Qualitätskontrolle von mikrobiologischen Nährmedien (ISO → 11133)

Barbara Gerten

12. Jahrestagung Trinkwasserringversuche
Osnabrück

02. März 2011

Überblick

1 Stand der Normungsarbeiten DIN EN ISO 11133

2 DIN EN ISO 11133 Teil 1

3 DIN EN ISO 11133 Teil 2

4 Ausblick: DIN EN ISO 11133 Überarbeitung zur einteiligen Norm

Stand der Normungsarbeiten DIN EN ISO 11133

Stand der Normungsarbeiten DIN EN ISO 11133

ISO 11133: erstellt durch das Technische Komitee

ISO/TC 34/SC 9: "Agricultural Food Products – Microbiology"

gemeinsam mit ISO/TC 147/WG 12 „Water Microbiology – AQS"

auf deutscher Ebene mit den DIN-Auschüssen:

DIN NAL „Mikrobiologische Lebensmitteluntersuchung einschließlich Schnellverfahren"

und DIN NAW „Wasseruntersuchung" UA 3 „Mikrobiologie"

als DIN EN ISO 11133

Stand der Normungsarbeiten DIN EN ISO 11133

DIN EN ISO 11133 Teil 1: **DIN EN ISO/TS 11133-1:2009**

erstmals 2000 als Vornorm erschienen;
2009 erneute Veröffentlichung als überarbeitete Vornorm

DIN EN ISO 11133 Teil 2: **DIN EN ISO/TS 11133-2:2004**

als Vornorm 2004 erschienen

Norm („Standard“): 5 Jahre gültig, dann Bestätigung / Überarbeitung

für Wasseruntersuchungen relevante Normen
werden in die DEV-Sammlung übernommen

Vornorm = „Technische Spezifikation / TS“:

soll noch in der Praxis erprobt werden;
3 Jahre gültig, dann Bestätigung oder Überarbeitung

Vornormen meist werden nicht in in die DEV-Sammlung übernommen

Bezug: über den Beuth Verlag, Berlin (www.beuth.de)

DIN EN ISO/TS 11133 Teil 1:2009

Allgemeine Anleitung für die Qualitätssicherung bei der Zubereitung von Nährmedien im Laboratorium

DIN EN ISO/TS 11133 Teil 1: 2009

Allgemeine Anleitung für die Qualitätssicherung bei der Zubereitung von Nährmedien im Laboratorium

legt Mindestanforderungen an die qualitätsgesicherte Zubereitung, Lagerung etc. von Nährmedien fest

Verfahren zur mikrobiologischen Leistungsprüfung sind in DIN EN ISO/TS 11133-2 geregelt

DIN EN ISO/TS 11133 Teil 1: 2009

Es sollten ausreichende Prüfungen erfolgen, um Folgendes nachzuweisen:

- die Annehmbarkeit jeder Charge des Mediums;

- die Eignung des Medium „für den jeweiligen Zweck“;

- die Erzielung gleich bleibender Ergebnisse mit dem Medium.

DIN EN ISO/TS 11133 Teil 1: 2009

Anwendungsbereich

Teil 1 der Norm gilt für folgende vier Arten von Nährmedien:

- **handelsübliche Fertigmedien;**

- **Medien, die wiederaufzuschmelzen,**
  zu supplementieren und zu verteilen sind;

- **aus handelsüblichen Trockenmedien hergestellten Medien;**

- **aus einzelnen Grundsubstanzen hergestellte Medien.**

DIN EN ISO/TS 11133 Teil 1: 2009

Anwendungsbereich

Teil 1 der Norm legt fest:

Mindestanforderungen an die Zubereitung von Nährmedien,

die für die mikrobiologische Untersuchung von Produkten verwendet werden sollen, die für den menschlichen Verzehr oder als Futtermittel vorgesehen sind;

ist auch auf Nährmedien anwendbar,
die für die mikrobiologische Untersuchung
aller Arten von Wasser verwendet werden.

DIN EN ISO/TS 11133 Teil 1: 2009

Begriffe

Enthält Definitionen und Begriffe z.B.:

- **Charge von Nährmedien**

- **Nährmedium**

Definition nach Beschaffenheit:
chemisch definiertes / chemisch nicht definiertes Medium
flüssiges / festes / halbfestes Nährmedium

Definition nach Verwendung:
Transportmedium, Konservierungsmedium, Wiederbelebungsmedium, Isolierungsmedium usw.

DIN EN ISO/TS 11133 Teil 1: 2009

Begriffe

- **Fertigmedium**

  flüssiges, festes oder halbfestes Medium, das in entsprechenden Behältnissen in gebrauchsfertiger Form vorliegt oder nach dem Wiederaufschmelzen gebrauchsfertig ist

- **aus handelsüblichen Trockenmedien hergestelltes Medium**

  Medium in trockener Form, das vor Gebrauch eine Rehydratisierung und Verarbeitung erfordert

- **aus einzelnen Bestandteilen hergestelltes Medium**

  Medium, das ausschließlich aus den im vollständigen Rezept angeführten spezifischen Bestandteilen hergestellt wird

DIN EN ISO/TS 11133 Teil 1: 2009

Begriffe

- **Prüforganismen**

Referenzstamm

Referenz-Stammkultur

Stammkultur

Gebrauchskultur

Subkultur einer Stammkultur oder ein Referenzmaterial

DIN EN ISO/TS 11133 Teil 1: 2009

Qualitätssicherung von Nährmedien

- **Dokumentation**

Dokumentation durch den Hersteller

Zertifikat über die Qualitätslenkung und verwendete Prüforganismen, Ergebnisse der Leistungsprüfung mit den Annahmekriterien usw.

