeginn nach Reinigung und Desinfektion ergab folgende Resultate

Hauptpunkte der visuellen Kontrolle

Resultat der Reinigungsarbeiten

- Alle bereitgestellten Maschinen / Geräte, Linien: Schwachpunkte s. unten, waren optisch sauber.

Keine zufriedenstellende Umsetzung der bestehenden Punkte

- Bandwaschanlage: Wasserbehälter mit Schwimmer
- Band-Übergang zum Ultraschneider: leichter Belag feststellbar

Sofort-Maßnahmen

- Beide festgestellten Schwachpunkte wurden nachgereinigt.

10. Mikrobiologische Nachkontrolle

Tab. 39: Zusammenstellung der Proben und Auswertung der 10. visuellen Nachkontrolle

Bereitgestellte Maschinen und Geräte

Mikrobiologische Entnahmestellen

01	Rollwagen
15	Slicer Auslaufbänder (Sammelprobe)
16	Füller
17	Füller

Manuelle Sandwichproduktion

Mikrobiologische Entnahmestellen

02	Gitterband manuelle Sandwichabteilung
13	Tisch Nr. 5, Unterseite

Ergebnisse

Linie 1

Mikrobiologische Entnahmestellen

- 04 Metallbrotband oben
- 05 Metallbrotband unten
- 06 Brotabstapler: Greifer
- 07 Bandwaschanlage: stehender Zylinder innen
- 08 Bandwaschanlage: viereckiger Behälter
- 09 Gitterband weiß

Linie 2

Mikrobiologische Entnahmestellen

- 10 Ultraschneider Messer
- 11 Bandwaschanlage: viereckiger Behälter
- 12 Bandwaschanlage: stehender Zylinder
- 14 Brotmetallband

Diverses

Mikrobiologische Entnahmestellen

- 13 Abflusssrinne zwischen Linie 1 und 2

10. Nachkontrolle der Reinigung und Desinfektion vor Arbeitsbeginn, Sandwichabteilung

Tab. 40: Zusammenstellung der Proben und Auswertung der 10. Nachkontrolle

Nach Reinigung und Desinfektion (R + D)

Total Proben	positiv	positiv (%)
17	0 (<i>L. monocytogenes</i>)	0,0

Die Tabelle 40 zeigt die Resultate der 10. Nachkontrolle nach Reinigung und Desinfektion vor Arbeitsbeginn. Weder in den Gerätschaften noch im Umfeld konnte *L. monocytogenes* nachgewiesen werden.

11. Visuelle Nachkontrolle

Die 11. Nachkontrolle (am Wochenende) nach Reinigung und Desinfektion ergab die folgenden Resultate.

Ergebnisse

Hauptpunkte der visuellen Kontrolle

Resultat der Reinigungsarbeiten

- Die Maschinen und Geräte sowie Linien sahen visuell sauber aus.
- Sämtliche Slicer, Dreipunktfüller, Butterzuführer, Füller wurden demontiert.
- Alle Brotabstapler wurden aufgeschraubt und sahen visuell sauber aus.
- Alle Gerätschaften, Teile der Maschinen waren in Desinfektionsmittellösung eingelegt.

Keine zufriedenstellende Umsetzung der bestehenden Punkte

- Der Wasserstopper im Reinigungsraum ist immer noch nicht ausgewechselt.
- Füller: Der Füllarm war von der Freitagereinigung nicht sauber gereinigt worden (Schmutzreste sichtbar).
- Der Dichtungsring vom Füller (Schmutzreste sichtbar).
- Füller: Kunststoffstopfen (Schmutzreste sichtbar).
- Füller: Deckel vom Rotor (Schmutzreste sichtbar)
- Slicer der manuellen Sandwichproduktion war ungereinigt vom Freitag.
- Brotkrümel auf Linie 1 auf dem Motorkasten unterhalb vom Metallbrotband.

Sofort-Maßnahmen

- Sämtliche Geräte / Maschinen wurden sofort nachgereinigt.
- Der Wasserstopper muss ausgewechselt werden.

11. Mikrobiologische Nachkontrolle

Tab. 41: Zusammenstellung der Proben und Auswertung der 11. mikrobiologischen Nachkontrolle

Reinigungsraum

Mikrobiologische Entnahmestelle

01 Gummistopper Wasserschlauch

Bereitgestellte Maschinen und Geräte

Mikrobiologische Entnahmestelle

02 Slicer Nr. 3

03 Slicer Nr. 4 (Messer leicht verschmutzt)

04 Slicer Nr. 5

05 Slicer Nr. 1 (nur für Lachs)

06 Slicer Nr. 1 Zuführfläche

Ergebnisse

- 07 Slicer Nr. 4 (nach Nachreinigung)
- 08 Füller: Vertiefung für den Dichtungsring
- 09 Füller: Deckel vom Rotor (leichte Verschmutzung sichtbar)
- 10 Füller: Füllarm (leichte Verschmutzung sichtbar)
- 11 Füller: Luftfilter
- 12 Füller: Trichter
- 13 Dreipunktfüller 1: Auslauf
- 14 Dreipunktfüller 2: Auslauf
- 15 Dreipunktfüller 2: Vertiefung für den Dichtungsring
- 16 Dreipunktfüller 2: Auslaufstutzen
- 17 Dreipunktfüller 1: Lochplatten
- 18 Butterzuführer: Walze glatt
- 19 Butterzuführer: Walze geriffelt
- 20 Butterzuführer: Kunststoffband
- 21 Schaufel
- 22 Dreipunktfüller 3: Füllrohr innen
- 23 Dreipunktfüller 3: Schlauch innen
- 24 Füller: Rotor innen
- 25 Füller: Gummidichtung (leichte Verschmutzung sichtbar)
- 26 Messer: Messerklinge
- 27 Slicer für manuelle Sandwichabteilung (Schmutzreste sichtbar)
- 28 Butterzuführer: Blaues Kunststoffband
- 29 Füller: Stopfen (leichte Verschmutzung sichtbar)
- 30 Füller: Rohrverbindung
- 31 weißes Gitterband
- 32 Messer für Geflügelfleisch

Linie 1

Mikrobiologische Entnahmestelle

- 33 Handgriff Brause
- 34 Brotabstapler geöffnet: innen
- 35 Brotabstapler geöffnet: Deckel innen
- 36 Metallband 2. Teil Richtung Greifer, an der Seite innen
- 37 Metallband 2. Teil Richtung Greifer von unten
- 38 Brotabstapler: Greifer
- 39 Metallband 1. Teil, an der Seite innen

Ergebnisse

- 40 Metallband 1. Teil an der Seite innen
- 41 Unter dem Metallband auf dem Motor (leichte Verschmutzung sichtbar)
- 42 Metallband 1. Teil Kette
- 43 Bandwaschanlage: Düsenleiste oben
- 44 Bandwaschanlage: Düsenleiste unterhalb Förderband
- 45 Bandwaschanlage: Düsenleiste in der Schublade
- 46 Bandwaschanlage: Filter
- 47 Kunststoffband
- 48 Ultraschallmesser
- 49 Plastikbänder unterhalb Ultraschallmesser
- 50 Weißes Gitterband

Linie 2 (am Sonntag in Gebrauch)

Mikrobiologische Entnahmestelle

- 52 Ultraschallmesser
- 53 Blaues Kunststoffband
- 54 Bandwaschanlage: Düsenleiste in der Schublade
- 55 Bandwaschanlage: Bürste zum Reinigen der Rohrverbindungen
- 56 Bandwaschanlage: Düsenleiste unterhalb Förderband
- 57 Plastikbänder unterhalb Ultraschallmesser
- 58 Griff Luftschlauch
- 59 Metallband 2. Teil Richtung Greifer
- 60 Brotabstapler geöffnet: innen
- 61 Brotabstapler geöffnet: Deckel innen
- 62 Metallband 1. Teil innen an der Seite
- 63 Brotabstapler: Greifer
- 64 Metallband Glieder
- 65 Weißes Gitterband (leichte Verschmutzungen sichtbar)

Linie 4

Mikrobiologische Entnahmestelle

- 66 Metall unter Kunststoffband

Ergebnisse

Diverses

Mikrobiologische Entnahmestelle

51	Abflussrinne zwischen 1 und 2
67	Gummistreifer
68	Schrank: Verlängerungskabel rot
69	Schrank: Verlängerungskabel schwarz
70	Ausgang Hygiene-Schleuse: Borsten der Bürste
71	Ausgang Hygiene-Schleuse: Rohr in der Schleuse
72	Ausgang Hygiene-Schleuse: Bürstenhalter
73	Boden zwischen Linie 1 und 2
74	Ausgang Hygiene-Schleuse: Bürsten nach Reinigung
75	Bürstenwelle: Löcher innen

11. Nachkontrolle der Reinigung und Desinfektion vor Arbeitsbeginn, Sandwichabteilung

Tab. 42: Zusammenstellung der Proben und Auswertung der 11. Nachkontrolle

Nach Reinigung und Desinfektion (R + D)		
Total Proben	positiv	positiv (%)
75	0 (<i>L. monocytogenes</i>)	0,0

Die Tabelle 42 zeigt die Resultate der 11. Nachkontrolle nach Reinigung und Desinfektion vor Arbeitsbeginn. Weder in den Gerätschaften noch im Umfeld konnte *L. monocytogenes* nachgewiesen werden.

