

DIN EN ISO 7218



ICS 07.100.30

**Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln –
Allgemeine Anforderungen und Leitlinien für mikrobiologische
Untersuchungen (ISO 7218:2007);
Deutsche Fassung EN ISO 7218:2007**

Microbiology of food and animal feeding stuffs –
General requirements and guidance for microbiological examinations (ISO 7218:2007);
German version EN ISO 7218:2007

Microbiologie des aliments –
Exigences générales et recommandations (ISO 7218:2007);
Version allemande EN ISO 7218:2007

Gesamtumfang 77 Seiten

Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) im DIN

Nationales Vorwort

Dieses Dokument enthält unverändert die Internationale Norm ISO 7218:2007, die vom Unterkomitee SC 9 „Microbiology“ (Sekretariat: AFNOR, Frankreich) des Technischen Komitees ISO/TC 34 „Food products“ (Sekretariat: Frankreich/Brasilien) erarbeitet wurden. Aufgrund der Ergebnisse der parallelen Abstimmung im Rahmen der Wiener Vereinbarung ist diese Norm ebenso als Europäische Norm EN ISO 7218:2007 erschienen.

Die Mitarbeit des DIN im SC 9 des ISO/TC 34 und in der Arbeitsgruppe WG 6 des CEN/TC 275 „Lebensmittelanalytik – Horizontale Verfahren“ (Sekretariat: DIN, Deutschland) wird über den Arbeitsausschuss „Mikrobiologische Lebensmitteluntersuchung einschließlich Schnellverfahren“ des Normenausschusses Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte wahrgenommen.

Für die im Abschnitt 2 zitierten Internationalen Normen wird im Folgenden auf die entsprechenden Deutschen Normen hingewiesen:

ISO 6887 (alle Teile)	siehe DIN EN ISO 6887 (alle Teile)
ISO 8261	siehe DIN ISO 8261
ISO 8655-1	siehe DIN EN ISO 8655-1
ISO/TS 11133 (alle Teile)	siehe DIN V ENV ISO 11133 (alle Teile)
ISO 16140	siehe DIN EN ISO 16140
ISO 22174	siehe DIN EN ISO 22174

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN EN ISO 6887 (alle Teile), *Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln — Vorbereitung von Untersuchungsproben und Herstellung von Erstverdünnungen und von Dezimalverdünnungen für mikrobiologische Untersuchungen*

DIN EN ISO 8261, *Milch und Milchprodukte — Allgemeiner Leitfaden für die Vorbereitung von Untersuchungsproben und die Herstellung von Anschüttelungen und Dezimalverdünnungen für mikrobiologische Untersuchungen*

DIN EN ISO 8655-1, *Volumenmessgeräte mit Hubkolben — Teil 1: Begriffe, allgemeine Anforderungen und Gebrauchsempfehlungen*

DIN V ENV ISO 11133 (alle Teile), *Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln — Anleitungen für die Zubereitung und Herstellung von Nährmedien*

DIN EN ISO 16140, *Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln — Arbeitsvorschrift für die Validierung alternativer Verfahren*

DIN EN ISO 22174, *Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln — Polymerase-Kettenreaktion (PCR) zum Nachweis von pathogenen Mikroorganismen in Lebensmitteln — Allgemeine Anforderungen und Begriffe*

Deutsche Fassung

Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln –
Allgemeine Anforderungen und Leitlinien für
mikrobiologische Untersuchungen
(ISO 7218:2007)

Microbiology of food and animal feeding stuffs –
General requirements and guidance for
microbiological examinations
(ISO 7218:2007)

Microbiologie des aliments –
Exigences générales et recommandations
(ISO 7218:2007)

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 19. April 2007 angenommen.

Die CEN-Mitglieder sind gehalten, die CEN/CENELEC-Geschäftsordnung zu erfüllen, in der die Bedingungen festgelegt sind, unter denen dieser Europäischen Norm ohne jede Änderung der Status einer nationalen Norm zu geben ist. Auf dem letzten Stand befindliche Listen dieser nationalen Normen mit ihren bibliographischen Angaben sind beim Management-Zentrum des CEN oder bei jedem CEN-Mitglied auf Anfrage erhältlich.

Diese Europäische Norm besteht in drei offiziellen Fassungen (Deutsch, Englisch, Französisch). Eine Fassung in einer anderen Sprache, die von einem CEN-Mitglied in eigener Verantwortung durch Übersetzung in seine Landessprache gemacht und dem Management-Zentrum mitgeteilt worden ist, hat den gleichen Status wie die offiziellen Fassungen.

CEN-Mitglieder sind die nationalen Normungsinstitute von Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, den Niederlanden, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, Rumänien, Schweden, der Schweiz, der Slowakei, Slowenien, Spanien, der Tschechischen Republik, Ungarn, dem Vereinigten Königreich und Zypern.



EUROPÄISCHES KOMITEE FÜR NORMUNG
EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION
COMITÉ EUROPÉEN DE NORMALISATION

Management-Zentrum: rue de Stassart, 36 B-1050 Brüssel

Inhalt

	Seite
Vorwort	4
Einleitung.....	5
1 Anwendungsbereich	6
2 Normative Verweisungen.....	6
3 Arbeitsräume	7
3.1 Allgemeines	7
3.2 Sicherheitshinweise	7
3.3 Laborgestaltung.....	7
3.4 Laborbereiche	8
3.5 Bauausführung und Einrichtung der Arbeitsräume.....	9
3.6 Reinigung und Desinfektion	10
4 Personal.....	11
4.1 Allgemeines	11
4.2 Befähigung	11
4.3 Nachweis der fortwährenden Befähigung des Personals	11
4.4 Hygiene	11
5 Geräte und Ausrüstungen	12
5.1 Allgemeines	12
5.2 Sicherheitswerkbänke	12
5.3 Waagen und gravimetrische Diluter	14
5.4 Homogenisierungsgeräte, Mischgeräte und Mixgeräte.....	14
5.5 pH-Messgerät	15
5.6 Autoklav	17
5.7 Gerät zur Herstellung von Nährmedien	18
5.8 Brutschrank.....	18
5.9 Kühlschrank, Kühlraum	19
5.10 Tiefkühleinrichtung und Tiefgefriereinrichtung	20
5.11 Wasserbad mit Temperaturregler	21
5.12 Dampftöpfe, einschließlich Bäder mit siedendem Wasser	22
5.13 Heißluft-Sterilisator.....	23
5.14 Mikrowellengerät.....	23
5.15 Glasspülmaschine	24
5.16 Mikroskop	25
5.17 Gasbrenner oder Ausglühgerät.....	26
5.18 Abfüllgerät für Nährmedien und Reagenzien	26
5.19 Vortex-Mischer.....	27
5.20 Koloniezählgerät.....	27
5.21 Vorrichtung zur Anzucht von Kulturen unter veränderten Atmosphärenbedingungen.....	28
5.22 Zentrifuge	29
5.23 Heizplatten und Heizmäntel	29
5.24 Spiralplater	29
5.25 Destilliergeräte, Entionisierungsgeräte und Umkehrosmoseeinheiten	30
5.26 Zeitgeber und Zeitschaltuhren	31
5.27 Pipetten und automatische Pipetten.....	31
5.28 Thermometer und Temperaturüberwachungsgeräte, einschließlich automatischer Aufzeichnungsgeräte	32
5.29 Immunmagnetisches Trenngerät (Separator).....	34
5.30 Filtersystem	34
5.31 Sonstige Geräte und Software	34

6	Vorbereitung der Glasgeräte und Materialien	34
6.1	Vorbereitung	34
6.2	Sterilisation/Dekontamination.....	35
6.3	Geräte und Materialien zum Einmalgebrauch	35
6.4	Lagerung sauberer Glasgeräte und Materialien.....	35
6.5	Umgang mit sterilen Glasgeräten und Materialien	35
6.6	Durchführung von Dekontamination und Desinfektion	36
6.7	Abfallentsorgung.....	36
6.8	Reinigung	37
7	Herstellung und Sterilisation von Nährmedien	37
8	Laborproben	37
8.1	Probenahme	37
8.2	Transport.....	38
8.3	Annahme	38
8.4	Lagerung	39
8.5	Einwaage	39
9	Untersuchung	39
9.1	Hygienbezogene Vorsichtsmaßnahmen bei der Untersuchung	39
9.2	Herstellung der Erstverdünnung und weiterer Verdünnungen	41
10	Keimzählung	42
10.1	Allgemeines	42
10.2	Keimzählung unter Einsatz eines festen Mediums.....	42
10.3	Berechnung und Angabe der Ergebnisse auf festen Medien	45
10.4	Auszählung von Hefen und Schimmelpilzen.....	51
10.5	Auszählung bei Einsatz eines flüssigen Mediums	52
11	Nachweisverfahren (qualitatives Verfahren)	58
11.1	Allgemeines	58
11.2	Kurzbeschreibung	58
11.3	Messunsicherheit	58
12	Bestätigungsverfahren	59
12.1	Allgemeines	59
12.2	Herstellung einer Reinkultur	59
12.3	Gram-Färbung (modifizierte Färbetechnik nach Hucker).....	59
12.4	Verwendung biochemischer Identifizierungssysteme	61
12.5	Verwendung von Gensonden für die Identifizierung	61
12.6	Serologische Verfahren	61
13	Untersuchungsbericht	62
14	Validierung mikrobiologischer Verfahren.....	63
14.1	Validierung von Referenzverfahren.....	63
14.2	Validierung alternativer Verfahren.....	63
14.3	Validierung laborinterner Verfahren	63
15	Qualitätssicherung der Ergebnisse/Qualitätskontrolle der Leistung	63
15.1	Interne Qualitätskontrolle	63
15.2	Referenzstämme.....	64
15.3	Externe Qualitätsbeurteilung (Eignungsprüfungen)	64
Anhang A (informativ) Eigenschaften einiger Desinfektionsmittel.....		65
Anhang B (normativ) Bestimmung der wahrscheinlichsten Keimzahl (MPN).....		66
Literaturhinweise		73