Annahme von Produkten

Unversehrtheit der Verpackung, Verfalldatum, mitgelieferte Dokumentation; das Eingangsdatum ist aufzuzeichnen.

DIN EN ISO/TS 11133 Teil 1: 2009

Qualitätssicherung von Nährmedien

- Lagerung

Trockenmedien und Supplemente:

Überprüfung der Dichtheit des Verschlusses,
Aufzeichnung des ersten Öffnungsdatums,
Begutachtung des Inhalts
(Homogenität, Farbveränderungen usw.)

Vom Handel gelieferte Fertigmedien:

nach Angaben des Herstellers

DIN EN ISO/TS 11133 Teil 1: 2009

Qualitätssicherung von Nährmedien

- Lagerung

Im Laboratorium hergestellte Medien:

die Lagerbedingungen sollen eine Veränderung der Zusammensetzung verhindern,
vor Licht und Austrocknung schützen,
bei Bedarf bei 5 ℃ ± 3 ℃,

Lagerdauer - allgemeine Empfehlung in der Norm:

Platten:	***2 – 4 Wochen***
Flaschen und Röhrchen:	***3 – 6 Monate***

DIN EN ISO/TS 11133 Teil 1: 2009

Qualitätssicherung von Nährmedien

- Lagerung

Im Laboratorium hergestellte (zubereitete) Medien:

Medien mit Zusatz labiler Supplemente:
am Tag der Herstellung

Feste Medien mit chemisch reaktiven und/oder labilen Substanzen,
die zum Wiederaufschmelzen gelagert werden:

keine Lagerung in großen Mengen

DIN EN ISO/TS 11133 Teil 1: 2009

Qualitätssicherung von Nährmedien

- Lagerung

Im Laboratorium hergestellte (zubereitete) Medien:

es sollte ein validiertes Verfalldatum vorliegen

- nach den Angaben in dieser Norm
oder in anderen spezifischen Normen

- oder nach den Ergebnissen einer Validierung durch das Laboratorium,
(dies kann dann, je nach Ergebnis, auch länger oder kürzer sein als in der Norm)

DIN EN ISO/TS 11133 Teil 1: 2009

Qualitätssicherung von Nährmedien

- Herstellung von Medien im Laboratorium

Allgemeines

nach Herstellerangaben,
unter Beachtung der Guten Laborpraxis,

Dokumentation aller bedeutsamen Daten wie
Masse/Volumen,
pH-Wert,
Herstellungsdatum,
Sterilisationsbedingungen,
Bearbeiter usw.

DIN EN ISO/TS 11133 Teil 1: 2009

Qualitätssicherung von Nährmedien

- Herstellung von Medien im Laboratorium

Wasser

Leitfähigkeit bei 25 °C:

≤ 25 µS · cm^{-1} (entspr. spez. Widerstand von ≥ 0,4 MΩ·cm)

mikrobielle Kontamination:

sollte ≤ 10^3 ml^{-1} betragen, vorzugsweise ≤ 10^2 ml^{-1} !

regelmäßige Verifizierung nach ISO 6222 (bei 22°C)
oder einem gleichwertigen validierten Verfahren erforderlich

DIN EN ISO/TS 11133 Teil 1: 2009

Qualitätssicherung von Nährmedien

- Herstellung von Medien im Laboratorium

Einwägen und Rehydratisieren

sorgfältiges Einwiegen des Trockenmediums (Einatmen vermeiden !), schrittweises Mischen mit der erforderlichen Wassermenge ohne Verklumpung

Lösen und Verteilen

Trockenmedien in der Lösung durch Rühren, evtl. unter Erwärmung, bis zur Auflösung schnell Verteilen (Dispergieren), Agar-enthaltende Medien sollten quellen, bis sie unter Rühren bis zur Auflösung erwärmt werden

DIN EN ISO/TS 11133 Teil 1: 2009

Qualitätssicherung von Nährmedien

- **Herstellung von Medien im Laboratorium**

Messen und Einstellen des pH-Wertes

Messen mit einem pH-Messgerät

falls erforderlich, vor der Sterilisation so einstellen, dass nach der Sterilisation und Abkühlung auf 25 °C das Medium de n erforderlichen pH-Wert von ± 0,2 pH-Einheiten im Inneren aufweist

Hinweis in der Norm:
eine pH-Wert-Einstellung bei handelsüblichen Medien
ist nicht erforderlich, vorausgesetzt, es wurde destilliertes oder deionisiertes Wasser von guter Qualität verwendet

DIN EN ISO/TS 11133 Teil 1: 2009

Qualitätssicherung von Nährmedien

- **Herstellung von Medien im Laboratorium**

Sterilisation durch feuchte Hitze

in der Regel in einem Autoklaven oder
in einem Herstellungs- und Abfüllgerät für Medien (Medienpräparator)

meist 15 min bei 121 °C ± 3 °C

bei Volumina ≥ 1000 ml ist der Sterilisationszyklus
ggfls. anzupassen (Achtung: Überhitzung !)

