



Nachweis von humanpathogenen Viren in pflanzlichen Lebensmitteln – Eine Herausforderung für Probenahme und Analyse

Dietrich Mäde



Wozu benötigt man eine Probenahme-strategie in Lebensmittelherstellung

1. Die verwendeten Komponenten und Zutaten müssen sicher sein.

08.10.2012

Wir sind eins. **ARD**

ARD Home Nachrichten Sport Börse Ratgeber Wissen Kultur Kinder ARD Intern Fernsehen Radio ARD Mediathek

Startseite

Inland

Blog

Deppendorfs Woche

DeutschlandTrend

Dossiers

Ausland

Wirtschaft

Videoblog

Regional

Wahlarchiv


Wetter

Multimedia

 **Livestream**
tagesthemen 22:15 Uhr
Themen der Sendung

 **Die wichtigsten
Nachrichten als Video**

 **Letzte Sendung**
tagesschau 20:00 Uhr

tagesschau 20:00 



Magen-Darm-Infektionen

Erdbeeren waren schuld

Die Ursache für die massenhaften Brechdurchfall-Erkrankungen ist gefunden: Untersuchungen des Robert-Koch-Instituts ergaben, dass mit Noroviren verseuchte tiefgefrorene Erdbeeren mit hoher Wahrscheinlichkeit die Krankheitswelle mit rund 11.200 Betroffenen auslösten. Das sächsische Gesundheitsministerium bestätigte dies.

Dem Landesamt für Verbraucherschutz Sachsen-Anhalt sei im Auftrag des Freistaats der Nachweis von Noroviren in einer Probe Erdbeeren gelungen. Weitere Ursachen für den Brechdurchfall würden ausgeschlossen, sagte ein Ministeriumssprecher. Die verbliebene Charge Tiefkühl-Erdbeeren wurde aus dem Verkehr gezogen. Aller Wahrscheinlichkeit nach stammen die betroffenen Erdbeeren aus China.



Die mit Viren verseuchten Erdbeeren sind nach heutigem Kenntnisstand nicht in den Einzelhandel gelangt.

- 10950 registrierte Krankheitsfälle
- größter lebensmittelbedingter Ausbruch in Deutschland bisher

Wozu benötigt man eine Probenahmestrategie in Lebensmittelherstellung

2. Bei einer Vollkontrolle steht der technische und personelle Aufwand oftmals in keinem Verhältnis zum Erlös, der mit dem Produkt erzielt werden kann, oder zum Risiko, das mit dem Versagen des Produkts verbunden ist.

FVO-Audit 2013-6682 China:

- 2013 wurden in der Provinz Shandong 50% und in der Provinz Liaoning 20% der Erdbeeren für den Export in die EU beprobt und auf Viren untersucht.
- Die Effizienz des Systems wird durch wenig effiziente Probenahmestrategien und nicht optimal durchgeführte Analysen beeinträchtigt.





SACHSEN-ANHALT

Landesamt für
Verbraucherschutz

Wozu benötigt man eine Probenahmestrategie in Lebensmittelherstellung

3. Durch mathematische Verfahren sind die mit der Qualitätsüberprüfung verbundenen Kosten aufgrund einer **Stichprobenprüfung** zu reduzieren.



Zusätzliche Schwierigkeiten bei der Virusanalyse von frischem Obst und Gemüse

- Die tatsächliche Inzidenz pathogener Mikroorganismen, insbesondere von Viren, ist nicht bekannt.
- Der Nachweis von Viren ist schwierig und die Wahrscheinlichkeit des tatsächlichen Nachweises ist gering (Wiederfindung von 1% gilt als akzeptabel).
- Die relevanten Einflussfaktoren wie Herkunftsland, Anbaubedingungen, Art der Erzeugung, Ernte) werden häufig nicht berücksichtigt.



