

Umfeld- versus Endproduktmonitoring – Praktische Erfahrungen bei der Kontrolle von *Salmonella*-Kontaminationen im Umfeld einer Milchtrocknungsanlage

Von P. Hammer, K. Knappstein und P. Teufel

Institut für Hygiene und Produktsicherheit, Bundesforschungsanstalt für Ernährung und Lebensmittel – Standort Kiel, Postfach 6069, D-24121 Kiel

1. Einführung

Die Herstellung von Milchpulver hat im Laufe der vergangenen ca. 20 Jahre einen deutlichen Wandel im Stellenwert erfahren. Was früher als Verwertung von Überschüssen eher stiefmütterlich behandelt wurde, ist inzwischen vielerorts zu einer hochwertigen Produktion mit höchsten hygienischen Ansprüchen geworden. Milchpulver ist ein wichtiges Basisprodukt, das z.B. bei der Herstellung von Babynahrung, in der Süßwarenindustrie, bei der Fleischverarbeitung, in der Pharmaindustrie oder bei der Futtermittelherstellung vielfältig Verwendung findet. Für Länder mit subtropischem oder tropischem Klima ist es zudem eine gute Möglichkeit, Probleme bei der Lagerung von Flüssigmilch zu umgehen und dennoch die Bevölkerung mit Trinkmilch zu versorgen. Die Produktpalette ist sehr vielfältig und reicht vom einfachen Magermilchpulver bis zu Spezialpulvern, die je nach Anforderungen der Abnehmer mit verschiedensten Zusätzen angereichert sein können.

Zu jeder Zeit war das Vorkommen von *Salmonella* spp. in den Milchtrocknungsbetrieben eine nicht zu unterschätzende Gefahr für die Produktqualität und letztendlich auch für den Konsumenten. Letzteres wurde in Deutschland eindrucksvoll durch einen Ausbruch mit *Salmonella* (S.) *Infantis* belegt, der durch Ausgabe von Milchpulver aus Interventionsbeständen an die Bevölkerung im Zusammenhang mit dem Reaktorunfall von Tschernobyl bedingt war (1). Die Gefährdung des Verbrauchers kann dabei im wesentlichen auf zwei Wegen entstehen: a) Es kommt zu einer Vermehrung von Salmonellen nach Auflösung des Produktes durch zu langes Stehenlassen bei entsprechender Temperatur. b) Durch die im Trockenzustand stark erhöhte Widerstandskraft der Salmonellen, werden diese befähigt auch weitere Prozessschritte, z.B. bei der Süßwarenherstellung, zu überstehen. Auch wenn in Trockenprodukten oft nur sehr geringe Salmonella-Zahlen vorkommen, kann durch hohe Produktionsraten eine große Zahl von Personen exponiert werden, von denen sich einige dann ggf. infizieren. Ein gutes Beispiel hierfür, das allerdings nicht aus dem Milchpulverbereich stammt, ist ein durch Salmonellen in Paprikapulver verursachter Erkrankungsausbruch. Hier wurde 1993 in Deutschland ein Ausbruch mit *S. Saintpaul*, *S. Rubislaw* und *S. Javiana* verursacht, der trotz einer Erkrankungsrate von nur 1:10.000 aufgrund der großen Menge kontaminierter Produkte immerhin zu 1.000 bakteriologisch abgesicherten Erkrankungen führte (2). Die minimale infektiöse Dosis wurde in diesem Fall auf 4-45 Bakterienzellen geschätzt.

Ein Prozessablauf für die Herstellung von Magermilchpulver ist in Abb. 1 skizziert. Je nach Hersteller und Bauweise der Anlage sind viele Modifikationen im Bereich Eindampfung, Sprühtrocknung und Fließbett-Trocknung/Kühlung möglich. Die Sprüh-

trocknung erfolgt üblicherweise in einem klassischen Trockenturm mit nachgeordnetem Fließbett. Eine moderne, sehr variabel einzusetzende Entwicklung stellt der Bandtrockner dar, bei dem das Fließbett Bestandteil des Turmes ist.

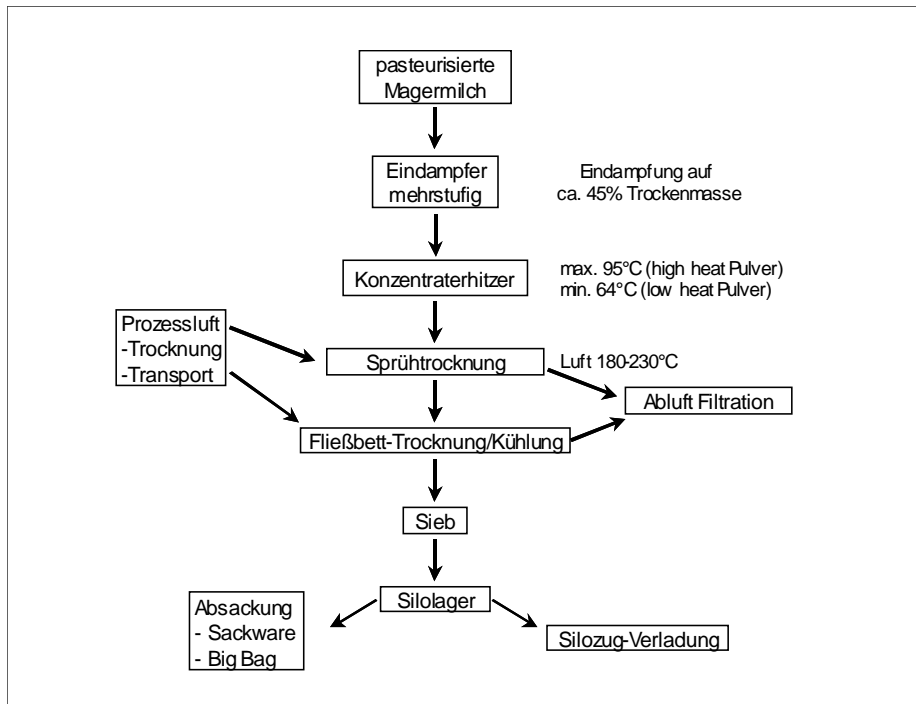


Abb. 1: Beispielhafter Prozessablauf für die Herstellung von Magermilchpulver

Die starke thermische Behandlung der Rohmilch durch die Pasteurisierung, die Eindampfung und die Sprühtrocknung führt zu einer sehr hohen Prozesssicherheit. Ein Eintrag von Salmonellen in das Endprodukt auf diesem Wege kann nahezu ausgeschlossen werden. Im Umfeld der Produktionsanlagen vorhandene Salmonellen können jedoch durch Rekontamination zu einer Gefährdung des Produktes führen.

Das Eindringen von Salmonellen in die Milchtrocknungsbetriebe erfolgt oft, zunächst unbemerkt, z.B. durch Undichtigkeiten im Dachbereich oder über unzureichend gefilterte Prozessluft (3, 4, 5, 6). Darüber hinaus kommen belebte Vektoren, wie Insekten, Nager, Vögel und der Mensch sowie unbelebte Vektoren, wie Verpackungsmaterial, Paletten, Fahrzeuge und vieles mehr für eine Betriebskontamination in Frage (7). Hat sich die Kontamination etabliert, lässt sich im betroffenen Betrieb oft über viele Jahre dasselbe Serovar nachweisen (4, 5, 8, 9, 10). Dieses erklärt sich unter anderem aus der hohen Adaptierbarkeit der Salmonellen an Trockenheit und der im eingetrockneten Zustand erhöhten Resistenz gegenüber Umwelteinflüssen (8, 10, 11). Eine Salmonellen-Kontamination des Umfeldes birgt die Gefahr von Rekontaminationen des Produktes. Abhängig von der Prozessstufe, auf der dies geschieht und abhängig von eventuellen Vermehrungsmöglichkeiten innerhalb des Herstellungsprozesses, kommen mehr oder weniger starke Kontaminationen des Endproduktes vor. Sehr kritisch ist eine Kontamina-

tion von zwischengelagertem und vor der Sprühtrocknung nicht mehr erhitzten Konzentrates zu sehen, da eine Vermehrung von Salmonellen noch bei bis zu 60% Trockenmasse und Temperaturen bis zu 44 °C möglich ist (3). Die längere Zwischenlagerung von Konzentrat ist nicht generell üblich, sehr häufig werden aber Konzentratmengen von einigen tausend Litern in Ausgleichstanks, zwischen denen in 3-4 stündigem Rhythmus gewechselt wird, gelagert. Dies ist notwendig um einen gleichmäßigen Betrieb des Turmes zu gewährleisten. Werden auf dieser Stufe Salmonellen eingeschleppt, ist eine völlige Inaktivierung während der Trocknung nicht gegeben, da die bei der Trocknung entstehende Verdunstungskälte in Abhängigkeit von der Tröpfchen- und später Pulverklümpchengröße schützend wirkt (3, 13). Zum Nachweis einer Kontamination auf dieser Stufe ist besonders die Untersuchung von Siebpulver geeignet, da in diesem größere Pulverklümpchen und von der Turmwandung abgefallene Pulveraggregate konzentriert werden. Die Wahrscheinlichkeit, in solchen Partikeln überlebende Salmonellen nachzuweisen, ist naturgemäß höher (14). Sporadische Kontaminationen entstehen, im der Vorstapelebene nachgelagerten Bereich, z.B. durch in der Turmisolierung vorhandene Salmonellen, die durch das beim Anfahren des Turmes entstehende Vakuum durch feine Risse in der Turmwandung angesaugt werden können (15). Aufgrund dieser Zusammenhänge und empirischer Erkenntnisse wird oft der "erste Sack" der Tagesproduktion zur Kontrolluntersuchung auf die Abwesenheit von Salmonellen herangezogen (16).

Der Nachweis sporadischer Kontaminationen im Endprodukt ist ausgesprochen schwierig. Die ungleichmäßige Verteilung und das Vorliegen der Salmonellen in "Nestern" erschweren es, mit Stichprobenplänen die Kontamination einer Charge nachzuweisen (4, 17, 18). Je geringer die Kontamination ist, desto umfangreicher müsste die Stichprobe sein, um einen Fehler noch zu entdecken. Legt man eine Stichprobe von 60 Einzelproben à 25 g pro Charge zugrunde, dann würde man bei einer Kontaminationsrate von 10% der Einzelproben praktisch alle fehlerhaften Chargen entdecken, bei einer Kontaminationsrate von 2% aber nur noch zwei Drittel der Chargen (19). Da in Milchpulver bei ordnungsgemäßer Herstellung aber wesentlich geringere Kontaminationsraten zu erwarten sind, wird die Entdeckung solcher Chargen sehr unwahrscheinlich (18). Zwar wird seit längerem versucht, durch eine höhere Zahl von Einzelproben pro Stichprobe, z.B. 300 Einzelproben à 2,5 g (mit automatischem Probenehmer gewonnen) die Trefferwahrscheinlichkeit zu erhöhen (18), dennoch steht der analytische und finanzielle Aufwand für die Untersuchung zum erwartbaren Ergebnis in einem sehr ungünstigen Verhältnis. Vor dem Hintergrund der Annahme, dass wenn Salmonellen im Produktionsumfeld nicht vorkommen, auch eine Rekontamination des Endproduktes auszuschließen ist, ist die Untersuchung von Proben aus dem Umfeld deutlich sinnvoller (4, 5, 6).

