



TRANSIA GmbH
Dieselstraße 9A
61239 Ober-Mörlen

Tel.: 06002 9386-0
Fax: 06002 9386-91
E-Mail: info@transia.de
Homepage: www.transia.de

Hy•giene monitor

für die
mikrobiologische
Hygieneuntersuchung

Art.Nr.: 494 04 - 494 57

Stand: März `06-8

Zur nichtdestruktiven Probenahme am Schlachttierkörper oder zur Oberflächenkontrolle an schwer zugänglichen Probenahmestellen bieten wir Ihnen unsere **Nasstupfer mit MRD-Medium** (Art.Nr.: 86005-31) an.

Für die Naß-Trockentupfer-Methode bestellen Sie zusätzlich **Trockentupfer mit Bruchkerbe** (Art.Nr.: 86019-T). Eine **Schablone** (Art.Nr.: 86015-T) mit einer Größe von 10x10cm erleichtert Ihnen die Arbeit bei der Tupfermethode. Eine Probenahme von größeren Oberflächen können Sie mit unseren 50cm² großen **Probenahmeschwämmchen** (Art.Nr.: TS15-A bzw. TS15-B) durchführen [7].

Weiteres Zubehör finden Sie unter www.transia.de oder fordern Sie unsere aktuellen Unterlagen einfach telefonisch an.

14. Literatur

1. H. GLOBISCH, S. WILKENS, A. JACOB und G. THIEN: Anwendbarkeit von Abklatschverfahren für die Untersuchung von Oberflächenkeimgehalten bei Schlacht-tierkörpern. Fleischwirtschaft 76 (11), S.1116-1118 (1996).
2. DIN 10113-3: Bestimmung des Oberflächenkeimgehaltes auf Einrichtungs- und Bedarfsgegenständen im Lebensmittelbereich. Teil 3 : Semiquantitatives Verfahren mit Nährbodenbeschichteten Entnahmesystemen. Beuth Verlag (1997).
3. Verpflichtung zur Errichtung eines Eigenkontrollsystems. §4 Lebensmittelhygiene-verordnung (1998).
4. U. KLEINER: Zur Aussagekraft von Tupferabstrichproben im Rahmen von Hygienekontrollen. Fleischwirtschaft 1 (2000).
5. Verordnung (EG) Nr. 852/2004 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 29. April 2004 über Lebensmittelhygiene
6. U. KLEINER und S. HILGERT: Umsetzung der Entscheidung 2001/471/EG. Fleischwirtschaft 3+4 (2004).
7. H. Purkl und M. Bülte: Das Naß-Trocken-Tupfverfahren und die Schwämmchentechnik als Probenahmemethoden bei Schlachttierkörpern. Kompendium der DVG Tagung (2002).
8. R. WITZENBERGER, T. WEBER und K. ERMEL: Oberflächenabklatsch mit dem Hy•giene monitor System. HYGIENE Report (2004).
9. T. WEBER: Oberflächenkontrolle mit Hy•giene monitor. afz journal (2004).
10. T. WEBER: Tisch gedeckt für Bakterien & Co.?. fundus (2005).

Diese Angaben entsprechen unserem heutigen Kenntnisstand und sollen über das Produkt und dessen vorschriftsmäßigen Gebrauch informieren. Sie dienen nicht dazu, bestimmte Eigenschaften oder Anwendungsgebiete zu garantieren.

Hy•giene monitor

Arbeitsanleitung bitte sorgfältig lesen!

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	1
2. Testprinzip	1
3. Probenmaterial	2
4. Nachweisgrenze und Testdauer	3
5. Testinhalt	3
6. Zum Test notwendige, nicht mitgelieferte Materialien	3
7. Allgemeine Hinweise	3
8. Probenaufbereitung	3
9. Testdurchführung	4, 5, 6
10. Auswertung	7, 8
11. Beurteilung	9
12. Verfügbare Nährmedienkombinationen	10
13. Zubehör	10, 11
14. Literatur	11

1. Einleitung

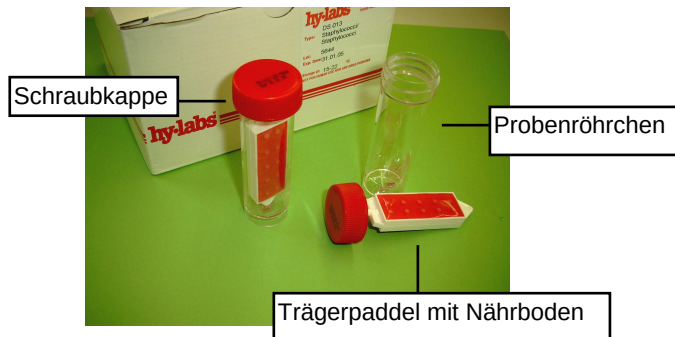
Das EU-Lebensmittelhygienepaket [5] fordert eigene Reinigungs- und Desinfektionskontrollen im Rahmen des HACCP-Konzeptes. Ziel ist es, die Qualität der Produkte zu sichern und eine gesundheitliche Unbedenklichkeit für den Verbraucher anzustreben.

