



NBB[®]-B-Am Broth Manual



DÖHLER
MICROSAFETY
DESIGN[®]
NBB[®]-B-Am
BROUILLON
Nachweismedium
für bierschädliche Bakterien.
Originalherstellung nach BACK.
Jede Charge wird mit
speziell ausgewählten
Bierschädlingen
getestet.



WE BRING
IDEAS TO LIFE. | NATURAL INGREDIENTS
INGREDIENT SYSTEMS
INTEGRATED SOLUTIONS

Table of contents

	Page
1. Introduction: Hygiene monitoring with NBB®-B-Am Broth	3
2. NBB®-B-Am Broth – Packaging formats	4
3. Storage	4
4. Intended purpose	5
5. Safety requirements	5
6. Quality control	5
7. Your benefits with the ready-to-use medium: NBB®-B-Am Broth	6
8. Recommended equipment	6
9. Important information	7
10. Protocol for NBB®-B-Am Broth (bottle article no. 2.04706.782)	8
10.1. Preparation of swab tubes	9
10.1.1. Filling the swab tubes	9
10.1.2. Closing the swab tubes	9
10.2. Sample collection	10
10.2.1. Emptying the swab tubes	10
10.2.2. Sampling	10
10.3. NBB®-B-Am Broth addition and incubation	11
10.3.1. Filling the swab tubes with NBB®-B-Am Broth	11
10.3.2. Incubating the samples	11
10.4. NBB®-B-Am Broth: Results analysis	12
10.4.1. NBB®-B-Am Broth sample analysis	12
10.4.2. NBB®-B-Am hygiene monitoring	13
11. Protocol for NBB®-B-Am Broth (tubes article no. 2.04706.646)	16
11.1. NBB®-B-Am Broth in tubes: Sampling and incubation	17
11.1.1. Sampling with NBB®-B-Am Broth in tubes	17
11.1.2. Incubation of NBB®-B-Am Broth in tubes	18
11.2. NBB®-B-Am Broth in tubes – Results analysis	18
11.2.1. NBB®-B-Am Broth in tubes – Sample analysis	18
11.2.2. NBB®-B-Am Broth hygiene monitoring	19
12. FAQs on application and evaluating the results	22
12.1. NBB®-B-Am Broth (bottle article no. 2.04706.782)	22
12.2. NBB®-B-Am Broth (tubes article no. 2.04706.646)	23
13. Appendix:	23
13.1. Brief overview: NBB®-B-Am Broth – Analysis	23
13.2. Glossary (in alphabetical order)	24
14. Supply sources	24
15. Information	25
15.1. Trademarks	25
15.2. Distribution	25
15.3. Recommended further reading	25

1. Introduction: Hygiene monitoring with NBB®-B-Am Broth

In the beverage industry, monitoring microbiological hygiene is an essential element of the hygiene concept to prevent microorganisms and their harmful substances from contaminating products. Microbial contamination in production is often caused by biofilms. They develop in many places in production and filling environments (e.g. on machine components) and are not always visible.

Biofilms are composed of a multitude of different microorganisms living in association with each other (see Figure 1). The mutual supply of nutrients and growth promoters within biofilms guarantees the survival of the microorganisms even under difficult conditions. Particular challenges are posed by persistent biofilms. They are usually resistant to simple cleaning methods. Therefore, it is important to constantly monitor biofilm formation and thus to prevent the formation of persistent biofilms.

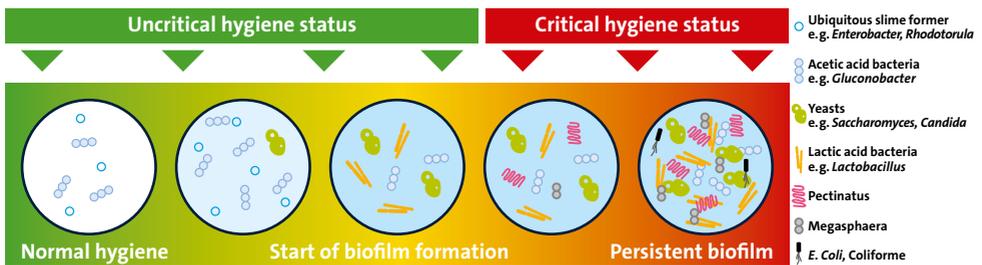


Figure 1: Sequential biofilm formation in a production environment (according to Back, W. 1994a,b; 2003).

NBB®-B-Am Broth is an optimized nutrient broth for the cultivation and qualitative detection of biofilm indicator microorganisms (e.g.: lactic acid and acetic acid bacteria) in the beverage industry, for example in breweries, wineries and filling plants for non-alcoholic beverages. The presence of biofilm indicator microorganisms can be detected quickly and easily by a specific colour change of the culture broth from red to yellow. Continuous recording of the microbial hygiene status with **NBB®-B-Am** Broth allows the analysis of microbial biofilm development and the use of targeted cleaning methods as well as the establishment of microbiological preservation methods in the production chain.

2. NBB[®]-B-Am Broth – Packaging formats

NBB[®]-B-Am Broth is available in two packaging formats:



2.04706.646

2.04706.782

Article no.	Doehler Microsafety Design [®] -product format	Description	Target bacteria	Packaging unit
2.04706.782	NBB[®]-B-Am Bottle	Ready-to-use NBB[®]-B-Am Broth used for detecting biofilm indicator bacteria by an indicator colour change	Biofilm indicator microorganisms: e. g.: Acetic acid and lactic acid bacteria	1x cardboard box (9x bottles of 250 ml)
2.04706.646	NBB[®]-B-Am Tubes			1x polystyrene box (20x glass tubes of 10 ml)

3. Storage

NBB[®]-B-Am Broth must be stored in a dark, dry place at a temperature of 4-8°C. The products must not be frozen. The unopened product can be used in the conditions outlined above until the expiration date. The expiration date can be found on the label on the packaging.

4. Intended purpose

The ready-to-use **NBB®-B-Am** Broth is intended for detecting biofilm indicator microorganisms in the beverage industry (such as: beer, wine, water, non-alcoholic beverages, juices, etc.).

When using the product, we recommend that you pay attention to the safety requirements outlined below and work particularly cautiously and hygienically to prevent secondary contamination during sampling.

5. Safety requirements

The basic rules for microbiological operations shall be followed when using this product. This includes using clean equipment such as lab coats, safety goggles and gloves. Such equipment not only contributes to your own personal safety, but also prevents any secondary contaminations being passed on by the user. The safety data sheet can be found at www.doehler-dmd.com.

NBB®-B-Am Broth is not suitable for consumption.



Special care is required when using Bunsen burners while wearing latex gloves. Always maintain a sufficiently safe distance from the flame. If the gloves catch fire, it can result in extremely severe injuries.



Fire hazard: Never use alcohol for sterilisation or decontamination purposes while working with an open flame (Bunsen burner).

6. Quality control

The quality of **NBB®-B-Am** Broth is carefully tested. In particular, the culture media's functionality is specifically tested, proved and confirmed using biofilm indicator microorganisms. You can obtain a certificate of analysis from Doehler GmbH.

7. Your benefits with the ready-to-use medium: NBB[®]-B-Am Broth

NBB[®]-B-Am Broth is a ready-to-use culture medium, eliminating the need for extensive and costly preparations such as weighing and mixing chemicals, in addition to adjusting the pH values and conducting subsequent autoclaving processes. This saves you both time and money so you can focus on your microbiological production hygiene straight away.

8. Recommended equipment

When using **NBB[®]-B-Am** Broth, the following items are recommended for carrying out the experiments:

Laboratory item	Use
Mobile Bunsen burner	Bunsen burner flames create a sterile work area (approx. 50 cm around the flame) in which microbiological experiments can be carried out. The heat kills off any germs present in the atmosphere. The Bunsen burner is also a useful tool for collecting sterile samples.
A sterile (serological) pipette (10 ml) with pipetting aid (e. g. Peleus ball or pipetting aid made of plastic)	(Serological) pipettes are suitable for transferring sterile liquids.  Warning: Never pipette fluids with your mouth! Always use a pipetting aid!
Test tube racks	NBB[®]-B-Am Broth tube holder.
Incubator with thermostat	For incubating samples at defined temperatures.
Disposable gloves	Disposable gloves to prevent secondary contamination by the user.

Laboratory item	Use
Sterile deionised water	For filling the swab tubes. The liquid moistens the swab so that samples can be collected even from dry spots.
Sterile swab tubes (plastic) (e. g. smear swabs, article no. 80.625, Sarstedt)	For use with NBB®-B-Am Broth bottles (2.04706.782). Not required for use with NBB®-B-Am Broth tubes (2.04706.646).
Sterile workbench	Essential lab equipment for sterile work.
Waste container (> 250 ml)	For collecting water from the swab tubes during sample collection.

9. Important information

Clean microbiological work is the basis of all analysis. Following the steps below is highly recommended (see **10. Protocol**, p. 8) in order to ensure reliable results and adherence to the safety guidelines.

NBB®-B-Am Broth is not suitable for consumption.

Following analysis, the incubated culture media should be deactivated using microorganisms before being disposed of. Autoclaving the culture media or disposing of them as hazardous waste is recommended for deactivation.

10. Protocol for NBB®-B-Am Broth (bottle article no. 2.04706.782)

For hygiene monitoring with **NBB®-B-Am** Broth, you define within your production (e. g. for each filling line) a fixed number of control points for which you want to perform a microbiological test. A number of about 20 to 30 points is recommended. From these points, samples are taken in defined intervals (recommended: 2x per week in summer; 1x per week in winter), and used for analysing the production hygiene. The following points can be considered for sampling; more or different points can be chosen depending on local conditions:

	Washing machine	Bottle inspector	Filler	Recloser
Sampling points	<ul style="list-style-type: none"> • In the condensate zone of the bottle discharge 	<ul style="list-style-type: none"> • Infeed, outfeed • Bottle conveyer • Other moistures sites 	<ul style="list-style-type: none"> • (Control) valves • Bells • Lifters • Infeed worms • Star wheel surfaces • Infeed/outfeed star wheels (inside) • Baffles • Casings/girders • Plastic rail guides 	<ul style="list-style-type: none"> • Guide rods (guides) • Piston • Crown cork infeed (plate) • Boarding • Infeed, outfeed • Bottle conveyer

Most of the work should be carried out under a sterile workbench in the laboratory to avoid secondary contamination. As shown in the schematic diagram below, samples are taken in the production and filling environment under the most sterile conditions possible. The entire work process with **NBB®-B-Am** Broth can be broken down into four steps (10.1. – 10.4.).



10.1. Preparation of swab tubes



10.1.1. Filling the swab tubes

Place a sufficient number of sterile swab tubes for each sampling point in a test tube rack under a sterile workbench.

