

**Eignung eines neuen Schnelltests zur Prüfung der
Oberflächenreinheit im Rahmen betrieblicher
Eigenkontrollen in Lebensmittelbetrieben**

Michaela Trautsch

Aus dem Institut für
Hygiene und Technologie der Lebensmittel tierischen Ursprungs
der tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Lehrstuhl: Univ.-Prof. Dr. A. Stolle

**Eignung eines neuen Schnelltests zur Prüfung der
Oberflächenreinheit im Rahmen betrieblicher
Eigenkontrollen in Lebensmittelbetrieben**

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der tiermedizinischen
Doktorwürde der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

von

Michaela Trautsch
aus
München

München 2003

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. R. Stolla
Referent: Univ.-Prof. Dr. A- Stolle
Korreferent: Univ.-Prof. Dr.Dr. h.c.mult. H.-G. Liebich

Tag der Promotion: 18. Juli 2003

1	EINLEITUNG.....	1
2	LITERATUR	2
2.1	Lebensmittelhygiene – gesetzliche Grundlagen	2
2.1.1	HACCP- Konzept.....	5
2.1.2	Hygieneanleitungen ohne Gesetzescharakter	11
2.2	Betriebshygiene.....	12
2.2.1	Anforderungen an Räume	12
2.2.2	Bedarfs- und Einrichtungsgegenstände.....	13
2.2.3	Personal	13
2.3	Reinigung und Desinfektion.....	14
2.3.1	Reinigungs- und Desinfektionsmittel	15
2.3.2	Reinigungstechnik	15
2.3.3	Desinfektion.....	17
2.4	Methoden zur Überprüfung der Betriebshygiene	18
2.4.1	Konventionelle Verfahren	19
2.4.2	Schnellmethoden.....	23
3	EIGENE UNTERSUCHUNGEN.....	37
3.1	Material.....	37
3.1.1	Betriebe	37
3.1.2	Nährmedium	39
3.1.3	Schnelltests	40
3.1.4	Geräte	40
3.2	Methoden	41
3.2.1	Probenahme	41
3.2.2	Probenahmeorte.....	42
3.2.3	Probenahmetechnik.....	45
3.2.4	Weitere Vorgehensweise bei den Abklatschplatten.....	47
3.2.5	Datenaufbereitung	48

4	ERGEBNISSE	49
4.1	Umgebungsuntersuchung und Auswertung der Urlisten	49
4.1.1	Visuelle Kontrolle	49
4.1.2	RODAC-Platten	50
4.1.3	NAD-Nachweis	50
4.1.4	Protein-Nachweis	50
4.2	Temperaturmessung	50
4.3	Auswertung der Ergebnisse	50
4.3.1	Vergleichende Darstellung der Ergebnisse der jeweiligen Betriebe ..	52
4.3.2	Vergleichende Darstellung der beprobten Oberflächenmaterialien ...	66
4.3.3	Vergleich der visuellen Beurteilung und der Schnelltests mit der RODAC - Abklatschtechnik	69
5	DISKUSSION	75
5.1	Durchführung der Betriebsbegehungen.....	75
5.1.1	Auswahlkriterien für die Betriebe	75
5.2	Probenahme	76
5.3	Kritische Bewertung des RODAC-Verfahrens	77
5.4	Bewertung des NAD-Tests	79
5.5	Bewertung des Protein-Tests	79
5.6	Visuelle Hygienekontrolle	80
5.7	Versuchsaufbau und Methodenvergleich	81
6	ZUSAMMENFASSUNG	84
7	SUMMARY	86
8	ANHANG	88
9	LITERATURVERZEICHNIS	121

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

Abs.	Absatz
Art.	Artikel
ATP	Adenosintriphosphat
AMP	Adenosinmonophosphat
ATP	Adenosintriphosphat
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
CCP	Critical Control Point
d	Tag
desinf.	desinfiziert
DGHM	Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie
d. h.	das heißt
DIN	Deutsches Institut für Normung
DVG	Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EG	Europäische Gemeinschaft
EiprodV	Eiprodukteverordnung
EU	Europäische Union
EWG	Europäische Wirtschaftsgemeinschaft
Fa.	Firma
fg	Femtogramm, 10 ⁻¹⁵ g
FischV	Fischverordnung
FIHV	Fleischhygieneverordnung
GKZ	Gesamtkeimzahl
h	Stunde
HACCP	Hazard Analysis and Critical Control Point
HFIV	Hackfleischverordnung
HygV	Hygieneverordnung
KBE	Koloniebildende Einheit
LMBG	Lebensmittel- und Bedarfsgegenständegesetz

Abkürzungsverzeichnis

LMHV	Lebensmittelhygieneverordnung
Lsg.	Lösung
Mg²⁺	Magnesium
min	Minuten
Mz.	Mahlzeiten
NAD/NADH	Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid
NADP/NADPH	Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat
NASA	National Aeronautics and Space Administration
No.	Numero
Nr.	Nummer
NTT	Naß-Trockentupfer-Technik
Rd.	Rind
RLU	Relative Light Units
RODAC	Replicate Organism Detection and Counting
s	Stunden
Schw.	Schwein
V₂A	V ₂ A Stahl
Vol.	Volume
vs	versus

1 EINLEITUNG

Betriebliche Eigenkontrollen werden im Zuge der Verlagerung von Endproduktkontrollen hin zu Prozeßkontrollen immer wichtiger. Neben der produktbezogenen Prozeßkontrolle erfordert dies auch die Überprüfung des hygienischen Zustandes von Einrichtungs- und Bedarfsgegenständen, wie in der Entscheidung 2001/471/EG gefordert.

Die Qualitätssicherung wird also in die Betriebe verlagert und diese sind für die hygienische Unbedenklichkeit ihrer Produkte verantwortlich. Mit der Durchführung, entsprechend den rechtlichen Vorschriften sind vor allem jedoch Kleinbetriebe personell wie finanziell und zeitlich überfordert. Zudem sind sie oftmals nicht mit den gängigen mikrobiologischen Nachweismethoden zur Untersuchung von Oberflächen vertraut.

Bisher werden nur in wenigen Fällen externe mikrobiologische Labors mit der Aufgabe der Hygienekontrolle eines solchen Betriebs beauftragt. Die interne Überprüfung des Reinigungs- und Desinfektionserfolges wird oft nur nach optischen Gesichtspunkten durchgeführt. Deshalb ist es wichtig, moderne Schnelltests zu entwickeln, die sich zur Überprüfung der Reinigung und Desinfektion eignen. Sie sollten zeitsparend angewendet werden können und weder kostspielige Apparate, noch zusätzlich geschultes Personal erfordern.

In einem fünfmonatigen Feldversuch wurden in Großküchen und Lebensmittelproduktionsbetrieben die beiden Schnelltests HY-RiSE[®] (Merck, Darmstadt) und Swab`N`Check[®] (Konika, Tokio) mit dem RODAC-Abklatschverfahren nach DIN 10113-3, vergleichend eingesetzt.

Es stellte sich die Frage, ob die Schnelltests zuverlässig, zeitsparend und einfach durchzuführen sind und ob sie als echte Alternative zur mikrobiologischen Umgebungsuntersuchung, vor allem für diejenigen Betriebe, die bislang keine Hygienekontrolle durchgeführt haben, in Frage kommen.

2 LITERATUR

2.1 LEBENSMITTELHYGIENE – GESETZLICHE GRUNDLAGEN

Gemäß der Lebensmittelhygieneverordnung besteht seit 5. August 1997 eine grundlegende rechtliche Basis für die Etablierung von Eigenkontrollsystemen in Lebensmittelbetrieben. Deren Umsetzung verläuft jedoch schleppend (BACH 2000). Ebenso existiert eine Reihe von Richtlinien, welche Eigenkontrollen EU-weit verpflichtend vorschreiben, eine Übersicht stellt Tabelle 1 dar HARTIG (1996).

Tabelle 1: Rechtliche Grundlagen für betriebliche Eigenkontrollen

Rechtsvorschrift	Richtlinie	Geforderte Maßnahmen
Frisches Fleisch	64 - 438 EWG Art. 10 Abs. 2 Art. 10 Abs. 3 Art. 10 Abs. 4	Einführung der betrieblichen Eigenkontrollen: <ul style="list-style-type: none"> • Benennung eines Verantwortlichen • Durchführung mikrobiologischer Kontrollen • Kontrollen auf allen Produktionsstufen • Laboruntersuchungen • Schulungsprogramm • Kontrolle der nach Abs. 2 durchgeführten Kontrollen durch den amtlichen Tierarzt
Geflügelfleisch	71/118/EWG Art. 6 Abs. 2 Art. 6 Abs. 3 Art. 6 Abs. 5	Siehe „Frisches Fleisch“

Rechtsvorschrift	Richtlinie	Geforderte Maßnahmen
Fleischerzeugnisse	77/99/EWG Art. 7 Abs. 2	<p>Durchführung von Eigenkontrollen nach folgenden Grundsätzen:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ermittlung von kritischen Punkten • Überwachungsverfahren für kritische Punkte • Untersuchung von entnommenen Proben durch zugelassene Labors • Verpflichtung zu Aufzeichnungen <p>Rückruf der Ware bei Gefahr</p> <p>Schulungsprogramm</p>
Hackfleisch	94/65/EWG Art. 7 Abs. 1 Art. 7 Abs. 2 Art. 7 Abs. 3	<p>Benennung einer verantwortlichen Person</p> <p>Durchführung von Eigenkontrollen unter Beachtung folgender Grundsätze:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Eingangskontrollen • Kontrolle der Reinigung und Desinfektion • Probenahme und Untersuchung in anerkannten Labors • Dokumentation <p>Rückruf der Ware bei Gefahr</p> <p>Schulungsprogramm</p> <p>mikrobiologische Untersuchungen</p> <p>Grenzwertfestlegung für mikrobiologische Normen</p>

Rechtsvorschrift	Richtlinie	Geforderte Maßnahmen
Lebensmittelhygiene	93/43/EWG Art. 3 Abs. 2	<p>Festlegung der kritischen Punkte im Prozeßablauf</p> <p>Anwendung der bei der Ausgestaltung des HACCP-Systems verwendeten Grundsätze:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Analyse der potentiellen Risiken für Lebensmittel in den Prozessen • Festlegung der „kritischen Punkte“ • Überprüfung der Gefährdungsanalyse für Lebensmittel, der kritischen Kontrollpunkte und der Prüf- und Überwachungsverfahren in regelmäßigen Abständen und bei jeder Änderung der Prozesse in dem Lebensmittelunternehmen.

Die Problematik der Umsetzung dieser Vorschriften basiert laut BACH (2000) überwiegend auf folgenden vier Faktoren:

- Mangelnde Einsicht der Gewerbetreibenden und fehlende rechtliche Verankerung eines Ausbildungs- und Sachkundenachweises. In vielen Großküchen wird überwiegend mit angelerntem Personal gearbeitet, bei gleichzeitig hoher Fluktuation. § 4 Abs. 2 der Lebensmittelhygiene-Verordnung verlangt zwar eine angemessene Ausbildung jedes Mitarbeiters auf dem Gebiet der Lebensmittelhygiene, aber in der Praxis wird dies meist nicht durchgesetzt. Die Motivation der Betriebsleiter, Schulungen und Ausbildung der Mitarbeiter zu unterstützen, ist oftmals gering.
- Kostendruck, der für Aufwendungen im Hygienebereich kaum Spielraum lässt. Für Schulungsmaßnahmen, Probenahme und Laboruntersuchungen sind in Kleinbetrieben nicht die nötigen finanziellen Mittel vorhanden, bzw. werden nicht dafür verwendet.
- Sprachprobleme bei Gewerbetreibenden bzw. Mitarbeitern ausländischer Herkunft.

- Fehlen der Pflicht zur Dokumentation. Solange der überwachenden Behörde keine schriftlichen Beweise über durchgeführte Hygienemaßnahmen und deren Überprüfung erbracht werden müssen, wird es schwierig sein, fehlende Eigenkontrollen nachzuweisen.

Will die Lebensmittelüberwachung weg von den amtlichen Kontrollen und hin zur Überwachung der Eigenkontrollen, so müssen diese dokumentiert werden. Nach diesem Konzept sind die komplexen und bisweilen starren Vorschriften der Mitgliedsstaaten durch ein präventives System der „In-Prozeß-Sicherung“ ersetzt worden, das heißt anstatt der Zwischen- und Endproduktkontrolle wird eine präventive Risikoanalyse angestrebt (HARTIG 1996). Es kann davon ausgegangen werden, daß kleinere Unternehmen in der Lage sein werden, den Vorschriften zu genügen, ohne hierfür komplizierte Risikomanagementsysteme einrichten zu müssen. Laut BACH (2000) haben derartige Konzepte nur Praxiseignung, wenn sie geringen Kostenaufwand verursachen, fachlich einleuchtend, begründbar, leicht vermittelbar und absolut unverzichtbar sind. Desweiteren müssen sie sich relativ störungsfrei in bereits bestehende und gut funktionierende Betriebsabläufe integrieren lassen und in jeder Hinsicht auch für Laien leicht verständlich sein.

2.1.1 HACCP- Konzept

In § 4 der Verordnung über Lebensmittelhygiene vom 5. August 1997 äußert sich der Gesetzgeber zu Eigenkontrollen: „Wer Lebensmittel herstellt, behandelt oder in den Verkehr bringt, hat durch betriebseigene Kontrollen für die Entstehung gesundheitlicher Gefahren durch Erreger oder Faktoren biologischer oder chemischer oder physikalischer Natur kritische Punkte im Prozeßablauf festzulegen und zu gewährleisten, daß angemessene Sicherungsmaßnahmen festgelegt, durchgeführt und überprüft werden. Dies erfolgt durch ein Konzept, das für Lebensmittel die Identifizierung der Gefahren und deren Bewertung für die Gesundheit des Konsumenten einschließt, zur Beherrschung dieser Gefahren beiträgt und auf folgenden Grundsätzen aufbaut:

1. Analyse dieser Gefahren in den Produktions- und Arbeitsabläufen beim Herstellen, Behandeln und Inverkehrbringen von Lebensmitteln.
2. Identifizierung der Punkte in diesen Prozessen, an denen diese Gefahren auftreten können.
3. Entscheidung, welche dieser Punkte für die Lebensmittel kritisch sind - „kritische Punkte“.
4. Überwachung für diese kritischen Punkte und Sicherungsmaßnahmen und deren Überwachung in regelmäßigen Abständen sowie bei jeder Änderung der Produktions- und Arbeitsabläufe beim Herstellen, Behandeln und Inverkehrbringen von Lebensmitteln.“

Das HACCP-Konzept könnte in Kleinbetrieben als kurze, einseitige Checkliste mit Fragen, welche durch einfaches Ankreuzen von ja / nein regelmäßig zu beantworten sind, realisiert werden (BECKER und KRÄMER 1997, SCHALCH et al. 2000). Sinnvoll sind dabei Temperaturkontrollen, visuelle Beurteilung, Überprüfung von Mindesthaltbarkeitsdaten und einfache Hygieneschnelltests (TSIOURI et al. 1994).

Neben der allgemeinen Erfassung der Betriebshygiene sehen EU-Richtlinien, sowie nationale Rechtsvorschriften insbesondere die Kontrolle der Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen in lebensmittelverarbeitenden Betrieben vor. In der Entscheidung 2001/471/EG legt der Gesetzgeber Vorschriften zur Hygienekontrolle fest. In Artikel 1 werden Fleischbetriebe verpflichtet regelmäßige Kontrollen nach dem HACCP-Konzept durchzuführen. Artikel 2 verweist auf das Abklatschpatten- und das Tupferverfahren als durchzuführende Methoden. Aber auch andere Nachweissysteme können nach Genehmigung durch die zuständige Behörde verwendet werden. „Hier bieten sich Schnellmethoden an, die neben einer erheblichen Arbeitszeiterparnis eine frühzeitige Kontrolle von durchgeführten Hygienemaßnahmen erlauben und dadurch ein Eingreifen in Produktionsabläufe ermöglichen“ so KIRCHER et al. (1995).

Tabelle 2: Auszug einiger Beispiele für HACCP und deren Umsetzung in der Lebensmittel-Gesetzgebung (SINELL 1989)

Zu beherrschende Risiken	Kritische Kontrollpunkte	Voll (1) oder bedingt wirksam (2)	Überwachung	Rechtsvorschriften
Zoonosen	Tier- und Bestands-gesundheit	2	Mikrobiologische und serologische Untersuchungen von Blut-, Milch- und Kotproben	Tierseuchenrecht
Vermehrung von Pathogenen in rohem Fleisch und Geflügel	Kühltemperatur	1	Temperaturmessung im Gewebe, Zeit/Temperatur-Erfassung	Fleisch- und Geflügel-fleisch-hygiene-gesetz
Rinderfinnen	Gefrier-temperatur	1	Gefriertemperatur und -dauer	Fleisch-hygiene-gesetz
Wachstum von Salmonellen im Hackfleisch	Kühltemperatur	1	Lagerdauer und -temperatur	HFIV
Überleben von Salmonellen im Hackfleisch	Fermentation, Pökeln, Säuern, Trocknen	2	a_w - und pH-Wert Messung, Nitrit/Nitratkonzentration, „abgeschlossenes Pökelnungsverfahren“, „Reifung“	HFIV
Überleben von Pathogenen und Verderberregern in Fleisch, Geflügel und Fisch	Erhitzungsschritt	1	> 80 °C/10 min zur Brauchbarmachung, 61, 63, oder 70° C Kerntemperatur für „pasteurisiert“ oder gleichsinnig bezeichnete Produkte	Fleisch-hygienerecht, verschiedene Regelungen in mehreren Bundesländern FischV
Vermehrung von Infektions- und Intoxikations-erregern in verzehrfertigen Zubereitungen	Warmhalteperioden	1	Innentemperatur > 60° C, Haltezeit begrenzen	HygV (Hessen) zahlreiche Regelungen in anderen Bundesländern

2 Literatur

Zu beherrschende Risiken	Kritische Kontrollpunkte	Voll (1) oder bedingt wirksam (2)	Überwachung	Rechtsvorschriften
Übertragung von pathogenen Mikroorganismen durch Personal	Hantieren mit Lebensmitteln	2	Klinische Untersuchung, Untersuchung von Stuhlproben	Infektionsschutzgesetz
Überleben von Salmonellen in Eiprodukten	Vorbehandlung	1	Temperaturkontrolle, Konzentration der Zusatzstoffe	EiprodV

Prüfpflicht als In-Prozeß-Kontrolle, geht über die Forderungen des LMBG § 41 und die des Produkthaftungsgesetzes hinaus (KLEINER 1997). Auch SINELL (1989) gibt gesetzgeberischen Regelungen zur Lebensmittelsicherheit im Sinne des HACCP-Konzepts wenig Aussicht auf Erfolg, wenn diese sich lediglich auf Entnahme und Auswertung von Endproduktstichproben beziehen. Die entsprechende Charge wird den Betrieb schon verlassen haben, sogar eventuell schon konsumiert worden sein, ehe das Untersuchungsergebnis vorliegt. Durch küchenspezifisch festgelegte prozeßbegleitende Kontrollsysteme kann dagegen frühzeitig eingegriffen werden (LEVETZOV 1990, NIENHOFF und STOLLE 2000). Echte CCPs sind nicht durch eine gute Hygienepraxis weitestgehend auszuschalten und sie müssen bereits während des Arbeitsablaufs korrigierbar sein (KLEINER 1997). Das HACCP-Konzept dient als „Werkzeug“ der Lebensmittelsicherheit, welche einen Teil des Qualitätsmanagements darstellt (UNTERMANN 1997).

Die Anwendung des HACCP-Konzepts beruht auf sieben Grundsätzen:

1. Identifikation von Gefahrenmomenten und ihre Bewertung im Hinblick auf Schweregrad und Wahrscheinlichkeit ihres Auftretens (**Gefahrenanalyse**).
2. Bestimmung von kritischen Kontrollpunkten (**critical control points = CCPs**), um an diesen identifizierte Gefahrenmomente möglichst auszuschließen, oder zumindest unter Kontrolle zu bringen.
3. Festlegung von **Grenzwerten**, die anzeigen, ob ein Kontrollpunkt beherrscht wird.
4. Einrichtung und Anwendung von **Monitoringsystemen** (sensorisch, visuell, physikalisch-chemisch, mikrobiologisch).
5. Festlegung von **Reaktionsmechanismen**, sowie deren Umsetzung bei Abweichungen von Grenzwerten.
6. Aufstellung einer Wirksamkeitskontrolle für das Funktionieren des HACCP-Konzepts (**Verifikation**) (GERIGK und ELLERBROEK 1994).

Mittels des folgenden Entscheidungsbaums können die geforderten CCPs in Prozeßabläufen bestimmt werden.

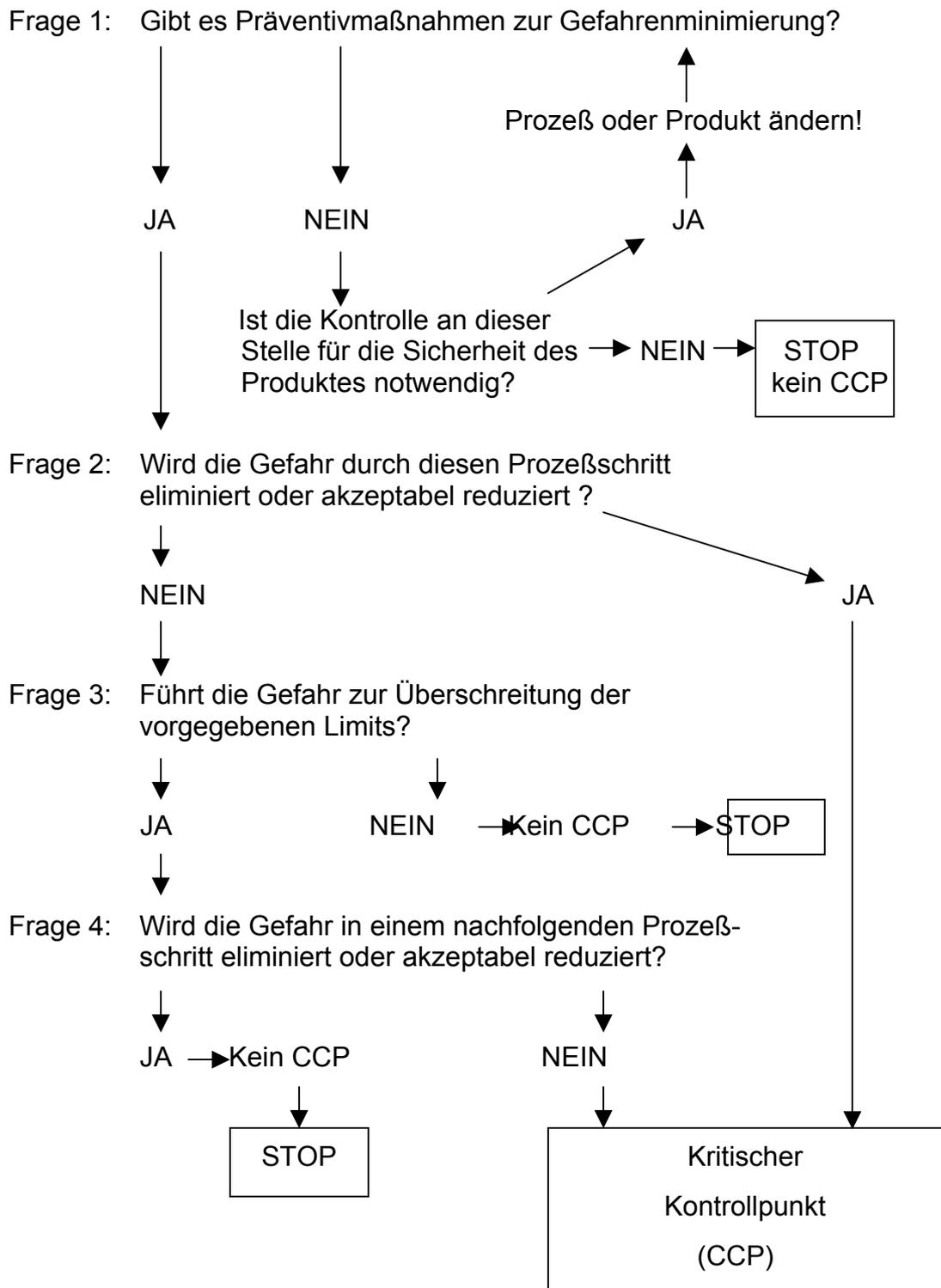


Abbildung 1: Flußdiagramm zur Festlegung eines CCPs (DRESSLER 1997)

2.1.2 Hygieneanleitungen ohne Gesetzescharakter

Der **Codex Alimentarius** stellt eine Sammlung von Standards in der Lebensmittelindustrie dar und soll die gesundheitliche Unbedenklichkeit von Lebensmitteln sicherstellen, sowie faire Praktiken im internationalen Handel gewährleisten.

Die Codex Alimentarius-Kommission vergibt ihre Aufgaben an Komitees, welche von unabhängigen Experten unterstützt werden. 165 Länder, d. h. 98 % der Weltbevölkerung gehören der Codex Alimentarius Kommission mit Sitz in Rom an. Derzeit enthält der Codex 237 Lebensmittelstandards, 41 Praxishygiene-codices, 25 Richtlinien für Kontaminanten, ca. 3000 Pestizidhöchstwerte und andere Empfehlungen, wie z. B. Höchstmengen für Tierarzneimittel.

Diese Standards bilden den wissenschaftlichen Maßstab im Bereich der Lebensmittelsicherheit und werden bei Streitigkeiten zugrunde gelegt, obwohl sie keine verbindlichen Normen für die Mitgliedsländer darstellen (N.N. 2000). Die Empfehlungen des Codex Alimentarius sind vielfach in nationales Recht der Länder umgesetzt worden. Diese Empfehlungen und Vorschriften erstrecken sich auf die Zusammensetzung, Struktur und Beschaffenheit von Oberflächen, Materialien und Bedarfsgegenständen, welche mit Lebensmitteln in Kontakt kommen, ebenso wie auf die Verfahren, mit denen diese gereinigt und desinfiziert werden (SINELL 1989).

Innerhalb der Vorschriften mit Gesetzescharakter oder nur empfehlender Natur liegt auch der Rahmen der sogenannten „**good manufacturing practice**“ (**GMP**). Mit Inkrafttreten der LMHV, welche die EU-Richtlinie 93/43/EWG in nationales Recht umsetzt, müssen alle Betriebe oder Einrichtungen, welche gewerbsmäßig Lebensmittel herstellen, behandeln oder in den Verkehr bringen, die Bestimmungen der Verordnung erfüllen. Dazu zählen insbesondere Kantinen, jegliche Gastronomie, Bäckereien, Umpackbetriebe, Metzgereien, Lebensmittelversandbetriebe, aber auch landwirtschaftliche Direktvermarkter (SCHRÖDER und GROVE 1998).

2.2 BETRIEBSHYGIENE

Die Ursache für eine Lebensmittelvergiftung geht meist nicht vom Lebensmittel selbst aus, sondern eine während der Verarbeitung stattfindende Kontamination mit pathogenen Keimen und deren Aktivität ist dafür verantwortlich (THIEL 1980). Deshalb ist die Grundlage für die Einhaltung der Lebensmittelsicherheit die gewissenhafte Betriebshygiene (UNTERMANN 1999). Folgende allgemeine Hygienemaßnahmen stellen die Basis der Betriebshygiene sicher (EISGRUBER und STOLLE 1995, MARX et al. 1998, MOJE und HECHELMANN 1995).

- Trennung reiner und unreiner Arbeitsbereiche, bei möglichst kreuzungsfreien Produktionsabläufen.
- Leicht zu reinigende Arbeits- und Lagerräume mit ausreichender Beleuchtung.
- Reinigung von Arbeitsflächen und Maschinen nach deren Benutzung.
- Reinigungsschritt vor Desinfektion nach zuvor gezielt festgelegten Plänen und Methoden.
- Routinemäßige Schädlingsbekämpfung.
- Regelmäßige Schmutzwasser- und Abfallentsorgung.

2.2.1 Anforderungen an Räume

Die Anforderungen an Räumlichkeiten, in denen Lebensmittel behandelt, zubereitet, verarbeitet, hergestellt oder verpackt werden, müssen nach LMHV § 3 bestimmte Grundvoraussetzungen erfüllen. MAYER (1996) fordert, daß sie in gutem baulichen Zustand, leicht zu reinigen und zu desinfizieren, frei von Schädlingen und ausreichend groß sein müssen. Tageslichtähnliche Beleuchtung muß gewährleistet sein, um die Abweichungen von der natürlichen Beschaffenheit der Lebensmittel zu erkennen. DRESSLER (1997) benennt weitere Anforderungen, wie die räumliche Trennung in reine und unreine Bereiche mit kurzen Transportwegen, Fußböden aus wasserdichtem, säurefestem Material mit ausreichendem Gefälle, sowie geeigneter Be- und Entlüftung, auch Schädlingsbefall ist mit geeigneten Mitteln zu bekämpfen (STEINBÜCHEL 2000).

2.2.2 Bedarfs- und Einrichtungsgegenstände

Die Kreuzkontamination und die Übertragung von einem Lebensmittel über Arbeitsgeräte, Maschinen und Arbeitsflächen auf ein anderes Lebensmittel stellt ein nicht unwesentliches Problem der Lebensmittelhygiene in Großküchen dar (EISGRUBER und STOLLE 1995). Optische Sauberkeit mit glänzenden Flächen geht nicht selten mit schmutzigen, verkeimten Putzlappen, Handtüchern und anderen Reinigungsgeräten einher, deren unhygienischer Zustand dem Personal oftmals nicht bewußt wird (SEELIGER 1974). Um eine Keimverschleppung und -verteilung zu vermeiden ist die Verwendung von Einmallappen und -tüchern heute als Standard anzusehen.

Küchengeräte sollten nicht nur nach optischen und technologischen Gesichtspunkten beurteilt werden, sondern auch nach arbeitshygienischen (THIEL 1980). Denn für die Hygiene ist entscheidend, ob ein Gerät so zerlegt werden kann, daß es gut zu reinigen und zu desinfizieren ist. Ansonsten bleiben in Rillen, Gewinden und „toten Ecken“ Produktreste haften und bilden den Nährboden für Mikroorganismen, welche bei erneuter Benutzung ständig Lebensmittel kontaminieren (WIENINGER - RUSTEMEYER 1982). Korrosionsbeständiges, glattes, lebensmittelneutrales, leicht zu demontierendes Material erleichtert die Reinigung der jeweiligen Gegenstände. Vor allem das Material und der Zustand von Schneidunterlagen ist für eine Keimverschleppung ausschlaggebend. Viele Autoren lehnen Holz als Material dafür ab und schlagen Kunststoffschneidbretter vor (BARTELS et al. 1973, GROSSKLAUS und LEVETZOW 1967, KERSKEN 1973). AK et al. (1994 a, b) stellen diese Ergebnisse jedoch in Frage und weisen auf antibakterielle Eigenschaften von Holz hin.

2.2.3 Personal

GISSEL (1995) gibt als entscheidenden Faktor der Hygiene eines Betriebes die Einstellung des Personals zur Reinigung und Desinfektion an. Daher ist die Motivation, Ausbildung und Schulung der Mitarbeiter in Grundzügen der Mikrobiologie und Hygiene unverzichtbar. Eine Möglichkeit Mitarbeiter zu motivieren besteht in der unmittelbaren Demonstration einer mangelhaften Reinigung und Desinfektion und darin, auf die Folgen fehlerhafter Verfahrenstechniken hinzuweisen (GISSEL 1995).

Die Hände sind die wichtigsten Werkzeuge in der Lebensmittelverarbeitung und daher eine ausschlaggebende Kontaminationsquelle für Mikroorganismen. Deshalb kann es in bestimmten Bereichen der Zubereitung mit direktem Kontakt zu Lebensmitteln notwendig sein, Einmalhandschuhe zu verwenden (HATAKKA et al. 2000), denn Händehygiene dient sowohl dem Produktschutz, als auch dem Mitarbeiterschutz (BRILL et al. 1994). Händehygiene wird regelmäßig gefordert, wenigstens vor Arbeitsbeginn, nach Schmutzarbeiten, Toilettenbenutzung und Umgang mit Rohware, sowie nach Pausen (MOHS 1993, DE WIT und KAMPELMACHER 1988). HATAKKA et al. (2000) nahmen Proben von Handflächen und Nasenabstriche von Angestellten im Fluglinien-Catering. Sie wiesen in 29 % der Nasenabstriche und in 9 % der beprobten Handflächen *Staphylococcus aureus* nach. Um eine Keimverschleppung zu vermeiden, darf die Händetrocknung ausschließlich mit Einweghandtüchern erfolgen (GROSSKLAUS und LEVETZOW 1967, HILLER 1994). Ebenso wird eine regelmäßige Stuhluntersuchung wird als sinnvoll erachtet (HECHELMANN 1995). Die personelle Trennung der reinen und unreinen Arbeitsbereiche muß gewährleistet sein (EISGRUBER und STOLLE 1995, THIEL 1980). Das Tragen von hygienisch einwandfreier hellfarbiger Schutzkleidung inklusive Kopfbedeckung ist notwendig (HECHELMANN 1993). Ebenfalls ist das Essen, Trinken, Rauchen, Schnupfen, Tabak- und Kaugummikauen in den Betriebsräumen zu unterbinden.

