



## 5.6

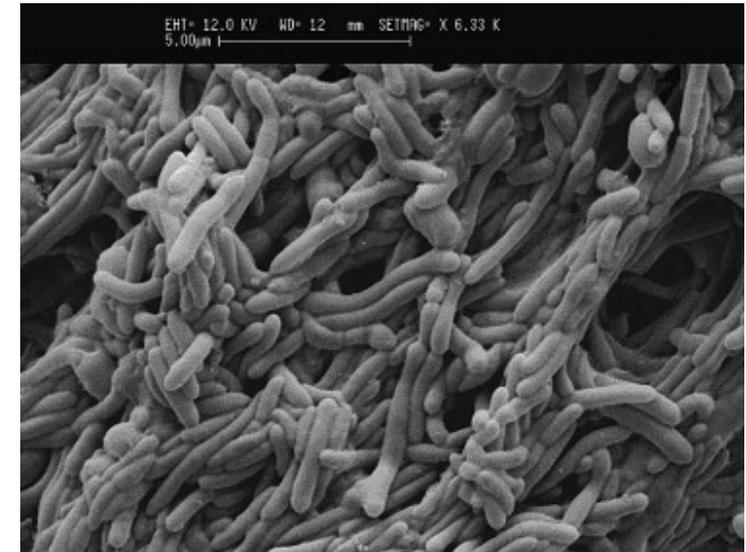
# Einfache Methoden zur Überprüfung von Reinigung und Desinfektion

*This work is licensed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International License. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/> or send a letter to Creative Commons, PO Box 1866, Mountain View, CA 94042, USA*



## Oberflächenkeime verstecken sich oft in *Biofilmen*

- Keime können an Oberflächen anhaften und ***Biofilme bilden***
  - Biofilme können eine Kontaminationsquelle und damit ein Gesundheitsrisiko darstellen
  - Viele Stämme von *Listeria monocytogenes* und *Bacillus cereus* sind dafür bekannt, dass sie eine starke Anhaftungsfähigkeit für Oberflächen besitzen
  - Biofilme bilden sich auf allen feuchten Oberflächen mit Spuren von Nährstoffen
  - Biofilme schützen Keime vor Reinigung und Desinfektion
- ***Biofilme sind oftmals schwierig zu entfernen***

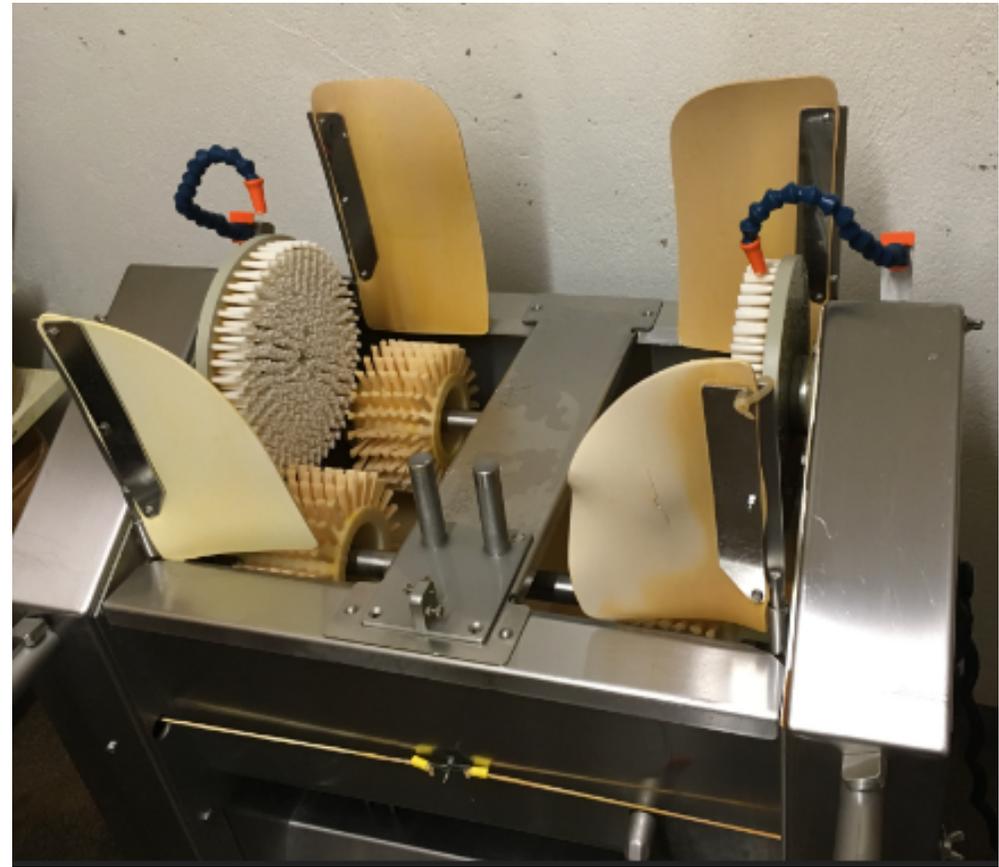


Kuva: Aufnahme eines Rasterelektronenmikroskop von Biofilm durch *Bacillus cereus* – (Einheit 5 µm).

Quelle: Simões, M., Simoes, L. C., & Vieira, M. J. (2010). [A review of current and emergent biofilm control strategies](#). *LWT-Food Science and Technology*, 43(4), 573-583.



## Biofilme bilden sich leicht auf feuchten Oberflächen und in Spritzwasserbereichen





## Oberflächenbeprobung ist verpflichtend, wenn ein Produkt ein Risiko für das Wachstum von *Listeria monocytogenes* darstellt

- Ziel dieser obligatorischen Probennahme ist es, das eventuelle Vorhandensein von *Listeria monocytogenes* in den Verarbeitungsbereichen und -geräten nachzuweisen. (Verordnung (EU) Nr. 2073/2005, Artikel 5.2)
- Diese Proben sollten **während der Produktion** genommen werden.