Fill the swab tubes under the sterile workbench with 5 ml of sterile water*.

The liquid serves to moisten the swab so that samples can be collected even from dry spots.

*You can produce sterile water by autoclaving or sterile filtration of the desired volume of deionised water. It can also be obtained ready for use from a supplier.



10.1.2. Closing the swab tubes

Close the swab tubes.

Make sure not to touch the swabs to prevent any secondary contamination.

Mark or label the tubes.



Warning:

If you use plastic tubes, do not flame the tubes.

10.2. Sample collection

Take the water-filled swab tubes to the previously defined sampling points in the production or filling area. Also take a mobile Bunsen burner (if allowed in the production area) and a waste container (at least 250 ml volume).



10.2.1. Emptying the swab tubes

At the sampling point, tip the sterile water into the waste container.

When doing so, you should work – if possible – near the mobile Bunsen burner to ensure the most sterile environment possible. Where it is not possible to use an open flame, try to open the tubes as little as possible when emptying them.



10.2.2. Sampling

Rub the moistened swab carefully across the sampling point to collect sample material.

Then reinsert the swab into the empty tube and seal it.

Repeat steps 10.2.1. and 10.2.2. for all selected sampling points.

10.3. NBB[®]-B-Am Broth addition and incubation

After taking swab tubes from all sampling points, return to the lab and perform the following steps again under a sterile workbench.



10.3.1. Filling the swab tubes with NBB[®]-B-Am Broth

Open the swab tubes and fill them with 10 ml NBB[®]-B-Am Broth**. Work under a sterile workbench.

Seal the tube. Avoid touching the swab.

**With a little practice, you can do this simply by pouring from the bottle. At the beginning, it is easier to use a pipette for filling.



10.3.2. Incubating the samples

Incubate all swab tubes filled with NBB[®]-B-Am Broth at 27 ± 2 °C **under aerobic conditions** for a **maximum of 3 days**.

10.4. NBB[®]-B-Am Broth: Results analysis



10.4.1. NBB[®]-B-Am Broth sample analysis

The sampling points are analysed after a **maximum of 3 days** of incubation.

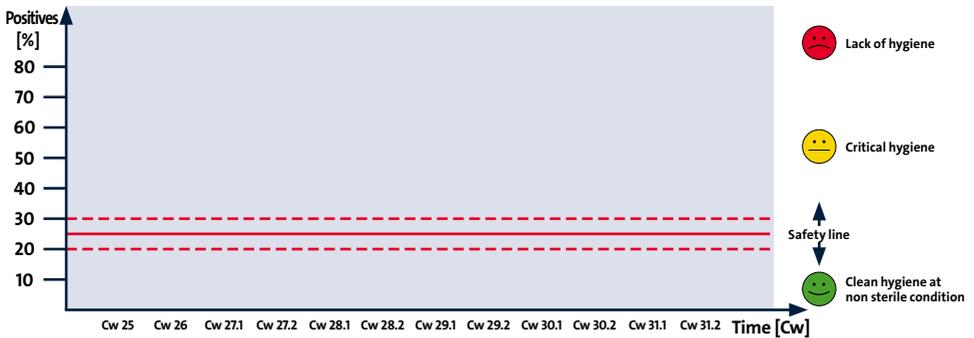
Strong biofilm formation occurs if an **NBB[®]-B-Am** tube turns yellow after just one day and becomes very turbid. There may also be gas formation.

For hygiene monitoring over time, you now add up all positive points (here, for example: 4 yellow tubes = 4 positive results).

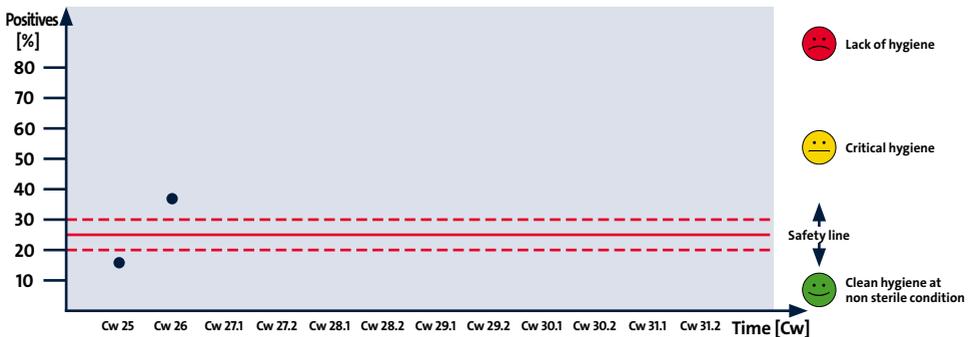
To determine the relative positive results, you then calculate the quotient from the positive results and the full number of sampling points, and multiply it by 100 (for example: 4 positive results / 12 sampling points · 100 = 33.3% positive results).

Due to the fact that you can never achieve a completely sterile production environment, there will always be a certain number of positive sampling points. This means that even with very thorough cleaning, there will be a colour change in the sample tubes at some points. This is why you define a safety line in 10.4.2. on p. 13.

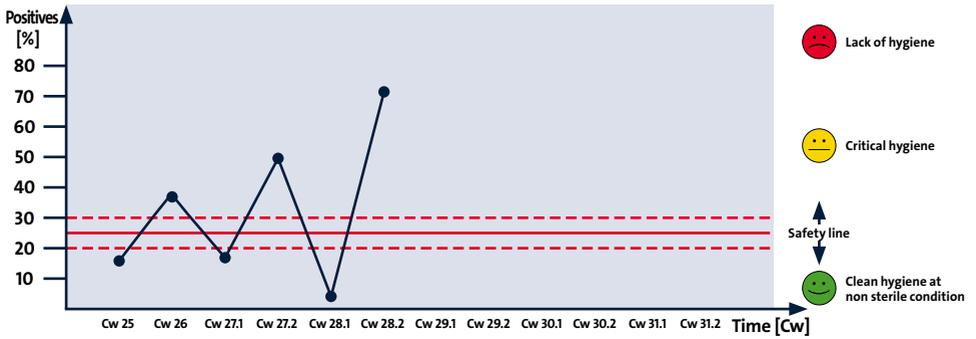
10.4.2. NBB®-B-Am Broth hygiene monitoring



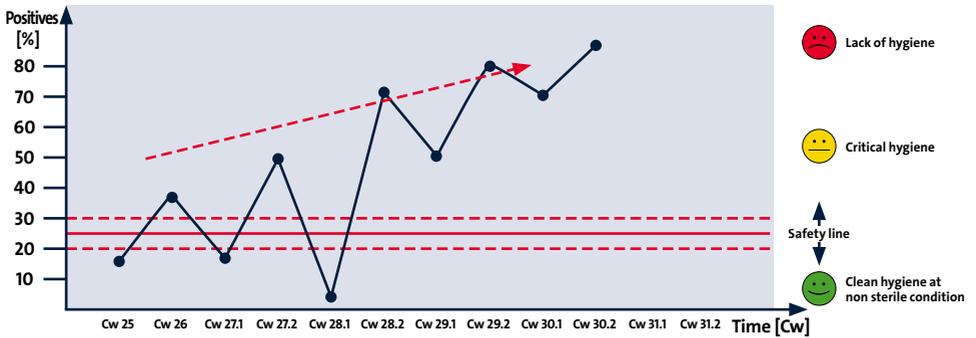
- a) ► Plot an XY diagram.
- On the y axis, you plot the relative positive results.
 - On the x axis, you plot the corresponding interval time (e. g. CW = calendar weeks).
 - Now you define a safety line somewhere between 20 and 30 %.
 - All points below the safety line represent "clean" production hygiene. Above the line is a critical zone of insufficient hygiene in which persistent biofilms develop.



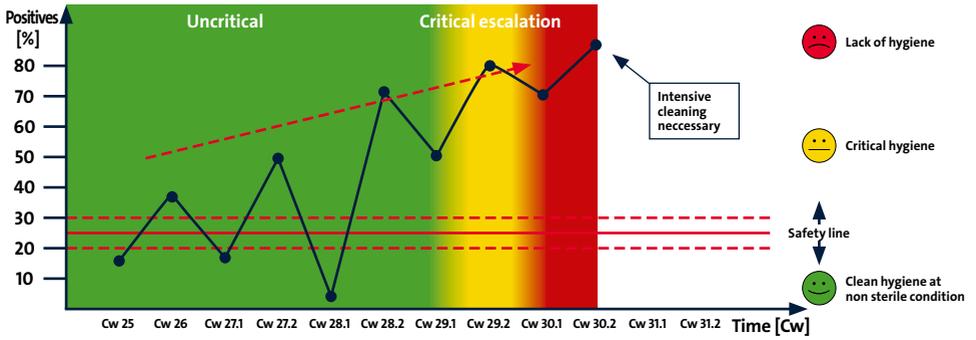
- b) ► Each result of one series of samples with **NBB®-B-Am** Broth is now added to the XY diagram.



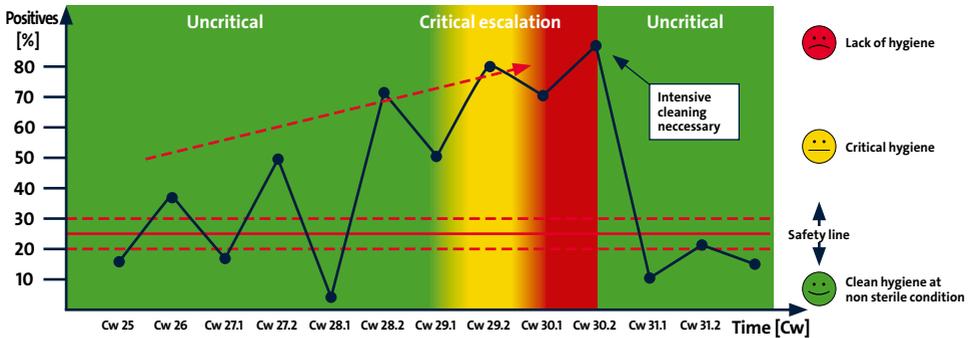
c) ► The individual measuring points can be connected by lines.



d) ► If you find that the **NBB®-B-Am** Broth samples are clearly above the safety line over several weeks, your hygiene status is reaching the critical zone that is characterised by the establishment of biofilms.



e) ► In order to avoid microbial damage to your product, you should carry out an in-depth cleaning if you observe such a condition.



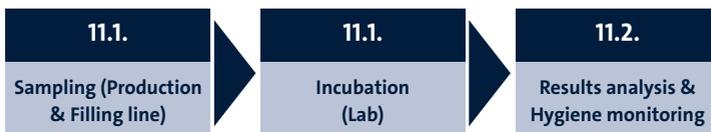
f) ► If your cleaning has been successful, the measuring points will return below the safety line.

11. Protocol for NBB®-B-Am Broth (tubes article no. 2.04706.646)

To use **NBB®-B-Am** Broth in tubes, you define within your production (e.g. for each filling line) a fixed number of control points for which you want to perform a microbiological test. A number of about 20 to 30 points is recommended. From these points, samples are taken in defined intervals (recommended: 2x per week in summer; 1x per week in winter), and used for analysing the production hygiene. The following points can be considered for sampling; more or different points can be chosen depending on local conditions:

	Washing machine	Bottle inspector	Filler	Recloser
Sampling points	<ul style="list-style-type: none"> • In the condensate zone of the bottle discharge 	<ul style="list-style-type: none"> • Infeed, outfeed • Bottle conveyer • Other moistures sites 	<ul style="list-style-type: none"> • (Control) valves • Bells • Lifters • Infeed worms • Star wheel surfaces • Infeed/outfeed star wheels (inside) • Baffles • Casings/girders • Plastic rail guides 	<ul style="list-style-type: none"> • Guide rods (guides) • Piston • Crown cork infeed (plate) • Boarding • Infeed, outfeed • Bottle conveyer

As shown in the schematic diagram below, samples are taken in the production environment under the most sterile conditions possible. As the tubes are pre-filled with **NBB®-B-Am** Broth, sampling can be started immediately. The complete work process with **NBB®-B-Am** Broth can be broken down into three steps (11.1. – 11. 2.).



11.1. NBB[®]-B-Am Broth in tubes: Sampling and incubation



11.1.1. Sampling with NBB[®]-B-Am Broth in tubes

The ready-to-use glass tubes are pre-filled with 10 ml **NBB[®]-B-Am** Broth.

You can therefore use the **NBB[®]-B-Am** tubes and the sterile packed wooden swabs (see Chapter 14, p. 24) to collect samples directly at the sampling points in the production area.

You will need one **NBB[®]-B-Am** tube and one wooden swab for each sampling point.

Hold the wooden swab at its upper end as far as possible during sampling.

With moist sampling points, you can use the swab directly for taking samples.

With dry sampling points, it is recommended to moisten the swab in the **NBB[®]-B-Am** Broth tube prior to use.



Warning:

Never dip the swab multiple times into the NBB[®]-B-Am Broth tube because of the increased risk of contamination.

Gently swab the moistened swab across the sampling point to collect sample material.

After inserting the swab into the **NBB[®]-B-Am** Broth tube, break off the part of the swab handle that protrudes from the tube.

Seal the **NBB[®]-B-Am** Broth tube and discard the broken end of the wooden swab.

Mark or label the **NBB[®]-B-Am** Broth tubes.



11.1.2. Incubation of NBB®-B-Am Broth in tubes

Incubate all **NBB®-B-Am** Broth tubes with the swab at 27 ± 2 °C **under aerobic conditions** for a **maximum of 3 days**.

11.2. NBB®-B-Am Broth in tubes – Results analysis



11.2.1. NBB®-B-Am Broth in tubes – Sample analysis

The sampling points are analysed after a **maximum of 3 days** of incubation.

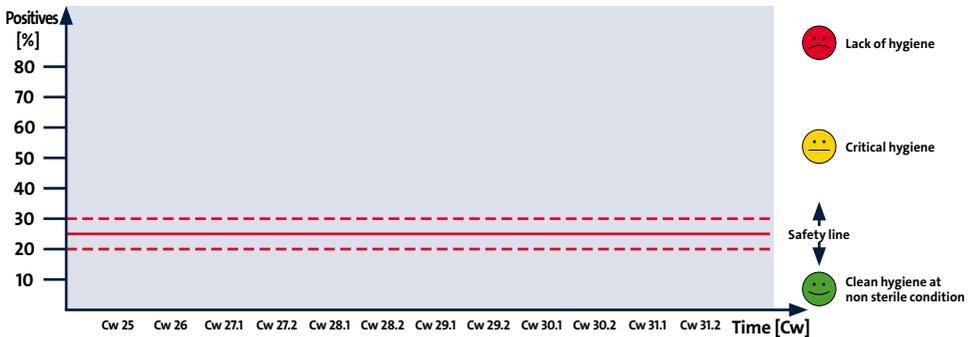
Strong biofilm formation occurs if an **NBB®-B-Am** Broth tube turns yellow after just one day and becomes very turbid. There may also be gas formation.

For hygiene monitoring over time, you now add up all positive points (here, for example: 3 yellow tubes = 3 positive results).

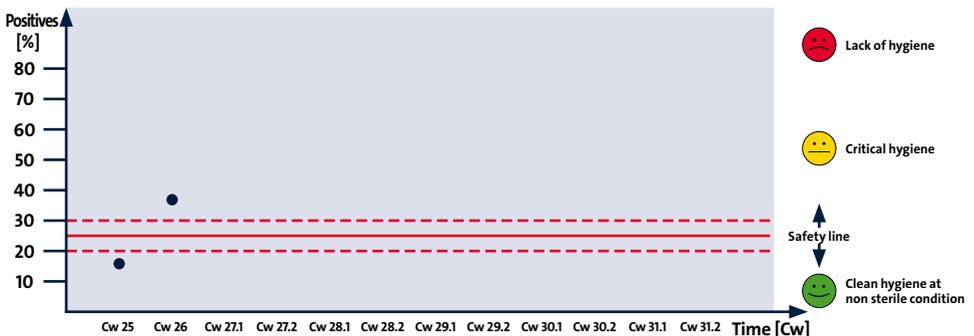
To determine the relative positive results, you then calculate the quotient from the positive results and the full number of sampling points, and multiply it by 100 (for example: 3 positive results / 12 sampling points · 100 = 25% positive results).

Due to the fact that you can never achieve a completely sterile production environment, there will always be a certain number of positive sampling points. This means that even with very thorough cleaning, there will be a colour change in the sample tubes at some points. This is why you define a safety line in 11.2.2. on p. 19.

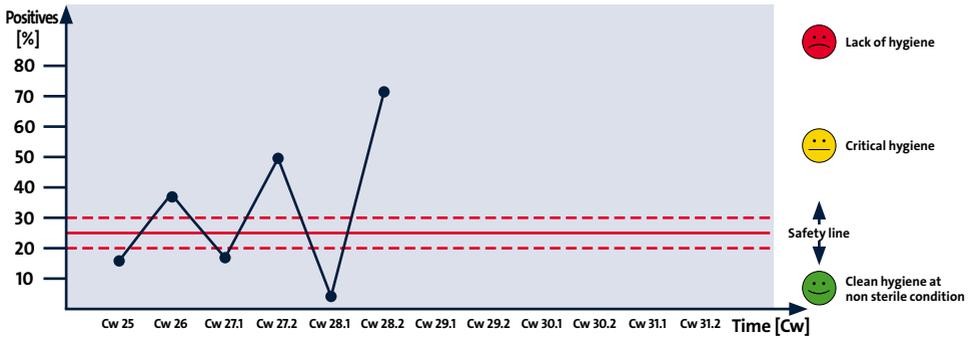
11.2.2. NBB®-B-Am Broth hygiene monitoring



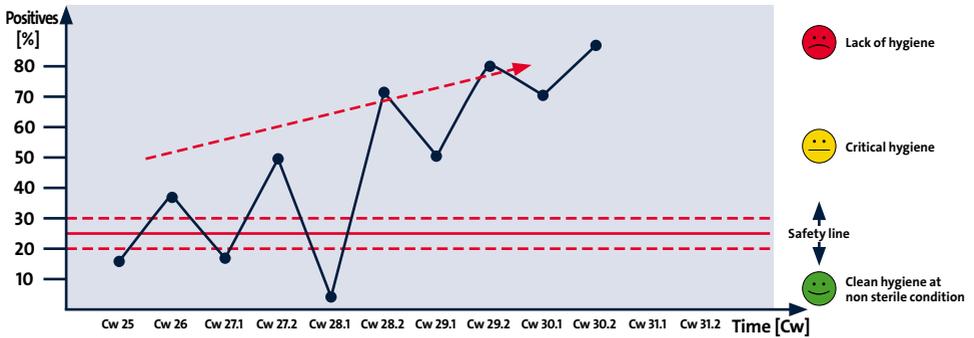
- a) ► Plot an XY diagram.
- On the y axis, you plot the relative positive results.
 - On the x axis, you plot the corresponding interval time (e. g. CW = calendar weeks).
 - Now you define a safety line somewhere between 20 and 30 %.
 - All points below the safety line represent "clean" production hygiene. Above the line is a critical zone of insufficient hygiene in which persistent biofilms develop.



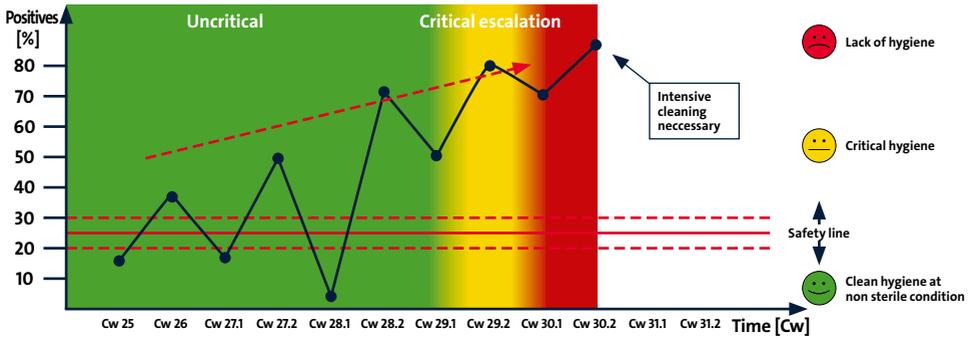
- b) ► Each result of one series of samples with **NBB®-B-Am** Broth is now added to the XY diagram.



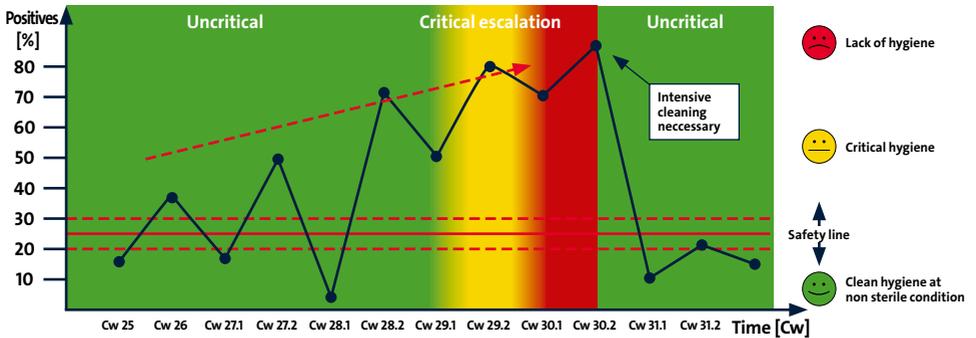
c) ► The individual measuring points can be connected by lines.



d) ► If you find that the **NBB®-B-Am** Broth samples are clearly above the safety line over several weeks, your hygiene status is reaching the critical zone that is characterised by the establishment of biofilms.



e) ► In order to avoid microbial damage to your product, you should carry out an in-depth cleaning if you observe such a condition.



f) ► If your cleaning has been successful, the measuring points will return below the safety line.

12. FAQs on application and evaluating the results

12.1. NBB®-B-Am Broth (bottle article no. 2.04706.782)

	Cause	Solution
Microbial growth after more than 3 days of incubation	The sampling of production sites always includes the incubation, in NBB®-B-Am , of a small number of microorganisms that are not biofilm indicator microorganisms (e. g. moulds). They can grow after more than 3 days, but cannot be used for the evaluation of biofilms.	Please evaluate NBB®-B-Am Broth samples after a maximum of 3 days of incubation.
Which microorganisms are detected with NBB®-B-Am? Is a targeted differentiation possible?	NBB®-B-Am Broth is mainly used for the detection of lactic acid and acetic acid bacteria.	Further culture media or methods have to be used for the differentiation of microorganisms.
Can samples be incubated under anaerobic conditions?	Anaerobic incubation prevents the growth of certain microorganisms (e. g. acetic acid bacteria) because of the absence of oxygen.	NBB®-B-Am Broth samples should always be incubated under aerobic conditions.
There is turbidity but no colour change?	The microorganisms grown do not cause a colour change. These microorganisms are not biofilm indicators.	Do not evaluate these tubes as positive results. Repeat examination of the sampling point to be on the safe side.

12.2. NBB[®]-B-Am Broth (tubes article no. 2.04706.646)

	Cause	Solution
Is NBB [®] -B-Am available in plastic tubes?	Because of the good autoclavability and inert characteristics of glass material, we offer only prefilled glass tubes.	If you want to use plastic tubes, please use NBB[®]-B-Am Broth in bottles.
What is the advantage of NBB [®] -B-Am tubes?	–	NBB[®]-B-Am in tubes need not be transferred from the bottle into the tube. Direct sampling in the production environment is possible.
Is the wooden swab included in the NBB [®] -B-Am in tubes?	No. NBB[®]-B-Am in tubes comes as 20 x 10 ml NBB[®]-B-Am in glass tubes without swabs.	Wooden swabs must be purchased separately (see Chapter 14, p. 24).

13. Appendix

13.1. Brief overview: NBB[®]-B-Am Broth – Analysis

DMD [®] Product/ sample	Sampling method	Incubation conditions	Analysis
NBB[®]-B-Am (bottle) 2.04706.782	Swab sample	Temp.: 27 ± 2°C Time: max. 3 days aerobic	Positive: Colour change, red to yellow, turbidity, (gas formation) Negative: No colour change, no turbidity
NBB[®]-B-Am (tube) 2.04706.646	Swab sample	Temp.: 27 ± 2°C Time: max. 3 days aerobic	Positive: Colour change, red to yellow, turbidity, (gas formation) Negative: No colour change, no turbidity

13.2. Glossary (in alphabetical order)

Differentiation	The process of distinguishing bacteria on the basis of their genus and species names; e.g. <i>Lactobacillus brevis</i> . Differentiation is the act of determining microorganisms.
Incubation	The process of incubating a culture medium under defined conditions and parameters (e.g. in terms of time and temperature).
Peleus ball	A rubber ball with valves used for sucking in and discharging liquids using glass or plastic pipettes.
Qualitative detection	Detection based on a yes/no statement, i.e. the sample does or does not contain microorganisms.
Serological pipette	Pipette usually made out of plastic or glass used for transferring liquids. The scale featured on the pipette displays the volume. Plastic pipettes are usually available in individual, sterile packaging.
Sterile	Sterile means free from bacteria and living microorganisms.

14. Supply sources

Doehler provides you with various solutions for quality control checks:

Article no.	Product	Packaging unit
2.04706.782	NBB®-B-Am Broth (bottle)	1 cardboard box (9x 250 ml)
2.04706.646	NBB®-B-Am Broth (tubes)	1 box (20x 10 ml)

The following products can be obtained from Doehler:

Article no.	Product	Packaging unit
2.04725.244	Sterile (wooden) swabs (individually packaged)	100 pc./package

All other recommended labware can be obtained from a laboratory supplier.

15. Information

15.1. Trademarks

NBB® and Doehler Microsafety Design® are both trademarks of Doehler GmbH that are registered and protected worldwide.

15.2. Distribution

You can find more information about our Doehler Microsafety Design® product portfolio on the website www.doehler-dmd.com.

Email contact: dmd@doehler.com

15.3. Recommended further reading

Back, W. (1994a) Sekundärkontaminationen im Abfüllbereich [Secondary Contamination in the Filling Area]. Brauwelt 16: 686-695.

Back, W. (1994b) Colour Atlas and Handbook of Beverage Biology. Hans Carl, Nuremberg, Germany.

Back, W. (2003) Biofilme in der Brauerei und Getränkeindustrie [Biofilms in the Brewery and Beverage Industry]. Brauwelt online 24/25, 1-5.

	Seite
1. Einleitung: Das Hygiene Monitoring mit NBB®-B-Am Bouillon	27
2. NBB®-B-Am Bouillon Verpackungsformate	28
3. Lagerung	28
4. Verwendungszweck	29
5. Sicherheitsbestimmungen	29
6. Qualitätskontrolle	29
7. Ihre Vorteile durch das gebrauchsfertige Medium: NBB®-B-Am Bouillon	30
8. Empfohlenes Equipment	30
9. Wichtige Hinweise	31
10. Protokoll NBB®-B-Am Bouillon (Flasche Art.-Nr. 2.04706.782)	32
10.1. Vorbereitung der Tupferröhrchen	33
10.1.1. Befüllen der Tupferröhrchen	33
10.1.2. Verschließen der Tupferröhrchen	33
10.2. Probennahme	34
10.2.1. Entleeren der Tupferröhrchen	34
10.2.2. Beprobung	34
10.3. NBB®-B-Am Bouillon Zugabe und Inkubation	35
10.3.1. Befüllung der Tupferröhrchen mit NBB®-B-Am Bouillon	35
10.3.2. Inkubieren der Proben	35
10.4. NBB®-B-Am Bouillon: Ergebnisanalyse	36
10.4.1. NBB®-B-Am Bouillon Probenanalyse	36
10.4.2. NBB®-B-Am Hygiene Monitoring	37
11. Protokoll NBB®-B-Am Bouillon (Röhrchen Art.-Nr. 2.04706.646)	40
11.1. NBB®-B-Am Bouillon in Röhrchen: Probennahme und Inkubation	41
11.1.1. Probennahme NBB®-B-Am Bouillon in Röhrchen	41
11.1.2. Inkubation NBB®-B-Am Bouillon in Röhrchen	42
11.2. NBB®-B-Am Bouillon in Röhrchen: Ergebnisanalyse	42
11.2.1. NBB®-B-Am Bouillon in Röhrchen Probenanalyse	42
11.2.2. NBB®-B-Am Hygiene Monitoring	43
12. Häufige Fragen zur Anwendung und zur Bewertung von Ergebnissen	46
12.1. NBB®-B-Am Bouillon (Flasche Art.-Nr. 2.04706.782)	46
12.2. NBB®-B-Am Bouillon (Röhrchen Art.-Nr. 2.04706.646)	47
13. Appendix:	48
13.1. Schnellübersicht: NBB®-B-Am Bouillon Analysen	48
13.2. Glossar (alphabetisch)	49
14. Bezugsquellen	50
15. Informationen	51
15.1. Trademarks	51
15.2. Vertrieb	51
15.3. Literaturempfehlung	51

1. Einleitung: Das Hygiene Monitoring mit NBB®-B-Am Bouillon

Die Überwachung der mikrobiologischen Hygiene ist in der Getränkeindustrie essenzieller Bestandteil eines Hygienekonzepts, um Produktkontaminationen durch Mikroorganismen und durch deren Schadstoffe zu verhindern. Mikrobielle Kontaminationen im Produktionsbereich werden dabei häufig durch Biofilme verursacht. Diese bilden sich an vielen Stellen in der Produktions- und Abfüllumgebung (z. B. an Maschinenteilen) und sind dort nicht immer sichtbar.

Biofilme setzen sich aus einer Vielzahl verschiedener, vergesellschafteter Mikroorganismen zusammen (siehe Abbildung 1). Die gegenseitige Versorgung von Nähr- und Wachstoffsstoffen innerhalb der Biofilme garantiert den Mikroorganismen ein Überleben, selbst unter schwierigen Bedingungen. Eine besondere Herausforderung stellen dauerhafte (sogenannte persistente) Biofilme dar. Sie widerstehen meist einfachen Reinigungsverfahren. Umso wichtiger ist es, die Biofilmbildung konstant zu überwachen und damit der Bildung von persistenten Biofilmen vorzubeugen.

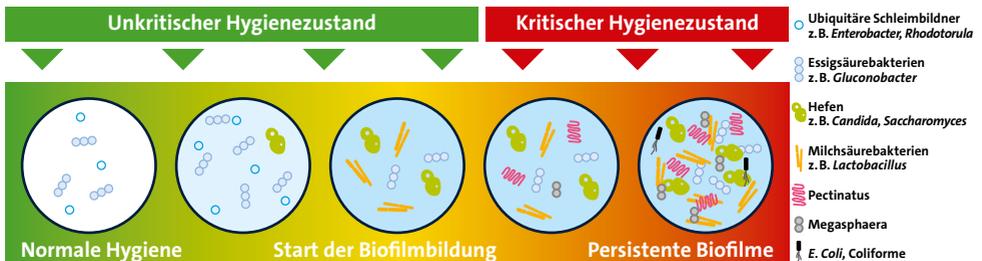


Abbildung 1: Zeitlicher Verlauf der Biofilmbildung im Produktionsumfeld (nach Back, W. 1994a,b; 2003).