2.3 REINIGUNG UND DESINFEKTION

Wirkungsvolle Reinigung und Desinfektion der Einrichtungs- und Bedarfsgegenstände eines lebensmittelverarbeitenden Betriebes sind wesentliche Vorraussetzungen für die hygienisch einwandfreie Produktion von Lebensmitteln. Geeignete Desinfektionsmittel weisen eine gute Wirksamkeit und Materialverträglichkeit auf. Sie sollen möglichst wenig Rückstände bilden und eine geringe Resistenzbildung der Mikroorganismen hervorrufen (BRUNNER et al. 2000). Durch eine optimale Reinigung und möglichst vollständige Entfernung organischen und anorganischen Schmutzes werden vorhandene Mikroorganismen bereits um bis zu 99 % reduziert (SCHMIDHOFER 1988, GISSEL 1995).

2.3.1 Reinigungs- und Desinfektionsmittel

Reinigungssubstanzen lassen sich folgendermaßen einteilen (REUTER 1994 b):

- **Stark alkalische Reiniger** für massiven Fett- und Eiweißschmutz.
- **Mäßig alkalische Reiniger** zur allgemeinen Betriebsreinigung und für Fett- und Eiweißverschmutzungen. Diese Reinigungsmittel enthalten Alkalien und Hilfsstoffe (Tenside), um Proteine aufzuquellen, Fette zu emulgieren und zu verseifen, damit diese in Lösung gehalten werden (EDELMEYER 1983, SCHMIDT 1984).
- **Neutrale Reiniger** zur manuellen Reinigung und Entfettung. Neutralreiniger besitzen einen pH-Wert zwischen 5,5 bis 8,5 und enthalten Tenside in wässriger oder alkalischer Lösung. Sie sind sehr gut haut- und materialverträglich, besitzen aber geringere Reinigungswirkung, weshalb sie auf wenig verschmutzten, leicht zu reinigenden Materialien einsetzbar sind und gleichzeitig eine mechanische Reinigung erfolgen sollte.
- **Saure Reiniger** für Salz- und Härtebeläge (Entkalkung). Sauer reagierende Reinigungsmittel bestehen aus organischen (Weinsäure, Zitronensäure) oder anorganischen Säuren (Phosphorsäure, Salzsäure, Schwefelsäure). Sie können nur auf korrosionsbeständigem Material angewandt werden und dienen zur Entfernung anorganischer Ablagerungen wie Kalk- und Wasserstein (REUTER 1994 b).
- **Alkalisch-chlorhaltige Reiniger** zur Reinigung von Maschinen, Decken, Tischen, Wänden, Fußböden und Lkw-Innenflächen.

Je nach örtlicher Wasserhärte empfiehlt sich der Wechsel zwischen alkalischen und sauren Reinigungsmitteln im Rhythmus vier mal alkalisch und ein mal sauer, um Salz und Kalkrückstände zu beseitigen. Die Reiniger müssen in der Lage sein, Fette zu emulgieren, anorganische Stoffe zu dispergieren, Eiweiße zu quellen und von ihrer Auflage abzulösen (GERSTEIN et al.1993).

2.3.2 Reinigungstechnik

Die Wirkung der Reinigungsmittel wird mechanisch unterstützt, entweder manuell, z.B. Schrubben, Wischen, oder durch den Einsatz von Hochdruckreinigungs-

geräten. Ebenso ist eine Schaumreinigung möglich. Bei allen Verfahren muß auf die notwendige Konzentration, Einwirkdauer, aufgebrauchte Menge und Temperatur geachtet werden.

Eine Aufstellung der Reinigungsverfahren gibt SCHRÖDER (1993) an.

Tabelle 3: Reinigungsverfahren

	Hochdruck- reinigung	Niederdruck- reinigung	Schaumreinigung
Druck (bar)	40 - 60	15 - 20	5 - 6
Zeit (min)	20 - 30	20 - 30	10 - 15
Temperatur (°C)	50 - 55	50 - 55	Raumtemperatur
Düsenabstand (mm)	10 - 20	10 - 20	50 - 100
Menge (l/100 m ²)	200 - 600	200 - 600	20
Konzentration des Reinigungsmittels (%)	0,5 - 5	0,5 - 5	5
Aerosolbildung	Ja	Ja	Nein
Eiweißkoagulation	Möglich	Möglich	Nein
Mechanische Schäden	Ja	Ja	Nein

2.3.3 Desinfektion

Desinfektion definiert REBER (1973) als die „gezielte Eliminierung bestimmter unerwünschter Mikroorganismen mit dem Zweck, ihre Übertragung durch Eingriff in Struktur und Stoffwechsel unabhängig von ihrem Funktionszustand zu verhindern“.

Die Desinfektion ist im Anschluß an die Reinigung zur weiteren Keimreduktion durchzuführen. Für den Lebensmittelbereich geeignete Präparate können den Listen der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft (DVG 1999) und der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM) entnommen werden.

Desinfektionsmittel sollen ein breites Wirkungsspektrum, schnelle Wirksamkeit, mikrobiostatische und -zide Wirkung aufweisen. Ebenso wird Hautverträglichkeit, Atoxizität und eine gute Wirksamkeit bei hohen Verdünnungen gefordert (THIEL 1980). Wechselwirkungen mit Rückständen von Reinigungsmitteln, sowie Kälte- und Eiweißfehler sind unerwünscht.

Folgende desinfizierende Substanzen werden eingesetzt (KÄSTNER 1981, REUTER 1994 b):

- **Oxidantien:** Hypochlorite, Halogene, Peroxide. Sie bewirken irreversible Oxidation von Enzymproteinen und werden zur Trinkwasserdesinfektion eingesetzt. Sie sind sensorisch unbedenklich, besitzen einen geringen Eiweiß- und Kältefehler, sind jedoch stark korrosiv.
- **Quarternäre Ammoniumverbindungen,** sie sind unwirksam gegen Pseudomonaden und andere gramnegative Bakterien (BRUNNER et al. 2000), weisen einen Seifen- und Kältefehler auf und neigen zu Rückstandsbildung auf Flächen. Sie zeichnen sich andererseits durch ihre gute Handhabung und ihre sensorische Unbedenklichkeit aus.
- **Freie Amine** wie z.B. Alkylamin. Sie wirken vor allem bakteriostatisch und besitzen nur geringen Kälte- und Eiweißfehler.

- **Amphotenside** sind unwirksam gegen anaerobe Bakteriensporen und zeigen einen Seifen- und deutlichen Kältefehler.
- **Alkoholische Desinfektionsmittel** werden in 70 - 80 prozentiger Lösung vor allem zur Hände- und Feindesinfektion verwendet. Ihr Wirkprinzip ist die Eiweißdenaturierung.
- **Phenole** kommen in 2 - 5 prozentiger Lösung zur Flächendesinfektion zum Einsatz, wirken membranaktiv auf Mikroorganismen, jedoch sind sie nicht geruchsneutral.
- **Aldehyde** sind geruchsneutral, benötigen aber eine lange Einwirkdauer.
- **Alkalihydroxide und Säuren** werden relativ hoch konzentriert eingesetzt und müssen lange einwirken. Durch die pH-Wert Verschiebung wird das osmotische Gleichgewicht der Mikroorganismenzelle aufgehoben und diese abgetötet.

Sogenannte Desinfektionsreiniger werden in einem Arbeitsschritt aufgebracht und sind nur bei sehr schwach kontaminierten Flächen anzuwenden. Sie müssen höher konzentriert werden und sind in ihrer desinfizierenden Wirkung getrennt eingesetzten Desinfektionsmitteln unterlegen (HAENKE und REUTER 1992).

Reinigungs- und Desinfektionsmittel sollten nach ihrer Einwirkzeit gründlich abgespült werden, SCHMIDT (1981) geht dabei von acht Litern Wasser in Trinkwasserqualität pro Quadratmeter Fläche aus. Als problematisch erweist sich anschließend die mangelhafte Abtrocknung, vor allem der horizontalen Flächen, wodurch vermehrtes Keimwachstum auftritt (HECHELMANN 1995).

2.4 METHODEN ZUR ÜBERPRÜFUNG DER BETRIEBSHYGIENE

Die Produktionshygiene ist eine entscheidende Grundlage für die Herstellung hygienisch einwandfreier Produkte. Hier ist es nicht ausreichend, die Reinigung und Desinfektion der Betriebsräume einer Fremdfirma zu übertragen, sondern es

bedarf einer schnellen und aussagekräftigen Kontrolle des Reinigungsergebnisses (GERSTEIN et al. 1993).

2.4.1 Konventionelle Verfahren

Beim **Abstrich- oder Abwischverfahren** werden mittels trockenen (Einfachtupfer, semiquantitativ) oder befeuchteten und trockenen Tupfer (Naß-Trockentupfer-Technik, quantitativ) Oberflächen abgestrichen. Das quantitative Tupferverfahren ist in Form einer DIN 10113-1 Norm als Referenzverfahren festgelegt (DEUTSCHES INSTITUT FÜR NORMUNG 1997). Bei der Naß-Trockentupfer-Technik wird eine definierte Oberfläche mittels einem befeuchteten Tupfer ausgestrichen und mit einem trockenen Tupfer das gleiche wiederholt. Anschließend werden die Köpfe der Tupfer in steriler Verdünnungslösung ausgeschüttelt oder homogenisiert. Durch die Erstellung einer Verdünnungsreihe können Nährböden mit unterschiedlichen Keimkonzentrationen beimpft werden, welche nach der Inkubation ausgezählt werden (DIN 10113-1 und 10113-2), (DEUTSCHES INSTITUT FÜR NORMUNG 1997). Die Wiederfindungsraten liegen, je nach Oberflächenbeschaffenheit, für die Gesamtkeimzahl bei 41,1-88,8 % (BASLER 2002). Die Naß-Trockentupfer-Technik erfordert sowohl bei der Probenahme, als auch bei der Tupferaufbereitung einen hohen Arbeits- und Zeitaufwand (SCHULZE und HILDEBRANDT 1995)

Beim Einfachtupferverfahren wird nur ein trockener Tupfer verwendet. Als Tupfermaterial wird Baumwollwatte oder Alginatwolle eingesetzt, letztere kann in Calgon-Lösung aufgelöst werden (REUTER, H. 1962). Die Wiederfindungsraten liegen jedoch unter der von Naß-Trockentupfern (BAUMGART 1977, KELCH und FRIES 1959). In der Literatur werden sie mit 23 % (NISKANEN und POHJA 1977), 34 % (REUTER 1984), 39-69 % (RÜHLMANN und FELDHUSEN 1995), 62,5 % (BASLER und STOLLE 2000), 75 % (STEIHOF et al. 1998), 36,7-94,7 % (CORETTI 1966) und 35,3-99,8 % (BASLER 2002), abhängig vom jeweiligen Oberflächenmaterial, für die Gesamtkeimzahl angegeben.

Abdruck- oder Abklatschverfahren beruhen auf dem direkten Kontakt eines festen Nährbodens mit der zu prüfenden Oberfläche und anschließender

Bebrütung. Ein Teil der auf der Prüffläche vorhandenen Mikroorganismen haften am Nährboden und können nach der Inkubation als Kolonien ausgezählt werden.

DEMETER (1964) benutzt eine spangenartige Nährbodenplatte als Abklatschvorrichtung. Bei Verwendung von Nährbodenstreifen und Agarflex-Kontakt-Kulturen dienen sterile flache Kunststoffbeutel als Nährbodenträger, welche mit flüssigen Medien befüllt werden und beim Abkühlen erstarren. TEN CATE (1963) befüllt Rilsan-Kunst Darm mit Agar, von diesen „Würsten“ wird jeweils ein Abdruck erstellt, dann eine Scheibe abgeschnitten und in eine sterile Petrischale überführt. Ein indirektes Verfahren bietet die Klebestreifen- oder Tesafilm-Methode nach THOMAS (1961), wobei ein Tesastreifen auf die Oberfläche aufgedrückt wird und die daran haftenden Mikroorganismen von diesem wiederum auf einen Nährboden abgeklatscht werden. Die beiden letztgenannten Techniken finden kaum noch Anwendung, wobei hingegen die kommerziell erhältlichen RODAC-Platten und die Keimindikatoren heute am häufigsten eingesetzt werden. Die RODAC-Platte besteht aus einem durchsichtigen Nährbodenträger aus Kunststoff, darauf ist der Nährboden mit konvexer Wölbung aufgebracht, er kann mit einem Deckel verschlossen transportiert und aufbewahrt werden. Zur Probenahme wird der Deckel abgenommen und der Nährbodenträger auf die Probenfläche aufgedrückt (KINDLIMANN 1966). Den auswertbaren Keimzahlbereich geben LOUWERS und KLEIN (1994 a) bis zu 10^5 KbE/ cm² an. REUTER (1994 a) gibt deren sinnvollen Einsatz nur bei gering belasteten Flächen an, bei höheren Keimzahlen kommt es zu Rasenwachstum. Die Wiederfindungsrate ermittelte BASLER (2002) für die Gesamtkeimzahl mit 2,5-100 %, je nach Oberflächenmaterial und Testkeim.

Weitere kommerziell hergestellte Keimindikatoren sind Dip-Slides, ursprünglich verwendet, um nach Eintauchen in Flüssigkeiten deren Keimzahl zu bestimmen, zum Beispiel Contact Slides, Biotest GK-A[®], Petrifilm Aerobic-Count-Plate[®].

Man unterscheidet direkte und indirekte Abklatschmethoden, bei letzteren wird mit sterilem Material abgeklatscht und die daran haftenden Mikroorganismen auf festen Nährboden übertragen. Abdruck- und Abklatschverfahren sind gut geeignet

für plane, glatte Oberflächen (LOUWERS und KLEIN 1994 b). Als problematisch erweisen sich gewölbte Oberflächen, Fugen, Rillen und sehr raue Oberflächen.

Die gängigen Abklatschverfahren stellen sich als leicht handhabbar, preiswert, praxisorientiert und schnell durchführbar dar (THRAN 1979). Nachteilig ist ihre schlechte Auswertbarkeit bei hoher Keimbelastung pro cm², ihr meist starrer Nährbodenträger und bei nassen Oberflächen, beziehungsweise bei schwärmenden Mikroorganismen konfluieren die Kolonien. Laut HOFSCHULTE (1996) liefern Abklatschmethoden zwar die ungenauesten Ergebnisse, zeichnen sich aber durch ihre einfache Handhabung aus. Sie haben sich zur Erfassung der Effizienz von Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen bewährt (BRUCHMANN 1995, KOBE et al. 2000).

Abspül- oder Abschwemmverfahren werden zur Ermittlung der Oberflächenkeimzahl von Schlachttierkörpern empfohlen. Dabei wird mit einer Sprühpistole mit 3 atü (THRAN 1979) oder ohne Druck Spülflüssigkeit aufgebracht und wieder aufgefangen. Die Keimzahl der Spüllösung wird anschließend konventionell bestimmt, mittels Thomakammer ausgezählt oder die Trübung gemessen (BAUMGART 1977). Verschiedene Geräte wurden dazu entwickelt:

- Abschwemmpistole nach Leistner; mittels Propeller wird die sterile Spülflüssigkeit aufgebracht (FRIES und JANKE-GRIMM 1984)
- Drucksprühgerät nach THRAN (1979); verwendet Druckluft, um die Spülflüssigkeit aufzutragen
- Handspülgerät nach REUTER (1984); die Spülflüssigkeit wird manuell mit einer Spritze mehrmals aufgewirbelt, als Weiterentwicklung ist das
- Ultraschall-Spülgerät konzipiert worden, in welches eine Ultraschallmembran in den Boden der Spülkammer eingebaut wurde.

Destruktive Verfahren, wie **Abkratz- oder Abschabeverfahren** beruhen auf der Entnahme von Probenmaterial aus der Oberfläche. GLOBISCH et al. (1996) setzten sie zur Keimzahlermittlung bei Schlachttierkörpern ein. Die Oberfläche

wird mit einem sterilen Entnahmegesäß abgetragen und die Gesamtzahl lebender Keime erfasst (BAUMGART 1977). Aufgrund der Zerstörung der Oberfläche sind diese Methoden kaum für die routinemäßige Kontrolle der Betriebshygiene geeignet und finden kaum noch Einsatz in der Umgebungsuntersuchung (HILLER 1994).

Bei den **Direkt- oder Direktaufgußverfahren** wird der Nähragar direkt auf die zu untersuchende Oberfläche gegossen, nach dem Erstarren wird er von der Oberfläche abgenommen und bebrütet. Diese, auch als Direct Surface Agar Plating bezeichnete Methode wird häufig wegen ihrer hohen Keimausbeute vergleichend zu anderen Agarkontaktmethoden angewendet (ANGELOTTI et al. 1958).

Die **Membranfilter-Methode** wird vor allem zur Untersuchung von Lebensmittelrohware als Nachweismethode für Hefen eingesetzt. Dabei wird die Oberfläche mit steriler Flüssigkeit abgespült und diese anschließend über einen Membranfilter abfiltriert, welcher auf einem mit Bouillon getränkten Kunststoffschwamm bebrütet wird. (BAUMGART 1977, BÜLTE und STOLLE 1989).

Das **Petrifilm-Verfahren** besteht aus einer Folie, beschichtet mit Guar, welche zur Oberflächenhygienekontrolle mit sterilem Peptonwasser befeuchtet wird. Zum Abklatsch wird die Deckfolie entfernt und der Petrifilm wie eine Agarkontaktplatte verwendet. Der Vorteil des Petrifilm-Verfahrens besteht in seiner Flexibilität, womit es sich auch für gewölbte Flächen als geeignet erweist. STEINHOF et al. (1998) sehen die Petrifilmmethode als geeignete Alternative zum Naß-Trockentupfer-Verfahren an. Die Wiederfindungsrate lag bei 40-60 %, abhängig von der Keimart, der Oberflächenbeschaffenheit und der Antrocknungszeit der Keimsuspension (RÜHLMANN und FELDHUSEN 1995).

2.4.2 Schnellmethoden

Mikrobiologische Eigenkontrollen erweisen sich im praktischen Einsatz oftmals als ungeeignet. Sie sind zu zeit- und arbeitsaufwändig, erfordern fachlich geschultes Personal und die Ergebnisse liegen erst nach Tagen vor (WERLEIN 1996).

Aus diesen Gründen ist damit zu rechnen, daß die Verfügbarkeit und der Einsatz von Schnellmethoden in Zukunft zunehmen werden.

Tabelle 4: Bewertungskriterien für den Einsatz vier wichtiger Schnellmethoden (BÜLTE und STOLLE 1989)

	Epiflores - zenz	Impedanz	Bio- lumineszenz	Limulus- test
Investive Kosten	Mittel	Hoch	Mittel	Gering
Laufende Kosten	Mittel	Mittel	Hoch	Hoch
Handhabung	Aufwändig	Einfach	Aufwändig	Einfach
Probenaufbereitung	Aufwändig	Einfach	Aufwändig	Einfach
Probendurchlauf (/h)	20	50	30	20
Automatisierbarkeit	±	+	+	-
Nachweisgrenze KbE/g	10 ⁴	10 ⁰	10 ⁵	10 ⁴

Der Zeitbedarf zur Bestimmung der Anzahl der Koloniebildenden Einheiten pro Gramm beträgt bei der Epifluoreszenz und bei der Biolumineszenz etwa eine Stunde, beim Limulustest 2 Stunden und bei der Impedanz zwischen 2 und 12 Stunden, abhängig von der Keimkonzentration.

Bei der direkten **Epifluoreszenz-Filter-Technik** und dem **Epifluoreszenz-Verfahren** handelt es sich um ein Auflichtmikroskopieverfahren zur Bestimmung der Gesamtzahl lebender Mikroorganismen bei der Untersuchung von

Lebensmitteln. Die Nachweiszeit beträgt eine Stunde und die Nachweisgrenze liegt bei 10^4 KbE/g. Sie wird vor allem zur Untersuchung von Milch, Fleisch, Getränken, Wasser und Abwasser eingesetzt (SINELL 1992). Die Proben werden enzymatisch vorbehandelt und über einen Polycarbonatfilter filtriert. Die im Filter verbleibenden Keime werden mit Acridinorange angefärbt, wobei die aktiven Bakterien eine orange fluoreszierende, die inaktiven Bakterien eine grün fluoreszierende Färbung unter ultraviolettem Licht erkennen lassen. Sie werden unter einem Epifluoreszenzmikroskop bei Primärlicht gezählt (BÜLTE und STOLLE 1989, BAUMGART 1993).

Das **Durchflußcytometrie-Verfahren** ist nur für Hefen ab einer Nachweisgrenze von 400 Hefen/g Probe geeignet. Das Chemflow System verwandelt ein noch nicht fluoreszierendes Substrat innerhalb der Zelle mittels Hydrolasen zu Fluorochrom. Dann werden die fluoreszierenden Zellen optisch ermittelt und gezählt (BAUMGART 1993).

Eine sehr häufig eingesetzte Schnellmethode ist die **Impedanzmessung**, sie beruht auf der Metabolisierung vorhandener Substrate eines Nährmediums durch Mikroorganismen. Die dabei entstehenden Stoffwechselprodukte liegen in Ionenform vor und erhöhen die Leitfähigkeit, beziehungsweise erniedrigen den Widerstand der Nährflüssigkeit. Je konzentrierter die Keime vorliegen, desto schneller sind die Widerstandsänderungen des Mediums meßbar, desto kürzer ist also die Detektionszeit (GESSLER 1991, HEILIGENTHAL 1995, WAWERLA et al. 1996). Als Grundausstattung zur Impedanzmessung werden spezielle Inkubatoren, mit Meßzellen bestückte Elektroden und zur Auswertung ein Rechner, Drucker, sowie entsprechende Software benötigt (WAWERLA 98). Man unterscheidet direkte Impedanz, bei welcher die Elektroden direkt in die das Probenmaterial enthaltende Nährlösung reichen (OVER 1994, URL 1991), von der indirekten Impedanzmessung. Hierbei sind die Meßzellen voneinander getrennt, lediglich ein Gasaustausch ist möglich. Eine Meßzelle befindet sich in einem Kompartiment welches Probe und Nährmedium enthält, die zweite an welcher die Leitfähigkeitsmessung erfolgt, ist in einer alkalischen Lösung. Durch die Stoffwechselaktivität der Mikroorganismen werden Gase absorbiert, was einen

Abfall der Leitfähigkeit der alkalischen Lösung zur Folge hat (SILLEY und FORSYTHE 1996, GONG und CHEN 1997, JOHANSEN et al. 1997, DEUTSCHES INSTITUT FÜR NORMUNG 1998). SCHULENBURG und BERGANN (1996) weisen darauf hin, daß bei der Bestimmung der Gesamtkeimzahl in verschiedenen Lebensmitteln die mikrobiologische Flora unterschiedlich zusammengesetzt ist und daß verschiedene Keime jeweils voneinander abweichende spezifische Impedanzwirksamkeit besitzen. Dies führt zu abweichenden Ergebnissen, daher schlagen sie vor, die impedimetrische Keimzahlbestimmung vor allem für Massenuntersuchungen an einheitlichem Probenmaterial einzusetzen. Ab einer Keimdichte von 10^7 KbE/ml (BÜLTE und STOLLE 1989), 10^6 KbE/ml (BAUMGART 1993), bzw. 10^5 KbE/ml (SINELL 1992) ist eine Änderung des Widerstandes meßbar, WAWERLA (1998) beurteilt die Methode beim Nachweis von *Clostridium perfringens* in Hackfleisch ab 10^3 KbE/g als zuverlässig einsetzbar.

Beim Impedanz-Splitting-Verfahren wird die Elektrodenimpedanz, also Änderungen direkt an den Meßelektroden gemessen (PLESS und REISINGER 1995). Der Vorteil hierbei ist eine verkürzte Detektionszeit und eine erhöhte Sensitivität (JÖCKEL 1996).

Der **Limulus-Amöbozyten-Lysat-(LAL)Test** weist Lipopolysaccharide, also Endotoxine und Pyrogene, welche ausschließlich in der Zellwand gramnegativer Keime gefunden werden, nach. Amöbozyten des Pfeilschwanzkrebsses (*Limulus polyphemus*) reagieren enzymatisch mit diesen Lipopolysacchariden und es kommt zur Gelbildung. Die Ergebnisse liegen etwa nach 1,5 Stunden vor. Zum Einsatz kommt diese quantitative Schnellmethode bei der Prüfung auf Pyrogenfreiheit und zur Beurteilung der hygienischen Qualität von Eiprodukten Milch, Milchprodukten, sowie Fleischwaren und Hackfleisch (BÜLTE und STOLLE 1989, EYSELL et al. 1997).

Der neu entwickelte **NAD-Test** detektiert organische Rückstände auf Oberflächen über das Coenzym Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid (-Phosphat), also NAD, NADP, NADPH und NADH. Vorhandenes Substrat wird mittels einer enzymatischen Reaktion als Farbumschlag von gelb nach violett farblich dargestellt.

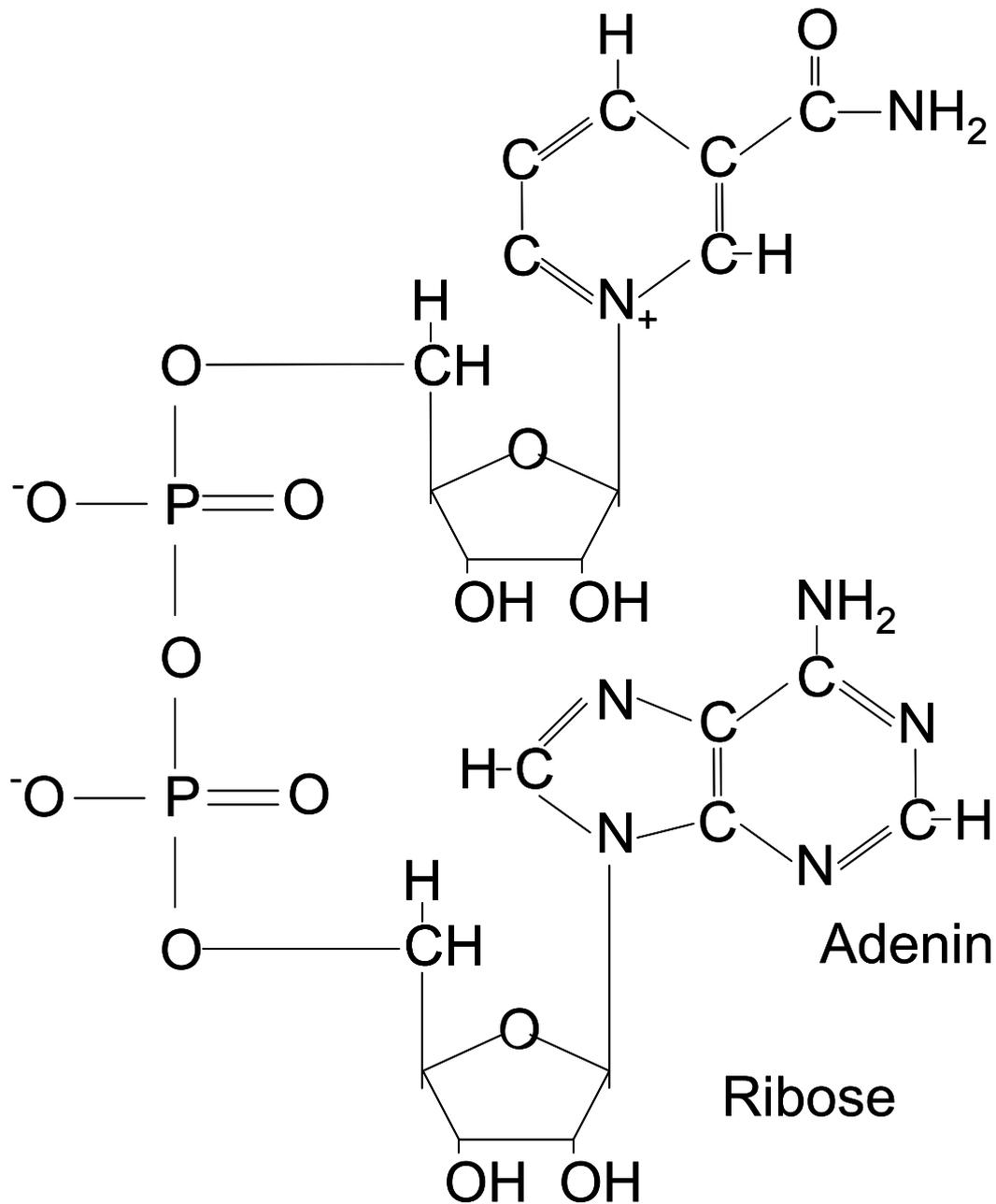


Abbildung 2: Strukturformel von NAD

Der durchschnittliche NAD-Gehalt in den meisten Geweben wird mit etwa $10^{-5} \text{ mol/l}^{-1}$ angegeben (LEHNINGER et al. 1994).

Die NAD/NADH-Rate kann abhängig vom metabolischen Zustand der Zelle variieren. Die NADPH/NADP-Rate kann hoch, und gleichzeitig NADH/NAD niedrig sein, aber die Gesamtmenge der Nucleotide bleibt relativ konstant (ZABRISKIE und HUMPHREY 1987, SINGH et al. 1994). NADPH liegt im allgemeinen in höherer Konzentration als seine oxidierte Form, NADP, vor (LEHNINGER et al. 1994). Nach dem Zelltod wird NADH zu NAD abgebaut, aber da alle Nucleotide von dem NAD-Nachweis erfaßt werden, hat dies keinen Einfluß auf das Testergebnis. NAD ist vor allem an katabolischen Oxidationen in der Zelle beteiligt, im Gegensatz dazu fungiert NADH als Cofaktor bei anabolischen Reduktionen. Sie arbeiten als wasserlösliche Elektronen-Carrier bei Reaktionen, die von über 200 Enzymen katalysiert werden (VOET und VOET 1995). Dabei sind sie nicht fest an das jeweilige Enzym gebunden, sondern lösen sich leicht von der Enzymoberfläche und diffundieren zu einem anderen Enzym (LEHNINGER et al. 1994, STRYER 1996).

Aus einer internen Studie der Firma Merck geht hervor, daß um den Faktor 1 bis 1000 mal mehr NAD als ATP auf derselben Oberfläche nachgewiesen werden kann. Die Nachweisgrenzen gibt der Hersteller für Bakterien mit 3×10^5 - 10^7 KbE/Test und für Schimmelpilze mit 3×10^4 KbE/Test an. Für NAD wird die Nachweisgrenze mit 2500-5000 femtomol/Test angegeben (Fa. Merck, nicht publizierte Daten).

Die Farbreaktion des Teststreifens bleibt laut Herstellerangaben über sechs Stunden bei 22° C stabil, so daß genügend Zeit zur Dokumentation der Ergebnisse zur Verfügung steht. Bei Temperaturen bis zu 80° C, wie sie zum Beispiel in Spülmaschinen herrschen, bleibt NAD stabil, lediglich beim Autoklavieren bei 121° C wird es zerstört. In homogenisierten Lebensmitteln, welche als Lösung aufgetragen und 24 Stunden getrocknet wurden, blieb NAD ähnlich stabil wie ATP.

GOLL et al. (2002) ermittelten die Nachweisgrenze für Bakterien bei 10^4 KbE/cm² und verglichen den Test mit den ATP-Nachweisverfahren HY-LiTE 2[®], dabei entsprachen die Nachweisgrenzen 200 – 600 RLU (Relative Light Units). Im

Feldversuch wurden 1000 RLU als oberer Grenzwert für saubere Oberflächen festgelegt. Dabei zeigte der NAD-Nachweis in 71,6 %, bei Auswertung nach vier Minuten und in 73,4 %, bei Auswertung nach acht Minuten, ein übereinstimmendes Ergebnis mit der Biolumineszenz zur Aussage „sauber“ oder „nicht sauber“.

Im Laborversuch ermittelten die Autoren mittels aufgebrachteter Fleischsaftverdünnung eine untere Nachweisgrenze für den NAD-Test, welche 30 – 350 RLU bei der Biolumineszenz entsprach.