12. Mikrobiologische Nachkontrolle

Tab. 43: Zusammenstellung der Proben und Auswertung der 12. mikrobiologischen Nachkontrolle

Reinigungsraum

Mikrobiologische Entnahmestelle

11	Wasserstopper Schlauch
----	------------------------

Ergebnisse

Bereitgestellte Maschinen und Geräte

Mikrobiologische Entnahmestelle

- 01 Slicer Nr. 1 (nur für Lachs)
- 02 Slicer Nr. 4 (Sammelprobe)
- 03 Slicer Nr. 5 (Sammelprobe)
- 06 Füller (Sammelprobe)
- 07 Butterzuführer (Sammelprobe)
- 08 Butterzuführer (Sammelprobe)
- 10 Füller (Sammelprobe)

Linie 1 (Reinigung Freitag, nicht in Gebrauch am Wochenende)

Mikrobiologische Entnahmestelle

- 05 Brotabstapler: Greifer
- 09 Butterzuführer (Sammelprobe)
- 13 Brotabstapler
- 14 Bereich Ultraschallmesser (Sammelprobe)
- 15 Bandwaschanlage (Sammelprobe)
- 16 Brotabstapler
- 17 Förderband lang
- 18 Bandwaschanlage (Sammelprobe)
- 19 Bereich Ultraschallmesser (Sammelprobe)
- 20 Bereich Ultraschallmesser (Sammelprobe)
- 21 Gitterband weiß

Linie 2 (Reinigung Sonntag)

Mikrobiologische Entnahmestelle

- 04 Brotabstapler: Greifer
- 22 Brotabstapler
- 23 Brotabstapler: Bereich Kette
- 24 Brotabstapler Bereich Gummibänder
- 25 Förderband
- 26 Bandwaschanlage (Sammelprobe)
- 27 Bandwaschanlage (Sammelprobe)
- 28 Bereich Ultraschallmesser (Sammelprobe)
- 29 Bereich Ultraschallmesser (Sammelprobe)
- 30 Gitterband weiß

Ergebnisse

Diverses

Mikrobiologische Entnahmestelle

- 12 Boden und Abflusssrinne Linie 1 und 2
- 31 Schlauchbeutelanlage Förderband lang
- 32 Schlauchbeutelanlage Förderband kurz
- 33 Wasserschlauch zwischen Linie 1 und 2 (nicht an der Reinigungsstation)
- 34 Ausgang Hygiene-Schleuse: Bürste

12. Nachkontrolle der Reinigung und Desinfektion der Produktion vom Wochenende und vom Freitag, Sandwichabteilung

Tab. 44: Zusammenstellung der Proben und Auswertung der 12. Nachkontrolle

Nach Reinigung und Desinfektion (R + D)		
Total Proben	positiv	positiv (%)
34	0 (<i>L. monocytogenes</i>)	0,0

Die Tabelle 44 zeigt die Resultate der 12. Nachkontrolle nach Reinigung und Desinfektion vor Arbeitsbeginn. Weder in den Gerätschaften noch im Umfeld konnte *L. monocytogenes* nachgewiesen werden.

Aus den Produkten von einem Produktionstag wurden 29 Sandwichproben untersucht und es konnten keine *L. monocytogenes* nachgewiesen werden.

Tab. 45: Zusammenstellung der Proben aus den Nachkontrollen

Nach Reinigung und Desinfektion (R + D)		
Total Proben	positiv	positiv (%)
333	21 (<i>L. monocytogenes</i>)	6,3

In Tabelle 45 sind die Anzahl der Umfeldproben und Proben der Gerätschaften aus den Nachkontrollen zusammengestellt. Dabei fällt auf, dass 6,3 % der Proben *L. monocytogenes* positiv sind.

Ergebnisse

Tab. 46: Zusammenstellung der genotypisierten Proben mit den Probe-Entnahmestellen der 11 Nachkontrollen

PFGE-Typ	Anzahl	Kategorie	Probe-Entnahmestellen <i>L. monocytogenes</i> positiv
A	14	Ausrüstung	Metallband, Brotabstapler, Greifer, Bandwaschanlage
	4	Umfeld	Griff Handbrause, Verlängerungskabel, Abflusssrinne
C	2	Umfeld	Boden Kühlhaus, Gummistopper, Wasserschlauch
neuer Genotyp ²	1	Ausrüstung	Slicerband

Die Entnahmestellen der Nachkontrollen sind in der Tabelle 46 zusammengestellt. Dabei bestätigt sich, dass der Genotyp A dominant und vorwiegend in der Ausrüstung (Anlagen und Maschinen) gefunden wurde.

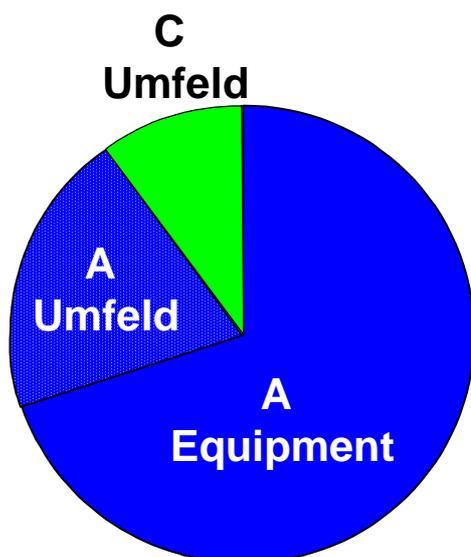


Abb. 25: Die Verteilung der beiden Genotypen A und C bei den 12 Nachkontrollen

In Abbildung 25 sind die Ergebnisse der Nachkontrollen in Bezug auf die Verteilung der Genotypen A und C zusammengestellt. Dabei fällt auf, dass der Genotyp A dominant ist und die IST-Aufnahme bestätigt.

² wird bei der Betrachtung nicht berücksichtigt, da er sich außerhalb der Sandwichabteilung befindet

4. Lösungsansätze bei erkannten Schwachstellen

Aus den Resultaten der 3 Beprobungsserien aus der Ist-Aufnahme ist ersichtlich, dass nach jeder geprüften Reinigung und Desinfektion *L. monocytogenes* nachgewiesen werden konnte. Daraus ergibt sich die Schlussfolgerung, dass ein Problem in der Reinigung und Desinfektion der Anlagen und Geräte bestehen muss.

Von den positiven Proben im Bereich Ausrüstung und Umfeld ist der Genotyp A dominant mit 64 Proben, gefolgt von C mit 13 Proben und B mit 3 Proben jeweils im Umfeld.

Die durchgeführten Nachkontrollen (visuell und mikrobiologisch) nach der Reinigung vor Arbeitsbeginn bestätigen das Resultat aus der Ist-Analyse, dass der Genotyp A dominant und persistent ist. Von 333 Proben waren 18 von 21 *L. monocytogenes*-positiven Proben, dem Genotyp A zuzuordnen. C wurde nur zweimal auf dem Boden im Kühlhaus und am Gummistopper Wasserschlauch gefunden, B konnte nicht mehr nachgewiesen werden.

Von den 18 positiven Proben waren 14 den Gerätschaften zuzuordnen und 4 der Umgebung.

Die Resultate der Nachkontrolle lassen sich in die folgenden 4 Bereichsschwerpunkte einordnen:

- Technik (Ausrüstung, Umgebung)
- Reinigung
- Betrieb
- Qualitätsmanagement

Die Zusammenhänge und Maßnahmen zu den Nachkontrollen werden im Einzelnen beschrieben.

Lösungsansätze

4.1 Technik (Ausrüstung, Umgebung)

- Ausrüstung (Anlagen, Maschinen, Installationen, Geräte, Transportbänder, Arbeitstische)
- Umfeld (Wasserschläuche, Gummistopper, Griffe der Handbrausen und Druckluft, Handtuchspender, Gummiwischer)

Bei den Nachkontrollen hat sich gezeigt, dass 14 von 21 positiven Proben allein in der Ausrüstung zu finden sind. Während der Nachkontrollen wurde deutlich, dass eine komplette Demontage der Linien und den darauf befestigten Geräten notwendig ist, um eine gründliche Reinigung durchführen zu können. Diese Demontage war aber auf den Sandwichlinien vor den Nachkontrollen z.T. nicht oder nur schwer möglich und ist daher auch nicht oder nur teilweise durchgeführt worden. Zum Verständnis der Problematik wird der Aufbau der Sandwichlinie und deren einzelnen Geräte beschrieben und die durchgeführten Maßnahmen zur Verbesserung aufgezeigt.

Aufbau der Sandwichlinie

Die Sandwichlinie setzt sich aus dem Metalltransportband für Brot (s. Abb. 30), den Brotabstapler und Greifer, dem Kunststofftransportband (s. Abb. 26), Ausrichterbalken (keine Abb.), Ultraschallmesser, Kunststoff-Gliedertransportband (s. Abb. 29) und der jeweiligen Verpackungsmaschine (keine Abb.) zusammen. Unterhalb des Kunststofftransportbandes ist die Bandwaschanlage, die separat betrachtet wird, installiert.