Ziel eines Umfeldmonitorings ist, zunächst den Kontaminationsstatus eines Betriebes zu ermitteln und dann unter laufender mikrobiologischer Kontrolle die vorhandene Kontamination soweit zurückzudrängen, dass eine sichere Produktion jederzeit gewährleistet ist. Probenahmepunkte und -frequenz sind dabei werksspezifisch festzulegen, wobei es wesentlich auf Erfahrung und Wissen über die Auswirkung von Verletzungen der "Guten Hygiene Praxis" in einem komplexen Produktionsprozess ankommt. Geeignete statistische Ansätze sind in diesem Zusammenhang bisher nicht bekannt (19).

Ein intensives Umfeldmonitoring ist zudem geeignet, die Wirksamkeit von Hygienemaßnahmen zu überprüfen (4, 20). Als Indikatoren für unzureichende Produktionshygiene sind Coliforme oder *Enterobacteriaceae* geeignet, da diese ähnliche Verbreitungswege wie Salmonellen aufweisen (4). Wichtige Hygienemaßnahmen im Umfeld der Milchpulverproduktion sind die strikte Vermeidung von Feuchtigkeit (14) und die Entfernung von als Nährstoffgrundlage und Träger von Bakterien dienenden Milchpulverresten (21). Manche Hersteller sehen heute die Vermeidung von Feuchtigkeit als derart wichtig

an, dass dort nur eine reine Trockenreinigung mit mechanischen Mitteln und sogar ein völliger Verzicht auf Desinfektionsmaßnahmen praktiziert wird. Dies ist gut nachvollziehbar, hält man sich vor Augen, dass Milchpulver hygroskopisch ist (21) und dass ein aus 7 m Höhe herabfallender Tropfen Kondenswasser von 5 mm Durchmesser beim Aufschlag bis zu 5000 Mikrotröpfchen erzeugen kann (22). Jede Nassreinigung hat vor diesem Hintergrund ein erhebliches Gefährdungspotenzial, das in der Aktivierung und Weiterverbreitung einer möglichen Salmonellenkontamination liegt (23, 24). Andererseits sollte bedacht werden, dass getrocknete Salmonellen sich vermutlich wie Feinstaub verhalten und entsprechend mobilisierbar sind.

Ziel aller Maßnahmen bei einer als dauerhaft erkannten Kontamination eines Betriebes mit Salmonellen und anderen unerwünschten Keimen muss es sein, die sogenannten Kausalketten zu unterbrechen (3, 5, 15, 25). Hiermit ist gemeint, dass Ereignisse, die beim Zusammentreffen oder Aufeinanderfolgen zwangsläufig zu einer Kontamination des Endproduktes führen würden, verhindert werden müssen. Allgemein anerkannte Maßnahmenpakete für diesen Zweck sind die Gute Herstellungspraxis (GHP) und das HACCP-Konzept.

In vorliegender Arbeit soll gezeigt werden, dass unter Berücksichtigung der oben aufgeführten Gesichtspunkte trotz Kontaminationsgefahr durch Salmonellen durch ein permanentes Umfeldmonitoring und ständig angepasste Hygienemaßnahmen über einen langen Zeitraum eine sichere Produktion gewährleistet werden kann.

Weiterhin sollte das langjährige Auftreten von Stämmen derselben Serovare in einem Betrieb untersucht werden. Im Hinblick auf betriebsepidemiologische Fragestellungen wurden hierzu stichprobenhaft über einen Zeitraum von fast 10 Jahren gesammelte Stämme mit der Pulsfeld-Gelelektrophorese (PFGE) auf Ähnlichkeit geprüft.

2. Material und Methoden

2.1 Trocknungswerk

Im folgenden werden einige grundlegende Angaben zu Aufbau, Struktur und Historie des betrachteten Trocknungswerkes gemacht.

Das Werk stellt nach mehrstufiger Eindampfung mit mehreren Trockentürmen Sprühpulver her, wobei es sich überwiegend um Sprühmagermilchpulver und Molkepulver handelt. Die Zwischenlagerung der Produkte erfolgt in einem umfangreichen Silolager. Es können sowohl Sackware, wie auch sog. Big-Bags befüllt werden; zusätzlich ist die direkte Silozugbeladung möglich (Abb. 1).

In dem Werk wurden ca. 1988 die als Hauptkontaminationsquelle erkannten Nasswäscher (5) ausgetauscht und durch eine Textilfilteranlage ersetzt. Die Nasswäscher wurden verwendet, um durch Versprühen eines Wassernebels in der Turmabluft noch vorhandene Milchpulverreste niederzuschlagen. Das mit Pulver angereicherte Wasser wurde in einer Wanne aufgefangen und bei ca. 40 °C über 3-4 h rezirkuliert. Die Anlage stand auf dem Turmdach und war durch sich im Abdampfbereich bildende Milchpulverschlämme für Vögel sehr attraktiv. Daher wurde bei gleicher Gelegenheit das Dach des Turmgebäudes erneuert und durch eine Konstruktion aus dünnen Drähten zudem Vögel wirksam vom Dach ferngehalten. Vor diesen Baumaßnahmen und auch danach wurde bei sporadischen Untersuchungen im Umfeld immer wieder *S. Mbandaka* nachgewiesen. 1994 wurde systematisch begonnen mit der Erweiterung des Umfeldmonitorings und der Erfassung aller positiven Befunde mögliche weitere Kontaminationsquellen einzugrenzen.

2.2 Probenahme

Endprodukt

Die Probenahme für Endprodukte erfolgte mit automatischen Probenehmern, die am Turm direkt nach der Siebanlage oder im Zulauf der Wiegebehälter für die Absackung lagen. Hierbei wurden kontinuierlich Teilmengen von 2,5 g aus dem Produktstrom entnommen. Von jeder Charge wurde so eine Sammelprobe gezogen. Eine Charge ist dabei definiert als Tagesproduktion desselben Produktes. Die Sammelprobe enthielt mindestens 1,5 kg Produkt, je nach Chargengröße und Leistung des Turmes konnten dies bis zu 3 kg sein. Zur Untersuchung auf Salmonellen gelangten 750 g je Charge. Pro Jahr wurden mehr als 700 dieser Proben untersucht.

Umfeld

Die Probenahme im Umfeld erfolgte durch Wischverfahren sowie durch Entnahme von Gullyflüssigkeit, Staubsauger- und Fegepulver. Für die Wischproben wurden mit doppelt gepuffertem Peptonwasser getränkte Mull- oder Schwammtupfer verwendet. Zur Durchführung besonders geeignet sind sterilisierte Tiegelzangen. Nach Entnahme der Probe wurde die befeuchtete Fläche grundsätzlich desinfiziert, um eine Aktivierung eventueller bakterieller Kontaminationen durch die Nährlösung zu unterbinden. Gullyflüssigkeit wurde mit sterilen Kunststoff-Einmalpipetten entnommen, wenn vorhanden mindestens 50 ml. Bei Staubsauger- und Fegepulver wurde die jeweils angefallene Menge untersucht, jedoch nicht mehr als max. 250 g. Zu den Umfeldproben wurden auch das Filter- und Siebpulver gerechnet. Hiervon wurden jeweils 750 g untersucht. Die Probenahmefrequenz für das Umfeld lag je nach Probenahmestelle bei einmal pro Woche oder bei einmal pro zwei Wochen. Das Probenahmeraster für das Umfeldmonitoring wurde bei regelmäßigen Betriebsbegehungen (ein- bis zweimal pro Jahr) überprüft und ggf. modifiziert. Pro Woche wurden regelmäßig 25 Proben untersucht. Zusätzlich zu den regelmäßig untersuchten Proben wurden nach positiven Befunden weitere Proben, meist Wischproben, gezogen, um die Kontaminationsquelle einzugrenzen. Auch während und nach Baumaßnahmen wurden in erweitertem Umfang Proben gezogen. Insgesamt wurden pro Jahr jeweils mehr als 1300 Proben untersucht.

2.3 Bakteriologische Methode

Für den bakteriologischen Nachweis von Salmonellen wurde die Methode der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB („Horizontales Verfahren für den Nachweis von Salmonellen“, Nr. L 00.00-20) verwendet, jedoch gemäß den Untersuchungen von Hahn und Schleert (26) sowie Hahn (27) an die Untersuchung von Trockenmilch angepasst.

Voranreicherung

Milch- und Molkepulver wurden in einem Mengenverhältnis von 1:10 in einer auf 37 °C vorgewärmten, doppelt gepufferten Salzlösung (entspricht in der Zusammensetzung doppelt gepuffertem Peptonwasser ohne Pepton) homogenisiert und 18-24 h bei 37 °C inkubiert. Proben aus dem Umfeldmonitoring wurden in gleicher Weise behandelt, hier wurde aber das komplette doppelt gepufferte Peptonwasser (Oxid) verwendet.

Selektive Anreicherung

Zur selektiven Anreicherung wurden 0,1ml der Voranreicherung in 10 ml Rappaport-Vassiliadis-Sojamehlpepton-Medium (RVS) (Oxoid) inokuliert und 18-24 h bei 42 °C inkubiert.

Isolierung

Die Isolierung erfolgte durch Ausstreichen von zwei Ösen (Durchmesser 5 mm) aus RVS auf eine Xylose-Lysin-Desoxycholat (XLD)-Platte (Oxoid) als festes Selektivmedium (je 1 Öse auf ½ Platte) und anschließende Inkubation für 18-24 h bei 37 °C.

Bestätigung

Verdächtige Kolonien von XLD-Agar wurden auf Blutagar fraktioniert ausgestrichen und für 18-24 h bei 37 °C inkubiert.

Zur vorläufigen Bestätigung wurden Einzelkolonien mit omni- und polyvalentem (I-III) Serum (Behringwerke) agglutiniert. Bei unklarem serologischen Ergebnis und bei selbst-agglutinierenden Stämmen erfolgte eine weitere biochemische Bestätigung mit API 20E (bioMérieux).

Zur endgültigen Bestätigung wurden die Salmonella-Isolate serologisch typisiert¹.