Die Aussagefähigkeit des verwendeten Protein-Tests wird in der Literatur unterschiedlich beurteilt. GUSTAVSSON und KARLSSON (1997) verglichen den Protein-Nachweis mit einem ATP-Nachweis auf künstlich kontaminierten Flächen und stellten eine angemessene Übereinstimmung mit den Herstellerangaben fest. Die unteren Nachweisgrenzen ermittelten sie mit 24 µg für Milch, < 100 µg für Eiweißalbumin, 30 - 50 µg für bovines Serumalbumin und für bakterielle Sporen mit $> 10^6$ Zellen/cm². Der Denaturierungsgrad des Proteins hatte keinen Einfluß auf das Testresultat. Ihre Ergebnisse deuten auf eine höhere Empfindlichkeit als mit der ATP-Methode erreichbar ist, hin. BECKER et al. (2001) geben als untere Protein-Nachweisgrenze $5,3 \times 10^3$ mg/100 cm², entsprechend einer Keimzahl von $7,9 \times 10^4$ KbE/100 cm² für den Protein-Test an. Aufgrund der einfachen Handhabung und der Ergebnisse ihrer Arbeit, beurteilen sie den Protein-Nachweis, wie auch BAUMGART (1996), als geeignet zur schnellen Hygienekontrolle von Oberflächen.

WEBER et al. (1997) hingegen verglichen den Protein-Test mit Naß-Trockentupfern, einem ATP-Test und einem Abklatschverfahren und konnten keine zuverlässige Aussage bezüglich des sinnvollen Einsatzes bei der Kontrolle von Reinigung und Desinfektion treffen. In ihrer Untersuchung ordneten sie bei rauhen Flächen Werte unter 500 RLU und bei glatten Flächen unter 100 RLU als zufriedenstellend ein und verglichen den Protein-Nachweis mit dem Biolumineszenzverfahren.

Tabelle 5: Beziehung der Protein-Testwerte (Legende siehe Tabelle 11 auf Seite 47) zu den ATP-Werten bei schwer zu reinigenden Flächen (rauh bis sehr rauh) n=82 (WEBER et al. 1997)

Protein-Test (Stufe auf Farbskala)	ATP-Nachweis ≤ 500 RLU	ATP-Nachweis >500 RLUI
1	42	22
1 – 2	6	10
2	0	0
2 – 3	0	2
3	0	0
4	0	0

58,5 % der rauhen Flächen wurden mittels Biolumineszenz als zufriedenstellend gereinigt ermittelt, der Protein-Test dagegen ergab 97,6 % zufriedenstellend gereinigte Flächen.

Tabelle 6: Beziehung der Protein-Testwerte (Legende siehe Tabelle 11 auf Seite 47) zu den ATP-Werten bei leicht zu reinigenden Flächen (glatt) n=78 (WEBER et al. 1997)

Protein-Test (Stufe auf Farbskala)	ATP-Nachweis ≤ 100 RLU	ATP-Nachweis > 100 RLU
1	17	35
1 – 2	3	19
2	0	1
2 – 3	0	3
3	0	0
4	0	0

In der Kategorie der glatten Flächen konnten 96,2 % der mittels Protein-Test, aber nur 25,6 % der mittels ATP-Test ermittelten Flächen als sauber eingeordnet werden. WEBER et al. (1997) konnten somit keine korrespondierenden Ergebnisse erzielen.

Laut Hersteller besteht die Trockenmasse von Bakterien und einzelligen Pilzen zu 50 % aus Protein, ebenso enthalten Lebensmittel Protein in variabler Menge. Der Test gibt jedoch keine Auskunft über das Vorhandensein von Mikroorganismen, da nicht zwischen bakteriellem Protein und Protein aus Lebensmittelrückständen differenziert wird, so der Hersteller. Die untere Nachweisgrenze wird mit 15 - 1000 µg Protein angegeben (BIOTEST AG 2001).

Das **ATP-Biolumineszenzverfahren** wurde erstmals in den sechziger Jahren von Wissenschaftlern der NASA eingesetzt, um Leben auf anderen Planeten nachzuweisen (CHAPPELLE und LEVIN 1968). Das Testprinzip beruht auf dem Nachweis von Adenosintriphosphat (ATP), welches in jeder lebenden Zelle den universellen Träger chemischer Energie darstellt (GRIFFITHS 1996). Laut BAUMGART (1995), BAUMGART und MEIERJOHANN (1994), sowie WERLEIN (1997) ist die ATP-Konzentration in verschiedenen Bakterienspezies nahezu konstant. BÜLTE und REUTER (1985) stellen fest, daß der ATP-Gehalt von Bakterienkulturen mit deren zunehmenden Alter sinkt, während der lag- und log-Phase höher ist als in der stationären und in der Absterbephase, das bestätigen auch POGGEMANN und BAUMGART (1996). BAUMGART (1980) ermittelte für einige lebensmittelhygienisch relevante Mikroorganismen den durchschnittlichen ATP-Gehalt. Die Werte variieren zwischen 10 und 80 %. *Bacillus cereus* enthält durchschnittlich nur 0,1 fg ATP pro Zelle, während *Staphylococcus aureus* 1,4 fg ATP pro Zelle enthält. Hefen enthalten mehr ATP, so findet man bei *Candida albicans* 16 und bei *Saccharomyces cerevisiae* sogar 130-170 fg ATP pro Zelle.

Der durchschnittliche ATP-Gehalt von Bakterien beträgt 1 fg/Zelle, somatische Zellen enthalten ca. 30 mal und Hefen bis zu 100 mal mehr ATP. Pseudomonaden weisen einen höheren Gehalt auf als Enterobakterien, Kokken dagegen einen

niedrigeren als Stäbchenbakterien und Sporen enthalten kein ATP (GRIFFITHS 1996, MOJE 1995).

Bei der Biolumineszenz wird, wie in der folgenden Abbildung dargestellt, in einer Mg^{2+} - und ATP-abhängigen Reaktion das Luciferin des Leuchtkäfers enzymatisch durch Luciferase oxidiert. Das geschieht über die Zwischenstufe Acyl-AMP (Adenosinmonophosphat), welche mit Sauerstoff zu Oxiluciferin oxidiert. Dieses angeregte Oxiluciferin fällt unter Emission eines Photons wieder in den Grundzustand zurück. Das emittierte Photon wird luminometrisch erfaßt und als Relative Light Units (RLU) angezeigt.

Die Leuchtkäfer-Luciferase ist eine ATP-abhängige Oxygenase, wobei das ATP als Energielieferant fungiert (KIRCHER et al. 1995, BAUMGART et al. 1980, BAUMGART und MEIERJOHANN 1994, BRÄUNIG und TRENNER 1996 b).

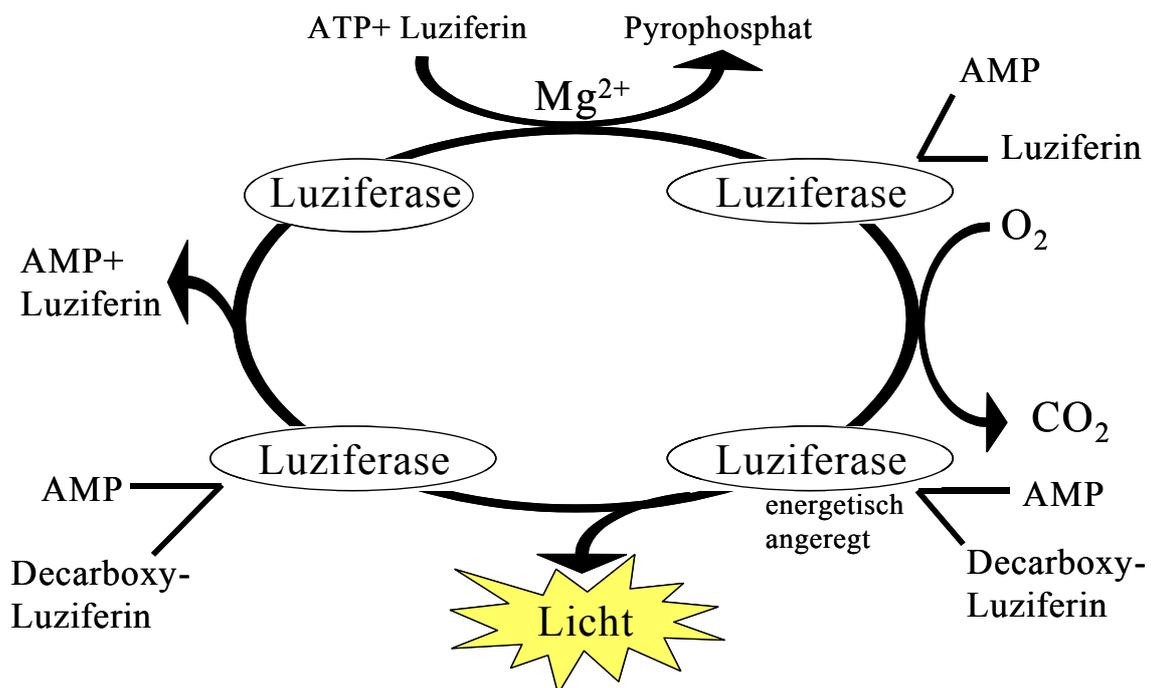


Abbildung 3 : Luciferin-Luciferase-Reaktion (STEPHAN et al. 1994)

Die Nachweisgrenze für Mikroorganismen, beziehungsweise ATP bei diesem Testverfahren ist in der Literatur mit verschiedenen Werten angegeben.

Tabelle 7: Nachweisgrenzen für ATP

Literaturangaben	Nachweisgrenze für Bakterien (KbE)	Nachweisgrenze (ATP)
BÜLTE und REUTER (1985)	$10^5/\text{ml}$	$1 \times 10^{-8} \text{ mol/l}$
KIRCHER et al. (1995)	$5 \times 10^1/\text{cm}^2$ Hefen: $10^2/\text{Test}$	$10^{-14} - 10^{-15} \text{ mol/Test}$
POGGEMANN und BAUMGART (1996)	$10^4/20 \text{ cm}^2$	
BAUMGART et al. (1980)	$10^5/\text{ml}$	
BAUMGART und MEIERJOHANN (1994)	$10^4/\text{ml}$	
WERLEIN (1999)	$10^5/\text{g}$	
WERLEIN (2001) mit Anreicherungsverfahren	$10^3 - 10^4/\text{g}$ Hefen: $10^2 - 10^3/\text{g}$	

Damit liegen die Nachweisgrenzen ähnlich derer des Tupfverfahrens (KIRCHER et al. 1995).

Von untergeordneter Bedeutung für den Einsatz der Biolumineszenzmethode im Hygienemonitoring ist die Differenzierung von bakteriellen und somatischen ATP (KIRCHER et al. 1995). Bei der Kontrolle der Effizienz von Reinigung und Desinfektion wird der Mischwert aus bakteriellem und somatischem ATP als RLU-Wert angegeben, womit Mikroorganismen und Produktionsrückstände den Wert beeinflussen. Problematisch für die Beurteilung der ermittelten Ergebnisse sind jedoch fehlende Grenzwerte. Aufgrund der Variabilität und der beeinflussenden Faktoren schlagen POGGEMANN und BAUMGART (1996) vor, die hygienisch noch zu akzeptierenden RLU-Werte von der Oberfläche des Materials und somit von der Reinigungsfähigkeit abhängig zu machen.

Der Hersteller des HY-LiTE[®]-Systems empfehlen einen Richtwert unter 100 RLU als akzeptabel, zwischen 100 und 500 RLU als kritisch und über 500 RLU als inakzeptabel einzuteilen.

ORTH und STEIGERT (1996), sowie BRÄUNIG und TRENNER (1996 a) empfehlen eigene Grenzwerte nach optimaler Reinigung und Desinfektion zu ermitteln und als Vergleichswerte heranzuziehen. In die Grenzwerte ist auch die Größe der beprobten Fläche, sowie deren direkter oder indirekter Kontakt zum Lebensmittel miteinzubeziehen.

Beeinflusst werden die Testergebnisse durch Reinigungs- und Desinfektionsmittel (BRÄUNIG und TRENNER 1996 a), Bakterienspezies, Vermehrungsphase, Redoxpotential, Temperatur und pH-Wert. Auch der RLU-Wert selbst ist abhängig von der Oberflächenart und -struktur, der Größe der Probenahmefläche, den eingesetzten Geräten, Materialien und Reagenzien und dem durchführenden Personal (MOJE 1995). Durch diese beeinflussenden Faktoren sind die RLU-Werte nicht unmittelbar miteinander vergleichbar.

Fisch und Meeresfrüchte können durch natürlich lumineszierende Bakterien oder Proteine verunreinigt sein, was zu erhöhten RLU-Werten führen kann (RIGARLSFORD 1992). Ebenso können Rückstände von Desinfektionsmitteln die Ergebnisse der ATP-Messung beeinflussen. BRÄUNIG und TRENNER (1996 a) führten Untersuchungen zur Beeinflussung der Biolumineszenz durch Reinigungs- und Desinfektionsmittel durch und stellten fest, daß ATP-freie Lösungen mit Desinfektionsmittelzusatz mit steigender Konzentration den RLU-Wert erhöhen, das führte in ihren Versuchen bei 13,5 % der Proben zu Fehlbeurteilungen.

Bei ATP-haltigen Lösungen sinkt der RLU-Wert durch Zugabe von Reinigungs- und Desinfektionsmitteln, d. h. es wird weniger ATP nachgewiesen, als tatsächlich vorhanden ist. Es ist auch keine Differenzierung zwischen toten und lebenden Mikroorganismen möglich.

Die Aussagekraft und Korrelation zwischen ATP-Nachweis und konventionellen Verfahren werden in der Literatur widersprüchlich diskutiert. RODOLPH et al. (1995), sowie RIGARLSFORD (1992) sehen in der ATP-Bestimmung eine

wirkungsvolle Technik, um Hygienemaßnahmen zu kontrollieren und eventuell notwendige Nachreinigungen schnell und effektiv einleiten zu können. Dagegen sehen BRÄUNIG und TRENNER (1996 b) aufgrund des gestörten Zusammenhangs zwischen der Anzahl der KbE und den RLU-Werten unter dem Einfluß von Desinfektionsmitteln eine Kontrolle der Desinfektion nicht möglich. Lediglich der Verschmutzungsgrad ist beurteilbar. Jedoch ist die Biolumineszenz geeignet, Reinigungsergebnisse zu optimieren (ORTH und STEIGERT 1996) und kritische Arbeitsabläufe aufzufinden (WERLEIN 1996, RUDOLPH et al. 1995). Die Autoren sind sich überwiegend einig, daß die Biolumineszenz eine mikrobiologische Untersuchung nicht ersetzen, aber unterstützen kann.

Die folgende Tabelle gibt Auskunft über die Einsatzmöglichkeiten und die Vergleichbarkeit der Methoden.

Tabelle 8: Geräte zur ATP-Messung und deren Vergleichbarkeit mit mikrobiologischen Methoden

Gerät/ Hersteller	Beprobtes Material / Keimgruppen	Korrela- tionsko- effizient	Vergleichs- methode	Quelle
Biocounter M2500 Fa. Lumac	Geflügelbrusthaut Geflügelhalshaut	0,86 0,51	Kulturelle Keimzahl- bestimmung	ELLERBROEK et al. (1997)
HY-LiTE Fa. Merck	Kunststoffbrett Edelstahl- oberflächen	0,62 0,89	Tropfplatten- verfahren	POGGEMANN und BAUMGART (1996)
Biocounter M2500 Fa. Lumac	Schweinefleisch- oberflächen Rindfleisch- oberflächen	0,93 0,95	Gußkultur- verfahren	WERLEIN (1996)
Biocounter M2500 Fa. Lumac	Schweinefleisch- oberflächen	0,82	Tupfermethode	STEPHAN et al. (1994)
HY-LiTE Fa. Merck	Bakterien und Hefenreinkulturen	0,93 – 0,95	Tupfermethode	KIRCHER et al. (1995)
P 3 Klean- Check Fa. Henkel	Oberflächen eines Fleischzerlege- betriebes	0,79	Tupfermethode	ORTH und STEIGERT (1996)
Biocounter M2500 Fa. Lumac	Hackfleisch Rindfleisch Schweinefleisch	0,93 0,84 0,97	Tropfplatten- verfahren	BAUMGART und MEIER- JOHANN (1994)
HY-LiTE Fa. Merck	Oberflächen in Fleischverarbei- tendem Betrieb	0,42	Abklatsch	HOFBAUER et al. (1997)
LKB-Walac No. 1250-120 ohne Hersteller- angabe	Rindfleisch	0,92 0,91 0,94	Tropfplatten- methode Abklatsch Epifluoreszenz	BÜLTE und REUTER (1985)
ohne Angabe	Lsg. mit freiem ATP Lsg. mit ATP + Reiniger Lsg. mit ATP + Desinfektionsmittel Keimsuspension	0,95 0,91 0,89 0,80	Vergleich von ATP-haltiger Lösung mit ermittelten RLU- Werten	BRÄUNIG und TRENNER (1996 b)

Denkbare Einsatzbereiche der ATP-Messung zur Hygienekontrolle sind nach WERLEIN (2001) und BAUMGART (1995) die Überwachung der Betriebshygiene, Prüfung von Desinfektionsmitteln, Keimzahlbestimmung und Sterilitätskontrolle von Milch und Fruchtsaft, sowie die Trink- und Mineralwasseruntersuchung. Aber auch Hefennachweis in Erfrischungsgetränken und Fruchtzubereitungen, Bakterien und Hefennachweis in Bier, als auch die Ermittlung der Oberflächenkeimbelastung von Schlachtierkörpern und Fleisch sind möglich. Ebenso ist der Einsatz der ATP-Messung geeignet zur Ermittlung des Keimgehalts von Fisch und Schalentieren, Resistenzprüfung von Bakterien und zur Sterilitätskontrolle von Marzipan und Kosmetikartikeln. Aber auch die Bestimmung des Luftkeimgehalts und der Nachweis der Verschmutzung von Textilien ist möglich.

Eine Weiterentwicklung der Biolumineszenz stellt das Verfahren von KEUCHEL und TARKKANEN (2001) zum Salmonellennachweis dar. Mit dieser Methode soll über ein vorgeschaltetes Immunocapturing der Nachweis spezifischer Bakterien möglich werden.

Um die Sensitivität der Biolumineszenz zu erhöhen, wird vorgeschlagen, die Aktivität des Enzyms Adenylatzyklase, anstatt ATP zu messen (GRIFFITHS 1996).

Auch der Einsatz von bakterienspezifischen Phagen, welche mit Genen bakterieller Luciferase bestückt werden, wird diskutiert. Da die Phagen selbst die Gene nicht ausbilden, wird die Luciferase erst synthetisiert und das Photon emittiert, wenn sie ihre Wirtszelle infiziert haben. Dies gelang bereits bei *E. coli* (STEWART und WILLIAMS 1992).

Die Biolumineszenz hat als Schnellmethode ihre Einsetzbarkeit in der Lebensmittelhygiene vielfach bewiesen und wird auch zukünftig ihre Verwendung finden.

3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Ziel der eigenen Untersuchungen war es, die Einsatzfähigkeit hinsichtlich Praktikabilität und die Aussagekraft eines neuen NAD-Nachweises zu prüfen. Dabei kamen ein Abklatschverfahren und ein Protein-Schnelltest als Vergleichsmethoden für die Untersuchungen zur Reinheit von Oberflächen zum Einsatz.

3.1 MATERIAL

3.1.1 Betriebe

Für die Probenahme wurden zehn Lebensmittelbetriebe verschiedener Größe ausgewählt. Teilweise führten diese Einrichtungen eigene mikrobiologische Hygienekontrollen durch oder gaben diese regelmäßig bei Fremdfirmen in Auftrag.

Betrieb Nr. 1 (Großküche) führte die Reinigung und Desinfektion selbst durch, ebenso gab es eine tägliche betriebsinterne mikrobiologische Hygienekontrolle mittels Dip-Slides. Der Küchenchef war sehr an Hygieneverbesserungen interessiert, scheiterte aber nach eigener Aussage immer wieder am Desinteresse des Personals. Für den **Betrieb Nr. 2** (Hotelküche) existierte ein schriftlicher Reinigungsplan, sowie betriebsinterne Kontrollstrukturen, jedoch keine mikrobiologische Überprüfung. Das Personal wurde regelmäßig geschult und achtete sehr auf die nötige Hygiene. Hygienebelehrungen, -schulungen und -workshops waren bei **Betrieb Nr. 3** (EU-zugelassener Verarbeitungsbetrieb) fester Bestandteil für die Belegschaft. Es existierte ein Reinigungs- und Desinfektionsplan und im betriebsinternen Labor wurden Abklatschproben ausgewertet. Der **Betrieb Nr. 4** (Betriebskantine) wurde täglich einmal von einer Fremdfirma gereinigt und desinfiziert. Eigenkontrollen führte der Küchenchef nur visuell durch. Catering für Kindergärten, **Betrieb Nr. 5**, reinigte selbst nach einem Hygieneplan und ließ externe mikrobiologische Kontrollen durchführen. In einem Qualitätsmanagementkonzept waren die Maßnahmen zur Betriebshygiene

festgehalten. **Betriebe Nr. 6 und 7** (Metzgereien mit Partyservice) führten keine Desinfektion durch und es gab weder einen festen Reinigungsplan, noch Hygienekontrollen. Das Feinkosthaus, **Betrieb Nr. 8** desinfizierte einmal wöchentlich und führte keine Eigenkontrollen durch. Keine Desinfektion und Eigenkontrollen fand sich bei **Betrieb Nr. 9** (Vollwertkost-Catering) und die Reinigung erfolgte nach Bedarf. In **Betrieb Nr. 10** (Partyservice und Küche für Seniorenwohnheim) existierte ein Reinigungs- und Desinfektionsplan, jedoch nur eine visuelle Überprüfung des Hygienestatus. Die Reinigung übernahm eine Fremdfirma.

Die Betriebsbegehungen und Probenahme erfolgte in Absprache mit den jeweiligen Hygienebeauftragten, beziehungsweise den Küchenchefs, jedoch ohne vorherige Information des Reinigungspersonals.

Die Protokolle der Betriebsbegehungen und die Merkmale der Betriebe sind im Anhang aufgelistet.

In Tabelle 9 sind die Größe und Kapazitäten der Betriebe dargestellt.

3 Eigene Untersuchungen

Tabelle 9: Angaben zu den untersuchten Produktionsstätten; Wo = Woche

Betrieb	Art der Produktionsstätte	Kapazität Mahlzeiten/Tag	Anzahl der Angestellten
1	Großküche	7500	ca. 95
2	Hotelküche	500	24
3	EU-zugelassener Verarbeitungsbetrieb	40 Tonnen/Wo.	150
4	Betriebskantine	1500	29
5	Catering für Kindergärten	2300	12
6	Partyservice 1	nach Bedarf	5
7	Partyservice 2	nach Bedarf	8
8	Feinkosthaus	60	5
9	Vollwertkost-Catering	500	12
10	Seniorenwohnheim-Küche	350	9

3.1.2 Nährmedium

Es wurden steril versiegelte Envirocheck RODAC-Platten der Firma Merck zur Ermittlung der Gesamtkeimzahl verwendet. Die Nährbodenträger bestanden aus durchsichtigem Kunststoff, die Agarfläche betrug 25 cm².

Die Zusammensetzung des Mediums ist im Anhang aufgeführt

3.1.3 Schnelltests

Der detaillierte Inhalt und die Zusammensetzung, sowie das Auswerteschema der verwendeten Schnelltest-Kits sind im Anhang aufgelistet. Folgende zwei Schnelltests kamen in der vorliegenden Untersuchung zum Einsatz:

NAD-Nachweis:

Der Test dient zur Prüfung der Sauberkeit von Oberflächen indem er NAD, NADH, NADP und NADPH, zum Beispiel als Bestandteil organischer Verunreinigungen, Bakterien, Hefen und Pilzen nachweist.



Prüffläche

Griff

Abbildung 4: Skizze eines Teststreifens

Protein-Nachweis:

Dieser Schnelltest stellt einen semiquantitativen Nachweis von Protein aus Bakterien, Pilzen oder Produktionsrückständen mittels chemischer Farbreaktion dar.

3.1.4 Geräte

Schablone

Um einheitlich große Flächen mit den verschiedenen Methoden beproben zu können, wurde eine Schablone aus V₂A-Stahl angefertigt, deren Innenfläche analog zu den verwendeten RODAC-Platten, 25 cm² betrug. Diese Schablone wurde vor jeder Probenahme in 96 prozentiges Ethanol getaucht und abgeflammt.

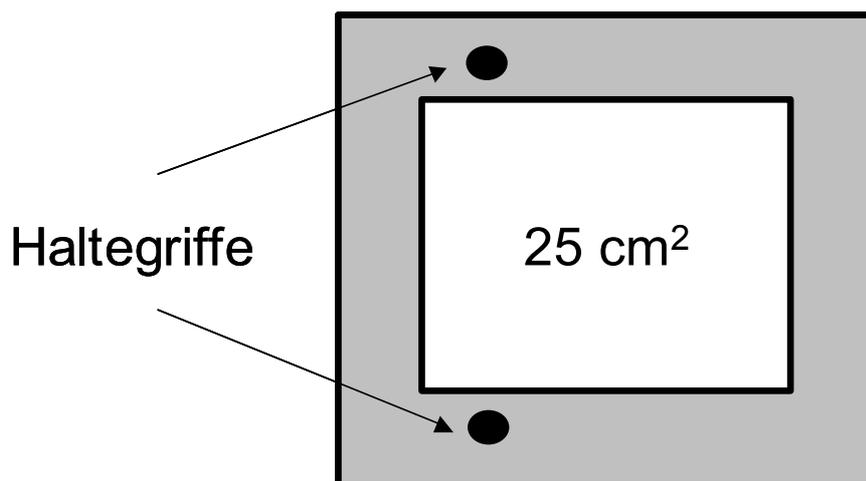


Abbildung 5: Schablone

Thermometer

Es wurde ein handelsübliches digitales Thermometer der Firma Rowenta zur Messung der Lufttemperatur verwendet.

Transportbehälter

Um die RODAC-Platten bei möglichst konstanter Temperatur vom Betrieb ins Labor zu transportieren, wurde eine kommerzielle Isolierbox aus Kunststoff benutzt.

3.2 METHODEN

3.2.1 Probenahme

Die Probenahme erfolgte jeweils nach der Reinigung und Desinfektion, das heißt vor Produktionsbeginn oder nach Produktionsende. Der durchschnittliche Abstand zwischen zwei Begehungen betrug 19 Tage (Minimum 7, Maximum 36 Tage). Das jeweils für die Hygieneüberwachung zuständige Personal wurde um eine eigene Einschätzung des Hygienestatus des jeweiligen Betriebs gebeten, außerdem wurde der objektive visuelle Gesamteindruck zum Begehungszeitpunkt erfaßt.

In den Produktionsstätten eins bis zehn wurden jeweils zehn RODAC-Abklatschproben und zehn NAD-Nachweis-Proben, in Betrieben fünf bis zehn zusätzlich zehn Protein-Test-Proben abgenommen.

3.2.2 Probenahmeorte

Die Untersuchung jedes Betriebes erfolgte zwei Mal. Pro Begehung wurden zehn hygienisch relevante Oberflächen beprobt. Der optische Hygienezustand der Oberflächen wurde zwischen 1 (sauber) und 4 (stark verunreinigt) protokolliert. Teilweise wurden bereits gereinigte, laut Schnelltests aber noch als unsauber angezeigte Oberflächen, mit dem jeweils betriebsüblichen Verfahren nachgereinigt und erneut beprobt.

In der folgenden Aufstellung sind alle Probenahmeorte gemäß ihres Oberflächenmaterials und ob sie in direktem oder indirektem Kontakt mit dem Lebensmittel kommen, aufgelistet.

3 Eigene Untersuchungen

Edelstahloberflächen (n = 120)

Direkter Kontakt (n = 85)

Fleischwolf
Mengmulde
Kessel
Arbeitsfläche
Metallbehälter
Schinkensäge
Kippbräter
Gastronormbehälter
Speckschneider
Kutsche
Blech
Messer
Robotwagen
Handlauf an Theke
Kochmulde
Auflaufform
Kutter
Fleischwanne
Aufschnittmaschine
Topf
Trommelschneider
Cryovac-Tisch
Waage
Pfanne
Schöpfkelle
Mixer
Platte für Wurst

Indirekter Kontakt (n = 35)

Regal im Kühlraum
Spülbecken
Abtropffläche für Geschirr
Kühltruhe Außenseite
Kühlschrank Innenseite
Herdumrandung
Friteuse außen
Herdplatte
Einsatz für Besteck
Mikrowelle innen
Dämpfer
Backofen innen
Backofen außen
Herdumrandung
Ablage unter Friteuse
Ablage unter Dämpfer

Kunststoffoberflächen (n = 57)

Direkter Kontakt (n = 37)

Schneidbrett
Multifunktionsmaschine
Plastikeimer
Tiromat
Ablaufband
Arbeitsfläche
Slicer-Band (schneidet dünne Scheiben)
Zebraschneider (schneidet dicke Scheiben)
Verpackungsmaschine
Eurokiste Boden
Slicer-Einlegeschacht
Vereinzeler
Plastikwanne

Indirekter Kontakt (n = 20)

Regal
Ablage
Geschirrschrank innen
Tablett
Vakuumiergerät
Tablett Ausgabetheke
Abdeckung des Mehlwagens

Teilweise zeigten die Kunststoffoberflächen starke Abnutzungserscheinungen, wie Kratzer, rauhe Oberflächen oder Verfärbungen.

Glas-, Porzellan- und Keramikoberflächen (n = 17)

Direkter Kontakt (n = 11)

Schüssel
Teller
Schale

Indirekter Kontakt (n = 6)

Mikrowellentüre innen
Wandfliese
Kühlhausfliese

Außerdem wurden ein Hackstock und ein Schneidbrett aus Holz, sowie Handflächen von Mitarbeitern (n = 4) beprobt.

3.2.3 Probenahmetechnik

Die Probenahme erfolgte auf trockenen, gereinigten Oberflächen.

RODAC-Platten

Als erstes wurde die RODAC-Abklatschtechnik laut DIN 10113-3 (DEUTSCHES INSTITUT FÜR NORMUNG 1997) durchgeführt. Dabei wurde die Agarfläche für ca. 10 Sekunden und mit möglichst konstantem Druck von 25 g/cm^2 , unter Vermeidung von Luftblasen auf die Testoberfläche gedrückt, um somit optimalen Kontakt zwischen Agaroberfläche und Testoberfläche zu erreichen. Anschließend wurde die Platte mit dem Deckel wieder verschlossen und mit fortlaufender Nummer beschriftet.

NAD-Test

Direkt neben der Abklatschtechnik kam der NAD-Nachweis zum Einsatz. Dazu wurde ein Teststreifen von der Folie befreit, mit der Probennummer beschriftet und ein Tropfen Reagenz A (Benetzungslösung) auf die Testzone aufgebracht. Anschließend erfolgte der Abstrich innerhalb der desinfizierten und auf die Testoberfläche gedrückten Schablone. Die Testzone des Streifens wurde auf die Oberfläche gedrückt und rückwärts gezogen. Um die beprobte Fläche mit der Abklatschtechnik vergleichen zu können wurden somit 25 cm^2 , anstatt der vom Hersteller vorgegebenen 30 cm^2 beprobt.

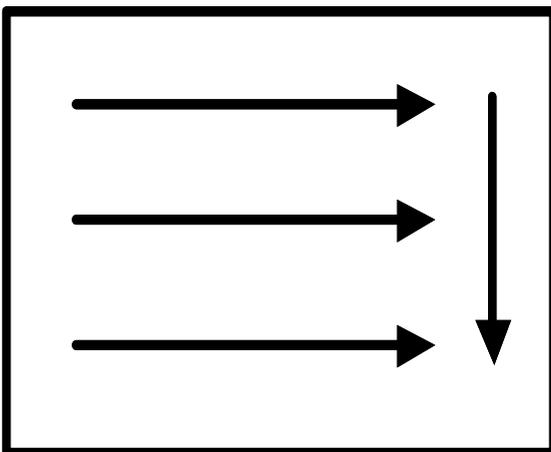


Abbildung 6: Ausstrichverfahren in Schablone

3 Eigene Untersuchungen

Im Anschluß erfolgte das Auftragen jeweils eines Tropfens Reagenz B und C auf die Testzone des Teststreifens. Der Teststreifen wurde nun wieder in die Folienverpackung geschoben und so für vier bis fünf Minuten lichtgeschützt aufbewahrt.