Nach der DIN 10113-3 [2] kann die Bestimmung des Oberflächenkeimgehaltes im Lebensmittelbereich mit Abklatschsystemen wie dem **Hygiene monitor** vorgenommen werden. Als einfaches Verfahren ist es zur orientierenden Einstufung der Keimzahl gut anwendbar und kann zur Trendbeobachtung eingesetzt werden. Die Ergebnisse der Untersuchungen erlauben Maßnahmen zur Einhaltung der Hygienerichtlinien.

Das **Hygiene monitor** System gewährleistet zudem sicheren Probentransport bei Umgebungstemperatur. Mit dem Kommunikationspack (Art. Nr.: 494 00) wird der Versand erleichtert.

2. Testprinzip

Das **Hygiene monitor** System besteht aus einem Probenröhrchen mit Schraubkappe und einem Trägerpaddel mit zwei mikrobiologischen Nährböden Ihrer Wahl (S. 10).



Die Probennahme erfolgt durch Abklatschen von Oberflächen, durch Eintauchen in Flüssigkeiten und Lebensmittelsuspensionen oder durch einfaches Aufstellen des Paddels. Der Nährboden kann alternativ mit einem Tupfer beimpft werden. **Hygiene monitor** ist auch ein ideales Transportmittel für Proben, die extern ausgewertet oder weiter untersucht werden sollen.

12. Verfügbare Nährbodenkombinationen

Artikelnr.	Nährbodenkombination		Lagerung
494 04	Gesamtkeimzahl	Gesamtkeimzahl	17-22°C
494 05	Gesamtkeimzahl	Laktobakterien	17-22°C
494 06	Gesamtkeimzahl	Coliforme	17-22°C
494 10	Laktobakterien	Hefen & Schimmel	17-22°C
494 12	Gesamtkeimzahl	Hefen & Schimmel	17-22°C
494 13	Staphylokokken	Staphylokokken	17-22°C
494 16	Hefen&Schimmel	Hefen& Schimmel	17-22°C
494 17	Coliforme	Coliforme	17-22°C
494 21	Coliforme	Hefen&Schimmel	17-22°C
494 23	TTC-Gesamtkeimzahl	Hefen&Schimmel	17-22°C
494 24	TTC-Gesamtkeimzahl	Coliforme	17-22°C
494 26	TTC-Gesamtkeimzahl	TTC-Gesamtkeimzahl	17-22°C
494 28	Desinfektionskontrolle	Desinfektionskontrolle	17-22°C
494 35	CHROMagar <i>E. coli</i>	Coliforme	4-15°C
494 36	CHROMagar Salmonella	CHROMagar Salmonella	4-15°C
494 41	ALOA Listerien	ALOA Listerien	4-15°C
494 45	CHROMagar <i>E. coli</i> Coliforme	TTC-Gesamtkeimzahl	4-15°C
494 46	Gesamtkeimzahl	Enterobacteriaceae	17-22°C
494 49	CHROMagar <i>S. aureus</i>	CHROMagar <i>S. aureus</i>	4-15°C
494 57	Enterobacteriaceae	Enterobacteriaceae	17-22°C
494 00	« Kommunikations Pack »		

13. Zubehör zum Hygiene monitor

Der **Inkubat 85** (Art.Nr.: 85) ist ein Brutschrank mit 3 Einsätzen (Art.Nr.: 86). Jeder Einsatz kann 9 **Hygiene monitor** Röhrchen aufnehmen. Die Temperatur ist per Reglerknopf einstellbar.

Der Brutschrank **thermocult** (Art.Nr.: Z252000) findet seine Anwendung in Betrieben, wo ausschließlich Hygienekontrollen durchgeführt werden und keine Laborarbeit stattfindet – optimal für den Einsatz im Metzgereibetrieb. Fixtemperatur bei ca. 35° Celsius.