2.4 Salmonella-Stämme

Positive Salmonella-Befunde wurden seit 1994 erfasst. Seit 1996 wurde jedes Isolat serologisch typisiert¹. Seit Mitte 1999 wurden alle Isolate systematisch gesammelt und unter Zusatz von 10% Glycerin bei -80 °C konserviert (einige Isolate waren sporadisch auch vorher gesammelt worden). Derzeit befinden sich 58 Isolate *S. Mbandaka*, 6 Isolate *S. Ohio* und 18 Isolate *S. Senftenberg* in der Sammlung. Mit PFGE wurden alle *S. Ohio*-Stämme, 12 *S. Mbandaka* sowie 16 *S. Senftenberg* geprüft. Zum Vergleich wurden zusätzlich 3 *S. Mbandaka* aus einem anderen Trocknungswerk und ein Referenzstamm *S. Senftenberg* (DSM 10062) geprüft.

2.5 Pulsfeld-Gelelektrophorese (PFGE)

Herstellung der Inserts

- Animpfen der Referenzstämme und Feldisolate auf Blutagar, Inkubation 18 h bei 37 °C
- Agarplatte abschwemmen mit PBS und 70 µl Keimsuspension 15 min bei 4°C und 14.000 g zentrifugieren
- Überstand verwerfen, Pellet 10 min bei 50 °C vorwärmen
- Pellet mit 1 ml auf 50 °C angewärmter 0,8% InCert®-Agarose (BMA-Products, USA) in 0,5 x TBE (Sigma) überschichten, vorsichtig suspendieren
- pro Probe 2 Inserts à 100 µl in Gießform (Plug Mold, Bio-Rad) ausgießen, 30 min bei 4-8°C erstarren lassen

¹ Institut für Hygiene und Mikrobiologie der Christian-Albrechts-Universität, Kiel oder Nationales Referenzlabor für Salmonellen am Bundesinstitut für Risikobewertung, Berlin

- Inserts in 1,5 ml EC-Lysispuffer überführen (EC-Lysispuffer: 1 M Tris-HCl pH 8,0, 0,5 M EDTA, 5 M NaCl (Merck), 10 mg/ml N-Lauroyl-Sarcosin (Sigma), 2,5 µg/ml DNase freie RNase (Roche))
- 22-24 h bei 37 °C inkubieren
- Lysispuffer entfernen und 1,5 ml ESP-Lösung zugeben (ESP-Lösung: 0,5 M EDTA, 10 mg/ml N-Lauroyl-Sarcosin, 1 mg/ml Proteinase K (Sigma)), 22-24 h bei 50 °C inkubieren
- Inserts in 1,5 ml TE-Puffer überführen (TE: 1 M Tris-HCL, 0,5 M EDTA, pH 8,0), 10 x vorsichtig mischen, Puffer verwerfen
- 6 x mit 1,5 ml TE-Puffer waschen für je 30 min bei 37 °C
- Aufbewahrung der Inserts in TE-Puffer bei 4-8 °C bis zu einem Jahr

Restriktionsverdau

- ½ Blöckchen eines Inserts auf 2,5 x 5 mm zuschneiden, 30 min in Restriktionspuffer (Fermentas) äquilibrieren, Puffer verwerfen
- Restriktion: verwendete Enzyme: Xba I, Spe I, Not I, Bln I (Fermentas), pro Enzym 25 U in 150 µl Restriktionspuffer, Inkubation 18-20 h bei 37 °C
- Enzymlösung entfernen und 200 µl Stopplösung (2,7 % Ficoll 400 (Calbiochem), 0,01 % Bromphenolblau (Merck) in 0,5 x TBE) zugeben, 30 min bei 4-8 °C einwirken lassen
- Inserts direkt aus der Stopplösung in die Slots des Gels geben, mit etwas Agarose (s.u.) befestigen

Elektrophorese

- Laufgel: 1 % Seakem Gold-Agarose (BMA Products, USA) in 0,5 x TBE
- Längenstandard: I- Ladder (Sigma, Pulse Marker™ 50-1000 Kbp)
- Elektrophorese mit CHEF-DR® III Pulsfeld-Elektrophoresesystem (Bio-Rad) bei 6 V/cm und einem Winkel von 120 °C, Laufpuffer 0,5 x TBE mit 100 µM Thioharnstoff (Merck), Gellänge 13 cm
- Laufbedingungen für die einzelnen Enzyme:

	Xba I	Spe I	Not I	Bln I
Pulszeit	5-50 s	4-40 s	1-15 s	20-80 s
Temperatur	10 °C	10 °C	12 °C	10 °C
Laufzeit	22 h	22 h	20 h	20 h

- Färbung mit 0,0005% Ethidiumbromid (Merck) in A. bidest., 35 min, anschließend 40 min in A. bidest. wässern zum Entfärben
- Dokumentation mit Gel Doc 2000 Gerät (BIO-RAD)
- Auswertung mit Quantity One und GelDoc (BIO-RAD), für die Bewertung der Ergebnisse wurde zusätzlich die Arbeit von TENOVER (28) herangezogen.

3. Ergebnisse und Diskussion

3.1 Monitoringergebnisse und Kontrollmaßnahmen

Eine Salmonellen-Kontamination im Umfeld des Milchpulverwerkes wurde 1987 erkannt (5). Vermutlich hatte sich das in diesem Zusammenhang nachgewiesene Serovar *S. Mbandaka* aber bereits lange vorher und unerkannt als "Hauskeim" etabliert. Dem wurde von der Werksleitung durch zahlreiche Umbau- und organisatorische Maßnahmen Rechnung getragen. Allerdings wurden die damals vorgenommenen Umbaumaßnahmen nicht im Sinne eines Umfeldmonitorings durch mikrobiologische Untersuchungen begleitet. Ebenfalls in diesen Zeitraum fielen die organisatorischen Maßnahmen, die durch Einrichtung von Personenschleusen und Gabelstapler-Übergabestationen zur Verwirklichung eines Zonenkonzeptes (engl. "zoning") mit einer abgeschlossenen Produktionszone führten.

Während der Laufzeit des Forschungsprojektes wurden pro Jahr ca. 700 Proben Endprodukt (1994-2004) und ca. 1300 Proben aus dem Umfeld der Trocknungsanlage (1994-2005) untersucht. Im Endprodukt wurden dabei niemals Salmonellen nachgewiesen, die zusammengefassten Befunde des Umfeldmonitorings zeigt Tabelle 1. Im Rahmen des Umfeldmonitorings anfallende Proben von Sieb- und Filterpulver (ca. 100/Jahr) ergaben auch niemals positive Befunde.

Tab. 1: Anzahl der Befunde mit Nachweis von *Salmonella* spp. im Umfeld einer Milch-trocknungsanlage 1994-2005, Routineprobenentnahme (Routine) alle 1-2 Wochen, Sonderprobenentnahme (Extra) nach positiven Befunden bei Routineproben

Jahr	nicht typisiert		<i>S. Mbandaka</i>		<i>S. Ohio</i>		<i>S. Senftenberg</i>		Sonstige Routine
	Routine	Extra	Routine	Extra	Routine	Extra	Routine	Extra	
1994	11	0	-	-	-	-	-	-	-
1995	11	11	-	-	-	-	-	-	-
1996	6	8	4	11	1	9	0	0	0
1997	-	-	20	6	0	0	0	0	0
1998	-	-	28	28	0	0	0	0	2 ¹⁾
1999	-	-	24	8	1	0	0	0	0
2000	-	-	5	4	0	0	1	0	0
2001	-	-	3	0	0	0	8	0	0
2002	-	-	5	0	0	0	1	0	0
2003	-	-	4	6	2	0	7	0	0
2004	-	-	0	0	1	0	3	0	0
2005	-	-	2	2	0	0	5	1	0

¹⁾ *S. Blankendaal*, *S. Livingstone*

S. Mbandaka wurde während der gesamten Projektlaufzeit in dem Werk nachgewiesen, wobei Schwerpunkte in den Jahren 1996 bis 1999 zu beobachten waren. Danach gelangen nur noch vereinzelt Isolierungen. *S. Ohio* trat erstmalig 1996 auf, in den Folgejahren dann aber nur noch sehr vereinzelt. Das dritte Serovar, *S. Senftenberg* wurde

erstmals 2000 isoliert. Diese Kontamination konnte sich deutlich stärker ausbilden und zeigte einen Schwerpunkt besonders im Herbst 2001. Während einer Baumaßnahme 1998 wurden im Rahmen der begleitenden mikrobiologischen Untersuchungen einmalig die Serovare *S. Blankendael* und *S. Livingstone* nachgewiesen.

Die Verteilung positiver Befunde aus dem Routine-Umfeldmonitoring ist in Abbildung 2 dargestellt. Auf die Kontaminationsrate und die damit zusammenhängenden Kontrollmaßnahmen wird im Folgenden für jedes Serovar gesondert eingegangen.

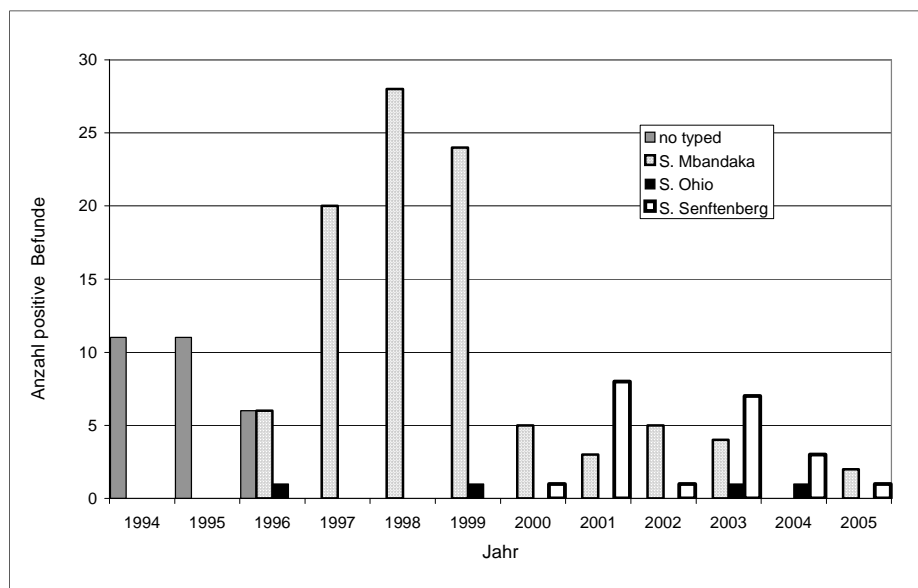


Abb. 2: Nachweis von *Salmonella* spp. im Rahmen des Routine-Umfeldmonitorings in einer Milchtrochungsanlage