## Schwammprobe für *Listeria monocytogenes*



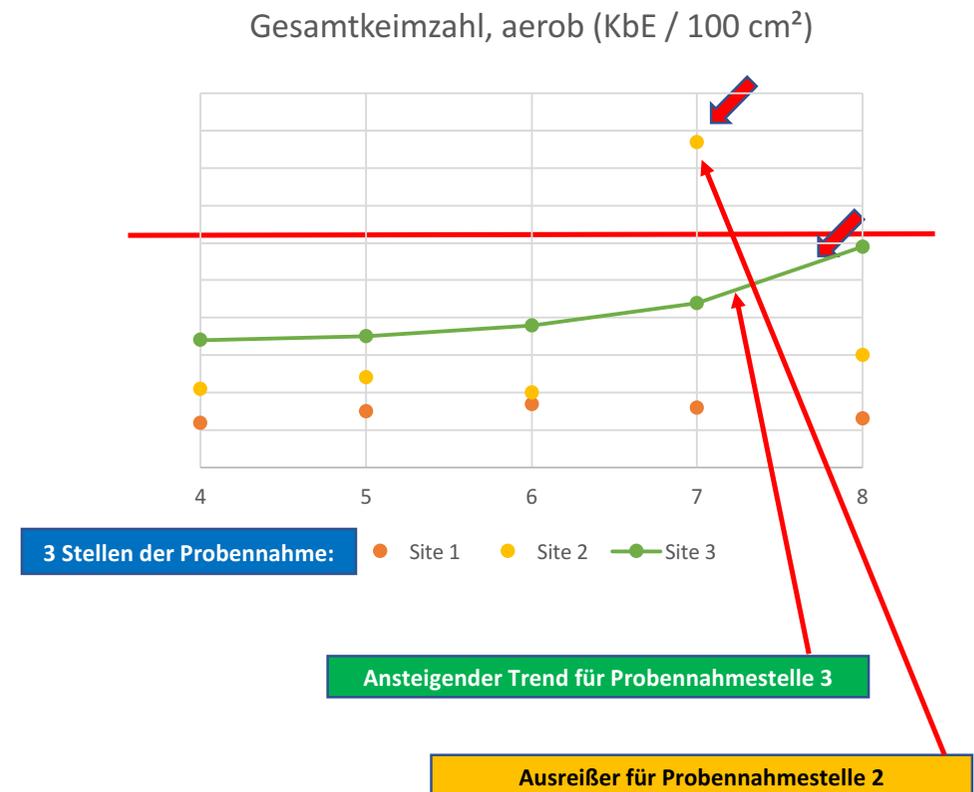
- Schwämme eignen sich für die **Beprobung von Flächen auf *Listeria monocytogenes*** und gegebenenfalls andere Pathogene
- Schwamm-Probenahmebestecke **mit Neutralisierungspuffer** (z.B. 3M) verwenden, um Reinigungsmittel zu neutralisieren
- Transportbeutel **beschriften** und versenden

Für die Untersuchung von Oberflächen auf pathogene Keime ist eine Fläche von 100–1000 cm<sup>2</sup> zu beproben. Dafür ist möglichst ein Schwamm oder Schwammtupfer zu verwenden.



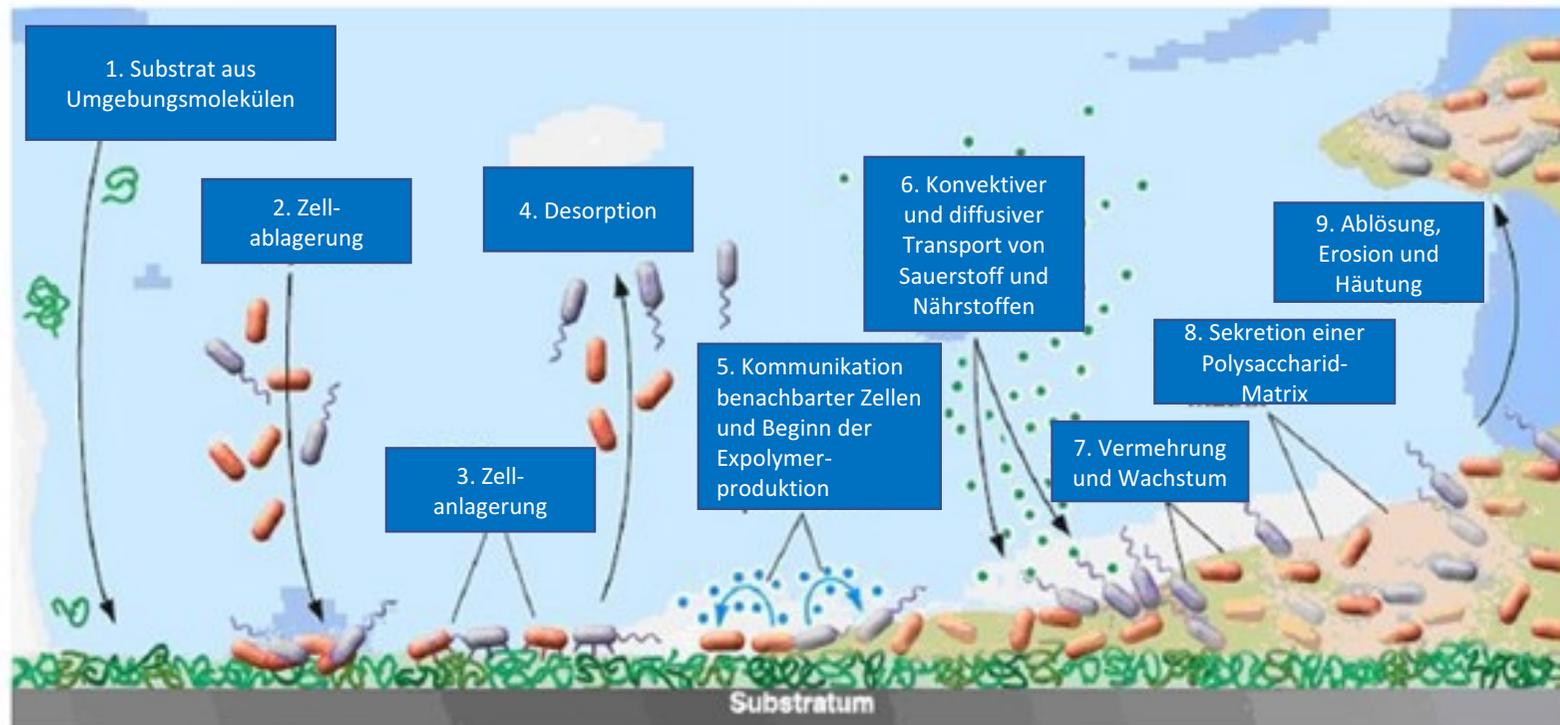
## Oberflächenbeprobung für Hygieneindikatororganismen

- **Empfohlen** und **nützlich**, um Reinigungs- und Desinfektionsabläufe zu überprüfen
- Überwachung von **Trends** bezüglich der **Anwesenheit von Hygieneindikatororganismen** an verschiedenen Stellen in der Käserei





# Bildung und Ablösung von Biofilmen auf Verarbeitungsoberflächen



Source: Simões, M., Simoes, L. C., & Vieira, M. J. (2010). [A review of current and emergent biofilm control strategies](#). *LWT-Food Science and Technology*, 43(4), 573-583.