Abb. 26: Kunststofftransportband



Abb. 27: Brotabstapler mit Greifer

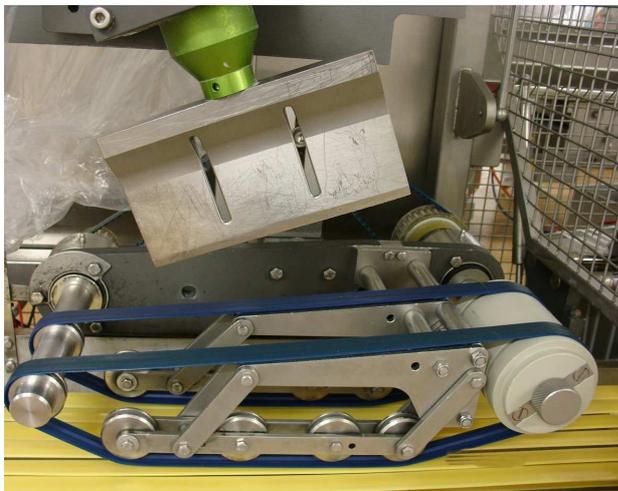


Abb. 28: Ultraschallmesser

Lösungsansätze

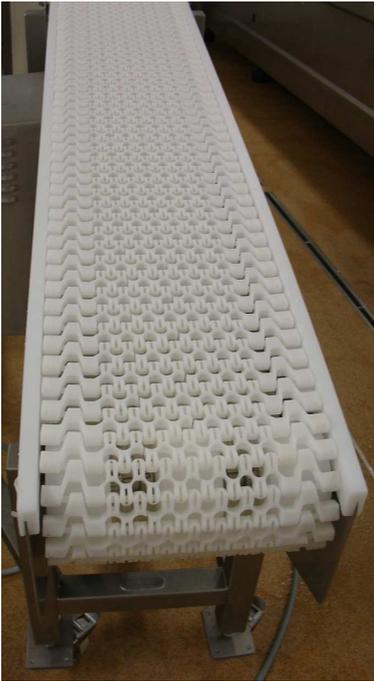


Abb. 29: Gliedertransportband

Bei jedem durchgeführten Kontrollrundgang waren Teile der Linie nicht sauber gereinigt. Zum Einen war der Reinigungsprozess nicht gründlich durchgeführt worden und zum Anderen waren verschiedene Teile der Linie (Brotabstapler, Greifer, das Metallband) nicht demontierbar und für die Reinigung nicht zugänglich. Dadurch konnten sich Verschmutzungsrückstände bilden, die mikrobiologisch in Form von *L. monocytogenes* nachgewiesen werden konnten.

Im Folgenden werden die einzelnen Teile der Linie, die bei den Nachkontrollen mehrmals positiv aufgefallen sind, besprochen und die daraus abgeleiteten Maßnahmen beschrieben.



Abb. 30: Metallband

Lösungsansätze

Das Metall-Transportband ist nach technischer Prüfung nicht demontierbar. An den Maschinenwänden und unterhalb vom Band ist es schwierig oder nicht möglich zu reinigen, da die Linie von unten her z.T. mit dem Motorengehäuse abgeschlossen ist. Ablagerungen der Produktion konnten sich ständig ansammeln. Bei 4 Kontrollen konnte *L. monocytogenes* nachgewiesen werden. Dieser Teil der Anlage kann als eine der möglichen Quellen der Kontamination in Betracht gezogen werden.

Eine manuelle Grundreinigung wurde nach der 5. Nachkontrolle durchgeführt. Die Reinigung war noch nicht ausreichend (s. Nachkontrolle 6).

In der 6. Nachkontrolle konnten an den Maschinenwänden, an denen das Metallband vorbeiführt, oberhalb vom Motorenkasten immer noch Verschmutzungen visuell gezeigt werden, mikrobiologisch konnte *L. monocytogenes* nachgewiesen werden.



Abb. 31: Metallband

Ab der 7. Nachkontrolle konnte am Metallband und den Seitenwänden mikrobiologisch nichts nachgewiesen werden, aber visuell waren immer noch Ablagerungen oberhalb vom Motorenkasten sichtbar, die ohne technische Unterstützung nicht zu entfernen sind.

4.1.1 Maßnahmen

Für das Band muss neben der täglichen Reinigung eine intensive Grundreinigung festgelegt werden. Der Reinigungsrythmus ist mit dem Monitoring (visuell und mikrobiologisch) zu definieren. Die Reinigung von diesem Teil der Linie bleibt weiterhin ein Schwachpunkt. Zu prüfen wäre auf alle Fälle eine Demontage des Metallbandes, damit eine gründliche Reinigung der Zwischenräume ermöglicht werden könnte, die sich heute sehr schwierig gestaltet.

Lösungsansätze

Brotabstapler mit Greifer

Der Brotabstapler, ein leerer rechteckiger Behälter, ist fix oberhalb vom Metalltransportband installiert. An das Behältnis vom Brotabstapler, direkt unterhalb sind die Greifer fest angeschraubt.



Abb. 32: Brotabstapler mit Greifer

Der Deckel vom Brotabstapler lässt sich nur mit Hilfe eines Schraubendrehers entfernen. Der Behälter ist innen hohl, und es laufen verschiedene elektrische Kabel durch. Die Greifer sind ohne technische Unterstützung nicht demontierbar und das Justieren hinterher ist schwierig. Da ein Demontieren der Teile nicht möglich ist und um das Reinigen künftig von allen Seiten zu ermöglichen, wurden die Seitenwände der Linie von der Technik demontierbar gemacht. Damit ist eine direkte Reinigung vom Greifer und Brotabstapler von allen Seiten, auch von unten, möglich. Falls diese Maßnahme auf Dauer nicht ausreichend sein wird, muss eine komplette Demontage für Reinigungszwecke geprüft werden.

Schmutzreste hatten sich im Innern des Behälters angesammelt. Durch die Kabelöffnungen, die sich im Innern des Behälters befinden, könnte es möglich gewesen sein, dass Reste immer wieder auf das Produkt gelangen konnten. In der 2. und 3. mikrobiologischen Nachkontrolle vom Brotabstapler innen und den Greifern konnte *L. monocytogenes*, Genotyp A nachgewiesen werden. Nach der kompletten Reinigung des Brotabstaplers, der innen und außen gereinigt worden war, und der Reinigung der Greifer, waren die Teile mikrobiologisch in Ordnung (s. 5. und 6. Nachkontrolle, die 7. Nachkontrolle war wieder nicht in Ordnung, aber ab der 8. Nachkontrolle waren die Resultate gleichbleibend gut).

Lösungsansätze

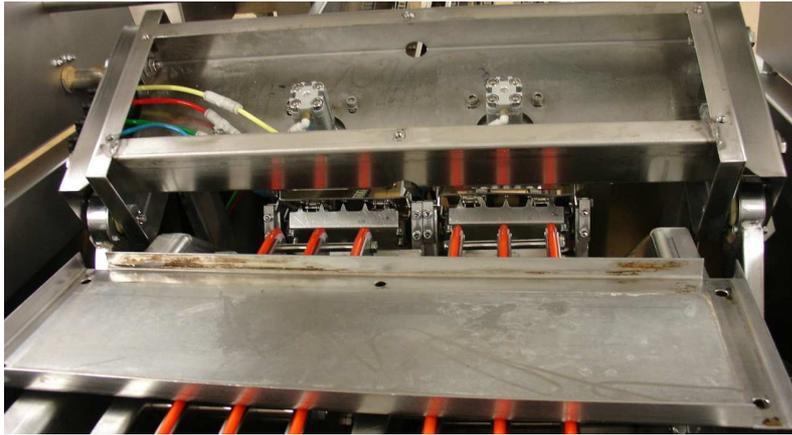


Abb. 33: Brotabstapler geöffnet und gereinigt, inkl. Greifer

Maßnahmen

Da ein Demontieren der Teile schwierig ist und das Reinigen künftig von allen Seiten möglich sein muss, wurden die Seitenwände der Linie von der Technik demontierbar gemacht. Damit ist eine direkte Reinigung vom Greifer und Brotabstapler von allen Seiten, auch von unten, möglich. Falls diese Maßnahme auf Dauer nicht ausreichend sein wird, muss eine komplette Demontage für Reinigungszwecke geprüft werden.

Bandwaschanlage

Die Bandwaschanlage ist ein mobiles Gerät, das unterhalb vom Kunststoffband der Linie angebracht ist.



Abb. 34: Bandwaschanlage

Die beiden Behälter für Frisch- und Schmutzwasser sind über Schraub- und Rohr-Schlauch-Verbindungen mit einer Pumpe und Motor fest auf einer Metallplatte montiert. Aus dem Frischwasserbecken wird über Rohrverbindungen Wasser auf Düsen angesaugt und so auf das Band gesprüht. Mit Kunststoff-Abstreifern wird das Wasser wieder vom Band entfernt, das in den Schmutzwasserbehälter ablauf-

Lösungsansätze

fen kann. Der Frischwasserbehälter innen enthält einen Filter (nur mit Schraubendreher zu demontieren) und einen Gummischwimmer (nicht demontierbar).