Erzeuger im Anbaugebiet und Verarbeiter in Deutschland untersuchen auf Viren



**Amtliche Probenahme –
hier: systematische
Entnahme von 5 Teilproben
in Marokko**

Prüfbericht

Prüfbericht-Nr.:
L 13.11456

Auftraggeber:

E-Mail:

Auftragnehmer:

Probenahme:

erfolgte durch Auftraggeber

Eingangsparameter:

16.07.2013 / 10:30 Uhr / -18,8°C

Lagerung vor Untersuchung:

Tiefkühlagerung bei min. -18,0 °C

Untersuchungsbeginn:

16.07.2013 / 10:40 Uhr

Untersuchungsende:

19.07.2013

Probenbezeichnung:

1. Waldbeeren Green Grocers DE/IT 750g, MHD 04/2015, L050413 D2 15:40 = L 13.11456/1

Kunden-Proben-Nr.:			Waldbeeren Green Grocers DE/IT 750g, MHD 04/2015, L050413 D2 15:40
L 13.11456/1			
Kennzahl	Dimension	Methode	L 13.11456/1
E. coli	KbE/g	i. A. ASU L 06.00-36	< 10
Bacillus cereus	KbE/g	ASU L 00.00-25	< 100
sulfitreduzierende Clostridien	KbE/g	ASU L 06.00-39	< 100
Clostridium perfringens	KbE/g	ASU L 00.00-57	< 100
Salmonellen in 25 g	ASU L 00.00-20		n.n.
Hepatitis A in 10g	SAA M 10-33		n.n.

Nachweisgrenze:
Hepatitis A < 10 Kopien (45 Zyklen)
n.n. – nicht nachweisbar

Nach Umfang der ermittelten Parameter ist die Probe L 13.11456/1 als verkehrsfähig einzustufen.

Die Prüfergebnisse beziehen sich ausschließlich auf das untersuchte Prüfmaterial. Ohne schriftliche Genehmigung des Prüflaboratoriums darf der Prüfbericht nicht auszugsweise vervielfältigt oder veröffentlicht werden. Es gelten unsere Allgemeinen Geschäftsbedingungen. Mit Auftragserteilung gelten die Allgemeinen Geschäftsbedingungen als anerkannt.



SACHSEN-ANHALT

Landesamt für
Verbraucherschutz

Grundproblematik 1: Probenahme

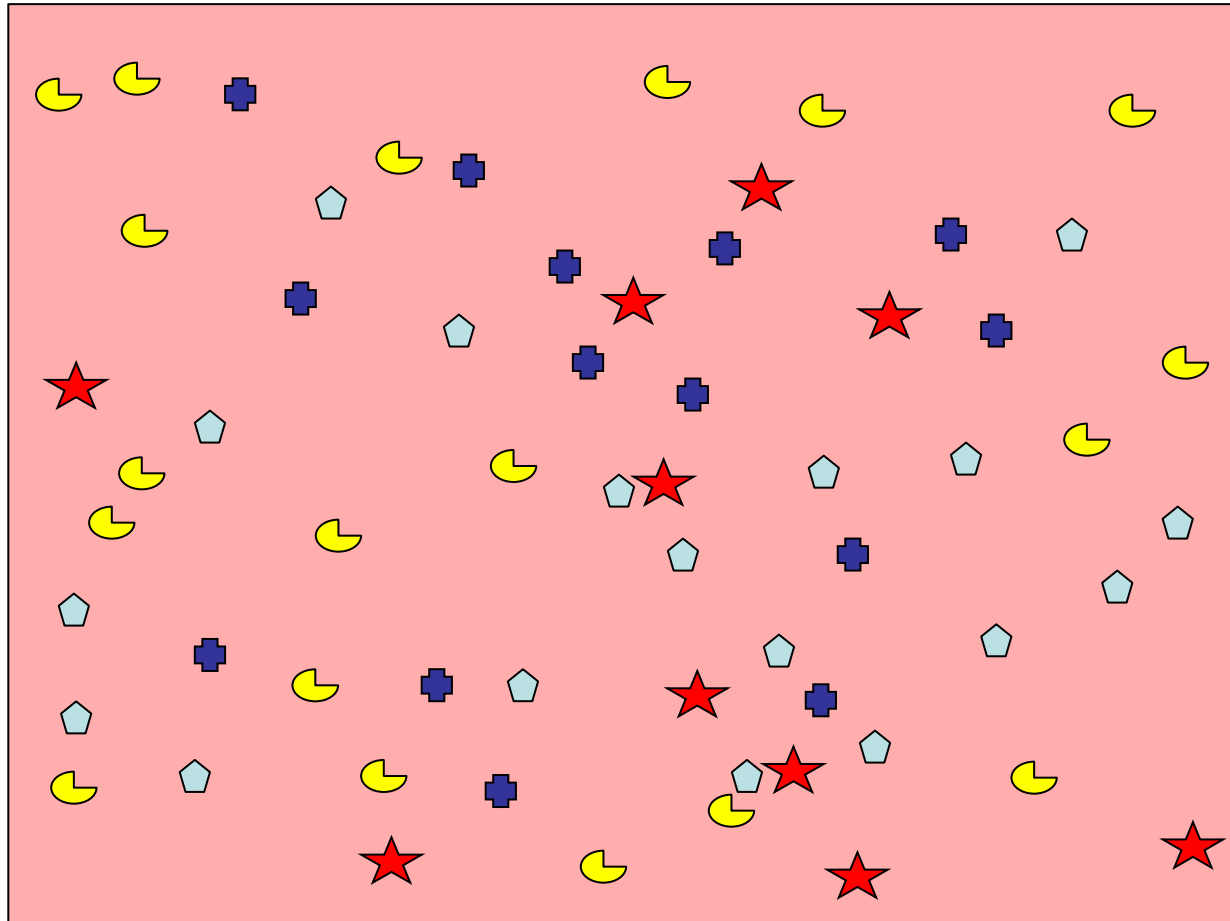


Es findet bei Ernte und
Verarbeitung keine
Homogenisierung der
Chargen statt



Probenahme zur Untersuchung auf Viren

Sind Viren ★ gleichmäßig im Erzeugnis verteilt?





SACHSEN-ANHALT

Landesamt für
Verbraucherschutz

Von welcher Stelle entnimmt man die Proben?



Theory of Sampling nach Pierre Gy

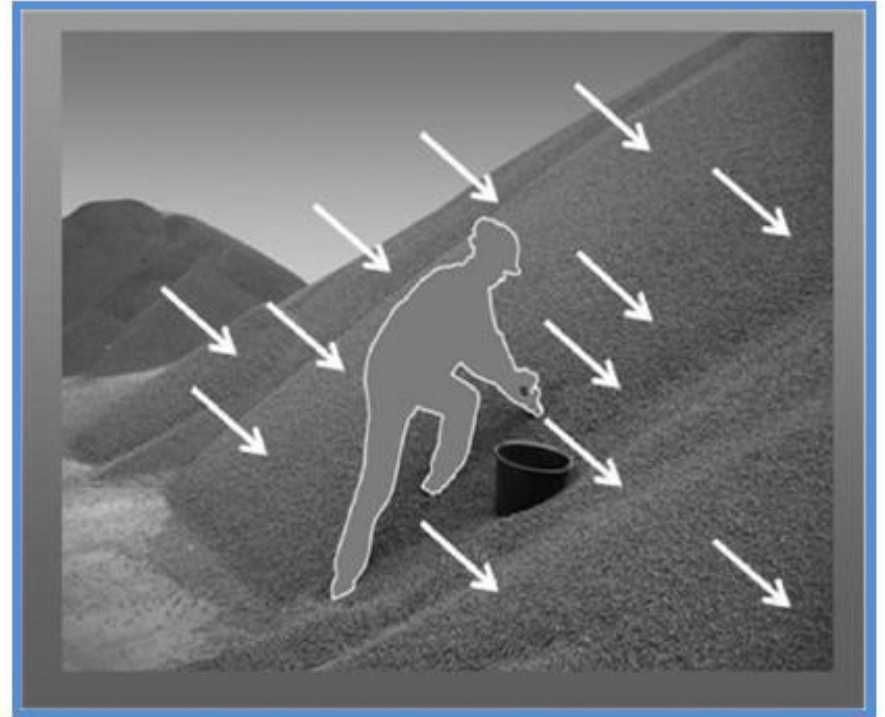


Illustration entnommen aus der Präsentation von Kim Esbensen – 5th World conference on Sampling and Blending

Entnahme einer einzelnen Stichprobe – in der Regel auch von leicht zugänglichen Stelle – vollkommen falsch, da nur diese eine Stelle und diese noch sehr oberflächlich beprobt wird

Fundamentales Probenahmeprinzip:

Alle virtuellen Teilproben müssen einer Partie müssen der tatsächlichen physischen Probenahme zugänglich sein.