Abkühlung der Medien nach dem Autoklavieren erforderlich,
zur Verhinderung des Überkochens
bes. bei großen Volumina und empfindlichen Medien

DIN EN ISO/TS 11133 Teil 1: 2009

Qualitätssicherung von Nährmedien

- Herstellung von Medien im Laboratorium

Überprüfen

nach dem Autoklavieren, Aufkochen oder der Filtration sollten sämtliche Medien überprüft werden

besonders

pH-Wert,
Farbe,
Sterilität
und physikalische Beschaffenheit

DIN EN ISO/TS 11133 Teil 1: 2009

Qualitätssicherung von Nährmedien

- **Herstellung von Medien im Laboratorium**

Verflüssigen von Agar-Nährmedien

im kochenden Wasserbad oder z.B. im Autoklaven mit Dampfdurchströmung

in kürzestmöglicher Zeit, Überhitzung vermeiden

Abkühlung des verflüssigten Mediums in einem thermostatisch geregelten Wasserbad auf 47 ℃ – 50 ℃

die erforderliche Zeit hängt vom Volumen und der Anzahl der Gefäße ab

DIN EN ISO/TS 11133 Teil 1: 2009

Qualitätssicherung von Nährmedien

- **Herstellung von Medien im Laboratorium**

Verflüssigen von Agar-Nährmedien

verflüssigte Medien sollten sobald wie möglich verwendet werden, Empfehlung nach Norm: nicht länger als 4 h warmhalten (!)

nicht verwendete Medien dürfen für eine nachfolgende Verwendung nicht erneut verfestigt werden (!)

das Agar-Temperaturregime ist festzustellen und zu dokumentieren, indem ein Thermometer in das Agarmedium in einem getrennten Behälter eingebracht wird

Medien für das Gußplattenverfahren sollten bei 44 °C – 47 °C temperiert sein

DIN EN ISO/TS 11133 Teil 1: 2009

Qualitätssicherung von Nährmedien

- Herstellung von Medien im Laboratorium

Herstellung und Lagerung von Medien in Petrischalen

Gießen des verflüssigten Mediums:
Schichtdicke in Petrischalen mind. 3 mm
für Schalen mit Ø 90 mm meist 18 – 20 ml Medium

mehr Medium ist erforderlich bei längerer Bebrütung oder einer Bebrütungstemperatur von mehr als 40 °C

Anmerkung in der Norm zum Feuchtigkeitsverlust des Agarmediums während der Bebrütung und der Beeinträchtigung des Wachstums von Mikroorganismen abhängig vom Medientyp, Schichtdicke, Inkubationsatmosphäre, Gebläse im Brutschrank usw.

DIN EN ISO/TS 11133 Teil 1: 2009

Qualitätssicherung von Nährmedien

- Herstellung von Medien im Laboratorium

Herstellung und Lagerung von Medien in Petrischalen

Lagerung der gegossenen Medien:

im Dunkeln und/oder im Kühlschrank bei 5 ℃ ± 3 ℃
in verschlossenen Beuteln

Kennzeichnung der gegossenen Medien:

mit Herstellungsdatum und/oder Verfalldatum
und Identitätsbezeichnung
oder mit alternativen Codierungssystemen

DIN EN ISO/TS 11133 Teil 1: 2009

Qualitätssicherung von Nährmedien

- Herstellung von Medien im Laboratorium

Herstellung und Lagerung von Medien in Petrischalen

Haltbarkeitsdauer der gegossenen Medien:

Erhöhung der Haltbarkeitsdauer durch Aufbewahrung in dicht verschlossenen Kunststoffbeuteln

Verhinderung von Kondenswasser:

Platten müssen vor Einlegen in die Beutel vollständig abkühlen, vor einer Kühllagerung dürfen die Oberflächen der Agarplatten nicht getrocknet werden !

DIN EN ISO/TS 11133 Teil 1: 2009

Konservierung und Erhaltung von Kontrollstämmen

- Allgemeines

Konservierung und Erhaltung der Mikroorganismen

mehrere Verfahren möglich, z.B.:

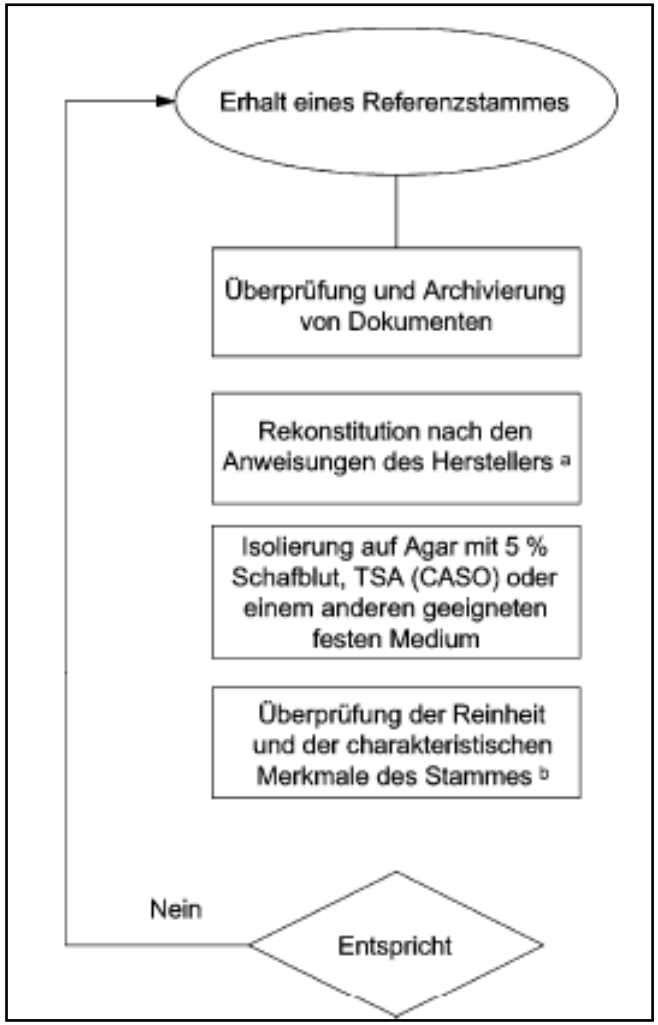
Lyophilisierung,
Lagerung auf Perlen bei -70 °C,
Verwendung von flüssigem Stickstoff.