Vorwort

Dieses Dokument (EN ISO 7218:2007) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34 „Food products“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 275 „Lebensmittelanalytik – Horizontale Verfahren“ erarbeitet, dessen Sekretariat vom DIN gehalten wird.

Diese Europäische Norm muss den Status einer nationalen Norm erhalten, entweder durch Veröffentlichung eines identischen Textes oder durch Anerkennung bis Februar 2008, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis Februar 2008 zurückgezogen werden.

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Texte dieses Dokuments Patentrechte berühren können. CEN [und/oder CENELEC] sind nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren.

Entsprechend der CEN/CENELEC-Geschäftsordnung sind die nationalen Normungsinstitute der folgenden Länder gehalten, diese Europäische Norm zu übernehmen: Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, Niederlande, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, Rumänien, Schweden, Schweiz, Slowakei, Slowenien, Spanien, Tschechische Republik, Ungarn, Vereinigtes Königreich und Zypern.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO 7218:2007 wurde vom CEN als EN ISO 7218:2007 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

Einleitung

Bei der Durchführung mikrobiologischer Untersuchungen ist es besonders wichtig, dass

- nur die in den Proben vorhandenen Mikroorganismen isoliert und gezählt werden und
- die Mikroorganismen nicht die Umgebung kontaminieren.

Um dies zu erreichen, ist es erforderlich, die Personalhygiene zu beachten und Arbeitstechniken anzuwenden, die eine Kontamination von außen so weit wie möglich ausschließen.

Da es in dieser Internationalen Norm nur möglich ist, einige Beispiele für die während mikrobiologischer Untersuchungen einzuleitenden Vorsichtsmaßnahmen anzugeben, ist eine gründliche Kenntnis der mikrobiologischen Untersuchungsverfahren und der betreffenden Mikroorganismen von grundlegender Bedeutung. Es ist wichtig, dass die Untersuchungen so genau wie möglich durchgeführt werden, einschließlich der Überwachung und Aufzeichnung von Gesichtspunkten, die die Ergebnisse und die Berechnung der Keimzahlen sowie die Unsicherheit der Ergebnisse beeinträchtigen können.

Letztlich liegt es in der Verantwortung des Laborleiters, zu beurteilen, ob die Arbeitsabläufe sicher sind und ob sie der Guten Laborpraxis entsprechen.

Zum Beispiel kann eine große Zahl von Tätigkeiten zur unbeabsichtigten Kreuzkontamination führen, und der Untersuchende sollte immer die Genauigkeit der durch seine Arbeitstechnik erbrachten Ergebnisse überprüfen.

Zur Sicherstellung einer korrekten Durchführung der Untersuchungen sind bestimmte Vorsichtsmaßnahmen beim Bau und bei der Einrichtung des Labors erforderlich.

Bestimmte Maßnahmen müssen nicht nur aus Gründen der Hygiene, sondern auch zur Sicherung einer guten Reproduzierbarkeit der Ergebnisse eingeleitet werden. Es ist nicht möglich, alle unter allen Umständen einzuleitenden Maßnahmen festzulegen. Diese Internationale Norm enthält jedoch zumindest die grundsätzlichen Maßnahmen, die bei Herstellung, Sterilisation und Lagerung der Nährmedien sowie dem Gebrauch der Geräte einzuleiten sind.

Wenn die in dieser Internationalen Norm gegebene Leitlinien befolgt wird, trägt dies auch zum Gesundheits- und Arbeitsschutz des Personals bei. Zusätzliche Informationen zu dieser Thematik sind der in den Literaturhinweisen aufgeführten Literatur zu entnehmen.

Um die Leitlinien in dieser Internationalen Norm zu erkennen, wurden sie in einer anderen Schrift (Times New Roman) gedruckt.

1 Anwendungsbereich

Diese Internationale Norm legt allgemeine Anforderungen fest und gibt Leitlinien, d. h. Wahlmöglichkeiten, für drei wesentliche Anwendungen:

- praktische Anwendung der Normen des ISO TC 34/SC 9 oder des ISO TC 34/SC 5 für den Nachweis oder die Zählung von Mikroorganismen, im Folgenden „spezifische Normen“ genannt;
- Umsetzung der Guten Laborpraxis in Laboratorien der Lebensmittelmikrobiologie (Zweck ist nicht, diese in dieser Norm ausführlich zu beschreiben; hierfür stehen Handbücher zur Verfügung);
- Leitfaden zur Akkreditierung von Laboratorien der Lebensmittelmikrobiologie (diese Internationale Norm beschreibt die Technischen Anforderungen nach ISO/IEC 17025:2005, Anhang B, für die Akkreditierung eines mikrobiologischen Labors durch nationale Organisationen).

Die Anforderungen dieser Internationalen Norm ersetzen die in den bestehenden spezifischen Normen enthaltenen entsprechenden Anforderungen.

Zusätzliche Anweisungen für den Bereich der molekularbiologischen Untersuchungen sind in ISO 22174 festgelegt.

Diese Internationale Norm erstreckt sich auf die Untersuchung von Bakterien, Hefen und Schimmelpilzen und kann bei entsprechender Ergänzung um die spezifischen Anleitungen auf Prionen, Parasiten und Viren angewendet werden. Diese Internationale Norm umfasst nicht die Untersuchung von Toxinen oder sonstigen Stoffwechselprodukten (z. B. Amine) von Mikroorganismen.

Diese Internationale Norm gilt für die mikrobiologische Untersuchung von Lebens- und Futtermitteln sowie für den Umgebungsbereich der Lebensmittel- und Primärproduktion.

Zweck dieser Internationalen Norm ist es, zur Sicherstellung der Validität der lebensmittelmikrobiologischen Untersuchungen und der Gleichartigkeit der bei diesen Untersuchungen angewandten allgemeinen Techniken in allen Laboratorien beizutragen. Zweck dieser Norm ist es auch, dazu beizutragen, dass in den verschiedenen Laboratorien gleichartige Ergebnisse erzielt werden und dass durch die Vermeidung von Infektionsrisiken zur Sicherheit des Laborpersonals beigetragen wird.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden zitierten Dokumente sind für die Anwendung dieses Dokuments erforderlich. Bei datierten Verweisungen gilt nur die in Bezug genommene Ausgabe. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe des in Bezug genommenen Dokuments (einschließlich aller Änderungen).

ISO 835 (alle Teile), *Laboratory glassware — Graduated pipettes*

ISO 6887 (alle Teile), *Microbiology of food and animal feeding stuffs — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination*

ISO 8199, *Water quality — General guidance on the enumeration of micro-organisms by culture*

ISO 8261, *Milk and milk products — General guidance for the preparation of test samples, initial suspensions and decimal dilutions for microbiological examination*

ISO 8655-1, *Piston-operated volumetric apparatus — Part 1: Terminology, general requirements and user recommendations*

ISO/TS 11133 (alle Teile), *Microbiology of food and animal feeding stuffs — Guidelines on preparation and production of culture media*

ISO 16140, *Microbiology of food and animal feeding stuffs — Protocol for the validation of alternative methods*

ISO/TS 19036, *Microbiology of food and animal feeding stuffs — Guidelines for the estimation of measurement uncertainty for quantitative determinations*

ISO 22174, *Microbiology of food and animal feeding stuffs — Polymerase chain reaction (PCR) for the detection of food-borne pathogens — General requirements and definitions*

3 Arbeitsräume

3.1 Allgemeines

Dieser Abschnitt beschreibt allgemeine Anforderungen an die Gestaltung des mikrobiologischen Labors, z. B. die Grundsätze der Konzeption und Organisation.

Die Untersuchung von Proben aus der Primärproduktion (insbesondere hinsichtlich des Eingangs und der Vorbereitung von Proben) muss getrennt von der Untersuchung der anderen Proben erfolgen, um Kreuzkontaminationen zu vermeiden.

3.2 Sicherheitshinweise

Die Laborgestaltung muss den Sicherheitsanforderungen entsprechen, die von der Art der Mikroorganismen abhängen. Zu diesem Zweck werden Mikroorganismen in 4 Risikogruppen eingestuft:

- **Risikogruppe 1** (kein oder sehr geringes Risiko für Einzelpersonen und die Allgemeinheit).
Mikroorganismen, bei denen es unwahrscheinlich ist, dass sie beim Menschen oder beim Tier eine Krankheit verursachen.
- **Risikogruppe 2** (mäßiges Risiko für Einzelpersonen, geringes Risiko für die Allgemeinheit).
Pathogene Keime, die eine Krankheit beim Menschen oder beim Tier hervorrufen können, bei denen es jedoch unwahrscheinlich ist, dass sie eine ernsthafte Gefährdung für das Laborpersonal, die Allgemeinheit oder die Umwelt darstellen. Der Kontakt mit pathogenen Keimen im Labor kann eine ernsthafte Infektion hervorrufen, aber es stehen wirksame Behandlungen und Vorbeugungsmaßnahmen zur Verfügung. Das Ausbreitungsrisiko der Infektion ist begrenzt.
- **Risikogruppe 3** (hohes Risiko für Einzelpersonen, geringes Risiko für die Allgemeinheit).
Pathogene Keime, die gewöhnlich eine schwere Krankheit beim Menschen oder beim Tier hervorrufen, jedoch üblicherweise nicht von einer infizierten Person auf eine andere übertragbar sind. Eine wirksame Behandlung und Vorbeugungsmaßnahmen stehen zur Verfügung.
- **Risikogruppe 4** (hohes Risiko für Einzelpersonen und die Allgemeinheit).
Pathogene Keime, die gewöhnlich eine schwere Krankheit beim Menschen oder beim Tier hervorrufen und ohne Weiteres direkt oder indirekt von einer Person auf eine andere übertragen werden können. Eine wirksame Behandlung und Vorbeugungsmaßnahmen stehen normalerweise nicht zur Verfügung.

WARNUNG — Nationale Bestimmungen, durch die insbesondere die vorkommenden Mikroorganismen in die jeweilige Risikogruppe innerhalb der betroffenen Landesgrenzen eingeteilt werden, sind zu berücksichtigen.

3.3 Laborgestaltung

Die nachfolgend beschriebenen Anleitungen für die Laborgestaltung beziehen sich auf Untersuchungen zum Nachweis von in der Lebensmittelmikrobiologie zu den Risikogruppen 1, 2 und 3 gehörenden Mikroorganismen.

Es sollte angemerkt werden, dass abhängig von der örtlichen Gesetzgebung zusätzliche Sicherheitsmaßnahmen erforderlich sein können.

3.4 Laborbereiche

3.4.1 Allgemeines

Das Labor umfasst Bereiche, die mit den Proben und den Untersuchungen in direktem Zusammenhang stehen (siehe 3.4.2) und allgemeine Bereiche (siehe 3.4.3). Zwischen diesen Bereichen ist eine Trennung vorzunehmen.

3.4.2 Bereiche im Zusammenhang mit Proben und Untersuchungen

Es wird als gute Praxis angesehen, dass gesonderte Räumlichkeiten oder deutlich gekennzeichnete Bereiche für Folgendes zur Verfügung stehen:

- Annahme und Lagerung von Proben;
- Vorbereitung von Proben, besonders bei Rohmaterialien (z. B. pulverförmige Produkte mit einer hohen Anzahl von Mikroorganismen);
- Untersuchung von Proben (aus der Erstverdünnung) einschließlich der Bebrütung von Mikroorganismen;
- Umgang mit mutmaßlich pathogenen Keimen;
- Lagerung von Referenz- und sonstigen Stämmen;
- Herstellung und Sterilisation von Nährmedien und Geräten;
- Lagerung der Nährmedien und Reagenzien;
- Untersuchung von Lebensmitteln auf die Sterilität;
- Dekontamination;
- Reinigung von Glasgeräten und sonstigen Geräten;
- Lagerung gefährlicher Chemikalien; vorzugsweise in besonders dafür vorgesehenen Schränken, Räumen oder Gebäuden.

3.4.3 Allgemeine Bereiche

Gesonderte Bereiche sollten in Betracht gezogen werden für:

- Eingänge, Flure, Treppen, Aufzüge;
- Verwaltungsbereiche (z. B. Sekretariat, Büros, Räume für Dokumente usw.);
- Garderoben und Toiletten;
- Archivräume;
- Lagerräume;
- Aufenthaltsräume.

3.5 Bauausführung und Einrichtung der Arbeitsräume

3.5.1 Ziele

Das Ziel besteht darin sicherzustellen, dass die Umgebung, in der die mikrobiologischen Untersuchungen durchgeführt werden, die Zuverlässigkeit der Untersuchungen nicht beeinträchtigt.

Die Arbeitsräume sind so anzuordnen, dass das Risiko einer Kreuzkontamination verhindert wird. Wege zum Erreichen dieses Ziels sind zum Beispiel:

- a) die Konstruktion des Labors nach dem „Einbahnstraßen-Prinzip“;
- b) die Durchführung aufeinander folgender Arbeitsgänge unter Einhaltung geeigneter Vorsichtsmaßnahmen zur Sicherstellung der Vollständigkeit der Untersuchungen und der Unversehrtheit der Proben (z. B. Verwendung dicht verschlossener Behälter);
- c) die Trennung der Tätigkeiten nach zeitlichem oder räumlichem Ablauf.

Extreme Umgebungsbedingungen wie überhöhte Temperaturen, Staub, Feuchtigkeit, Dampf, Lärm, Schwingungen usw. sind zu vermeiden.

Die Räume sollten ausreichend groß sein, damit die Arbeitsplätze sauber und in Ordnung gehalten werden können. Die erforderliche Arbeitsfläche sollte dem Umfang der durchgeführten Untersuchungen und der inneren Gesamtorganisation des Labors angemessen sein. Die Räume sollten den Anforderungen der nationalen Bestimmungen entsprechen, sofern diese zur Verfügung stehen.

3.5.2 Einrichtung

Die Untersuchungsräume sollten wie folgt gebaut und eingerichtet sein, um das Risiko einer Kontamination durch Staub und somit durch Keime zu verringern (für Risikogruppe 3 ist auf die nationalen Bestimmungen Bezug zu nehmen).

- a) Die Wände, Decken und Fußböden sollten glatt, leicht zu reinigen und gegen die in Laboratorien verwendeten Reinigungs- und Desinfektionsmittel beständig sein.
- b) Die Fußböden sollten rutschsicher sein.
- c) Oberhalb der Kopfhöhe verlaufende flüssigkeitsführende Rohre sollten die Räume nicht durchqueren, wenn sie nicht absolut dicht sind; jegliche weiteren oberhalb der Kopfhöhe verlaufenden Konstruktionen sollten abgedeckt oder zum Zwecke einer regelmäßigen Reinigung leicht zugänglich sein.
- d) Es sollte möglich sein, bei der Durchführung von Untersuchungen die Fenster und Türen zu schließen, um den Luftzug auf ein Mindestmaß zu reduzieren. Weiterhin sollten die Fenster und Türen so konstruiert sein, dass die Bildung von Staubansammlungen vermieden und so die Reinigung erleichtert wird. Die Umgebungstemperatur (18 °C bis 27 °C) und die Luftqualität (Keimgehalt, Staubverbreitungsgeschwindigkeit usw.) sollten mit der Durchführung der Untersuchungen vereinbar sein. Zu diesem Zweck wird ein Luftfiltersystem für die Zuluft und die Abluft empfohlen.
- e) Es sollte ein angemessenes Abluftsystem vorhanden sein, um das Einatmen und Festsetzen von Stäuben zu verhindern, die beim Umgang mit Trockennährmedien und staubigen oder pulvrigen Proben entstehen.
- f) Wenn Untersuchungen unter Bedingungen mit besonders niedriger Luftkontamination durchgeführt werden müssen, sollte der Raum speziell mit einer Laminar-Flow-Sterilbank und/oder einer Sicherheitswerkbank ausgerüstet sei.
- g) Sofern erforderlich, sollte der Laborbereich durch das Anbringen von Rollläden oder entsprechend behandelten Glasscheiben gegen die schädlichen Einflüsse der Sonnenstrahlung geschützt werden. Innen angebrachte Verdunkelungen sind nicht geeignet, da sie schwer zu reinigen sind und so eine Staubquelle sein können.

3.5.3 Sonstige Gesichtspunkte

Folgende Gesichtspunkte sollten berücksichtigt werden:

- Vorhandensein einer Wasserversorgung von für den Verwendungszweck geeigneter Qualität;
- Vorhandensein einer Stromversorgung;
- Vorhandensein einer Gasversorgung (über Leitungen oder Gasflaschen);
- Vorhandensein einer angemessenen Beleuchtung in jedem Bereich des Labors;
- die Oberflächen der Labortische und Möbel sollten aus glattem, flüssigkeitsundurchlässigem Material gefertigt sein, das leicht zu reinigen und zu desinfizieren ist;
- die Labormöbel sollten so konstruiert sein, dass der Fußboden leicht gereinigt werden kann (z. B. verschiebbare Möbel);
- es sollten keine, außer die für die Untersuchungstätigkeiten unbedingt erforderlichen Möbel, Dokumente oder sonstige Gegenstände in solchen Bereichen aufbewahrt werden, in denen die Untersuchungen durchgeführt werden;
- zum Aufbewahren der bei der Behandlung der Proben, Nährmedien, Reagenzien usw. verwendeten Unterlagen sollten Unterbringungsmöglichkeiten zur Verfügung stehen;
- in jedem Untersuchungsraum und, sofern erforderlich, in allgemeinen Bereichen, sollten vorzugsweise in Türnähe Handwaschbecken vorhanden sein;
- zur Vernichtung kontaminierter Abfälle und Nährmedien sollte ein Autoklav zur Verfügung stehen, sofern kein angemessenes Verbrennungssystem für die Entsorgung kontaminierter Abfälle zur Verfügung steht;
- Sicherheitssysteme sollten Brandschutzeinrichtungen, Vorrichtungen für elektrische Notfälle (Notschalter), Notfallduschen und eine Einrichtung zum Spülen der Augen umfassen;
- Bereitstellung von Erste-Hilfe-Ausrüstung.

3.6 Reinigung und Desinfektion

Die folgenden Gesichtspunkte sollten überprüft werden.

- a) Die Fußböden, Wände, Decken, Oberflächen der Labortische, Möbel, und Verbindungen zwischen diesen sollten regelmäßig gewartet und repariert werden, um Risse zu vermeiden, die eine Kontaminationsquelle sein können.
- b) Es sollte eine regelmäßige Reinigung und Desinfektion durchgeführt werden, um die Räume in dem Zustand zu halten, der für die Durchführung der Untersuchungen geeignet ist. Kontaminierte oder möglicherweise kontaminierte Oberflächen sollten mit einem Desinfektionsmittel mit bakterizider und fungizider Wirkung dekontaminiert werden.

ANMERKUNG 1 Falls es durch nationale Bestimmungen erlaubt ist, können Räume und Ausrüstungen durch Begasen mit Formaldehyddampf dekontaminiert werden.

- c) Die Belüftungssysteme und ihre Filter sollten regelmäßig gewartet und die Filter je nach Erfordernis ausgewechselt werden.
- d) Der mikrobiologische Status der Arbeitsflächen im Labor, der Oberflächen, mit denen das Personal in Kontakt kommt und der Luft sollte regelmäßig überwacht werden (die Häufigkeit hängt von den Ergebnissen der vorangegangenen Prüfungen ab).
- e) Oberflächenkontaminationen dürfen unter Verwendung einer direkt auf der Oberfläche anzuwendenden Kontaktplatte mit entsprechendem Neutralisationsmedium (z. B. Lecithin, Natriumthiosulfat) ermittelt werden. Die Luft darf auf Kontaminationen untersucht werden, indem eine Petrischale mit nichtselektivem Agarmedium (z. B. Plate Count Agar, PCA) oder ein für den gesuchten Ziel-Mikroorganismus geeigneter Selektivagar (z. B. Schimmerepilze) 15 min offen stehen gelassen wird.

ANMERKUNG 2 Auch andere Verfahren können verwendet werden, um Oberflächen- und Luftkontaminationen zu ermitteln. Siehe ISO 18593.

4 Personal

4.1 Allgemeines

Allgemeine Anforderungen an die Befähigung des Personals können ISO/IEC 17025 entnommen werden.

4.2 Befähigung

Für jedes Untersuchungsverfahren oder jede Technik müssen objektive Beurteilungskriterien für eine angemessene Befähigung des Personals festgelegt werden, sowohl anfangs als auch fortwährend.

Innerhalb des Labors kann die Befähigung durch eine interne Qualitätskontrolle nachgewiesen werden (siehe 15.1.2).

ANMERKUNG Ein Mittel zur Untersuchung der Ursache einer mangelhaften Leistung (Pipettieren, mangelhafte Homogenität der Erstverdünnung, Auszählen usw.) bei Koloniezählungen ist in ISO 14461-1 aufgeführt.

4.3 Nachweis der fortwährenden Befähigung des Personals

Der Nachweis der fortwährenden Befähigung des Personals sollte regelmäßig anhand objektiver Parameter bewertet werden. Dies umfasst die Teilnahme an internen Qualitätssicherungsprogrammen, Eignungsprüfungen (siehe ISO/IEC-Guide 43-1), die Verwendung von Referenzmaterialien oder durch Selbstbeurteilungsprüfungen für die Keimzählung nach ISO 14461-2.

4.4 Hygiene

Um eine Kontamination der Proben und Nährmedien und das Risiko einer Infektion des Personals zu vermeiden, sind im Hinblick auf die Personalhygiene die folgenden Vorsichtsmaßnahmen durchzuführen:

- a) Tragen ordnungsgemäß geschlossener, sauberer und in gutem Zustand befindlicher Laborkleidung aus einem schwer entflammablem Gewebe. Diese Kleidung darf nicht außerhalb der Arbeitsbereiche getragen werden;
- b) Tragen von Haar- und Bartschutz, falls für die Unversehrtheit der Proben erforderlich;
- c) Saubere und vorzugsweise kurz geschnittene Fingernägel;
- d) Vor und nach mikrobiologischen Untersuchungen und unmittelbar nach Toilettenbenutzung gründliches Waschen der Hände mit lauwarmem Wasser, vorzugsweise aus einer berührungsfreien Armatur, unter Benutzung von flüssiger oder pulverförmiger Seife oder evtl. eines Desinfektionsmittels, welche vorzugsweise aus absolut sauberen Spendern zu entnehmen sind. Zum Händetrocknen sind Papier- oder Stoffhandtücher zum Einmalgebrauch zu verwenden. Diese Maßnahmen gelten für das Laborpersonal und für Besucher;
- e) Beim ungeschützten Arbeiten mit Proben, Kulturen, Medien und beim Beimpfen ist das Sprechen, Husten usw. zu vermeiden;
- f) Personen mit Hautinfektionen oder Krankheiten müssen Vorsichtsmaßnahmen einleiten, wenn die Wahrscheinlichkeit besteht, dass Mikroorganismen von diesen Proben verunreinigen und die Ergebnisse ungültig machen können;
- g) Im Labor darf nicht gegessen und getrunken werden; ferner dürfen keine Lebensmittel für den persönlichen Verzehr in den Kühlschränken und Gefrierschränken des Labors untergebracht werden;
- h) Das Pipettieren mit dem Mund ist verboten.

5 Geräte und Ausrüstungen

5.1 Allgemeines

Entsprechend der Guten Laborpraxis sollten alle Geräte und Ausrüstungen sauber und in gutem Betriebszustand gehalten werden. Vor der Verwendung sollten die Ausrüstungen als tauglich für den vorgesehenen Zweck nachgewiesen werden, und gegebenenfalls sollten deren Leistungen während der Benutzung überwacht werden.

Wo es erforderlich ist, sollten Ausrüstungen und Überwachungsgeräte anhand rückverfolgbarer nationaler Standards kalibriert und die Neukalibrierung sowie alle erforderlichen Zwischenüberprüfungen durchgeführt und Verfahren sowie Ergebnisse dokumentiert werden.

Die Ausrüstungen sollten regelmäßig überprüft und gewartet werden, um die Sicherheit und Gebrauchstauglichkeit sicherzustellen. Die Ausrüstungen sollten entsprechend den Arbeitsbedingungen und entsprechend der bezogen auf die Ergebnisse geforderten Genauigkeit überwacht werden.

Die Häufigkeit der Kalibrierung und der Verifikationsprüfungen der einzelnen Ausrüstungselemente ist in den meisten Fällen nicht in dieser Internationalen Norm festgelegt. Sie muss vom Labor festgelegt werden, in Abhängigkeit vom Ausrüstungstyp und von der Kapazitätsauslastung des Labors sowie entsprechend den Herstelleranweisungen. In bestimmten Fällen wurde die Häufigkeit festgelegt, wenn dieses als entscheidend angesehen wird.

Die Geräte und Ausrüstungen müssen so konstruiert und installiert sein, dass ihr Betrieb eine leichte Handhabung und Wartung, Reinigung, Dekontamination und Kalibrierung ermöglicht.

Die in diesem Abschnitt genannten Messunsicherheiten beziehen sich auf die entsprechenden Geräte und Ausrüstungen, nicht auf das gesamte Untersuchungsverfahren.

In diesem Abschnitt werden Anforderungen an die Messgenauigkeit der Messvorrichtungen gestellt. Diese basieren auf einer praktischen Toleranz, die zur Veranschaulichung einer geeigneten Überwachung der Geräte im täglichen Gebrauch benötigt wird. Die festgestellte Genauigkeit ist auf die Messunsicherheit des Gerätes bezogen (siehe VIM).

Bei Temperaturüberwachungsgeräten müssen vor dem ersten Gebrauch die Stabilität und Gleichmäßigkeit der Temperatur überprüft werden; ebenso nach jeder Reparatur oder Veränderung, die einen Einfluss auf die Temperaturüberwachung haben könnte(n).

5.2 Sicherheitswerkbänke

5.2.1 Beschreibung

Eine Sicherheitswerkbank ist ein mit horizontaler oder vertikaler laminarer Luftströmung ausgestatteter Arbeitsplatz, bei dem Staub und sonstige Teilchen wie Keime aus der Luft entfernt werden.

Die höchstzulässige Anzahl von Teilchen größer als oder gleich $0,5\ \mu\text{m}$ je Kubikmeter stellt die Schwebstoffklasse einer Sicherheitswerkbank dar. Bei den in der Lebensmittelmikrobiologie verwendeten Sicherheitswerkbänken darf die Anzahl der Teilchen 4 000 je Kubikmeter nicht überschreiten.

In Laboratorien für Lebensmittelmikrobiologie verwendete Sicherheitswerkbänke sind die folgenden vier Bauarten:

- a) Sicherheitswerkbänke der Klasse I sind Werkbänke mit Abzug und offener Arbeitsöffnung, die den Benutzer und die Umgebung schützen sollen, die aber das Produkt nicht vor einer Kontamination von außen schützen. Potenziell luftgetragene Schwebstoffverunreinigungen verbleiben innerhalb der Werkbank und werden durch den Filter abgefangen. Die gefilterte Luft wird üblicherweise in die Umgebung gegeben. Wenn dies nicht erfolgt, muss die Luft durch zwei hintereinander geschaltete HEPA-Filter geführt werden. Sie werden wegen der Schwierigkeiten bei der Aufrechterhaltung und Sicherstellung eines angemessenen Schutzes des Benutzers nicht für Arbeiten mit pathogenen Keimen der Risikogruppe 3 empfohlen.
- b) Sicherheitswerkbänke der Klasse II schützen das Produkt, den Benutzer und die Umgebung. Sie rezirkulieren einen Teil der gefilterten Luft, führen einen anderen Teil in die Umgebung ab, nehmen als Ersatz Luft durch die Arbeitsöffnung auf und schützen dadurch den Benutzer. Sie sind für Arbeiten mit pathogenen Keimen der Risikogruppe 3 geeignet.
- c) Sicherheitswerkbänke mit horizontaler laminarer Luftströmung schützen den Arbeitsablauf vor einer Kontamination, aber alle erzeugten Aerosole strömen in das Gesicht des Benutzers. Sie sind deshalb nicht für den Umgang mit beimpften Kulturen oder die Herstellung von Zellkulturen geeignet.
- d) Sicherheitswerkbänke mit vertikaler laminarer Luftströmung schützen das Produkt durch die vertikale laminare Strömung mittels HEPA-gefilterter Luft. Sie schützen auch den Benutzer durch die interne Umluft. Sie sind besonders zur Schaffung einer aseptischen Umgebung für die Handhabung steriler Produkte und für den Schutz des Benutzers beim Umgang mit pulverförmigen Materialien geeignet.

Sicherheitswerkbänke sind bei allen Arbeiten mit pathogenen Keimen und kontaminierten pulverförmigen Materialien zu verwenden, falls dies durch nationale Bestimmungen gefordert wird.

Die Verwendung eines Gasbrenners oder Ausglühgeräts in Sicherheitswerkbänken wird nicht empfohlen. Wenn es erforderlich ist, sollte der Gasbrenner eine kleine Flamme aufweisen, so dass der Luftstrom nicht gestört wird. Die Verwendung von Geräten zum Einmalgebrauch (Ösen, Pipetten usw.) ist eine geeignete Alternative.

5.2.2 Anwendungsweise

Sicherheitswerkbänke sollten so weit wie möglich frei von Geräten gehalten werden.

Wenn möglich, ist vor Beginn der Arbeit alles Erforderliche in der Werkbank unterzubringen, um die Anzahl der Armbewegungen in die und aus der Arbeitsöffnung auf ein Mindestmaß herabzusetzen. Geräte und Materialien sind so anzuordnen, dass Störungen des Luftstroms an der Arbeitsöffnung auf ein Mindestmaß herabgesetzt werden.

Die Benutzer sollten angemessen in der richtigen Anwendung von Sicherheitswerkbänken geschult sein, um die eigene Sicherheit und Unversehrtheit des Produkts oder der Kultur sicherzustellen.

5.2.3 Reinigung und Desinfektion

Der Arbeitsbereich sollte nach dem Gebrauch mit einem geeigneten und nicht korrosiven Desinfektionsmittel nach den Herstelleranweisungen gereinigt und desinfiziert werden. Die Gitternetze zum Schutz des Vorfilters sollten regelmäßig untersucht und mit einem mit Desinfektionsmittel getränkten Tuch sauber gewischt werden.

Bei Werkbänken mit laminarem Luftstrom sollte die Filterfläche regelmäßig einer Vakuumreinigung unterzogen werden, wobei dafür zu sorgen ist, dass das Filtermedium nicht beschädigt wird.

Vor einem Filterwechsel oder einer Filterwartung sollten Sicherheitswerkbänke begast werden.

Nach der Reinigung der Werkbänke dürfen UV-Lampen zur Desinfektion verwendet werden. UV-Lampen sollten regelmäßig gereinigt und entsprechend den Anweisungen des Herstellers ersetzt werden.

5.2.4 Wartung und Inspektion

Es sind Sicherheitswerkbänke anzuwenden, die für die vorgesehene Verwendung und die Umgebungsbedingungen im Labor geeignet sind.

Die Wirksamkeit einer Sicherheitswerkbank muss bei Anlieferung und danach in regelmäßigen Abständen nach den Herstellerempfehlungen durch eine Fachkraft sowie nach jeder Reparatur oder Veränderung geprüft werden.

Die Sicherheitswerkbank sollte regelmäßig auf Fehler jeglicher mikrobieller Kontaminationen durch Prüfung der Arbeitsfläche und der Wände der Werkbank überprüft werden.

Es sollte eine regelmäßige Überprüfung der Anzahl der vorhandenen luftgetragenen Mikroorganismen während des Betriebs der Filter unter Verwendung der üblichen Geräte erfolgen. Zum Beispiel sind mehrere offene Petrischalen mit einem nicht selektiven Agar-Nährmedium (z. B. Plate Count Agar, PCA) in jeder Werkbank für 30 min aufzustellen. Andere Verfahren können angewendet werden.

5.3 Waagen und gravimetrische Diluter

5.3.1 Anwendungsweise und Messunsicherheit

Waagen werden hauptsächlich zum Abwiegen der Untersuchungsmenge der zu untersuchenden Probe und der Bestandteile der Nährmedien und Reagenzien verwendet. Zusätzlich dürfen sie für Messungen der Volumen von Verdünnungsflüssigkeiten anhand des Gewichts verwendet werden.

Gravimetrische Diluter sind aus einer Waage und einem programmierbaren Flüssigkeitsspender bestehende elektronische Geräte und werden bei der Herstellung von Erstverdünnungen von Proben verwendet. Sie funktionieren durch Zugabe von Verdünnungsmittel zu einer Teilprobe in einem festgelegten Verhältnis. Die Teilprobe wird mit der für die Anwendungsweise festgelegten Toleranz gewogen und der Diluter so eingestellt, dass er ausreichend Verdünnungsmittel für das geforderte Verhältnis abgibt (z. B. 9 zu 1 für Dezimalverdünnungen).

Ein Labor für Lebensmittelmikrobiologie muss mit Waagen, deren Messbereich und Messunsicherheit den unterschiedlichen zu wiegenden Produkten entsprechen, ausgestattet sein.

Falls nicht anders angegeben, sollten die Fehlergrenzen 1 % oder weniger beim Abwiegen der Proben betragen.

Die Geräte sind auf eine stabile waagerechte Fläche zu stellen, deren Ebenheit erforderlichenfalls eingestellt und die gegen Schwingungen und Zugluft geschützt ist.

5.3.2 Reinigung und Desinfektion

Die Geräte sollten nach Gebrauch oder bei einem Verschütten während des Abwägens mit einem geeigneten und nicht korrosiven Desinfektionsmittel gereinigt und desinfiziert werden.

5.3.3 Überprüfung der Leistung und Kalibrierung

Die Leistung des Wägesystems ist regelmäßig während der Anwendung und nach der Reinigung mit Hilfe von Prüfgewichten durch eine geschulte Person zu überprüfen. Die Kalibrierung ist über ihren Gesamtbereich in einer gebrauchsunabhängigen Häufigkeit durch eine Fachkraft zu überprüfen.

Prüfgewichte dürfen auch unmittelbar nach der Kalibrierung der Waage überprüft werden.

5.4 Homogenisierungsgeräte, Mischgeräte und Mixgeräte

5.4.1 Beschreibung

Diese Geräte werden zur Herstellung der Erstverdünnung aus der Untersuchungsprobe nicht flüssiger Produkte verwendet.

Folgende Geräte dürfen verwendet werden:

- ein Beutel-Walkmischer (Stomacher) mit sterilen Beuteln, möglicherweise mit einer Vorrichtung zum Einstellen von Geschwindigkeit und Zeit; oder
- ein Rotationsmischer (Mischer) mit einer Umlaufgeschwindigkeit zwischen 8 000 Umdrehungen/Minute und 45 000 Umdrehungen/Minute, mit sterilisierbaren Glas- oder Metallbechern mit Deckel; oder
- ein Vibrationsmischer (Impulserzeuger) mit sterilen Beuteln; oder
- ein anderes Homogenisierungsgerät mit gleichwertiger Wirksamkeit.

In bestimmten Fällen darf ein Mischen von Hand unter Verwendung steriler Glasperlen geeigneten Durchmessers (etwa 6 mm; siehe ISO 6887-2 bis ISO 6887-4 und ISO 8261) erfolgen.

5.4.2 Anwendungsweise

Die übliche Betriebszeit eines Beutel-Walkmischers beträgt 1 min bis 3 min (siehe für bestimmte Lebensmittel ISO 6887-2 bis ISO 6887-4 und ISO 8261).

Dieser Gerätetyp ist für bestimmte Lebensmittel oder Futtermittel nicht zu verwenden, wie für:

- Produkte, bei denen das Risiko des Durchlöcherns des Beutels besteht (Vorliegen scharfer, harter oder trockener Teilchen); oder
- Produkte, die wegen ihrer Struktur schwierig zu homogenisieren sind (z. B. Salami).

Der Rotationsmischer muss über einen solchen Zeitraum arbeiten, dass die Anzahl der Umdrehungen zwischen 15 000 U/min und 20 000 U/min beträgt. Auch beim langsamsten Mischer darf die Dauer 2,5 min nicht überschreiten.

Der Vibrationsmischer kann für die meisten Lebensmittel einschließlich harter oder trockener Produkte verwendet werden. Die übliche Betriebszeit beträgt 0,5 min bis 1 min. Wenn es wahrscheinlich ist, dass Mikroorganismen tief innerhalb zusammenhängender Strukturen vorliegen, sollte die Probe vor der Bearbeitung in kleine Stücke geschnitten werden.

Bei der Herstellung der Erstverdünnungen bestimmter visköser oder dickflüssiger Produkte, besonders bestimmter Molkereiprodukte (siehe die spezifischen Normen) durch Schütteln, können Glasperlen verwendet werden.

5.4.3 Reinigung und Desinfektion

Beutel-Walkmischer und Vibrationsmischer sind regelmäßig zu reinigen und zusätzlich nach Verschütten oder Undichtigkeit eines Beutels zu desinfizieren.

Bei Rotationsmischern sollte der Glas- oder Metallbecher nach jeder Verwendung gereinigt und desinfiziert werden.

5.4.4 Wartung

Die Geräte sind nach den Herstelleranweisungen einer Sichtprüfung zu unterziehen und zu warten.

5.5 pH-Messgerät

5.5.1 Beschreibung

Ein pH-Messgerät wird zur Messung der Potenzialdifferenz zwischen einer Messelektrode und einer Referenzelektrode bei einer gegebenen Temperatur verwendet, wobei beide Elektroden in das Produkt eingeführt sind. Es muss mit einer Genauigkeit von $\pm 0,05$ pH-Einheiten messen können und seine Auflösung muss 0,01 pH-Einheiten betragen. Das pH-Messgerät muss mit einer manuell zu betätigenden oder automatischen Temperaturnausgleichsvorrichtung versehen sein.

ANMERKUNG Die Messelektrode und die Referenzelektrode sind üblicherweise in einem kombinierten Elektrodensystem zusammengefasst.

5.5.2 Anwendungsweise

Ein pH-Messgerät wird zur Messung des pH-Wertes von Nährmedien und Reagenzien verwendet, um zu überprüfen, ob eine Einstellung während der Herstellung erforderlich ist und als Qualitätsüberprüfung nach der Sterilisierung.

Es darf auch zur Messung des pH-Wertes von Proben und Probensuspensionen verwendet werden. Die Verwendung eines pH-Messgeräts wird in der für das zu analysierende Produkt spezifischen Norm behandelt, in der die Bedingungen für die pH-Wert-Bestimmung und für die Einstellung des pH-Wertes festgelegt sind.

Das pH-Messgerät ist nach den Angaben im Handbuch des Herstellers zur Messung des pH-Wertes bei einer standardisierten Temperatur, z. B. 25 °C, einzustellen. Der pH-Wert ist, nachdem er sich stabilisiert hat, abzulesen. Der Wert ist auf zwei Dezimalstellen aufzuzeichnen.

ANMERKUNG Die Ablesung darf als stabil angesehen werden, wenn der über einen Zeitraum von 5 s gemessene pH-Wert um nicht mehr als 0,02 pH-Einheiten schwankt. Bei Verwendung von in gutem Zustand befindlichen Elektroden wird das Gleichgewicht normalerweise innerhalb von 30 s erreicht.

5.5.3 Überprüfung und Justierung

Das pH-Messgerät muss nach den Herstelleranweisungen unter Verwendung von mindestens zwei und vorzugsweise drei Standard-Pufferlösungen mindestens täglich vor dem Gebrauch überprüft werden. Die Fehlergrenzen für diese Überprüfung sind in Abhängigkeit von der Verwendung festzulegen.

Die Standardlösungen müssen die bei der Messtemperatur auf zwei Dezimalstellen festgelegten pH-Werte aufweisen (im Allgemeinen pH 7,00 und pH 4,00 und/oder pH 9,00 bei 25 °C entsprechend den Herstelleranweisungen). Die verwendeten Standardlösungen müssen den zu messenden pH-Wert einschließen.

Nach der Überprüfung des pH-Messgeräts mit zwei rückverfolgbaren Standard-Pufferlösungen sollte der pH-Wert mit einem dritten Puffer, nämlich einem Kontrollpuffer, bei pH 5 oder pH 8 geprüft werden.

Liegen Messwerte außerhalb der Fehlergrenzen, muss eine Justierung des pH-Messgeräts nach Herstelleranweisungen erfolgen.

Der Justierung darf eine Kalibrierung folgen, um die Messunsicherheit des pH-Messgeräts zu bewerten.

5.5.4 Wartung

Die Elektroden müssen nach den Herstelleranweisungen überprüft und gewartet werden. Insbesondere müssen regelmäßig überprüft werden:

- der Zustand der Elektroden im Hinblick auf Alterung und Verschmutzung;
- die Ansprechzeit und Stabilität.

Die Elektroden sind nach jedem Gebrauch mit destilliertem oder entionisiertem Wasser zu spülen. In Anbetracht der Verschmutzung und Alterung der Elektroden sind sie in regelmäßigen Abständen nach den Herstelleranweisungen gründlicher zu reinigen.

Die Elektroden sind nach den Herstelleranweisungen zu lagern.

5.6 Autoklav

5.6.1 Beschreibung

Ein Autoklav erzeugt einen in einer Kammer gesättigten Dampf und wird zum Abtöten von Mikroorganismen verwendet.

Der Autoklav sollte ausgestattet sein mit:

- mindestens einem Sicherheitsventil,
- einem Ablasshahn,
- einem Regler, der die Aufrechterhaltung der Temperatur in der Kammer von $\pm 3\text{ °C}$ gegenüber der Ziel-Temperatur ermöglicht (dabei ist die mit dem Thermoelement zusammenhängende Messunsicherheit zu berücksichtigen), und
- einem Temperaturmessfühler oder einem selbstregistrierenden Thermoelement.

Er sollte auch mit einer Zeitschaltuhr und einem Temperaturschreiber ausgestattet sein.

5.6.2 Anwendungsweise

Die Dampfsterilisation erfordert die völlige Entleerung der Luft vor dem Druckaufbau. Falls der Autoklav nicht mit einem automatischen Entlüfter ausgestattet ist, muss die Luft so lange abgelassen werden, bis ein kontinuierlicher Dampfstrahl austritt.

Zur Abtötung von Mikroorganismen muss der gesättigte Dampf mindestens eine Temperatur von 121 °C haben.

Der Autoklav darf während des gleichen Sterilisationszyklus nicht zur Sterilisation sauberer Geräte (und/oder Nährmedien) und gleichzeitig zur Dekontamination benutzter Geräte (und/oder benutzter Nährmedien) verwendet werden.

Es ist vorzuziehen, für diese beiden Prozesse gesonderte Autoklaven zu verwenden. Nach dem Autoklavieren sollten alle Materialien und Geräte vor ihrer Entnahme im Autoklaven abkühlen können.

Aus Gründen der Sicherheit darf der Inhalt nicht entnommen werden, bevor die Temperatur auf unterhalb von etwa 80 °C gesunken ist.

5.6.3 Wartung

Die Kammer, das Ablassfilter und die Türdichtungen sind regelmäßig zu reinigen. Die Türdichtungen sind auf ihre Unversehrtheit zu prüfen. Das Wasser ist regelmäßig abzulassen und, falls erforderlich, Kesselstein regelmäßig zu entfernen. Den Empfehlungen des Herstellers ist zu folgen.

5.6.4 Kalibrierung und Überprüfung

Der Autoklav muss in gutem Betriebszustand gehalten und regelmäßig durch sachkundige qualifizierte Personen nach den Herstelleranweisungen überprüft werden.

Die Gerätschaften sind in gutem Betriebszustand zu halten und regelmäßig zu überprüfen.

In die anfängliche Validierung sollten Leistungsstudien für jeden Betriebszyklus und für jede in der Praxis verwendete Beladungskonfiguration einbezogen werden. Dieses Verfahren sollte nach wesentlichen Reparaturen oder Veränderungen wiederholt werden. Es sollte innerhalb der Beladung eine ausreichende Anzahl von Temperaturmessfühlern angeordnet werden, um eine angemessene Wärmedurchdringung an allen Stellen nachzuweisen. Bei der Validierung und Re-Validierung sollten die entsprechenden Aufheiz- und Abkühlzeiten wie auch die Sterilisationstemperatur überprüft werden.

Für jede Beladung sollte ein Prozessindikator im Zentrum des Geräteinnenraums angeordnet werden, um den Aufheizungsprozess nachzuweisen, sofern eine rückverfolgbare Aufzeichnung des Sterilisationsprozesses nicht zur Verfügung steht.

5.7 Gerät zur Herstellung von Nährmedien

5.7.1 Beschreibung

Ein Gerät zur Herstellung von Nährmedien ist hauptsächlich für die Sterilisation großer Medientvolumen (> 1 Liter) vorgesehen. Es besteht aus einem Heizkessel, einem Wassermantel und einem kontinuierlich arbeitenden Rührgerät. Das Gerät muss auch mit einem Temperaturmessgerät, einem Druckmessgerät, einer Zeitschaltuhr und einem Sicherheitsventil ausgestattet sein.

Zusätzlich sollte die Einheit eine Sicherheitsverriegelung haben, die das Öffnen verhindert, bis eine Temperatur von < 80 °C erreicht ist.

5.7.2 Anwendungsweise

Die Herstelleranweisungen sind jederzeit zu befolgen.

Der gesamte Herstellungsprozess findet innerhalb des Geräts statt. Nach Zugabe aller Bestandteile werden diese durch Rühren und Erwärmen gelöst. Anschließend erfolgt die Sterilisation.

5.7.3 Wartung

Das Gerät ist zwischen jeder Nährmediencharge mit reinem Wasser zu reinigen und gründlich zu spülen.

5.7.4 Überprüfung

Das Gerät muss in gutem Betriebszustand gehalten und regelmäßig durch sachkundige qualifizierte Personen nach den Herstelleranweisungen überprüft werden.

Die Überwachungsgeräte sind in gutem Betriebszustand zu halten und regelmäßig auf ihre Leistung zu überprüfen.

In die anfängliche Validierung sollten Leistungsstudien für jeden Betriebszyklus und für jeden in der Praxis verwendeten Beladungsumfang einbezogen werden. Dieses Verfahren sollte nach wesentlichen Reparaturen oder Veränderungen wiederholt werden. Zum Nachweis des gleichmäßigen Aufheizens dürfen zwei Temperaturmessfühler verwendet werden, wobei ein Messfühler in unmittelbarer Nähe des Kontrollmessfühlers und ein weiterer in größerer Entfernung davon anzubringen sind.

Die Temperatur und die Dauer jedes Zyklus sollten überprüft werden.

5.8 Brutschrank

5.8.1 Beschreibung

Ein Brutschrank besteht aus einer isolierten Kammer, die die Aufrechterhaltung einer stabilen und gleichmäßig verteilten Temperatur ermöglicht; innerhalb der im Prüfverfahren festgelegten Fehlergrenzen der Temperatur.

5.8.2 Anwendungsweise

Brutschränke müssen mit einem Regelsystem ausgestattet sein, das es ermöglicht, die Temperatur oder andere Parameter über das gesamte Betriebsvolumen gleichmäßig und stabil zu halten. Um sicherzustellen, dass dieses erreicht wird, ist das Betriebsvolumen zu definieren.

Falls die Umgebungstemperatur nahe der oder höher als die des Brutschranks liegt, ist es erforderlich, an die Kammer ein Kühlsystem anzuschließen.

Die Wände von Brutschränken sollten gegen Sonnenlicht geschützt sein.

Falls möglich, sollten Brutschränke nicht in einem einzigen Arbeitsgang vollständig gefüllt werden, weil die Nährmedien dann lange Zeit zur Temperaturangleichung benötigen, unabhängig von der Art des verwendeten Brutschranks (mit Konvektions-Zwangsbelüftung und sonstige Ausführungen). Ein Brutschrank darf nicht über längere Zeiträume geöffnet werden.

Bei der Beladung von Brutschränken sollte der Luftumlauf beachtet werden (siehe 10.2.4).

5.8.3 Reinigung und Desinfektion

Die Innen- und Außenwände des Brutschranks sind regelmäßig zu reinigen und zu desinfizieren, und gegebenenfalls ist Staub vom Belüftungssystem zu entfernen.

5.8.4 Überprüfung

Die Temperaturstabilität und die Homogenität der Temperaturverteilung sind durch gleichzeitige Anwendung einer Reihe von Thermometern oder Thermoelementen mit bekannter Genauigkeit und geeignetem Temperaturbereich bei der (den) Betriebstemperatur(en) über das Betriebsvolumen des Brutschranks zu überprüfen.

Die Information wird gebraucht, um den zulässigen Arbeitsbereich des Brutschranks und die optimale Einstellung des zum Kontrollieren der Arbeitstemperaturen verwendeten Thermometers zu bestimmen.

Beispielsweise, um eine Ziel-Temperatur von $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ zu erreichen, wenn die Profildaten einen Bereich von $36,8^\circ\text{C}$ bis $37,3^\circ\text{C}$ quer durch den Brutschrank anzeigen, dann sollte der Arbeitsbereich auf $36,2^\circ\text{C}$ bis $37,7^\circ\text{C}$ reduziert werden, um sicherzustellen, dass alle Teile des Brutschranks die Ziel-Temperatur von 37°C erreichen.

Dieser Vorgang sollte nach jeder wesentlichen Reparatur oder Veränderung wiederholt werden.

Die Betriebstemperatur sollte mit beispielsweise einem oder mehreren Maximum- und Minimumthermometern oder selbstregistrierenden Thermoelementen überprüft werden.

Das Thermometer oder das für Routinekontrollen des Brutschranks aufzeichnende Thermoelement muss in einer durch die Profildaten beim Erreichen der Ziel-Temperatur bestimmten Position befestigt sein.

Die Temperatur des Brutschranks ist mindestens an jedem Arbeitstag zu überprüfen. Zu diesem Zweck muss sich in jedem Brutschrank mindestens eine Messeinrichtung befinden, dessen Kolben in Glycerol (oder eine andere geeignete wärmehaltende Flüssigkeit) in einer verschlossenen Flasche eingetaucht werden darf.

Andere Überprüfungssysteme mit gleichwertiger Leistung können verwendet werden.

5.9 Kühlschrank, Kühlraum

5.9.1 Beschreibung

Es sind Einrichtungen, die die Beibehaltung einer gekühlten Lagerung ermöglichen. Für die Aufbewahrung von Lebensmittelproben zur Analyse muss die Temperatur $3^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ betragen (maximale Fehlergrenzen), außer bei besonderen Anwendungen. Für andere Zwecke muss die Temperatur, falls nicht anders festgelegt, $5^\circ\text{C} \pm 3^\circ\text{C}$ betragen.

5.9.2 Anwendungsweise

Um eine Kreuzkontamination zu verhindern, sind Behältnisse räumlich getrennt aufzubewahren zur Lagerung von

- nicht beimpften Nährmedien und Reagenzien,
- Untersuchungsproben und
- Kulturen von Mikroorganismen und bebrüteten Nährmedien.

Die Kühlschränke, Kühlkammern oder Kühlräume müssen so beschickt werden, dass eine ausreichende Luftzirkulation aufrechterhalten und potenzielle Kreuzkontaminationen minimiert werden.

5.9.3 Überprüfung

Die Temperatur in jeder Kühleinrichtung ist an jedem Arbeitstag mit einem Thermometer oder einer fest eingebauten Messsonde zu überprüfen. Die Genauigkeit des Temperaturüberwachungsgeräts ist von der jeweiligen Zweckbestimmung der Einheit abhängig.

5.9.4 Wartung und Reinigung

Folgende Wartungsvorgänge sind in regelmäßigen Abständen durchzuführen, um einen ordnungsgemäßen Betrieb sicherzustellen:

- Staubbeseitigung an den Motorlamellen oder den äußeren Wärmeaustauscherplatten;
- Abtauen;
- Reinigung und Desinfektion des Innenraumes.

5.10 Tiefkühleinrichtung und Tiefgefriereinrichtung

5.10.1 Beschreibung

Eine Tiefkühleinrichtung ist ein Raum, der die Sicherstellung einer Tiefkühlagerung ermöglicht. Die Temperatur muss, falls nicht anders festgelegt, unter -15 °C liegen, für Lebensmittelproben vorzugsweise unter -18 °C .

Eine Tiefgefriereinrichtung ist ein Raum, der die Sicherstellung einer Lagerung im tiefgefrorenen Zustand ermöglicht. Die Temperatur muss, falls nicht anders festgelegt, unter -70 °C liegen.

5.10.2 Anwendungsweise

5.10.2.1 Tiefkühleinrichtung

Zur Schaffung einer räumlichen Trennung müssen unterschiedliche Räume oder zumindest Behälter zur Verfügung stehen für die Lagerung von

- unbeimpften Reagenzien,
- Untersuchungsproben und
- Kulturen von Mikroorganismen.

Die Tiefkühleinrichtung muss so beschickt werden, dass eine ausreichend niedrige Temperatur aufrechterhalten wird, besonders wenn nicht gefrorene Produkte eingebracht werden.

5.10.2.2 Tiefgefriereinrichtung

Die hauptsächliche Verwendung ist die Lagerung von Mikroorganismen, Referenz- und/oder Gebrauchskulturen sowie Reagenzien.

Die Tiefgefriereinrichtung muss so beschickt werden, dass eine ausreichend niedrige Temperatur aufrechterhalten wird und Kreuzkontaminationen zwischen Mikroorganismen und Reagenzien verhindert werden.

5.10.3 Überprüfung

Die Temperatur jeder Einrichtung ist regelmäßig mit einem geeigneten Temperaturüberwachungsgerät zu überprüfen.

5.10.4 Wartung

Folgende Wartungsvorgänge sind in regelmäßigen Abständen durchzuführen:

- Staubbeseitigung an den Motorlamellen und den äußeren Wärmeaustauscherplatten (falls erreichbar);
- Abtauen;
- Reinigung und Desinfektion des Kammerinneren.

5.11 Wasserbad mit Temperaturregler

5.11.1 Beschreibung

Ein mit einer Flüssigkeit (Wasser, Ethylenglycol usw.) gefülltes thermostatisch geregeltes Bad mit oder ohne angebrachtem Deckel oder einer sonstigen Vorrichtung zur Begrenzung der Verdunstung wird zur Aufrechterhaltung einer festgelegten Temperatur benötigt. Die Temperaturregelung ist oft genauer als bei einem Brutschrank mit Luftatmosphäre und ermöglicht das Erreichen von Fehlergrenzen von $\pm 0,5\text{ °C}$ oder besser. Die Betriebstemperaturen und die geforderten Fehlergrenzen sind für jede einzelne Anwendungsweise bzw. jedes Verfahren festgelegt. Es ist ein Kühlsystem erforderlich, um eine Temperatur nahe bei oder unterhalb der Umgebungstemperatur aufrechtzuerhalten.

5.11.2 Anwendungsweise

Die hauptsächlichen Anwendungsgebiete sind folgende:

- Bebrütung beimpfter Nährmedien bei einer konstanten Temperatur;
- Aufrechterhaltung des verflüssigten Zustands steriler Agarmedien bei der Medienherstellung;
- Temperieren steriler verflüssigter Agarmedien zur Verwendung bei spezifischen Verfahren;
- Herstellung von Erstverdünnungen oder Lösungen von Proben bei einer geregelten Temperatur;
- Wärmebehandlung von Proben-Erstverdünnungen bei einer geregelten Temperatur (z. B. Pasteurisation).

Wenn eine genaue Temperaturregelung erforderlich ist, muss das Bad mit einer Umwälzpumpe und einer automatischen Temperaturregelung ausgestattet sein. Eine Bewegung der Flüssigkeit darf nicht zum Verspritzen von Tröpfchen führen.

Für den Einsatz bei genauen oder hohen Temperaturen sind vorzugsweise mit Deckel versehene Bäder zu verwenden. Es sollten schräg liegende Deckel, die das Abfließen des Kondensats ermöglichen, verwendet werden.

Zur Bebrütung beimpfter Medien ist der Flüssigkeitsspiegel so einzuhalten, dass die Oberfläche des Prüfmediums über die gesamte Bebrütungszeit mindestens 2 cm unterhalb des Flüssigkeitsspiegels im Bad liegt.

Sonstige Behälter sollten so in Bäder eingesetzt werden, dass sich die Oberfläche ihres Inhalts unterhalb des Flüssigkeitsspiegels befindet.

Die Eintauchtiefe muss das Eintreten von Wasser durch den Verschluss ausschließen.

Es können Vorrichtungen erforderlich sein, um die stabile Lage der Behälter aufrechtzuerhalten, beispielsweise Gestelle.

Alle Behälter sollten nach Entfernung aus dem Bad und vor der weiteren Verwendung abgetrocknet werden.

5.11.3 Überprüfung

Die Stabilität und die Homogenität der Temperatur innerhalb des gesamten Bades sind vor der Erstverwendung und nach jeder Reparatur oder Veränderung, die sich auf die Temperaturregelung auswirkt, zu überprüfen.

Jedes Bad ist mit einem Thermometer, Thermoelement oder Temperaturaufzeichnungsgerät geeigneter Messunsicherheit (siehe 5.28.2) zu überwachen, das vom automatischen Temperaturregelungssystem unabhängig ist.

Eine digitale Anzeige darf ebenfalls verwendet werden, vorausgesetzt, deren Genauigkeit und Auflösung wurden überprüft.

Die Temperatur des Bades ist während jeder Verwendung und bei einer Langzeitbebrütung mindestens täglich zu überwachen.

5.11.4 Wartung

Bäder sollten mit einer vom Hersteller empfohlenen Flüssigkeit gefüllt werden. Für die Bebrütung von Kulturen sollte vorzugsweise destilliertes oder entionisiertes Wasser verwendet werden.

Der Flüssigkeitsspiegel ist regelmäßig zu überprüfen, um das richtige Funktionieren des Bades und das ausreichende Untertauchen von Gegenständen im Bad sicherzustellen. Der Flüssigkeitsspiegel muss immer die Heizelemente bedecken.

Bäder sollten regelmäßig in einer von der Benutzung abhängigen Häufigkeit sowie nach jeder Kontamination geleert, gereinigt, desinfiziert und neu befüllt werden.

5.12 Dampftöpfe, einschließlich Bäder mit siedendem Wasser

5.12.1 Beschreibung

Dampftöpfe und Bäder mit siedendem Wasser bestehen aus einem Heizelement, das in einem Behälter mit dicht schließendem Deckel von Wasser umgeben ist. Bei einem Dampftopf wird dabei Dampf bei Atmosphärendruck erzeugt, bei einem Bad mit siedendem Wasser wird das Wasser mit oder ohne Dampferzeugung auf Siedetemperatur aufgeheizt.

5.12.2 Anwendungsweise

Die hauptsächlichen Anwendungsgebiete sind folgende:

- Verflüssigen von Agarmedien;
- Herstellung hitzelabiler Medien;
- Verringerung geringer Kontamination von Glasgerätschaften zwischen den Verwendungen.

Im Gefäß muss ein sicherer und ausreichender Wasserspiegel vorhanden sein, um sicherzustellen, dass die Heizelemente ständig bedeckt sind.

Es darf auch ein Autoklav mit einer Vorrichtung zum freien Dampfstrom verwendet werden.

5.12.3 Wartung

Dampftöpfe und Bäder mit siedendem Wasser sind sauber zu halten.