S. Mbandaka

Bei *S. Mbandaka* bestand eine verbreitete Kontamination im Umfeld des Trocknungswerkes. Aufgrund der Lokalisation der Befunde für die nicht typisierten Isolate aus den Jahren 1994-1996, kann davon ausgegangen werden, dass es sich auch bei diesen um das Serovar *S. Mbandaka* handelte. Sie wurden nahezu alle begrenzt auf einer Ebene des Turmes erhoben und lassen sich somit einem besonderen Kontaminationsereignis in den Jahren 1994-1997 zuordnen. Die eigentliche Kontaminationsquelle lag auf der Ebene darüber und konnte erst 1997 erkannt und beseitigt werden. Dies erklärt die gleichbleibend hohe Kontaminationsrate von 1994-1997. Das Kontaminationsgeschehen ließ sich wie folgt ermitteln: Auf der Fließbettebene des Turmes befand sich im Anschluss an das Fließbett ein sog. Taumelsieb. Der pyramidenartige, hohle Sockel dieses Siebes war auf dem Rohbetonboden verankert und mit Estrich angeschüttet. Der entsprechende Hohlraum war nicht von außen zugänglich. Nach Öffnung des Sockels wurde in diesem eine massive Salmonellenkontamination mit Unterwanderung des Estrichs festgestellt. Sehr dicht dazu befand sich ein Deckendurchbruch für das Rohr zur Abführung des Siebpulvers. Bei den damals noch recht häufigen Turmwäschen konnte kontaminiertes Wasser aus dem Taumelsiebssockel zwischen Rohbeton und Estrich das Siebpulverrohr

erreichen und an diesem auf die darunterliegende Ebene mit der Siebpulverabsackung herabfließen. Dort wurde die Kontamination durch Personen- und Gabelstaplerverkehr weiterverbreitet, was zu der Befundhäufung auf dieser Ebene führte. Die Sanierung erfolgte durch Installation eines anderen Siebes mit hygienisch unbedenklichem Sockel über dem Estrich. Der alte Gerätesockel wurde entfernt, der unterwanderte Estrich dabei weiträumig, unter ständiger Befeuchtung mit Desinfektionsmitteln und Beaufschlagung mit Sattdampf, abgetragen und ersetzt. Danach waren Salmonellen in diesem Bereich nur noch sehr sporadisch nachweisbar.

Das zweite prägnante Kontaminationsereignis mit *S. Mbandaka* begann Ende 1997 in einem Bereich, der vorher relativ unauffällig gewesen war. Hier kam es durch eine schadhafte Leichtbauwand bei einem Sturm zu einem Wassereinbruch in das Silolager. Dies führte zu einer Aktivierung und Ausbreitung der latent vorhandenen Salmonellenkontamination im Silolager und in der darunterliegenden Absackung. Die Anzahl positiver Befunde in diesem Bereich stieg dadurch sowohl bei den Proben aus dem Routine-Umfeldmonitoring als auch durch die eingeleiteten Verfolgsuntersuchungen stark an. Letztere zeigten ungünstigerweise eine Kontamination von Teilen der Isolierung der Leichtbauelemente, von praktisch nicht zugänglichen Betonhalterungen für diese Bauelemente sowie von Auflagen für Metall-Zwischenebenen auf entsprechenden Betonträgern. Hier wurde die Sanierung durch eine mit entsprechender Vorsicht durchgeführte Baumaßnahme eingeleitet, die Ende 1998 abgeschlossen war. Dennoch war auch 1999 die Anzahl positiver Befunde in diesem Bereich noch auffällig hoch. Durch weitere Verfolgsuntersuchungen konnte der Motor der Zellradschleuse der Aspirationsanlage als Kontaminationsquelle identifiziert werden. Diese Anlage befand sich im Silolager und dient der Ansaugung der bei der Absackung von Milchpulver entstehenden Stäube. Bei Zerlegung des Motors wurden innen am Gehäuse salmonellenhaltige Beläge entdeckt, aus denen offenbar durch die Vibration während des Betriebes immer wieder entsprechend kontaminierte Partikel freigesetzt wurden. Ähnliche Befunde ergaben sich in anderem Zusammenhang bei weiteren Motoren. Während der Baumaßnahme wurden im Rahmen der begleitenden mikrobiologischen Untersuchungen die bisher in dem Werk unbekanntes Serovare *S. Blankendael* und *S. Livingstone* isoliert. Beide traten aber nur in je einer Probe auf und danach nie wieder. Dies zeigt, wie wichtig ein Umfeldmonitoring auch gerade während Baumaßnahmen ist, da hierdurch ein Eintritt von Salmonellen rechtzeitig erkannt werden kann.

Alle nachfolgenden Isolierungen von *S. Mbandaka* ließen sich keinem besonderen Kontaminationsgeschehen mehr zuordnen. Für alle gilt aber, dass sie im Zusammenhang mit einer Nassreinigung oder einem unbeabsichtigten Freisetzen von Wasser aufgetreten sind.

S. Ohio

Die Kontamination eines begrenzten Teiles des Silolagers mit *S. Ohio* wurde erstmalig 1996 nachgewiesen. Durch Nachbeprobung konnte der Kontaminationsweg sehr schnell aufgedeckt werden. Das Fehlverhalten eines Mitarbeiters, der verbotenerweise häufig einen Fluchtweg zum Außendach benutzt hatte, um dort draußen zu rauchen, führte zum Eintrag des Serovars durch einen Elektrobetriebsraum in das Silolager und dort in einen Gully. Da dieser sowieso nicht mehr benötigt wurde, erfolgte die Stilllegung mit Rückbau. Die begleitende mikrobiologische Untersuchung ergab, dass eine geringfügige Undichtigkeit dieses Gullys auch zur Kontamination einer Zwischendecke geführt hatte. Durch Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen gelang eine weitgehende Zurückdrängung

der Kontamination. Im Nachgang zu diesem Ereignis wurden sämtliche Fluchtwege in Außenbereiche verplombt. Die Unversehrtheit der Plomben wird regelmäßig geprüft und eine rigorose Aufklärung bei festgestellter, unbefugter Türöffnung betrieben. Dasselbe Serovar wurde später an der ursprünglichen Eintrittspforte 1999, 2003 und 2004 noch je einmal nachgewiesen, ohne das bei Verfolgsuntersuchungen eine Quelle hätte identifiziert werden können. Vier Wochen vor dem Befund im Silolager 2003 war *S. Ohio* in einem Gully im Eindampferbereich nachgewiesen worden, dies war seitdem der einzige Befund außerhalb der klar begrenzten Kontaminationszone im Silolager. Vor dem Hintergrund dieser Ergebnisse muss ein latentes und sporadisches Vorkommen des Serovars, zumindest in einer begrenzten Region des Werkes, weiterhin angenommen werden.

S. Senftenberg

Das Eindringen von *S. Senftenberg* in den Produktionsbereich erfolgte Ende 2000, vermutlich über eine Personenschleuse im Dachbereich. Diese wird selten benutzt und ist nur für die Wartung der Luftfiltrationsanlagen auf dem Dach vorgesehen. Nach dem Befund auf der reinen Seite der Schleuse wurden umgehend intensive Verfolgsuntersuchungen durchgeführt, ohne dass das Serovar nochmals nachgewiesen wurde. Dennoch kam es ein Jahr später im Herbst innerhalb eines Monats zu einer Serie von 8 positiven Befunden. Diese zeigten eine gleichmäßige Ausbreitung der Kontamination über das gesamte Turmgebäude bis ins Erdgeschoss an. Die Verfolgsuntersuchungen ergaben keine weiteren positiven Befunde; eine Kontaminationsquelle konnte daher nicht ermittelt werden. Da über ein Jahr *S. Senftenberg* im routinemäßigen Umfeldmonitoring nicht aufgefallen war und die Befunde plötzlich in einem begrenzten zeitlichen Rahmen auftraten, sprach viel für die Verbreitung durch möglicherweise eine einzelne Person. Ebenso auffällig war, dass im Rahmen dieser Serie nur das eine Serovar nachgewiesen wurde. Da bereits die erste Probe auf der Wegstrecke des Laborpersonals zur Entnahme der Umfeldproben positiv war, konnte eine Verschleppung der Kontamination auf diesem Wege zumindest nicht ausgeschlossen werden.

Nach einem einzigen Nachweis 2002 kam es in den Jahren 2003 und 2004 häufiger zu Befunden, wobei teilweise auch jeweils 2-3 einem engen Zeitraum (an einem Probenahmetag, bzw. im selben Monat) zuzuordnen waren. Auch hier gelangen in den Verfolgsuntersuchungen keine weiteren Nachweise und somit keine Ermittlung einer Kontaminationsquelle. Ende 2005 kam es im Zusammenhang mit einer vorangegangenen Nassreinigung zu einer Häufung positiver Befunde auf der dritten Turmebene. Die Verbreitung der Kontamination über den Fußboden dieser Ebene und eine Einbeziehung der darunter liegenden Ebene entlang der Siebpulverleitung, wie es 1994-1997 für *S. Mbandaka* schon beobachtet wurde, ließ sich gut nachvollziehen. Nach entsprechenden Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen wurden in dem Bereich keine Salmonellen mehr gefunden (Stand März 2006). Zusammenfassend lässt sich sagen, dass das Eindringen von *S. Senftenberg* in den Betrieb durch das Umfeldmonitoring zwar rechtzeitig erkannt wurde, eine Etablierung als Bestandteil der Hausflora aber nicht verhindert werden konnte. Inwieweit eine Ausbreitung durch (Labor)-Personal hierbei bestimmend war, ließ sich mit letzter Sicherheit nicht ermitteln.

3.2 Weiterentwicklung des Hygienekonzeptes

Das Hygienekonzept des Trocknungswerkes wird vor dem Hintergrund gesetzlicher Vorschriften und der Fortentwicklung der guten Hygienepraxis kontinuierlich weiterentwickelt. Wichtige Gesichtspunkte sind in diesem Zusammenhang die Ergebnisse des

Salmonellen-Monitorings und die darauf basierenden Kontrollmaßnahmen. Die Anpassung und Optimierung des Hygienekonzeptes des Werkes führten im Verlauf der Jahre zu einem deutlichen Rückgang der Kontaminationsrate (Abb. 2). Dies lässt sich einerseits an bestimmten Einzelmaßnahmen festmachen (z.B. Sanierung Taumelsieb), zusätzlich beruht dies aber auch auf der Wirksamkeit von Maßnahmenpaketen.

Zonenkonzept

Das Zonenkonzept des Werkes beruht auf einer Dreiteilung. Der Produktionsbereich ist als Zone mit höchstem Hygieneanspruch definiert (weiß). Hierzu gehören die Eindampfung, der Trocknungsturm, die Luftfiltration (Turmluft, Transportluft, Abluft), das Silolager und die Absackung sowie die Schaltwarte. Als "schwarz" sind Bereiche definiert, die von außen für Personen und Fahrzeuge (Gabelstapler) frei zugänglich sind. Dies gilt für Lager mit verpacktem Produkt u.ä.. Die "graue" Zone ist für Personen und Fahrzeuge nicht frei zugänglich, hier wird aber mit Material gearbeitet, das nicht dekontaminierbar ist, z.B. Holzpaletten. Aus- und Einbringung von Material und Produkt erfolgt an Übergabestationen. Die nachfolgenden Ausführungen beziehen sich nur auf die "weiße" Zone.

Der Zutritt zur weißen Zone erfolgt über Personenschleusen. Betriebseigenes Personal wechselt in Umkleieräumen die Kleidung (Jacke, Hose, Kopfbedeckung), begibt sich zur Schleuse und wechselt dort das Schuhwerk. Betriebsfremde Personen tragen einen Einmal-Overall und erhalten Überschuhe und Kopfbedeckung. Schmuck und Uhren sind von allen Personen abzulegen. Für alle gilt die Vorschrift zu Händereinigung und -desinfektion. Der Fußboden der reinen Seite jeder Schleuse wird im Rahmen des Salmonellen-Monitorings regelmäßig beprobt. Die weiße Zone ist nochmals in Teilbereiche unterteilt. Diese Unterteilung erfolgt zum einen nach einer baubedingten Logik (stockwerksweise), zum anderen zusätzlich nach definierten Funktionszonen. Die Übergänge zwischen den Teilbereichen sind klar markiert und werden im Rahmen des Umfeldmonitorings beprobt. Für die Beprobung auf das Vorkommen von Salmonellen ist auch wichtig, dass für jeden Teilbereich ein eigener mobiler Staubsauger existiert. Hierdurch steht regelmäßig eine Sammelprobe zur Verfügung, die einem bestimmten Umfeld zugeordnet werden kann. Bei positivem Befund kann so die Verfolgsuntersuchung gezielt vorgenommen werden. Wenn ein Staubsauger kontaminiert wurde, muss dieser entsprechend saniert werden, um die Funktion als "Probenehmer" wiederherzustellen. Dies ist ungünstigerweise recht aufwendig. Zugängliche Teile können zwar gereinigt und desinfiziert werden, bei den in der Pulverherstellung zu verwendenden explosionsgeschützten Staubsaugern, die aus hygienischen Gründen auch bakteriendichte Abluftfilter haben sollten, gibt es aber sehr viele unzugängliche Bereiche. Die Sanierung erfordert meist eine Teilerlegung des Staubsaugers, die außerhalb des Produktionsbereiches stattfinden muss. Für eine Dekontamination der Filter hat sich eine Lagerung für 2 Wochen bei 85 °C in einer Wärmekammer als günstig erwiesen. Das Schlauchsystem ist, wenn es sich um die üblichen Ziehharmonikaschläuche handelt, praktisch nicht dekontaminierbar und sollte daher ausgetauscht werden.

Das Zonenkonzept des Werkes soll ein Neueindringen von Salmonellen verhindern, kann aber bauliche Mängel oder das Fehlverhalten von Mitarbeitern nicht kompensieren, wie z.B. die Kontamination mit *S. Ohio* aufzeigte. Im Zusammenwirken mit dem Umfeldmonitoring kann ein Eindringen jedoch zeitnah erkannt und der Ursache der Kontamination entgegengewirkt werden. Zusätzlich kann eine Verschleppung von Salmonellen von einem Teilbereich der weißen Zone in andere vorgebeugt werden.

Reinigungskonzept

Vor dem Hintergrund einer etablierten Salmonellenkontamination sollte das Ziel der Reinigung sein, vorhandene Salmonellen zu entfernen, durch Vermeiden von Feuchtigkeit möglichst wenig Gelegenheit zur Vermehrung zu geben und die Nährstoffgrundlage zu entziehen. Gleiches gilt natürlich für alle anderen unerwünschten Bakterien. Manche Milchpulverhersteller haben hierzu ein Konzept der reinen Trockenreinigung entwickelt, d.h. Milchpulver und entsprechende Beläge und Verkrustungen werden nur mit mechanischen Maßnahmen entfernt. Jegliche Anwendung von Wasser wird hier vermieden, auch Desinfektionsmittel werden nicht eingesetzt. Manche Trocknungsanlagen laufen unter diesen Bedingungen bereits kontinuierlich 7-8 Jahre.

In Anbetracht der schlechten Erfahrungen mit Nassreinigungen aus der Vergangenheit wird in dem hier behandelten Werk ähnlich verfahren, allerdings finden Turmwäschen noch ca. 1-2 mal pro Jahr statt. Aufgrund der bekannten Kontaminationsproblematik ist Reinigungspersonal abgestellt, das kontinuierlich mit der Trockenreinigung beschäftigt ist. Die ständige Trockenreinigung wird im Urlaubs- und Krankheitsfall durch eine entsprechende Vertretungsregelung aufrecht erhalten. Das Personal ist fachlich umfassend geschult, über die Hintergründe und Wichtigkeit der Aufgabe aufgeklärt und somit sehr motiviert tätig. Hierin ist einer der wesentlichen Gründe für den beobachteten Rückgang der Salmonellen-Kontaminationsrate im Umfeld zu sehen. Reinigungsgeräte, wie Besen, Schaufeln, Schrubber u.ä. werden bei Bedarf, mindestens jedoch in halbjährigem Wechsel ausgetauscht. Desinfektionsmaßnahmen werden regelmäßig nur auf den markierten Flächen der Übergänge zwischen einzelnen Teilbereichen der weißen Zone durchgeführt. Dies ist notwendig, solange hier Proben für die Detektion einer Salmonellenverschleppung gezogen werden. Als Desinfektionsmittel kommt 70 % Alkohol zum Einsatz, der sich durch gute Wirksamkeit, kurze Einwirkzeit und rückstandsfreie Verdunstung auszeichnet. Die Effektivität der Reinigung wird u.a. durch Bestimmung der Enterobakteriäsenz als Indikator geprüft.

Luftführung

Bei der Herstellung von Milchtrockenprodukten werden sehr große Luftmengen benötigt. Das ist zum einen die Trocknungsluft, zum anderen die Transportluft und die für die Belüftung des Gebäudes notwendige Luft. In diesem Werk sind im Zuge der Weiterentwicklung des Hygienekonzeptes die Filtrationsanlagen für sämtliche mit dem Produkt in Kontakt tretende Luft nachgerüstet worden, so dass seit längerem bakteriedichte Filter (Norm EU 10) für die Luftfiltration zum Einsatz kommen. In Bezug auf eine Kontaminationsausbreitung und/oder -verschleppung kommt den im Produktionsbereich nicht zu vermeidenden Luftströmungen erhebliche Bedeutung zu. Letztere entstehen zum einen durch Temperaturgradienten aber auch durch Anziehen oder Freisetzen von Prozessluft. Oftmals kann beobachtet werden, dass durch die Luftströmungen Milchpulverstäube an Wänden oder in Kabelschächten "entlangwandern", wobei die Ablagerungen dann feinen Sandrippen ähneln können. Im Fall der Kontamination mit *S. Senftenberg* kann vermutet werden, dass die Verbreitung – falls nicht personalbedingt – auf dem Weg durch Kabelschächte erfolgt ist, die einer Probenahme nicht zugänglich sind. Wünschenswert wäre natürlich eine Unterbrechung der Luftströmungen, unter praktischen Gegebenheiten dürfte dies aber nicht realisierbar sein. Zur Verhinderung eines Eindringens von Salmonellen in ein Produktionsgebäude würde der Aufbau eines Überdruckes beitragen. Bei Neubauten kann dieser Aspekt berücksichtigt werden, ältere Produktionsstätten lassen sich, u.a. auch aus Kostengründen, meist nicht entsprechend nachrüsten.

3.2 Genetischer Vergleich der Salmonellenisolate (PFGE)

Die Isolate der drei verschiedenen Salmonella-Serovaren wurden stichprobenhaft mit vier Restriktionsenzymen mittels PFGE typisiert. Bei den sechs Isolaten von *S. Ohio* (je 2 Isolate aus 1996 und 2003, je 1 Isolat aus 1999 und 2004) zeigten sich bei keinem der Enzyme Unterschiede im Bandenmuster (Daten nicht gezeigt), es handelt sich folglich mit großer Wahrscheinlichkeit um einen einheitlichen Klon. Die Restriktion mit dem Enzym Bln I führte bei *S. Senftenberg* und *S. Mbandaka* ebenfalls nicht zu Unterschieden im Bandenmuster. Von den 16 geprüften Isolaten *S. Senftenberg* zeigte das Isolat 50/156 nach Restriktionsverdau mit Not I und das Isolat 24/134 nach Verdau mit Xba I ein jeweils um eine Bande abweichendes Muster zu den übrigen Isolaten. Bei *S. Mbandaka* zeigte das Isolat 3/147 nach Verdau mit Not I zwei Banden und mit Xba I eine Bande Abweichung vom Muster der übrigen 11 geprüften Isolate.

Die Bandenmuster der *S. Senftenberg*-Isolate (Spuren 1-16) im Vergleich zu einem Referenzstamm (Spur 17) nach Restriktionsverdau mit dem Enzym Spe I zeigt Abb. 3. Es wird deutlich, dass die Isolate aus dem Trocknungswerk einem einheitlichen Klon angehören, der sich eindeutig von dem Referenzstamm unterscheidet. Es ist davon auszugehen, dass auch die Isolate 24/134 und 50/156 diesem Klon zuzuordnen sind, da trotz der Abweichungen im Bandenmuster nach Verdau mit Xba I bzw. Not I die Ähnlichkeit beider Isolate unter gemeinsamer Berücksichtigung der Ergebnisse der Restriktion mit allen vier Enzymen mit den übrigen über 90 % liegt (Daten nicht gezeigt).

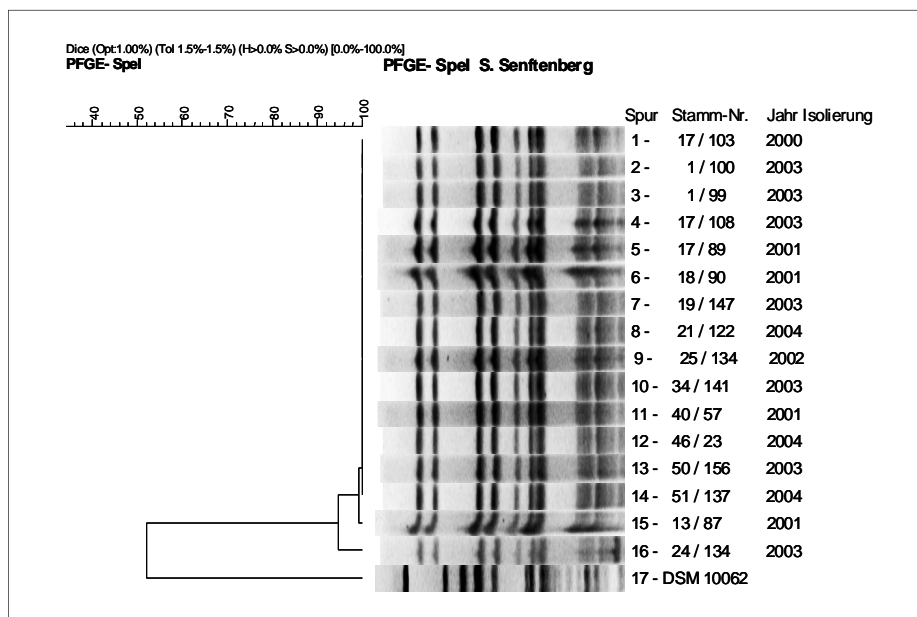


Abb. 3: Restriktionsmuster von 16 Stämmen *S. Senftenberg* aus dem Produktionsumfeld eines Trocknungswerkes (Spur 1-16) im Vergleich mit einem Referenzstamm (Spur 17) nach Verdau mit dem Enzym Spe I

Die Bandenmuster der *S. Mbandaka*-Isolate (Spuren 4-15) nach Restriktionsverdau mit Spe I im Vergleich zu drei *Mbandaka*-Isolaten aus einem anderen Trocknungswerk (Spuren 1-3) zeigt Abb. 4. Hier sind die Ergebnisse nicht so eindeutig wie bei *S. Senftenberg*.

Es wird zwar deutlich, dass auch hier die Isolate aus dem Trocknungswerk einem einheitlichen Klon angehören, der sich aber nicht eindeutig von der Gruppe aus dem zweiten Werk unterscheidet. Auch das Isolat Stamm 3/147 aus dem ersten Werk ist dem gemeinsamen Klon zuzurechnen, da, trotz der Abweichungen im Bandenmuster nach Verdau mit Spe I, Not I und Xba I, die Ähnlichkeit mit den übrigen unter gemeinsamer Berücksichtigung der Ergebnisse der Restriktion mit allen vier Enzymen über 90 % liegt (Daten nicht gezeigt).

Die Gruppe aus dem zweiten Werk ist mit der PFGE nicht eindeutig von der Gruppe aus dem ersten Werk abzugrenzen, nach Ergebnissen einer Plasmidprofil-Analyse und weiterer Tests durch das Salmonella-Referenzlabor am BfR in Berlin sind sie aber deutlich unterschiedlich. Hier wurden je zwei Isolate aus jeder Gruppe untersucht, wobei die aus dem ersten Werk keine Plasmide trugen, die aus dem zweiten Werk zeigten beide das Plasmidprofil 23,0. Zusätzlich ergaben sich Unterschiede im Antibiogramm und bei Untersuchung mit der RAPD-PCR (Primer 1254) (Dem Leiter des nationalen Referenzlabors für Salmonellen am Bundesinstitut für Risikobewertung in Berlin, Herrn Dr. R. Helmuth danken wir für die Durchführung der Plasmidprofil-Analyse und der RAPD-PCR). Dies zeigt, dass die PFGE nicht immer Unterschiede zwischen Isolaten aufzeigen kann. Bei unklaren Ergebnissen, sind dann weitere Tests für die Feintypisierung heranzuziehen.

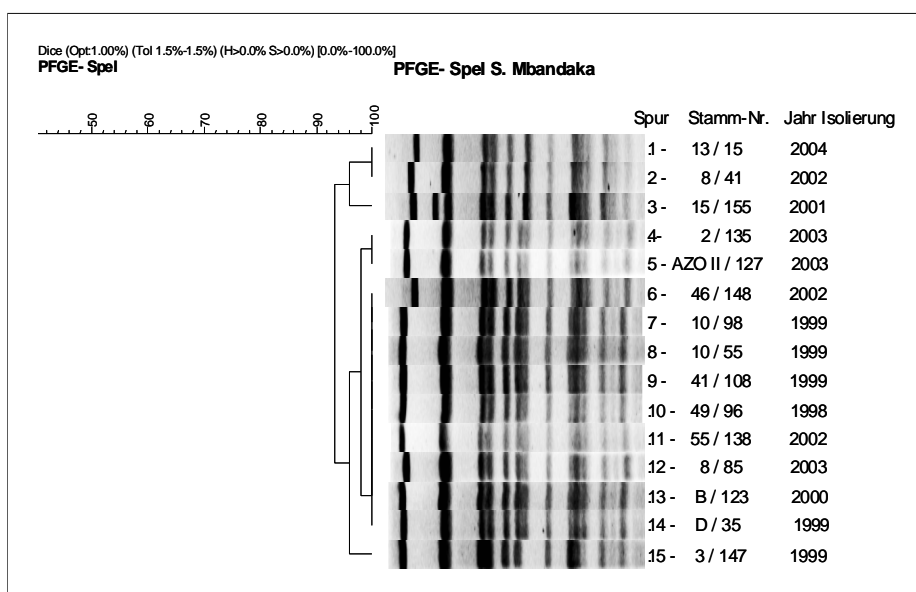


Abb. 4: Restriktionsmuster von 15 Stämmen *S. Mbandaka* aus dem Produktionsumfeld von zwei verschiedenen Trocknungswerken nach Verdau mit dem Enzym Spe I (Spur 4-15, hier behandeltes Werk, Spur 1-3 fremdes Werk)

4. Schlussfolgerungen und Empfehlungen

Wie die Erfahrung in dem Trocknungswerk gezeigt hat und es aus der Literatur bekannt ist (3-11), kann das Eindringen von Salmonellen in einen Betrieb vollständig nicht verhindert werden. Verantwortungsvolles Handeln im Hinblick auf Lebensmittelsicherheit

und Produktqualität beinhaltet daher Abwehr- und Kontrollmaßnahmen, um die Wahrscheinlichkeit einer Einschleppung von Salmonellen und vor allem die nachfolgende Etablierung als "Hauskeim" zu verringern. Berücksichtigung findet dies in gesetzlichen Vorschriften, wie dem "EU-Hygienepaket" (29, 30, 31) und der damit zusammenhängenden Verordnung über mikrobiologische Kriterien (32) in denen die Verpflichtung des Lebensmittelunternehmers zur Gefahrenabwehr festgeschrieben ist sowie weiterhin z.B. in den Dokumenten des Codex Alimentarius zur Anwendung des HACCP-Konzeptes (33) und der hygienischen Herstellung von Milch und Milchprodukten (34). Die Etablierung von Maßnahmenkatalogen soll danach auf wissenschaftlicher Grundlage erfolgen, d.h. vorzugsweise auf der Basis einer quantitativen oder qualitativen mikrobiologischen Risikobewertung. Eine solche existiert explizit für Milchpulver derzeit nicht, allerdings ist in jüngster Zeit von FAO/WHO ein Dokument für – auch Milchpulver enthaltende – Babynahrung in Pulverform veröffentlicht worden (35).

Bezogen auf das Umfeldmonitoring wäre es wünschenswert, eine Aussage zu dessen Wirksamkeit im Hinblick auf die Produktionssicherheit machen zu können. Es kann statistisch leicht nachgewiesen werden, dass bei sehr niedriger Kontaminationsrate und ungleicher Verteilung im Endprodukt dessen Untersuchung, selbst mit ausgefeilten Stichprobenplänen, praktisch sinnlos ist (19). Auch wenn, wie in diesem Fall, die Prozesssicherheit durch ein verifiziertes HACCP-System gegeben ist, wird zwischen Handelspartnern aber noch viel zu sehr auf die Endproduktkontrolle vertraut. Solange im Produktionsumfeld bei ausreichender Probenahmefrequenz und -dichte Salmonellen nicht nachweisbar sind, sollte es jedoch möglich sein, auf eine Endproduktuntersuchung ganz zu verzichten. Wichtigste Frage dabei ist allerdings, wie kann für das Umfeld "ausreichend" in Bezug auf Probenahmefrequenz und -dichte definiert werden. Bei etablierter Kontamination werden sicher häufiger und an mehr Punkten Proben zu nehmen sein, auch hier lässt sich dies aber nur schwer in Zahlen fassen. Die Erfahrung in dem betreffenden Werk hat gezeigt, dass mit dem praktizierten Umfeldmonitoring eine "sichere" Produktion über mehr als 10 Jahre Beobachtungszeitraum gewährleistet war. Einschränkend muss aber gesehen werden, dass mit dem angewendeten Stichprobenplan (ca. 300 Proben à 2,5g/Charge) im Endprodukt eine Kontaminationsrate von 1 % mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 %, eine Kontaminationsrate von 0,1% nur noch mit einer Wahrscheinlichkeit von 26 % erkannt worden wäre (19). Konkret heißt dies, dass im letzteren Fall ca. 3/4 der Produktion als nicht-kontaminiert akzeptiert worden wäre, obwohl ca. 1 Salmonelle pro kg hätte vorhanden sein können. Betrachtet man allerdings die Anzahl der Endproduktproben über den gesamten Beobachtungszeitraum (ca. 7000), dann wäre nach einer Wahrscheinlichkeitsverteilung für Zweiklassenpläne (19) eine Kontaminationsrate von 0,1 % zu irgendeinem Zeitpunkt mit mehr als 99 %iger Wahrscheinlichkeit erkannt worden (Kontamination aller produzierten Chargen vorausgesetzt). Zusätzliche Endproduktuntersuchungen sind nochmals bei den Kunden des Herstellers durchgeführt worden, ohne dass es zu Beanstandungen kam. Damit erhöht sich die Wahrscheinlichkeit, dass die Produkte tatsächlich keine Salmonellen enthielten weiter. Vor diesem Hintergrund kann für das betroffene Werk eine wöchentliche Probenahme von 25 Umfeldproben unter Verzicht auf Endproduktproben als ausreichend angesehen werden. Wichtig hierbei ist, dass die Probenahmestellen "intelligent" gewählt wurden, um ein repräsentatives Ergebnis zu gewährleisten. Die Sicherheit eines Umfeld-Monitoringplanes lässt sich somit nur empirisch ermitteln und nicht berechnen. Allgemeingültigkeit lässt sich daher für einen solchen Monitoringplan nicht ableiten, da er für jede Werksituation individuell anzupassen ist.

Die betriebsepidemiologischen Untersuchungen mit der Pulsfeld-Gelelektrophorese (PFGE) haben die Angaben in der Literatur (4, 5, 8, 9, 10) bestätigt, dass einmal in ein Werk eingedrungene Salmonellenstämmen, die sich als Bestandteil der Hausflora etablie-

ren konnten, dort über sehr lange Zeiträume persistieren. Nach den eigenen Erfahrungen, in diesem und weiteren kontaminierten Herstellungswerken, ist es zwar möglich das Kontaminationsniveau zu vermindern und die Kontamination mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit vom Produkt fernzuhalten, es ist aber nicht davon auszugehen, dass ein einmal etabliertes Serovar jemals ganz wieder verdrängt werden kann. Das sporadische "Aufflackern" der latenten Kontamination in einem Werk lässt sich somit nicht generell vermeiden.

Aus den mit dem Salmonellen-Monitoring und daraus abgeleiteten Kontroll- und Hygienemaßnahmen sowie den mit der Betriebsepidemiologie gemachten Erfahrungen lassen sich eine Reihe von Empfehlungen ableiten, die zu einer Verbesserung der Produktionssicherheit beitragen:

- In Milchtrocknungsbetrieben ist ein Umfeldmonitoring auf Salmonellen durchzuführen. Dies ist entweder präventiv zu sehen oder dient bei etablierter Kontamination der Kontrolle des Kontaminationsdruckes. Zusätzlich können ggf. Untersuchungen auf Indikatororganismen wie coliforme Keime oder *Enterobacteriaceae* durchgeführt werden.
- Isolierte Salmonellen-Stämme sollten immer typisiert werden. Mehrfache Nachweise desselben Serovars weisen auf eine Etablierung der Kontamination hin. Dies kann mit Methoden zur Feintypisierung, z.B. der PFGE bestätigt werden.
- Bei Isolierung von Salmonellen sind umgehend Verfolgsuntersuchungen mit deutlich erhöhter Probenzahl einzuleiten, um einerseits die Kontaminationsquelle zu identifizieren und andererseits eine Etablierung im Betrieb rechtzeitig zu verhindern.
- Umbau- und Reparaturmaßnahmen, vor allem mit Beteiligung von betriebsfremdem Personal, sollten immer durch mikrobiologische Untersuchungen begleitet werden.
- Bei technischen Defekten, vor allem wenn es dabei zu unbeabsichtigtem Freisetzen von Wasser gekommen ist (auch Hereinregnen), sollten umgehend mikrobiologische Untersuchungen eingeleitet werden.
- Ein Zonen-Konzept unter strikter Trennung der Bereiche mit unterschiedlichen Hygieneansprüchen sollte etabliert sein. Dies beinhaltet die Verwendung mobiler Staubsauger, u.a. für die repräsentative Probenahme in definierten Teilbereichen einer Zone.
- Die technischen und betrieblichen Voraussetzungen sollten ein reines Trockenreinigungskonzept erlauben.
- Die beständige Abstellung von technisch versiertem und entsprechend ausgebildetem Reinigungspersonal trägt durch richtige Reinigung zu einer ständigen Ausdünnung einer vorhandenen Kontamination und dem Entzug von Nährstoffgrundlagen bei.
- Regelmäßige Hygieneaudits durch externe Fachkräfte sind hilfreich durch Einbringen von zusätzlichem (wissenschaftlichem) Sachverstand und zur Vorbeuge gegen "Betriebsblindheit".

Die in dem beschriebenen Werk gemachten Erfahrungen und die daraus abgeleiteten Empfehlungen wurden auch in anderen Milchtrocknungswerken mit ähnlicher Problematik umgesetzt. Bisher wurde bei allen der gleiche Erfolg erzielt, d.h. Salmonellen wurden im Endprodukt bisher nicht nachgewiesen.

Danksagung

Die Forschungsarbeiten wurden dankenswerterweise von dem betroffenen Molkereiunternehmen finanziell unterstützt.

Besonderer Dank gilt dem Leiter des betroffenen Trocknungswerkes und seinen Mitarbeitern, die aus verständlichen Gründen anonym bleiben müssen, für den allzeit gewährten Zugang zu dem Werk, die Mitwirkung bei der Probenahme und vor allem bei der von konstruktiver Diskussion getragenen Umsetzung von Maßnahmen zur Verbesserung der hygienischen Situation.

Den Mitarbeiterinnen I. Huldberg und M. Schmidt sowie den ehemaligen Mitarbeitern Frau B. König, Frau K. Paasch-Hagen und Herrn P. Rucks danken wir für die ausgezeichnete Arbeit bei der Durchführung der kulturellen Untersuchungen sowie Frau B. Bonnicksen bei der Durchführung der PFGE-Typisierungen.

Dem Leiter des nationalen veterinärmedizinischen Referenzlabors für Salmonellen am Bundesinstitut für Risikobewertung in Berlin, Herrn Dr. R. Helmuth danken wir für die Amtshilfe bei der serologischen Typisierung der Salmonella-Isolate.

5. Literatur

- (1) Kielwein, G. Milchpulver als Ursache einer Salmonellose in Hessen - auch ein Anlass zu einer kritischen Standortbestimmung der tierärztlichen Überwachung des Verkehrs mit Milch. Tagungsbericht der 28. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft e.V., 29.9.-2.10.1987, Garmisch-Partenkirchen: 228-236
- (2) Lehmacher, A., Bockemühl, J. Aleksic, S. Nationwide outbreak of human salmonellosis in Germany due to contaminated paprika and paprika-powdered potato chips. *Epidemiology and Infection* **115** 501-511 (1995)
- (3) Becker, H., Terplan, G. Salmonellen in Milch und Milchprodukten. *Journal of Veterinary Medicine B* **33** 1-25 (1986)
- (4) Becker, H. and G. Terplan. Salmonellen in Milchtrockenprodukten. *Deutsche Molkerei-Zeitung* **42** 1398-1403 (1986)
- (5) Langfeldt, N., Hahn, G., Heesch, W. Zum Vorkommen von Salmonellen in Milchpulver: Untersuchungen zur Kontamination durch Analyse kritischer Punkte. *Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte* **40** (1) 81-90 (1988)
- (6) Kielwein, G., Baatz, J. Durch Milchpulver ausgelöste Salmonellosen bei Kindern: Ursachen und Konsequenzen. Vortragsmanuskript – Tagung der Deutschen Gesellschaft für Milchwissenschaft, 21.9.1987, Kiel
- (7) Luppertz, K. Mikrobiologie von Milchtrockenprodukten unter Berücksichtigung der Herstellung – eine Literaturübersicht. Dissertation med. vet. München 1990
- (8) Gonzalez-Cabezas, M.P., Becker, H., Terplan, G. Vergleichende Untersuchungen zur Thermostabilität von einigen Salmonella-Serovaren aus Trockenprodukten und unbehandelten Materialien. *Archiv für Lebensmittelhygiene* **34** 122-126 (1983)
- (9) Jung, W., Braatz, R., Busse, M. Mikrobiologische Produktionskontrolle bei Milchtrockenprodukten. *Deutsche Molkerei-Zeitung* **18** 550-555 (1985)
- (10) Terplan, G., Becker, H. Salmonellen, E.coli, Staphylokokken und Listerien in Trockenmilchprodukten. *Molkereitechnik* **82** 71-75 (1988)
- (11) Lehmacher, A. Anpassung von Salmonellen an den Trockenzustand. Vortrag anl. des Seminars "Salmonellen"; Behrs-Verlag Hamburg, 30.9.1997
- (12) Dega, C.A., Goepfert, J.M., Amundson, C.H. Growth of Salmonella typhimurium in skim-milk concentrates. *Applied Microbiology*, **23** 82-87 (1972)
- (13) LiCari, J.J., Potter, N.N. Salmonella survival during spray drying and subsequent handling of skim-milk powder. I. Salmonella enumeration. *Journal of Dairy Science* **53** 865-870 (1970)

- (14) Simonsen, B., Bryan, F. L., Christian, J. H. B., Roberts, T. A., Tompkin, R. B., Silliker, J. H. Prevention and control of food-borne salmonellosis through application of Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP). *International Journal of Food Microbiology* **4** 227-247 (1987)
- (15) Rowe, B., Hutchinson, D. N., Gilbert, R. J., Hales, B. H., Begg, N. T., Dawkins, H. C., Jacob, M., Rae, F. A., Jepson, M. Salmonella ealing infections associated with consumption of infant dried milk. *Lancet II* (8564) 900-903 (1987)
- (16) Ray, B., Jezeski, J. J., Busta, F. F. Isolation of salmonellae from naturally contaminated dried milk products. I. Influence of sampling procedure on the isolation of samonellae. *Journal of Milk and Food Technolgy* **34** 389-393 (1971)
- (17) Foster, E.M. The Control of Salmonellae in Processed Foods: A Classification System and Sampling Plan. *Journal of the AOAC International* **54** 259-266 (1971)
- (18) Habraken, C. J. M., Mossel, D. A. A., van den Reek, S. Management of *Salmonella* risks in the production of powdered milk products. *Netherlands Milk and Dairy Journal* **40** 99-116 (1986)
- (19) ICMSF. Microorganisms in Foods 7 – Microbiological Testing in Food safety Management, 2002, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.
- (20) Jarl, D. L., Arnold, E. A. Influence of drying plant environment on salmonellae contamination of dry milk products. *Journal of Food Protection* **45** 16-18 (1982)
- (21) LiCari, J.J.; Potter, N.N. Salmonella survival during spray drying and subsequent handling of skim-milk powder. III. Effects of storage temperature on *Salmonella* and dried milk properties. *Journal of Dairy Science* **53** 877-882 (1970)
- (22) Moreau, C., Moss, M. Moulds, toxins and food. 1979; John Wiley, Chichester, Sussex
- (23) Hup, G. Die mikrobiologische Qualität von Milchtrockenprodukten – Gute Herstellungspraxis. IMQ-Seminar, 8.-10. 3.1988, Kempten
- (24) Jatisatienr, C. Der Nachweis von Salmonellen in Milchtrockenprodukten als Teil der betriebs-internen Produktionskontrolle. Dissertation rer. nat., München 1985
- (25) Mettler, A.E. Pathogens in milk powders – Have we learned the lessons? *Journal of the Society of Dairy Technology* **42** 48-55 (1989)
- (26) Hahn, G. und Schleert, U. Untersuchungen zur Probenaufbereitung, -verarbeitung und zum Nachweis von Salmonellen in Milchpulver. *Deutsche Molkereizeitung* **112** 1549-1552 (1991)
- (27) Hahn, G. Effektivität der Kombination unterschiedlicher Voranreicherungs-, Anreicherungs- und Selektionsverfahren zur Isolierung von Salmonellen aus Milchpulver. *Deutsche Molkereizeitung* **115** 894-899 (1994)
- (28) Tenover, F.C., Arbeit, R.D., Goering, R.V., Mickelsen, P.A., Murray, B.E., Persing, D.H., Swaminathan, B. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: Criteria for bacterial strain typing. *Journal of Clinical Microbiology* **33** 2233-2239 (1995)
- (29) Verordnung (EG) Nr. 852/2004 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 29. April 2004 über Lebensmittelhygiene. *Amtsblatt EU*; L 226/3-21
- (30) Verordnung (EG) Nr. 853/2004 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 29. April 2004 mit spezifischen Hygienevorschriften für Lebensmittel tierischen Ursprungs. *Amtsblatt EU*; L 226/22-82
- (31) Verordnung (EG) Nr. 854/2004 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 29. April 2004 mit besonderen Verfahrensvorschriften für die amtliche Überwachung von zum menschlichen Verzehr bestimmten Erzeugnissen tierischen Ursprungs. *Amtsblatt EU*; L 226/83-127
- (32) Verordnung (EG) Nr. 2073/2005 der Kommission vom 15. November 2005 über mikrobiologische Kriterien für Lebensmittel. *Amtsblatt EU*; L 338/1-26
- (33) Codex Alimentarius Commission. Hazard analysis and critical control point (HACCP) system and guidelines for its application. ALINORM 97/13A; appendix II
- (34) Codex Alimentarius Commission. Draft code of hygienic practice for milk and milk products. ALINORM 04/27/13; appendix II
- (35) FAO/WHO. *Enterobacter sakazakii* and other microorganisms in powdered infant formula: Meeting report. Microbiological Risk Assessment Series 6. FAO/WHO 2004 (ISBN: 92 5 105164 X)

6. Zusammenfassung

Hammer, P., Knapstein, K., Teufel, P.: **Umfeld- versus Endproduktmonitoring - Praktische Erfahrungen bei der Kontrolle von *Salmonella*-Kontaminationen im Umfeld einer Milchtrocknungsanlage**. Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte **58** (2) 59-80 (2006)

06 Veterinärmedizin und Hygiene (Salmonella, Milchpulver, Prozesssicherheit, Milchtrocknung, Umfeldmonitoring, Pulsfeld-Gelelektrophorese)

Eine der größten hygienischen Herausforderungen bei der Herstellung von Milchpulver ist die Abwehr von Salmonellenkontaminationen. Die starke thermische Behandlung während des Herstellungsprozesses durch die Pasteurisierung der Rohmilch, die anschließende Eindampfung und die Sprühtrocknung führt zu einer sehr hohen Prozesssicherheit. Ein Eintrag von Salmonellen in das Endprodukt auf diesem Wege kann nahezu ausgeschlossen werden. Im Umfeld der Produktionsanlagen vorhandene Salmonellen können jedoch durch Rekontamination zu einer Gefährdung des Produktes führen.

Das Eindringen von Salmonellen in die Herstellerbetriebe erfolgt oft, zunächst unmerklich, durch z.B. Undichtigkeiten im Dachbereich oder über unzureichend gefilterte Prozessluft. Haben sich Salmonellen erst einmal angesiedelt, lässt sich im betroffenen Betrieb oft über viele Jahre dasselbe Serovar nachweisen. Eine Salmonellenkontamination des Umfeldes birgt die Gefahr von Rekontaminationen des Produktes. Die ungleichmäßige Verteilung und das Vorliegen der Salmonellen in „Nestern“ machen es schwierig, mit Stichprobenplänen die Kontamination einer Charge nachzuweisen. Vor dem Hintergrund der Annahme, dass wenn Salmonellen im Produktionsumfeld nicht vorkommen, auch eine Rekontamination des Endproduktes auszuschließen ist, ist die Untersuchung von Proben aus dem Umfeld deutlich sinnvoller.

Zur empirischen Ermittlung der Prozesssicherheit auf Basis von Endproduktuntersuchungen bzw. von Proben aus dem Umfeldmonitoring wurden in einem Milchtrocknungsbetrieb mit bekannter *Salmonella*-Kontamination im Umfeld in einem langfristig angelegten Forschungsprojekt pro Jahr ca. 700 Proben Endprodukt (1994-2004) und ca. 1300 Proben aus dem Umfeld der Trocknungsanlage (1994-2005) auf das Vorkommen von Salmonellen untersucht. Im Endprodukt wurden dabei niemals Salmonellen nachgewiesen. Die Befunde aus dem Umfeldmonitoring wurden bei Maßnahmen zur Verbesserung von Prozess- und Umfeldhygiene berücksichtigt und entsprechende Empfehlungen abgeleitet. In diesem Zusammenhang konnten Eintritts- und Verbreitungswege von Salmonellen aufgezeigt werden. Unterstützend wurden im Rahmen dieser Untersuchungen *Salmonella*-Isolate mit der Pulsfeld-Gelelektrophorese typisiert. Das Vorkommen einheitlicher Klone von *S. Mbandaka*, *S. Ohio* und *S. Senftenberg* wurde dabei bestätigt.

Insgesamt hat die Untersuchung gezeigt, dass für das betroffene Werk eine wöchentliche Probenahme von 25 Umfeldproben unter Verzicht auf Endproduktproben als ausreichend für die Gewährleistung der Prozesssicherheit angesehen werden kann. Wichtig hierbei ist, dass die Probenahmestellen „intelligent“ gewählt wurden, um ein repräsentatives Ergebnis zu gewährleisten. Die Sicherheit eines Umfeldmonitoringplanes lässt sich nach den gemachten Erfahrungen allerdings nur empirisch ermitteln und nicht berechnen. Allgemeingültigkeit lässt sich daher für einen solchen Monitoringplan nicht ableiten, da er für jede Werkssituation individuell anzupassen ist.

Summary

Hammer, P., Knapstein, K., Teufel, P.: **Environment-versus end product monitoring – Practical experiences at the monitoring of *Salmonella* contaminations in the environment of a milk drying plant.** Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte 58 (2) 59-80 (2006)

06 Veterinary medicine and hygiene (Salmonella, milk powder, process safety, milk drying, environment monitoring, Pulsed Field Gel Electrophoresis)

One of the largest hygienic challenges with the manufacture of milk powders is the protection from *Salmonella* contaminations. The strong thermal treatment during the production process by pasteurization of raw milk, subsequent evaporation and spray drying leads to a very high process safety. An entry of *Salmonellae* into the end product can be almost excluded this way. In the environment of the production plants occurring *Salmonellae* may represent a risk to the product due to recontamination.

The entrance of *Salmonellae* into the production plants may initially occur unnoticed, due to, e.g. leakages in the roof area or to insufficiently filtered processing air. If *Salmonellae* are once settled, the same Serovar can often be detected in the concerned plant for many years. A *Salmonella* contamination of the environment involves the danger of recontaminations of the product. The uneven distribution and the occurrence of the *Salmonellae* in “nests” make it difficult to prove the contamination of a batch with random sampling plans. On the background of the assumption that if *Salmonellae* do not occur in the production environment, a recontamination of the final product is also excluded, it is more reasonable to examine the samples from the environment.

For the empirical detection of process safety based on examinations of end products and/or of samples from the environmental monitoring approx. 700 end product samples (1994-2004) and approx. 1300 samples from the environment of the drying plant (1994-2005) were examined per year in a milk drying company with well-known environmental *Salmonella* contamination in the frame of a long-term research project. Hereby, no *Salmonellae* were ever detected in the end product. The findings from the environmental monitoring were taken into account with respect to measures for improving process and environmental hygiene, and appropriate recommendations were derived. In this context, entrance and spreading out of *Salmonellae* could be shown. Additionally, a typing of *Salmonellae* isolates were made with Pulsed Field Gel Electrophoresis. The occurrence of uniform clones of S. Mbandaka, S. Ohio and S. Senftenberg was confirmed thereby. Altogether the investigation showed that for the concerned company a weekly sampling of 25 environmental samples under renouncement of final product samples can be considered as being sufficient for warranting process safety.

In this connection it is important that the “sampling points” were selected “intelligently”, in order to ensure a representative result. According to the made experiences the safety of an environmental monitoring plan can only be empirically identified and not computed. General validity cannot be derived for such a monitoring plan, since it has to be adapted for each company situation individually.

Résumé

Hammer, P., Knappstein, K., Teufel, P.: **Environnement versus contrôles du produit fini – expériences pratiques lors du contrôle des contaminations par les salmonelles dans l’environnement d’un équipement de séchage du lait.** Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte **58** (2) 59-80 (2006)

06 Médecine vétérinaire et hygiène (Salmonelles, poudre de lait, sécurité de processus, séchage du lait, contrôle de l’environnement, Electrophorèse en Champ Pulsé (ECP))

Un des plus grands défis hygiéniques lors de la fabrication des poudres de lait est la défense contre la contamination par les salmonelles. Le traitement thermique pendant le procédé de fabrication moyennant la pasteurisation du lait cru, suivie par l’évaporation et le séchage aérosol, conduisent à une sécurité de processus très élevée. L’entrée de salmonelles dans le produit fini peut être presque exclue de cette manière. Dans l’environnement des unités de production, des salmonelles existantes peuvent toutefois conduire par ré contamination à une détérioration du produit.

L’entrée des salmonelles dans les lieux de production s’effectue souvent, d’abord discrètement, p. ex. par des points de perméabilité dans le toit ou par l’air insuffisamment filtré, requis pour le processus. Une fois les salmonelles implantées, le même Serovar peut souvent être identifié pour des années dans l’entreprise concernée. Une contamination de l’environnement par les salmonelles porte le risque de ré-contamination du produit. A cause de la distribution irrégulière et de la présence de salmonelles dans des «nids», il est difficile de détecter la contamination d’une charge dans le cadre d’un plan de prélèvements. Il est plus raisonnable d’analyser des échantillons pris de l’environnement de production, comme on assume que l’inexistence de salmonelles dans cet environnement exclut également une ré-contamination du produit.

Pour la détermination empirique de la sécurité de processus, basée sur des examens du produit fini, voire des échantillons du contrôle de l’environnement, environ 700 échantillons du produit fini (1994-2004) et environ 1300 échantillons pris dans l’environnement de l’installation de séchage (1994-2005), ont été examinés sur la présence de salmonelles. Dans le produit fini, des salmonelles n’ont jamais été détectées. Les résultats du contrôle de l’environnement ont été utilisés pour des mesures d’amélioration du processus et de l’hygiène de l’environnement, et des recommandations correspondantes ont été dérivées. À cet égard, des voies de diffusion et d’entrée des salmonelles pouvaient être identifiées. En plus, des isolats de salmonelles étaient typés par Electrophorèse en Champ Pulsé (ECP). La présence de clones uniformes de *S. Mbandaka*, *S. Ohio* et *S. Senftenberg* était confirmée.

En somme, l’étude a montré que pour l’entreprise concernée, un échantillonnage hebdomadaire de 25 échantillons d’environnement, tout en renonçant à des échantillons de produit fini, peut être considéré comme suffisant pour garantir la sécurité de processus. Dans ce cas, il est important de choisir „intelligemment“ les points d’échantillonnage pour garantir un résultat représentatif. D’après les expériences faites, la sécurité d’un plan de contrôle de l’environnement peut seulement être identifiée empiriquement et non calculée. L’universalité ne peut pas donc être dérivée pour un tel plan de contrôle, puisqu’il faut l’adapter à la situation individuelle du lieu de production.