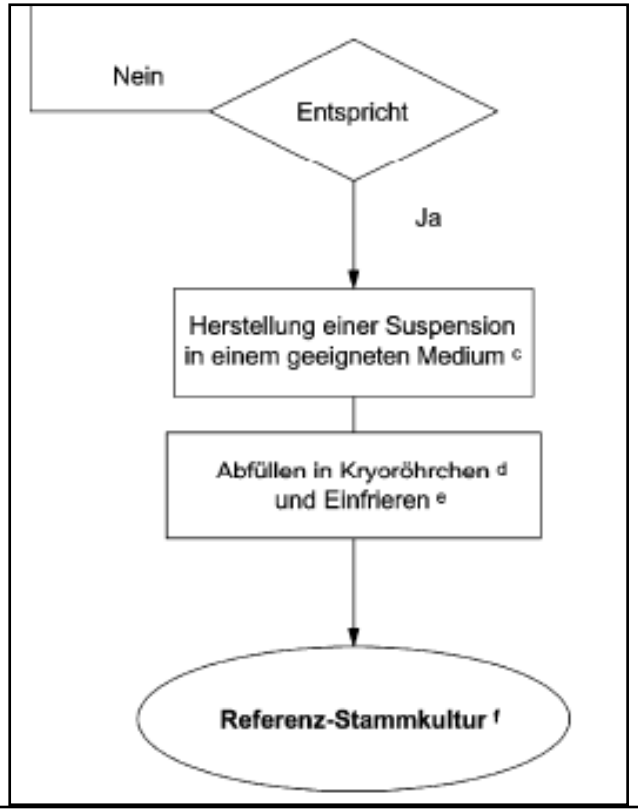
Ein einziges Verfahren ist möglicherweise nicht für alle verwendeten Teststämme geeignet

Ablaufschema zur Erhaltung und Herstellung:
siehe Anhang B dieser Norm

DIN EN ISO/TS 11133 Teil 1: 2009

Anhang B.1 Herstellung einer Referenz-Stammkultur aus einem Referenzstamm

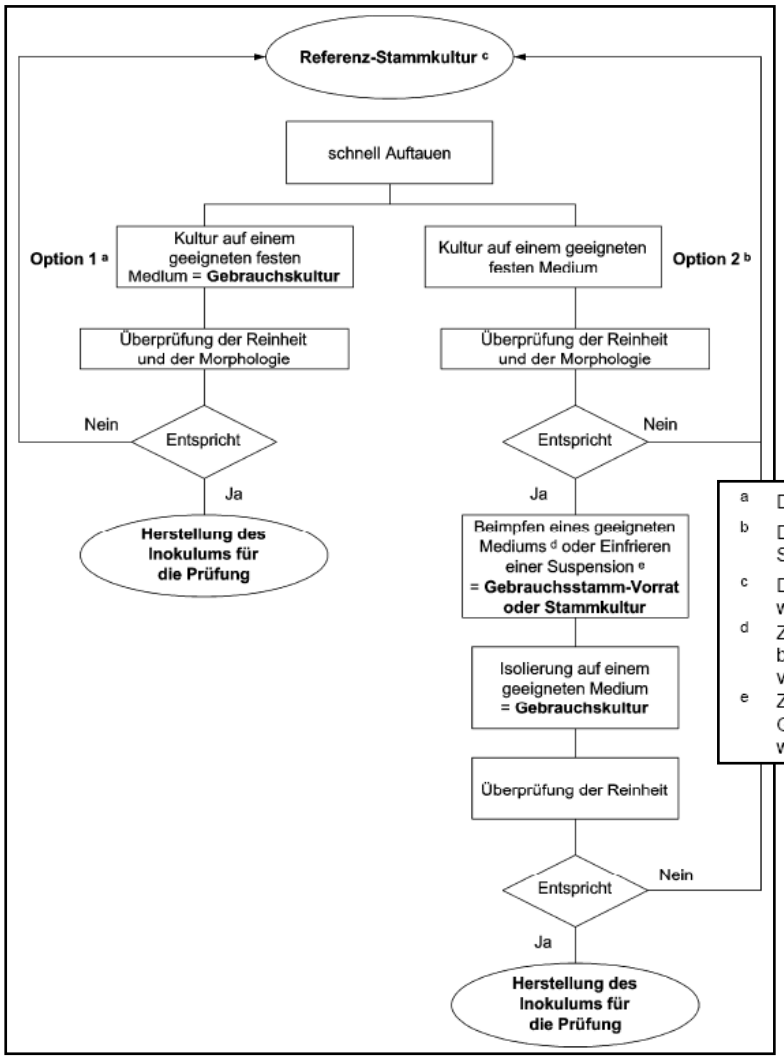




a Im Allgemeinen erneutes Suspendieren in einer Nährbouillon und Kontaktzeit zur Wiederbelebung.
b Überprüfung der Koloniemorphologie und Gram-Färbung oder Identifizierung mit biochemischen Tests.
c Zum Beispiel ein vor Kälteschädigung schützendes Medium, wie z. B. TSB (CASO-Bouillon), supplementiert mit 10 % bis 15 % Glycerol.
d Kryoröhrchen dürfen Perlen enthalten.
e Einfrieren bei einer Temperatur von ≤ –70 °C ermöglicht eine Langzeitlagerung. Die Lagerdauer bei einer höheren Temperatur ist begrenzt.
f Darf wie eine Gebrauchskultur verwendet werden.

