

DIN EN ISO 21148

ICS 07.100.40

Entwurf

Einsprüche bis 2017-02-16
Vorgesehen als Ersatz für
DIN EN ISO 21148:2009-10

**Kosmetische Mittel –
Mikrobiologie –
Allgemeine Anleitungen zur mikrobiologischen Untersuchung
(ISO/FDIS 21148:2017);
Deutsche und Englische Fassung FprEN ISO 21148:2017**

Cosmetics –

Microbiology –

General instructions for microbiological examination (ISO/FDIS 21148:2017);
German and English version FprEN ISO 21148:2017

Cosmétiques –

Microbiologie –

Instructions générales pour les examens microbiologiques (ISO/FDIS 21148:2017);
Version allemande et anglaise FprEN ISO 21148:2017

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2016-12-16 wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und
Stellungnahme vorgelegt.

Weil die beabsichtigte Norm von der vorliegenden Fassung abweichen kann, ist die Anwendung dieses Entwurfs
besonders zu vereinbaren.

Stellungnahmen werden erbeten

- vorzugsweise online im Norm-Entwurfs-Portal von DIN unter www.din.de/go/entwuerfe bzw. für Norm-Entwürfe der DKE auch im Norm-Entwurfs-Portal der DKE unter www.entwuerfe.normenbibliothek.de, sofern dort wiedergegeben;
- oder als Datei per E-Mail an nal@din.de möglichst in Form einer Tabelle. Die Vorlage dieser Tabelle kann im Internet unter www.din.de/go/stellungnahmen-norm-entwuerfe oder für Stellungnahmen zu Norm-Entwürfen der DKE unter www.dke.de/stellungnahme abgerufen werden;
- oder in Papierform an den DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL), 10772 Berlin, Burggrafenstr. 6, 10787 Berlin.

Die Empfänger dieses Norm-Entwurfs werden gebeten, mit ihren Kommentaren jegliche relevanten
Patentrechte, die sie kennen, mitzuteilen und unterstützende Dokumentationen zur Verfügung zu stellen.

Gesamtumfang 57 Seiten

DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)



Nationales Vorwort

Dieses Dokument (FprEN ISO 21148:2017) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 217 „Cosmetics“ (Sekretariat: ISIRI, Iran) in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 392 „Kosmetische Mittel“ erarbeitet, dessen Sekretariat vom AFNOR (Frankreich) gehalten wird.

Das zuständige deutsche Normungsgremium ist der Arbeitsausschuss NA 057-07-01 AA „Kosmetische Mittel“ im DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL).

Um Zweifelsfälle in der Übersetzung auszuschließen, ist die englische Originalfassung des FprEN ISO 21148:2017 beigelegt. Die Nutzungsbedingungen für den deutschen Text des Norm-Entwurfes gelten gleichermaßen auch für den englischen Text.

Für die in diesem Dokument zitierten Internationalen Normen wird im Folgenden auf die entsprechenden Deutschen Normen hingewiesen:

ISO 6887-1	siehe	DIN EN ISO 6887-1
ISO 7218	siehe	DIN EN ISO 7218
ISO 11133	siehe	DIN EN ISO 11133
ISO/IEC 17025	siehe	DIN EN ISO/IEC 17025

Änderungen

Gegenüber DIN EN ISO 21148:2009-10 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) Normative Verweisungen aktualisiert;
- b) die Benennung „Validierung“ wurde im gesamten Dokument durch die Benennung „Eignung“ ersetzt;
- c) redaktionelle Änderungen vorgenommen.

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN EN ISO 6887-1, *Mikrobiologie der Lebensmittelkette — Vorbereitung von Untersuchungsproben und Herstellung von Erstverdünnungen und von Dezimalverdünnungen für mikrobiologische Untersuchungen — Teil 1: Allgemeine Regeln für die Herstellung von Erstverdünnungen und Dezimalverdünnungen*

DIN EN ISO 7218, *Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln — Allgemeine Anforderungen und Leitlinien für mikrobiologische Untersuchungen*

DIN EN ISO 11133, *Mikrobiologie von Lebensmitteln, Futtermitteln und Wasser — Vorbereitung, Herstellung, Lagerung und Leistungsprüfung von Nährmedien*

DIN EN ISO/IEC 17025, *Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien*

Kosmetische Mittel — Mikrobiologie — Allgemeine Anleitungen zur mikrobiologischen Untersuchung (ISO/FDIS 21148:2017)

Cosmétiques — Microbiologie — Instructions générales pour les examens microbiologiques (ISO/FDIS 21148:2017)

Cosmetics — Microbiology — General instructions for microbiological examination (ISO/FDIS 21148:2017)

ICS:

Deskriptoren:

Dokument-Typ: Europäische Norm

Dokument-Untertyp:

Dokumentstufe: parallele formelle Abstimmung vorgelegt

Dokumentsprache: D

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	5
Vorwort	6
Einleitung	7
1 Anwendungsbereich	8
2 Normative Verweisungen	8
3 Begriffe	8
4 Arbeitsräume	8
4.1 Untersuchungsbereiche	8
4.2 Zusätzliche Bereiche	9
4.3 Lage der Arbeitsräume	9
4.4 Einrichten der Arbeitsräume	10
4.5 Instandhaltung	10
5 Geräte	10
5.1 Allgemeines	10
5.2 Mikrobiologische Werkbänke	11
5.3 Waagen	11
5.4 Homogenisiergeräte	11
5.5 pH-Messgerät	11
5.6 Autoklav	11
5.7 Brutschrank	11
5.8 Wasserbäder	12
5.9 Kühlschrank oder Kühlraum	12
5.10 Gefrierschrank	12
5.11 Heißluftsterilisator	12
5.12 Koloniezählgerät	12
5.13 Sonstige Einrichtungen	12
6 Mikroorganismenstämme	13
7 Personal	13
7.1 Befähigung	13
7.2 Hygiene	13
8 Vorbereitung von Geräten und Glasgeräten	14
8.1 Vorbereitung	14
8.2 Sterilisation	14
8.2.1 Sterilisation durch trockene Hitze	14
8.2.2 Sterilisation durch feuchte Hitze	14
8.3 Einweggeräte	14
8.4 Umgang mit sauberen Geräten und Glasgeräten	15
8.5 Umgang mit sterilen Geräten und Glasgeräten	15
8.6 Behandlung von kontaminiertem Material	15
8.7 Waschen	15
9 Herstellung und Sterilisation von Nährmedien und Reagenzien	15
9.1 Allgemeines	15
9.2 Wasser	16

9.3	Herstellung von Nährmedien.....	16
9.3.1	Allgemeines	16
9.3.2	Rehydratation.....	16
9.3.3	Messung des pH-Wertes.....	16
9.3.4	Abfüllung	16
9.4	Sterilisation	17
9.4.1	Allgemeines	17
9.4.2	Sterilisation mit feuchter Hitze.....	17
9.4.3	Sterilisation durch Filtration	17
9.5	Lagerung	17
9.5.1	Allgemeines	17
9.5.2	Im Labor hergestellte Nährmedien und Reagenzien.....	17
9.5.3	Gebrauchsfertige Nährmedien und Reagenzien	18
9.6	Schmelzen von Agar-Nährmedien	18
9.7	Vorbereitung von Petrischalen	18
10	Laborproben	18
10.1	Allgemeines	18
10.2	Probenahme des kosmetischen Mittels	19
10.3	Transport	19
10.4	Entgegennahme und Lagerung.....	19
10.5	Handhabung von Produkten und Proben.....	19
10.6	Konservierung und Vernichtung von Produkten	19
11	Arbeitspraktiken	20
11.1	Hygienemaßnahmen bei der Untersuchung	20
11.2	Herstellung der Erstverdünnung und Verdünnungen von Proben.....	21
11.2.1	Allgemeines	21
11.2.2	Wassermischbare Produkte.....	21
11.2.3	Nicht wassermischbare Produkte	21
11.3	Zählverfahren	21
11.4	Nachweisverfahren.....	21
12	Angabe der Ergebnisse.....	21
13	Neutralisierung der antimikrobiellen Eigenschaften des Produkts	22
Anhang A (informativ) Grundlegende Verfahren zur Identifizierung		23
A.1	Herstellung einer Reinkultur.....	23
A.1.1	Allgemeines	23
A.1.2	Ausstreichen.....	23
A.1.3	Bebrütung	24
A.1.4	Auswahl.....	24
A.2	Gram-Färbung (modifiziertes Hucker-Verfahren)	24
A.2.1	Allgemeines	24
A.2.2	Lösungen.....	24
A.3	Untersuchung auf Katalase	26
A.3.1	Allgemeines	26
A.3.2	Aus einer Bouillonkultur	26
A.3.3	Aus einem Agarmedium.....	26
A.3.4	Aus einer Kolonie	26
A.4	Prüfung auf Oxidase	26
A.4.1	Allgemeines	26
A.4.2	Reagenz	27
A.5	Anwendung biochemischer Untersuchungen für die Identifizierung	27
Anhang B (informativ) Grundlegende Arbeitstechniken für das Zählen und Ausstreichen.....		28
B.1	Beimpfen von gegossenen Platten	28
B.2	Oberflächenbeimpfung.....	28

B.3	Membranfiltration	28
Anhang C (informativ) Herstellung und Kalibrierung von Inokuli		29
C.1	Kultur der Referenzstämme	29
C.2	Herstellung der Zellsuspensionen	29
C.3	Kalibrierung der Suspensionen	29
Literaturhinweise		30

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (FprEN ISO 21148:2017) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 217 *Cosmetics* in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 392 *Kosmetische Mittel* erarbeitet, dessen Sekretariat vom AFNOR gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur parallelen Umfrage vorgelegt.

Dieses Dokument wird EN ISO 21148:2009 ersetzen.