[Biofilmbildung Animation](#) (McGraw-Hill Animations 2017)

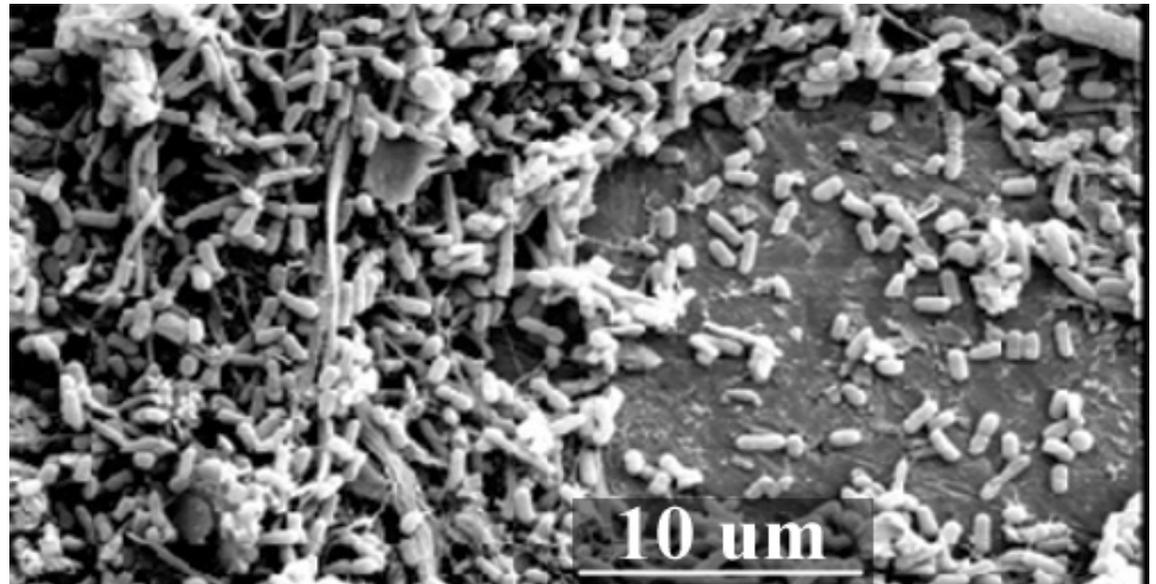
[A Review](#): Chmielewski, R. A. N., & Frank, J. F. (2003). Biofilm formation and control in food processing facilities. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 2(1), 22-32.



## Bedeutung der Qualität von Oberflächenmaterialien für die Hygiene

Edelstahl ist in verschiedenen Qualitäten und Ausführungen mit unterschiedlichen physikalisch-chemischen Eigenschaften erhältlich.

- Dies hat Auswirkungen auf die bakterielle Anhaftung



Siehe Beispiele und Bilder von Rasterelektronenmikroskop: Jullien, C., Bénézech, T., Carpentier, B., Lebret, V., & Faille, C. (2003). Identification of surface characteristics relevant to the hygienic status of stainless steel for the food industry. *Journal of Food Engineering*, 56(1), 77-87. Retrieved from [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(02\)00150-4](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(02)00150-4)



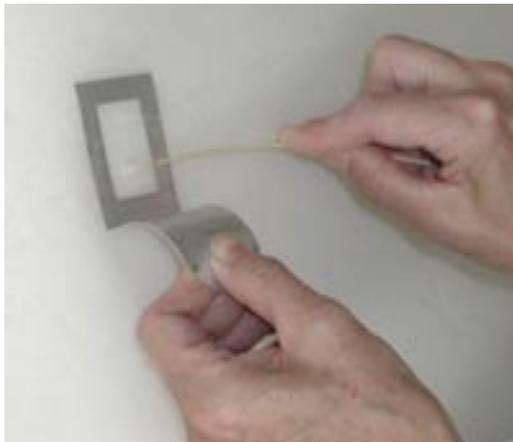
## Wo, wann und wie sind Umfeldproben zu nehmen?

- Wie im Probennahmeplan für die Käsereigebäude beschrieben
- Abhängig vom Ziel der Probennahme sollen Proben wie folgt genommen werden:
  - a) Von Oberflächen **nach** deren ordnungsgemäßer Desinfektion. Sehen Oberflächen oder Arbeitsgeräte schmutzig aus → erneut reinigen!
  - b) **Während** ihrer Nutzung oder **unmittelbar davor** (zum Nachweis von *Listeria monocytogenes*)
  - c) **Von den Händen** des Personals (zur Überprüfung des Händewaschens)

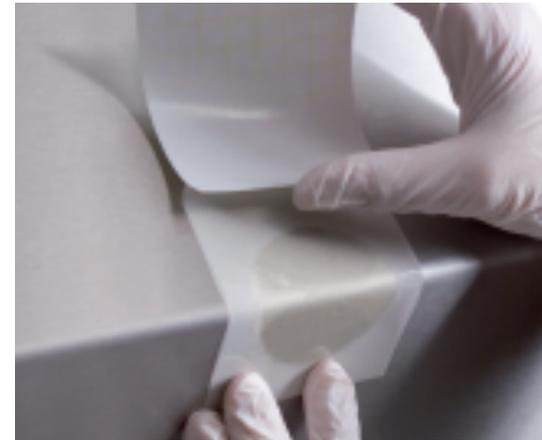




# Beispiele für einfache Hygieneuntersuchungsmethoden



Oberflächen-  
Abstrich  
(siehe Videos [QuickMedical](#)  
und [Quantiswab](#))