DIN EN ISO/TS 11133 Teil 1: 2009

Anhang B.2 Herstellung einer Gebrauchskultur aus einer Referenz-Stammkultur



a Diese Verfahrensweise ist vorzuziehen.

b Diese Verfahrensweise kann bei einigen Stämmen erforderlich sein, z. B. bei quantitativen Prüfungen. Sämtliche Stufen sind zu dokumentieren.

c Die Dokumente sind zu überprüfen und zu archivieren, wenn die Referenz-Stammkultur durch Fremdbezug erhalten wird.

d Zum Beispiel wird ein Röhrchen mit TSA (CASO-Agar), Schafblut-TSA oder einem anderen geeigneten Medium beimpft, für 24 h bebrütet und bei einer geeigneten Temperatur (18 °C bis 25 °C oder 2 °C bis 8 °C in Abhängigkeit von den Mikroorganismen) für 4 Wochen gelagert.

e Zum Beispiel ein vor Kälteschädigung schützendes Medium, wie z. B. TSB, supplementiert mit 10 % bis 15 % Glycerol. Einfrieren bei einer Temperatur von ≤ –70 °C ermöglicht eine Langzeitlagerung. Die Lagerdauer bei einer wärmeren Temperatur ist begrenzt.

DIN EN ISO/TS 11133 Teil 1: 2009

Konservierung und Erhaltung von Kontrollstämmen

- **Kontrollstämme von kommerziellen Herstellern**

  nach Herstelleranweisungen zu verwenden

- **Im Laboratorium hergestellte Referenz-Stammkulturen**

  Haltung unter Vermeidung der Kreuzkontamination, einer Mutation oder einer Veränderung der typischen Merkmale,
  sollten in mehreren Aliquoten aufbewahrt werden

  die Wachstumseigenschaften der Referenz-Stammkulturen sollten auf jedem Medium, auf dem sie eingesetzt werden, vollständig dokumentiert werden

  Referenz-Stammkulturen dürfen nicht zur Herstellung von Referenzstämmen verwendet werden !

DIN EN ISO/TS 11133 Teil 1: 2009

Konservierung und Erhaltung von Kontrollstämmen

- **Stammkulturen**

werden üblicherweise aus lyophilisierten oder tiefgefrorenen Referenz-Stammkulturen hergestellt

Vermeidung von Kreuzkontaminationen ist zu beachten

Bei handelsüblichen Konservierungssystemen sind die Anweisungen des Herstellers genau einzuhalten

Stammkulturen dürfen nicht zur Herstellung von Referenzstämmen oder Referenz-Stammkulturen verwendet werden !

DIN EN ISO/TS 11133 Teil 1: 2009

Leistungsprüfung von zubereiteten Nährmedien

- **Allgemeines**

Verfahren zur Leistungsprüfung sind in DIN EN ISO/TS 11133-2 geregelt

- **Fertigmedien und Reagenzien**

verfügt der Hersteller von Fertigmedien über ein Qualitätssicherungprogramm, insbesondere nach ISO 9000, darf er ein Qualitätszertifikat ausstellen

unter diesen Bedingungen braucht der Anwender keine umfangreiche Prüfung der Medien durchzuführen

es sollte jedoch sichergestellt sein, dass die vom Hersteller empfohlenen Lagerbedingungen eingehalten werden

DIN EN ISO/TS 11133 Teil 1: 2009

Leistungsprüfung von zubereiteten Nährmedien

- **Fertigmedien, denen Supplemente zugesetzt werden**

  es wird mindestens eine qualitative Prüfung empfohlen

- **Aus handelsüblichen Trockenmedien hergestellte Medien**

  bei Isolierungs- und Zählmedien sollte mindestens eine halbquantitative Prüfung durchgeführt werden

  bei Prüfmedien zur Charakterisierung kann eine qualitative Prüfung ausreichend sein

  quantitative Prüfungen geben eine größere Sicherheit hinsichtlich der Qualität der Medien

DIN EN ISO/TS 11133 Teil 1: 2009

Leistungsprüfung von zubereiteten Nährmedien

- **Aus handelsüblichen Trockenmedien hergestellte Medien**

Medien ohne Indikatoren oder Selektivsubstanzen:

Verwendung eines einzigen Prüfstammes ist ausreichend

Medien mit Indikatoren und/oder Selektivsubstanzen:

Verwendung von Stämmen, mit denen die Funktion des (der) Indikator(en) und der Selektivität nachgewiesen werden kann

Komplexe Medien:

jede Charge sollte mit gut wachsenden positiven und schlecht oder schwach wachsenden positiven sowie negativen Stämmen geprüft werden

DIN EN ISO/TS 11133 Teil 1: 2009

Leistungsprüfung von zubereiteten Nährmedien

- **Aus einzelnen Grundsubstanzen hergestellte Medien**

jede Charge sollte mit gut wachsenden positiven und schlecht oder schwach wachsenden positiven sowie negativen Stämmen geprüft werden

es wird empfohlen, zusätzlich quantitative Prüfungen durchzuführen, um Qualitätstendenzen der Rohstoffe, die Produktivität des Mediums und die laboratoriumsinternen Vorschriften zu überwachen