Dieses Dokument wurde unter einem Mandat erarbeitet, das die Europäische Kommission und die Europäische Freihandelszone dem CEN erteilt haben.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO/FDIS 21148:2017 wurde vom CEN als FprEN ISO 21148:2017 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

Vorwort

ISO (die Internationale Organisation für Normung) ist eine weltweite Vereinigung von Nationalen Normungsorganisationen (ISO-Mitgliedsorganisationen). Die Erstellung von Internationalen Normen wird normalerweise von ISO Technischen Komitees durchgeführt. Jede Mitgliedsorganisation, die Interesse an einem Thema hat, für welches ein Technisches Komitee gegründet wurde, hat das Recht, in diesem Komitee vertreten zu sein. Internationale Organisationen, staatlich und nicht-staatlich, in Liaison mit ISO, nehmen ebenfalls an der Arbeit teil. ISO arbeitet eng mit der Internationalen Elektrotechnischen Kommission (IEC) bei allen elektrotechnischen Themen zusammen.

Die Verfahren, die bei der Entwicklung dieses Dokuments angewendet wurden und die für die weitere Pflege vorgesehen sind, werden in den ISO/IEC-Direktiven, Teil 1 beschrieben. Im Besonderen sollten die für die verschiedenen ISO-Dokumentenarten notwendigen Annahmekriterien beachtet werden. Dieses Dokument wurde in Übereinstimmung mit den Gestaltungsregeln der ISO/IEC-Direktiven, Teil 2 erarbeitet (siehe www.iso.org/directives).

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. ISO ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren. Details zu allen während der Entwicklung des Dokuments identifizierten Patentrechten finden sich in der Einleitung und/oder in der ISO-Liste der empfangenen Patenterklärungen (siehe www.iso.org/patents).

Jeder in diesem Dokument verwendete Handelsname wird als Information zum Nutzen der Anwender angegeben und stellt keine Anerkennung dar.

Eine Erläuterung der Bedeutung ISO-spezifischer Benennungen und Ausdrücke, die sich auf Konformitätsbewertung beziehen, sowie Informationen über die Beachtung der Grundsätze der Welthandelsorganisation (WTO) zu technischen Handelshemmnissen (TBT, en: Technical Barriers to Trade) durch ISO enthält der folgende Link: www.iso.org/iso/foreword.html.

Das für dieses Dokument verantwortliche Komitee ist ISO/TC 217, *Cosmetics*.

Diese zweite Ausgabe ersetzt die erste Ausgabe (ISO 21148), die eine Minor Revision darstellt:

Sie schließt auch das Technische Corrigendum ISO 21148:2005/Cor 1:2006 ein.

Folgende Änderungen wurden vorgenommen:

- a) in Abschnitt 6 wurde „Validierung des Verfahrens“ in „Verifizierung der Verfahrenseignung“ geändert;
- b) in 8.2.1 wurde „validiert“ in „sich als geeignet erwiesen haben“ geändert;
- c) in Abschnitt 13 wurde „validiert“ in „nachgewiesen“ geändert;
- d) in B.3 wurden redaktionelle Änderungen vorgenommen.

Einleitung

Der Zweck der vorliegenden Internationalen Norm besteht darin, zu helfen sicherstellen, dass die allgemeinen bei der Durchführung von mikrobiologischen Untersuchungen an kosmetischen Mitteln angewandten Arbeitstechniken mit denen in anderen Labors identisch sind, die diese Normen anwenden, und zudem behilflich zu sein, in unterschiedlichen Labors gleichwertige Ergebnisse zu erzielen und durch Verhinderung von Infektionsrisiken zum Schutz der Gesundheit des Laborpersonals beizutragen.

Bei der Durchführung mikrobiologischer Untersuchungen an kosmetischen Mitteln ist besonders wichtig, dass:

- nur jene Mikroorganismen isoliert oder ausgezählt werden, die in den Proben vorhanden sind;
- die Mikroorganismen nicht die Umgebung kontaminieren.

Um das zu erreichen, ist es erforderlich, die Personalhygiene zu beachten und Arbeitstechniken anzuwenden, die sicherstellen, dass eine Kontamination von außen möglichst weitgehend ausgeschlossen ist.

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 in die Untersuchung einbezogenen Mikroorganismen von grundlegender Bedeutung. Wichtig ist, dass die Untersuchungen einschließlich der Berechnung der Anzahl an Mikroorganismen möglichst genau durchgeführt werden.

Beispielsweise kann eine große Zahl von Tätigkeiten zur unbeabsichtigten Kreuzkontamination führen, und die Person, die die Untersuchung durchführt, sollte immer die Richtigkeit der durch ihre Arbeitstechnik erbrachten Ergebnisse überprüfen. Besondere Vorkehrungen müssen nicht nur aus Gründen der Hygiene, sondern auch zur Sicherung einer guten Reproduzierbarkeit der Ergebnisse getroffen werden. Es ist nicht möglich, sämtliche unter allen Umständen einzuleitenden Maßnahmen festzulegen; in der vorliegenden Internationalen Norm sind jedoch zumindest die grundsätzlichen Maßnahmen enthalten, die bei Herstellung, Sterilisation und Lagerung der Nährmedien sowie beim Gebrauch der Geräte einzuleiten sind.

Die gegebenen Empfehlungen werden die Zählung und den Nachweis mesophiler Mikroorganismen erlauben, die unter aeroben Bedingungen wachsen können.