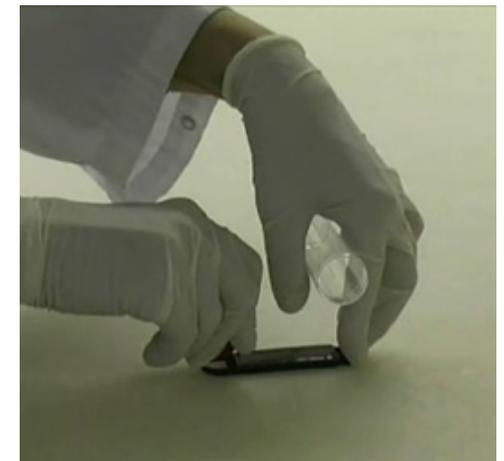


Petrifilm™  
([3M](#)) und  
ähnliche  
Produkte

ATP-  
Messung



Eintauchnähr-  
böden und  
Kontaktplatten





# Oberflächenbeprobung ist mit vielen Produkten möglich

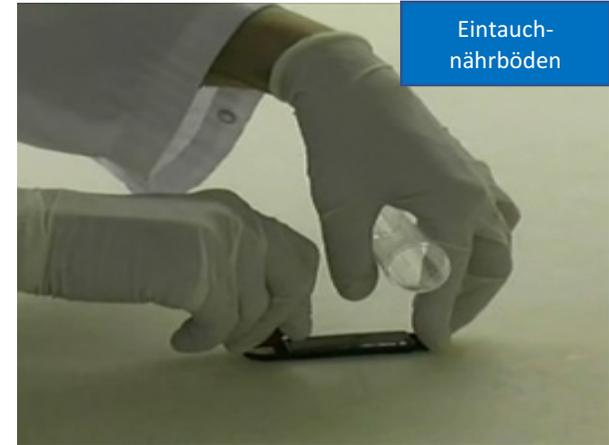
Petrifilm



Kratzschwamm



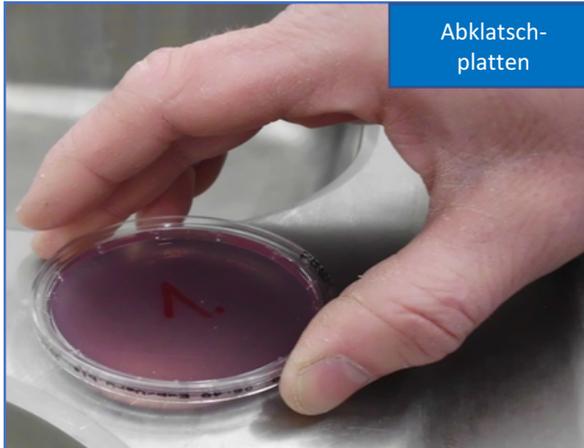
Eintauchnährböden



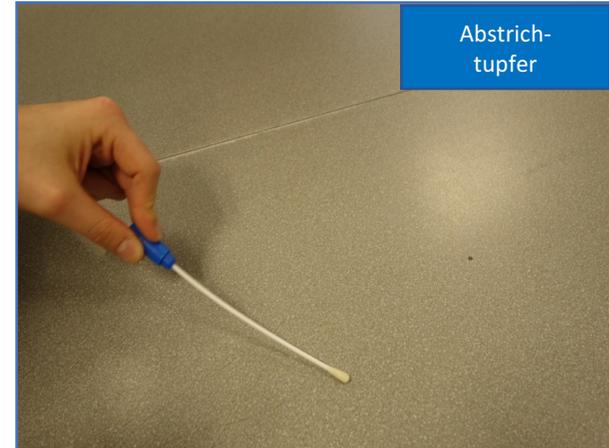
Schwammbesteck



Abklatschplatten



Abstrichtupfer





# Abklatschproben

## Eintauchnährböden

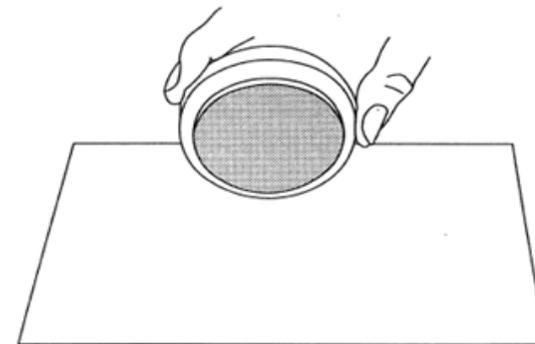
(Dip Slides)



KBE /10 cm<sup>2</sup>

## Abklatschplatten

(z.B. RODAC = Replicate Organism Detection and Counting)

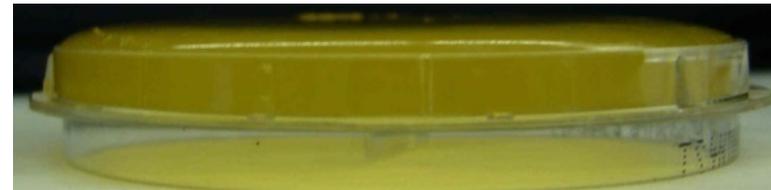
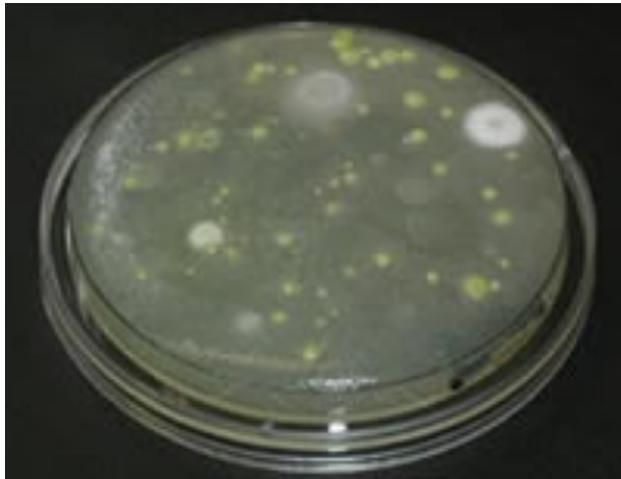


KBE /25 cm<sup>2</sup>



## Abklatschplatten

- Agarboden wird für einen kurzen Moment gegen die zu untersuchende Oberfläche gedrückt
- → Bebrütung
- → Auszählen der Kolonien
- Beispiel: [RODAC](#)-Platten