Die Auswertung erfolgte vor Ort:

Laut Herstellerangaben stellt der NAD-Nachweis einen rein qualitativen Schnelltest dar, der lediglich die Aussage sauber / nicht sauber erlaubt.

- Gelbliche Färbung der Testzone zeigt keine oder keine nachweisbaren Rückstände auf der beprobten Oberfläche an.
- Jegliche Verfärbung von rosa bis blauviolett bedeutet nachweisbare Mengen an Schmutzrückständen.

In dieser Arbeit wurde allerdings die Farbintensität der Kategorie „nicht sauber“ anhand einer Farbskala verglichen und in Bewertungsklassen eingeteilt.

Tabelle 10: Auswerteschema für den NAD-Nachweis (fm = femtomol)

Sauber	-	0–999 fm NAD	Keine Farbveränderung
Leichte Verunreinigung	+	1000-2400 fm NAD	Leichte Rosafärbung
Mittlere Verunreinigung	++	2500-9999 fm NAD	Mittelgradige Violettärbung
Starke Verunreinigung	+++	10000-50000 fm NAD	Dunkle Blauviolettärbung

Das Ergebnis wurde in ein Betriebsprotokoll eingetragen (siehe Anhang).

Eine Berührung der Prüffläche wurde während allen Schritten der Testdurchführung ausgeschlossen.

3 Eigene Untersuchungen

Protein-Test

Für den Protein-Schnelltest wurden nach Herstellerangaben (BIOTEST AG 2001) zehn Reagenzgläser vorbereitet. Die verwendeten Reagenzgläser wurden fortlaufend nummeriert und bis zur weiteren Benutzung in den Reagenzglasständer gestellt. Die sterile Schablone wurde neben die mittels RODAC-Platte abgeklatschte Fläche plaziert, die Testzone des Abstrichtupfers mit einem Tropfen des Anfeuchters benetzt und analog zum NAD-Test ausgestrichen. Anschließend brachte man die Abstrichtupfer in die vorbereiteten Reagenzgläser ein und schwenkte leicht, um das abgestrichene Material in Lösung zu bringen. Nach zehn Minuten Reaktionszeit bei 15 - 25 °C konnte die Färbung der Lösung festgestellt und mit dem Farbenprüfblatt des Herstellers verglichen und protokolliert werden.

Tabelle 11: Protein-Test Auswertung

Reinheit	Bewertungsklasse	Farbe der Lösung	Proteingewicht in µg
Sauber	1	Limonengrün	0
Etwas Rückstand	2	Blaugrau	100
Mittelgradig viel Rückstand	3	Hellviolett	300
Viel Rückstand	4	Dunkelviolett	1000

Etwaige Färbung an den Köpfen der Teststäbchen wurde nicht in die Beurteilung miteinbezogen.

3.2.4 Weitere Vorgehensweise bei den Abklatschplatten

Der Transport der RODAC-Platten zum Institutslabor erfolgte jeweils im Anschluß an eine Küchenbegehung in der im Kapitel 3.1.4 beschriebenen Isolierbox mittels Pkw oder zu Fuß. Die Transportdauer betrug zwischen zehn Minuten und zwei Stunden.

3 Eigene Untersuchungen

Die Bebrütung der Kontaktmedien erfolgte bei 30 °C über 48 ± 5 Stunden.

Die Platten wurden manuell ausgezählt und in das Betriebsprotokoll eingetragen (siehe Anhang). Zur besseren Vergleichbarkeit der verschiedenen Methoden wurden die Auszählungsergebnisse in Kategorien nach DIN 10113-3 (DEUTSCHES INSTITUT FÜR NORMUNG 1997) eingeteilt:

Tabelle 12: Bewertungsklassen nach DIN 10113-3

KbE/ Platte (25 cm ²)	Keimzahlgruppe
0	0
1 - 3	1
4 - 10	2
11 - 30	3
31 - 60	4
> 60 Kolonien, aber nicht konfluierend	5
Rasenwachstum, konfluierend, bzw. > 400 Kolonien	6

3.2.5 Datenaufbereitung

Zur Charakterisierung der drei Methoden wurden ihre praktische Anwendbarkeit, Genauigkeit und ihre Nachweisgrenzen bei der Ermittlung der Oberflächenreinheit von Bedarfs- und Einrichtungsgegenständen ermittelt und verglichen.

Mittels der Abklatschtechnik kann nur mikrobielles Wachstum, jedoch keine Produktionsrückstände nachgewiesen werden.

Der NAD-Nachweis erfasst NAD und seine Abkömmlinge, welche in Keimen und in Lebensmittelrückständen vorhanden sind.

Nach einer anfänglichen Gegenüberstellung dieser zwei Verfahren wurde ab Betrieb Nummer 5 zusätzlich ein Protein-Nachweis durchgeführt, welcher ausschließlich Produktionsrückstände erfasst. Damit sollte differenziert werden, ob das NAD-Nachweis Ergebnis auf nachgewiesenem NAD aus Keimen oder Produktionsrückständen beruht.

4 ERGEBNISSE

4.1 UMGEBUNGSUNTERSUCHUNG UND AUSWERTUNG DER URLISTEN

Insgesamt wurden 200 RODAC-Abklatschplatten, 200 NAD-Nachweis-Teststreifen und 120 Protein-Teststäbchen bei jeweils zwei Begehungen in zehn Betrieben eingesetzt. Alle Probenahmeorte wurden vor der Beprobung visuell auf deren Sauberkeit beurteilt.

Daraus wurden 720 Einzelergebnisse erhalten, diese sind im Anhang zusammengestellt.

4.1.1 Visuelle Kontrolle

Alle Probenahmestellen wurden vor dem Einsatz der verschiedenen Methoden visuell auf deren Reinigungszustand beurteilt und als sauber oder nicht sauber protokolliert. Ebenso wurde vermerkt, ob bei der beprobten Fläche direkter oder indirekter Kontakt zum Lebensmittel besteht.

Bei der optischen Kontrolle der Oberflächen vor der Probenahme wurde davon ausgegangen, daß eine effektive Reinigung und Desinfektion nur an optisch sauberen Flächen stattgefunden hatte. Deshalb erfolgte die Probenahme überwiegend an visuell als sauber beurteilten Oberflächen. Vereinzelt wurden aber auch offensichtlich verschmutzte Flächen mit Rückständen von Flüssigkeiten, Schlieren, Verfärbungen, Kratzern und Ablagerungen ausgewählt. Der optische Reinheitsgrad der Flächen wurde mit den Zahlen 1 (sauber) bis 4 (stark verschmutzt) beurteilt.

4.1.2 RODAC-Platten

Die Ergebnisse der Umgebungsuntersuchung mittels Abklatschmethode reichten von nicht bewachsenen Nährböden bis hin zu Rasenwachstum der Bakterien. Somit reicht die Einteilung in Keimzahlgruppen nach DIN 10113-3 von 0 bis 6.

4.1.3 NAD-Nachweis

Zwischen – (sauber) und +++ (starke Verunreinigung) lagen die Ergebnisse dieses Schnelltests.

Die Nachweisgrenze für NAD gibt der Hersteller mit 2500-5000 femtomol/Teststreifen, beziehungsweise mit $6,0 \times 10^5$ für *E. coli*/Teststreifen an.

4.1.4 Protein-Nachweis

Die bei diesem Schnelltest ermittelten Ergebnisse variierten zwischen 1 (kein Protein nachweisbar) und 4 (laut Hersteller > 1000 µg Protein nachweisbar).

4.2 TEMPERATURMESSUNG

Bei jeweils zwei Begehungen in zehn Betrieben betrug die Raumtemperatur durchschnittlich 21,8 °C (Minimum 16 °C, Maximum 28 °C).

4.3 AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

Auf der folgenden Seite sind die Legende für Abbildung 7 bis Abbildung 32 dargestellt. Nach diesem Auswerteschema wurden die Ergebnisse klassifiziert.

Tabelle 13: Legende für Abbildung 7 bis Abbildung 32

Auswerteschema für NAD-Nachweis:

- Sauber
- + Leichte Verunreinigung
- ++ Mittelgradige Verunreinigung
- +++ Starke Verunreinigung

Auswerteschema für Protein-Test:

- 1 Keine Proteinrückstände
- 2 Etwas Proteinrückstände
- 3 Mittelgradig viel Proteinrückstände
- 4 Viel Proteinrückstände

Auswerteschema für RODAC nach DIN 10113-03 (KZG = Keimzahlgruppe)

- | KZG | KbE |
|-----|--|
| 0 | 0 |
| 1 | 1-3 |
| 2 | 4-10 |
| 3 | 11-30 |
| 4 | 31-60 |
| 5 | > 61 Kolonien, aber nicht konfluierend |
| 6 | Rasenwachstum, konfluierend, bzw. > 400 Kolonien |

Auswerteschema für die visuelle Hygienekontrolle:

- 1 Sauber
- 2 Feuchte Oberflächen, leichte Verunreinigung
- 3 Mittlere Verunreinigung
- 4 Starke Verunreinigung

4.3.1 Vergleichende Darstellung der Ergebnisse der jeweiligen Betriebe

In den folgenden Darstellungen wurden die Ergebnisse differenziert nach direktem oder indirektem Kontakt zum Lebensmittel ausgewertet. Die Resultate jeweils einer Methode in zwei Begehungen eines Betriebes wurden in einem Säulendiagramm veranschaulicht.

Die Angaben zu den Betriebsbegehungen und die dabei ermittelten Daten und Merkmale der Produktionsstätten sind im Anhang zusammengefaßt.

Betrieb Nr. 1

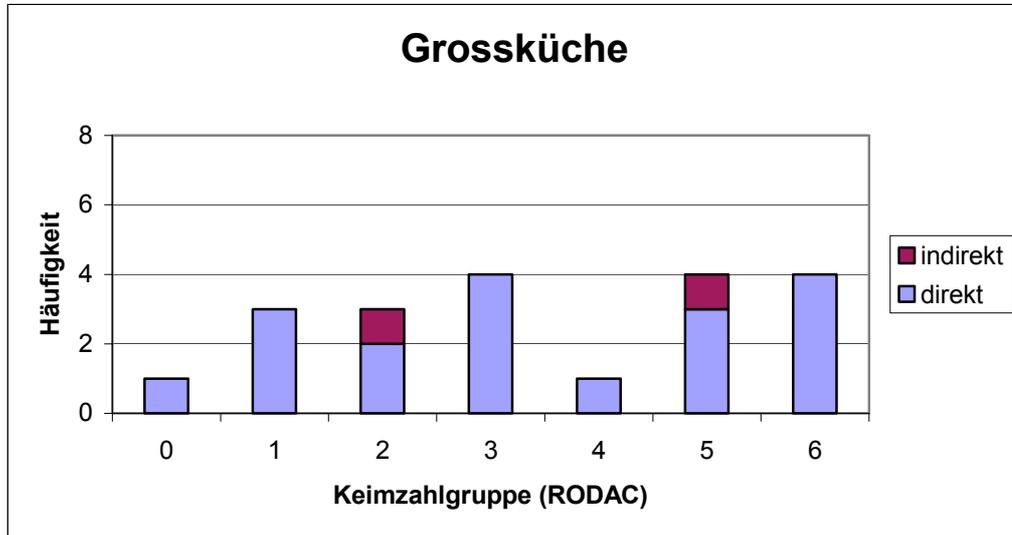


Abbildung 7: Häufigkeit des Auftretens der einzelnen Keimzahlgruppen nach DIN 10113-3

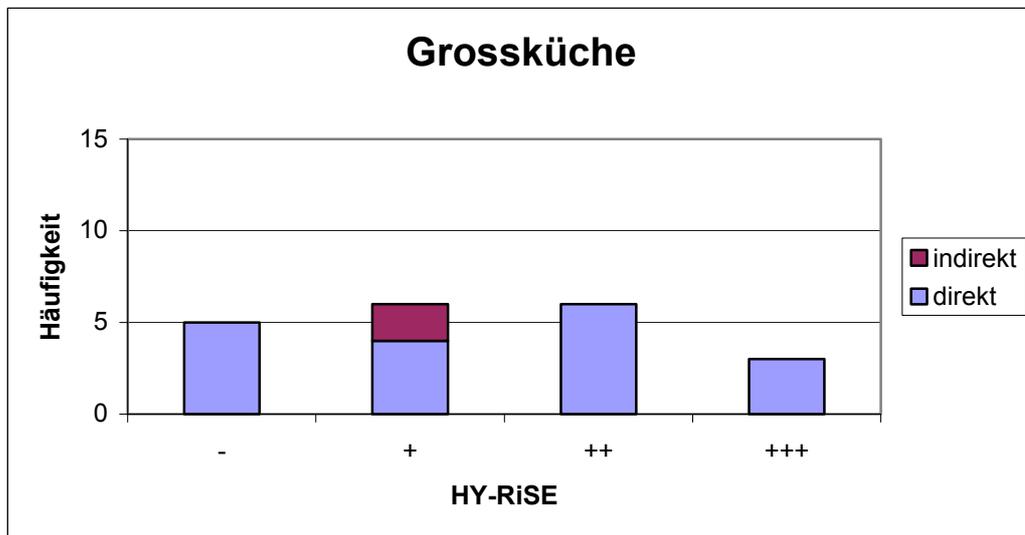


Abbildung 8: Häufigkeit des Auftretens der jeweiligen NAD-Test Resultate

Legende: siehe Seite 51

Betrieb Nr. 2

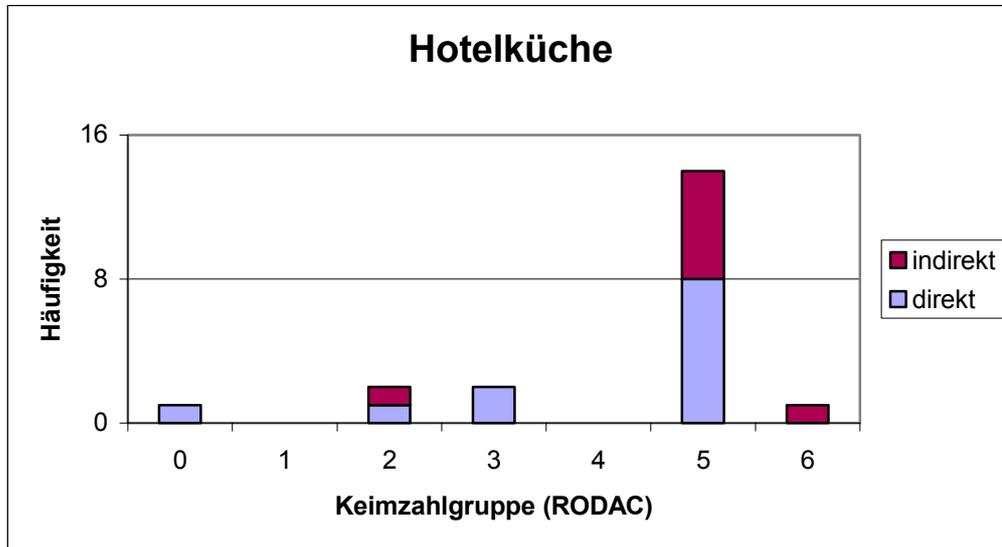


Abbildung 9: Häufigkeit des Auftretens der einzelnen Keimzahlgruppen nach DIN 10113-3

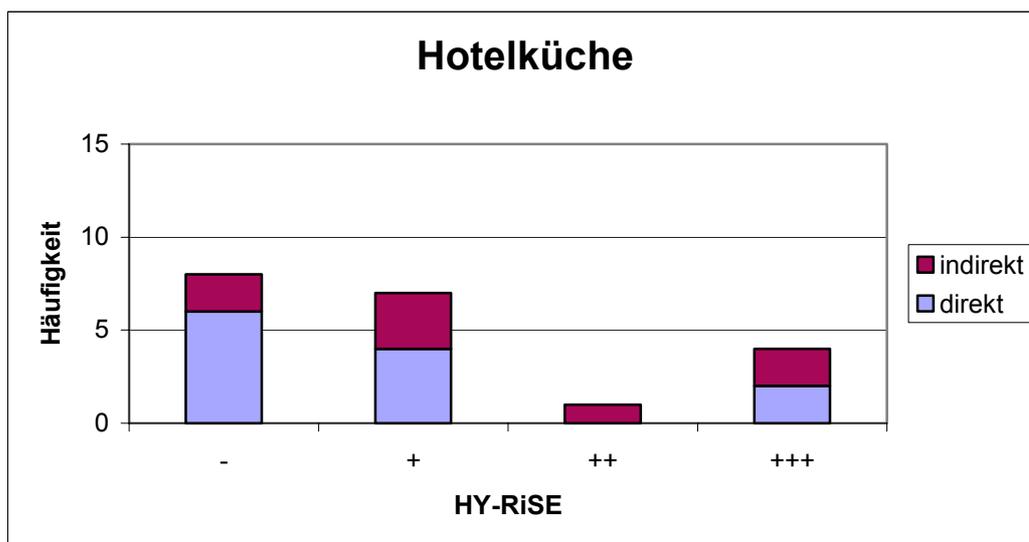


Abbildung 10: Häufigkeit des Auftretens der jeweiligen NAD-Test Resultate

Legende: siehe Seite 51

Betrieb Nr. 3

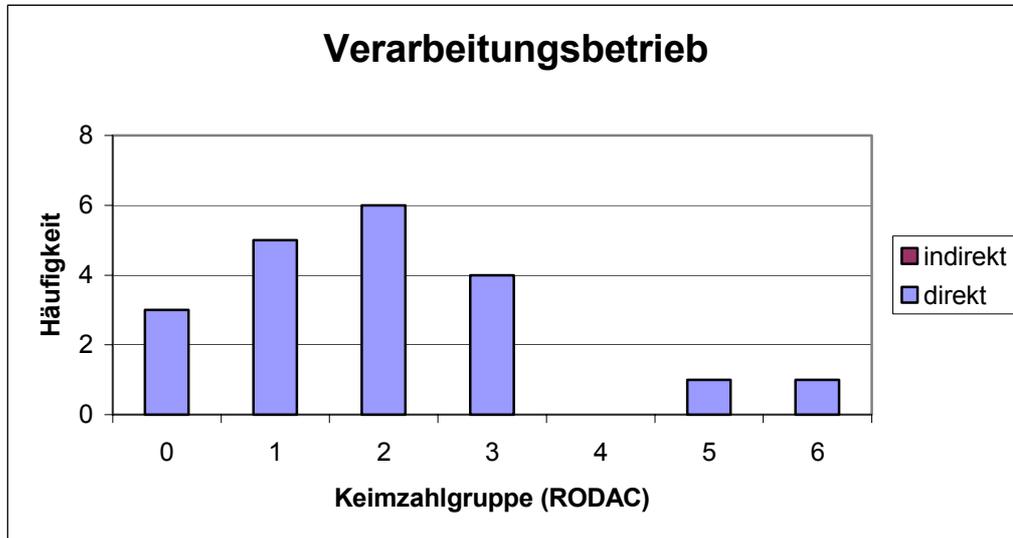


Abbildung 11: Häufigkeit des Auftretens der einzelnen Keimzahlgruppen nach DIN 10113-3

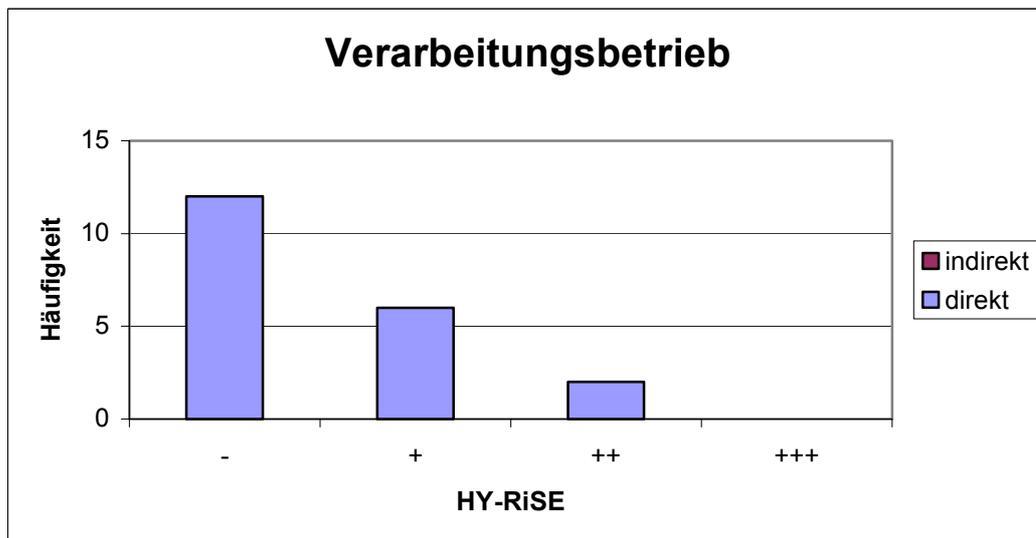


Abbildung 12: Häufigkeit des Auftretens der jeweiligen NAD-Test Resultate

Legende: siehe Seite 51

Betrieb Nr. 4

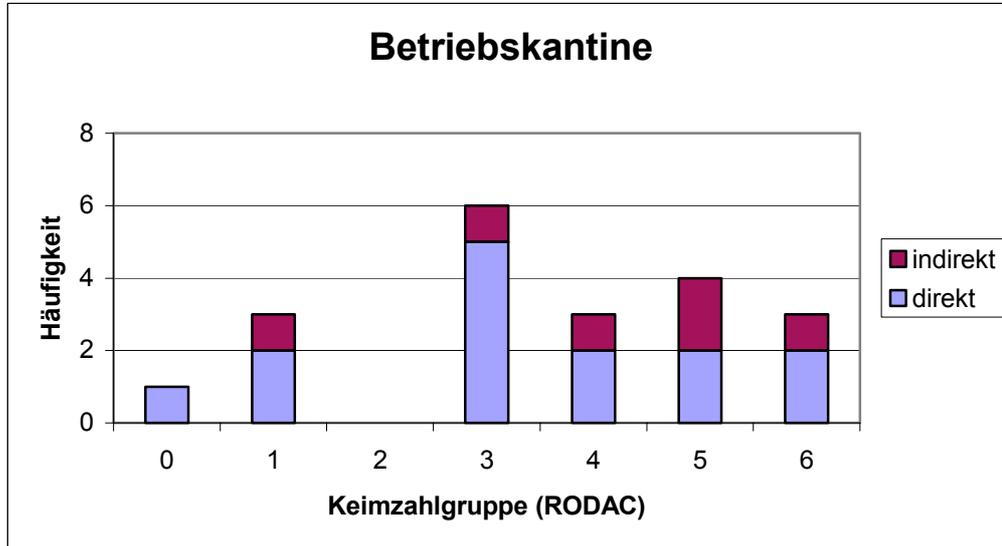


Abbildung 13: Häufigkeit des Auftretens der einzelnen Keimzahlgruppen nach DIN 10113-3

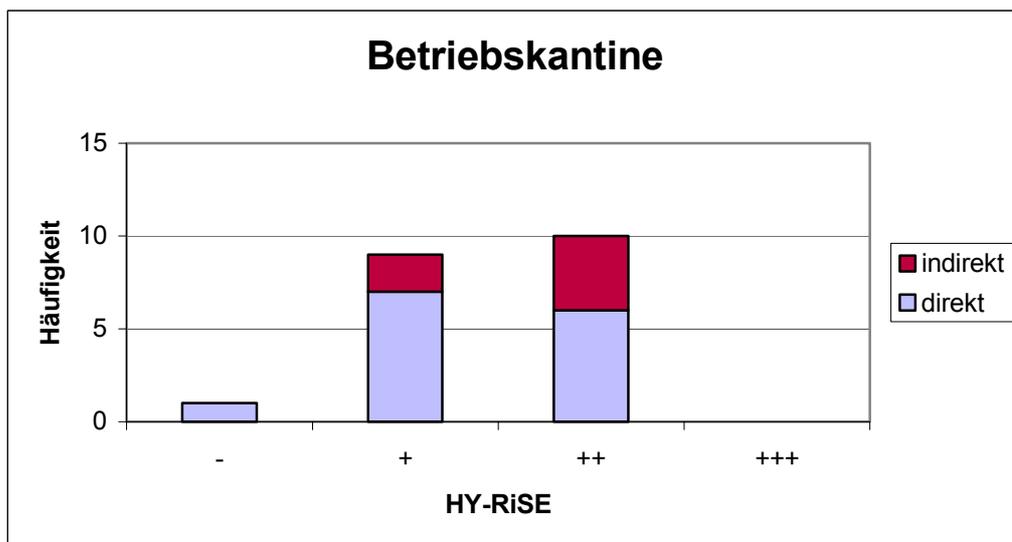


Abbildung 14: Häufigkeit des Auftretens der jeweiligen NAD-Test Resultate

Legende: siehe Seite 51

Betrieb Nr. 5

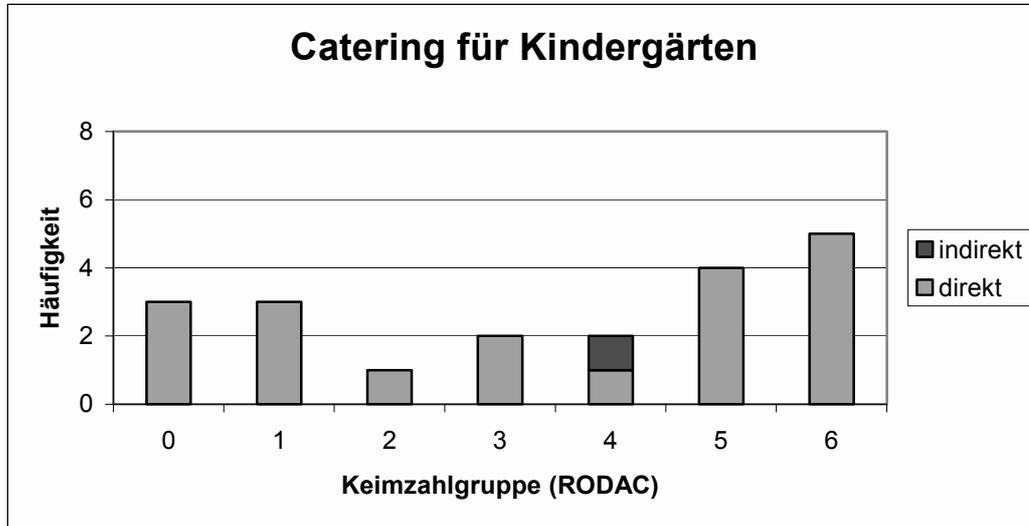


Abbildung 15: Häufigkeit des Auftretens der einzelnen Keimzahlgruppen nach DIN 10113-3

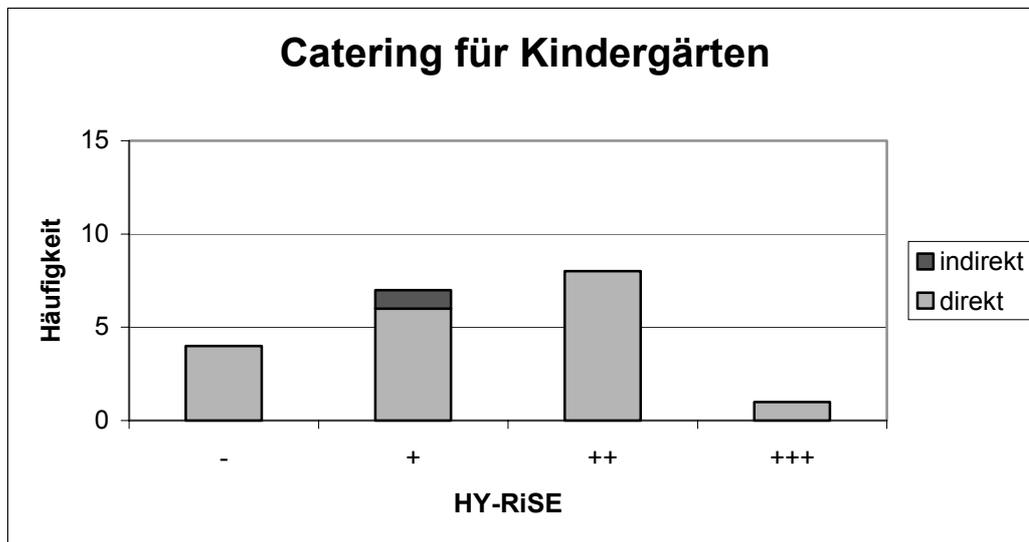


Abbildung 16: Häufigkeit des Auftretens der jeweiligen NAD-Test Resultate

Legende: siehe Seite 51

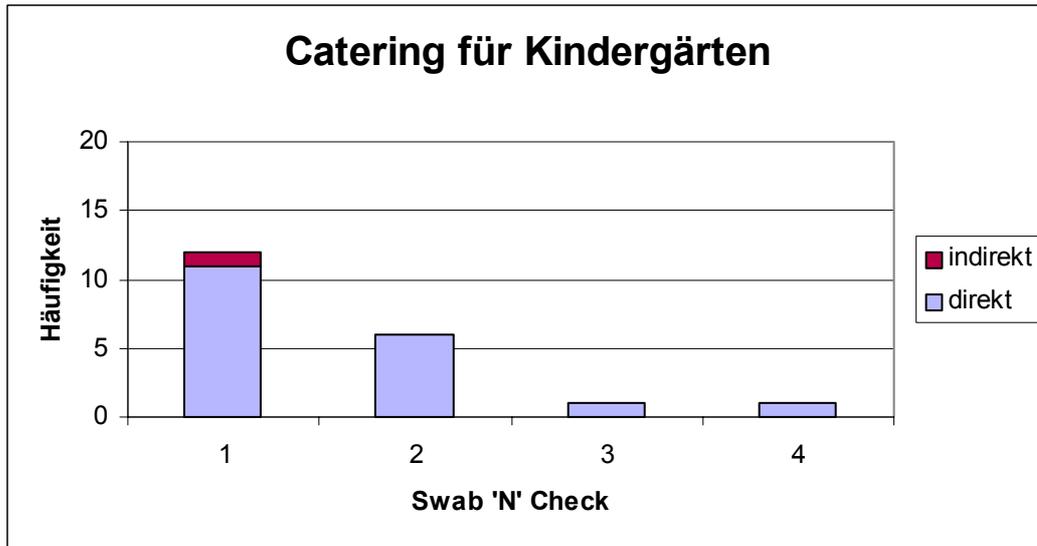


Abbildung 17: Häufigkeit des Auftretens der jeweiligen Protein-Test Resultate

Betrieb Nr. 6

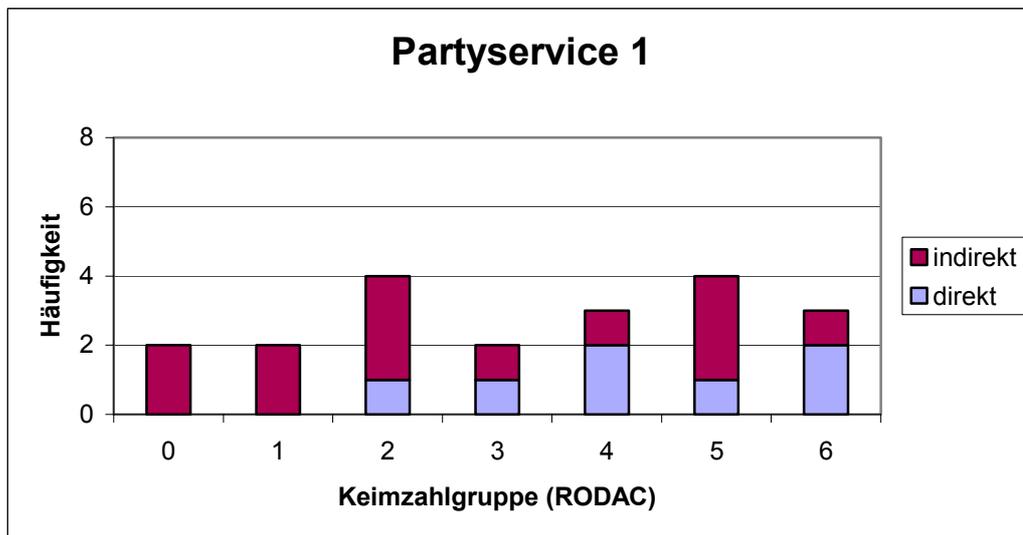


Abbildung 18: Häufigkeit des Auftretens der einzelnen Keimzahlgruppen nach DIN 10113-3