Kleinautoklaven (Art.Nr.: KSG 5, 7, 12) mit Heizplatte und Siebkorb finden Sie in den Größen 5, 7 und 12 Liter. Dazu liefern wir Ihnen passende Autoklavenbeutel und Deokapseln in verschiedenen Duftrichtungen.

11. Beurteilung

Betrachten Sie das Paddel zur Beurteilung auch von der Seite, dann sind farblose durchscheinende Kolonien besser zu erkennen.

a) Abklatsch- oder Luftkeimzahlbestimmung:

- Anzahl der Kolonien bestimmen (Zählen oder Schätzen)
- Es bestehen mehrere Möglichkeiten, wie das Ergebnis angegeben werden kann:
 - Man teilt die Anzahl der Kolonien auf dem Paddel durch 9. Da die Abklatschfläche 9 cm² groß ist, erhält man so die Gesamtkeimzahl auf der beprobten Fläche in KBE/cm².
 - Man hat für die einzelnen Probeflächen festgelegt, wie viele Kolonien auf dem Abklatschtest anwachsen dürfen. Empfehlenswert ist auch eine Einteilung in Kategorien, wie in folgendem Beispiel.

Vorschlag zur Beurteilung des Oberflächenabklatsches:

Anzahl der Kolonien auf dem Nährmedium für Gesamtkeimzahl/ cm ²	Kommentar	Kategorie
0 – 10	Leicht bis mäßig verunreinigt, annehmbar	1
>10	Nicht annehmbar	2

Anzahl der Kolonien auf dem Nährmedium für Enterobacteriaceen/ cm ²	Kommentar	Kategorie
0-1	Sauber bis leicht verunreinigt, annehmbar	1
>1	Nicht annehmbar	2

b) Eintauch-Test:

Die Nachweisgrenze beträgt 10² KBE/ml. Das bedeutet, dass mindestens 100 Keime pro ml in der zu prüfenden Lösung bzw. Suspension vorhanden sein müssen, bevor eine Kolonie sichtbar wird. Vergleichen Sie das Paddel mit den Abbildungen der Auswertehilfe, oder dem Poster "microbial count chart" und verschaffen Sie sich so einen schnellen Überblick über die Gesamtsituation.

3. Probenmaterial

Proben:	Wir empfehlen die Prüfung auf
Wasser, Abwasser, Kühlwasser	Gesamtkeimzahl, Coliforme, Enterobacteriaceae, <i>E. coli</i> , Hefen&Schimmel
Desinfektionskontrolle	Gesamtkeimzahl und Desinfektionskontrolle
Personal	Gesamtkeimzahl, Coliforme, Enterobacteriaceae, Salmonellen, Staphylokokken
Lebensmittel mit saurem pH-Wert (<4.5) wie Tomaten, Zitrusfrüchte, eingelegte Früchte und Gemüse, Fruchtsäfte und Mixgetränke	Gesamtkeimzahl, Hefen&Schimmel, Laktobakterien, Enterobacteriaceae, Coliforme, <i>E. coli</i>
Rohmaterial im mittleren pH-Bereich von 4.6 – 6.9	Gesamtkeimzahl, Laktobakterien, Coliforme, Enterobacteriaceae, Hefen&Schimmel, <i>E. coli</i>
Molkereiprodukte wie Milch, Joghurt, Starterkulturen usw.	Gesamtkeimzahl, Laktobakterien, Coliforme, Enterobacteriaceae, Hefen&Schimmel, <i>E. coli</i>
Fleisch, Fisch, rohe, zubereitete und tiefgefrorene Produkte	Gesamtkeimzahl, Laktobakterien, Coliforme, Enterobacteriaceae, Hefen&Schimmel, <i>E. coli</i> , Listerien
Trockenprodukte, wie Eipulver, Milchpulver, Trockensuppen, Instantdressing, Kakao usw.	Gesamtkeimzahl, Laktobakterien, Coliforme, Enterobacteriaceae, Hefen&Schimmel, <i>E. coli</i>

Oberflächen	Alle Nährböden sind für Oberflächen geeignet
-------------	--

4. Nachweisgrenze und Testdauer

- Mit dem **Hy-giene monitor** werden die Keime entsprechend der Spezifität der verwendeten Nährböden erfasst (vgl. DIN 10113-3, Beuth-Verlag).
- Im Eintauchverfahren beträgt die Nachweisgrenze 10^2 Keime/ml Probensuspension.
- Die Testdauer richtet sich nach der für die Keime spezifizierten Inkubationszeit.