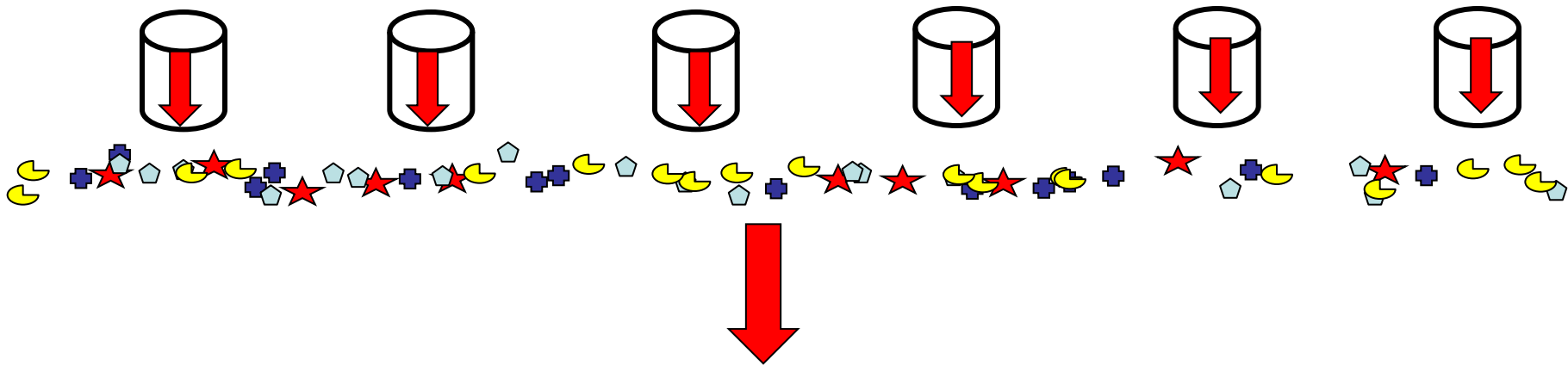


Illustration entnommen aus der Präsentation von Kim Esbensen – 5th World conference on Sampling and Blending

Wie geht man mit inhomogenen Verteilungen um?

Eine repräsentative Probenahmestrategie basiert immer auf einer Stratifizierung.

Lösung: Umwandlung der Ware in ein eindimensionales System – wie auf einem Förderband



Jeder Partikel hat die gleiche statistische Chance, in die Probe zu gelangen.

Es ist erforderlich, die
Waren systematisch in ein
eindimensionales System
zu überführen.

Das zieht einen hohen
Aufwand nach sich.