Legende: siehe Seite 51

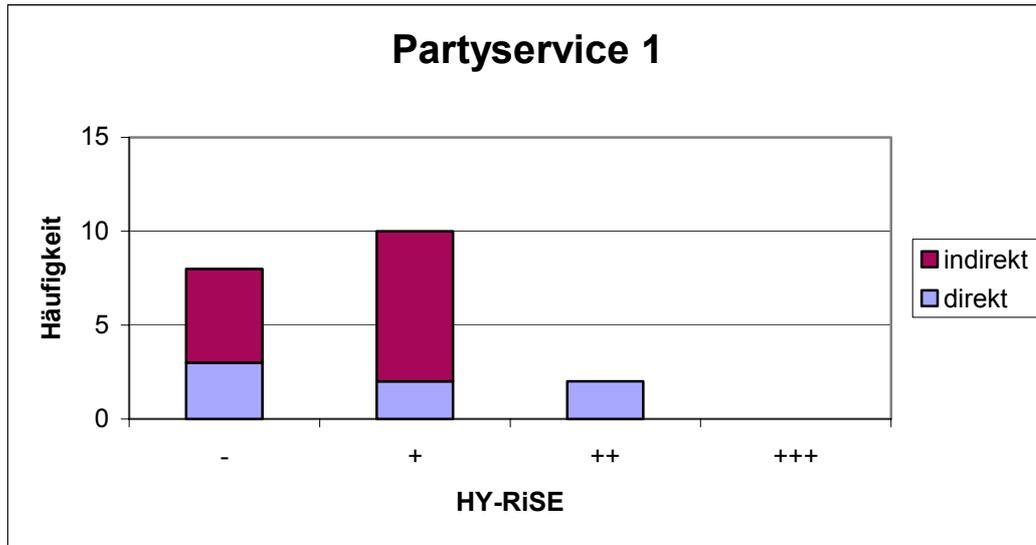


Abbildung 19: Häufigkeit des Auftretens der jeweiligen NAD-Test Resultate

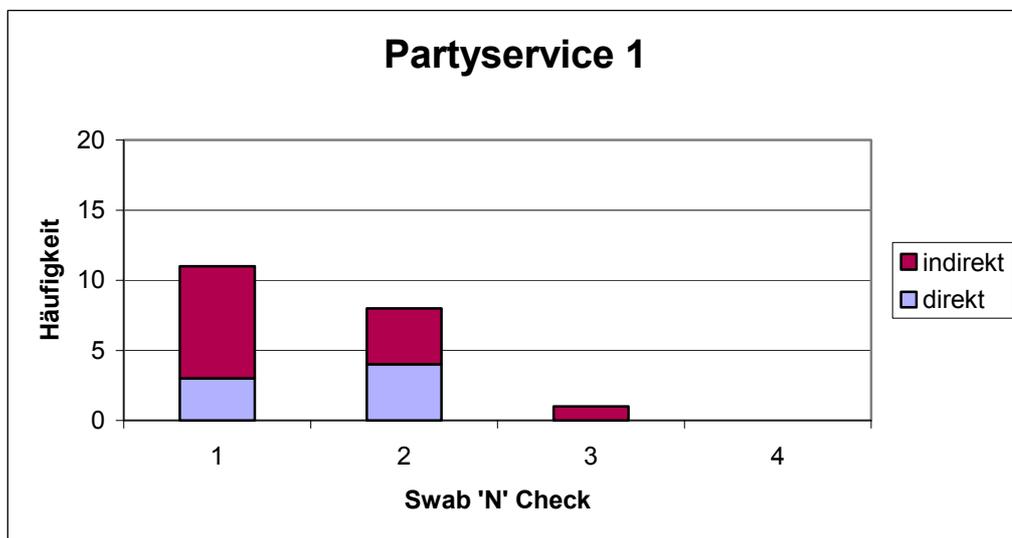


Abbildung 20: Häufigkeit des Auftretens der jeweiligen Protein-Test Resultate

Legende: siehe Seite 51

Betrieb Nr. 7

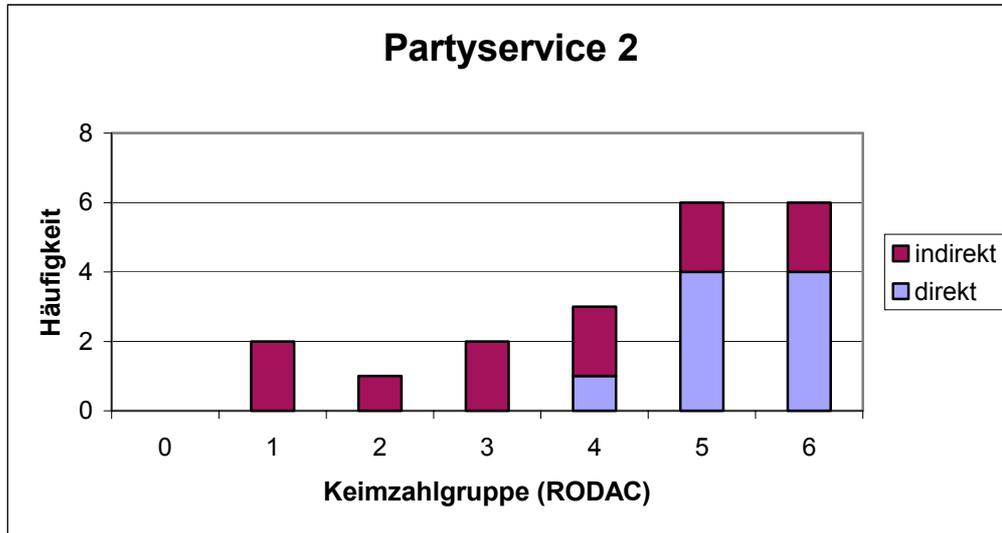


Abbildung 21: Häufigkeit des Auftretens der einzelnen Keimzahlgruppen nach DIN 10113-3

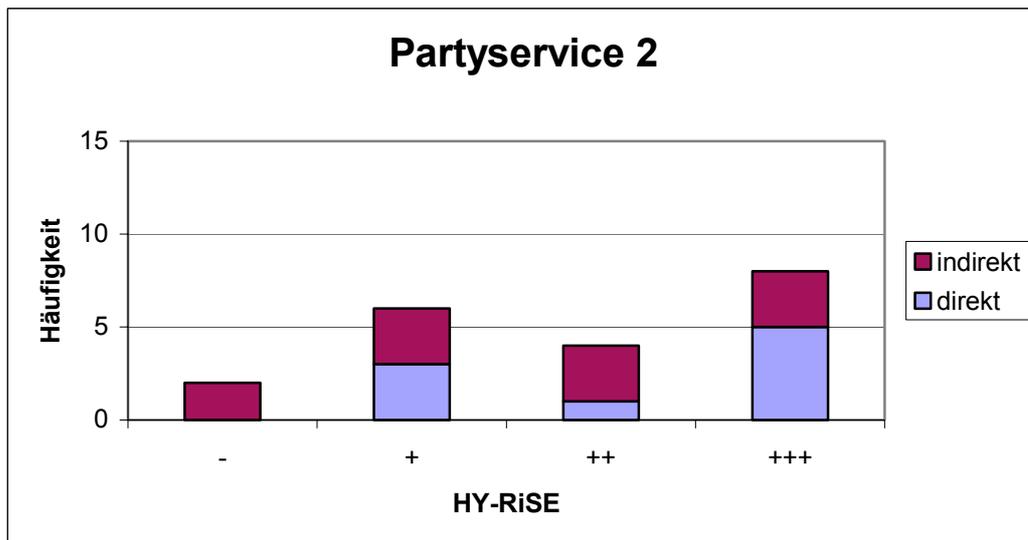


Abbildung 22: Häufigkeit des Auftretens der jeweiligen NAD-Test Resultate

Legende: siehe Seite 51

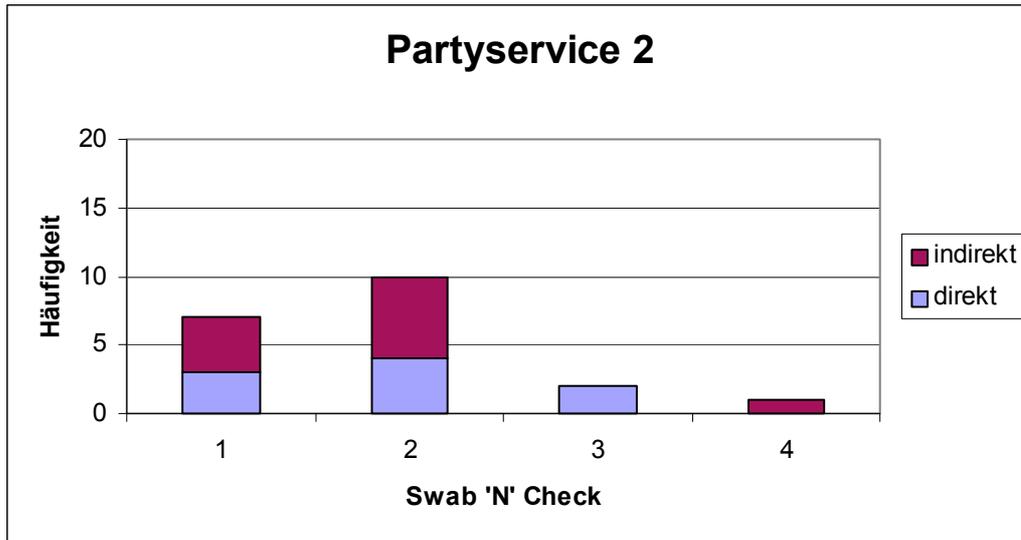


Abbildung 23: Häufigkeit des Auftretens der jeweiligen Protein-Test Resultate

Betrieb Nr. 8

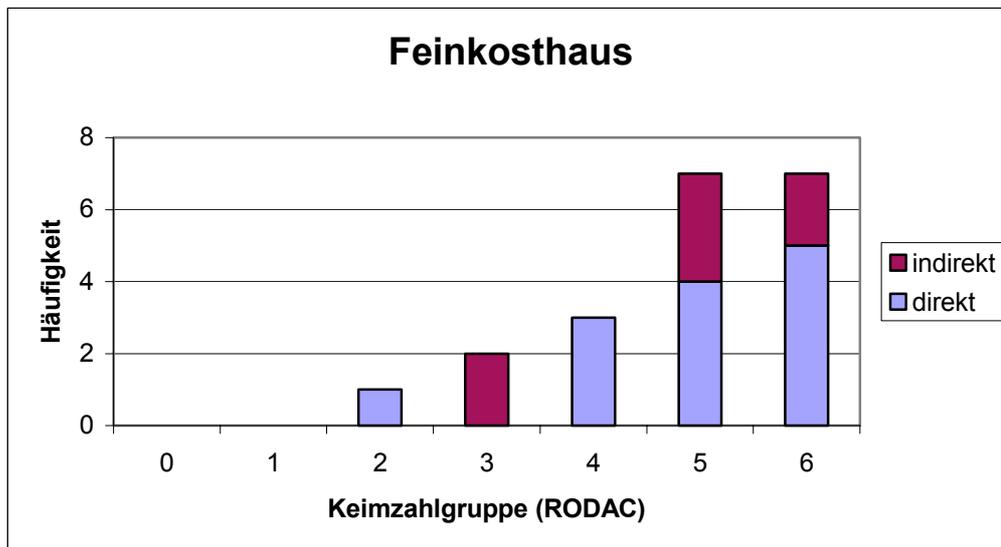


Abbildung 24: Häufigkeit des Auftretens der einzelnen Keimzahlgruppen nach DIN 10113-3

Legende: siehe Seite 51

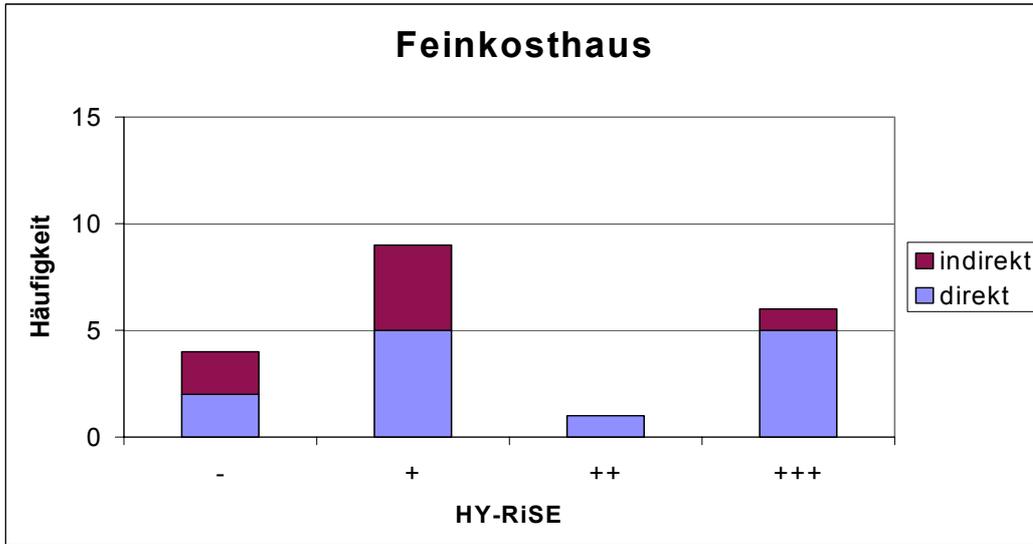


Abbildung 25: Häufigkeit des Auftretens der jeweiligen NAD-Test Resultate

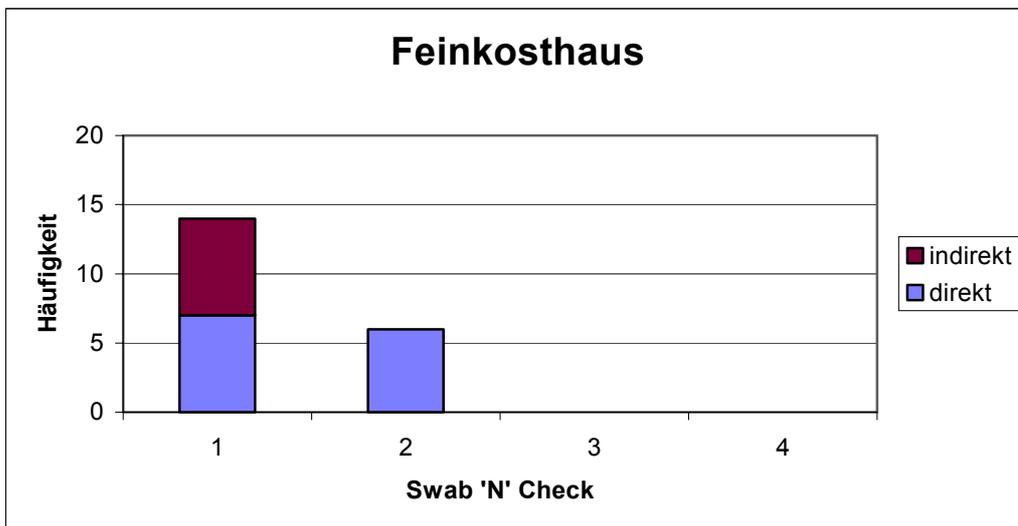


Abbildung 26: Häufigkeit des Auftretens der jeweiligen Protein-Test Resultate

Legende: siehe Seite 51

Betrieb Nr. 9

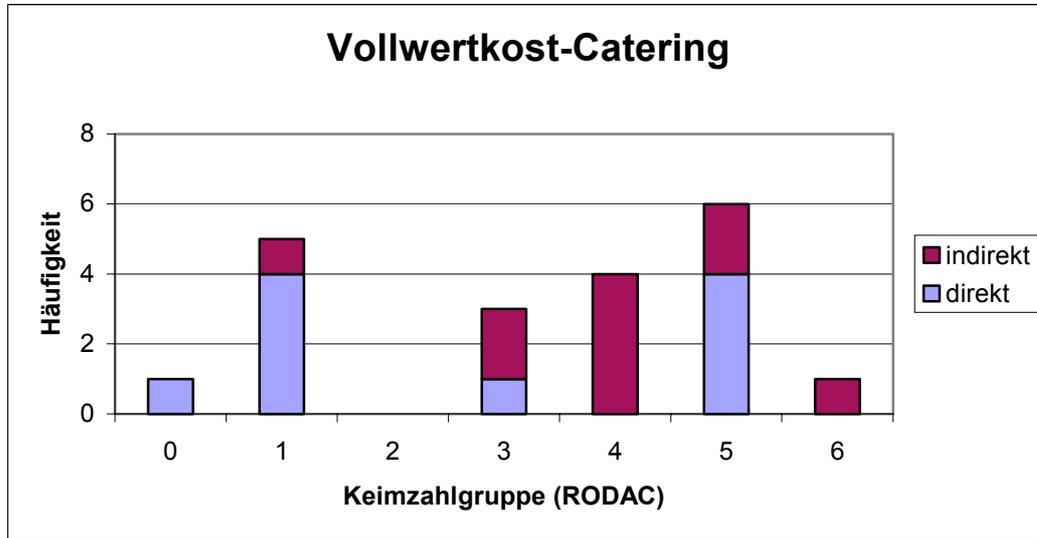


Abbildung 27: Häufigkeit des Auftretens der einzelnen Keimzahlgruppen nach DIN 10113-3

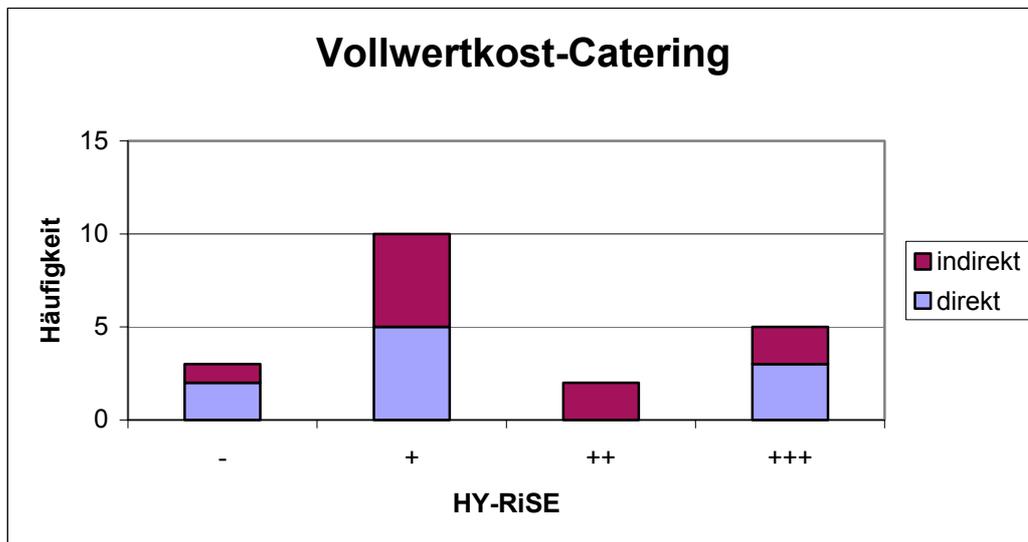


Abbildung 28: Häufigkeit des Auftretens der jeweiligen NAD-Test Resultate

Legende: siehe Seite 51

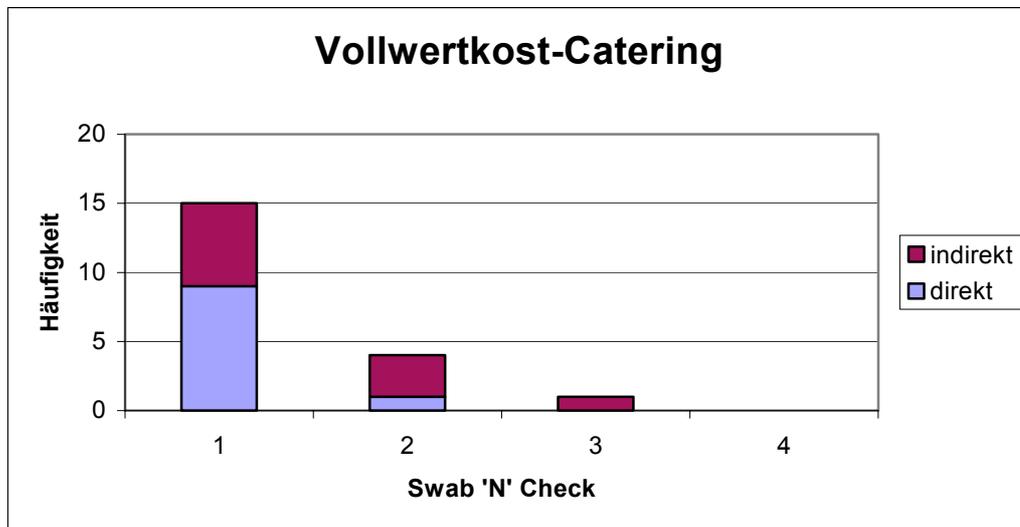


Abbildung 29: Häufigkeit des Auftretens der jeweiligen Protein-Test Resultate

Betrieb Nr. 10

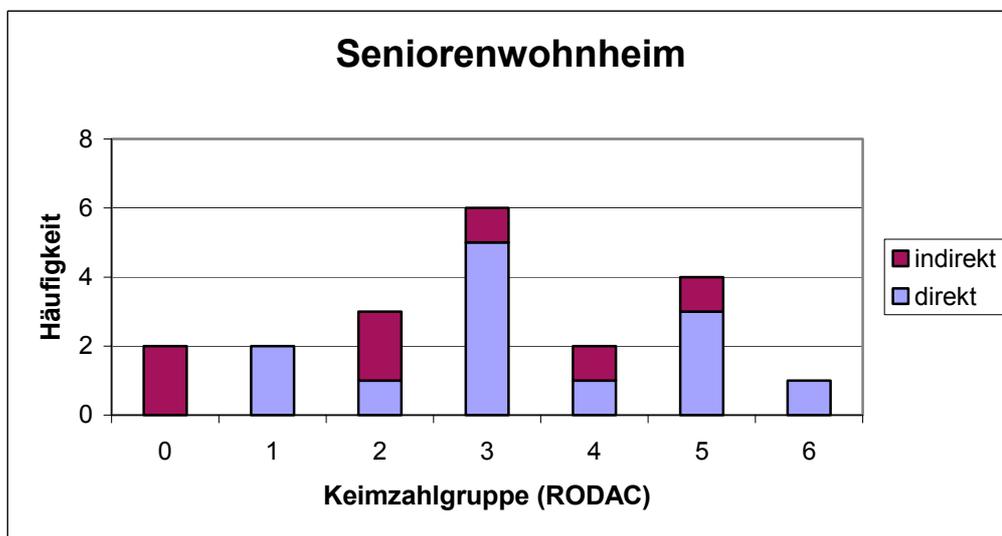


Abbildung 30: Häufigkeit des Auftretens der einzelnen Keimzahlgruppen nach DIN 10113-3

Legende: siehe Seite 51

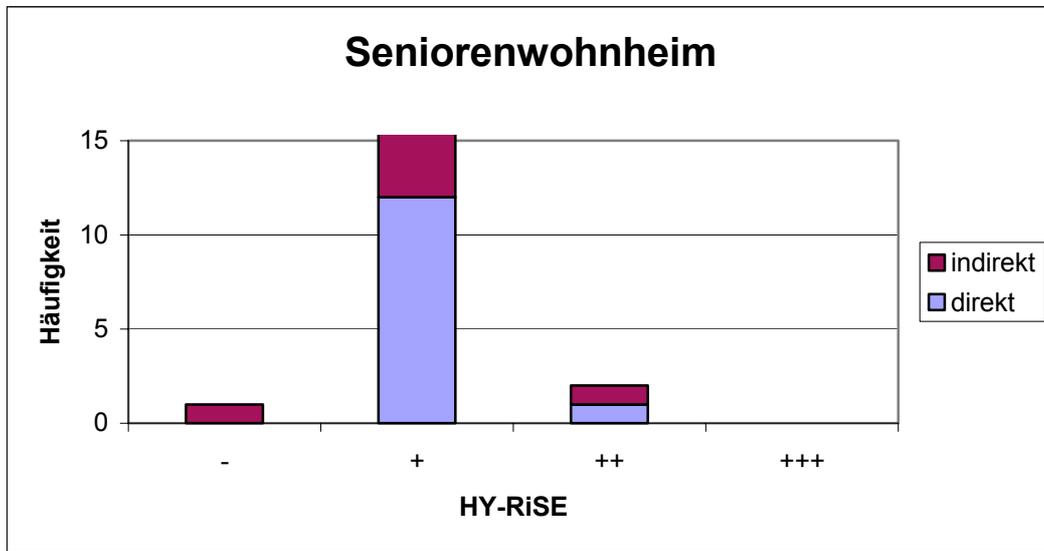


Abbildung 31: Häufigkeit des Auftretens der jeweiligen NAD-Test Resultate

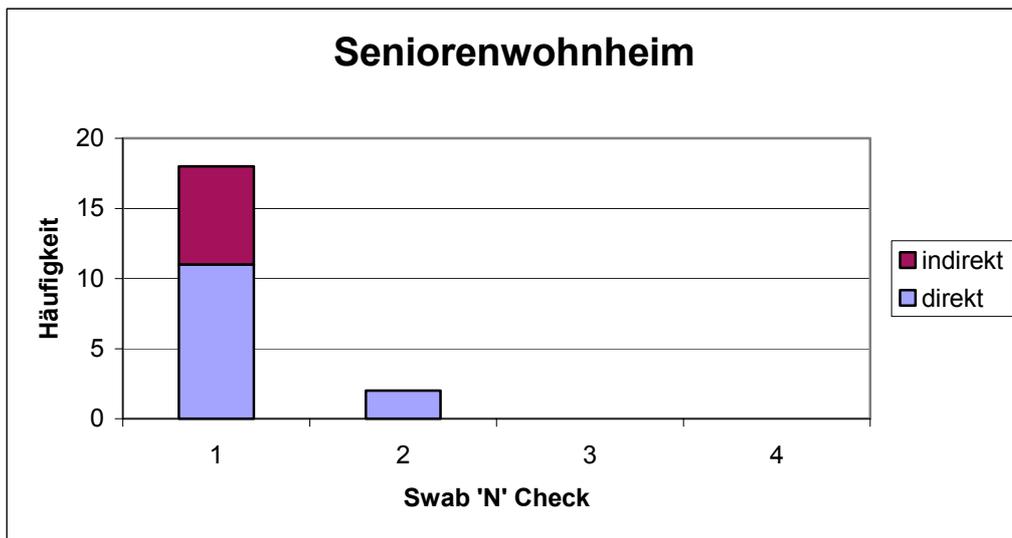


Abbildung 32: Häufigkeit des Auftretens der jeweiligen Protein-Test Resultate

Legende: siehe Seite 51

4.3.2 Vergleichende Darstellung der beprobten Oberflächenmaterialien

Um die Kontamination verschiedener Oberflächenmaterialien miteinander vergleichen zu können, wurde die relative Häufigkeit der Ergebnisse auf der jeweils beprobten Oberfläche ermittelt und in den Tabelle 15 bis Tabelle 17 dargestellt.

Die Proben wurden von folgenden Oberflächen genommen:

Tabelle 14: Anzahl der beprobten Oberflächenmaterialien und deren Kontakt zum Lebensmittel

Material	Direkter Kontakt	Indirekter Kontakt	Anzahl gesamt
Edelstahl	85	35	120
Kunststoff	37	20	57
Keramik	7	6	13
Holz	2	0	2
Handflächen	4	0	4
Glas	0	4	4
Insgesamt	135	65	200

4 Ergebnisse

Tabelle 15: RODAC

Prozentuale Häufigkeit der ermittelten Keimzahlgruppen auf verschiedenen beprobten Oberflächenmaterialien (Legende: siehe Seite 51)

	Oberfläche						
Keimzahlgruppe	Edelstahl	Glas	Haut	Holz	Keramik	Kunststoff	Summe
0	6,7	25,0	0,0	0,0	23,1	3,5	7,0
1	15,8	0,0	0,0	0,0	15,4	7,0	12,5
2	10,0	0,0	0,0	0,0	15,4	12,3	10,5
3	15,8	25,0	25,0	0,0	7,7	19,3	16,5
4	11,7	25,0	0,0	0,0	7,7	8,8	10,5
5	25,0	25,0	75,0	100,0	7,7	29,8	27,0
6	15,0	0,0	0,0	0,0	23,1	19,3	16,0
Summe	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

Tabelle 16: NAD-Test

Prozentuale Häufigkeit der ermittelten Sauberkeitsgrade auf verschiedenen beprobten Oberflächenmaterialien (Legende: siehe Seite 51)

	Oberfläche						
NAD-Test Ergebnis	Edelstahl	Glas	Haut	Holz	Keramik	Kunststoff	Summe
-	26,7	50,0	0,0	0,0	15,4	21,1	24,4
+	40,0	25,0	50,0	50,0	69,2	45,6	43,5
++	21,7	0,0	0,0	0,0	0,0	21,1	19,0
+++	11,7	25,0	50,0	50,0	15,4	12,3	13,5
Summe	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

4 Ergebnisse

Tabelle 17: Protein-Test

Prozentuale Häufigkeit der ermittelten Proteinmenge auf verschiedenen beprobten Oberflächenmaterialien (Legende: siehe Seite 51)

	Oberfläche					
Protein-Test Ergebnis	Edelstahl	Glas	Holz	Keramik	Kunststoff	Summe
1	64,3	50,0	0,0	77,8	65,7	64,2
2	30,0	50,0	100,0	22,2	25,7	30,0
3	4,3	0,0	0,0	0,0	5,7	4,2
4	1,4	0,0	0,0	0,0	2,9	1,7
Summe	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

Bei Edelstahloberflächen war mittels Abklatschtechnik die Keimzahlgruppe 5 am häufigsten, der NAD-Nachweis wies mit 40 % am öftesten ein einfach positives und der Protein-Test mit 64,3 % in der Mehrzahl der Fälle eine proteinfreie Oberfläche nach.

Jeweils die Hälfte der Glasoberflächen fielen bei dem Protein-Nachweis in Gruppe 1 und 2, der NAD-Nachweis zeigte bei 50 % ein negatives Ergebnis, wohingegen bei RODAC je ein Viertel der Ergebnisse auf die Keimzahlgruppen 0, 3, 4 und 5 fielen.

Die Beprobung von Handflächen zeigte in 75 % Keimzahlgruppe 5 an, NAD wurde zur Hälfte einfach, beziehungsweise dreifach positiv ermittelt.

Alle Ergebnisse von Holzoberflächen fielen beim Protein-Test in Kategorie 2, bei RODAC in Keimzahlgruppe 5 und der NAD Nachweis lieferte zur Hälfte einfach, beziehungsweise zweifach positive Ergebnisse.

Zu den letzten drei Oberflächen muß erwähnt werden, daß sie nicht in repräsentativer Stückzahl beprobt werden konnten. Wie aus Tabelle 14 hervorgeht, wurde Holz nur zweimal, Glas und Handflächen nur viermal beprobt.

Keramikoberflächen waren insgesamt als gut gereinigt einzuordnen, was sicherlich mit deren maschineller Reinigung und glatter Oberfläche beruht. Der Protein-Test erreichte fast 78 % negative Ergebnisse, der Abklatsch erbrachte bei 23,1 % der

Proben die Keimzahlgruppe 0 und 6, bei NAD-Nachweis waren 59,2 % einfach positiv.

Der Reinigungserfolg bei Kunststoffen war sehr heterogen, 45,6 % zeigten ein einfach positives Ergebnis beim NAD Schnellnachweis, 29,8 % Keimzahlgruppe 5 und in 65,7 % der Proben konnte kein Protein nachgewiesen werden.

Insgesamt war Protein-Test am häufigsten negativ, Keimzahlgruppe 5 wurde am öftesten ausgezählt und der NAD-Nachweis erreichte in den meisten Fällen ein einfach positives Ergebnis.

4.3.3 Vergleich der visuellen Beurteilung und der Schnelltests mit der RODAC - Abklatschtechnik

Aufgrund der Tatsache, daß die Abklatschtechnik in einer DIN-Norm verankert ist, wurden die beiden Schnelltests mit dieser Methode verglichen. Dabei wurde die Anzahl der tatsächlich gewachsenen und ausgezählten Kolonien auf den Nährböden verwendet und nicht die Keimzahlgruppen.

Bei der prozentualen Ermittlung des Kontaminationsgrades wurden bei 7 % der RODAC-Platten Keimzahlgruppe 0, bei 24,4 % der NAD-Tests und bei 64,2 % der Protein-Test-Auswertungen negative Ergebnisse ermittelt. Geht man davon aus, daß die Sensitivität der Schnelltests nicht so hoch ist und beurteilt die Keimzahlgruppen 0 und 1 als „gut gereinigt“, so beträgt hier der Prozentsatz bei RODAC 19,5 % saubere Flächen.