# Probennahme mittels RODAC

## CASO-Agar für Gesamtkeimzahl



## VRBD für *Enterobacteriaceae*



**Tipp:** Bei Raumtemperatur lagern oder 24h vor Verwendung aus Kühlung nehmen:

- Kondenswasser kann Ergebnisse verfälschen

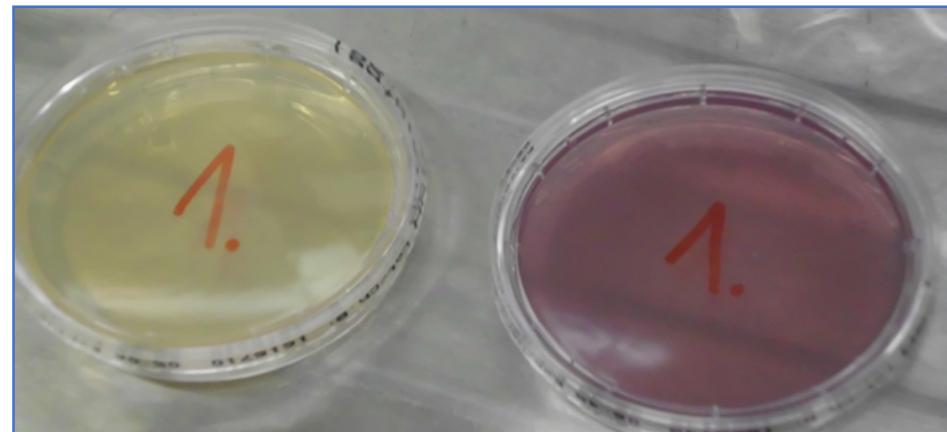


# Probennahme mittels RODAC

Platten auf Unterseite beschriften

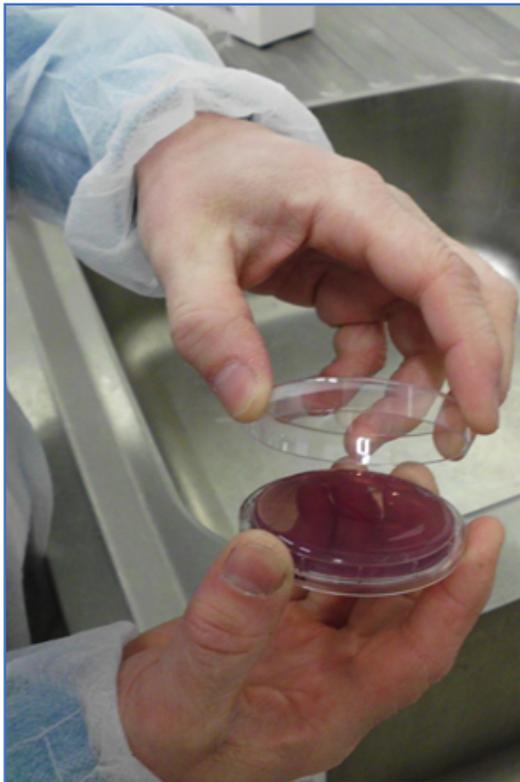


paarweise bei verschiedenen Agar





## Probennahme mittels RODAC



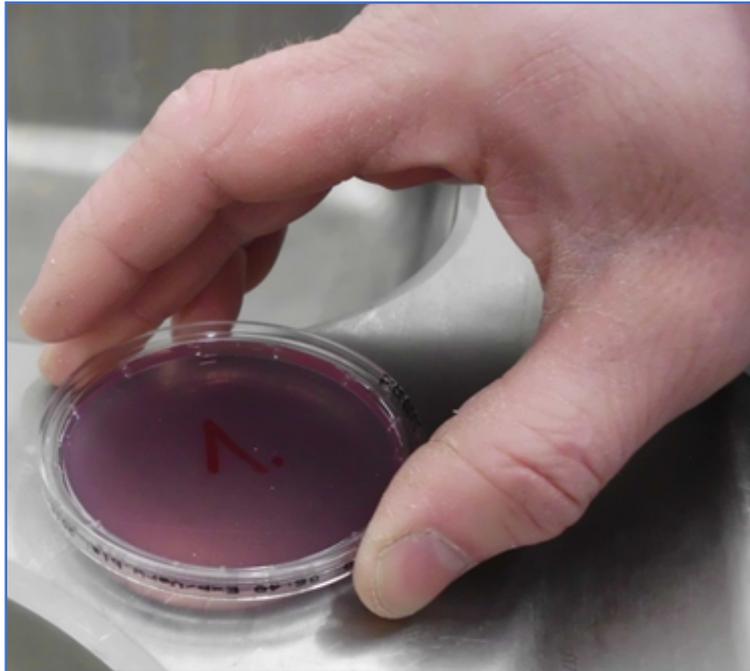
Deckel abheben



und stets nach unten halten.



## Probennahme mittels RODAC



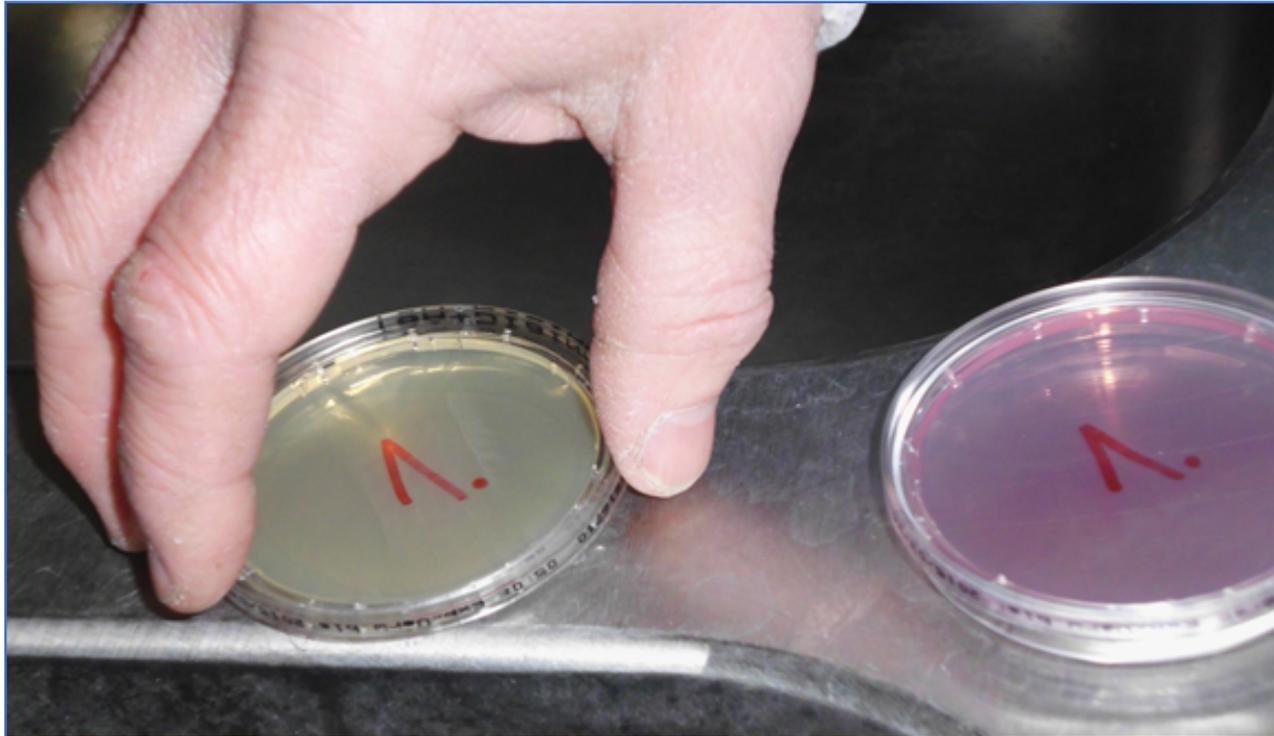
**Auf gereinigter Fläche platzieren.**



**Mit möglichst gleichem Druck die überstehende Agaroberfläche ca. 10 Sekunden auf die Testoberfläche drücken.**



## Probennahme mittels RODAC



Gegebenenfalls zweite Platte daneben platzieren.  
**Nicht auf gleiche Fläche** da diese schon abgeklatscht ist.