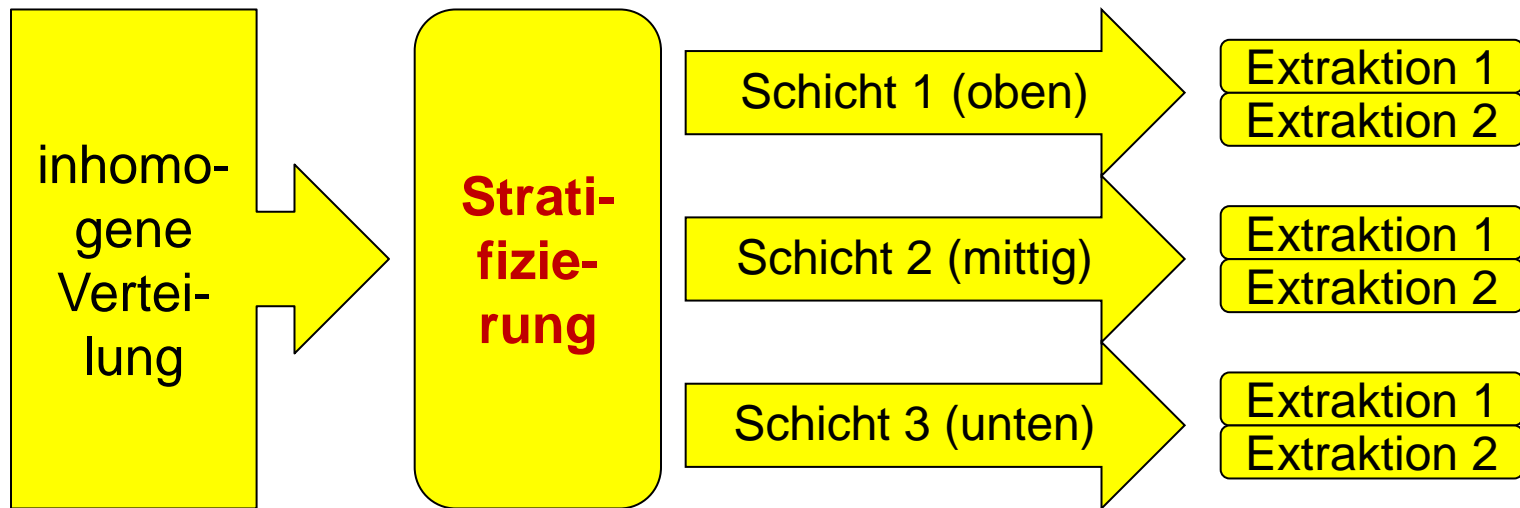


Grundproblematik 2: Vorbereitung zur Analyse

Grundprinzip bei der
Untersuchung der Erdbeeren
während des Ausbruchs 2012:

Stratifizierung

- Die Stratifizierung ist erforderlich, um auch bei heterogener Verteilung ein sicheres Ergebnis zu erzielen.





Nachweiswahrscheinlichkeit

Fall 1: Ein Pflücker hat Durchfall.



Erdbeerfeld	Ernte in kg pro Saison	Erntedauer in d	Ernte pro d in kg	Pflückleistung pro h in kg	Pflückleistung pro d	Anzahl Pflücker pro Feld	positive Pflücker	Anzahl der 1 kg Cluster insgesamt
1 ha	15000	21	714	10	70	10	1	714



Nachweiswahrscheinlichkeit

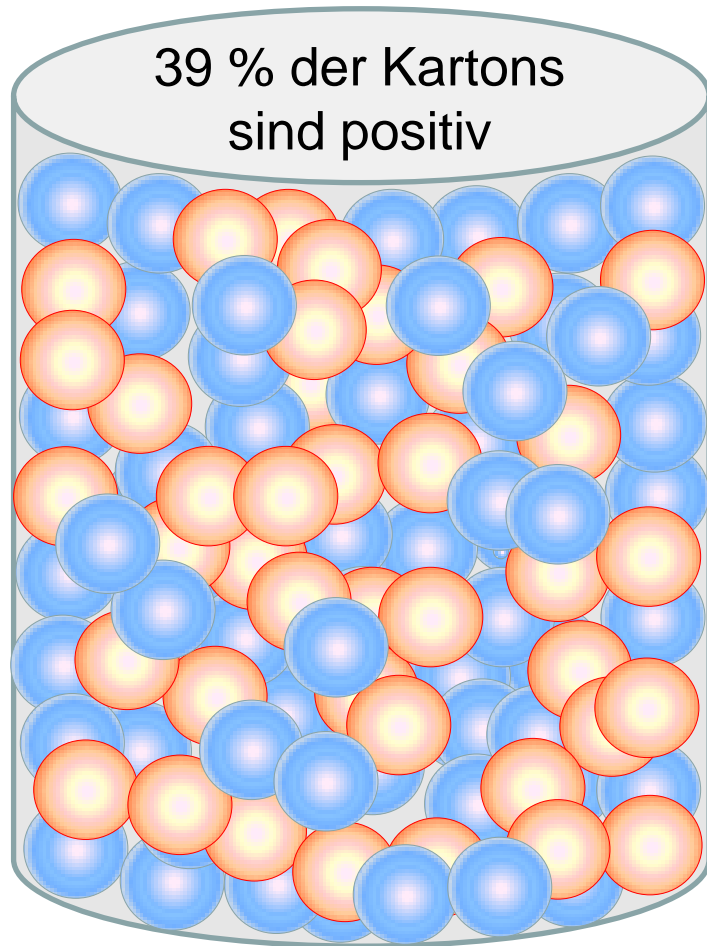
Fall 1: Ein Pflücker hat Durchfall.