Da die beiden Behälter Frisch- und Schmutzwasser fest auf dem Untersatz montiert sind, können sie zum Reinigen nicht abgenommen werden und sind so sehr schwer zu reinigen: Schmutzreste, Ablagerungen, Restwasser sind nur schwer oder nicht nach dem Reinigen aus den Behältern entfernbar. Der Schwimmer und der Filter im Frischwasserbehälter, die fix montiert sind, lassen sich ebenfalls schwer oder nicht reinigen. Schmierbeläge haben sich gebildet.

Die Rohr- und Schlauchverbindungen sind, wenn sie nicht über Schrauben geschlossen werden können, mit Schlauchzwecken geschlossen, die ohne Schraubendreher nicht zu öffnen sind.

Die Düsen zur Wasserverteilung sind fix in den Rohrbalken eingeschweißt. Da sie nicht abnehmbar sind, ist eine gründliche Reinigung nur schwer möglich.

Bei der 2. und 7. Kontrolle war *L. monocytogenes* jeweils im Frischwasserbehälter nachweisbar. Bei den weiteren Nachkontrollen konnten außer visuellen Verschmutzungen weder *L. monocytogenes* noch *Listeria* spp. nachgewiesen werden.

Maßnahmen

Bei der Bandreinigungsanlage wurden nach der 5. Nachkontrolle alle Schläuche ausgewechselt. Die komplette Demontage der Anlage (Pumpe, Motor, Filter, Düsen) wurde vor der 7. Nachkontrolle durchgeführt. Die Reinigung der Düsen und der Behälter erfolgt täglich inklusive Filter und Schwimmer. Der Frischwasserbehälter wird täglich am Mittag zwischengereinigt.

Die gesamte Demontage der Schläuche erfolgt wöchentlich, damit sich keine Ablagerungen mehr bilden können.

Kunststofftransportbänder

Die Kunststofftransportbänder bleiben während der Reinigung fest montiert auf den Linien. Während der Reinigung sind die Bänder in Betrieb und laufen, sodass das gesamte Band gereinigt werden kann. Nach der Reinigung werden die Bänder aufgestellt, damit sie besser abtrocknen können.

Lösungsansätze



Abb. 35: Aufgestelltes Förderband

Bei der Ist-Aufnahme der Proben der Ausrüstung waren auf den Förderbändern *L. monocytogenes* nachgewiesen worden. Dies hat sich in den 11 Nachkontrollen nicht mehr bestätigt.

Maßnahmen

In das regelmäßige Umfeldmonitoring müssen die Förderbänder integriert werden.

4.1.2 Verbesserungspotenzial

Eine Verbesserungsmöglichkeit besteht darin, dass die Bänder aufklappbar und zusätzlich demontierbar wären. Zum Einen könnten die Bänder einfacher zum Abtrocknen aufgestellt werden und zum Anderen würde eine Zwischenreinigung in der Waschmaschine möglich sein. Heute erfolgen Zwischenreinigungen mit Alkohol.

Das Monitoring muss zeigen, ob diese Maßnahme zur Zwischenreinigung ausreichend ist.

Arbeitstische

Die Arbeitstische bestehen aus Kunststoffplatten. Diese wiesen z.T. Löcher auf (erste Nachkontrolle), in denen sich Schmutzreste ansammeln konnten. In der ersten Nachkontrolle konnte weder *L. monocytogenes* noch *Listeria* spp. nachgewiesen werden. Ab der 2. Nachkontrolle waren die defekten Tische bereits ausgetauscht.

Umfeld

Wasserschläuche, Gummistopper, Griffe der Handbrausen und Druckluft, Handtuchspender, Gummiwischer Wasserschläuche, Griffe für Druckluft waren bei den ersten Umfeldproben aus der Ist-Analyse heraus mit *L. monocytogenes* positiv

Lösungsansätze

gefunden worden. In den Nachkontrollen kamen zusätzlich die Griffe der Handbrausen (s. 1. Nachkontrolle) und die Gummistopper an den Wasserschläuchen dazu (s. 3. und 6. Kontrolle). Ab der 7. Kontrolle waren die Gummistopper nicht mehr positiv.

Die Griffe der Handbrausen und Gummistopper der Wasserschläuche sind aufgrund ihrer Konstruktion schwierig zu reinigen, und Schmutzreste können sich leicht einlagern.

Maßnahmen

Die Gummistopper sind z.T. erneuert worden. Als Schwachpunkte bleiben weiterhin die Gummistopper und die Handgriffe der Brausen bestehen.

Als Maßnahme müssen beide Punkte ins regelmäßige Monitoring mit aufgenommen werden. Falls das Monitoring (visuell und mikrobiologisch) nicht zufriedenstellend ausfällt, müssen andere Arten von Handbrausen und Gummistoppfern geprüft werden.



Abb. 36: Gummistopper Wasserschlauch



Abb. 37: Griff Handbrause

Lösungsansätze

Die Griffe für die Druckluft werden täglich, nachdem sie gereinigt sind, in eine Desinfektionsmittellösung eingelegt und erst vor Arbeitsbeginn an den Druckluft-Schläuchen wieder angebracht.



Abb. 38: Griff Druckluft

Die Gummiwischer wurden neu farblich mit Rot gekennzeichnet und sind ausschließlich für die Sandwichproduktion in Gebrauch. Damit kann eine evtl. Verschleppung aus anderen Abteilungen vermieden werden. Gummiwischer für den Tisch und die Böden werden in getrennten Behältnissen aufbewahrt.

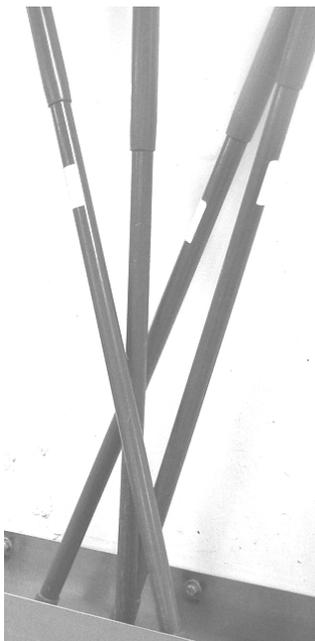


Abb. 39: Gummiwischer

Lösungsansätze

Ab der 6. Nachkontrolle wurden die Abflussrinnen in die Kontrollen mit aufgenommen. Es wurden keine *L. monocytogenes* nachgewiesen. Abflussrinnen und Boden werden ins Monitoring aufgenommen.

Verbesserungspotenzial

Das Problem, der Zeit zum Abtrocknen des Produktionsraumes nach der Reinigung, kann vorläufig nicht gelöst werden. Die Möglichkeit, mit einem Trocknungsgerät die Abteilung komplett zu entfeuchten, wird in einem Neubau als Verbesserungspotenzial eingebracht werden, ist aber in diesen Räumlichkeiten nicht möglich.

Deswegen muss ein Listerienmonitoring als Frühwarnsystem zwingend weitergeführt werden.

Ein großes Verbesserungspotenzial innerhalb der Technik besteht darin, bei Neanschaffung von Maschinen, Geräten und Anlagen, die Mitarbeiter vom Qualitätsmanagement und der Reinigung in die Arbeitsgruppe von Anfang an zu integrieren. Somit wird nicht nur die Funktionalität und Effizienz der neuen Anlage beurteilt, sondern werden u.a. auch die Kriterien der Demontage und Reinigung berücksichtigt, und es können vor dem Kauf technische Verbesserungen diesbezüglich vorgenommen werden und während der Inbetriebnahme im Betrieb berücksichtigt werden.

4.2 Reinigung

Bei den Nachkontrollen im Betrieb wurden Diskussionen zur Organisation der Reinigung, Anzahl der Mitarbeiter sowie die Qualität der Reinigung geführt und zur Verbesserung Maßnahmen definiert, die im Einzelnen besprochen werden.

Wie in der Einleitung geschrieben, startet die Sandwich-Produktion täglich morgens nach Reinigungende und endet nachts. Die Reinigungszeit beschränkt sich auf wenige Stunden.

Vor der ersten Nachkontrolle startete die Reinigung mit 2 Mitarbeitern und war bis Schichtbeginn noch nicht komplett fertig. Der Produktionstag startete, ob die Reinigung beendet war oder nicht.

Die große Restfeuchtigkeit der Abteilung und die Aerosolbildung während der Reinigung können das Festsetzen und die Verbreitung von *L. monocytogenes* begünstigen. Nach der ersten Nachkontrolle wurde über die Organisation und die Anzahl der Mitarbeiter, die zur Reinigung in der Nacht zur Verfügung stehen, diskutiert. Um eine Verbesserung der Qualität der Reinigung zu erreichen, ist mehr Zeit notwendig. Diese ist aber aufgrund der Produktionszeiten, die benötigt werden, nicht gegeben. Demzufolge ist mehr Manpower erforderlich. In der gleichen Woche wurden mehr Mitarbeiter aus der Sandwichabteilung der Reinigung ab zur Verfügung gestellt. Vorbereitende Arbeiten zur Reinigung wurden bis Reinigungs-

Lösungsansätze

beginn durchgeführt. Unter vorbereitende Arbeiten fallen das Entfernen von Handtuchrollen und des Betriebsmaterials aus der Abteilung, die Demontage von Füllern, Dreipunktfüllern, Halbautomaten etc. Anschließend findet die Nassreinigung statt. Somit bleibt genügend Zeit, die Maschinen für die Tagesproduktion bereitzustellen, u.a. Gummibänder etc. auf den Anlagen zu montieren. Ziel ist es, einen Nachschichtleiter einzuarbeiten, der künftig über das notwendige Knowhow der Reinigung verfügt und die Sauberkeit der Produktionsabteilungen gewährleisten kann. Die neue Organisation bringt den Vorteil mit, dass die Demontage der Maschinen und Geräte kompetent erfolgen kann.