## Probennahme mittels RODAC



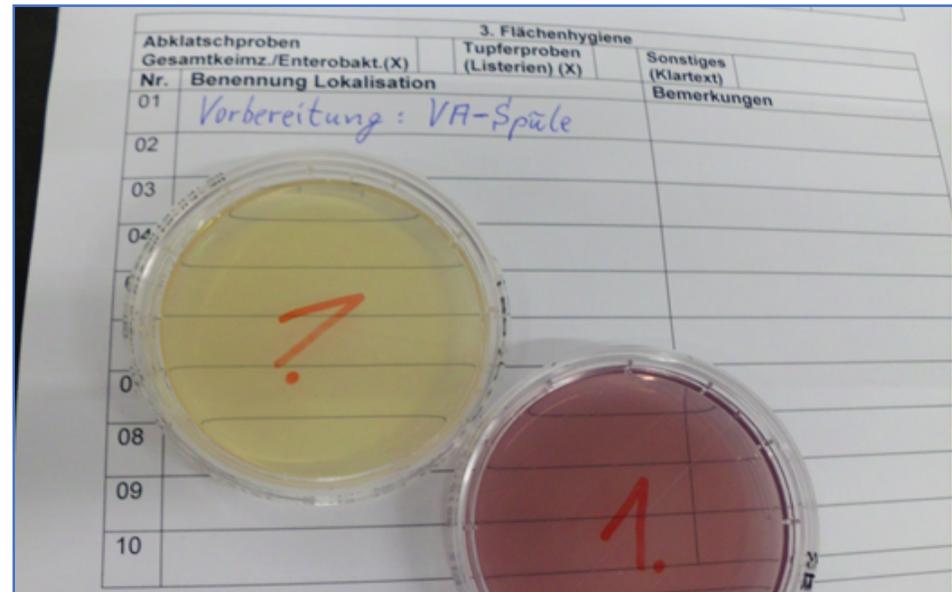
**Platte vorsichtig abnehmen und ohne die Agarfläche zu berühren den Deckel wieder aufsetzen.**



## Probennahme mittels RODAC



Probenbegleitschein ausfüllen.

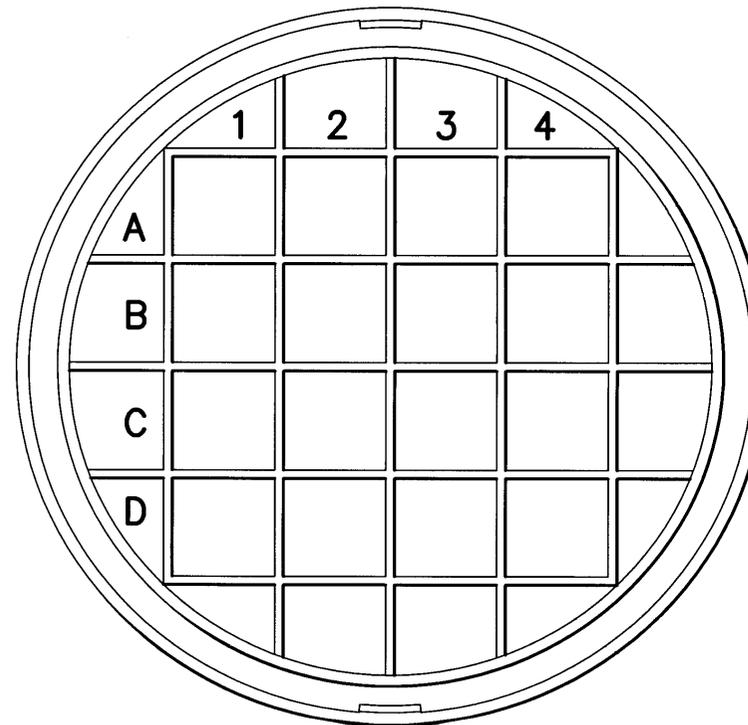


Abgeklatschte Stelle dokumentieren.



## Auswertung von RODAC-Platten

**Quadrate:**  
 $4 \times 5 = 20 \text{ cm}^2$



**Total:**  
 $5 \times 5 = 25 \text{ cm}^2$

### Tipp:

Bei starkem Bewuchs:

1 repräsentatives Kästchen auszählen und hochrechnen.



## Eintauchnährböden (Dip-Slides)

Wachstumsmedium für Keime auf beiden Seiten der Slides;  
beispielsweise für Gesamtkeimzahl, aerob / Enterobakterien /  
Coliforme / Hefen und Schimmel etc.

Probennahme → Bebrütung → Interpretation der Ergebnisse

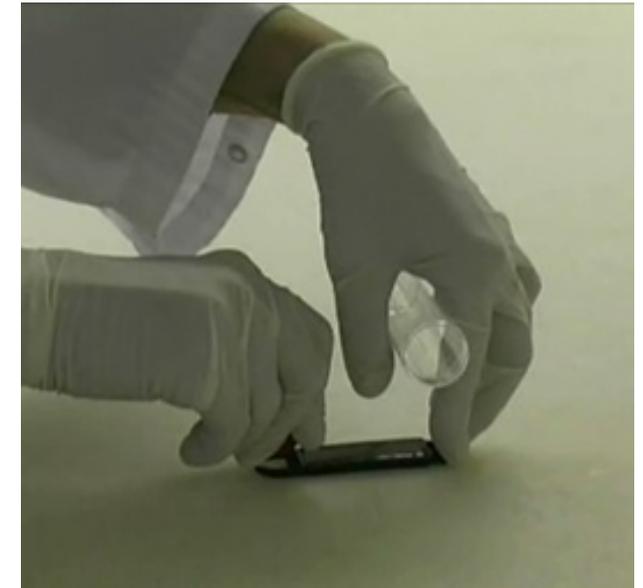
Beispiel für eine Auswertungstabelle ([Microcount®](#))

Auswertungstableau

| mikrocount®             |                        | TPC                    | Gesamtkeimzahl         |                        |                           |
|-------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|---------------------------|
| 10 <sup>2</sup> KBE/ml  | 10 <sup>3</sup> KBE/ml | 10 <sup>4</sup> KBE/ml | 10 <sup>5</sup> KBE/ml | 10 <sup>6</sup> KBE/ml | 10 <sup>7</sup> KBE/ml    |
|                         |                        |                        |                        |                        |                           |
| < 1 KBE/cm <sup>2</sup> | 1 KBE/cm <sup>2</sup>  | 5 KBE/cm <sup>2</sup>  | 45 KBE/cm <sup>2</sup> | 80 KBE/cm <sup>2</sup> | > 100 KBE/cm <sup>2</sup> |

??? Auf die  
Einheit und  
Plausibilität  
achten !!!