poisson
verteilt

p (durch Pflücker kontaminierter Körbchen)	Zahl positiver Cluster = Körbchen am Tag	% positiver Cluster in Tagesernte	Anzahl von 10 kg Kartons nach Verpacken	Anteil positiver Kartons im Lot	p (Anzahl Kartons mit positiven Clustern)	Anzahl positiver Kartons von 100
0,5	35	4,90	71,4	0,49	0,3874	39

Nachweiswahrscheinlichkeit

Fall 1: Ein Pflücker hat Durchfall.



binomial
verteilt

Stichprobenumfang n	p (mind. 1 Karton positiv, wenn n Kartons entnommen)
1	0,39
3	0,77
5	0,91
10	0,99



SACHSEN-ANHALT

Landesamt für

Normale Lieferung von 30 t = 30 000 kg

benötigte Fläche	Ernte in kg pro Saison	Erntedauer in d	Ernte pro d in kg	Pflückleistung pro h in kg	Pflückleistung pro d	Anzahl Pflückertage pro Lot	positive Pflückertage darunter	Anzahl der 1 kg Cluster insgesamt
42 ha	630 000	21	30 000	10	70	429	5	30 000



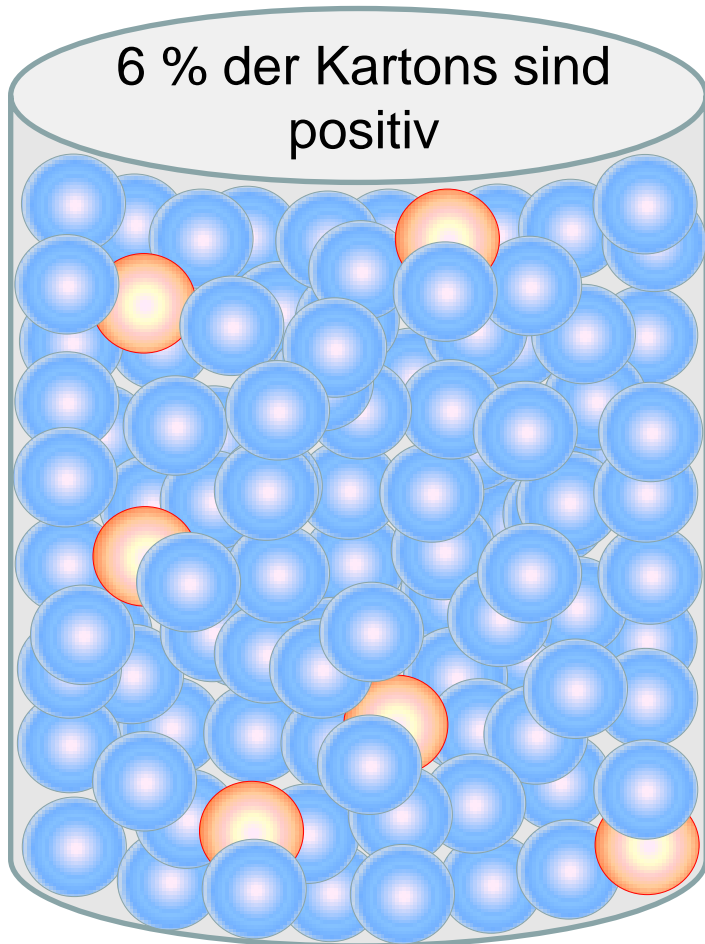


Lieferung von 30 t = 30 000 kg

Postulat: 429 Pflückertage, 5 der Pflücker sind einen Tag viruspositiv und halten hygienische Anforderungen nicht ein

p (durch Pflücker kontaminierter Körbchen)	Zahl positiver Cluster = positiver Körbchen am Tag	% positiver Cluster in Tagesernte	Anzahl von 10 kg Kartons nach Verpacken	Anteil positiver Kartons im Lot	p (Anzahl Kartons mit positiven Clustern)	Anzahl positiver Kartons von 100
0,5	175	0,58	3000	0,058	0,0567	6

Fünf Pflücker haben Durchfall.



binomial
verteilt

Stichprobenumfang n	p (mind. 1 Karton positiv, wenn n Kartons entnommen)
1	0,06
3	0,16
5	0,25
10	0,44
40	0,90



