



Mikrobiologische Lebensmittelkontrollen

Beutel statt Reagenzglas

Für viele Laboratorien ist bei der traditionellen Probenverdünnung in Reagenzgläsern die Verhältnismäßigkeit von Aufwand und Ertrag nicht mehr gegeben. Durch die Verwendung steriler Beutel sowie eine Umstellung im Ablauf können aufwendige Arbeitsschritte und deren Fehlerrisiken eliminiert werden.

Von Martin Jorg und Ernst Freydl

Die häufigste Ursache von Lebensmittelvergiftungen sind Lebensmittel, die mit Bakterien kontaminiert sind – aufgrund ungenügender Hygienestandards bei der Produktion, Lagerung oder der Verwendung. Ob die Lebensmittel den Hygiene- und Gesundheitsstandards entsprechen, wird von den Lebensmittelproduzenten und staatlichen Überwachungsbehörden laufend überprüft. Die wichtigsten Instrumente dazu sind regelmäßige Betriebsinspektionen sowie Laboruntersuchungen, bei denen die Produkte auf pathogene Bakterien und solche, welche Hygienemängel im Herstellungsprozess aufzeigen, untersucht werden. Klassische mikrobiologische Kultivierungsmethoden zur Keimzahlbestimmung in den Lebensmitteln gehören zum Standardrepertoire mikrobiologischer Analysen. Dazu wird über mehrere Verdünnungsstufen 1 ml des homogenisierten Lebensmittels in 9 ml steriler Verdünnungslösung zehnfach verdünnt und daraus Nährboden beimpft. Nach der vorgegebenen Bebrütungszeit werden die Nährböden auf das Vorhandensein von Bakterienkolonien untersucht. Die Nährböden mit bis zu ca. 300

gewachsenen Kolonien werden gezählt, und anhand des Verdünnungsfaktors wird die Konzentration der Keime in der Ausgangsprobe bestimmt. Anhand der Typen und Konzentrationen der analysierten Keime kann der Hygiene- und Gesundheitsstandard der untersuchten Lebensmittel beurteilt werden. Die Ausführung der traditionellen Methode sowie die Vorbereitung des dazu benötigten Materials ist immer noch gleich aufwendig wie zu Zeiten von Louis Pasteur oder Robert Koch vor mehr als hundert Jahren.

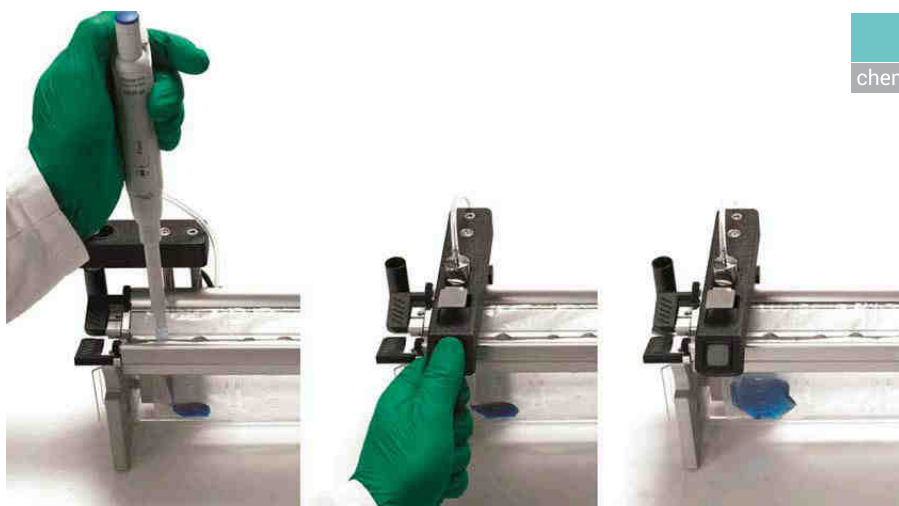
Für viele Laboratorien ist bei der traditionellen Probenverdünnung mit Reagenzgläsern die Verhältnismäßigkeit von Aufwand und Ertrag nicht mehr gegeben. Die vorgefüllten Reagenzgläser sind aufwendig vorzubereiten oder teuer, falls sie als Verbrauchsmaterial eingekauft werden. Und diese Art der Durchführung von seriellen Verdünnungen ist auf Dauer für die Mitarbeiter nicht nur ermüdend und belastend, sondern auch fehleranfällig.

Mischen im Beutel

Durch die Verwendung steriler Beutel, wobei zuerst die Probe und danach der

Diluent in den Beutel zum Mischen gegeben werden, entfallen etliche aufwendige Arbeitsschritte und damit auch deren Fehlerrisiken. Der Serial Diluter automatisiert das serielle Verdünnen. Die Probe wird dabei von der Verdünnungslösung aus der Pipettenspitze gespült und nimmt vollständig am Verdünnungsprozess teil, da so keine Probenreste in der Spitze zurückbleiben. Das verbessert nicht nur die Präzision der Keimzahlbestimmungen, sondern auch die Zuverlässigkeit der Resultate, wie folgender Ringversuch zeigt.

Nach DIN EN ISO/IEC 17025 akkreditierte mikrobiologische Prüflaboratorien nehmen regelmäßig an Ringversuchen teil. Ein wichtiger Leistungsparameter dabei ist der Wert z (Z-Score), der den Abstand eines Messwertes vom Mittelwert in der Anzahl der Standardabweichungen angibt. Ist der Betrag von z kleiner oder gleich 2, ist der Messwert akzeptabel, liegt er zwischen 2 und 3, wird er als fragwürdig betrachtet. Wenn der Betrag von z größer als 3 ist, gilt der Messwert als unbefriedigend. Bei einem Lebensmittelprüflabor, das 2014 und 2015 an Ringversuchen teilnahm, wurden mit der ▶



Automatische Verdünnung in Inlabtec Serial Dilution Bags: Die Probe wird mit der Pipettenspitze in den sterilen Beutel gegeben und der Dosierarm nach vorne geschwenkt. Per Tastendruck strömt präzise die Verdünnungslösung durch die Spitze mit der Probe in den Beutel. Dabei entsteht ein intensiver Wirbel, der zusammen mit einem sterilen Luftstoß für eine homogene Mischung in weniger als vier Sekunden sorgt. Für eine Vorführung siehe Demo-Videos auf www.inlabtec.com

► manuellen Probenverdünnungstechnik mit Reagenzgläsern Z-Score-Werte zwischen -1.65 und 0.65 erzielt. Sie lagen also innerhalb des akzeptablen Bereichs.

Im Jahr 2016 stellte das Labor auf den Inlabtec Serial Diluter um. Damit erreichten sämtliche Mitarbeiter des Laboratoriums Z-Score-Werte im Bereich zwischen ± 0.1 . Unabhängig von dem Erfahrungsstand mit Ringversuchen oder individuellen Unterschieden bei der Arbeitstechnik lieferten sie also fast identische Testresultate.

Verfälschte Werte

Weiters zeigte sich, dass bei der manuellen Technik sechs Z-Score-Werte < -0.5 waren und nur ein Wert ist > 0.5 war. Negative Z-Score-Werte bedeuten, dass die gemessenen Keimzahlen tiefer sind als die effektiv in den Proben vorhandenen Keime. Eine mögliche Erklärung lieferte ein Versuch in einem mikrobiologischen Testlabor, bei dem die Keimzahlbestimmungen verschiedener Lebensmittelproben mithilfe selber vorbereiteter Reagenzgläser und des Inlabtec Serial Diluters parallel durchgeführt wurden. Dabei wurden bei der Bestimmung

der aeroben mesophilen Keime (AMK) in den Proben nach den Verdünnungen mit dem Serial Diluter durchschnittlich bis zu rund fünfmal höhere Gesamtkeimzahlen gezählt als bei der Verwendung der selber vorbereiteten Reagenzgläser. Bei den parallel bestimmten Enterobakterien in denselben Proben wurde allerdings kein signifikanter Unterschied bei den Keimzahlen zwischen den beiden Verdünnungstechniken festgestellt. Ein Benutzerfehler mit dem Serial Diluter konnte damit ausgeschlossen werden, und die verwendeten Nährböden und die Verdünnungslösung waren identisch.

Deshalb wurde die Verifizierung mit eingekauften Einweg-Verdünnungsröhrchen eines externen Lieferanten wiederholt. Sowohl bei den AMK als auch bei den Enterobakterien konnte mit den Einweg-Verdünnungsröhrchen kein signifikanter Unterschied zum Inlabtec-Verfahren mehr festgestellt werden.

Die Resultate unterstützten die Vorbehalte vieler Laboratorien gegenüber der Mehrfachverwendung von Laborglaswaren. Denn wachstumshemmende Substanzen wie Spülmittelreste und angelagerte Sekundärmetaboliten an den gewasche-

nen Probengefäßen können nie völlig ausgeschlossen werden und verfälschen die Resultate. Nicht saubere Reagenzgläser können darum ein Grund sein, wieso im Ringtest mit der Reagenzglas-technik tendenziell eher tiefere als höhere Keimzahlen der Referenzproben bestimmt wurden. Aus diesem Grund empfiehlt die Norm ISO7218:2007 auch die regelmäßige Überprüfung der gereinigten Glaswaren auf die Absenz von inhibitorischen Substanzen. Durch die Verwendung hochreiner, steriler Einweg-Beutel aus Polyethylen ist die Anwesenheit von Inhibitoren zuverlässig ausgeschlossen und so eine regelmäßige Überprüfung der Sauberkeit von Glaswaren überflüssig. ■

Weitere Informationen

Zeller GmbH, Hohenems

T: 05576 76705

E: office@labworld.at

📧 www.labworld.at

PRESTO™



Julabo

THE TEMPERATURE CONTROL COMPANY



Besuchen Sie uns
auf der **ACHEMA**
Halle 4.2
Stand J38

50
YEARS
1967 - 2017

www.julabo.com