Es gibt mehrere Anbieter und Produkte (Envirocheck®,  
Hygicult®, Hycheck®, Easicult®, Microcount® ...)





## Auswertung von Eintauchnährböden (Dip Slides)

Vorsicht ist bei den Auswerteschemata der Hersteller geboten !!!

Die Empfehlungen beziehen sich oft auf die Bakterienzahl in Flüssigkeiten. Für gereinigte Oberflächen sind andere Maßstäbe anzulegen.

### HINWEIS:

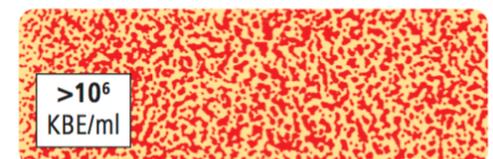
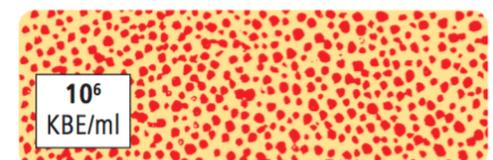
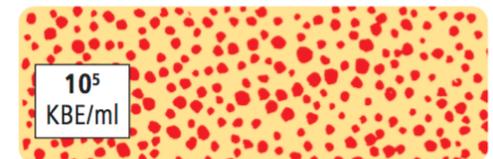
Unbedingt auf die korrekte Einheit achten: KBE / cm<sup>2</sup>

**KBE / ml ist für eine Oberflächenbeprobung nicht geeignet.**

### Auswertungsschema des Herstellers für Flüssigkeiten

#### Bestimmung der Bakterienzahl:

- bis 10<sup>4</sup> sehr schwache bis schwache Kontamination
- 10<sup>5</sup> - 10<sup>6</sup> mäßige bis starke Kontamination
- über 10<sup>6</sup> starke bis sehr starke Kontamination



KBE: koloniebildende Einheiten



## Auswertung von Eintauchnährböden (Dip Slides)

1. Wählen Sie die korrekte Einheit (KBE / cm<sup>2</sup>) auf dem Auswertungstableau aus.
2. Zur Beurteilung kann das Auswerteschema gemäß der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren herangezogen werden (ASU 80.00-3).

Beispiel für eine Auswertungstabelle ([Microcount](#)<sup>®</sup>)

Auswertungstableau

| mikrocount <sup>®</sup> |                        | TPC                    | Gesamtkeimzahl         |                        |                           |
|-------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|---------------------------|
| 10 <sup>2</sup> KBE/ml  | 10 <sup>3</sup> KBE/ml | 10 <sup>4</sup> KBE/ml | 10 <sup>5</sup> KBE/ml | 10 <sup>6</sup> KBE/ml | 10 <sup>7</sup> KBE/ml    |
|                         |                        |                        |                        |                        |                           |
| < 1 KBE/cm <sup>2</sup> | 1 KBE/cm <sup>2</sup>  | 5 KBE/cm <sup>2</sup>  | 45 KBE/cm <sup>2</sup> | 80 KBE/cm <sup>2</sup> | > 100 KBE/cm <sup>2</sup> |

Das Auswertungstableau wählt die Einheit (1 cm<sup>2</sup>) während das empfohlene Auswerteschema die Einheit (25 cm<sup>2</sup>) verwendet. Daher müssen Sie die Werte umrechnen!!!

**Auswerteschema für mesophile aerobe Keimzahlen**  
Angaben beziehen sich auf Fläche der RODAC-Platte (25 cm<sup>2</sup>)

| Anzahl               | Kolonien | Schlüssel | Kategorie         |
|----------------------|----------|-----------|-------------------|
| kein Wachstum        | -        | 0         | sehr gut          |
| 1-3 Kolonien         | (+)      | 1         | gut               |
| <b>4-10 Kolonien</b> | +        | 2         | tolerierbar       |
| 11-30 Kolonien       | +++      | 3         | nicht tolerierbar |
| 31-60 Kolonien       | +++      | 4         | nicht tolerierbar |
| > 60 Kolonien        | ++++     | 5         | nicht tolerierbar |
| Rasenwachstum        | R        | 6         | nicht tolerierbar |

Quelle: ASU § 64 LFGB, 80.00-3: Bestimmung des Oberflächenkeimgehaltes auf Einrichtungs- und Bedarfsgegenständen im Lebensmittelbereich - Abklatschverfahren



# Auswertung von Eintauchnährböden (Dip Slides)

Beispiel:

2 KBE/10cm<sup>2</sup> (Dip Slide)  
entspricht  
5 KBE/25 cm<sup>2</sup> (RODAC)  
bedeutet  
tolerierbar

Beispiel für eine Auswertungstabelle ([Microcount](#)®)

Auswertungstableau

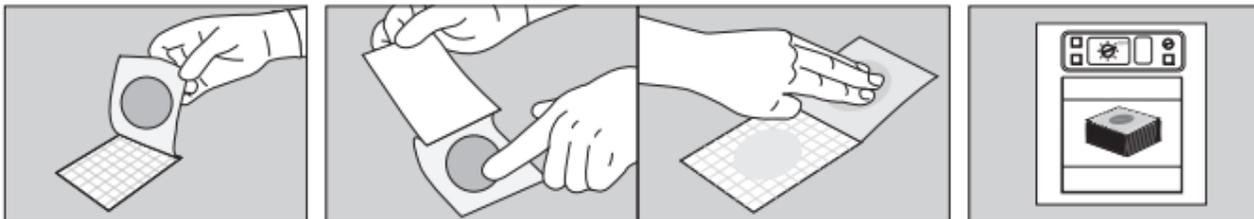
| mikrocount®             |                        | TPC                    | Gesamtkeimzahl         |                        |                           |
|-------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|---------------------------|
| 10 <sup>2</sup> KBE/ml  | 10 <sup>3</sup> KBE/ml | 10 <sup>4</sup> KBE/ml | 10 <sup>5</sup> KBE/ml | 10 <sup>6</sup> KBE/ml | 10 <sup>7</sup> KBE/ml    |
|                         |                        |                        |                        |                        |                           |
| < 1 KBE/cm <sup>2</sup> | 1 KBE/cm <sup>2</sup>  | 5 KBE/cm <sup>2</sup>  | 45 KBE/cm <sup>2</sup> | 80 KBE/cm <sup>2</sup> | > 100 KBE/cm <sup>2</sup> |

|                         | Einheit              | < 1 KBE                       | 1 KBE                                | 5 KBE   |  |
|-------------------------|----------------------|-------------------------------|--------------------------------------|---|--|
| Auswertungstableau      | 1 cm <sup>2</sup>    | < 1 KBE                       | 1 KBE                                | 5 KBE   |  |
| Dip Slide               | 10 cm <sup>2</sup>   | < 10 KBE                      | 10 KBE                               | 50 KBE  |  |
| RODAC-Platte            | 25 cm <sup>2</sup>   | < 25 KBE                      | 25 KBE                               | 125 KBE   |  |
| 0 KBE/RODAC<br>sehr gut | 1-3 KBE/RODAC<br>gut | 4-10 KBE/RODAC<br>tolerierbar | 11-30 KBE/RODAC<br>nicht tolerierbar | 31 KBE bis Rasenwachstum/RODAC<br>nicht tolerierbar |  |