Eine organisatorische Herausforderung stellt die Wochenendreinigung dar.

Am Wochenende steht das Reinigungsteam der Woche nicht zur Verfügung, deswegen wurde die Reinigung von den Produktionsmitarbeitern selbst durchgeführt. Der Nachteil dieser Lösung hat sich in den Nachkontrollen gezeigt: Die Mitarbeiter kennen die Maschinen und deren einfache Demontage gut, aber sie verfügen über zu wenig Knowhow über die Reinigung selbst. Dieses Problem wurde im Rahmen dieser Arbeit erkannt und wird folgendermaßen umorganisiert. Da an den Wochenenden nur an 2 Linien gearbeitet wird, sind 3 Mitarbeiter zur Reinigung nach Arbeitsende eingeteilt. Die 6. Nachkontrolle hat visuell Verbesserungen im Vergleich zur 3. Nachkontrolle gezeigt. Der Schwachpunkt liegt aber noch bei der Schulung und Einarbeitung der Mitarbeiter, damit die Reinigung das gleiche Qualitäts- und Hygiene-Niveau bekommt wie während der Woche.

In der 6. Nachkontrolle hat sich visuell gezeigt, dass sich die Qualität der Reinigung seit der 1. Nachkontrolle stark verbessert hat, z.B. funktioniert die Demontage der Füller und Dreipunktfüller mit allen Dichtungen, die Demontage der Halbautomaten, das Einlegen von Handgriffen in Desinfektionsmittellösung, das Entfernen von Betriebsmaterial vor der Reinigung. Mikrobiologisch sind Punkte, wie z.B. die Gummistopper an den Wasserschläuchen, immer noch zu bemängeln, dies muss zusammen mit der Technik bearbeitet werden.

Die Selbstkontrolle der Reinigungsmitarbeiter ist ein weiterer Punkt, der ausgebaut werden muss. Der Führungsverantwortliche der Reinigung muss durch visuelle Kontrollen sicherstellen, dass die Qualität der durchgeführten Arbeiten den internen Vorgaben entspricht.

Ein großes Schwergewicht muss künftig auf die Schulung der Mitarbeiter in der Reinigung gelegt werden. Sie müssen nicht nur den sicheren Umgang mit Reinigungschemikalien wissen, sondern müssen verstärkt geschult werden, wie sie die Reinigung der Maschinen und Abteilung durchführen können, damit die tägliche Sauberkeit garantiert werden kann. Ebenfalls muss das Knowhow der einzelnen Mitarbeiter, das vorhanden ist, ausgebaut werden.

Erschwerend zur Reinigungsproblematik der Maschinen kommt hinzu, dass fast ausschließlich nachts gearbeitet wird, und es schwierig ist, qualifizierte Mitarbeiter dafür zu finden. Das Personal setzt sich heute aus mehreren Nationalitäten und Kulturen zusammen, die Sprache sowie die Verständigung stellen ein Problem dar.

Lösungsansätze

Ein gut funktionierendes Reinigungsteam zu bilden braucht Zeit und gute Führungskräfte, die den Mitarbeitern bewusst machen können, wie wichtig ihre Arbeit ist, und dass sie einen großen Teil an Verantwortung für die Produkte tragen, die tagtäglich produziert werden. Es muss von jedem Mitarbeiter verstanden werden, dass mit schmutzigen Maschinen, die Lebensmittelsicherheit nicht gewährleistet werden kann.

4.2.1 Maßnahmen

Zusammenfassend sind folgende Maßnahmen innerhalb des Bereiches der Reinigung umgesetzt worden:

- Die Reinigungsmannschaft wurde durch 3 Mitarbeiter aufgestockt.
- Dadurch konnte die Qualität der Reinigung verbessert werden.
- Durch organisatorische Veränderungen der Arbeitszeit der Reinigungsmitarbeiter konnte Zeit gewonnen werden, so dass der Reinigungsprozess früher beendet ist.
- Die Schulung der Reinigungsmitarbeiter wurde verbessert. Als weiteres Verbesserungspotenzial muss dieser Punkt stärker ausgebaut werden.
- Eine Selbstkontrolle innerhalb der Reinigungsmannschaft wurde integriert, damit sichergestellt werden kann, dass die Arbeiten vorschriftsmäßig durchgeführt worden sind.

4.2.2 Verbesserungspotenzial

Ein zusätzliches Verbesserungspotenzial besteht darin, dass bestimmte Reinigungsmitarbeiter technisch ausgebildet werden. In Anbetracht der komplexen, nicht einfach zu reinigenden Anlagen (z.B. Brotabstapler, Bandwaschanlage), die regelmäßig zur Reinigung demontiert oder deren Maschinenteile geöffnet werden müssen, um den mikrobiologischen Status zu gewährleisten, wäre dies eine sinnvolle Maßnahme. Dadurch werden Synergien zwischen Reinigung, Technik und Betrieb genutzt und das Potenzial von bestimmten Mitarbeitern verbessert werden. Heute anfallende Unterhaltskosten könnten somit eingespart werden.

Als weiteres Verbesserungspotenzial muss die Wichtigkeit der Reinigung im Betrieb aufgezeigt, verankert und aufgewertet werden. Zusätzlich muss die Qualifikation der Reinigungsmitarbeiter hinterfragt und die Qualifizierung verbessert werden.

Die Schulung der Reinigungsmitarbeiter muss spezifisch angegangen und vertieft werden, damit das Hygieneverständnis bei den Mitarbeitern verbessert wird.

Das Problem, der Zeit zum Abtrocknen der Produktionsräume nach der Reinigung, kann vorläufig nicht gelöst werden. Die Möglichkeit, mit einem Trocknungsgerät die Räumlichkeiten komplett zu entfeuchten, wird in einem Neubau als Verbesserungspotenzial eingebracht werden, ist aber in diesen Räumlichkeiten nicht möglich.

Lösungsansätze

Deswegen muss ein Listerienmonitoring als Frühwarnsystem zwingend weitergeführt werden.

4.3 Betrieb

Aus den einzelnen Nachkontrollen (visuell und mikrobiologisch) dieser Arbeit ist deutlich geworden, dass die Herstellung von Lebensmitteln ohne visuelle, tägliche Reinigungskontrolle vor Arbeitsbeginn vonseiten des Betriebes stattfinden muss. Der hygienische Status der Anlagen und Geräte muss vor Arbeitsbeginn bekannt sein, bevor mit der Produktion begonnen wird. Nur so kann eine hygienisch einwandfreie Herstellung von Lebensmitteln gewährleistet werden.

In erster Priorität liegt die Verantwortung von Hygiene und deren Umsetzung bei den Führungsmitarbeitern. Dazu gehören: Kontrollen durchführen, Abweichungen zu den Vorgaben aufzeigen und Maßnahmen umsetzen. Darüber müssen alle Verantwortlichen geschult sein, um die Schwerpunkte bei den Kontrollen setzen zu können. Dies erfolgt in enger Zusammenarbeit mit dem Qualitätsmanagement, damit die Zusammenhänge von Hygiene und Produktion verstanden werden und diese praktisch im Betrieb gelebt werden können.

Es ist für die Führungsverantwortlichen unerlässlich, die korrekte Umsetzung der Reinigung täglich vor Arbeitsbeginn visuell zu kontrollieren. Die Checkliste zur visuellen Kontrolle für den Betrieb wurde mit den Erkenntnissen aus den Nachkontrollen dieser Arbeit aktualisiert und ergänzt, sodass neu konkret die Schwachpunkte der Anlagen, Maschinen täglich kontrolliert werden können und müssen. Wichtig dabei ist die entsprechende Kommunikation untereinander mit Reinigung, Betrieb und Qualitätsmanagement und das schnelle Beheben von Abweichungen.

Da bei fermentierten Produkten (z.B. Salami) und Räucherlachs *L. monocytogenes* oder *Listeria* spp. auftreten können, wurde für die verschiedenen Produkte, die auf den Halbautomaten zu schneiden sind, eine Schneidreihenfolge definiert und eine Aufschnittmaschine nur für Lachs bereitgestellt. Die Schneidreihenfolge sieht vor, dass fermentierte Produkte, wenn immer möglich, am Schluss der Produktion geschnitten werden. Zwischen allen Produktewechseln werden die Halbautomaten zwischengereinigt und desinfiziert. Somit kann einer Kreuzkontamination entgegen gewirkt werden.

Das Arbeiten mit Handschuhen ist in der Sandwichabteilung obligatorisch. Eine tägliche Führungsarbeit der Vorgesetzten ist es, den Handschuhwechsel der Mitarbeiter zu schulen und zu kontrollieren, damit keine Rekontamination über die Hände stattfinden kann. Die Basis bildet dazu die Hygieneschulungen vonseiten des Qualitätsmanagements.