Der NAD-Nachweis lieferte von 200 Ergebnissen 48 mal keine Übereinstimmung mit dem Abklatsch. Davon waren 7 Ergebnisse falsch positiv und 41 falsch negativ. Betrachtet man diese 41 Ergebnisse genauer und legt nicht nur die Keimzahlgruppe 0, sondern auch die Keimzahlgruppe 1 als „gut gereinigt“ zugrunde, so erhält man 17 mal ein negatives NAD-Test Resultat in Korrelation mit Keimzahlgruppe 1. Insgesamt wäre dann in 171 von 200 Proben eine Übereinstimmung zwischen dem Schnelltest und der Abklatschtechnik erzielt worden.

Betrachtet man den Protein-Test, so ergaben 71 von 120 Proben keine Übereinstimmung mit der Abklatschtechnik. Ein falsch positives Ergebnis stand 70

4 Ergebnisse

falsch negativen Resultaten gegenüber. Faßt man wieder die Keimzahlgruppen 0 und 1 als „sauber“ zusammen, so erhält man 13 mal eine Übereinstimmung mit RODAC und 57 falsch negative Ergebnisse. Also würden 62 von 120 Proben das selbe Ergebnis wie das Abklatschverfahren erzielen.

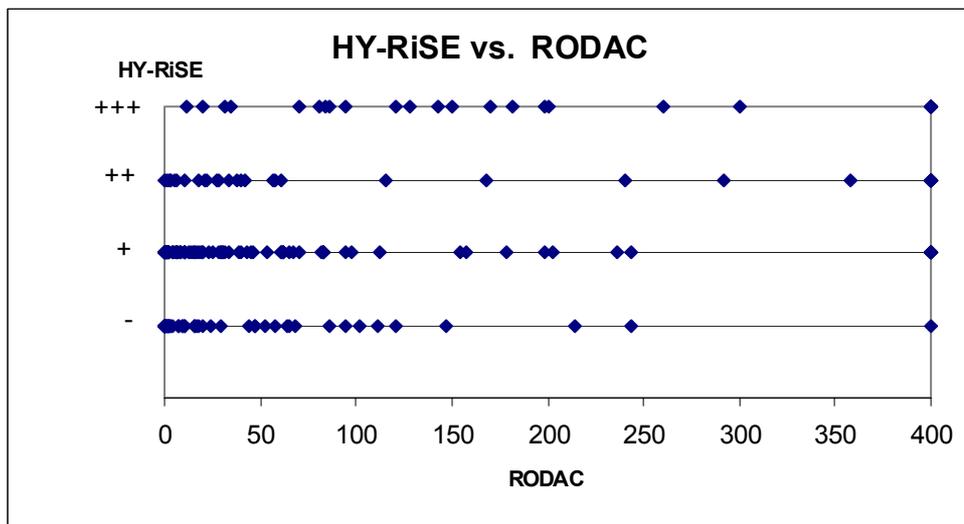


Abbildung 33: NAD-Nachweis Ergebnisse verglichen mit RODAC (KbE/25 cm²)

(Legende: siehe Seite 51)

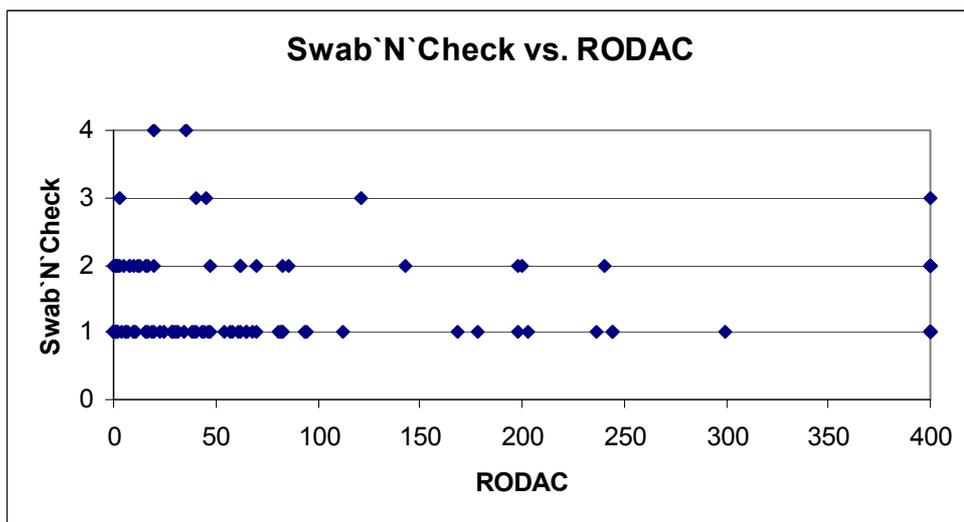


Abbildung 34: Protein-Test Ergebnisse verglichen mit RODAC (KbE/25 cm²)

(Legende: siehe Seite 51)

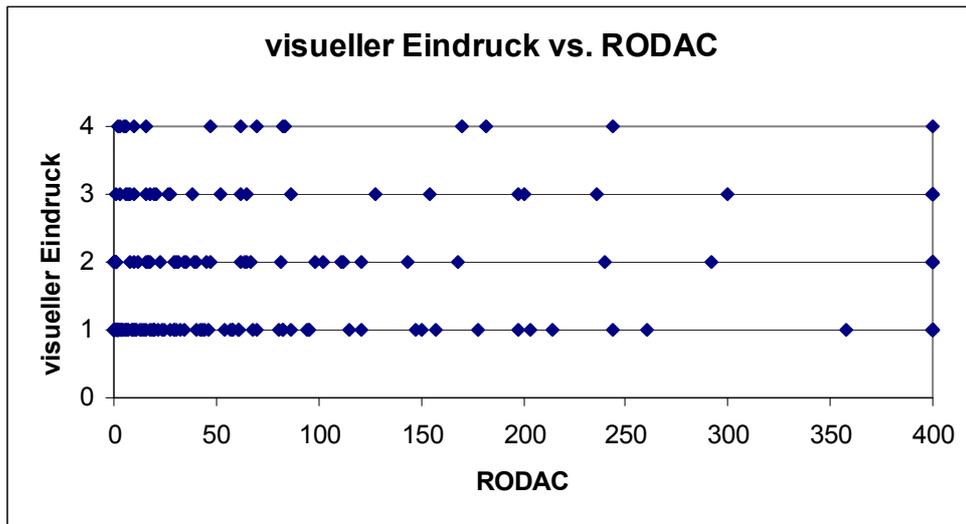


Abbildung 35: Visueller Eindruck verglichen mit RODAC (KbE/25 cm²)

(Legende: siehe Seite 51)

Die Übereinstimmung zwischen visueller Sauberkeit und mikrobiologischer Keimarmut ist nicht gegeben. Die obige Abbildung zeigt häufig visuell saubere Flächen bei gleichzeitig hoher Keimbelastung. Die Schnelltests erwiesen sich hier als deutlich sensitiver.

Beim direkten Vergleich wurden die erhaltenen Ergebnisse wie folgt gewertet.

Als negatives Ergebnis der Abklatschplatten wurde die Keimzahlgruppe 0 gewertet. Dem entsprach ein negatives (-) NAD-Nachweis-Ergebnis und bei dem Protein-Test ein Wert von 1. Alle anderen Ergebnisse wurden als positiv gewertet.

Bei 200 Proben des NAD-Nachweis-Tests ergaben sich 154 Übereinstimmungen mit RODAC, 48 Ergebnisse wichen davon ab. Von 120 Proben des Protein-Tests stimmten 49 Resultate mit RODAC überein, 71 Ergebnisse ergaben keine Übereinstimmung.

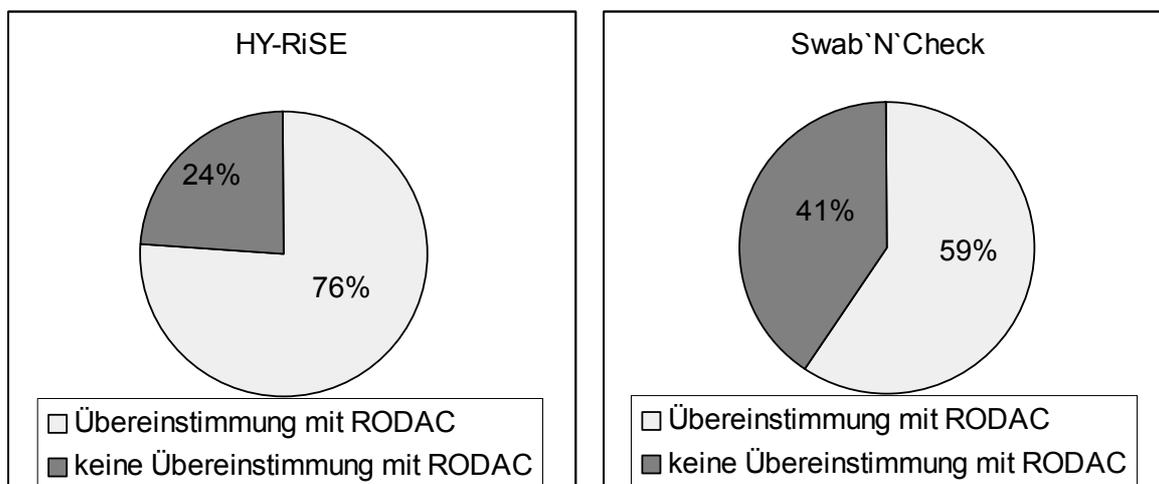


Abbildung 36: Anteil der Übereinstimmungen mit RODAC in %

Von den 48 Ergebnissen, bei denen der NAD-Nachweis von den RODAC-Platten abwich, zeigte der NAD-Nachweis in 41 Fällen (85,4 %) ein negatives Ergebnis, während auf den Nährböden Keimwachstum festgestellt werden konnte. In 7 Fällen (14,6 %) fiel der NAD-Test positiv und der Keimnachweis negativ aus.

Der Proteinschnelltest zeigte 70 mal (98,6 %) ein negatives Ergebnis während auf den Platten Keimwachstum zu verzeichnen war. Nur in einem Fall wurde ein positives Ergebnis (1,4 %) beim Protein-Test abgelesen und auf den Abklatschplatten konnten keine Keime festgestellt werden.

Im Folgenden werden die Resultate der beiden Schnelltests, sowie der visuelle Eindruck des Hygienezustands mit den ausgewerteten Abklatschproben verglichen. In einem Fall zeigte der NAD-Nachweis (n = 200) und in 12 Fällen der Protein-Test (n = 120) ein negatives Ergebnis bei KZG 6, die visuelle Beurteilung (n = 200) fiel in dieser Kategorie 16 mal „sauber“ aus. Falsch positive Ergebnisse der Schnelltests traten nicht auf, lediglich grenzwertige Resultate beim NAD-Schnelltest: 6 mal + bei KZG 0, einmal ++ bei KZG 0 und beim Protein-Test einmal Stufe 2 bei KZG 0. Visuell wurde 2 mal leicht verschmutzt bei KZG 0 protokolliert.

4 Ergebnisse

Insgesamt am häufigsten, mit 54 mal wurde die KZG 5 ermittelt, beim NAD-Nachweis war + mit 87 mal, beim Protein-Test Stufe 1 mit 77 mal und bei der optischen Kontrolle 109 mal saubere Oberflächen vertreten. Die geringste Übereinstimmung bestand zwischen der Abklatschtechnik und der visuellen Kontrolle. Bei den Schnellmethoden zeigte der NAD-Nachweis häufiger übereinstimmende Ergebnisse mit RODAC, als Protein-Test.

Tabelle 18: Vergleich zwischen dem Abklatschverfahren und NAD-Nachweis

(Legende: siehe Seite 51)

	Keimzahlgruppe							
NAD-Nachweis	0	1	2	3	4	5	6	Summe
-	7	10	7	7	5	11	1	48
+	6	11	11	19	8	22	10	87
++	1	4	3	5	6	6	13	38
+++	0	0	0	2	2	15	8	27
Summe	14	25	21	33	21	54	32	200

Tabelle 19: Vergleich zwischen Abklatschverfahren und Protein-Test

(Legende: siehe Seite 51)

	Keimzahlgruppe							
Protein-Test	0	1	2	3	4	5	6	Summe
1	7	7	6	11	13	21	12	77
2	1	6	4	5	1	9	10	36
3	0	1	0	0	2	1	1	5
4	0	0	0	1	1	0	0	2
Summe	8	14	10	17	17	31	23	120

4 Ergebnisse

Tabelle 20: Vergleich zwischen Abklatschverfahren und visuellem Eindruck

(Legende: siehe Seite 51)

	Keimzahlgruppe							
visueller Eindruck	0	1	2	3	4	5	6	Summe
1	12	16	12	18	11	24	16	109
2	2	5	2	8	7	14	7	45
3	0	2	4	6	2	9	8	31
4	0	2	3	1	1	7	1	15
Summe	14	25	21	33	21	54	32	200

5 DISKUSSION

5.1 DURCHFÜHRUNG DER BETRIEBSBEGEHUNGEN

5.1.1 Auswahlkriterien für die Betriebe

Voraussetzung für die Probenahme war das Einverständnis und die Kooperationsbereitschaft der Betriebsleiter, welche oftmals anfangs eine sehr ablehnende Haltung zeigten. Über die Hälfte der angesprochenen Betriebe verweigerte die Probenahme bereits telefonisch. Vor allem Gaststätten und Kleinstbetriebe waren nicht bereit, einen für sie kostenlosen Hygienecheck durchführen zu lassen.

Die Begründungen waren sehr unterschiedlich, etwa daß es unnötig sei, weil es in der Küche sauber ist, Zeitmangel und Bedenken wegen der eventuellen Konsequenzen, falls das Ergebnis einen ungenügenden Hygienestatus ergäbe. Wichtig für alle Küchen war, daß die Ergebnisse anonym blieben und sie die Auswertung der Untersuchung schriftlich mitgeteilt bekamen. Großbetriebe, welche Eigenkontrollen selbst durchführen, beziehungsweise bei Fremdlabors in Auftrag geben, zeigten wesentlich mehr Bereitschaft zu kooperieren.

Nach den Betriebsbegehungen waren die Betriebsleiter aufgeschlossener und fragten nach regelmäßigen Hygienechecks, welche sie dann auch bei einer amtlichen Überprüfung vorweisen könnten. Das zeigt, ein Bedarf für Eigenkontrollsysteme besteht und die Betriebsleiter lassen sich nach anfänglicher Skepsis überzeugen, die rechtlich in § 3 LMBG und in der Entscheidung 2001/471/EG festgelegten Kontrollen durchzuführen. Die weitere Auswahl der Betriebe erfolgte nach deren Größe, Mitarbeiterzahl und um die Transportdauer möglichst kurz zu halten, auch nach der Entfernung zum Institut.

5.2 PROBENAHRME

Es wurden hygienisch relevante Oberflächen zur Beprobung ausgewählt, mit direktem oder indirektem Kontakt zum Lebensmittel. Dabei wurden auch bestimmte von den Betriebsleitern gewünschte Flächen beprobt. Die Betriebsbegehungen wurden jedoch ausschließlich vor Arbeitsbeginn oder nach der Endreinigung durchgeführt. In einigen Fällen war es möglich, die bei den Schnelltests als verunreinigt angezeigten Gegenstände oder Flächen nochmals mit dem üblichen Verfahren zu reinigen und erneut zu beproben.

Vermieden wurden konkave oder konvexe Flächen, da sowohl aufgrund der unflexiblen Metallschablone, als auch wegen der starren Nährbodenträger bei diesen Flächen mit fehlerhaften Ergebnissen zu rechnen wäre. Ausreichend große Flächen gewährleisteten eine Beprobung, bei der die drei Testsysteme direkt nebeneinander angewendet werden konnten.

In diesem Praxistest war es nicht möglich, dreimal die identische Fläche zu beproben, da bei jeder Beprobung ein Teil der Bakterien, beziehungsweise Produktionsrückstände abgetragen worden wären. Somit mußte die Probenahme von direkt benachbarten Flächen erfolgen, welche visuell mit dem gleichen Sauberkeitswert beurteilt wurden. Das bedeutete allerdings, daß dort nicht jeweils die gleiche Kontamination vorhanden sein konnte, was möglicherweise wiederum divergierende Ergebnisse lieferte.

Parallele Probenahme auf artifiziell gleichmäßig kontaminierten Flächen unter Laborbedingungen und mit Wiederholbarkeit der Ergebnisse war nicht Gegenstand dieser Arbeit. Vielmehr sollte in diesem Feldversuch die praktische Handhabung und Anwendbarkeit unter Praxisbedingungen des NAD-Schnelltests geprüft werden.

5.3 KRITISCHE BEWERTUNG DES RODAC-VERFAHRENS

Das mikrobiologische Nachweisverfahren sollte sich bei der Probenahme und Weiterverarbeitung als möglichst praktikabel darstellen, um bei der Handhabung mit den Schnelltests vergleichbar zu sein.

KOBE et al. (2000) sehen in dem Abklatschverfahren eine Methode, welche eine Einschätzung des Hygienestatus ermöglicht. Laut DIN 10113-3 ist dieses Verfahren zur orientierenden Bestimmung des Oberflächenkeimgehaltes auf Einrichtungs- und Bedarfsgegenständen im Lebensmittelbereich und auch zur Kontrolle der Wirksamkeit von Reinigung und Desinfektionsmitteln geeignet.

Die Fragen nach der Differenzierung der aeroben mesophilen Gesamtkeimzahl stellte sich nicht, da die Schnelltests diese Möglichkeit ebenfalls nicht bieten. Da kommerziell erhältliche Platten verwendet wurden, war die Standardisierung des Mediums gegeben.

Die Wiederfindungsraten, welche in der Literatur je nach Oberfläche, Keimdichte, Keimart, Abtrocknungszeit und Untersucher angegeben werden, variieren stark. BASLER und STOLLE (2000) ermittelten Wiederfindungsraten zwischen 1,7 und 29 %, SCHULZE (2000) 20 % SCHULZE und HILDEBRANDT (1994) von 0 - 26,6 % und RÜHLMANN und FELDHUSEN (1995) konnten 4 – 59 % der aufgetragenen Keimmenge als KbE wiederfinden.

CORREGE et al. (1995) sprechen den Ergebnissen der Abdruckplatten zur Kontrolle der Reinigung und Desinfektion im Schlacht- und Zerlegebereich die größte Zuverlässigkeit zu. CORDRAY und HUFFMANN (1985), sowie NISKANEN und POHJA (1977) fanden bei Anwendung der Naß-Trockentupfer-Technik zur Untersuchung von Schweineschlachtierkörperoberflächen höhere Keimausbeute als mit dem Abklatschverfahren. LOUWERS und KLEIN (1994 b) lehnen das Naß-Trockentupfer-Verfahren aufgrund des hohen Arbeitsaufwandes zur Routinekontrolle ab. PLESS und PLETZ (1995) ermittelten gute Übereinstimmung zwischen der Abklatschtechnik und der Naß-Trockentupfer-Technik auf künstlich kontaminierten Oberflächen. Die Keimausbeute mittels Abklatsch war in drei Testserien nur um log 0,2 bis 0,5 KbE/cm² Oberfläche geringer.

Bei allen Abklatschtechniken wird nach LOUWERS und KLEIN (1994 b) ein Abbild der Oberfläche erzeugt, dabei gelingt es aber nur, einen Teil der tatsächlich vorhandenen Keime zu erfassen (SCHULZE und HILDEBRANDT 1994). Sie erhielten in Modellversuchen mit verschiedenen Keimen eine starke Streuung der Ergebnisse. Im Feldversuch jedoch fielen über die Hälfte der Platten in die gleiche zuvor festgelegte Bewertungsklasse und der überwiegende Teil der restlichen Ergebnisse in die benachbarte Bewertungsklasse. Das spräche, wie auch HILLER et al. (1995) feststellten, für die Reproduzierbarkeit bei ausreichender Stichprobenanzahl. OPDERBECK (1992) geht von einer homogenen Keimverteilung auf der jeweils beprobten Oberfläche aus und spricht Einzelproben ausreichende Repräsentanz zu. Es wurde dazu eine Einteilung in Bewertungsklassen nach BAUMGART (1977) verwendet, welche zwar nicht der DIN 10113-3 entsprach, aber eine ähnliche Einteilung vorschlug.

Als nachteilig bei der Abdrucktechnik stellten LOUWERS und KLEIN (1994 b) fest, daß schwer zugängliche Entnahmeorte oft problematisch zu beproben sind und ein Verrutschen der Nährbodenträger vermieden werden muß. Aufgrund der starren Nährbodenträger sind konvexe oder konkave Flächen, ebenso wie Rillen und Ecken mit dieser Methode nicht zu beproben. Hier zeigten sowohl der NAD-, als auch der Protein-Test im Feldversuch Vorteile, da sie flexibler sind und somit auch in Ecken und auf gewölbten Oberflächen eingesetzt werden können.

CORETTI (1966), KLEIN und WERNER (1969), BAUMGART (1977), SCHMIDT und BEM (1978), THРАН (1979), LOUWERS und KLEIN (1994 a), RÜHLMANN und FELDHUSEN (1995) beurteilen das Abklatschverfahren als kostengünstig und einfach zu handhaben. Es kann, wie die beiden verwendeten Schnellmethoden ohne Störung des Betriebsablaufes beprobt und mit minimalem Laboraufwand ausgewertet werden. RODAC-Platten bieten allerdings nur eine relativ kleine, festgelegte Abklatschfläche (SCHULZE 2000), wohingegen mit Tupfern, sowie mit den Schnelltests eine variable Fläche beprobt werden kann. SCHULZE und HILDEBRANDT (1995) beurteilen das Abklatschverfahren als Methode der Wahl für eine schnelle Orientierung über den Hygienestatus eines Betriebes.

Wie die Literatur zeigt, ist die RODAC-Technik nicht unumstritten in ihrer Aussagekraft, da die Ergebnisse von vielen Faktoren abhängen. Da sie aber als DIN-Norm standardisiert ist und sich ähnlich praktikabel bezüglich des Arbeits-

und Zeitaufwandes wie die Schnellmethoden erwies, wurde sie für diese Arbeit als Referenzverfahren eingesetzt.

Das RODAC-Verfahren bietet gute Demonstrationsmöglichkeiten des Hygienestatus gegenüber Dritten (KINDLIMANN 1966, BAUMGART 1977, THRAN 1979, BRUCHMANN 1995), allerdings mit erheblicher zeitlicher Verzögerung. Daher erweist es sich als schwierig, die für die Reinigung der beprobten Fläche zuständige Person ausfindig zu machen.

5.4 BEWERTUNG DES NAD-TESTS

Das NAD-Nachweisverfahren zeigt vorhandenes Substrat innerhalb von 5 Minuten mittels Farbumschlag von gelb nach violett an. Das Testkit ist einfach zu handhaben, leicht transportabel und das Ergebnis läßt sich Dritten gegenüber gut demonstrieren. Es zeigte eine größere Übereinstimmung mit dem Abklatschverfahren, als der verwendete Protein-Test.

Laut Hersteller beeinflussen Reinigungs- und Desinfektionsmittel mit hohen Konzentrationen von NaOH das NAD-Testresultat, andere Reiniger verfälschen das Ergebnis nicht.

Bei einem Vergleich mit der Biolumineszenz erhielten GOLL et al. (2002) bei Auswertung nach 4 Minuten 71,6 % und nach 8 Minuten 73,4 % übereinstimmende Ergebnisse. Die Nachweisgrenze ermittelten sie im Laborversuch mit 10^4 KbE/cm².

5.5 BEWERTUNG DES PROTEIN-TESTS

Der Protein-Nachweis wurde ab Küche Nr. 5 parallel zu den beiden anderen Verfahren eingesetzt.

Der Einsatz dieses Schnelltest erforderte höheren Arbeits- und Zeitaufwand als der NAD-Test. Das Pipettieren der Lösungen in die Reagenzgläser, die längere Reaktionszeit und die oftmals grenzwertigen Verfärbungen der Lösung, sowie die Entsorgung nach Testende gestaltete sich anspruchsvoller als der NAD-Nachweis. Die Teststäbchen erwiesen sich als abriebfester als die Prüfzone des NAD-Teststreifens.

In der vorliegenden Untersuchung ergab sich eine geringere Übereinstimmung mit der RODAC-Technik, als beim NAD-Nachweis.

5.6 VISUELLE HYGIENEKONTROLLE

Bei der Beurteilung der beprobten Oberflächen konnte in dieser Studie oft keine Parallele zwischen optischer Sauberkeit und Keimarmut der Probenflächen gezogen werden. In 40 Fällen wurde bei optisch sauberen Flächen sogar Keimzahlgruppe 5 und 6 ermittelt.

Die Firma Merck fand in eigenen Untersuchungen 51 % der als visuell sauber eingestuften Flächen ein positives NAD-Ergebnis.

Die Korrelation zwischen optischer und mikrobiologischer Sauberkeit gibt UPMANN (1996) als gut an, während DRESSLER (1997) und SCHULZE (2000) dies mit ihren Untersuchungen nicht bestätigen können.

5.7 VERSUCHSAUFBAU UND METHODENVERGLEICH

Jedes der drei in dieser Studie eingesetzten Testsysteme beruht auf dem Nachweis eines anderen Substrats, nämlich NAD, Protein und Bakterien. Jedoch sind alle nachgewiesenen Substanzen für die Hygiene eines Betriebes relevant, da die Produktreste als Nährboden für Bakterien dienen.

Die Entnahmestellen der Proben konnten nicht identisch sein, sonst hätte jede Fläche drei mal beprobt werden müssen und bei jeder Beprobung wäre bereits Material abgetragen worden. Es wurden direkt benachbarte, optisch gleich gesäuberte Flächen beprobt. Das bedeutet aber nicht, daß diese Flächen auch die selbe Kontamination aufweisen müssen.

Die optische Sauberheitskontrolle konnte nicht als übereinstimmend mit den Abklatschergebnissen beurteilt werden. Es gab keine Korrelation zwischen optischer und mikrobiologischer Reinheit. Ebenso konnte im Bezug auf die Oberflächenmaterialien und deren Beschaffenheit keine Aussage über Vorteile eines Nachweises getroffen werden. Es muß davon ausgegangen werden, daß alle drei Systeme auf rauhen und zerfurchten Oberflächen kein Substrat erfassen können, welches in der Tiefe liegt.

Die Protein-Teststäbchen erwiesen sich in der Praxis als abriebfester als die NAD-Teststreifen. Mit diesen mußten sehr raue Oberflächen abgetupft werden, da sich die Prüffläche sonst stark abrieb.

Im Feldversuch zeigte sich der Protein-Test als arbeits- und zeitintensiver als der NAD-Nachweis. Das Benötigen von Pipette, Reagenzglasständer, sterilen Reagenzgläsern und die anschließende Entsorgung war zeitaufwändiger und komplizierter zu handhaben als das NAD-Testkit. Häufig wurde bei dem Protein-Test eine Färbung erzielt, welche zwischen der Stufe 1 und 2 lag und somit kein eindeutiges Ergebnis darstellt. Dies berichten auch GUSTAVSSON und KARLSSON (1997) und BECKER et al. (2001). Die Reaktionszeit des Protein-Tests beträgt 12 Minuten und benötigt mehr Vorbereitungszeit als der NAD-Nachweis, dessen Reaktionszeit 5 Minuten beträgt.

Die Vorteile des NAD-Nachweises liegen vor allem bei dem geringeren Zeit- und Arbeitsaufwand. Auch ungeschultes Personal kann schnell eingearbeitet werden, was bei dem Protein-Nachweis komplizierter erscheint. Die Investitionskosten sind vergleichsweise gering, da keine Geräte, wie zum Beispiel für die Biolumineszenz, angeschafft und gewartet werden müssen. Das Testkit ist klein, leicht transportabel und somit jederzeit überall verwendbar. Das Kit mit 50 Teststreifen ist nach Anbruch der Reagenzien drei Monate bei +2 bis +8 °C haltbar.

Der Einsatz beider Schnelltests ist auch auf gewölbten Flächen möglich, wobei mit den schmälere Tupfern des Protein-Nachweises Fugen, Ecken und Rillen besser zugänglich sind, als mit den breiteren NAD-Teststreifen. In beiden Fällen ist eine Demonstration gegenüber Dritten gut möglich und eine eventuelle Nachreinigung ist sofort durchführbar.

Da diese Schnellmethoden nur ein qualitatives und kein quantitatives Ergebnis bieten, besteht die Möglichkeit, pathogene Keime in geringer Konzentration zu übersehen, welche aber gleichzeitig das Endprodukt beeinträchtigen. Mittels mikrobiologischer Verfahren wäre im Verdachtsfall eine Keimdifferenzierung möglich.

Nach der Entscheidung 2001/471/EG gelten Abklatschergebnisse für die Gesamtkeimzahl von 0–10 KbE/cm² als annehmbar und über 10 KbE/cm² als nicht mehr annehmbar. Das bedeutet, Platten von 0-250 KbE gelten als annehmbar, das entspricht etwa den Keimzahlgruppen 0 - 5 nach DIN 10113-3 (DEUTSCHES INSTITUT FÜR NORMUNG 1997). Folglich wäre nur Keimzahlgruppe 6 zu beanstanden. In dieser Keimzahlgruppe zeigte der NAD-Nachweis (n = 200) nur einmal und der Protein-Test (n = 120) 12 mal den Farbumschlag für saubere Flächen und somit ein falsches Ergebnis, an.

Die Kosten belaufen sich beim NAD-Test auf 1,70 €/Test, beim Protein-Nachweis auf 1,00 €/Test und bei kommerziell erhältlichen RODAC-Platten auf 1,28 €/Abklatsch. Für den Protein-Test benötigt man zusätzlich Pipetten und einen Reagenzglasständer, für die Bebrütung der Nährbodenplatten muß ein Brutschrank vorhanden sein.

Die Schnelltests stellen keine rechtlich anerkannten Verfahren dar, bieten aber in Ergänzung mit mikrobiologischen Methoden ein geeignetes Kontrollinstrument innerhalb der Hygieneüberwachung.

NAD-Nachweis überzeugte im Praxistest durch die unkomplizierte, zeitsparende Handhabung und durch die höhere Sensitivität als Protein-Test.

6 ZUSAMMENFASSUNG

In lebensmittel- und fleischverarbeitenden Betrieben werden Eigenkontrollen zur Überwachung des Reinigungs- und Desinfektionserfolges vom Gesetzgeber mit der Entscheidung 2001/471/EG gefordert. Viele Kleinbetriebe führen erfahrungsgemäß keine oder nur unzureichende Untersuchungen durch. Externe mikrobiologische Kontrollmethoden werden selten in Anspruch genommen. Viele moderne Nachweissysteme, wie zum Beispiel das Epifluoreszenz-Verfahren, die Impedanzmethode, Biolumineszenz und andere Schnellmethoden erfordern den Einsatz von Geräten und setzen eine gewisse Laborausstattung voraus. Schnelltests für die betriebsinterne Kontrolle sollen innerhalb kurzer Zeit auch für mikrobiologisch ungeübtes Personal unkompliziert und ohne apparativen Aufwand durchzuführen sein und trotzdem verlässliche Ergebnisse liefern.

In der vorliegenden Arbeit sollte im Feldversuch die Aussagekraft, praktische Anwendung und die Übereinstimmung zweier Schnelltests, einem NAD- und einem Protein-Nachweis, mit RODAC-Platten (DIN 10113-3) verglichen werden.

Das Prinzip des NAD-Tests basiert auf dem Nachweis von NAD, NADH, NADP und NADPH. Diese Coenzyme werden von der Prüfoberfläche mittels Teststreifen abgewischt und durch eine Farbreaktion nachgewiesen. Mit dieser Methode können Produktionsrückstände, aber auch Mikroorganismen nachgewiesen werden. Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung erfolgte eine Gegenüberstellung dieses Schnelltests mit den Ergebnissen des RODAC-Abklatschverfahrens zum Bakteriennachweis auf Oberflächen. Parallel dazu kam in sechs Betrieben ein Protein-Nachweis zum Einsatz.

Vorgenommen wurden zwei Untersuchungsreihen in zehn lebensmittelverarbeitenden Einrichtungen mit jeweils zehn Probenahmestellen (n = 200). Die Probenahme erfolgte überwiegend an visuell als gereinigt beurteilten Flächen. Um die weitestmögliche Übereinstimmung der Probenahmestellen beim

vergleichenden Einsatz der zwei bzw. drei Verfahren zu gewährleisten, erfolgte die Beprobung von jeweils 25 cm², wobei die Probenahmeorte direkt nebeneinander gewählt wurden. Bei beiden Schnelltests, NAD-Nachweis und Protein-Test, wurde dafür eine sterile Metallschablone eingesetzt. Die Schnellmethoden wurden nach Herstellerangaben durchgeführt und ausgewertet, lediglich der NAD-Schnelltest wurde, entgegen den Herstellerangaben in vier Farbabstufungen eingeteilt. Die Probenahme, Aufbereitung und Auswertung der Nährböden erfolgte nach DIN 10113-3.