DIN EN ISO/TS 11133 Teil 1: 2009

Anhang B. **Herstellung einer Referenz-Stammkultur und einer Gebrauchskultur**

Anhang C. **Qualitätssicherung von Nährmedien**

- **Tabelle mit Fehlern/Abweichungen und möglichen Gründen**

Fehler/Abweichung	Möglicher Grund
verringerte Gelfestigkeit des Agarmediums	Überhitzung des Mediums bei der Zubereitung Säurehydrolyse durch niedrigen pH-Wert fehlerhafte Einwaage der verwendeten Agars Agar unvollständig gelöst unzureichendes Vermischen der Bestandteile des Nährmediums
fehlerhafter pH-Wert	Überhitzung des Mediums bei der Zubereitung mangelhafte Qualität des Wassers chemische Kontamination von außen Messung des pH-Wertes bei falscher Temperatur pH-Messgerät nicht ordnungsgemäß kalibriert mangelhafte Qualität des Trockenmediums

DIN EN ISO 11133 Teil 2

Praktische Anleitung zur Leistungsprüfung von Nährmedien

DIN EN ISO/TS 11133 Teil 2: 2004

Praktische Anleitung zur Leistungsprüfung von Nährmedien

Teil 2 der Norm:

gilt nur für Medien, die zur Untersuchung von Lebensmitteln und Futtermitteln sowie Umgebungsproben eingesetzt werden

- handelsübliche gebrauchsfertige Medien oder Trockenmedien;

- die Nährmedien, die im Laboratorium aus Grundsubstanzen hergestellt werden.

DIN EN ISO/TS 11133 Teil 2: 2004

Anwendungsbereich

Teil 2 legt Kriterien und Verfahren für die Leistungsprüfung von Nährmedien fest

gilt für:

kommerzielle Einrichtungen;

nichtkommerzielle Einrichtungen, die an Dritte liefern;

mikrobiologische Laboratorien,
die Medien für ihre eigene Verwendung herstellen
und die Leistungsfähigkeit dieser Medien bewerten müssen.

DIN EN ISO/TS 11133 Teil 2: 2004

Kriterien für die routinemäßige Qualitätskontrolle

- Qualität von Nährmedien

Sicherstellung von qualitativ bedeutsamen Kriterien wie:

Füllmenge und/oder Schichtdicke;
Aussehen, Farbe und Homogenität;
Gelkonsistenz;
Feuchtigkeitsgehalt;
pH-Wert;
Pufferkapazität;
mikrobielle Kontamination.

DIN EN ISO/TS 11133 Teil 2: 2004

Kriterien für die routinemäßige Qualitätskontrolle

- **Mikrobiologische Qualitätskriterien**

Proben:

Die mikrobiologischen Leistungsprüfungen sind an einer Probe durchzuführen, die für eine Charge von Endprodukten repräsentativ ist.

Mikrobielle Kontamination:

Von jeder Charge eines Nährmediums sollte eine geeignete Menge abhängig von der Chargengröße) auf mikrobielle Kontamination geprüft werden.

Zielgrenzwerte für den Prozentsatz kontaminierter Platten, Röhrchen oder Flüssigmedienbehälter sollten für jedes Medium festgelegt werden.

DIN EN ISO/TS 11133 Teil 2: 2004

Kriterien für die routinemäßige Qualitätskontrolle

- Wachstum:

Bewertung des Keimwachstums:

a) quantitativ; oder

b) halbquantitativ; oder

c) qualitativ.

DIN EN ISO/TS 11133 Teil 2: 2004

Kriterien für die routinemäßige Qualitätskontrolle

- Wachstum:

quantitative Verfahren:

Bestimmung des Produktivitätsverhältnisses bzw. Selektivitätsfaktors im Vergleich zu einem Referenzmediums

Bestimmung einer „Wiederfindungsrate“ durch Zählen der gewachsenen Kolonien im Vergleich zu einem Referenzmedium

halbquantitative und qualitative Verfahren:

Bestimmung des Wachstumsindex mit Hilfe eines Referenzmediums oder einer „positiven“ Kultur durch einfachen Ausstrich (z.B. Dreiösenausstrich)

DIN EN ISO/TS 11133 Teil 2: 2004

Kriterien für die routinemäßige Qualitätskontrolle

- **Leistungsbewertung und Interpretation der Ergebnisse**

eine Charge eines Nährmediums zeigt zufriedenstellende Ergebnisse:

wenn alle verwendeten Prüforganismen eine Wachstumsleistung nach den oben gegebenen Festlegungen erbringen

die Charge ist zu akzeptieren, wenn sowohl die allgemeinen als auch die mikrobiologischen Qualitätskriterien erfüllt sind

DIN EN ISO/TS 11133 Teil 2: 2004

Verfahren zur Leistungsprüfung

- Prüfstämme:

für die verschiedenen Nährmedien in einer Liste in Anhang B der Norm gegeben

Prüfstämme sollen in Zukunft in allen Normen direkt bei den Medien beschrieben werden