5. Testinhalt

Eine Verpackungseinheit beinhaltet 20 **Hy-giene monitor** Teströhrchen mit doppelseitig beschichteten Nährbodenträgern und ermöglicht insgesamt 40 Untersuchungen.

6. Zum Test notwendige, nicht mitgelieferte Materialien

- Inkubator 25-37°C
 - Autoklav
 - Autoklavenbeute I
 - sterile Verdünnungslösungen (isotone Kochsalzlsg, oder Ringerlsg.)
- [Labormaterial auch über die *TRANSIA GMBH* erhältlich]

7. Allgemeine Hinweise

Farben der Nährböden, Lagerbedingungen und Anwendungsbereiche können der "Nährbodenliste" entnommen werden. Lagerhinweise beachten.

Agarfläche des Paddels nicht berühren! Der Schraubverschluss lässt sich durch leichtes Drehen vom Paddel lösen. Dabei das Paddel unten am Dreieck festhalten. Zur Inkubation wird der Deckel nach dem Zuschrauben wieder um eine $\frac{3}{4}$ Drehung geöffnet, damit Luft zirkulieren kann. Für den Transport das Röhrchen gut verschließen.

Nach der Auswertung sind die Röhrchen durch Autoklavieren (121°C, 2 bar, 30min) zu sterilisieren. Bei Einsatz des **Hy-giene monitors** zur betrieblichen Eigenkontrolle nach §4 der Lebensmittelhygiene-Verordnung [3] empfehlen wir die Kooperation mit einem mikrobiologischen Fachlabor.

Die Vorschriften des Infektionsschutzgesetzes sind zu beachten!

8. Probenaufbereitung

Feste, halbfeste Proben oder hochviskose Flüssigkeiten werden mit steriler isotonischer Kochsalzlösung oder Ringerlösung verdünnt. Hierbei werden 1:10 oder 1:20 Verdünnungen hergestellt.

Achtung: Bei der Auswertung den Verdünnungsfaktor berücksichtigen.

Für Flüssigkeiten von geringer Viskosität ist keine Probenaufbereitung notwendig. Fleisch und Fisch können auch direkt abgeklatscht werden.

TTC Gesamtkeimzahl (Nährboden beige):

Die Kolonien der Keime werden durch den TTC-Indikator **rot** eingefärbt oder zeigen einen **roten Punkt** im Koloniezentrum. Gezählt werden alle **roten** Kolonien. Das Endergebnis sollte nach 48 Stunden Inkubationszeit ermittelt werden. Bei TTC-haltigen Nährmedien kann das Wachstum von Staphylokokken und Hefen vermindert sein.

Desinfektionskontrolle (Nährboden lila):

Der Nährboden dient zur Bestimmung der Gesamtkeimzahl nach einer Reinigung oder Desinfektion. Durch Keimwachstum färbt sich das Medium oft gelb. Es bleibt bei Schimmelpilzwachstum meist lila. **Die Nährbodenfarbe oder Farben der Kolonien werden bei der Keimzahlbestimmung nicht berücksichtigt. Jede Kolonie wird gezählt.**

Da die Keime durch die erfolgte Reinigung/Desinfektion oft geschädigt sind, kann es etwas länger dauern, bis Kolonien deutlich sichtbar sind. Das Paddel sollte auch von der Seite betrachtet werden. Abschließendes Ergebnis erst nach 48 Stunden Inkubationszeit ermitteln.

CHROMagar *E. coli* (Nährboden weiß-gelb):

β -Glucuronidase-positive *E. coli* wachsen in **blauen** Kolonien. Alle übrigen coliformen Keime und Enterobacteriaceae wachsen weiß-farblos.

ALOA Listerien (Nährboden beige):

Der Nährboden ist aufgrund des Zusatzes von Lithiumchlorid und verschiedenen antibiotisch wirksamen Substanzen selektiv für die Bestimmung von Listerien geeignet. Ein Farbindikatorsystem bewirkt eine **hellblaue** bzw. **türkisfarbene** Färbung der Listerien-Kolonien.

CHROMagar *Staphylococcus aureus* (Nährboden beige)

Der Nährboden dient der Bestimmung von *Staph. aureus*, dieser Keim produziert auch das Staphylococcen Enterotoxin (SET). *Staphylococcus aureus* Kolonien färben sich **malvenfarbig – pink**. Andere werden **blau** oder **farblos**.

CHROMagar *E.coli*, Coliforme

Der Nährboden bestimmt coliforme Keime und hebt den Indikatorkeim *E.coli* durch **blaue** Kolonien hervor. Coliforme Keime werden **rot**.

10. Auswertung

Gesamtkeimzahl (Nährboden hellgelb)

Der Nährboden enthält keine Hemmstoffe und ermöglicht so prinzipiell das Wachstum aller Bakterien, Hefen und Schimmelpilzen. Die Kolonien erscheinen in individueller Farbe und Größe.

Laktobakterien (Nährboden honigfarben):

Der Nährboden dient zur Bestimmung heterofermentativer Milchsäurebakterien. Er ist nicht selektiv für Laktobakterien, daher wachsen auch Begleitkeime wie Milchsäurestreptokokken und andere Mikroorganismen, die ein thiaminreiches Medium beanspruchen.

Coliforme VRBL (Nährboden bordeaux):

Der Nährboden dient zur selektiven Keimzahlbestimmung coliformer Bakterien einschließlich *E. coli*. Coliforme Keime (Keime der Gattungen *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter*) bauen die im Nährboden enthaltene Lactose ab und bilden **rote** Kolonien. Die Lactose-negativen (d.h. non-coliforme) *Enterobacteriaceae* bilden **farb-lose** Kolonien.

Enterobacteriaceae VRBD (Nährboden bordeaux):

Der Nährboden dient zur selektiven Keimzahlbestimmung aller *Enterobacteriaceae*. *Enterobacteriaceae* bauen die im Nährboden enthaltene Glucose ab. Durch den damit verbundenen Farbumschlag des Indikators bilden alle *Enterobacteriaceae* **rosa** bis **rotviolette** Kolonien. Farblose Kolonien sind keine *Enterobacteriaceae*.

Hefen & Schimmel (Nährboden hellbraun):

Der Nährboden dient zur selektiven Bestimmung von Hefen & Schimmelpilzen. Hefen wachsen meist als kleine **weiß-braune** Kolonien mit scharfer Abgrenzung. Schimmelpilze wachsen filamentös. Die Kolonien können farbig sein, breiten sich oft stark aus. Die Sporenträger sind häufig Baumwollflocken ähnlich und können das gesamte Röhrchen ausfüllen. In diesen Fällen das Röhrchen nicht öffnen, um eine Verbreitung von Schimmelpilzsporen zu vermeiden.

Staphylokokken (Nährboden orange-rot):

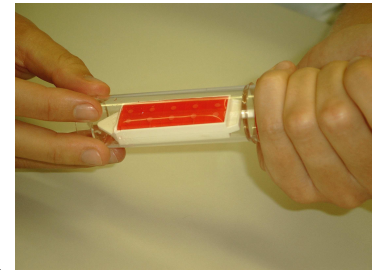
Der Nährboden ist selektiv für pathogene Staphylokokken. Mannit-positive Keime sind an einem **gelben** Hof um die Kolonie zu erkennen oder können den Nährboden insgesamt gelb färben. Die Keime wachsen in **weiß-gelben** Kolonien verschiedener Größe.

CHROMagar Salmonella (Nährboden rosa)

Der Nährboden ist selektiv für Salmonellen, er entspricht dem Rambach Agar. Salmonellen bilden beim Abbau von Propylenglycol Säure, die durch einen Indikator die Kolonien **rot** färbt. Coliforme Keime erscheinen **blaugrün** bis **blauviolett**, andere *Enterobacteriaceae* sowie weitere gram-negative Bakterien wachsen **farblos** bis **gelblich**. Das Salmonellenpaddel sollte nur zum Abklatsch verwendet werden.

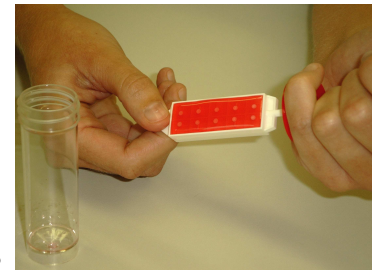
9. Testdurchführung

a) Beprobung von Oberflächen



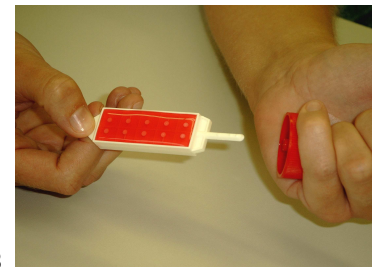
1

Deckel abschrauben. Paddel aus Röhrchen nehmen. Achtung: nur am Schraubverschluss anfassen, die Agarfläche darf nicht berührt werden.