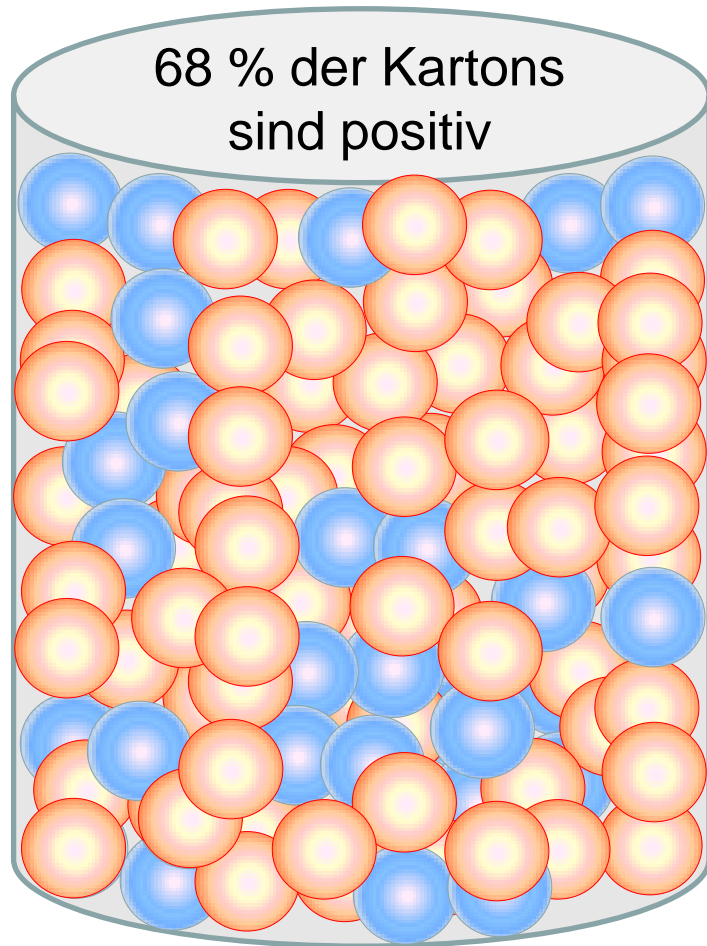
Berechnung mit viruskontaminiertem Wasser

Lieferung von 30 t

Postulat: 10% der Ernte wird kontaminiert

benötigte Fläche	Ernte pro d in kg	1 kg-Cluster insgesamt	Anteil kontaminierter Körbchen á 1 kg	% positiver Cluster	Anzahl an 10 kg Kartons	n positiver Cluster pro Karton	p (Anzahl Kartons mit positiven Clustern)	Anzahl positiver Kartons von 100
42 ha	30 000	30 000	3 000	10	3000	1	0,63	63

Nachweiswahrscheinlichkeit Berechnung mit Abwasser



binomial
verteilt

Stichprobenumfang n	p (mind. 1 Karton positiv, wenn n Kartons entnommen)
1	0,63
2	0,86466
3	0,95021
5	0,99326

Wiederfindung

- Weiche Beerenfrüchte enthalten Anthocyane, welches nur schwer zu eliminieren sind
 - Heidelbeeren, Johannisbeeren und Erdbeeren funktionieren recht gut
 - Himbeeren und Brombeeren eher schlecht
- PEG-Präzipitation nach DIN CEN ISO/TS 15216:2013 ist die einzige routinetaugliche Möglichkeit, eine akzeptable Wiederfindung von $> 1\%$ zu generieren
- Ansatz mindestens doppelt: Template im Original und 1:10-verdünnt
 - (LAV ST: 3 fach, zusätzlich 1:5)



Indikatorkeimkonzept

- Nicht anwendbar
 - E. coli und coliforme Keime in den Proben sind unauffällig
 - Verarbeiter in China verwenden NaClO (50-100 ppm) zur Dekontamination
 - bakterielle Indikatororganismen (coliforme Keime, E. coli) beeinträchtigt, Viren jedoch nicht
 - spiegelt eine bessere hygienische Qualität vor



Erdbeeranbau in Marokko

Wie kann die Lebensmittelindustrie viruskontaminierten Rohware vermeiden?

Einhaltung der Hygienestandards bei Anbau, Ernte und Verarbeitung

- z.B. durch zertifizierte Erzeugung nach Global G. A. P.