Die tägliche Umsetzung des vorgegebenen Hygienestandards muss von den jeweiligen Verantwortlichen vor Ort praktisch kontrolliert, nochmals geschult und bei Abweichungen korrigiert werden.

Lösungsansätze

Das Verschleppen von *L. monocytogenes* über den komplexen Personalfluss innerhalb des Betriebes ist möglich. Diese Problematik im Griff behalten zu können, ist in diesen Räumlichkeiten nur über ein gezieltes Monitoring möglich, dass das gesamte Umfeld mit Hygieneschleusen, interne Transportmittel, Mitarbeiter, Geräte, Maschinen etc. abdeckt. Das Monitoring fungiert damit als Frühwarnsystem.

4.3.1 Maßnahmen

Die tägliche Führungsverantwortung, bezogen nicht nur auf die Produktivität, sondern auf Sauberkeit, Hygiene (Personal und Betrieb) und der Einhaltung von internen Vorgaben wurde aufgezeigt, neu verankert und verbessert. Dies gelingt nur in ständigem Austausch mit der Reinigung, dem Qualitätsmanagement und der Technik.

Als Hilfsmittel dient die tägliche visuelle Kontrolle mit einer Checkliste. Dadurch sind Abweichungen dokumentiert und können bearbeitet werden.

Zusätzlich ist die tägliche Führungsarbeit vor Ort in der Abteilung durch den Führungsverantwortlichen unerlässlich und wurde intensiviert.

Die technische Verbesserung, einen Slicer nur für Lachs zu benutzen, und die organisatorische Verbesserung einer Schneidreihenfolge und die jeweilige Zwischenreinigung der Slicer nach Produktwechsel sind wichtig und beugen einer Rekontamination vor.

4.3.2 Verbesserungspotenzial

Ein Verbesserungspotenzial liegt darin, den Führungsmitarbeitern und Stellvertretern mehr mikrobiologisches Basiswissen zu vermitteln, damit das Verständnis der Problematik verstanden wird. Durch gezielte, wahrgenommene Führungsverantwortung kann der erreichte verbesserte mikrobiologische Standard nachhaltig auf einem guten Niveau gehalten werden.

4.4 Qualitätsmanagement

Reinigungspläne, GHP und HACCP, Monitoring, Schulung, Kontrollen

Aus den gesamten Ergebnissen der Nachkontrollen (visuell und mikrobiologisch) geht hervor, dass die Reinigung und Desinfektion in der Sandwichabteilung eine zentrale Rolle einnimmt. Damit der Reinigungsvorgang immer gleichbleibend abläuft, sind Reinigungspläne erstellt. Darin wird anhand von Piktogrammen aufgezeigt, welche Maschine, mit welchem Mittel und mit welcher Konzentration wie lange gereinigt und danach desinfiziert werden muss. Die Piktogramme haben den Vorteil, dass sie ohne Fremdsprachkenntnisse von allen Mitarbeitern verstanden werden können. Aufgabe des Qualitätsmanagementes ist es, diese Reinigungspläne aktuell zu halten und bei Änderungen von Reinigungs- und Desinfektions-

Lösungsansätze

mitteln deren Wirksamkeit nach der Reinigung und Desinfektion mikrobiologisch zu prüfen. Wie die Resultate dieser Arbeit zeigen, war es nicht primär ein Problem der Wirksamkeit der verschiedenen chemischen Reinigungsmittel, sondern ein Problem der Qualität der Reinigung. Im Monitoring, das sich im Aufbau befindet, wird sich zeigen, ob die chemischen Mittel auf Dauer wirksam sind oder Änderungen diesbezüglich vorgenommen werden müssen.

Bei einem gut funktionierenden GHP-System hätte das Problem der betriebsepidemiologischen Flora in der Sandwichabteilung früher erkannt oder nicht auftreten dürfen. Die genotypisierten Resultate zeigen sehr deutlich den Hospitalismus in diesem Betrieb. 2 Stämme von *L. monocytogenes*, die sich als Hausflora etablieren konnte. Folglich handelt es sich um ein Inhouse-Problem und *L. monocytogenes* wurde nicht von außen in den Betrieb eingeschleppt.

In der HACCP-Risikoanalyse wurde *L. monocytogenes* als hazard für die Sandwich- und Feinkostsalatproduktion zwar erkannt, aber erst bei der konkreten Betrachtung innerhalb der Ist-Analyse richtig wahrgenommen.

Der neu erreichte, gute mikrobiologische und hygienische Status in der Sandwichabteilung muss zwingend weiterhin eingehalten werden. Dies kann nur erreicht werden, indem ein mikrobiologisches Monitoring vom Umfeld und Ausrüstung spezifisch für *L. monocytogenes* aufgebaut und regelmäßig durchgeführt wird.

Dieses Monitoring muss die Schwachstellen, die in den Nachkontrollen erkannt worden sind, integrieren (z.B. Gummistopper, Metallband, Brotabstapler, Füller und Dichtungen, Füllarme, Handgriffe, Bandwaschanlage, Hygieneschleusen, Böden, Abflüsse) und in regelmäßigen Abständen überprüfen. Das Umfeld-Monitoring bildet ein gutes Frühwarnsystem für *L. monocytogenes* und somit kann der Bildung einer Hausflora entgegengewirkt werden. Die Mitarbeiter vom Qualitätsmanagement müssen dieses Monitoring vor Arbeitsbeginn und während der Arbeit durchführen, um dadurch den Überblick über die mikrobiologische Situation in der Sandwichabteilung zu behalten. Bei Abweichungen müssen sofort Maßnahmen eingeleitet werden, damit daraus kein Problem entstehen kann.

In Ländern, wie z.B. der USA ist das Listerienmonitoring, das von den produzierenden Betrieben umgesetzt werden muss, schon sehr detailliert vorgeschrieben.

Challengetests für *L. monocytogenes* [11] wären noch ein Hilfsmittel, um die Produktepalette unter Schutzatmosphäre abgepackter Sandwiches und Feinkostsalate (pH-Werte > 4,4, a_w -Werte > 0,92) am Ende der Mindesthaltbarkeit zu beurteilen. Hat eine Vermehrung von *L. monocytogenes* während der Haltbarkeit des Produktes stattgefunden oder nicht. Die zusätzliche Hürde der eingesetzten Schutzatmosphäre müsste ebenfalls in einem Challengetest gezeigt werden. Die Durchführung eines solchen Tests ist schwierig und diese Möglichkeit müsste geprüft werden, falls das Monitoring nicht greifen würde.

Lösungsansätze

Ein Schwerpunkt muss künftig verstärkt auf die Mitarbeiterschulung gelegt werden. Die Mitarbeiter müssen wissen und verstehen, warum Hygiene und Reinigung äußerst wichtig für die Lebensmittelherstellung speziell bei der Sandwichherstellung sind. Die Basis dafür muss vom Qualitätsmanagement erarbeitet sein, damit die Mitarbeiter spezifisch geschult werden können. Daraus ergibt sich für die Vorgesetzten innerhalb der täglichen Führungsarbeit, das Geschulte zu kontrollieren und Abweichungen zu korrigieren.

Stichprobenartig müssen vom Qualitätsmanagement, neben dem mikrobiologischen Monitoring, weiterhin stichprobenartig die visuelle Reinigungskontrolle vor Arbeitsbeginn beibehalten werden. Diese ist unverzichtbar, da mit dieser Arbeit aufgezeigt werden konnte, dass innerhalb des Herstellprozesses optisch die Maschinen, Anlagen und Gerätschaften nicht sauber waren.

4.4.1 Maßnahmen

Das mikrobiologische Monitoring von Ausrüstung und Umgebung muss aufgebaut werden und regelmäßig durch das Qualitätsmanagement vor Arbeitsbeginn und auch während der Arbeit durchgeführt werden. Dieses Frühwarnsystem zeigt rasch den Handlungsbedarf auf.

4.4.2 Verbesserungspotenzial

Schulungen

Die Reinigungsmitarbeiter müssen mit einer spezifisch aufgebauten Schulung ausgebildet werden. Diese theoretischen Kenntnisse müssen in der Praxis umgesetzt und kontrolliert werden. Die sehr guten Basiskenntnisse müssen erweitert und ausgebaut werden. Das Verständnis der Mitarbeiter für Hygiene und deren Notwendigkeit muss verbessert werden.

Den Führungsverantwortlichen muss ein vertieftes mikrobiologisches Grundverständnis vermittelt werden, sodass eine kompetente Führung gewährleistet werden kann.

Die Mitarbeiter in der Sandwichproduktion, müssen zusätzlich zu den allgemeinen Vorgaben wie Handschuhwechsel, Mundschutz etc. mit spezifischen Vorgaben v.a. der Schneidreihenfolge von Produkten, separaten Slicern für Lachs, Handhabung der Bandwaschanlage regelmäßig geschult werden. Das Verständnis der Mitarbeiter für Hygiene und deren Notwendigkeit muss verbessert werden.

Den Mitarbeitern der Technik müssen die spezifischen Erfahrungen aus dieser Arbeit vermittelt werden. Maschinen müssen einfach demontierbar sein. Anlagen und Maschinen müssen den Reinigungsmitarbeitern einfach zugänglich sein. Nur mit einer einfachen Handhabung wird die Reinigung richtig und zuverlässig durchgeführt. Das Verständnis der Technikmitarbeiter für Hygiene und deren Notwendigkeit muss verbessert werden.

5. Zusammenfassung

Betriebsepidemiologische Abklärungen zum Vorkommen von *Listeria monocytogenes* in einem Convenience-Betrieb und Erarbeiten von Lösungsansätzen bei erkannten Schwachstellen

Listeria (L.) monocytogenes kann als Lebensmittelinfektionserreger zu schwerwiegenden Erkrankungen des Menschen und auch zu Todesfällen führen. Daneben sind *L. monocytogenes* Befunde in Lebensmitteln eine der häufigsten Ursachen für große Rückrufaktionen. Vor diesem Hintergrund erhält die Beherrschung dieses mikrobiologischen Parameters für Lebensmittelbetriebe, die genussfertige Lebensmittel produzieren, eine ganz zentrale Rolle. In der vorliegenden Arbeit wurde an Hand von Daten zum Vorkommen und zur genetischen Diversität von *L. monocytogenes*-Stämmen isoliert über einen Zeitraum eines Jahres in einem Feinkost-Betrieb eine Schwachstellenanalyse vorgenommen und daraus definierte Maßnahmen im Betrieb umgesetzt und begleitet. Die dafür notwendigen Anstrengungen werden dokumentiert und praxisrelevante Empfehlungen gegeben.

Diese Arbeit zeigt auf, wie gerade auch in einem Betrieb mit gut etabliertem HACCP-Konzept funktionierende Grundhygienemaßnahmen, wie Reinigung und Desinfektion eine ganz zentrale Rolle einnehmen. Der konsequenten Umsetzung der so genannten „prerequisites“ eines HACCP-Konzeptes muss in der Lebensmittelindustrie in der täglichen Arbeit besondere Beachtung geschenkt werden. Ein auf *L. monocytogenes* ausgerichtetes Umfeldmonitoringsystem hat sich dabei zudem als gut geeignetes Frühwarnsystem erwiesen.

6. Summary

Epidemiological examinations of manufacturing sites regarding the presence of *Listeria monocytogenes* in a convenience-factory and elaboration of solution strategies in case of detected weaknesses.

Listeria (L.) monocytogenes as a cause of food borne infection can lead to serious disease and even death in humans. Evidence of *L. monocytogenes* in foods is also one of the most common reasons for large-scale product recalls. It is in this context, that the mastering of this microbiological parameter plays a central role for food production companies producing ready-to-eat foods. The present study conducted a weak point analysis based on data on the occurrence and genetic diversity of *L. monocytogenes* strains isolated in a convenience company over a period of one year. Measures were defined which were then implemented and followed-up on in the company. The study documents the necessary steps and makes practice-relevant recommendations.

This paper demonstrates how, especially in a company with a well-established HACCP-concept, effective measures of basic hygiene play a central role. The consistent implementation of the so-called „prerequisites“ of a HACCP-concept must be considered as an especially important aspect of the daily routine in the food industry. An environmental monitoring system geared to *L. monocytogenes* has shown itself to be well suited as an early warning system.

7. Referenzen

1. Accuprobe *Listeria monocytogenes* Kulturbestätigungstest, bioMérieux Gen-Probe kat. 2920
2. Allerberger F, Wagner M: Listeriosis: a resurgent foodborne infection. *Clinical Microbiology and Infection*, 2010, 16:16-23
3. Arbeitsanweisung internes Betriebslabor zum Nachweis von *L. monocytogenes* qualitativ und quantitativ, 2009
4. Beaufort A, Rudelle S, Gnanou-Besse N, Toquin MT et al.: Prevalence and growth of *Listeria monocytogenes* in naturally contaminated cold-smoked salmon. *Letters in Applied Microbiology*, 2007, 44:406-11
5. Blatter, S: Phenotypic and molecular typing of *Listeria monocytogenes* isolated from the processing environment and products of a sandwich-producing plant. Inaugural-Dissertation Zürich, 2010 Institut für Lebensmittelsicherheit und –hygiene der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich
6. Cabedo L, Picart ĩ Barrot L, Teixidó ĩ Canelles A: Prevalence of *Listeria monocytogenes* and Salmonella in ready-to-eat food in Catalonia, Spain, *Journal of Food Protection*, 2008, 71:855-59
7. Chen J, Zhang X, Mei L, Jiang L, Fang W: Prevalence of *Listeria* in chinese food products from 13 provinces between 2000 - 2007 and virulence characterization of *Listeria monocytogenes* Isolates. *Foodborne Pathogens and Disease*, 2009, Vol. 6, Number 1:7-14
8. Commission Regulation (EC) No 2073/2005 of 15th November 2005 on microbiological criteria for foodstuffs. *Official Journal of the European Union*, L 338
9. Cordano AM, Jacquet C: *Listeria monocytogenes* isolated from vegetable salads sold at supermarkets in Santiago, Chile: Prevalence and strain characterization. *International Journal of Food Microbiology*, 2009, 132:76-79
10. D'Amico JD, Groves E, Donnelly CW: Low incidence of foodborne pathogens of concern in raw milk utilized for farmstead cheese production. *Journal of Food Protection*, No. 8, 2008, 71:1580-89
11. EFSA, European Food Safety Authority: Community summary report on trends and sources of zoonoses and zoonotic agents in the European Union in 2007. *The EFSA Journal*, 2009, 223
12. Enumeration of *Listeria monocytogenes* NF EN ISO 11290-2 August 1998 V08-028-2, Amendment February 2005, S. 82, AES Chemunex, Culture media for the food industry

Referenzen

13. Fantelli K: Häufigkeit, Virulenzspektrum und Typisierung von Shigatoxin bildenden *Echerichia coli*, (STEC), *Listeria monocytogenes* und *Yersinia enterocolitica* in Hackfleischproben aus Kleinmetzgereien. Inaugural-Dissertation der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Zürich, Zürich, 2001
14. Food & Recht, Behr`s Verlag, Hamburg, 2009, 5:13
15. Jemmi T, Pa SI, Salman MD: Prevalence and risk factors for contamination with *Listeria monocytogenes* of imported and exported meat and fish products in Switzerland, 1992 - 2000. *Preventive Veterinary Medicine*, 2002, 54:25-36
16. Jemmi T, Stephan R: *Listeria monocytogenes*: Food-borne pathogen and hygiene indicator. *Revue Scientifique et Technique* (International Office of Epizootics), 2005, 25:1-27
17. Krämer J: Lebensmittel-Mikrobiologie, Verlag Eugen Ulmer Stuttgart, 2007
18. Larpent JP: Les Listéria, Technique & Documentation-Lavoisier, Février 1995, p. 55, Tableau 29
19. Laternser P: Listeriose-Ausbruch und Hygiene. *Lebensmittelindustrie*, 2008, 09:10-12
20. Little CL, Barrett NJ, Grant K, McLauchlin J: Microbiological safety of sandwiches from hospitals and other health care establishments in the United Kingdom with a focus on *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* species. *Journal of Food Protection*, 2008, 71:309-18
21. Little CL, Sagoo SK, Gillespie IA, Grant K, McLauchlin J: Prevalence and level of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* species in selected retail ready-to-eat foods in the United Kingdom. *Journal of Food Protection*, 2009, 72:1869-77
22. Little CL, Taylor FC, Sagoo SK, Gillespie IA et al.: Prevalence and level of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* species in retail prepacked mixed salads in the UK. *Food Microbiology*, 2007, 24:711-17
23. Manual of Clinical Microbiology; 5th Edition, 1991, S. 290
24. Mead PS, Slutsker L, Dietz V et al.: Food-related illness and death in the United States. *Emerging Infectious Diseases*, 1999, 5:607-25
25. Meloni D, Galluzzo P, Mureddu A, Piras F et al.: *Listeria monocytogenes* in RTE foods marketed in Italy: Prevalence and automated *EcoRI* ribotyping of the isolates. *International Journal of Food Microbiology*, 2009, 129:166-73

Referenzen

26. Moreno-Enriquez RI, Garcia-Galaz A, Acedo-Felix E, Gonzales-Rios H et al.: Prevalence, types and geographical distribution of *Listeria monocytogenes* from a survey of retail queso fresco and associated cheese processing plants and dairy farms in Sonora, Mexico. *Journal of Food Protection*, 2007, 70:2596-2601
27. Nakama A, Terao M, Kokubo Y, Itoh T et al.: A comparison of *Listeria monocytogenes* serovar 4b isolates of clinical and food origin in Japan by pulsed-field gel electrophoresis. *International Journal of Food Microbiology*, 1998, 42:201-06
28. Nachweis und Bestimmung von *Listeria* spp. in Lebensmitteln und Tupferproben, Institut für Lebensmittelsicherheit und –hygiene, Universität Zürich, 14.10.2008, Prof. Dr. R. Stephan
29. Oxoid Manual 8th Edition 1998, Handbuch 6. aktualisierte deutsche Auflage 2003
30. Rapid Alert System for Food and Feed (2009) Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF 2009)
31. REF 30 704: Vidas[®] *Listeria monocytogenes* II (LMO2), 11600 J- de-2008/02, Bio Mérieux
32. Van Coillie E, Werbrouck H, Heyndrickx M, Herman L, Rijpens N: Prevalence and typing of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat food products on the Belgian Market. *Journal of Food Protection*, 2004, 67:2480-87
33. Vázquez-Boland JA, Kuhn M, Berche P, Chakraborty T et al.: *Listeria* pathogenesis and molecular virulence determinants. *Clinical Microbiology Reviews*, 2001, 14:584-640
34. Working Document Draft Guidance Document on the shelf-life studies for ready-to-eat foods, under Regulation (EC) No 2073/2005 of 15 November 2008 on microbiological criteria for foodstuffs, Brussels C(2008)
35. Wiesmann E: Medizinische Mikrobiologie, Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York, 1982
36. Wilson IG: Occurrence of *Listeria* species in prepacked retail sandwiches. *Epidemiology and Infection*, 1996, 117:89-93
37. Zweifel C, Rusch M, Corti S, Stephan R: Untersuchungen zu verschiedenen mikrobiologischen Parametern in Rohmilch und Rohmilchkäse einer Bäckereigenossenschaft, Archiv für Lebensmittelhygiene, 2006, 57:1-24

Referenzen

Internetadressen

38. www.foodsafetynetwork.ca
39. www.rki.de epidemiologisches Bulletin
40. www.bvl.bund.de Schnellwarnsystem
41. www.cdc.gov/foodborneoutbreaks

8. Anhang

Abbildungsverzeichnis

- Abb. 1: Übertragung von *Listeria monocytogenes* [17]
- Abb. 2: Handwaschbecken
- Abb. 3: Handschuhspender mit Handschuhen
- Abb. 4: Papierhandtuchspender
- Abb. 5: Plastikschrürzen
- Abb. 6: Arbeitstisch
- Abb. 7: Gitterband weiß
- Abb. 8: Tomatenschneider
- Abb. 9: rote Blockiertaste
- Abb. 10: Förderband
- Abb. 11: Förderband blau
- Abb. 12: Handbrause
- Abb. 13: Tastaturen
- Abb. 14: Halbautomat geöffnet (Slicer)
- Abb. 15: Füller
- Abb. 16: Griff Druckluft
- Abb. 17: Reinigungsutensilien für den Boden
- Abb. 18: Rollwagen zum internen Transport
- Abb. 19: Gummiwischer für Tische
- Abb. 20: CAMP-Test
- Abb. 21: LMO2-Reagenzriegel im Vidas-Gerät
- Abb. 22: Genotypisierung
- Abb. 23: Verteilung der Genotypen A und C von *Listeria monocytogenes* während der 3 Probennahmen-Serien
- Abb. 24: Genotypisierung im Bereich der Feinkostsalatproduktion
- Abb. 25: Die Verteilung der beiden Genotypen A und C bei den 12 Nachkontrollen.
- Abb. 26: Kunststofftransportband
- Abb. 27: Brotabstapler mit Greifer
- Abb. 28: Ultraschallmesser
- Abb. 29: Gliedertransportband
- Abb. 30: Metallband
- Abb. 31: Metallband
- Abb. 32: Brotabstapler mit Greifer
- Abb. 33: Brotabstapler geöffnet und gereinigt, inkl. Greifer
- Abb. 34: Bandwaschanlage
- Abb. 35: Aufgestelltes Förderband
- Abb. 36: Gummistopper Wasserschlauch
- Abb. 37: Griff Handbrause
- Abb. 38: Griff Druckluft und Handtuchspender
- Abb. 39: Gummiwischer

Anhang

Tabellenverzeichnis

Tab. 01:	In der Literatur beschriebene Ausbrüche durch <i>Listeria monocytogenes</i> [16] Quellen (u. a.): Deutschland: [39]; international: [38, 14]; USA: [41]
Tab. 02:	Prävalenzen Rohmilch und Käse 2009
Tab. 03:	Prävalenzen von Fleischerzeugnissen
Tab. 04:	Prävalenz von <i>Listeria monocytogenes</i> in anderen verzehrfertigen Produkten [11]
Tab. 05:	Prävalenz von <i>Listeria monocytogenes</i> in verschiedenen Lebensmitteln [18]
Tab. 06:	Prävalenzen Fischerzeugnisse 2009
Tab. 07:	Prävalenz von <i>Listeria monocytogenes</i> in verschiedenen Lebensmitteln [18]
Tab. 08:	Nachweis von <i>Listeria</i> spp. in Sandwiches [36]
Tab. 09:	Prävalenzen Salat / Sandwich im Jahr 2009
Tab. 10:	Rückrufe aufgrund vom Nachweis von <i>Listeria monocytogenes</i> [30].
Tab. 11:	Rückrufe aufgrund des Nachweises von <i>Listeria monocytogenes</i> [40]
Tab. 12:	Probenerhebung gesamt und Auswertung
Tab. 13:	Zusammenstellung der genotypisierten Proben mit den Probe-Entnahmestellen
Tab. 14:	Probenerhebung gesamt und Auswertung
Tab. 15:	Zusammenstellung der genotypisierten Proben mit den Probeentnahmestellen
Tab. 16:	1. Nachkontrolle der Reinigung und Desinfektion vor Arbeitsbeginn, Sandwich- abteilung
Tab. 17:	Zusammenstellung der Proben und Auswertung der 1. Nachkontrolle
Tab. 18:	Identifizierte positive Stellen
Tab. 19:	2. Nachkontrolle der Reinigung und Desinfektion vor Arbeitsbeginn, Sandwich- abteilung
Tab. 20:	Zusammenstellung der Proben und Auswertung der 2. Nachkontrolle
Tab. 21:	Identifizierte positive Stellen
Tab. 22:	3. Nachkontrolle der Reinigung und Desinfektion nach Produktion vom Wochen- ende vor Arbeitsbeginn, Sandwichabteilung
Tab. 23:	Zusammenstellung der Proben und Auswertung der 3. Nachkontrolle
Tab. 24:	Identifizierte positive Stellen
Tab. 25:	Die 4. mikrobiologische Nachkontrolle der Reinigung und Desinfektion erfolgte in derselben Woche nach der Kontrolle der Wochenendproduktion der Reinigung und Desinfektion vor Arbeitsbeginn, Sandwichabteilung
Tab. 26:	Zusammenstellung der Proben und Auswertung der 4. Nachkontrolle
Tab. 27:	Identifizierte positive Stellen
Tab. 28:	5. Nachkontrolle (am Wochenende) nach der Reinigung und Desinfektion und vor Arbeitsbeginn, Sandwichabteilung
Tab. 29:	Zusammenstellung der Proben und Auswertung der 5. Nachkontrolle
Tab. 30:	6. Nachkontrolle der Reinigung und Desinfektion vor Arbeitsbeginn, Sandwich- abteilung
Tab. 31:	Zusammenstellung der Proben und Auswertung der 6. Nachkontrolle
Tab. 32:	Identifizierte positive Stellen
Tab. 33:	7. Nachkontrolle der Reinigung und Desinfektion vor Arbeitsbeginn, Sandwich- abteilung
Tab. 34:	Zusammenstellung der Proben und Auswertung der 7. Nachkontrolle
Tab. 35:	Identifizierte positive Stellen
Tab. 36:	Zusammenstellung der Proben und Auswertung der 8. Nachkontrolle
Tab. 37:	9. Nachkontrolle der Reinigung und Desinfektion vor Arbeitsbeginn, Sandwich- abteilung
Tab. 38:	Zusammenstellung der Proben und Auswertung der 9. Nachkontrolle
Tab. 39:	Zusammenstellung der Proben und Auswertung der 10. visuellen Nachkontrolle
Tab. 40:	Zusammenstellung der Proben und Auswertung der 10. Nachkontrolle
Tab. 41:	Zusammenstellung der Proben und Auswertung der 11. mikrobiologischen Nach- kontrolle
Tab. 42:	Zusammenstellung der Proben und Auswertung der 11. Nachkontrolle
Tab. 43:	Zusammenstellung der Proben und Auswertung der 12. mikrobiologischen Nach- kontrolle
Tab. 44:	Zusammenstellung der Proben und Auswertung der 12. Nachkontrolle
Tab. 45:	Zusammenstellung der Proben aus den Nachkontrollen
Tab. 46:	Zusammenstellung der genotypisierten Proben mit den Probe-Entnahmestellen der 11 Nachkontrollen

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei all denjenigen bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Besonderer Dank geht an:

Herrn Prof. Dr. Albert Fischer.

Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. Andreas Stolle für die Möglichkeit und Durchführung dieser Dissertation.

Herrn Prof. Dr. Roger Stephan, Institut für Lebensmittelsicherheit und -hygiene, Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich, für die gewährte Betreuung und die wertvolle Unterstützung in allen Fragen, für die konstruktiven und interessanten Gespräche und Diskussionen, die intensive und lehrreiche Zeit.

Frau Dr. Simona Blatter für die konstruktive und gute Zusammenarbeit.

Meinen Freundinnen Ingrid Eßwein, Dr. Suzanne Aebi und Elisabeth Wegeleben.

Meiner großartigen Tante Dorle, die immer an mich geglaubt und mich ermutigt hat, die Idee der Promotion zu verwirklichen.

Meinen Eltern, die ich mit dieser Promotion überraschen wollte, wobei mein Vater mittlerweile leider verstorben ist.