# Petrifilme™ und ähnliche Produkte

## 3M™ Petrifilm™ Plate Direct Contact Method



1 Using a hydrated 3M Petrifilm Plate, carefully lift top film. Avoid touching circular growth area. Gel will adhere to top film.

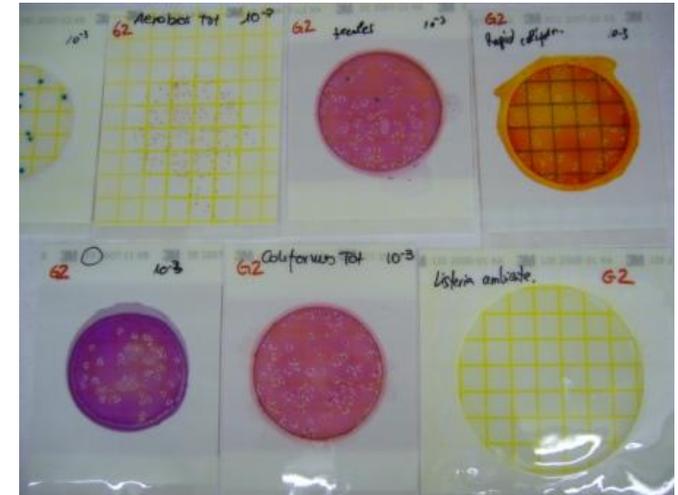
3M™ Petrifilm™ Yeast and Mold Count Plates: On occasion, the gel may split (adhering to both the top and bottom films) when the top film is lifted. If this happens, the plate with gel splitting may still be used for air testing, but is not recommended for direct contact use.

2 Allow the circular gel portion of the top film to contact the surface being tested. Gently rub fingers parallel to the surface over the outer film side of the gelled area to ensure good contact with surface. Rejoin the top and bottom films.

OR

Touch finger or portion of hand to hydrated gel area. Rejoin the top and bottom films. Wash hands after finger or hand plating. All 3M Petrifilm Plates except Yeast and Mold Count Plates can be used for finger or hand plating.

3 Incubate and enumerate as directed in product instructions. Refer to 3M Petrifilm Plate Interpretation Guide when enumerating results.



Quelle: [3M. Environmental monitoring](#)

Video: [3M Petrifilm Plates for Environmental Testing](#)

### Anleitung für

- [Aerobic Count Plates](#)
- [Enterobacteria](#)
- [E. coli / Coliforms](#)

### Interpretationshilfe für

- [Aerobic Count Plates](#)
- [Enterobacteria](#)
- [E. coli / Coliforms](#)



Weitere Produkte: [Compact Dry](#), [Rida Count](#)



## ATP-Messung

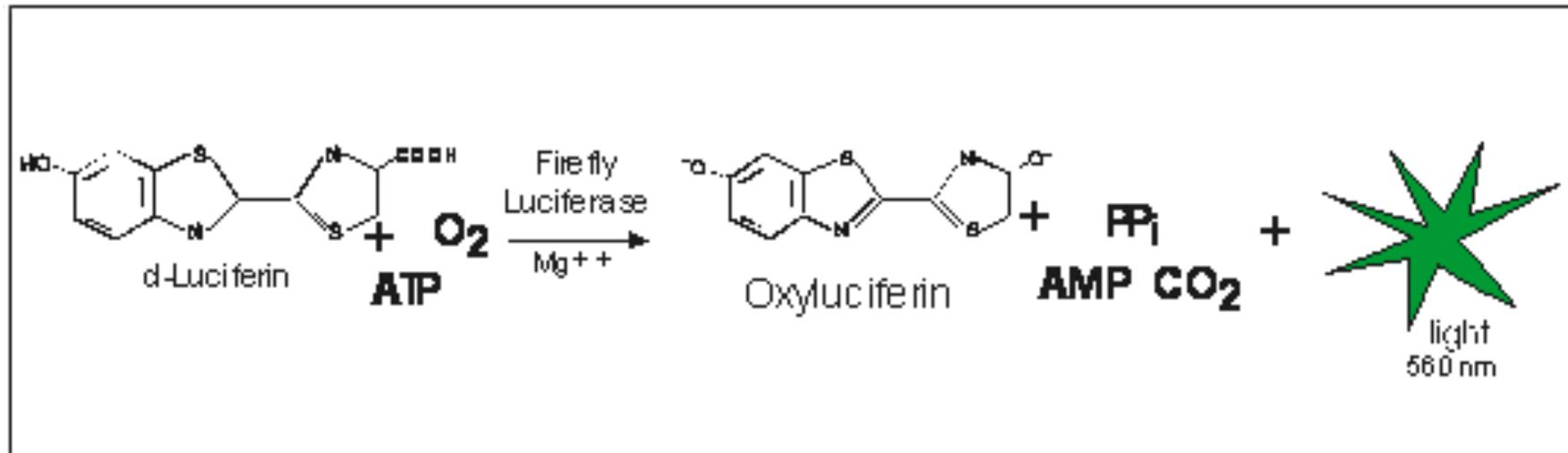
- ATP (Adenosintriphosphat) -moleküle sind in allen Zellen vorhanden (mikrobielle, pflanzliche, tierische Zellen) → guter Indikator für organische Kontamination
- Im Hygienemonitoring wird ein sog. Luminometer sowie Teststäbchen mit verschiedenen Reagenzen (Luziferin, Luziferase) verwendet
- Viele Anbieter und Produkte ([3M Clean –Trace™](#), [Hygiena](#), [umitester...](#))





## Prinzip der ATP-Messung

- ATP reagiert in Anwesenheit eines Katalysators (Luziferase) mit Luziferin, wobei Licht entsteht, welches mit dem Luminometer aufgezeichnet werden kann



- Schnelle Methode: Ergebnis innerhalb weniger Minuten
- Geeignete Methode, um die gesamte Oberfläche auf Sauberkeit zu überprüfen!