Alle drei Methoden waren der visuellen Beurteilung deutlich überlegen. Während die Auswertung der Abklatschergebnisse erst nach zwei Tagen möglich ist, bieten die beiden Schnelltests klare zeitliche Vorteile. Eine Auswertung ist bereits nach Minuten möglich. Die NAD-Ergebnisse zeigten in der Tendenz eine befriedigende Übereinstimmung mit den RODAC-Platten. Die Handhabung des Testkits ist unkompliziert und praxisfreundlich. Innerhalb von fünf Minuten ist die Aussage, ob die Reinigung ordnungsgemäß erfolgte oder eine Nachreinigung erforderlich ist, möglich. Die farbliche Darstellung des Ergebnisses bietet eine objektive Demonstrationsmöglichkeit gegenüber Dritten, wie zum Beispiel dem Reinigungspersonal. Als problematisch bei beiden Schnelltests könnte sich erweisen, daß pathogene Keime in geringer Konzentration eventuell nicht erfaßt werden. Der Protein-Test zeigte sich zeit- und materialaufwändiger, arbeitsintensiver und weniger sensitiv.

Als Schnellmethode zur Überprüfung des Reinigungs- und Desinfektionserfolges stellt der NAD-Nachweis eine zuverlässige Methode dar, sie kann jedoch mikrobiologische Untersuchungen nur ergänzen, nicht ersetzen, da diese vor allem in Grenzbereichen sensitiver sind und pathogene Keime differenziert werden können. Für Kleinbetriebe, die sich bisher ausschließlich auf die visuelle Beurteilung der Hygiene verlassen haben, stellt der Test eine objektive Beurteilungs- und Dokumentationshilfe dar.

7 SUMMARY

SUITABILITY OF A NEW RAPID TEST FOR CHECKING SURFACE CLEANLINESS WITHIN THE SCOPE OF SELF PERFORMED TESTS IN FOOD PROCESSING INDUSTRIES

The demand for self-performed tests for monitoring the success of cleaning and disinfection is increasing within the food and meat-processing plants. Experience has shown that many small companies do not perform any examinations or only to an insufficient extent. External microbiological checking methods are rarely used while epifluorescence methods, the impedance method, bioluminescence and other rapid methods demand the use of instruments and certain laboratory equipment.

The aim of this study (by means of a field test) has been to compare RODAC plates with two rapid test methods under routine conditions.

The principle of the HY-RiSE[®] Colour Hygiene Test (Merck, Darmstadt) is based on the detection of NAD, NADH, NADP and NADPH. A sample containing these coenzymes is wiped from the surface to be examined using the test strip and is then identified by means of a colour reaction. With this method residues from production or microorganisms can be detected. Within the scope of the presented investigation this new rapid test was compared with the results of the RODAC plates used for the detection of bacteria on surfaces. In parallel, the Swab`N`Check[®] protein test (Konika, Tokio) was used in six plants for detecting protein residues.

Two examination series were performed in ten food-processing industries (catering service for parties as well as for preschools, canteens, hotel kitchens, delis, meat-processing plants, kitchens of old people's home) with 10 sample sites each. Sampling was carried out on surfaces that were considered to be clean based

upon visual inspection. In order to ensure the best possible conformity of the sampling sites when comparing the two or three methods, the sample area examined was 25 cm² each with the sampling sites being directly adjacent to one another. A sterile metal stencil was used in the two rapid tests. The rapid tests were performed and evaluated according to the manufacturers' instructions. Sample collection, processing and evaluation of the RODAC plates (Envirocheck, Merck) were carried out according to the standard specification DIN-10113-3.

All three methods were markedly superior to visual assessment. With evaluation being possible after a couple of minutes, the clear advantage of the two rapid tests is time as evaluation of the RODAC plates can take place no earlier than after two days.

76 % of the NAD-test and 59 % of the proteincheck results agreed with the RODAC results.

Taking into account the limitation that all three tests are based upon different principles of detection and that sampling could not be carried out on identical surfaces, the comparison of the three methods provided the following results: The NAD-test results tended to conform to a satisfactory extent with those of the RODAC plates. The extremely uncomplicated and user-friendly handling of the test kit must be pointed out. Within 5 minutes a clear statement on the success of cleaning or necessity of repeated cleaning can be made. The colored presentation demonstrates the result in an objective manner to third parties e.g. such as cleaning personnel. Microorganisms as well as food residues are detected as they both contain NAD. When using on rough surfaces the test zone of the test strip is easily damaged. Such surfaces should only be dabbed. In comparison, the Protein-Test proved more time and work-consuming and less sensitive.

The NAD-test is a reliable method for checking the success of cleaning and disinfection. It can, however, only supplement and not replace microbiological examinations as the latter are more sensitive particularly at limited concentrations and are able to differentiate between pathogens. For small companies however, which up to now have only relied on visual inspections, this rapid test is a good, objective tool for assessing hygiene.

8 ANHANG

Zusammensetzung des Nährbodens der verwendeten **RODAC**-Platten:

Envirocheck (Merck)

Zusammensetzung g/l

Basismedium: Caso Agar, Merck Art. Nr. 1.05458

Caseinpepton	15,0
Sojapepton	5,0
NaCl	5,0
Tween 80	5,0
Lecithin	0,7
Natriumthiosulfat	0,5
L-Histidine	1,0
Agar-Agar	20,5
pH 7,3 + 0,2	

NAD-Nachweis: HY-RiSE[®] Colour Hygiene Test Strip (Fa. Merck)

Der Packungsinhalt besteht aus:

50 Teststreifen, einzeln in Aluminiumfolie verpackt

1 Plastikfläschchen Reagenz A (2,5 ml) = Benetzungslösung

1 Plastikfläschchen Reagenz B (2,5 ml) = Substratlösung

1 Plastikfläschchen Reagenz C (2,5 ml) = Enzymlösung

Protein-Nachweis: Hygiene Monitoring Kit Konica Swab`N`Check[®] (Biotest AG)

Das Testkit enthält:

2 Fläschchen Reagenz A (je 100 ml)

1 Fläschchen Reagenz B (20 ml)

1 Fläschchen Anfeuchter (20 ml)

4 Packungen Abstrichtupfer (je 50 Stück)

1 Farbenprüfblatt

Inhaltstoffe: Reagenz A: Wasser, Natrium Carbonat

Reagenz B: Wasser, Kupfersulfat

Anfeuchter: Wasser, Ethanol

Abstrichtupfer: Flexibler Plastikstab, 7cm lang mit Kunststofftupfer.

Des Weiteren wurden Pipetten, sowie pro Durchgang zehn sterile Reagenzgläser (75 X 12 mm) und ein passender Reagenzglasständer benötigt.

Legende zum Anhang

Auswerteschema für NAD-Nachweis:

- Sauber
- + Leichte Verunreinigung
- ++ Mittelgradige Verunreinigung
- +++ Starke Verunreinigung

Auswerteschema für Protein-Test:

- 1 Keine Proteinrückstände
- 2 Etwas Proteinrückstände
- 3 Mittelgradig viel Proteinrückstände
- 4 Viel Proteinrückstände

Auswerteschema für RODAC nach DIN 10113-03 (KZG = Keimzahlgruppe)

KZG	KbE
0	0
1	1-3
2	4-10
3	11-30
4	31-60
5	> 61 Kolonien, aber nicht konfluierend
6	Rasenwachstum, konfluierend, bzw. > 400 Kolonien

Auswerteschema für die visuelle Hygienekontrolle:

- 1 Sauber
- 2 Feuchte Oberflächen, leichte Verunreinigung
- 3 Mittlere Verunreinigung
- 4 Starke Verunreinigung

Betriebsprotokoll

Laufende Nr: 1

Datum der Probenahmen: 29.05.01

04.07.01

Betriebsart: Großküche

Kapazität: 7500 Mahlzeiten pro Tag

Mitarbeiterzahl: ca. 95

Raumtemperatur: + 28 °C

Visueller Gesamteindruck: sauber, bauliche Mängel

Visueller Gesamteindruck betriebseigen: gut, aber verbesserungsfähig

Probentransportzeit: 15 Minuten

Transporttemperatur: + 20 °C

Tabelle : 1.1 Ergebnisse der Betriebsbegehung am 29.05.01

Nr.	Probenahmestelle	visueller Eindruck	Kontakt zum Lebensmittel	NAD-Test	RODAC (KbE/ 25 cm ²)	KZG
1	Fleischwolf	2	direkt	++	800	6
2	Kutter	1	direkt	++	418	6
3	Speckschneider	1	direkt	++	484	6
4	Mengmulde 1	1	direkt	+	30	3
5	Mengmulde 2	1	direkt	-	3	1
6	Fleischwanne	3	direkt	+	10	2
7	Transportblech	1	direkt	-	18	3
8	Kessel	1	direkt	-	0	0
9	Aufschnittmaschine	3	direkt	+++	Rasen	6
10	Blech	1	direkt	+	2	1

Tabelle: 1.2 Ergebnisse der Betriebsbegehung am 04.07.01

Nr.	Probenahmestelle	visueller Eindruck	Kontakt zum Lebensmittel	NAD-Test	RODAC (KbE/ 25 cm ²)	KZG
1	Fleischwolf	2	direkt	++	34	4
2	Kutter	3	direkt	+	6	2
3	Mengmulde	3	direkt	++	28	3
4	Speckschneider	1	direkt	++	115	5
5	Aufschnittmaschine	4	direkt	+++	84	5
6	Tablett	1	indirekt	+	6	2
7	Einsatz für Besteck	3	indirekt	+	154	5
8	Blech	4	direkt	-	16	3
9	Schale	3	direkt	+++	128	5
10	Messer	1	direkt	-	2	1

Betriebsprotokoll

Laufende Nr.: 2

Datum der Probenahmen: 11.06.01

18.07.01

Betriebsart: Hotelküche

Kapazität: ca. 500 Mahlzeiten pro Tag

Mitarbeiterzahl: 24

Raumtemperatur: + 25 °C

Visueller Gesamteindruck: sehr sauber

Visueller Gesamteindruck betriebseigen: gut, interne Qualitätskontrolle,

HACCP- Konzept

Probentransportzeit: 15 Minuten

Transporttemperatur: + 20 °C

Tabelle : 2.1 Ergebnisse der Betriebsbegehung am 11.06.01

Nr.	Probenahmestelle	visueller Eindruck	Kontakt zum Lebensmittel	NAD-Test	RODAC (KbE/ 25 cm ²)	KZG
1	Arbeitsfläche über Kühlschrank	1	direkt	-	214	5
2	Kühlschrank 14 innen	1	indirekt	+	Rasen	6
3	Arbeitsfläche Vorbereitung	1	direkt	+	29	3
4	Topfinnenfläche	2	direkt	-	64	5
5	Regal im Kühlraum	1	indirekt	-	147	5
6	Plastikwanne	2	indirekt	-	111	5
7	Abdeckung Mehlwagen	2	indirekt	+	67	5
8	Ablagefläche Patisserie	1	indirekt	+	157	5
9	Handfläche von S.	1	direkt	+++	260	5
10	Handfläche von J.	1	direkt	+	61	5

Tabelle: 2.2 Ergebnisse der Betriebsbegehung am 18.07.01

Nr.	Probenahmestelle	visueller Eindruck	Kontakt zum Lebensmittel	NAD-Test	RODAC (KbE/ 25 cm ²)	KZG
1	Schneidbrett	2	direkt	-	102	5
2	Kühlschrank 14 innen	4	indirekt	+++	182	5
3	Kantine Teller	1	direkt	-	0	0
4	Messer von Maschine	2	direkt	+	98	5
5	Regal Kühlraum	4	indirekt	+++	170	5
6	Arbeitsfläche Frühstück	1	direkt	-	7	2
7	Mikrowelle innen	4	indirekt	++	5	2
8	Metallbehälter	1	direkt	-	86	5
9	Handfläche von A.	1	direkt	+++	150	5
10	Handflächen von S.	1	direkt	+	28	3

Betriebsprotokoll

Laufende Nr.: 3

Datum der Probenahmen: 18.06.01

09.07.01

Betriebsart: EU-zugelassener Verarbeitungsbetrieb (Fleischwarenfabrik)

Kapazität: 200 tonnen pro Woche

Mitarbeiterzahl: 150

Raumtemperatur: + 16 °C

Visueller Gesamteindruck: sauber, viel Hygiene- und Arbeitssicherheits-Aufklärung
(Plakate, Schulungen)

Visueller Gesamteindruck betriebseigen: gut; Eigenkontrollen mittels Abklatsch,

Checklisten, Hygieneschulungen, Hygieneworkshops

Probentransportzeit: 2 Stunden

Transporttemperatur: + 20 °C

Tabelle : 3.1 Ergebnisse der Betriebsbegehung am 18.06.01

Nr.	Probenahmestelle	visueller Eindruck	Kontakt zum Lebensmittel	NAD-Test	RODAC (KbE/ 25 cm ²)	KZG
1	Schinkensäge	1	direkt	+	0	0
2	Ablaufband für Nr. 1	1	direkt	-	9	2
3	Zebraschneider	1	direkt	+	2	1
4	Vereinzeler	1	direkt	++	10	2
5	Verpackungsmaschine Einlegebereich	1	direkt	+	15	3
6	Trommelschneider	2	direkt	+	1	1
7	E2 Kiste Boden innen	2	direkt	-	1	1
8	E2 Kiste Boden außen	3	direkt	+	18	3
9	Schneidbrett Zerlegung	3	direkt	-	7	2
10	Robotwagen innen	1	direkt	+	4	2

Tabelle: 3.2 Ergebnisse der Betriebsbegehung am 09.07.01

Nr	Probenahmestelle	visueller Eindruck	Kontakt zum Lebensmittel	NAD-Test	RODAC (KbE/ 25 cm ²)	KZG
1	Slicer-Band	1	direkt	-	1	1
2	Slicer-Einlegesacht	1	direkt	++	22	3
3	Tiromat 3 Einlegebereich	1	direkt	-	2	1
4	Schinkensäge	1	direkt	-	121	5
5	Ablage vor Vakuumiergerät	1	direkt	-	Rasen	6
6	Trommelschneider	1	direkt	-	0	0
7	Tiromat 4 Einlegebereich	1	direkt	-	4	2
8	Zebraschneider	1	direkt	-	9	2
9	Vereinzeler	1	direkt	-	24	3
10	E2 Kiste Boden innen	2	direkt	-	0	0

Betriebsprotokoll

Laufende Nr.: 4

Datum der Probenahmen: 18.08.01

09.07.01

Betriebsart: Betriebskantine

Kapazität: 1500 Mahlzeiten pro Tag

Mitarbeiterzahl: 29

Raumtemperatur: + 22 °C

Visueller Gesamteindruck: einige Schwachstellen, relativ sauber

Visueller Gesamteindruck betriebseigen: ausreichend

Probentransportzeit: 10 Minuten

Transporttemperatur: + 20 °C

Tabelle : 4.1 Ergebnisse der Betriebsbegehung am 18.08.01

Nr.	Probenahmestelle	visueller Eindruck	Kontakt zum Lebensmittel	NAD-Test	RODAC (KbE/ 25 cm ²)	KZG
1	Aufschnittmaschine	1	direkt	+	0	0
2	Handgriff Theke	2	indirekt	++	292	5
3	Kippbräter innen	3	direkt	++	21	3
4	Arbeitsfläche für Fleisch	1	direkt	+	61	5
5	Kutter innen	1	direkt	++	358	5
6	Waagschale	1	direkt	+	11	3
7	Kühlschrank	2	indirekt	+	1	1
8	Ablage Fleischkühlraum	2	indirekt	++	Rasen	6
9	Keramikschale Ausgabe	3	direkt	+	Rasen	6
10	Messer	1	direkt	+	20	3

Tabelle: 4.2 Ergebnisse der Betriebsbegehung am 09.07.01

Nr.	Probenahmestelle	visueller Eindruck	Kontakt zum Lebensmittel	NAD-Test	RODAC (KbE/ 25 cm ²)	KZG
1	Aufschnittmaschine	1	direkt	++	42	4
2	Handgriff Theke	1	indirekt	++	58	4
3	Kippbräter innen	3	direkt	-	52	4
4	Arbeitsfläche für Fleisch	2	direkt	++	18	3
5	Kutter innen	4	direkt	++	2	1
6	Waagschale	3	direkt	++	3	1
7	Kühlschrank	3	indirekt	++	27	3
8	Ablage Fleischkühlraum	1	indirekt	+	95	5
9	Keramischale Ausgabe	1	direkt	+	Rasen	6
10	Messer	1	direkt	+	14	3

Betriebsprotokoll

Laufende Nr.: 5

Datum der Probenahmen: 06.08.01

20.08.01

Betriebsart: Großküche für Catering und Kindermenüs

Kapazität: 4000 Mahlzeiten pro Tag

Mitarbeiterzahl: 12

Raumtemperatur: + 20 °C

Visueller Gesamteindruck: sehr sauber

Visueller Gesamteindruck betriebseigen: um gute Hygiene bemüht

Probentransportzeit: 25 Minuten

Transporttemperatur: + 20 °C

8 Anhang

Tabelle : 5.1 Ergebnisse der Betriebsbegehung am 06.08.01

Nr.	Probenahme- stelle	visueller Eindruck	Kontakt zum Lebens- mittel	Protein- Test	NAD- Test	RODAC (KbE/ 25 cm ²)	KZG
1	Kochmulde rund	1	direkt	4	-	20	3
2	Kochmulde eckig	1	direkt	2	+	5	2
3	Aufschnitt- maschine	1	direkt	2	+++	70	5
4	Kochmulde eckig Fenster	1	direkt	3	-	3	1
5	Gastronorm- behälter	1	direkt	1	++	57	4
6	E2 Kiste Boden innen	1	direkt	2	+	Rasen	6
7	Nr. 1 nachgereinigt	1	direkt	2	++	1	1
8	Nr. 2 nachgereinigt	1	direkt	2	-	0	0
9	Nr. 4 nachgereinigt	1	direkt	1	-	0	0
10	Nr. 5 nachgereinigt	1	direkt	1	+	1	1

8 Anhang

Tabelle: 5.2 Ergebnisse der Betriebsbegehung am 20.08.01

Nr.	Probenahme- stelle	visueller Eindruck	Kontakt zum Lebens- mittel	Protein- Test	NAD- Test	RODAC (KbE/ 25 cm ²)	KZG
1	Plastikeimer groß	2	direkt	1	++	Rasen	6
2	Plastikeimer mittel	1	direkt	1	++	Rasen	6
3	Plastikeimer klein	1	direkt	1	++	Rasen	6
4	Gastronorm- behälter gr.	1	direkt	1	++	0	0
5	Gastronorm- behälter kl.	1	direkt	1	++	Rasen	6
6	Aufschnitt- maschine	2	direkt	2	++	240	5
7	Herd- umrandung	1	indirekt	1	+	40	4
8	Nr. 1 nachgereinigt	1	direkt	1	+	203	5
9	Nr. 2 nachgereinigt	1	direkt	1	+	29	3
10	Nr. 3 nachgereinigt	1	direkt	1	+	83	5

Betriebsprotokoll

Laufende Nr.: 6

Datum der Probenahmen: 10.08.01

03.09.01

Betriebsart: Metzgerei und Partyservice

Kapazität: Partyservice nach Bedarf

Mitarbeiterzahl: 5

Raumtemperatur: + 18 °C

Visueller Gesamteindruck: Desinfektion wäre wünschenswert, sonst relativ sauber

Visueller Gesamteindruck betriebseigen: zufrieden

Probentransportzeit: 1 Stunde

Transporttemperatur: + 20 °C

Tabelle : 6.1 Ergebnis der Betriebsbegehung am 10.08.01

Nr.	Probenahme- stelle	visueller Eindruck	Kontakt zum Lebens- mittel	Protein- Test	NAD- Test	RODAC (KbE/ 25 cm ²)	KZG
1	Spülbecken	2	direkt	2	++	Rasen	6
2	Dämpfer innen	1	indirekt	1	-	1	1
3	Gastronorm- behälter	1	direkt	1	-	58	4
4	Schneidbrett	2	direkt	2	-	47	4
5	Herd	1	indirekt	1	++	61	5
6	Friteuse (Rand)	2	indirekt	2	-	17	3
7	Kochmulde innen	1	direkt	1	+	6	2
8	Regal	2	indirekt	1	+	65	5
9	Ablage unter Friteuse	2	indirekt	1	-	29	3
10	Arbeitsfläche	1	direkt	2	+	Rasen	6

Tabelle: 6.2 Ergebnis der Betriebsbegehung am 03.09.01

Nr.	Probenahme- stelle	visueller Eindruck	Kontakt zum Lebens- mittel	Protein- Test	NAD- Test	RODAC (KbE/ 25 cm ²)	KZG
1	Abtropffläche bei Spüle	1	indirekt	1	+	83	5
2	Kochmulde außen	1	indirekt	1	+	0	0
3	Kochplatte	2	indirekt	1	+	Rasen	6
4	Dämpfer außen Griff	2	indirekt	2	+	10	2
5	Ablage unter Dämpfer	3	indirekt	2	+	8	2
6	Dämpfer- fenster	1	indirekt	1	-	0	0
7	Herdplatte	2	indirekt	3	+	45	4
8	Backofen innen	1	indirekt	1	-	244	5
9	Backofen außen	1	indirekt	2	-	2	1
10	Regal	2	indirekt	2	+	8	2

Betriebsprotokoll

Laufende Nr.: 7

Datum der Probenahmen: 20.08.01

29.08.01

Betriebsart: Filiale der Nr. 6 (Partyservice 2)

Kapazität: nach Bedarf

Mitarbeiterzahl: 3

Raumtemperatur: + 19 °C

Visueller Gesamteindruck: Hygiene könnte verbessert werden

Visueller Gesamteindruck betriebseigen: ausreichend

Probentransportzeit: 45 Minuten

Transporttemperatur: + 20 °C

Tabelle : 7.1 Ergebnisse der Betriebsbegehungen am 20.08.01

Nr.	Probenahme- stelle	visueller Eindruck	Kontakt zum Lebens- mittel	Protein- Test	NAD- Test	RODAC (KbE/ 25 cm ²)	KZG
1	Arbeitsfläche	1	direkt	3	+++	Rasen	6
2	Regal	3	indirekt	2	+++	20	3
3	Schneidbrett Holz	3	direkt	2	+++	86	5
4	Mikrowelle innen	2	indirekt	2	+	1	1
5	Tablett	3	indirekt	1	++	Rasen	6
6	Gastronorm- behälter	3	direkt	1	+	236	5
7	Vakuumier- gerät	2	indirekt	4	+++	35	4
8	Regal über Spüle	4	indirekt	1	++	6	2
9	Regal für Geschirr	4	indirekt	2	+	83	5
10	Pfanne innen	3	direkt	2	+	Rasen	6

Tabelle: 7.2 Ergebnisse der Betriebsbegehung am 29.08.01

Nr.	Probenahme- stelle	visueller Eindruck	Kontakt zum Lebens- mittel	Protein- Test	NAD- Test	RODAC (KbE/ 25 cm ²)	KZG
1	Arbeitsfläche Edelstahl	2	direkt	3	+++	121	5
2	Arbeitsfläche Kunststoff	3	direkt	2	+++	200	5
3	Ofen außen	3	indirekt	2	-	16	3
4	Schrank für Geschirr	4	indirekt	2	++	3	1
5	Kühltruhe außen	3	indirekt	1	-	65	5
6	Gastronorm- behälter flach	2	direkt	1	+	39	4
7	Wandfliese	1	indirekt	2	+++	Rasen	6
8	E2 Kiste Boden innen	1	direkt	2	+++	Rasen	6
9	Arbeitsfläche bei Herd	2	direkt	1	++	Rasen	6
10	Serviertablett	1	indirekt	1	+	54	4

Betriebsprotokoll

Laufende Nr.: 8

Datum der Probenahmen: 03.09.01

10.09.01

Betriebsart: Feinkosthaus mit Mittagstisch

Kapazität: 60 Mahlzeiten pro Tag

Mitarbeiterzahl: 5

Raumtemperatur: + 21 °C

Visueller Gesamteindruck: alte Geräte und Einrichtungen, verbesserungswürdig

Visueller Gesamteindruck betriebseigen: gute Reinigung

Probentransportzeit: 30 Minuten

Transporttemperatur: + 20 °C

Tabelle : 8.1 Ergebnisse der Betriebsbegehung am 03.09.01

Nr.	Probenahme- stelle	visueller Eindruck	Kontakt zum Lebens- mittel	Protein- Test	NAD- Test	RODAC (KbE/ 25 cm ²)	KZG
1	Arbeitsfläche	1	direkt	1	+	198	5
2	Herd	3	indirekt	1	+++	300	5
3	Hackstock (Holz)	3	direkt	2	+	62	5
4	Dämpfer innen	1	indirekt	1	+	Rasen	6
5	Gastronorm- behälter	4	direkt	1	+	70	5
6	Topf	1	direkt	1	+	34	4
7	Auflaufform	3	direkt	2	++	Rasen	6
8	Pfanne	4	direkt	1	-	47	4
9	Messer	3	direkt	2	+++	198	5
10	Schneidbrett	2	direkt	2	+++	Rasen	6

Tabelle: 8.2 Ergebnisse der Betriebsbegehung am 10.09.01

Nr.	Probenahme- stelle	visueller Eindruck	Kontakt zum Lebens- mittel	Protein- Test	NAD- Test	RODAC (KbE/ 25 cm ²)	KZG
1	Regal	1	indirekt	1	-	68	5
2	Teller	1	direkt	1	-	10	2
3	Spülmaschine außen	3	indirekt	1	+	Rasen	6
4	Regal bei Spüle	2	indirekt	1	+	17	3
5	Tablett	1	indirekt	1	+	11	3
6	Blech	1	direkt	1	+	43	4
7	Aufschnitt- maschine	3	direkt	2	+++	Rasen	6
8	Schneidfläche	4	direkt	2	+++	Rasen	6
9	Arbeitsfläche	3	direkt	1	+++	Rasen	6
10	Ablage bei Spüle	1	indirekt	1	-	95	5

Betriebsprotokoll

Laufende Nr.: 9

Datum der Probenahmen: 03.09.01

10.09.01

Betriebsart: Vollwertkost-Catering

Kapazität: 500 Mahlzeiten pro Tag

Mitarbeiterzahl: 12

Raumtemperatur: + 18 °C

Visueller Gesamteindruck: sauber

Visueller Gesamteindruck betriebseigen: ausreichende Reinigung

Probentransportzeit: 2 Stunden

Transporttemperatur: + 20 °C

Tabelle : 9.1 Ergebnisse der Betriebsbegehung am 03.09.01

Nr.	Probenahme- stelle	visueller Eindruck	Kontakt zum Lebens- mittel	Protein- Test	NAD- Test	RODAC (KbE/ 25 cm ²)	KZG
1	Herd	2	indirekt	1	+	23	3
2	Aufschnitt- maschine	1	direkt	1	+	46	4
3	Mikrowellen- türe innen	4	indirekt	2	+	62	5
4	Schneidbrett	3	direkt	1	+	1	1
5	Fliese	1	indirekt	2	+	2	1
6	Arbeitsfläche	2	direkt	2	+++	143	5
7	Topf	1	direkt	1	-	2	1
8	Pfanne	1	direkt	1	-	1	1
9	Tablett	2	direkt	1	+	16	3
10	Nr. 3 nachgereinigt	1	indirekt	1	-	44	4

Tabelle: 9.2 Ergebnisse der Betriebsbegehung am 10.09.01

Nr.	Probenahme- stelle	visueller Eindruck	Kontakt zum Lebens- mittel	Protein- Test	NAD- Test	RODAC (KbE/ 25 cm ²)	KZG
1	Herd	1	indirekt	1	+	Rasen	6
2	Arbeitsfläche	1	direkt	1	+++	94	5
3	Schneidbrett	2	direkt	1	+	0	0
4	Spülbecken	2	indirekt	1	++	168	5
5	Teller	1	direkt	1	+	2	1
6	Platte für Wurst	1	direkt	1	+	178	5
7	Vacuumier- gerät	2	indirekt	3	++	40	4
8	Kühlschrank	2	indirekt	1	+++	31	4
9	Mikrowellen- teller	2	indirekt	2	+++	12	3
10	Nr. 2 nachgereinigt	1	direkt	1	+++	81	5

Betriebsprotokoll

Laufende Nr.: 10

Datum der Probenahmen: 13.09.01

24.09.01

Betriebsart: Partyservice und Küche für Seniorenwohnheim

Kapazität: 350 Mahlzeiten pro Tag

Mitarbeiterzahl: 9

Raumtemperatur: + 26 °C

Visueller Gesamteindruck: sauber

Visueller Gesamteindruck betriebseigen: sauber, häufige Kontrollen

Probentransportzeit: 20 Minuten

Transporttemperatur: + 20 °C

Tabelle : 10.1 Ergebnisse der Betriebsbegehung am 13.09.01

Nr.	Probenahme- stelle	visueller Eindruck	Kontakt zum Lebens- mittel	Protein- Test	NAD- Test	RODAC (KbE/ 25 cm ²)	KZG
1	Kippbräter	2	direkt	2	+	1	1
2	Kessel	1	direkt	1	+	7	2
3	Kühlhaus 1 (heute desinf.)	1	indirekt	1	+	0	0
4	Kühlhaus 2	1	indirekt	1	+	19	3
5	Gastronorm- behälter	1	direkt	1	++	Rasen	6
6	Topf	1	direkt	2	+	13	3
7	Dämpfer innen	4	indirekt	1	-	10	2
8	Teller	1	direkt	1	+	32	4
9	Arbeitsfläche bei Türe	2	direkt	1	+	30	3
10	Wandfliese über Nr. 9	1	indirekt	1	+	4	2

Tabelle: 10.2 Ergebnisse der Betriebsbegehung am 24.09.01

Nr.	Probenahme- stelle	visueller Eindruck	Kontakt zum Lebens- mittel	Protein- Test	NAD- Test	RODAC (KbE/ 25 cm ²)	KZG
1	Blech	1	direkt	1	+	16	3
2	Fliese	1	indirekt	1	+	0	0
3	Schrank innen	3	indirekt	1	++	38	4
4	Schneidbrett	4	direkt	1	+	244	5
5	Messer	1	direkt	1	+	25	3
6	Schöpfkelle	1	direkt	1	+	20	3
7	Multifunktions- maschine	1	direkt	1	+	1	1
8	Arbeitsfläche	2	direkt	1	+	62	5
9	Regal	2	indirekt	1	+	82	5
10	Mixer	2	direkt	1	+	112	5

9 LITERATURVERZEICHNIS

AK, N.O., D.O. CLIVER und C.W. CASPAR (1994 a)

Cutting boards of plastic and wood contaminated experimentally with bacteria

J. Food Prot. 57, 16-22

AK, N.O., D.O. CLIVER und C.W. CASPAR (1994 b)

Decontamination of plastic and wooden cutting boards for kitchen use

J. Food Prot. 57, 23-30

ANGELOTTI, R., M.J. FOTER, K.A. BUSCH und K.H. LEWIS (1962)

A comparative study of methods for determining the bacterial contamination of surfaces

Food Res. 23, 175-185

BACH, R. (2000)

Umsetzung der Lebensmittelhygieneverordnung unter Mitwirkung tierärztlicher Sachverständiger

Amtstierärztlicher Dienst und Lebensmittelkontrolle, 266-272

BARTELS, H., H.J. KLARE, H.P. WÖHNER und W. HOSPER (1973)

Prüfung von Kunststoffschneidbrettern auf ihre Eignung in Fleisch verarbeitenden Betrieben

Fleischwirtschaft 53, 1071-1072

BASLER, V. (2002)

Prüfung ausgewählter Verfahren zur Bestimmung des Oberflächenkeimgehaltes auf verschiedenen Modelloberflächen mit unterschiedlichen Bakterienkulturen

Vet.-med. Diss. LMU München

BASLER, V. und A. STOLLE (2000)

Zur Wiederfindungsrate der nichtdestruktiven Oberflächenuntersuchungsverfahren am Beispiel von Modelloberflächen

41. Arbeitstagung Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e.V., Arbeitsgebiet Lebensmittelhygiene, Garmisch-Partenkirchen, 266-270

BAUMGART, J. (1977)

Überwachung der Betriebshygiene - Empfehlenswerte mikrobiologische Methoden

Fleischwirtschaft 57, 978-985

BAUMGART, J. (1993)

Lebensmittelüberwachung und -qualitätssicherung - Mikrobiologisch-hygienische Schnellverfahren