NBB®-B-Am Bouillon ist eine optimierte Nährbouillon für die Kultivierung und den qualitativen Nachweis von Biofilmindikatormikroorganismen (z. B.: Milchsäure- und Essigsäurebakterien) in der Getränkeindustrie wie z. B. Brauereien, Weinkellereien und Abfüllbetrieben für alkoholfreie Getränke. Durch einen spezifischen Farbumschlag der Nährbouillon von rot nach gelb kann die Anwesenheit von Biofilmindikatormikroorganismen schnell und einfach nachgewiesen werden. Durch ein kontinuierliches Erfassen des mikrobiellen Hygienezustands mit **NBB®-B-Am** Bouillon ist es möglich, die mikrobielle Biofilmentwicklung zu analysieren und gezielte Reinigungsverfahren einzusetzen sowie mikrobiologische Konservierungsmethoden in der Produktionskette zu etablieren.

2. NBB[®]-B-Am Bouillon Verpackungsformate

NBB[®]-B-Am Bouillon ist in zwei Verpackungsformaten erhältlich:



2.04706.646

2.04706.782

Art.-Nr.	Döhler Microsafety Design [®] -Produktformat	Beschreibung	Zielkeim(e)	Verpackungseinheit
2.04706.782	NBB[®]-B-Am Flasche	Gebrauchsfertiges NBB[®]-B-Am Bouillon zur Detektion von Biofilmindikatorkeimen mittels Farbumschlag	Biofilmindikatormikroorganismen: z. B.: Essigsäure- & Milchsäurebakterien	1x Karton (9x Flaschen mit 250 ml)
2.04706.646	NBB[®]-B-Am Röhrchen			1x Styropor-Box (20x Glasröhrchen à 10 ml)

3. Lagerung

NBB[®]-B-Am Bouillon muss bei +4°C bis +8°C lichtgeschützt und trocken gelagert werden. Die Produkte dürfen nicht eingefroren werden. Das ungeöffnete Produkt ist unter den beschriebenen Bedingungen bis zum Ablauf des Mindesthaltbarkeitsdatums verwendbar. Das Mindesthaltbarkeitsdatum befindet sich auf dem Etikett der Verpackung.

4. Verwendungszweck

NBB®-B-Am Bouillon ist für den Nachweis von Biofilmindikatormikroorganismen in der Getränkeindustrie (beispielsweise Bier, Wein, Wasser, alkoholfreie Getränke, Säfte u. a.) vorgesehen.

Bei der Anwendung empfehlen wir auf die nachfolgenden Sicherheitsbestimmungen zu achten, sowie besonders sorgfältig und sauber zu arbeiten, um Sekundärkontaminationen bei der Probenentnahme zu vermeiden.

5. Sicherheitsbestimmungen

Die Grundregeln des mikrobiologischen Arbeitens sind bei der Verwendung dieses Produkts zu beachten. Dies beinhaltet eine saubere Ausrüstung wie Laborkittel, Schutzbrille und Handschuhe. Diese Ausrüstung dient neben dem Eigenschutz auch zur Vermeidung von Sekundärkontaminationen durch den Anwender. Das Sicherheitsdatenblatt können Sie über www.doehler-dmd.com erhalten. **NBB®-B-Am** Bouillon ist grundsätzlich nicht für den Verzehr geeignet.



Im Umgang mit einem Bunsenbrenner ist besondere Vorsicht erforderlich, wenn man mit Latexhandschuhen arbeitet. Daher immer einen ausreichenden Sicherheitsabstand zur Flamme einhalten. Brennende Handschuhe können zu schwerwiegenden Verletzungen führen.



Brandgefahr: Alkohol zur Entkeimung/Dekontamination niemals gleichzeitig bei offenem Feuer (Bunsenbrenner) einsetzen.

6. Qualitätskontrolle

Die Qualität von **NBB®-B-Am** Bouillon wird sorgfältig geprüft. Insbesondere die Funktionalität der Nährmedien wird mit Biofilmindikatormikroorganismen gezielt getestet und sichergestellt. Ein entsprechendes Analysenzertifikat können Sie über die Döhler GmbH erhalten.

7. Ihre Vorteile durch das gebrauchsfertige Medium: NBB[®]-B-Am Bouillon

NBB[®]-B-Am Bouillon ist ein gebrauchsfertiges Nährmedium. Somit entfallen aufwendige Vorbereitungen wie Wiegen und Mischen von Chemikalien sowie die Einstellung von pH-Werten und eine anschließende Autoklavierung. Auf diese Weise sparen Sie Zeit und Geld, so dass Sie sich direkt auf die mikrobiologische Betriebshygiene konzentrieren können.

8. Empfohlenes Equipment

Für die Verwendung von **NBB[®]-B-Am** Bouillon werden die nachfolgenden Gegenstände zur Durchführung der Experimente empfohlen:

Laborgegenstand	Verwendung
Mobiler Bunsenbrenner	Bunsenbrenner erzeugen durch ihre Flamme einen sterilen Arbeitsbereich (ca. 50 cm um die Flamme). In diesem können mikrobiologische Experimente durchgeführt werden. Durch die Hitze werden Umgebungskeime abgetötet. Zudem ist der Bunsenbrenner ein Hilfsmittel zur sterilen Probenentnahme.
Sterile (serologische) Pipette (10 ml) mit Pipettierhilfe (z. B. Peleusball oder Pipettierhilfe aus Kunststoff)	(Serologische) Pipetten eignen sich für die sterile Überführung von Flüssigkeiten.  Achtung: Niemals Flüssigkeiten mit dem Mund pipettieren! Unbedingt eine Pipettierhilfe verwenden!
Reagenzglashalter	Halterung für NBB[®]-B-Am Bouillon Röhrchen.
Inkubator mit Thermostat	Zur Inkubation der Proben bei definierten Temperaturen.
Einweghandschuhe	Einweghandschuhe zur Vermeidung von Sekundärkontaminationen durch den Anwender.

Laborgegenstand	Verwendung
Steriles entionisiertes Wasser	Zum Befüllen von Tupferröhrchen. Durch die Flüssigkeit wird der Tupfer befeuchtet, so dass auch trockene Stellen beprobt werden können.
Sterile Tupferröhrchen (Plastik) (z. B. Abstrichtupfer, Art.-Nr. 80.625, Sarstedt)	Bei Gebrauch mit NBB®-B-Am Bouillon Flaschen (2.04706.782). Nicht notwendig bei der Verwendung von NBB®-B-Am Bouillon Röhrchen (2.04706.646).
Sterile Werkbank	Essentielle Laborausstattung für das sterile Arbeiten.
Abfallgefäß (> 250 ml)	Zum Sammeln von Wasser aus Tupferröhrchen bei der Probennahme.

9. Wichtige Hinweise

Grundlage für alle Analysen ist das saubere mikrobiologische Arbeiten. Um sichere Ergebnisse zu erhalten, wird dringend empfohlen, die nachfolgenden Arbeitsschritte (siehe 10 Protokoll, S. 32) zu befolgen und Sicherheitshinweise zu beachten.

NBB®B-Am Bouillon ist nicht zum Verzehr geeignet.

Nach der Analyse sollten die bebrüteten Nährmedien mit Mikroorganismen inaktiviert werden, bevor diese entsorgt werden. Zur Inaktivierung wird das Autoklavieren der Nährmedien oder die Entsorgung als Sondermüll empfohlen.

10. Protokoll NBB®-B-Am Bouillon (Flasche Art.-Nr. 2.04706.782)

Für das Hygiene Monitoring mit **NBB®-B-Am** Bouillon definieren Sie innerhalb ihrer Produktion (z. B. für jede Fülllinie) eine feste Anzahl an Kontrollpunkten, die Sie mikrobiologisch untersuchen möchten. Es wird empfohlen, ca. 20 – 30 Punkte zu bestimmen. Diese Punkte werden nun in festgelegten Intervallen beprobt (Empfehlung: 2x pro Woche im Sommer; 1x pro Woche im Winter) und zur Analyse der Betriebshygiene herangezogen. Folgende Probenpunkte, die je nach Betrieb variiert oder ergänzt werden können, sind möglich:

	Waschmaschine	Flascheninspektor	Füller	Verschleißer
Probenpunkte	<ul style="list-style-type: none"> • Im Kondensatbereich der Flaschenabgabe 	<ul style="list-style-type: none"> • Ein-, Auslauf • Flaschentransportbänder • Andere Feuchtstellen 	<ul style="list-style-type: none"> • (Steuer-)Ventile • Tulpen • Hubelemente • Einlaufschnecken • Sternoberflächen • Einlauf-, Auslaufsterne (innen) • Prallbleche • Verschaltungen/Träger • Führung • Kunststoffschiene 	<ul style="list-style-type: none"> • Organe (Führung) • Stempel • Kronkorkeneinlauf (Teller) • Verschalung • Ein-, Auslauf • Transportbänder

Zur Vermeidung von Sekundärkontaminationen sind die meisten Arbeiten in einer sterilen Werkbank im Labor durchzuführen. Die Probennahme erfolgt, wie im nachfolgenden Schema gezeigt, unter möglichst sterilen Bedingungen in der Produktion und Abfüllung. Der gesamte Arbeitsprozess mit **NBB®-B-Am** Bouillon gliedert sich somit in vier Schritte (10.1. – 10.4.).



10.1. Vorbereitung der Tupferröhrchen



10.1.1. Befüllen der Tupferröhrchen

Platzieren Sie genügend sterile Tupferröhrchen für jeden Probenpunkt in einem Reagenzglashalter unter einer sterilen Werkbank.

Befüllen Sie die Tupferröhrchen mit 5 ml sterilem Wasser* unter der sterilen Werkbank.

Die Flüssigkeit dient zum Anfeuchten des Tüpfers, damit auch trockene Stellen später beprobt werden können.

*steriles Wasser erhalten Sie durch Autoklavieren oder Sterilfiltration des gewünschten Volumens entionisierten Wassers. Es kann ebenso gebrauchsfertig über Händler bezogen werden.



10.1.2. Verschließen der Tupferröhrchen

Verschließen Sie die Tupferröhrchen.

Achten Sie darauf den Tüpfel nicht zu berühren, um Sekundärkontaminationen zu vermeiden.

Beschriften oder markieren Sie die Röhrchen.



Achtung:

Wenn Sie Plastikröhrchen verwenden, verzichten Sie auf das Abflammen beim Verschließen der Röhrchen.

10.2. Probennahme

Begeben Sie sich mit den mit Wasser befüllten Tupferröhrchen zu den vorher festgelegten Probenpunkten in der Produktion bzw. Abfüllung. Nehmen Sie einen mobilen Bunsenbrenner (sofern dieser im Produktionsbereich zugelassen ist) sowie ein Abfallgefäß (mit mindestens 250 ml Volumen) mit.



10.2.1. Entleeren der Tupferröhrchen

Am Probenpunkt entleeren Sie das sterile Wasser in das mitgebrachte Abfallgefäß.

Arbeiten Sie dabei – wenn möglich – in der Nähe des mobilen Bunsenbrenners, um eine möglichst sterile Umgebung zu gewährleisten. Sollte offenes Feuer nicht möglich sein, versuchen Sie die Röhrchen beim Entleeren möglichst wenig zu öffnen.



10.2.2. Beprobung

Wischen Sie mit dem angefeuchteten Tupfer vorsichtig über den Probenpunkt, um Probenmaterial aufzunehmen.

Anschließend führen Sie den Tupfer zurück in das leere Röhrchen und verschließen es.

Wiederholen Sie 10.2.1. und 10.2.2. für alle ausgewählten Probenpunkte.

10.3. NBB[®]-B-Am Bouillon Zugabe und Inkubation

Mit den Tupferröhrchen aller Probenpunkte kehren Sie zurück ins Labor und führen die folgenden Schritte wieder unter einer sterilen Werkbank aus.



10.3.1. Befüllung der Tupferröhrchen mit NBB[®]-B-Am Bouillon

Öffnen Sie die Tupferröhrchen und befüllen Sie diese mit 10 ml **NBB[®]-B-Am Bouillon**^{**}. Arbeiten Sie unter einer sterilen Werkbank.

Verschließen Sie die Röhrchen. Vermeiden Sie dabei die Berührung des Tüpfers.

^{**}Mit etwas Übung können Sie dies durch einfaches Ausgießen aus der Flasche erledigen. Für den Anfang ist es einfacher eine Pipette zum Befüllen zu verwenden.



10.3.2. Inkubieren der Proben

Inkubieren Sie alle mit **NBB[®]-B-Am Bouillon** befüllten Tupferröhrchen bei 27 ± 2 °C **aerob** für **maximal 3 Tage**.

10.4. NBB[®]-B-Am Bouillon: Ergebnisanalyse



10.4.1. NBB[®]-B-Am Bouillon Probenanalyse

Die Auswertung der Probenpunkte erfolgt nach **maximal 3 Tagen** Inkubation.

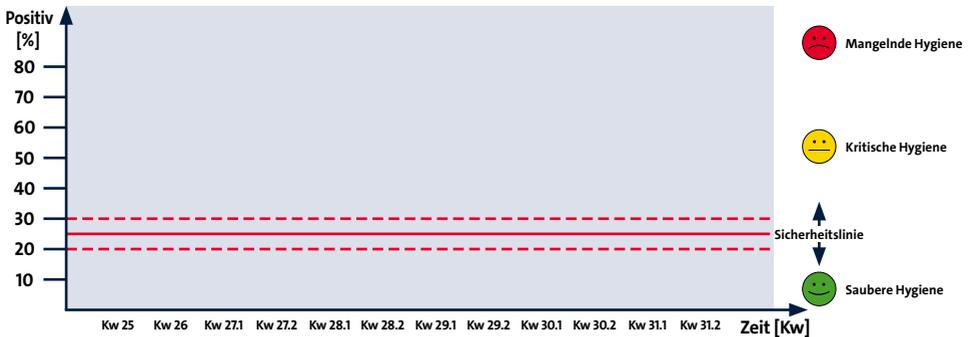
Starke Biofilmbildung liegt vor, wenn ein **NBB[®]-B-Am** Röhrchen bereits nach einem Tag gelb gefärbt ist und starke Trübung aufweist. Teilweise kann Gasbildung auftreten.

Für das zeitliche Hygiene Monitoring summieren Sie nun alle positiven Punkte auf (hier z. B.: 4 gelbe Röhrchen = 4 positive Befunde).

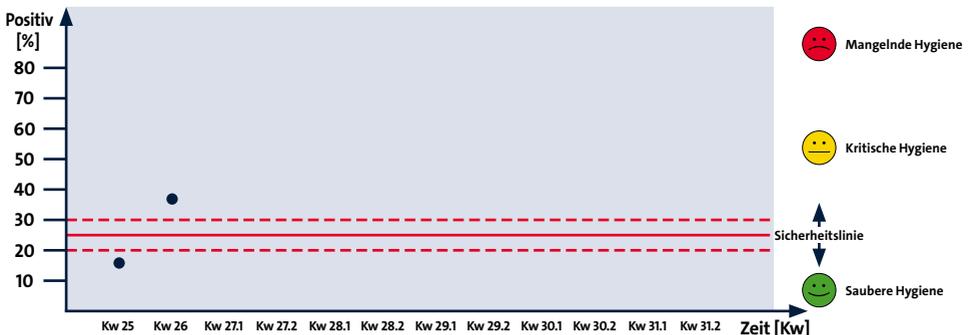
Danach bilden Sie zur Bestimmung der relativen positiven Befunde den Quotienten aus den positiven Befunden und der vollständigen Anzahl der Probenpunkte und multiplizieren diesen mit 100 (beispielsweise: 4 positive Befunde / 12 Probenpunkte · 100 = 33,3 % positive Befunde).

Aufgrund der Tatsache, dass Sie ihren Produktionsbereich nicht vollständig steril halten können, werden sie immer eine Anzahl positiver Probenpunkte bekommen. Das bedeutet, dass im Röhrchen selbst bei sehr gründlicher Reinigung an manchen Punkten ein Farbumschlag zu beobachten ist. Aufgrund dieser Tatsache definieren Sie in 10.4.2. auf S. 37 eine Sicherheitslinie.

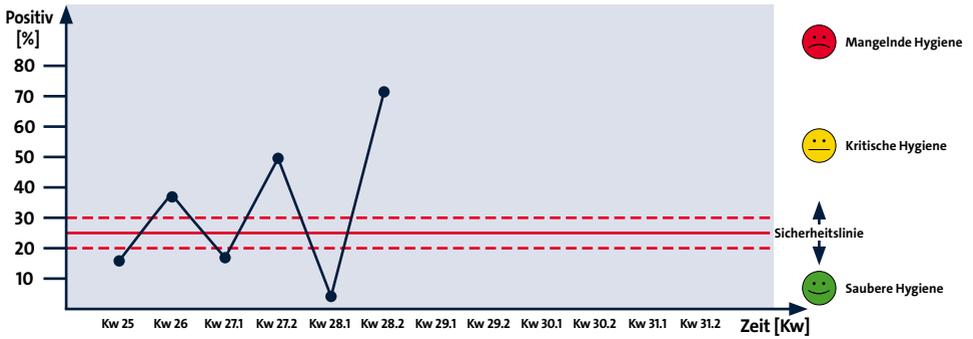
10.4.2. NBB®-B-Am Bouillon Hygiene Monitoring



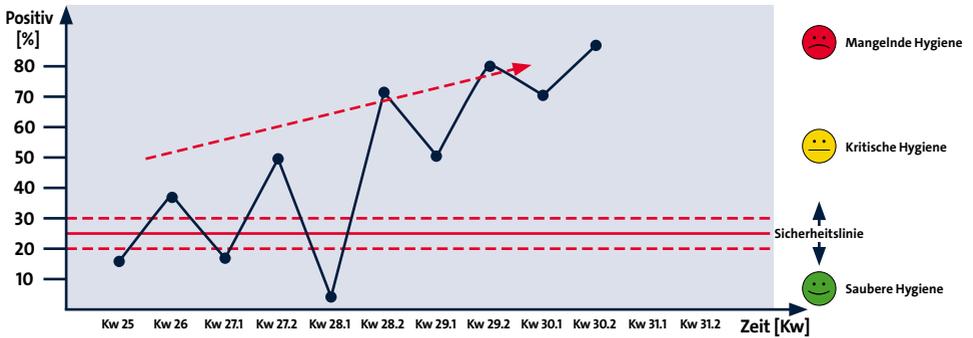
- a) ► Erstellen Sie ein x-y-Diagramm.
 ► Auf der y-Achse tragen Sie die relativen positiven Befunde auf.
 ► Auf der x-Achse tragen Sie die entsprechende Intervallzeit (z. B. Kw = Kalenderwochen) auf.
 ► Nun definieren Sie eine Sicherheitslinie, die etwa zwischen 20 – 30% gewählt wird.
 ► Alle Punkte unterhalb der Sicherheitslinie stellen eine „saubere“ Betriebshygiene dar. Darüber liegt der kritische und mangelnde Hygienebereich, in dem sich persistente Biofilme etablieren.



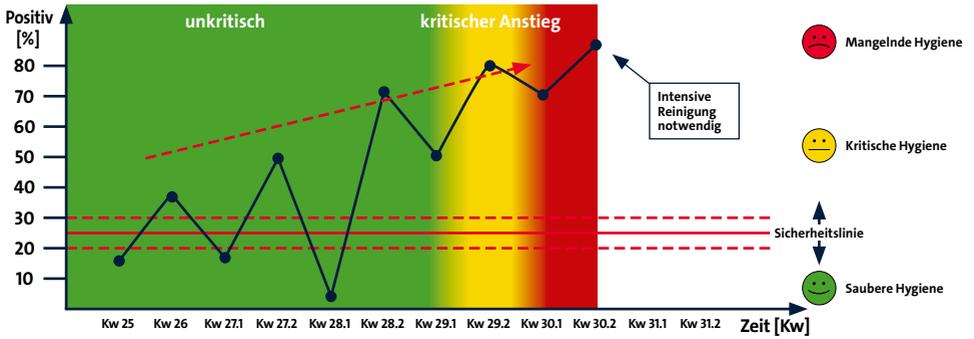
- b) ► Jedes Ergebnis einer Probenreihe mit **NBB®-B-Am** Bouillon wird nun im x-y-Diagramm protokolliert.



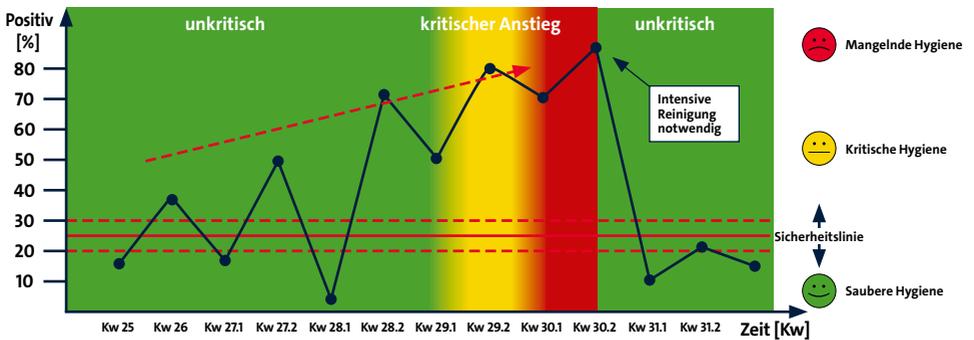
c) ► Die einzelnen Messpunkte können durch Linien verbunden werden.



d) ► Wenn Sie feststellen, dass die Sicherheitslinie bei der Beprobung mit **NBB®-B-Am** Bouillon über mehrere Wochen hinweg deutlich überschritten wird, dann erreicht Ihr Hygienestatus den kritischen Bereich. Dieser ist durch die Etablierung von Biofilmen gekennzeichnet.



e) ► Damit Sie mikrobielle Produktschädigungen vermeiden, sollten Sie bei dieser Beobachtung eine intensive Reinigung durchführen.



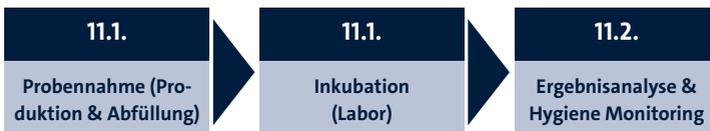
f) ► Ihren Reinigungserfolg können Sie durch die Rückkehr der Messpunkte unter die Sicherheitslinie feststellen.

11. Protokoll NBB®-B-Am Bouillon (Röhrchen Art.-Nr. 2.04706.646)

Für das Hygiene Monitoring mit **NBB®-B-Am** Bouillon in Röhrchen definieren Sie innerhalb ihrer Produktion (z. B. für jede Fülllinie) eine feste Anzahl an Kontrollpunkten, die Sie mikrobiologisch untersuchen möchten. Es wird empfohlen, ca. 20 – 30 Punkte zu bestimmen. Diese Punkte werden nun in festgelegten Intervallen beprobt (Empfehlung: 2x pro Woche im Sommer; 1x pro Woche im Winter) und zur Analyse der Betriebshygiene herangezogen. Folgende Probenpunkte, die je nach Betrieb variiert oder ergänzt werden können, sind möglich:

	Waschmaschine	Flascheninspektor	Füller	Verschleißer
Probenpunkte	<ul style="list-style-type: none"> • Im Kondensatbereich der Flaschenabgabe 	<ul style="list-style-type: none"> • Ein-, Auslauf • Flaschentransportbänder • Andere Feuchtstellen 	<ul style="list-style-type: none"> • (Steuer-)Ventile • Tulpen • Hubelemente • Einlaufschnecken • Sternoberflächen • Einlauf-, Auslaufsterne (innen) • Prallbleche • Verschaltungen/Träger • Führung • Kunststoffschiene 	<ul style="list-style-type: none"> • Organe (Führung) • Stempel • Kronkorkeneinlauf (Teller) • Verschalung • Ein-, Auslauf • Transportbänder

Die Probennahme erfolgt, wie im nachfolgenden Schema gezeigt, unter möglichst sterilen Bedingungen in der Produktion. Aufgrund der bereits vorgefüllten Röhrchen mit **NBB®-B-Am** Bouillon kann direkt mit der Beprobung begonnen werden. Der gesamte Arbeitsprozess mit **NBB®-B-Am** Bouillon gliedert sich in drei Schritte (11.1. – 11. 2.).



11.1. NBB®-B-Am Bouillon in Röhren: Probennahme und Inkubation



11.1.1. Probennahme NBB®-B-Am Bouillon in Röhren

Die gebrauchsfertigen Glasröhren sind bereits mit 10 ml **NBB®-B-Am** Bouillon befüllt.

Dadurch können Sie mit den **NBB®-B-Am** Röhren und mit Hilfe von steril verpackten Holzstapfeln (siehe Kapitel 14, S. 50) direkt die festgelegten Probenpunkte in der Produktion beproben.

Für jeden Probenpunkt wird ein **NBB®-B-Am** Bouillon Röhren und ein Holzstapfel benötigt.

Der Holzstapfel sollte bei der Beprobung möglichst am oberen Ende angefasst werden.

Bei feuchten Probenpunkten können Sie den Stapfel direkt zur Probennahme einsetzen.

Bei trockenen Probenstellen ist es empfehlenswert, den Stapfel im **NBB®-B-Am** Bouillon Röhren vor der Verwendung zu befeuchten.



Achtung: Den Stapfel aufgrund der erhöhten Kontaminationsgefahr niemals mehrfach im NBB®-B-Am Bouillon Röhren befeuchten.

Wischen Sie mit dem angefeuchteten Stapfel vorsichtig über den Probenpunkt, um Probenmaterial aufzunehmen.

Brechen Sie nach der Einführung des Stapfels in das **NBB®-B-Am** Bouillon Röhren den aus dem Gefäß herausragenden Teil des Stapfelstiels ab.

Verschließen Sie das **NBB®-B-Am** Bouillon Röhren und entsorgen Sie das abgebrochene Ende des Holzstapfels.

Beschriften oder markieren Sie die **NBB®-B-Am** Bouillon Röhren.



11.1.2. Inkubation NBB®-B-Am Bouillon in Rörchen

Inkubieren Sie alle **NBB®-B-Am** Bouillon Rörchen mit Tuffer bei 27 ± 2 °C **aerob** für **maximal 3 Tage**.

11.2. NBB®-B-Am Bouillon in Rörchen: Ergebnisanalyse



11.2.1. NBB®-B-Am Bouillon in Rörchen Probenanalyse

Die Auswertung der Probenpunkte erfolgt nach **maximal 3 Tagen** Inkubation.

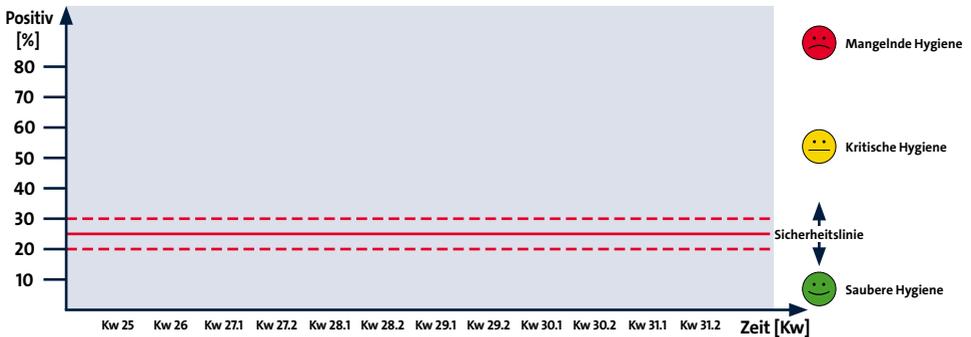
Starke Biofilmbildung liegt vor, wenn ein **NBB®-B-Am** Rörchen bereits nach einem Tag gelb gefärbt ist und starke Trübung aufweist. Teilweise kann Gasbildung auftreten.

Für das zeitliche Hygiene Monitoring summieren Sie nun alle positiven Punkte auf (hier z. B.: 3 gelbe Rörchen = 3 positive Befunde).

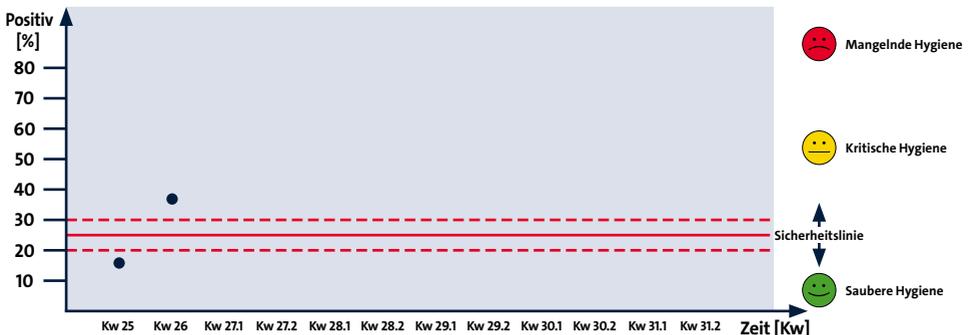
Danach bilden Sie zur Bestimmung der relativen positiven Befunde den Quotienten aus den positiven Befunden und der vollständigen Anzahl der Probenpunkte und multiplizieren diesen mit 100 (beispielsweise: 3 positive Befunde / 12 Probenpunkte · 100 = 25% positive Befunde).

Aufgrund der Tatsache, dass Sie ihren Produktionsbereich nicht vollständig steril halten können, werden sie immer eine Anzahl positiver Probenpunkte bekommen. Das bedeutet, dass im Rörchen selbst bei sehr gründlicher Reinigung an manchen Punkten ein Farbumschlag zu beobachten ist. Aufgrund dieser Tatsache definieren Sie in 11.2.2. auf S. 43 eine Sicherheitslinie.

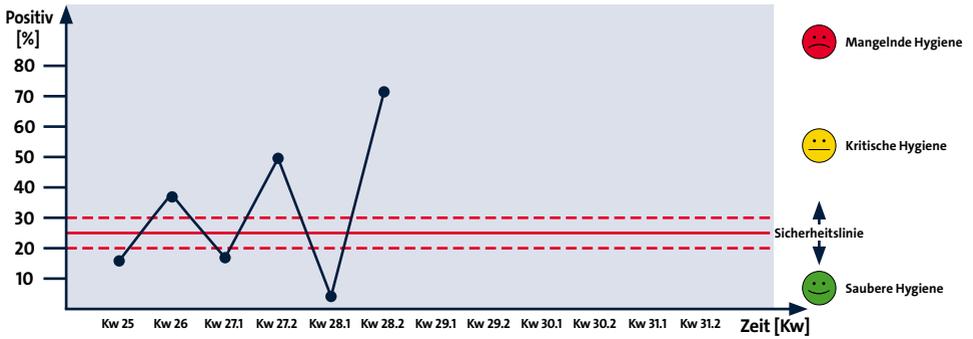
11.2.2. NBB®-B-Am Bouillon Hygiene Monitoring



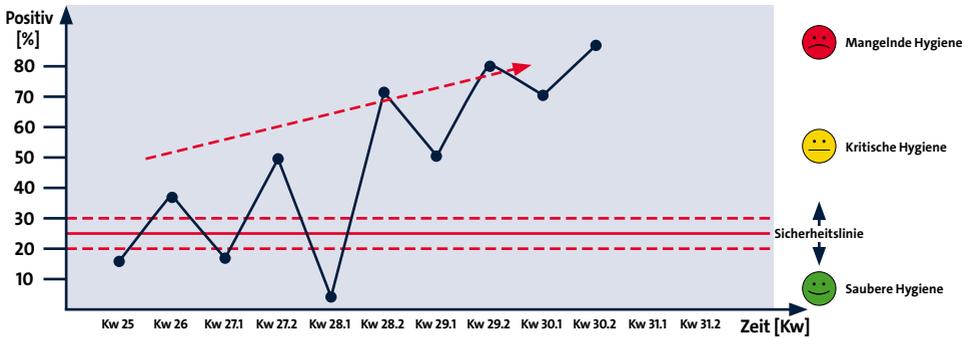
- a)
- ▶ Erstellen Sie ein x-y-Diagramm.
 - ▶ Auf der y-Achse tragen Sie die relativen positiven Befunde auf.
 - ▶ Auf der x-Achse tragen Sie die entsprechende Intervallzeit (z. B. Kw = Kalenderwochen) auf.
 - ▶ Nun definieren Sie eine Sicherheitslinie, die etwa zwischen 20 – 30% gewählt wird.
 - ▶ Alle Punkte unterhalb der Sicherheitslinie stellen eine „saubere“ Betriebshygiene dar. Darüber liegt der kritische und mangelnde Hygienebereich, in dem sich persistente Biofilme etablieren.



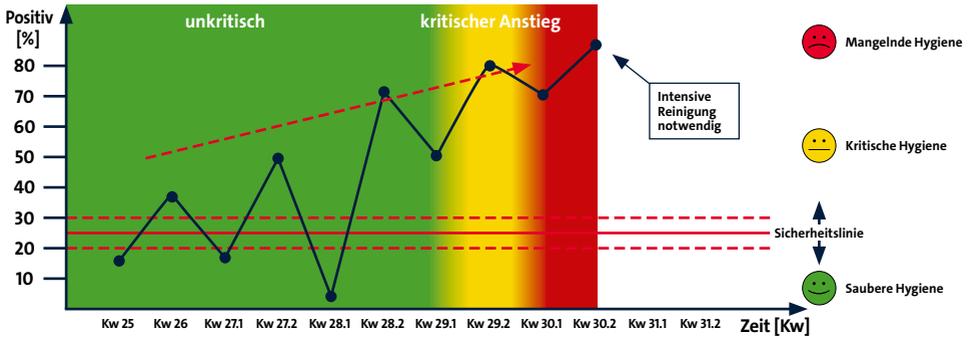
- b)
- ▶ Jedes Ergebnis einer Probenreihe mit **NBB®-B-Am** Bouillon wird nun im x-y-Diagramm protokolliert.



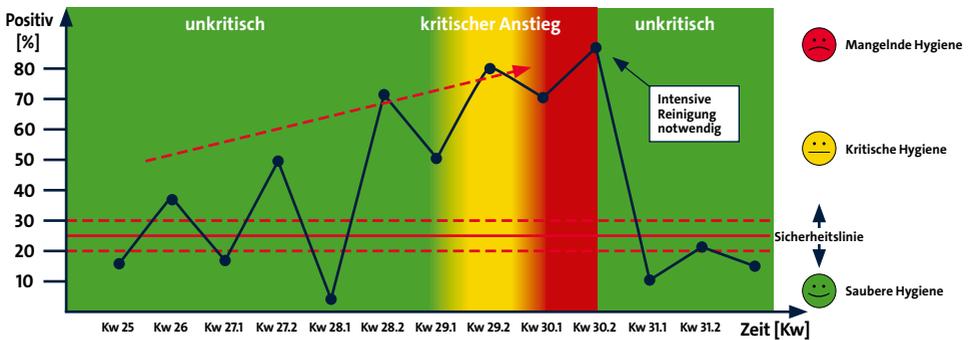
c) ► Die einzelnen Messpunkte können durch Linien verbunden werden.



d) ► Wenn Sie feststellen, dass die Sicherheitslinie bei der Beprobung mit **NBB®-B-Am** Bouillon über mehrere Wochen hinweg deutlich überschritten wird, dann erreicht Ihr Hygienestatus den kritischen Bereich. Dieser ist durch die Etablierung von Biofilmen gekennzeichnet.



e) ► Damit Sie mikrobielle Produktschädigungen vermeiden, sollten Sie bei dieser Beobachtung eine intensive Reinigung durchführen.



f) ► Ihren Reinigungserfolg können Sie durch die Rückkehr der Messpunkte unter die Sicherheitslinie feststellen.

12. Häufige Fragen zur Anwendung und zur Bewertung von Ergebnissen

12.1. NBB®-B-Am Bouillon (Flasche Art.-Nr. 2.04706.782)

	Ursache	Lösung
Keimwachstum nach mehr als 3 Tagen Inkubation.	Bei der Beprobung von Produktionsstellen wird immer eine geringe Keimzahl von Mikroorganismen in NBB®-B-Am inkubiert, die keine Biofilmindikatorkeime sind (z. B. Schimmelpilze). Diese können ein Keimwachstum nach mehr als 3 Tagen ermöglichen. Sie sind allerdings nicht für die Beurteilung von Biofilmen heranzuziehen.	Bitte werten Sie NBB®-B-Am Bouillon Proben nach maximal 3 Tagen Inkubation aus.
Welche Keime werden mit NBB®-B-Am nachgewiesen? Kann ich diese gezielt differenzieren?	Mit NBB®-B-Am Bouillon werden insbesondere Milchsäure- und Essigsäurebakterien nachgewiesen.	Zur Differenzierung der Mikroorganismen müssen weitere Kulturmedien oder Methoden eingesetzt werden.
Kann man die Proben anaerob bebrüten?	Eine anaerobe Bebrütung verhindert das Wachstum mancher Mikroorganismen (z. B. Essigsäurebakterien) durch das Fehlen von Sauerstoff.	Inkubieren Sie die NBB®-B-Am Bouillon Proben immer aerob.
Es tritt Trübung auf, aber kein Farbumschlag?	Es sind Mikroorganismen gewachsen, die keinen Farbumschlag verursachen. Diese Mikroorganismen sind keine Biofilmindikatoren.	Diese Röhrchen nicht als positive Befunde auswerten. Zur Absicherung Probenpunkt erneut untersuchen.

12.2. NBB®-B-Am Bouillon (Röhrchen Art.-Nr. 2.04706.646)

	Ursache	Lösung
Gibt es NBB®-B-Am Röhrchen aus Plastik?	Aufgrund der guten Autoklavierbarkeit und inerten Eigenschaften von Glasmaterial bieten wir nur vorgefüllte Glasröhrchen an.	Zur Anwendung von Plastikröhrchen benutzen sie bitte NBB®-B-Am Bouillon in Flaschen.
Welchen Vorteil bieten NBB®-B-Am Röhrchen?	–	Bei NBB®-B-Am in Röhrchen entfällt das Umfüllen aus der Flasche in das Röhrchen. Die Beprobung in der Produktion kann direkt erfolgen.
Enthält NBB®-B-Am in Röhrchen den Holztupfer?	Nein. NBB®-B-Am in Röhrchen sind 20 x 10 ml NBB®-B-Am Bouillon in Glasröhrchen ohne Tupfer.	Die Holztupfer müssen separat bezogen werden (siehe Kapitel 14, S. 50).

13. Appendix

13.1. Schnellübersicht: NBB[®]-B-Am Bouillon Analysen

DMD Produkt/ Probe	Probemethode	Inkubations- bedingungen	Auswertung
NBB [®] -B-Am (Flasche) 2.04706.782	Tupferprobe	Temp.: 27 ± 2°C Zeit: max. 3 Tage aerob	Positiv: Farbumschlag, rot nach gelb, Trübung, (Gasbildung) Negativ: Kein Farbumschlag, Keine Trübung
NBB [®] -B-Am (Röhrchen) 2.04706.646	Tupferprobe	Temp.: 27 ± 2°C Zeit: max. 3 Tage aerob	Positiv: Farbumschlag, rot nach gelb, Trübung, (Gasbildung) Negativ: Kein Farbumschlag, Keine Trübung

13.2. Glossar (alphabetisch)

Differenzierung	Unterscheidung der Keime aufgrund ihres Gattungs- und Artnamens: z. B. <i>Lactobacillus brevis</i> . Die Differenzierung ist eine Bestimmung der Mikroorganismen.
Inkubation	Bebrütung eines Nährmediums unter definierten Bedingungen und Parametern (z. B. hinsichtlich Zeit und Temperatur)
Peleusball	Ein Gummiball mit Ventilen zum Ansaugen und Auslassen von Flüssigkeiten mit Hilfe von Glas- oder Plastikpipetten.
Qualitativer Nachweis	Nachweis, der auf einer Ja- oder Nein-Aussage beruht, d. h. ob Mikroorganismen in der Probe enthalten sind oder nicht.
Serologische Pipette	Eine Pipette, meist aus Plastik oder Glas, die zum Überführen von Flüssigkeiten verwendet wird. Eine Skalierung auf der Pipette zeigt das Volumen an. Plastikpipetten können meist steril und einzelverpackt bezogen werden.
Steril	Steril bedeutet keimfrei, d. h. frei von lebenden Mikroorganismen.

| 14. Bezugsquellen

Die Firma Döhler bietet ihnen verschiedene Lösungen für die Qualitätskontrolle:

Art.-Nr.	Produkt	Verpackungseinheit
2.04706.782	NBB®-B-Am Bouillon (Flasche)	1 Karton (9x 250 ml)
2.04706.646	NBB®-B-Am Bouillon (Röhrchen)	1 Box (20x 10 ml)

Es können folgende Produkte durch Döhler bezogen werden:

Art.-Nr.	Produkt	Verpackungseinheit
2.04725.244	(Holz-)Steriltupfer (einzelverpackt)	100 St./Paket

Alle anderen empfohlenen Laborgegenstände können durch einen Laborhändler bezogen werden.

| 15. Informationen

15.1. Trademarks

Die Trademarks NBB® und Döhler Microsafety Design® sind weltweit eingetragene und geschützte Handelsmarken der Döhler GmbH.

15.2. Vertrieb

Auf der Webseite www.doehler-dmd.com finden Sie weitere Informationen zu unserem Döhler Microsafety Design® Produktportfolio.

Email-Kontakt: dmd@doehler.com

15.3. Literaturempfehlung

Back, W. (1994a) Sekundärkontaminationen im Abfüllbereich. Brauwelt 16: 686-695.

Back, W. (1994b) Farbatlas und Handbuch der Getränkebiologie. Hans Carl, Nürnberg, Germany.

Back, W. (2003) Biofilme in der Brauerei und Getränkeindustrie. Brauwelt online 24/25, 1-5.



DÖHLER GmbH

Riedstr. 7-9 | 64295 Darmstadt | Germany
Phone +49 6151 306-0 | Fax +49 6151 306-278

www.doehler.com | www.we-bring-ideas-to-life.com
mailbox@doehler.com | facebook.com/doehlergroup
twitter.com/doehlergroup