DIN EN ISO/TS 11133 Teil 2: 2004

Verfahren zur Leistungsprüfung

- **Verfahren für feste Medien (in der Norm detailliert beschrieben)**

  Quantitative Ausplattierungsverfahren

  Halbquantitatives Ausstrichverfahren auf Grundlage der Ekometrie

  Qualitatives Ausstrichverfahren

- **Verfahren für flüssige Medien (in der Norm detailliert beschrieben)**

  Quantitatives Verdünnungsverfahren für erwünschte und unerwünschte Mikroorganismen

  Halbquantitatives Einröhrchenverfahren für erwünschte und unerwünschte Mikroorganismen sowie Mischkulturen

  Qualitatives Einröhrchenverfahren

DIN EN ISO/TS 11133 Teil 2: 2004

Dokumentation

durch den Hersteller bereitzustellene Informationen

spezifische mikrobiologische Wachstumsmerkmale,
allgemeine Angaben über die spezifische Charge des Nährmediums

Rückverfolgbarkeit

Dokumentation und Aufbewahrung der Daten in Übereinstimmung mit dem Qualitätssicherungssystem,
Anwendung von Kontrollblättern wird empfohlen

DIN EN ISO/TS 11133 Teil 2: 2004

Anhang A.
Beispiel einer Kontrollkarte

Tabelle A.1 — Beispiel einer Karte

Kontrollkarte für die interne Qualitätsprüfung von Nährmedien				
Nährmedium:		hergestelltes Volumen:	Herstellungsdatum:	interne Chargen-nummer:
Trockenmedium (& Art.-Nr.):	Hersteller:	Charge:	Menge:	Datum/Unterschrift:
Supplement:	Hersteller:	Charge:	Menge:	Datum/Unterschrift:
Einzelheiten zur Zubereitung:				
Physikalische Qualitätskontrolle				
Erwarteter pH-Wert:	gemessener pH-Wert:	Qualität bestätigt: ja ☐ nein ☐	Fehler:	Datum/Unterschrift:
Erwartete Füllmenge und/oder Schichtdicke	festgestellt:	Qualität bestätigt: ja ☐ nein ☐	Fehler:	Datum/Unterschrift:
Erwartete Farbe:	festgestellt:	Qualität bestätigt: ja ☐ nein ☐	Fehler:	Datum/Unterschrift:
Erwartete Klarheit/Vorliegen optischer Artefakte:	festgestellt:	Qualität bestätigt: ja ☐ nein ☐	Fehler:	Datum/Unterschrift:
Erwartete Gelsfestigkeit/ Konsistenz/Feuchtigkeit	festgestellt:	Qualität bestätigt: ja ☐ nein ☐	Fehler:	Datum/Unterschrift:
Mikrobielle Kontamination				
Anzahl der geprüften Platten oder Röhrchen: Bebrütung:	Ergebnis:	Qualität bestätigt: ja ☐ nein ☐	Anzahl der kontaminierten Platten oder Röhrchen:	Datum/Unterschrift:
Keimwachstum — Produktivität		Prüfverfahren:	Quantitativ ☐ Qualitativ ☐	
Stämme: Bebrütung: Referenzmedium:	Kriterien:	Ergebnis:	Qualität bestätigt: ja ☐ nein ☐	Datum/Unterschrift:
Keimwachstum — Selektivität		Prüfverfahren:	Quantitativ ☐ Qualitativ ☐	
Stämme: Bebrütung: Referenzmedium:	Kriterien:	Ergebnis:	Qualität bestätigt: ja ☐ nein ☐	Datum/Unterschrift:
Keimwachstum — Spezifität		Prüfverfahren:	Quantitativ ☐ Qualitativ ☐	
Stämme: Bebrütung: Referenzmedium:	Kriterien:	Ergebnis:	Qualität bestätigt: ja ☐ nein ☐	Datum/Unterschrift:
Freigabe der Charge				
Einzelheiten zur Lagerung		Freigabe der Charge: ja ☐ nein ☐		Datum/Unterschrift:

DIN EN ISO/TS 11133 Teil 2: 2004

Anhang B. Tabellen mit empfohlenen Teststämmen

Medium	Typ	Keime	Norm	Funktion	Bebrütung	Kontrollstämme	Referenzmedien	Prüf-verfahren	Kriterien	Charakteristische Reaktionen
Chloram-phenicol oder OGA (OGY)	S	Hefen/ Schimmelpilze	ISO 7954	Produktivität	3 Tage – 5 Tage/ 25 °C	C. albicans ATCC 10231 A. niger ATCC 16404[b] P. cylopium ATCC 16025 S. cerevisiae ATCC 9763[b]	Bereits validierte Mediencharge SDA (Sabouraud Dextrose Agar)	Quantitativ	PR ≥ 0,5	Charakteristische Kolonien je nach der Spezies
				Selektivität	3 Tage – 5 Tage/ 25 °C	E. coli ATCC 25922 oder 8739[b] B. subtilis ATCC 6633	—	Qualitativ	Vollständige Hemmung	—
MRS	S	Milchsäure-bakterien	ISO 15214	Produktivität	72 h/30 °C	L. sake ATCC 15521[b] P. damnosus ATCC 29358 L. lactis ATCC 19435[b]	Bereits validierte Mediencharge MRS	Quantitativ	PR ≥ 0,5	Charakteristische Kolonien je nach der Spezies
				Selektivität	72 h/30 °C	E. coli ATCC 25922 oder 8739[b] B. cereus ATCC 11778	—	Qualitativ	Vollständige Hemmung	—
MYP	S	Bacillus cereus	EN ISO 7932	Produktivität	24 h – 48 h/ 30 °C	B. cereus ATCC 11778[b]	TSA	Quantitativ	PR ≥ 0,7	Rosarote Kolonien mit Präzipitathof
				Selektivität	48 h/37 °C	E. coli ATCC 25922 oder 8739[b]	—	Qualitativ	Vollständige Hemmung	—
				Spezifität	48 h/37 °C	B. subtilis ATCC 6633[b]			—	Gelbe Kolonien ohne Präzipitathof
Oxford	S	Listeria monocyto-genes	EN ISO 11290	Produktivität	48 h/37 °C	L. monocytogenes 1/2a ATCC 19111 L. monocytogenes 4b ATCC 13932[b]	TSA	Quantitativ	PR ≥ 0,5	Graue bis schwarze Kolonien mit schwarzem Hof
				Selektivität	48 h/37 °C	E. coli ATCC 25922 oder 8739[b] E. faecalis ATCC 29212 oder 19433 C. albicans ATCC 10231	—	Qualitativ	Vollständige Hemmung	—
PALCAM	S	Listeria monocyto-genes	EN ISO 11290	Produktivität	48 h/37 °C	L. monocytogenes 1/2a ATCC 19111 L. monocytogenes 4b ATCC 13932[b]	TSA	Quantitativ	PR ≥ 0,5	Graugrüne bis schwarze Kolonien mit schwarzem Hof
				Selektivität	72 h/30 °C	E. coli ATCC 25922 oder 8739[b] E. faecalis ATCC 29212 oder 19433	—	Qualitativ	Vollständige Hemmung	—
TS(C)	S	Clostridium perfringens	EN ISO 7937	Produktivität	20 h/37 °C anaerobe Bedingungen	C. perfringens ATCC 13124 C. perfringens ATCC 12916	bereits validierte Mediencharge TS(C)	Quantitativ	PR ≥ 0,7	Schwarze Kolonien
				Selektivität TSC	20 h/37 °C anaerobe Bedingungen	E. coli ATCC 25922 oder 8739	—	Qualitativ	Vollständige Hemmung	—
				Spezifität TS			—	Qualitativ	—	Weiße Kolonien

Ausblick: DIN EN ISO 11133

Überarbeitung zur einteiligen Norm

Ausblick: DIN EN ISO 11133
Überarbeitung zur einteiligen Norm

Ziel: zukünftig soll es eine gemeinsame einteilige Norm

**für alle Medien für Lebensmittel / (Trink-) Wasser
und für Anwender und Hersteller geben**

voraussichtlich 2011 erster offizieller Entwurf des überarbeiteten, dann einteiligen Standards für Lebensmittel- und Wasser-Nährmedien

voaussichtlich 2012 Veröffentlichung als Norm („Standard“)

voraussichtlich dann auch Übernahme in die DEV-Sammlung

Ausblick: DIN EN ISO 11133 Überarbeitung zur einteiligen Norm

Überblick zum Inhalt der einteiligen Norm:

der Inhalt der DIN EN ISO/TS 11133-1: 2009 „Qualitätssicherung bei der Zubereitung der Nährmedien“ wird ohne größere Veränderungen übernommen

der Inhalt der DIN EN ISO/TS 11133-2:2004 wurde stark überarbeitet und es wurde versucht, die besonders die mikrobiologischen Leistungsprüfungen „praxistauglicher“ zu beschreiben

Ausblick: DIN EN ISO 11133 Überarbeitung zur einteiligen Norm

Neu:

zukünftig müssen alle Nährmedien, die für quantitative Prüfungen im Lebensmittel- und Wasserbereich eingesetzt werden, quantitativ geprüft werden (!)

Medien, die mit Membranfiltern eingesetzt werden, sollten auch mit Membranfiltern geprüft werden

die Prüfung kann bei Fertigmedien beim Hersteller durchgeführt werden, und sollte bei im Laboratorium hergestellten Medien beim Anwender durchgeführt werden

Ausblick: DIN EN ISO 11133 Überarbeitung zur einteiligen Norm

Neu:

die Norm wird einen Anhang enthalten, der für alle im Wasserbereich relevanten Nährmedien Teststämme und Kriterien beschreibt

für den Anwender ist je Medium die Verwendung eines Teststammes ausreichend,
Hersteller müssen mehr Stämme prüfen

die Teststämme sind mit Nummern aus Referenz-Stammsammlungen angegeben, es können also nicht ausschließlich Eigenisolate verwendet werden (!)

Weiterführende Veranstaltung besonders zur praktischen Umsetzung:

17. Kemptener Nährmedientag - 05. Juli 2011

Praktische Fragen zur Herstellung und Qualitätssicherung von Nährmedien

Demonstration im Nährmedienlabor / Mikrobiologisches Praxisseminar

Inhalt des Seminars:

- **Qualitätssicherung und Leistungskontrolle aus der Sicht der Nährmedienhersteller und Anwender (Erfahrungsberichte und praktische Demonstrationen im muva-Nährmedienlabor)**
- **Demonstration fehlerhafter Nährmedienchargen**
- **Aktueller Stand der Normungsarbeiten (relevante DIN/CEN/ISO-Normen)**
- **Qualitätssicherung im mikrobiologischen Labor (Grundlagen)**
- **Firmenausstellung namhafter Nährmedienhersteller**

mehr Informationen unter www.muva.de

Barbara Gerten

Head of Media Development

Merck Millipore

Frankfurter Strasse 250

64293 Darmstadt

Tel.: 06151 / 72 - 5344

barbara.gerten@merckgroup.com

Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit !