

## Vergleichende Untersuchung von Abklatsch- und Tupfverfahren zur Keimzahlbestimmung von gereinigten und desinfizierten Schlachtviehtransportern

Nicole Geisthardt, Susanne Döring, Sabrina Linnemann, Marcus Mergenthaler, Marc Boelhauve

### Einleitung

In §2 der Viehverkehrsverordnung (ViehVerkV 2010) sind umfassend die Anforderungen an Viehladestellen geregelt, damit diese leicht zu reinigen und zu desinfizieren sind. Des Weiteren bestehen für Schlachthöfe spezifische Hygienevorschriften, so dass Reinigungs- und Desinfektionsmöglichkeiten für Viehtransporter vor Ort gegeben sein müssen oder über eine amtliche Zulassung ein Ausweichort angefahren werden darf (VO (EG) Nr. 853/2004). In der Modifikation des niedersächsischen Hygieneleitfadens für die Rinderhaltung wird zusätzlich auf die Risiken der Verschleppungsmöglichkeiten von Erregern über Tiertransportmittel hingewiesen (LWK NRW, 2015).

Allein durch eine gut ausgeführte Reinigung kann eine tausendfache Minderung von Bakterien auf Oberflächen mit organischen und anorganischen Verschmutzungen erfolgen. Diese bildet damit die Basis für eine im vollen Umfang wirksame Desinfektion (MAYR et al. 2007).

Genaue Empfehlungen oder Anweisungen bezüglich Dauer und Vorgehensweise der Reinigung und des Desinfektionsmitteleinsatzes der Transporter vor Verlassen des Schlachthofes fehlen jedoch bislang (Döring et al. 2016). Grundlegende Fragen, die sich hieraus für die vorliegenden Untersuchungen ergaben, waren daher: In welchem hygienischen Zustand befinden sich Viehtransportfahrzeuge, die den Schlachthof verlassen, und mit welchen Verfahren lässt sich der mikrobiologische Nachweis von Keimen zur Erfassung des Umsetzungsgrades der Reinigung und Desinfektion erbringen.

### Material und Methoden

Der Abgleich der Keimbestimmungsverfahren wurde als Pretest angelegt; beprobt wurden nur innerbetriebliche Fahrer eines nordrheinwestfälischen Schlachthofes. Der Untersuchungszeitraum erstreckte sich von Juni bis Juli 2016. Die Probenahme erfolgte nach willkürlicher Auswahl. Insgesamt wurden sechs LKW-Zugmaschinen und vier LKW-Anhänger untersucht (6 x Schwein, 4 x Rind). Beprobte wurde direkt nach Reinigung und Desinfektion anhand eines standardisierten Schemas in drei Wiederholungen je Probenort. Wie in den Abbildungen 1 und 2 dargestellt, wurden im Inneren des Transporters vier feste Probenorte (Boden, Decke, Seitenwand, Abtrennung) bestimmt. Zudem wurden Proben von der Stiefelablage sowie von einem flexiblen Probenort genommen. Probenorte, die schwer erreichbar waren, entfielen.



Abb. 1 (oben) und 2 (unten): Schema der Probenahme im Inneren des Viehtransportfahrzeugs

Die quantitative Bestimmung aerober Keime erfolgte in zwei vorab gewählten Verfahren. Im Abklatschverfahren wurde das Nährmedium Caso Agar mit Enthemer PLUS für die Gesamtkeimzahl (GKZ) und der Kristallviolett Galle Glucose Agar ohne Enthemer zur Bestimmung der Enterobacteriaceae (Coliforme Keime) auf Oberflächen eingesetzt. Anwendung, Bebrütung und Auswertung erfolgten im Standardverfahren. Im zweiten Verfahren erfolgte die Probenahme mit einem Tupfer (15 mm x 25 mm Auflagefläche) auf 10 cm Strecke. Der Tupfer wurde vor der Probenahme in gepuffertes Peptonwasser getaucht und auch in diesem Medium, was zur Auswertung als Ausgangssuspension funktionierte, transportiert. Die Probenahme erfolgte mit Einmalhandschuhen, die nach jeder einzelnen Probe mit Sterillium desinfiziert und nach jedem Viehtransportfahrzeug gewechselt wurden. Die Proben wurden bis zur Laboranlieferung durchgehend in einer Thermobox gekühlt. Zur Ausplattierung der Proben wurden der Plate Count Agar (APHA) ohne Enthemer zur Bestimmung der GKZ sowie das Selektivnährmedium REBECCA zur Bestimmung von  $\beta$ -D-Glucuronidase-positiven Escherichia coli (E. coli) und Enterobacteriaceae verwendet. Für die Auswertung bzw. Bestimmung der koloniebildenden Einheiten (KbE) wurde eine Verdünnungsreihe bis zur Stufe 3 ( $10^{-3}$ ) angelegt.

Der angestrebte Umfang der Untersuchung belief sich bei den Abklatschproben für die Gesamtkeimzahl und Coliforme Keime auf 360 Proben (10 LKW \* 6 Probenorte \* 3 Wiederholungen je Probenort \* 2 Abklatschproben). Der E. coli Nachweis wurde über dieses Verfahren aufgrund des Fehlens eines vergleichbaren Nährmediums nicht durchge-

führt. Insgesamt wurden 162 Tupferproben genommen und auf jeweils drei verschiedene Platten für GKZ, Coliforme Keime und E.Coli gebracht. Eine Differenzierung der Agar-Platten erfolgte nach den Kategorien: „Nicht zählbar“ (n.z.) und „Nicht auswertbar“ (n.a.). Als nicht zählbar deklariert wurden alle Platten mit  $\geq 200.000$  KbE/cm<sup>2</sup>. Nicht auswertbar waren Agar-Platten, mit Überwucherungen mit Actinomyceten, Pilzen oder mit nicht differenzierbarem Wachstum.

### Ergebnisse

In der Übersicht zur Fahrzeugbeprobung in Tabelle 1 sind deutliche Unterschiede zwischen den Ergebnissen aus Abklatsch- und Tupferproben zu erkennen. Die Anteile an nicht zählbaren sowie nicht auswertbaren Proben aus der Gesamtkeimzahlbestimmung sind um den Faktor 11 bzw. 3,6 höher, wenn es sich um Abklatschproben handelte. Für die Tupferproben wurde für coliforme Keime sowie E. coli derselbe geringe Prozentsatz an zu verwerfenden Proben ermittelt. Für die Abklatschproben waren auch hier diese Anteile um ein Vielfaches höher. Insgesamt wurden 87% des angestrebten Probenumfangs erreicht.

**Tab. 1: Übersicht zur Beprobung der 10 Fahrzeuge (Zugmaschine oder Anhänger) mittels Abklatsch- und Tupferverfahren**

Art der Probe	Abklatschproben		Tupferproben			Gesamt
	Gesamt-keimzahl	Coliforme Keime	Gesamt-keimzahl	Coliforme Keime	E.coli	
untersuchte Keime						
Anzahl Proben	149	150	162	162	162	785 (100%)
davon nicht zählbar	66 (44%)	19 (13%)	6 (4%)	1 (1%)	1 (1%)	93 (12%)
davon nicht auswertbar	47 (32%)	4 (3%)	15 (9%)	1 (1%)	1 (1%)	68 (9%)

### Diskussion

Unter den gegebenen Praxisbedingungen wurde mit einem erzielten Probenumfang von 87% ein zufriedenstellendes Ergebnis erreicht. Die Differenz zu 100% ergab sich dadurch, dass die Transporterdecke für den Probennehmer nicht immer erreichbar war und, dass nicht jedes Fahrzeug über ein Stiefelfach verfügte.

Aus mikrobiologischer Sicht ist anhand der Ergebnisse abzuleiten, dass sich das Tupferverfahren für die Kontrolle des Ist-Zustandes der Viehtransporter besser eignet, da hier der Anteil an zählbaren und auswertbaren Proben um ein Vielfaches höher lag. Die Probennahme vor Ort war jedoch durch die sterile Handhabung des Tupfers sowie der Umgang mit dem Peptonwasser gefüllten Medium, aufwändiger. Positiv zu beurteilen ist, dass von nur einem Tupfer mehrere Auswertungen erfolgen konnten, während bei den Abklatschproben nur eine Keimart pro Agarplatte auswertbar war und die Analyse von

E.coli aufgrund des Fehlens eines vergleichbaren Nährmediums entfallen musste.

Anzumerken ist das gute Ergebnis der auszählbaren Agarplatten ohne Enthemer bei den Tupferproben. Dem gegenüber steht eine hohe Anzahl der nicht zählbaren Abklatschplatten mit Enthemer. Dieses könnte auf eine nicht sachgemäße Anwendung von Desinfektionsmittel nach der Reinigung der Viehtransporter hinweisen oder auf ein nicht korrektes Mischungsverhältnis eines Desinfektionskonzentrats Aufschluss geben.

Das vorab erstellte Schema zur Beprobung war, außer bei den flexiblen Proben, nicht auf „Dreckecken“ ausgelegt. Die ausgewählten Punkte waren in jedem Fall gut für die reinigende Person zu erreichen, sodass es nicht zu einer negativen Verfälschung des Ergebnisses beitrug. Anders wurde es mit den flexiblen Proben gehandhabt. Diese wurden auch in offensichtlich verunreinigten Flächen, ebenfalls in drei Wiederholungen, eingesetzt. Alle Orte, auch die Proben von der Stiefelablage, die offensichtlich nicht zu den Gegenständen der regelmäßigen Reinigung zählten, flossen mit in das Ergebnis ein. Die Proben wurden, bis auf zwei Ausnahmen, immer von derselben Person genommen, sodass ein Einfluss aufgrund von unterschiedlichem Probennahmeverfahren auszuschließen ist.

Trotz des aufwändigeren Probennahmeverfahrens, wurde anhand der vorliegenden Ergebnisse des Pretests das Tupferverfahren als das geeignetere angesehen und somit in einer anschließenden Hauptuntersuchung mit erweitertem Stichprobenumfang eingesetzt. Die erzielten Ergebnisse werden an anderer Stelle publiziert.

**Danksagung/Finanzierung:** Diese Arbeit wurde von der Tierseuchenkasse NRW finanziert.

### Quellen:

- DÖRING S., GEISTHARDT N., BOELHAUVE M., MERGENTHALER M (2016): Hygienebewusstsein von Viehtransportfahrern an einem NRW-Schlachthof, Notizen aus der Forschung. Nr. 04/August 2016, FH SWF.
- VIEHVERK (2010): Verordnung zum Schutz gegen die Verschleppung von Tierseuchen im Viehverkehr in der Fassung der Bekanntmachung vom 3. März 2010 (BGB1. I S. 203), zuletzt geändert durch Art. 387 der Verordnung vom 31. August 2015 (BGB1. I S.1474).
- VO EG 853 (2004): Verordnung (EG) NR. 853/2004 des europäischen Parlaments und des Rates vom 29. April 2004 mit spezifischen Hygienevorschriften für Lebensmittel tierischen Ursprungs.
- LWK NRW (2015): Modifikation der Stufe 1 des niedersächsischen Hygieneleitfadens für die Rinderhaltung als Arbeitsgrundlage für NRW.
- MAYR A., BÜTTNER M., GEBEK B., KAADEN O.-R., KRÜBER M., SEIDLER T., SEBLITZ H.-J. (2007): Grundlagen der Allgemeinen Medizinischen Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre, Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre, Mayr A., Enke Verlag in MVS Medizinverlage, Stuttgart.