Die Empfehlungen gelten für die Bestimmung der Abwesenheit von oder des begrenzten Auftretens von bestimmten Mikroorganismen, die bei kosmetischen Mitteln von Interesse sind.

Die Untersuchungsverfahren sind in den einzelnen Normen beschrieben. Als Alternative lassen sich andere mikrobiologische Verfahren anwenden, vorausgesetzt dass deren Äquivalenz nachgewiesen oder das betreffende Verfahren anderweitig validiert wurde. Die Wahl eines speziellen Verfahrens oder die Kombination von in diesen Internationalen Normen erwähnten Verfahren hängt vom Zweck der Durchführung der Untersuchung ab und es liegt beim Anwender zu entscheiden, welche Vorgehensweise sich für dessen/deren Anwendung am besten eignet.

1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument gibt allgemeine Anleitungen für die Durchführung von mikrobiologischen Untersuchungen kosmetischer Mittel, damit deren Qualität und Sicherheit in Übereinstimmung mit einer entsprechenden Risikoanalyse [z. B. geringe Wasseraktivität (niedriger aw-Wert), hydroalkoholischer Anteil, extreme pH-Werte] sichergestellt ist.

Wegen der großen Vielfalt an kosmetischen Mitteln und potentiellen Anwendungsmöglichkeiten innerhalb dieses Anwendungsbereichs sind diese Anleitungen möglicherweise für einige Produkte nicht in allen Einzelheiten geeignet (z. B. bestimmte mit Wasser nicht mischbare Produkte).

2 Normative Verweisungen

Es gibt keine normativen Verweisungen in diesem Dokument.

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

ISO und IEC stellen terminologische Datenbanken für die Verwendung in der Normung unter den folgenden Adressen bereit:

- IEC Electropedia: unter <http://www.electropedia.org/>
- ISO Online browsing platform: unter <http://www.iso.org/obp>

3.1

Produkt

Anteil eines identifizierten kosmetischen Mittels, das im Labor zur Untersuchung entgegengenommen wird

3.2

Probe

Anteil des *Produkts* (3.1) (mindestens 1 g oder 1 ml), der bei der Untersuchung eingesetzt wird, um die *Erstverdünnung* (3.3) herzustellen

3.3

Erstverdünnung

Suspension (oder Lösung) einer *Probe* (3.2) in einem festgelegten Volumen einer geeigneten Flüssigkeit (Verdünnungsmittel, Neutralisierungsmittel, Bouillon oder eine Kombination von denen)

3.4

Probenverdünnung

Verdünnung der *Erstverdünnung* (3.3)

4 Arbeitsräume

4.1 Untersuchungsbereiche

Folgende Bereiche sind für einen bestimmten Arbeitsablauf in einem mikrobiologischen Labor erforderlich:

- Entgegennahme, Lagerung, Herstellung und Bearbeitung der Proben;
- Herstellung und Sterilisation von Nährmedien, Geräten und Glasgeräten;

- Durchführung von Untersuchungen: Wägen, Verdünnungen herstellen, Beimpfungen vornehmen, Subkultivieren, Bebrütung, Erhaltung des Stammes usw.;
- Dekontamination und Reinigung von Geräten, Glasgeräten und Bearbeitung der Abfälle von Untersuchungen.

4.2 Zusätzliche Bereiche

Die in dieser Kategorie enthaltenen Bereiche sind z. B. folgende:

- Eingänge, Korridore, Treppenhäuser, Aufzüge;
- Verwaltungsbereiche (z. B. Sekretariat, Büros, Dokumentationsräume usw.);
- Waschräume und Toiletten;
- Archive;
- Lager.

4.3 Lage der Arbeitsräume

Das Umfeld, in dem die mikrobiologischen Untersuchungen vorgenommen werden, darf sich nicht auf die Zuverlässigkeit der Untersuchungen auswirken.

Bei der Festlegung der Arbeitsräume muss mit Sorgfalt vorgegangen werden, damit das Risiko der Kreuzkontamination vermieden wird.

Damit der Schutz gegen extreme Bedingungen wie übermäßige Temperaturen, Staub, Feuchte, Dampf, Lärm, Vibration, Exponierung gegenüber direkter Sonnenstrahlung usw. sichergestellt ist, muss mit Sorgfalt vorgegangen werden.

Der Oberflächenbereich muss ausreichend groß sein, damit die Arbeitsbereiche sauber und ordentlich gehalten werden können.

Im Verlauf der Untersuchungen muss konsequent darauf geachtet werden, dass der Zugang zu den Untersuchungsbereichen nur auf jene Personen beschränkt wird, die zur Durchführung der Untersuchungen notwendig sind.

Für folgende Aktivitäten sollten getrennte Räume und/oder getrennte Bereiche und/oder speziell umschlossene Räume vorgesehen sein:

- Entgegennahme, Lagerung und Herstellung von Proben;
- Handhabung/Bearbeitung von mikrobiellen Kulturen;
- Herstellung von Nährmedien, Vorbereitung von Geräten und Glasgeräten;
- Dekontaminierungs- und Waschbereiche;
- Sterilisation;
- Brutschränke, Kühl- und Gefrierschränke.