Fleischwirtschaft 73, 392-396

BAUMGART, J. (1995)

Erfahrungen mit dem Nachweis von ATP in der Lebensmittelindustrie
Hygiene-Monitoring-Symposium, Fa. Merck, Vortrag

BAUMGART, J. (1996 a)

Schnellmethoden und Automatisierung in der Lebensmittelmikrobiologie

Fleischwirtschaft 76, 124-130

BAUMGART, J. (1996 b)

Möglichkeiten und Grenzen moderner Schnellverfahren zur Prozeßkontrolle von Reinigungs- und Desinfektionsverfahren

Zentralblatt für Hygiene und Umweltmedizin, 366-375 G. Fischer Verlag

BAUMGART, J., K. FRICKE und C. HUY (1980)

Schnellnachweis des Oberflächenkeimgehaltes von Frischfleisch durch Bestimmung von Adenosintriphosphat (ATP) mit einem Biolumineszenzverfahren

Fleischwirtschaft 60, 266-270

BAUMGART, J. und K. MEIERJOHANN (1994)

Oberflächenkeimgehalt von Frischfleisch, Schnelldachweis durch ATP-Bestimmung mit einem neuen Test-Kit

Fleischwirtschaft 74, 1324

BECKER, B., J. FECHLER und W.H. HOLZAPFEL (2001)

Schnelldachweis zum Hygiene-Monitoring durch das Messen von Proteinrückständen auf Oberflächen

Symposium Schnellmethoden und Automatisierung in der Lebensmittelhygiene, 04.07. - 06.07.2001, Fachhochschule Lippe/Lemgo

BECKER, B. und J. KRÄMER (1997)

Hygieneleitfaden und betriebliche Eigenkontrolle in der Gastronomie

38. Arbeitstagung Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e.V., Arbeitsgebiet Lebensmittelhygiene, Garmisch-Partenkirchen, 90-94

BIOTEST AG (2001)

Produktinformation zu Swab`N`Check[®], Dreieich

BRÄUNIG, I. und P. TRENNER (1996 a)

Untersuchung zur Grenzwertproblematik bei der Anwendung der Biolumineszenzmethode (Lightning[®])

Fleischwirtschaft 76, 1125-1130

BRÄUNIG, I und P. TRENNER (1996 b)

Experimentelle Untersuchungen zur Kontrolle der Reinigung und Desinfektion mittels Biolumineszenz

37. Arbeitstagung Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e.V., Arbeitsgebiet Lebensmittelhygiene, Garmisch-Partenkirchen, 17-23

BRILL, H., A. WALTHER-MAURUSCHAT und J. JOHANSON (1994)

Händehygiene im lebensmittelverarbeitenden Betrieb

35. Arbeitstagung Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e.V., Arbeitsgebiet Lebensmittelhygiene, Garmisch-Partenkirchen, 126

BRUCHMANN, M. (1995)

Agar-Kontaktverfahren

Amtstierärztl. Dienst u. Lebensmittelkontr. 2, 288-290

BRUNNER, B, M. BÜLTE und M. HEITMANN (2000)

„Desinfektionsmittelresistenz“ bei Bakterien aus dem Lebensmittelbereich

41. Arbeitstagung Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e.V.,
Arbeitsgebiet Lebensmittelhygiene, Garmisch-Partenkirchen, 330-335

BÜLTE, M. und G. REUTER (1985)

The bioluminescence technique as a rapid method for the determination of the
microflora of meat

Int. Journ. Food Microbiol. 2, 371-381

BÜLTE, M. und A. STOLLE (1989)

Die Einsatzfähigkeit moderner mikrobiologischer Schnellmethoden zur
Untersuchung von Lebensmitteln tierischen Ursprungs

Fleischwirtschaft 69, 1459-1463

CHAPPELLE, E.W. und G.V. LEVIN (1968)

Use of the firefly bioluminescence reaction for the rapid detection and counting
of bacteria

Biochem. Med. 2, 41-52

CORDRAY, J. und D.L. HUFFMANN (1985)

Comparison of three methods for estimating surface bacteria on pork
carcasses

J. Food Prot. 48, 582-584

CORREGE, J., A. ROUX und M. BUTIN (1995)

Comparison of rapid methods for assessment of efficacy of cleaning and
disinfection

Viandes-et-Produit-carnes 16, 123-130

CORETTI, K. (1966)

Über den Wert einiger bakteriologischer Methoden zur Ermittlung der Betriebshygiene in Fleischwarenbetrieben

Fleischwirtschaft 46, 139-145

DEMETER, K.J. (1964)

Über die Abklatschmethode und ihre bedingte Brauchbarkeit für den quantitativen Keimnachweis auf Oberflächen

Die Molkereizeitung/Welt der Milch 18, 907-909

DEUTSCHE VETERINÄRMEDIZINISCHE GESELLSCHAFT (1999)

5. Liste der nach den Richtlinien der DVG geprüften und als wirksam befundenen Desinfektionsmittel für den Lebensmittelbereich

Deutsches Tierärzteblatt 47, 238-251

DE WIT, J.G. und E.H. KAMPELMACHER (1988)

Some aspects of bacterial contamination of hands of workers in food service establishments

Zbl. Bakt. Hyg. B. 186, 45-54

DRESSLER, U. (1997)

Hygienische Gefahrenanalyse und kritische Kontrollpunkte bei der Verarbeitung von Lebensmitteln tierischer Herkunft für die kalte Küchen in Großküchen der Bundeswehr

Vet.-med. Diss., FU Berlin

EDELMEYER, H. (1983)

Erst reinigen, dann desinfizieren. Zwei Stationen auf dem Weg zur optimalen Betriebshygiene

Fleischwirtschaft 63, 1016-1030

EISGRUBER, H. und A. STOLLE (1995)

Hygienische Risiken und Kontrollen in der Gemeinschaftsverpflegung

Dtsch. Lebensmittel-Rundschau 91, 282-286

ELLERBROEK, L., NGOG-LINH DAM-LU, P. KRAUSE und E. WEISE (1997)

Anwendbarkeit des ATP-Biolumineszenzverfahrens zur Hygienekontrolle im Rahmen der Geflügelschlachtung

38. Arbeitstagung Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e.V., Arbeitsgebiet Lebensmittelhygiene, Garmisch-Partenkirchen, 363-368

EYSELL, E, P. GEPPERT, S. KLEINHAUS und A. STOLLE (1997)

Eignung des Limulus-Tests zur Abschätzung der mikrobiologischen Beschaffenheit von Krabben

38. Arbeitstagung Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e.V., Arbeitsgebiet Lebensmittelhygiene, Garmisch-Partenkirchen, 425-430

FRIES, R. und G. JANKE-GRIMM (1984)

Zur Methodik der Probenahme an festen Oberflächen

Arch. Lebensmittelhyg. 35, 38-41

GERIGK, K. und L. ELLERBROEK(1994)

Das HACCP-Konzept in der Lebensmittelproduktion

Dtsch. TÄ Wochenschrift 101, 270-272

GERSTEIN, J., R. ORTH und J. BAUMGART (1993)

Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen. Mikrobiologische Bewertung im Bereich der Zerlegeabteilung eines Fleischwarenbetriebes

Fleischwirtschaft 73, 740-744

GESSLER, M. (1991)

Harmonisierung der Lebensmittelüberwachung in der EG

Fleischwirtschaft 71, 886-892

GISSEL, C. (1995)

Qualitätssicherung und Betriebshygiene - Stand der Technik, Gesetzgebung, zeitgemäße Organisation

Fleischwirtschaft 75, 961-966

GLOBISCH, H., S. WILKENS, A. JACOB und J. THIEN (1996)

Anwendbarkeit von Abklatschverfahren für die Untersuchung von Oberflächenkeimgehalten bei Schlachttierkörpern

Fleischwirtschaft 76, 1116-1118

GOLL, M., B. BRUNNER und M. BÜLTE (2002)

Evaluierung des NAD-Nachweis Colour Hygiene Tests zur Überprüfung der Sauberkeit von Oberflächen

43. Arbeitstagung Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e.V., Arbeitsgebiet Lebensmittelhygiene, Garmisch-Partenkirchen, Vortrag

GONG, X-D. und F. CHEN (1997)

Rapid detection of heterotrophic growth of *Haematococcus pluvialis* using indirect conductimetry

Biotechnology Techniques 11, 841-844

GRIFFITHS, M.W. (1996)

The role of ATP bioluminescence in the food industry: new light on old problems

J. Food Technol. 31, 62-72

GROSSKLAUS, D. und R. LEVETZOW (1967)

Neue Untersuchungen über die hygienisch-technologische Eignung von Schneidunterlagen aus Kunststoff

Fleischwirtschaft 47, 38-40

GUSTAVSSON, P. und J. KARLSSON (1997)

Evaluation of hygiene monitoring kit

Produktinformation Swab`N`Check[®] (Biotest) 9055, Göteborg

HAENKE, M. und G. REUTER (1992)

Desinfektionsreiniger in der Fleischgewinnung und -verarbeitung - Problematik der Umsetzung von Eintragungsempfehlungen der DVG-Liste in der Praxis

33. Arbeitstagung Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e.V., Arbeitsgebiet Lebensmittelhygiene, Garmisch-Partenkirchen, 91-95

HARTIG, M. (1996)

Rechtliche Grundlagen für betriebliche Eigenkontrollen und HACCP-Anwendungen

Fleischwirtschaft 76, 1279-1282

HATTAKA M., J. BJÖRKROTH, K. ASPLUND, N. MÄKI-PETÄYS und H. KORKAELA (2000)

Genotypes and enterotoxicity of *Staphylococcus aureus* isolated from hands and nasal cavities of flight catering-employees

J. Food Prot. 63, 1487-1491

HECHELMANN, H. (1993)

Hygieneaspekte sowie Anmerkungen zur Qualitätssicherung aus mikrobiologischer Sicht – Rückblick auf die IFFA`92

Fleischwirtschaft 73, 44-50

HECHELMANN, H. (1995)

Schlacht- und Zerlegebereich – Auffindung kritischer Kontrollpunkte

Fleischwirtschaft 75, 267-271 und 418-423

HEILIGENTHAL, A. (1995)

Überprüfung der Effizienz von Reinigung und Desinfektion in einem Fleischgewinnungsbetrieb

Vet.-med. Diss., FU Berlin

HILLER, P. (1994)

Bestimmung des Hygienestatus der Fleisch- und Aufschnittabteilungen in Lebensmittelbetrieb

Vet.-med. Diss., FU Berlin

HILLER, P., G. HILDEBRANDT und R. KRÄMER (1995)

Ermittlung des Hygienestatus in Lebensmittelbetrieb

Arch. Lebensmittelhyg. 46, 77-80

HOFBAUER, P., T. REISINGER und P. PAULSEN (1997)

Agarkontaktverfahren und ATP-Messung: Feldversuche zur
Reinigungskontrolle in Fleischverarbeitenden Betrieben

38. Arbeitstagung Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e.V.,
Arbeitsgebiet Lebensmittelhygiene, Garmisch-Partenkirchen, 464-467

HOFSCHULTE, B. (1996)

Hygieneüberwachung in Fleischlieferbetrieben mit Hilfe des RODAC-
Verfahrens – Ergebnisse und Interpretation

37. Arbeitstagung Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e.V.,
Arbeitsgebiet Lebensmittelhygiene, Garmisch-Partenkirchen, 78-82

JÖCKEL, J. (1996)

Einsatz der Impedanzmethode in der Lebensmittelüberwachung
Fleischwirtschaft 76, 945-950

JOHANSEN, C., P. FALHOLT und L. GRAM (1997)

Enzymatic removal and disinfection of bacterial biofilms
Appl. Environ. Microbiol. 63, 3724-3728

KÄSTNER, W. (1981)

Desinfektion bei der Lebensmittelherstellung - Wirkstoffe und deren
toxikologische Beurteilung

Arch. Lebensmittelhyg. 32, 117-125

KELCH, F. und H. FRIES (1959)

Durchführung bakteriologischer Kontrollen in fleischverarbeitenden Betrieben
Fleischwirtschaft 39, 1011-1018

KERSKEN, H. (1973)

Eignung von Schneidbrettern für den praktischen Betrieb
Fleischwirtschaft 53, 939-940

KEUCHEL, H. und V. TARKKANEN (2001)

Nachweis von Salmonellen über Biolumineszenz

Symposium Schnellmethoden und Automatisierung in der
Lebensmittelmikrobiologie, 4.-6.7.2001, FH Lippe/Lemgo, Vortrag

KINDLIMANN, K. (1966)

RODAC-Petrischalen für Umgebungsuntersuchungen in Lebensmittelbetrieben

Alimenta 3, 96-97

KIRCHER, D., M. BÜLTE und G. REUTER (1995)

Eignung eines Biolumineszenzverfahrens zur Überprüfung der Reinigung und
Desinfektion im Fleischverarbeitungsbereich

36. Arbeitstagung Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e.V.,
Arbeitsgebiet Lebensmittelhygiene, Garmisch-Partenkirchen, 86-94

KLEIN, H.-J. und H.-P. WERNER (1969)

Eine einfache Methode zur Anfertigung von Abklatschkulturen für den
Nachweis von Keimträgern bei der Bekämpfung des Hospitalismus

Zbl. für Bakteriologie, Orig. A 211, 395-399

KLEINER, U. (1997)

Einrichtung und Überwachung kritischer Kontrollpunkte in Großküchen

38. Arbeitstagung Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e.V.,
Arbeitsgebiet Lebensmittelhygiene, Garmisch-Partenkirchen, 439-444

KOBE, A., B. GRAVE, H. FISCHER und R. FRIES (2000)

Untersuchungen zu Oberflächenkeimgehalten in Küchen der
Gemeinschaftsverpflegung

41. Arbeitstagung Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e.V.,
Arbeitsgebiet Lebensmittelhygiene, Garmisch-Partenkirchen, 507-513

LEHNINGER, A., D.L. NELSON und M.M. COX (1994)

Prinzipien der Biochemie

Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg 2. Auflage, 457-459

LEVETZOW, R. (1990)

Hygiene der Gemeinschaftsverpflegung

Bundesgesundheitsblatt 33, 87-89

LOUWERS, J. und G. KLEIN (1994 a)

Eignung von Probenahmemethoden zur Umgebungsuntersuchung in fleischgewinnenden und –verarbeitenden Betrieben mit EU-Zulassung

Berl. Münch. TÄ-Wochenschrift 107, 367-373

LOUWERS, J. und G. KLEIN (1994 b)

Zur Probenahmetechnik bei der mikrobiologischen Prozeßkontrolle

35. Arbeitstagung Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e.V.,
Arbeitsgebiet Lebensmittelhygiene, Garmisch-Partenkirchen, 65-70

MARX, H., B. SCHALCH, B. BRUNNER und A. STOLLE (1998)

Entwicklung der Eigenkontrollpläne in der „Klein“-Gastronomie

Amtstierärztlicher Dienst und Lebensmittelkontrolle, 204-211

MAYER, M. (1996)

Zur Bewertung des Hygienestatus von Einrichtungen zur
Gemeinschaftsverpflegung

Vet.-med. Diss., LMU München

MOJE, M. (1995)

Eignung eines Biolumineszenzverfahrens zur Überprüfung der Reinigung und
Desinfektion im Fleischverarbeitungsbereich

Tagungsunterlagen: Hygiene-Monitoring-Symposium, Fa. Merck, Darmstadt

MOJE, M. und H. HECHELMANN (1995)

Biolumineszenz-Schnellmethode: eine Möglichkeit zur Überprüfung von
Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen?

Mitteilungsblätter der Bundesanstalt für Fleischforschung, Kulmbach 34,
193-198

NIENHOFF, M. und A. STOLLE (2000)

Betriebliche Eigenkontrollen in Küchen sozialer Einrichtungen

41. Arbeitstagung Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e.V.,
Arbeitsgebiet Lebensmittelhygiene, Garmisch-Partenkirchen, 46-50

NISKANEN, A. und M.S. POHJA (1977)

Comparative studies on the sampling and investigation of surfaces by the
contact plate and swab methods

J. Appl. Bact. 42, 53-63

N.N. (2001)

Was ist eigentlich und was macht der Codex Alimentarius?

Rundschau für Fleischhygiene und Lebensmittelüberwachung, 1, 11

OPDERBECK, R. (1992)

Hygienekontrolle der Küchen von Weddinger Kindertagesstätten (Berlin)
während der Jahre 1980-1990 mit Hilfe des RODAC-Abklatschverfahrens

Vet.-med. Diss., FU Berlin

ORTH, R. und M. STEIGERT (1996)

Hygienekontrolle: Praxiserfahrung mit der ATP-Biolumineszenzmeßmethode
zur Kontrolle des Hygienestatus nach der Reinigung in einem
Fleischzerlegebetrieb

Fleischwirtschaft 76, 40-41

OVER, S. (1994)

Der Einsatz des „Bactometers“ in mikrobiologischen Laboratorien der
milchverarbeitenden Industrie

dmz Lebensmittelind. Milchwirtsch. 115, 432-435

PLESS, P. und T. REISINGER (1995)

Einsatz der Impedanz-Splitting-Methode zur schnellen Bestimmung des
Oberflächenkeimgehaltes auf Schlachttierkörpern

Fleischwirtschaft 75, 1149-1152

PLESS, P. und H. PLETZ (1995)

Zur Aussagekraft von Abklatschuntersuchungen bei der Bestimmung des Oberflächenkeimgehalts von Schlachttierkörpern und sanierten Oberflächen

36. Arbeitstagung Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e.V.,
Arbeitsgebiet Lebensmittelhygiene, Garmisch-Partenkirchen, 63-67

POGGEMANN, H.-M. und J. BAUMGART (1996)

Hygienemonitoring durch ATP-Bestimmung mit dem System HY-LiTE[®]

Fleischwirtschaft 76, 132-133

REBER, H. (1973)

Stellungnahme zu Diskussionsbemerkungen „Definition der Desinfektion“

Zbl. Bakt. Hyg. 157, 463-477

REUTER, G. (1984)

Ermittlung des Oberflächenkeimgehalts von Rinderschlachttierkörpern

Fleischwirtschaft 64, 1247-1252

REUTER, G. (1994 a)

Sinn und Unsinn einer mikrobiologischen Prozeßkontrolle bei der
Fleischgewinnung und -verarbeitung

35. Arbeitstagung Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e.V.,
Arbeitsgebiet Lebensmittelhygiene, Garmisch-Partenkirchen, 29-46

REUTER, G. (1994 b)

Zur Wirksamkeit von Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen bei der
Fleischgewinnung und -verarbeitung. Einflußfaktoren und
Anwendungsempfehlungen

Fleischwirtschaft 74, 808-813

REUTER, H. (1962)

Vorschlag für eine modifizierte bakteriologische Betriebskontrolle

Fleischwirtschaft 42, 26-27

RIGARLSFORD, J. (1992)

The pros and cons of using ATP to monitor hygiene

J. Biolum. Chemilumin. 7, 258-259

RUDOLPH, M., J. KRÖGER und G. SAHNER (1995)

Von der Qualitätskontrolle zur Qualitätssicherung

Fleischwirtschaft 75, 974-976

RÜHLMANN, S. und F. FELDHUSEN (1995)

Untersuchungen zur Aussagekraft verschiedener
Oberflächenabklatschsysteme bei unterschiedlichen Materialien

36. Arbeitstagung Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e.V.,
Arbeitsgebiet Lebensmittelhygiene, Garmisch-Partenkirchen, 55-62

SCHALCH, B., H. MARX, M. NIENHOFF, M. BREHM und A. STOLLE (2000)

Eigenkontrollen in registrierten Metzgereien

Amtstierärztlicher Dienst und Lebensmittelkontrolle 7, 157-162

SCHMIDHOFER, TH. (1988)

Untersuchungsmethoden

in Prändl, O., Fischer, A., Schmidhofer, Th., Sinell, H.-J.: Fleisch: Technologie
und Hygiene der Gewinnung, Ulmer Verlag, Stuttgart, 679-753

SCHMIDT, U. (1984)

Reinigungsmittel in der Fleischwirtschaft

Fleischwirtschaft 64, 1231-1236

SCHMIDT, U. und Z. BEM (1978)

Wie soll im Fleischwarenbetrieb gereinigt und desinfiziert und die Wirkung
kontrolliert werden ?

Fleischwirtschaft 58, 1482-1484

SCHMIDT, U. und L. LEISTNER (1981)

Reinigung und Desinfektion in der Fleischwirtschaft

in: Schiesser, T. und D. Strauch: Desinfektion in der Tierhaltung, Fleisch- und Milchwirtschaft, Enke Verlag, Stuttgart, 326-406

SCHRÖDER, K. (1993)

Reinigung im Fleischwarenbetrieb

in: Praxis der Hygieneüberwachung durch den amtlichen Tierarzt, Bayrische Landestierärztekammer, München, 27-39

SCHRÖDER, K. und H.-H. GROVE (1998)

Betriebliche Eigenkontrollen

Amtstierärztlicher Dienst und Lebensmittelkontrolle 5, 122-126

SCHULENBURG, J. und T. BERGANN (1996)

Zum Problem der Gesamtkeimzahlbestimmung mit Hilfe der Impedanztechnik

37. Arbeitstagung Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e.V.,
Arbeitsgebiet Lebensmittelhygiene, Garmisch-Partenkirchen, 206-212

SCHULZE, G. (2000)

Untersuchung zur Repräsentanz der RODAC-Abklatschtechnik

Vet.-med. Diss., FU Berlin

SCHULZE, G. und G. HILDEBRANDT (1994)

Untersuchung zur Repräsentanz der RODAC-Abklatschtechnik

35. Arbeitstagung Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e.V.,
Arbeitsgebiet Lebensmittelhygiene, Garmisch-Partenkirchen, 178-188

SCHULZE, G. und G. HILDEBRANDT (1995)

Vergleichende Untersuchung mit der Naß-Trockentupfer-Technik und dem
RODAC-Abklatschverfahren

36. Arbeitstagung Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e.V.,
Arbeitsgebiet Lebensmittelhygiene, Garmisch-Partenkirchen, 26.09.-
29.09.1995, 68-77

SEELIGER, P.R. (1974)

Gemeinschaftsverpflegung aus Sicht des Hygienikers

Ernährungs-Umschau 21, 375-378

SILLEY, P. und S. FORSYTHE (1996)

Impedance microbiology – a rapid change for microbiologists (a review)

J. Appl. Bact. 80, 233-243

SINELL, H.-J. (1989)

HACCP und Lebensmittelgesetzgebung

Fleischwirtschaft 69, 1328-1337

SINELL, H.-J. (1992)

Einführung in die Lebensmittelhygiene

Verlag Paul Parey, Berlin, 3. Auflage

SINGH, A. , R.C. KUHAD, V. SAHAI und P. GOSH (1994)

Evaluation of Biomass

Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology 51, 48-70

STEINBÜCHEL, P. (2000)

Überprüfung der Schädlingskontrolle/-bekämpfung in
lebensmittelverarbeitenden Betrieben – keine Aufgabe für die amtliche
Lebensmittelüberwachung?

41. Arbeitstagung Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e.V.,
Arbeitsgebiet Lebensmittelhygiene, Garmisch-Partenkirchen, 51-56

STEINHOF, U., F. FELDHUSEN und S. WENZEL (1998)

Kontrolle der Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen mittels
unterschiedlicher Verfahren in einer Großküche

39. Arbeitstagung Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e.V.,
Arbeitsgebiet Lebensmittelhygiene, Garmisch-Partenkirchen, 565-572

STEPHAN, R., R. THOLEN und F. UNTERMANN (1994)

Eignet sich die ATP-Messung zur Bewertung der Keimbelastung von Frischfleisch bei der Wareneingangskontrolle?

35. Arbeitstagung Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e.V., Arbeitsgebiet Lebensmittelhygiene, Garmisch-Partenkirchen, 59-64

STEWART, G.S.A.B. und P. WILLIAMS (1992)

Lux genes and the applications of bacterial luminescence

J. Gen. Microbiol. 138, 1289-1300

STRYER, L. (1996)

Biochemie

Spektrum, Akademischer Verlag, Heidelberg 4. Auflage, 472-476, 536, 806-823, 640-656, 700-714

TEN CATE, L. (1963)

Die einfache und schnelle bakteriologische Betriebskontrolle in Fleisch verarbeitenden Betrieben mittels Agar-"Würsten" in Rilsan-Kunstdarm

Fleischwirtschaft 43, 483-487

THIEL, W. (1980)

Betriebshygiene und Technologie in Großküchen

Fleischwirtschaft 60, 1871-1875

THOMAS, M. (1961)

The sticky film method for detecting skin staphylococci

Mon. Bull. Min. Hlth., London 20, 37-40

THRAN, V. (1979)

Mikrobiologische Untersuchung von Oberflächen – ein Probenahmegerät

Fleischwirtschaft 59, 950-953

TSIOURI, E., M. GUTMANN und G. PFEIFFER (1994)

Reinigung und Desinfektion in der Großküche: Hygieneplan, CCP's, Eignung von ATP als Leitsubstanz für unzureichende Dekontamination

31. Wiss. DGE-Kongreß, Kurzfassungen; Ernährungsumschau 41, 124

UNTERMANN, F. (1997)

Rechtskonforme Integration des HACCP-Systems des Codex Alimentarius in die betrieblichen Eigenkontrollen nach § 4 der LMHV

38. Arbeitstagung Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e.V., Arbeitsgebiet Lebensmittelhygiene, Garmisch-Partenkirchen, 37-40

UNTERMANN, F. (1999)

Betriebseigene Maßnahmen und Kontrollen: Unterschiede zwischen § 4 LMHV und den produktspezifischen vertikalen Vorschriften

40. Arbeitstagung Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e.V., Arbeitsgebiet Lebensmittelhygiene, Garmisch-Partenkirchen, 43-46

UNTERMANN, F. und U. DURA (1996)

HACCP-Konzept: Theorie und Praxis

Fleischwirtschaft 76, 700-706

UPMANN, M (1996)

Der Oberflächenkeimgehalt des Schweinefleisches vor und nach dem Zerlegeprozeß sowie Beobachtungen zur Betriebshygiene und deren Überprüfung mit dem Naß-Trockentupfer-Verfahren

Vet.-med. Diss., FU Berlin

URL, B. (1991)

Nachweis von Rekontaminationskeimen in Trinkmilch mit Hilfe der Impedanzmessung

32. Arbeitstagung Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e.V., Arbeitsgebiet Lebensmittelhygiene, Garmisch-Partenkirchen, 313-319

VOET, D. und J. VOET (1995)

Biochemistry

John Wiley & Sons, New York., 2nd edition, 822-827

WAWERLA, M. (1998)

Quantitativer Nachweis von *Clostridium perfringens* in Hackfleisch mittels Impedanzmessung

Vet.-med. Diss., LMU München

WAWERLA, M., B. SCHALCH und H. EISGRUBER (1996)

Einsatz der Impedanzmessung zum Nachweis von *Clostridium perfringens* in Lebensmitteln

37. Arbeitstagung Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e.V.,
Arbeitsgebiet Lebensmittelhygiene, Garmisch-Partenkirchen, 229-233

WEBER, R., W. ZENS und M. BÜLTE (1997)

Kontrolle der Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen im
Fleischverarbeitungsbereich mit unterschiedlichen Verfahren unter besonderer
Berücksichtigung des Swab`N`Check Tests

38. Arbeitstagung Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e.V.,
Arbeitsgebiet Lebensmittelhygiene, Garmisch-Partenkirchen, 574-578

WERLEIN, H.-D. (1996)

Bestimmung des Oberflächenkeimgehaltes von Rind- und
Schweineschlachttierkörpern mit der Biolumineszenzmethode

Fleischwirtschaft 76, 179-183

WERLEIN, H.-D. (1997)

Schnellnachweis der mikrobiellen Belastung von Fleisch und
Schlachttierkörperoberflächen mittels der Biolumineszenztechnologie

Rundschau f. Fleischhygiene und Lebensmittelüberwachung 49, 123-127

WERLEIN, H.-D. (1999)

Mikrobiologische Qualitätskontrolle von Nordseekrabben mittels der ATP-Biolumineszenz

40. Arbeitstagung Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e.V.,
Arbeitsgebiet Lebensmittelhygiene, Garmisch-Partenkirchen, 361-366

WERLEIN, H.-D. (2001)

Biolumineszenz: Möglichkeiten und Grenzen zur Keimzahlbestimmung und
Hygienekontrolle

Symposium Schnellmethoden und Automatisierung in der Lebensmittelhygiene,
4.-6.7.2001, FH Lippe/Lemgo

WIENINGER-RUSTEMEYER, R. (1982)

Hygienische Anforderungen an küchentechnische Arbeiten in der
Gemeinschaftsverpflegung

Ernährungsumschau 29, 328-334

ZABRISKIE, D.W. und A.E. HUMPHREY (1978)

Estimation of fermentation biomass concentration by measuring culture
fluorescence

Applied and Environmental Microbiology 35, 337-343

Rechtliche Vorschriften und Normen

COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES (1987)

Code of good hygiene practices

Brüssel: EG Dokument VI/5938/87 (PVET/2140)

DIN-Norm 10113-1 (1997)

Bestimmung des Oberflächenkeimgehaltes auf Einrichtungs- und Bedarfsgegenständen im Lebensmittelbereich, Teil 1: Quantitatives Tupferverfahren (Referenzverfahren)

Beuth Verlag, Berlin

DIN-Norm 10113-2 (1997)

Bestimmung des Oberflächenkeimgehaltes auf Einrichtungs- und Bedarfsgegenständen im Lebensmittelbereich, Teil 2: Semiquantitatives Tupferverfahren

Beuth Verlag, Berlin

DIN-Norm 10113-3 (1997)

Bestimmung des Oberflächenkeimgehaltes auf Einrichtungs- und Bedarfsgegenständen im Lebensmittelbereich, Teil 3: Semiquantitatives Verfahren mit Nährbodenbeschichteten Entnahmeverrichtungen (Abklatschverfahren)

Beuth Verlag, Berlin

DIN-Norm Entwurf 10115 (1998)

Grundlagen des Nachweises und der Bestimmung von Mikroorganismen mittels Impedanzverfahrens

Beuth Verlag, Berlin

DIN 10516 Lebensmittelhygiene – Reinigung und Desinfektion

Beuth Verlag, Berlin

Entscheidung 2001/471/EG

Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften, 165, 48-53

Lebensmittelhygiene-Verordnung (LMHV) vom 5. August 1997 (BGBl. S.2008)

Stellungnahme der EU-Kommission zur Durchführung der Richtlinie
93/43/EWG, Dok. DE/03/95/5383

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Andreas Stolle für die Überlassung des Themas, die jederzeit gewährte Unterstützung, die freundliche Aufnahme am Institut und die Korrektur dieser Arbeit.

Frau Dr. Barbara Schalch danke ich für die kompetente und freundliche Betreuung, sowie für Rat und Hilfe während der gesamten Erstellung.

Herrn Prof. Dr. Osterkorn danke ich für die Beratung bei der Datenauswertung.

Bei allen Mitarbeitern des Instituts möchte ich mich für die mir entgegengebrachte Hilfsbereitschaft und die angenehmen Arbeitsbedingungen bedanken, insbesondere auch bei Frau Margit Schmidt für die gründliche Überprüfung des Literaturverzeichnisses.

Ebenso gilt mein Dank der Firma Merck, besonders Frau Lamprecht-Schaal für die fachliche, sowie materielle Hilfestellung.

Ganz herzlich danke ich meinen Eltern für Ihre Unterstützung und ein spezielles Dankeschön geht an meinen Freund Axel Wimbersky für die geduldigen Stunden am Computer.

LEBENS LAUF

Michaela Trautsch

geboren am 06.09.1972 in München

Eltern:

Josef Trautsch (12.03.1936), Diplomingenieur

Heidi Trautsch (12.07.1943), Hausfrau

Schulbildung:

1979 - 1983 Grundschule an der Jahnstraße/Unterhaching

1983 - 1985 Gymnasium Unterhaching

1985 - 1986 Staatliche Realschule in Taufkirchen

1987 - 1989 Deutsche Schule Kuala Lumpur/Malaysia

1989 - 1992 Gymnasium Unterhaching

Schulabschluss:

Allgemeine Hochschulreife

Berufsausbildung und Berufstätigkeit:

1993 - 1995 Ausbildung zur Tierarzhelferin und anschließende
Tätigkeit in der Praxis Dr. Bohn, München

1995 - 03.2001 Studium der Tiermedizin an der LMU München

seit 1996 Vorträge und Schulungen für die Firma
Royal Canin

09.04.2001 Approbation als Tierärztin

seit 16.07.01 Promotionsstudium an der tiermedizinischen
Fakultät der LMU München

seit 08.05.01 Selbständige Tierärztin in der Kleintierpraxis
Dr. M. Kraussmüller, München