2

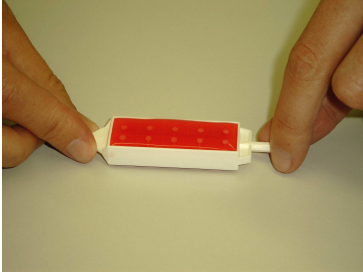
Mit Daumen und Zeigefinger der einen Hand das Dreieck festhalten. Das Paddel gegebenenfalls am unteren Dreieck mit Permanent-Marker kennzeichnen. So werden Verwechslungen bei farbgleichen Nährböden vermieden.



3

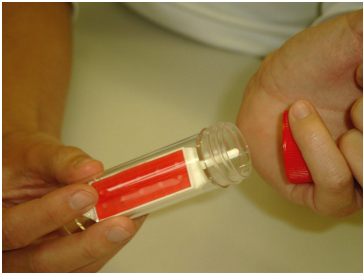
Mit der anderen Hand die Schraubkappe mit drehender Bewegung vom Paddel abziehen. Hierzu mit Daumen und Zeigefinger der einen Hand das Dreieck festhalten und mit der anderen Hand den Deckel mit einer Drehung vom Paddel abziehen.

5



4

Zum Abklatsch von Oberflächen das Paddel am unteren und oberen Ende festhalten und mit leichtem Druck den Nährboden gleichmäßig in Kontakt mit der Probenfläche bringen.



5

Paddel in das Röhrchen geben, dann mit dem Schraubverschluss verschliessen. Probennahme, Ort, Zeit und weitere Daten auf beigefügtem Etikett notieren und Röhrchen damit kennzeichnen.

b) Eintauchverfahren

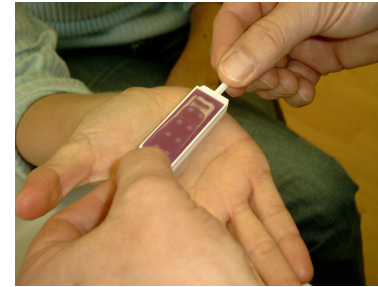
Beim Eintauchen in Suspensionen oder Lösungen muss der Nährboden vollständig benetzt werden. Röhrchen aufschrauben, am Deckel festhalten und Nährbodenfläche vollständig in Suspension oder Lösung eintauchen. Restflüssigkeit ablaufen lassen, verbleibende Tropfen am Dreieck abstreifen.



6

c) Personalhygiene

Häufig ist es notwendig, die im Betrieb vorhandenen Möglichkeiten zur Reinigung und Desinfektion, z. B. von Händen zu überprüfen. Zu diesem Zweck kann der Abklatschtest durch direkten Kontakt mit Fingern, Haut, Kittel, usw. durchgeführt werden.



d) Luftkeimzahlbestimmung

Für die Bestimmung der Luftkeimzahl wird das Paddel auf den Schraubverschluss gestellt und mindestens 30min aufrecht stehen gelassen.

e) Andere Möglichkeiten

Beimpfen mit Tupferproben, Ausstrich von Kolonien, Abnahme von Einzelkolonien zur weiteren Differenzierung.

9.1. Inkubation

Den Schraubverschluss durch eine $\frac{3}{4}$ Umdrehung lösen, um den Gasaustausch zu gewährleisten. Je nach gewählter Nährbodenkombination bei den in der folgenden Tabelle angegebenen Temperaturen inkubieren.

Medium	Inkubations-Temp.	1. Ablesen nach	Endergebnis nach
Gesamtkeimzahl	30-37°C	24 Stunden	48 Stunden
Coliforme Keime	30-37°C	18 Stunden	24 Stunden
Enterobacteriaceae	30-37°C	18 Stunden	24 Stunden
Laktobakterien	30°C	24 Stunden	48 Stunden
Hefen & Schimmel	25-30°C	48 Stunden	120 Stunden
Staphylokokken	37°C	24 Stunden	36 Stunden
ALOA Listerien	37°C	24 Stunden	48 Stunden
CHROMagar Salmonella	37°C		24 Stunden
CHROMagar <i>E. coli</i>	30-37°C	18 Stunden	24 Stunden
CHROMagar <i>E. coli</i> ,Coliforme	30-37°C		24 Stunden
CHROMagar <i>S. aureus</i>	37°C		24 Stunden