4.4 Einrichten der Arbeitsräume

4.4.1 Die Untersuchungsräume müssen wie folgt ausgestattet werden, damit die Kontaminationsrisiken durch Staub und demzufolge durch Mikroorganismen verringert werden:

- Wände, Decken und Fußböden sollten glatt, porenfrei, leicht zu reinigen und beständig gegen in Labors verwendete Reinigungs- und Desinfektionsmittel sein;
- über Kopf geführte, Flüssigkeiten fördernde Rohrleitungen sollten die Arbeitsräume nicht durchqueren, sofern sie nicht hermetisch umschlossen sind;
- werden Sonnenschutzeinrichtungen benutzt, müssen diese, sofern praktisch durchführbar, außen am Fenster angebracht werden;
- es muss möglich sein, Fenster und Türen bei Durchführung der Untersuchung zu schließen, um Zugluft auf ein Minimum zu beschränken. Außerdem müssen sie so ausgelegt sein, dass die Bildung von Staubfängen vermieden und somit die Reinigung erleichtert wird.

4.4.2 Die Umgebungstemperatur und die Luftbeschaffenheit (Gehalt an Mikroorganismen, Feuchte, Staubausbreitungsgeschwindigkeit usw.) müssen sich mit der Durchführung der Untersuchungen vereinbaren lassen.

Entsprechend den Bedürfnissen sind für diesen Zweck eine Filterbelüftung und/oder eine mikrobiologische Werkbank zu empfehlen.

4.4.3 Die Oberflächen der Labortische und Möbel müssen aus glattem, für Flüssigkeiten undurchlässigem Material gefertigt sein, das leicht zu reinigen und zu desinfizieren ist. Die Werkbank und die Oberflächen der Einrichtung sollten zum Reinigen zugänglich sein.

Unbefestigte Labormöbel müssen so beschaffen sein, dass die Fußböden leicht und bequem zu reinigen sind.

Es ist zweckmäßig, dass nicht häufig benutzte Dokumente oder Bücher außerhalb der Untersuchungsbereiche aufbewahrt werden.

4.5 Instandhaltung

Fußböden, Wände, Decken, Oberflächen von Labortischen und Möbeln müssen in gutem Zustand erhalten werden, damit Risse vermieden werden, in denen sich besonders Schmutz ansammeln könnte und so Ursache für eine Kontaminationsquelle wird.

Regelmäßiges Reinigen und, falls zutreffend, Desinfektion müssen vorgenommen werden, damit die Arbeitsräume in einem für die Durchführung der Untersuchungen geeigneten Zustand erhalten werden.

Die Belüftungssysteme und deren Filter müssen in regelmäßigen Abständen gewartet und, falls notwendig, die Filter ausgetauscht werden.

5 Geräte

5.1 Allgemeines

Im Allgemeinen müssen sämtliche Geräte sauber und in gebrauchstauglichem Zustand gehalten werden.

Wartungsarbeiten sollten überwacht werden. Messgeräte und Geräte müssen nach einem entsprechenden Zeitplan regelmäßig überprüft und die Ergebnisse aufgezeichnet werden.

5.2 Mikrobiologische Werkbänke

Es gibt zwei Arten von Werkbänken:

- a) Reinluft-Werkbänke, die zum Schutz des Produkts vor einer Kontamination von außen und zur Verringerung der Kontamination durch die Person, die die Untersuchung durchführt, vorgesehen sind;
- b) Sicherheitswerkbänke, die zum Schutz des Produkts vor einer Kontamination von außen und auch zum Schutz der Person, die die Untersuchung durchführt, und der Umwelt vorgesehen sind.

Es können beide Werkbänke angewendet werden. Sicherheitswerkbänke sollten bei allen Arbeiten angewendet werden, die mit einem Risiko für die untersuchende Person verbunden sind.

Eine Werkbank ist ein staubfreier Arbeitsplatz, der mit einer vertikalen laminaren Luftströmung ausgestattet ist. In der Mikrobiologie wird eine Sicherheitswerkbank benutzt, um Mikroorganismen auf Filtern zurückzuhalten.

5.3 Waagen

Ein Labor für mikrobiologische Untersuchungen von kosmetischen Mitteln sollte für die verschiedenen zu wägenden Produkte mit Waagen für den erforderlichen Bereich und der erforderlichen Genauigkeit ausgestattet sein. Im Allgemeinen beträgt die beim Wägen der zu untersuchenden Proben und einiger Bestandteile von Nährmedien und Reagenzien erforderliche Fehlergrenze $\pm 0,01$ g.

5.4 Homogenisiergeräte

Dieses Gerät [z. B. Mischer, Peristaltikmischer (Stomacher) usw.] darf zur Herstellung der Erstverdünnung aus der Untersuchungsprobe nichtflüssiger Produkte benutzt werden.

5.5 pH-Messgerät

Das pH-Messgerät sollte in der Lage sein, mit einer Fehlergrenze von $\pm 0,1$ pH-Einheiten zu messen, und dessen Mindestmessauflösung muss 0,01 pH-Einheiten betragen.

5.6 Autoklav

Der Autoklav muss in gutem Betriebszustand gehalten und in regelmäßigen Abständen von den zuständigen Stellen entsprechend der Herstelleranweisung überprüft werden, und es sollte eine geeignete Dokumentation angefertigt werden.

Der Autoklav darf nicht zur gleichzeitigen Sterilisation von sauberen Materialien und zur Dekontamination benutzter Materialien eingesetzt werden. Wo immer möglich sollten für diese beiden Prozesse getrennte Autoklaven benutzt werden.

5.7 Brutschrank

Brutschränke müssen mit einem Regelungssystem ausgestattet sein, das über den gesamten Arbeitsraum die Aufrechterhaltung einer gleichmäßigen und stabilen Temperatur ermöglicht.

Wenn die Umgebungstemperatur in Nähe der oder über der des Brutschranks liegt, wird ein Brutschrank mit Kühleinrichtung verwendet.

Brutschränke sollten gegen direkte Sonneneinstrahlung geschützt sein.

Brutschränke sollten in einem Arbeitsgang möglichst nicht vollständig ausgelastet werden, weil die Nährmedien einen langen Zeitraum zur Einstellung des Temperaturgleichgewichts benötigen, unabhängig davon, welche Art Brutschrank zum Einsatz kommt (mit Zwangsumwälzung der Luft oder anderweitig).

Die Temperatur muss mindestens an jedem Arbeitstag überprüft und aufgezeichnet werden.

5.8 Wasserbäder

Es gibt zwei Arten von Wasserbädern:

- thermostatisch geregelte Wasserbäder, geeignet zum Bebrüten von beimpften Nährböden, für Untersuchungen zur Identifizierung usw.;
- temperaturgeregelte Wasserbäder für die Erhaltung von sterilen Agarmedien im geschmolzenen Zustand für die spätere Verwendung bei vorgegebenen Verfahren.

Die geforderte Temperatur und Genauigkeit sind in jedem Anwendungsverfahren genau vorgeschrieben.

5.9 Kühltisch oder Kühlraum

Sofern nicht anders festgelegt, muss die Temperatur $(5 \pm 3) ^\circ\text{C}$ betragen.

5.10 Gefrierschrank

Sofern nicht anders festgelegt, muss die Temperatur unter $-18 ^\circ\text{C}$ sein.

5.11 Heißluftsterilisator

Ein Heißluftsterilisator ist eine Kammer, in der die Vernichtung von Mikroorganismen durch trockene Hitze möglich ist.

Innerhalb der Kammer muss eine gleichmäßige Temperaturverteilung herrschen.

Der Sterilisator muss ausgestattet sein mit:

- einem Thermostaten;
- einem Thermometer oder aufzeichnenden Thermoelement;
- einer Anzeige der Dauer oder einem/einer Programmiergerät/Zeitschaltuhr.

5.12 Koloniezählgerät

Es darf ein Koloniezählgerät benutzt werden.

5.13 Sonstige Einrichtungen

WARNHINWEIS — Volumenmessgeräte aus Glas dürfen nicht im Heißluftsterilisator sterilisiert werden.

Sonstige Einrichtungen und Geräte für den täglichen Gebrauch beinhalten das Folgende:

- a) Filtriergerät (siehe unten);
- b) Glas- und Kunststoffbehälter (Reagenzgläser, Kolben, Flaschen);

- c) Petrischalen aus Glas oder Kunststoff (am häufigsten zwischen 85 mm und 100 mm Durchmesser);
- d) Pipetten aus Glas oder Kunststoff (10 ml, 2 ml, 1 ml), automatische Pipetten;
- e) Probenahmegeräte;
- f) Drähte und Ösen (aus Nickel/Chrom, Platin/Iridium oder Kunststoff zum Einmalgebrauch, usw.);
- g) optisches Mikroskop;
- h) Gasbrenner oder Ausglühgerät;
- i) Abfüllgerät für Nährmedien und Reagenzien;
- j) mechanisches Rührwerk.

Bei Anwendung des Membranfiltrierverfahrens muss die Einrichtung außerdem enthalten:

- eine Membranfiltrieranlage oder ein Filtriergerät, gefertigt aus geeignetem Werkstoff, mit einem Filterträger von mindestens 50 ml Fassungsvermögen und geeignet zur Aufnahme von Filtern mit einem Durchmesser von 47 mm bis 50 mm und nicht mehr als 0,45 µm Porengröße;
- die Art des Membranwerkstoffs ist so zu wählen, dass die Bakterien nicht von den übrigen Bestandteilen der zu untersuchenden Probe beeinträchtigt werden;
- eine Vakuumquelle, die eine gleichmäßige Filtrationsfließgeschwindigkeit ermöglicht (das Gerät muss so eingestellt werden, dass sich eine Filtration von 100 ml Flüssigkeit in weniger als 2 min ergibt).

6 Mikroorganismenstämme

Die für die Verifizierung der Verfahrenseignung benötigten Stämme sind in jedem Anwendungsverfahren angeben.

7 Personal

7.1 Befähigung

Das in einem mikrobiologischen Labor tätige Personal muss eine angemessene Ausbildung erhalten haben, damit es in der Lage ist, die ihm übertragenen Arbeiten ordnungsgemäß durchzuführen.

Das mit der Untersuchung betraute Personal muss über gute Kenntnisse und ausreichende praktische Erfahrungen mit mikrobiologischen Verfahrensweisen und den gesuchten Mikroorganismen verfügen. Die verantwortliche Person muss in der Lage sein, die Genauigkeit und Präzision zu interpretieren, die für die Lieferung annehmbarer Ergebnisse erforderlich ist.

7.2 Hygiene

Auf dem Gebiet der persönlichen Hygiene müssen folgende vorbeugende Maßnahmen getroffen werden, nicht nur um die Kontamination der Proben und Nährmedien zu vermeiden, sondern auch um die Risiken von persönlicher Infektion abzuwenden:

- Tragen von hellfarbiger, sauberer und in gutem Zustand befindlicher Laborkleidung aus einem schwer entflammenden Gewebe; diese Kleidung darf nicht außerhalb der Arbeitsbereiche getragen werden;
- saubere, gepflegte und vorzugsweise kurz geschnittene Fingernägel;

- vor und nach mikrobiologischen Untersuchungen und unmittelbar nach Benutzung von Toiletten oder dem Essen die Hände waschen; zum Händeabtrocknen sind Handtücher aus Papier oder Stofftuch für den Einmalgebrauch zu verwenden;
- beim Beimpfen wird das Sprechen, Husten usw. vermieden;
- in den Untersuchungsbereichen wird nicht geraucht, gegessen oder getrunken;
- es werden keine Lebensmittel für den persönlichen Verzehr in den Kühlschränken des Labors untergebracht;
- besondere Vorsichtsmaßnahmen müssen bei Personen eingeleitet werden, die mit Infektionen oder Krankheiten belastet sind, bei denen die Wahrscheinlichkeit besteht, dass die Proben mit Mikroorganismen kontaminieren und die Ergebnisse ungültig machen können.

8 Vorbereitung von Geräten und Glasgeräten

8.1 Vorbereitung

Die für mikrobiologische Untersuchungen benutzten Geräte und Glasgeräte müssen so vorbereitet werden, dass deren Sauberkeit und/oder Sterilität bis zum Zeitpunkt des Gebrauchs sichergestellt ist.

Vor der Sterilisation werden Reagenzgläser mit Stopfen und Flaschen mit Kappen verschlossen.

Pipetten werden mit Watte oder einem anderen geeigneten Material verschlossen.

Gegebenenfalls sollten die zu sterilisierenden Geräte und Glasgeräte in besonderen Behältern untergebracht oder in einem geeigneten Material eingepackt werden (z. B. Spezialpapier, Aluminiumfolie usw.).

8.2 Sterilisation

8.2.1 Sterilisation durch trockene Hitze

Im Heißluftsterilisator wird für mindestens 1 h bei 170 °C bis 180 °C oder mit beliebigen Kombinationen von Zeit und Temperatur, sofern sie sich als geeignet erwiesen haben, erhitzt.

Es können Indikatoren zum Einsatz kommen, damit sichergestellt ist, dass die Sterilisation erfolgreich abgeschlossen wurde.

8.2.2 Sterilisation durch feuchte Hitze

In einem Autoklaven wird für mindestens 15 min bei mindestens 121 °C erhitzt. Es können Indikatoren zum Einsatz kommen, damit sichergestellt ist, dass die Sterilisation erfolgreich abgeschlossen wurde.

8.3 Einweggeräte

In der gleichen Art und Weise wie wiederverwendbare Geräte und Glasgeräte (Petrischalen, Pipetten, Reagenzgläser usw.) dürfen Einmalgeräte benutzt werden, wenn deren Spezifikationen vergleichbar sind.

In diesem Fall wird der Hersteller konsultiert, um festzustellen, ob die zum Einsatz vorgeschlagenen Geräte und Glasgeräte für die Anwendung in der Mikrobiologie geeignet sind (besonders hinsichtlich der Sterilität) und dass der Werkstoff keine Stoffe enthält, die das Wachstum von Mikroorganismen hemmen.

Einweggeräte müssen vor deren Entsorgung dekontaminiert werden. Neben den in 8.6 beschriebenen Verfahren und in Abhängigkeit von nationalen Verordnungen darf eine Verbrennung erfolgen. Wenn in den

Arbeitsräumen ein Verbrennungsofen vorhanden ist, darf die Dekontamination und Verbrennung in einem einzigen Arbeitsgang erfolgen.

8.4 Umgang mit sauberen Geräten und Glasgeräten

Saubere Geräte und Glasgeräte müssen während der Lagerung gegen Dekontamination von außen unter Bedingungen geschützt werden, bei denen deren Sauberkeit erhalten bleibt.

8.5 Umgang mit sterilen Geräten und Glasgeräten

Vor Gebrauch müssen Geräte und Glasgeräte unter Bedingungen gelagert werden, die es ihnen ermöglichen, steril zu bleiben. Geräte und Glasgeräte zum Einmalgebrauch müssen nach den Herstelleranweisungen ohne jegliche Beschädigung ihrer Verpackung gelagert werden; im Labor vorbereitete Geräte und Glasgeräte müssen in keimfreien Behältern gelagert werden.

Werden Geräte und Glasgeräte sterilisiert, die für die Mikrobiologie vorgesehen sind, muss auf jeder Verpackung ein Verfalldatum (oder ein Sterilisierdatum) angebracht werden. Hermetisch verschlossene Geräte und Glasgeräte können vor Gebrauch bis zu 3 Monate gelagert werden, sofern es nicht anders festgelegt ist.

8.6 Behandlung von kontaminiertem Material

Nach Gebrauch (Kultur von Mikroorganismen oder von mit Mikroorganismen in Kontakt befindlichem Material) müssen Geräte und Glasgeräte nebst Inhalt, unabhängig davon, um welche Mikroorganismen es sich handelt, vor der Reinigung oder Entsorgung zur Vernichtung von Mikroorganismen behandelt werden.

Entsprechend der Art des Materials darf die Desinfektion (siehe 11.1), die Sterilisation (siehe 8.2) oder die Verbrennung von Einwegmaterial (siehe 8.3) erfolgen.

8.7 Waschen

Geräte und Glasgeräte werden gewaschen, nachdem sie behandelt wurden (siehe 8.6).

Der Inhalt von Behältern wird entleert.

Vor dem Waschen werden gegebenenfalls Versiegelungen von Stopfen oder Kappen entfernt.

Reinigungsmittelrückstände werden mit Leitungswasser abgespült. Saubere Geräte werden mit Wasser (9.2) gespült.

Ist kein handelsübliches Produkt vorhanden, kann eine Natriumcarbonatlösung mit einem Massenanteil von 0,125 % benutzt werden mit anschließendem Eintauchen in verdünnte Säure [z. B. Salzsäure, $c(\text{HCl}) = 0,1 \text{ mol/l}$] [6].

Um die Reinigungsvorgänge zu erleichtern, dürfen spezielle Geräte und Glasgeräte angewendet werden (z. B. Pipettenspülmaschinen, Geschirrspülmaschinen, Ultraschallbäder usw.).

9 Herstellung und Sterilisation von Nährmedien und Reagenzien

9.1 Allgemeines

Die exakte Herstellung von Nährmedien ist einer der grundlegenden Schritte bei mikrobiologischen Untersuchungen und muss besondere Sorgfalt gegeben werden.

9.2 Wasser

WARNUNG — Mit einem Ionenaustauscher behandeltes Wasser (deionisiert) kann einen hohen Gehalt an Mikroorganismen haben; es ist deshalb ratsam, derartiges Wasser nicht zu verwenden, ohne vorher zu überprüfen, ob der Gehalt an Mikroorganismen gering ist. Der Hersteller wird dahingehend zu Rate gezogen, wie sich die mikrobielle Kontamination verringern lässt. Schwer kontaminiertes deionisiertes Wasser, das durch Filtration keimfrei gemacht wurde, kann noch Stoffe enthalten, die sich hemmend auf das Wachstum bestimmter Mikroorganismen auswirken.

Es wird destilliertes Wasser oder Wasser von äquivalenter Qualität verwendet, d. h. gereinigtes Wasser [7], [9], [11] oder deionisiertes Wasser [3]. Wurde das destillierte Wasser aus mit Chlor behandeltem Wasser hergestellt, muss das Chlor vor der Destillation neutralisiert werden.

Das Wasser muss in aus inerten Materialien gefertigten Behältern aufbewahrt werden (z. B. neutrales Glas, Polyethylen usw.).

9.3 Herstellung von Nährmedien

9.3.1 Allgemeines

Es gibt zwei Arten für die Herstellung der Nährmedien:

- aus Grundbestandteilen, wasserfrei oder nicht, oder
- aus wasserfreien vollständigen Medien.

Das Verfalldatum ist zu beachten und die vom Hersteller festgelegten Lagerungsbedingungen sind einzuhalten.

Nährböden sind über das vorgegebene Haltbarkeitsdatum hinaus nicht zu verwenden.

In wasserfreier Form vorliegende Labor-Nährmedien werden während Lagerung und Gebrauch vor Absorption zusätzlicher Feuchtigkeit aus der Umgebungsluft geschützt.

9.3.2 Rehydratation

Für die Rehydratation werden die Empfehlungen des Herstellers befolgt.

9.3.3 Messung des pH-Wertes

Der pH-Wert wird mit einem pH-Messgerät (5.5) gemessen und bei Bedarf eingestellt, damit das Medium nach Sterilisation und Abkühlung auf Raumtemperatur den geforderten pH-Wert $\pm 0,2$ pH-Einheiten aufweist, sofern es nicht anders festgelegt ist.

ANMERKUNG Die Einstellung wird normalerweise mit einer Natriumhydroxidlösung (NaOH) von etwa 40 g/l (etwa 1 mol/l) oder Salzsäure (HCl) von etwa 36,5 g/l (etwa 1 mol/l) vorgenommen [2].

9.3.4 Abfüllung

Das Medium wird in geeignete Behälter abgefüllt, entweder manuell oder mit automatischen Geräten.