

Nährmedien in der Mikrobiologie – Qualitätskontrolle: Umsetzung der normativen Anforderungen der ISO 11133 in die Praxis

02. März 2017

anlässlich der 18. Jahrestagung Trinkwasserringversuche Nordrhein-Westfalen
– Niedersachsen, Osnabrück

Barbara Gerten, Merck

Deutsche Delegierte in der gemeinsamen ISO Kulturmedien-
Arbeitsgruppe ISO/TC34/SC9 Lebensmittel – ISO/TC147/SC4 Wasser
zur Erarbeitung der ISO 11133

Nährmedien in der Mikrobiologie – Qualitätskontrolle: Umsetzung der normativen Anforderungen der ISO 11133 in die Praxis

DIN EN ISO 11133:2015-01

Mikrobiologie von Lebensmitteln, Futtermitteln und Wasser - Vorbereitung, Herstellung, Lagerung und Leistungsprüfung von Nährmedien

(ISO 11133:2014, korrigierte Fassung 2014-11-01); Deutsche Fassung EN ISO 11133:2014

aufgenommen in:

„Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB“ und in „DEV Einheitsverfahren“

DEUTSCHE NORM		Januar 2015
	DIN EN ISO 11133	DIN
ICS 07.100.30; 07.100.20	Ersatz für DIN ISO/TS 11133-1:2009-08; Ersatz für DIN CEN ISO/TS 11133-2 (DIN SPEC 10128):2011-05	
Mikrobiologie von Lebensmitteln, Futtermitteln und Wasser – Vorbereitung, Herstellung, Lagerung und Leistungsprüfung von Nährmedien (ISO 11133:2014, korrigierte Fassung 2014-11-01); Deutsche Fassung EN ISO 11133:2014		

Nährmedien in der Mikrobiologie – Qualitätskontrolle: Umsetzung der normativen Anforderungen der ISO 11133 in die Praxis

Geplant:

1. Korrigendum zur ISO 11133:2014 bzw. zur DIN EN ISO 11133:2015:

**zur internationalen Veröffentlichung Ende 2017,
wird dann in die deutsche Norm DIN EN ISO 11133 eingearbeitet
und diese als überarbeitete DIN EN ISO 11133:2018 veröffentlicht**

enthält mit Korrekturen und Klarstellungen für die Anwendung

2. Zukünftige Erweiterung der Norm zur Veröffentlichung 2018/2019:

**wird die Qualitätskontrolle von Medien und Reagenzien zur Bestätigung aus
Lebensmittel- und Wasser ISO Standards enthaltenen –**

**wird Informationen zu den Teststämmen und Spezifikationen der Reaktionen enthalten;
die Teststämmen entsprechen denen aus der ISO 11133 bzw. den spezifischen Normen,
es ist geplant, keine neuen Teststämmen einzuführen**

Nährmedien in der Mikrobiologie – Qualitätskontrolle: Umsetzung der normativen Anforderungen der ISO 11133 in die Praxis

Anwendungsbereich der Norm:

gilt für alle Arten von Nährmedien, die zur Verwendung in Laboratorien hergestellt werden, die mikrobiologische Untersuchungen durchführen

alle Nährmedien zur mikrobiologischen Untersuchung von:

**Lebensmitteln, Futtermitteln und Umgebungsproben
aus der Lebens- oder Futtermittelproduktion, alle Arten von Wasser**

gilt für:

kommerzielle Einrichtungen (gemeint sind Hersteller);

nichtkommerzielle Einrichtungen, die Medien an Dritte liefern
(gemeint sind z.B. Zentrallabore, die an andere Labore liefern);

mikrobiologische Laboratorien, die Medien für ihre eigene Verwendung herstellen

Ergänzung im neuen Korrigendum:

und Endanwender gebrauchsfertig zubereiteter Nährmedien, die für die mikrobiologische Untersuchung von Lebensmitteln, Futtermitteln und Wasser vorgesehen sind.

Nährmedien in der Mikrobiologie – Qualitätskontrolle: Umsetzung der normativen Anforderungen der ISO 11133 in die Praxis

Definitionen und Begriffe in der Norm:

Charge von Nährmedien

homogene und vollständig rückverfolgbare Einheit eines Mediums, die sich auf eine definierte Menge eines Trockenmediums, Halbfertigmediums oder Endprodukts bezieht, die in Art und Qualität einheitlich ist und innerhalb einer definierten Produktionsdauer unter Zuordnung derselben Chargennummer hergestellt wurde.

Die vom Hersteller gelieferten Nährmedien werden in Chargen hergestellt und geliefert.

Die Norm definiert nicht, daß die Nährmedien eines Autoklavenlaufs eine Charge darstellen.

Diese könnten im laboreigenen QM-System z.B. als „Medien einer Kochung oder einer Zubereitung“ definiert werden und könnten dann einer reduzierten Qualitätskontrolle unterzogen werden. Eine reduzierte Qualitätskontrolle sollte im laboreigenen QM-System sorgfältig beschrieben und begründet werden, wäre aber nach den Normvorgaben möglich.

Nährmedien in der Mikrobiologie – Qualitätskontrolle: Umsetzung der normativen Anforderungen der ISO 11133 in die Praxis

Dokumentation durch den Hersteller oder die Lieferfirma nach Norm:

Die folgenden Angaben müssen durch den Hersteller oder die Lieferfirma (kommerzieller Einrichtungen oder nicht-kommerzieller Einrichtungen, die Medien an Dritte liefern) mitgeteilt werden:

- Bezeichnung des Mediums, der einzelnen Bestandteile und aller Supplemente sowie, wenn möglich deren Produktcodes;
- Technisches Datenblatt, z.B. Formulierung, vorgesehener Verwendungszweck, falls zutreffend Füllmenge, Verweisungen;
- im erforderlichen Fall Sicherheits- und Gefahrendaten;
- Chargennummer;
- Ziel-pH-Wert des vollständigen Mediums;
- Angaben über Lagerung und Verfallsdatum;
- zugewiesene Haltbarkeitsdauer;
- **Zertifikat über die Qualitätslenkung unter Angabe der verwendeten Prüforganismen und Ergebnisse der Leistungsprüfung mit den Annahmekriterien**

Eine allgemeine Angabe „nach ISO 11133“ geprüft, ohne z.B. weitere Angaben der Inokula, der Wiederfindungen in der quantitativen Produktivitätsprüfung (falls zutreffend) und den Annahmekriterien bei der Chargenfreigabe reicht nach der Norm nicht aus.

Nährmedien in der Mikrobiologie – Qualitätskontrolle: Umsetzung der normativen Anforderungen der ISO 11133 in die Praxis

Lagerung und Haltbarkeit von hergestellten Medien:

Bewertung der Haltbarkeitsdauer:

Das Verfallsdatum für gelagerte Medien muss ermittelt werden, indem die Medien nach festgelegten Lagerungsdauern auf alle Leistungsmerkmale überprüft werden.

Die Häufigkeit der Verifizierung ist vom Labor festzulegen.

Es gibt in der Norm keine Vorgabe, wie häufig diese geprüft werden muß, üblich ist z.B. eine jährliche Prüfung.

Medien sind auf jegliche Farbveränderungen, Anzeichen von Verdunstung/Austrocknung, Änderung des pH-Wertes oder nicht annehmbarer Produktivität oder Selektivität und gegebenenfalls Spezifität zu überprüfen.

Das Verfallsdatum muss auf der Lagerungsdauer beruhen, bei der alle vorstehend beschriebenen Leistungsmerkmale annehmbar bleiben.

Diese Überprüfungen sind auch geeignet, wenn vom Handel gelieferte Medien bezogen werden.

Speziell bei Fertigmedien können auch vom Hersteller zur Verfügung gestellte Ergebnisse von Haltbarkeitsprüfungen mit hinzugezogen werden, aber die anschließende Lagerung beim Anwender ist mit zu berücksichtigen.

Nährmedien in der Mikrobiologie – Qualitätskontrolle: Umsetzung der normativen Anforderungen der ISO 11133 in die Praxis

Prüforganismen und Annahmekriterien für die Leistungsprüfung:

Die Auswahl der Prüforganismen ist in den Anhängen E (Lebensmittelmedien) und F (Wassermedien) der ISO 11133 festgelegt.

Neue oder überarbeitete Normen werden die Leistungsprüfungen von Nährmedien, einschließlich der Festlegungen von Kontrollstämmen und Annahmekriterien, in der speziellen Norm selbst enthalten.

Zukünftig wird die ISO 11133 keine Tabellen mit Kontrollstämmen und Annahmekriterien mehr enthalten.

In einer Übergangszeit sind die Leistungsprüfungen von einigen Medien sowohl in den Anhängen E und F der ISO 11133 als auch in den spezifischen Normen zu finden.

Es gelten jeweils die Prüfungen der zuletzt veröffentlichten Normen !

Beispiel: Tabelle F der ISO 11133 enthält die jetzt gültigen Kriterien für das Legionellen-Medium GVPC. Die in Kürze veröffentlichte überarbeitete Legionellen-Norm ISO 11731 enthält ebenfalls die Kriterien für das GVPC Medium. Da die Legionellen-Norm das Ausgabedatum 2017 haben wird, sind für das GVPC-Medium die Kriterien aus der ISO 11731:2017 bindend!

Nährmedien in der Mikrobiologie – Qualitätskontrolle: Umsetzung der normativen Anforderungen der ISO 11133 in die Praxis

Prüforganismen und Annahmekriterien für die Leistungsprüfung:

Nährmedien für	Methoden für die Prüfung	Kontrollstämme und Annahmekriterien	Anmerkung:
Gesamtflora	DIN EN ISO 11133:2015	Hefeextrakt-Agar: DIN EN ISO 11133:2015	Für den Nähragar nach TrinkWV 1990 gibt es keine Vorgaben
<i>Enterococcus faecalis</i>	DIN EN ISO 11133:2015	DIN EN ISO 11133:2015	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	DIN EN ISO 11133:2015	DIN EN ISO 11133:2015	-

Nährmedien in der Mikrobiologie – Qualitätskontrolle: Umsetzung der normativen Anforderungen der ISO 11133 in die Praxis

Prüforganismen und Annahmekriterien für die Leistungsprüfung:

Anwendung	Methoden für die Prüfung	Kontrollstämme und Annahmekriterien	Anmerkung:
Coli/Colifome	DIN EN ISO 11133:2015	CCA: DIN EN ISO 9308-1:2014	Veröffentlichung der Ergänzung 1 zur ISO 9308-1 in 2017 mit Änderung der Prüfung auf Selektivität/Spezifität
		Lactose-TTC: DIN EN ISO 11133:2015	-
		Colilert-18: DIN EN ISO 11133:2015	-

Nährmedien in der Mikrobiologie – Qualitätskontrolle: Umsetzung der normativen Anforderungen der ISO 11133 in die Praxis

Prüforganismen und Annahmekriterien für die Leistungsprüfung:

Anwendung	Methoden für die Prüfung	Kontrollstämme und Annahmekriterien	Anmerkung:
<i>Legionella</i>	DIN EN ISO 11133:2015	DIN EN ISO 11133:2015 zukünftig: DIN EN ISO 11731:2017	Veröffentlichung der Ergänzung 1 zur ISO 11133 – Wegfall von <i>Pseudomonas aeruginosa</i> bei der Prüfung auf Selektivität
<i>Clostridium perfringens</i>	DIN EN ISO 11133:2015	mCP: DIN EN ISO 11133:2015 TSC: DIN EN ISO 14189:2016	-

Nährmedien in der Mikrobiologie – Qualitätskontrolle: Umsetzung der normativen Anforderungen der ISO 11133 in die Praxis

Prüforganismen und Annahmekriterien für die Leistungsprüfung:

Anwendung	Methoden für die Prüfung	Kontrollstämme und Annahmekriterien	Anmerkung:
Verdünnung	DIN EN ISO 11133:2015	DIN EN ISO 11133:2015	-
Referenzmedien	DIN EN ISO 11133:2015	TSA, BCYE: DIN EN ISO 11133:2015	-

Nährmedien in der Mikrobiologie – Qualitätskontrolle: Umsetzung der normativen Anforderungen der ISO 11133 in die Praxis

Prüforganismen und Annahmekriterien für die Leistungsprüfung: - Beispiel aus Anhang F:

Medien ^a	Typ ^e	Mikroorganismen	Inter-nationale Norm	Funktion	Bebrütung	Kontrollstämme	WDCM-Nummern ^c	Referenz-medien	Prüfverfahren	Kriterien	Charakteristische Reaktionen
Slanetz und Bartley	S	Intestinale Enterokokken	ISO 7899-2	Produktivität	(44 ± 4) h / (36 ± 2) °C	<i>Enterococcus faecalis</i>	00009 ^b 00087 00176	TSA	Quantitativ	$P_R \geq 0,5$	Rote, kastanienbraune bis rosafarbene Kolonien
						<i>Enterococcus faecium</i> ^d	00177 00178				
				Selektivität		<i>Escherichia coli</i> ^d	00012 oder 00013	—	Qualitativ	Vollständige Hemmung (0)	—
						<i>Staphylococcus aureus</i> ^d	00032 oder 00034				

^a Die vollständigen Bezeichnungen der für die Medien verwendeten Abkürzungen sind in Tabelle F.2 angeführt.

^b Als Minimum zu verwendende Stämme.

^c Bezüglich Informationen zu den Stammmummern in Kultursammlungen und den jeweiligen Kontaktdaten siehe Katalog der Referenzstämme, der unter <http://www.wfoc.info> zur Verfügung steht.

^d Freie Wahl des Stammes; mindestens einer der Stämme muss verwendet werden.

^e L: flüssiges Medium, S: festes Medium, SS: halbfestes Medium.

Nährmedien in der Mikrobiologie – Qualitätskontrolle: Umsetzung der normativen Anforderungen der ISO 11133 in die Praxis

Prüforganismen und Annahmekriterien für die Leistungsprüfung: - Beispiel aus Anhang F:

Medien ^a	Typ ^e	Mikroorganismen	Inter-nationale Norm	Funktion	Bebrütung	Kontrollstämme	WDCM-Nummern ^c	Referenz-medien	Prüfverfahren	Kriterien	Charakteristische Reaktionen
Slanetz und Bartley	S	Intestinale Enterokokken	ISO 7899-2	Produktivität	(44 ± 4) h / (36 ± 2) °C	<i>Enterococcus faecalis</i>	00009 ^b 00087 00176	TSA	Quantitativ	$P_R \geq 0,5$	Rote, kastanienbraune bis rosafarbene Kolonien
				Selektivität		<i>Enterococcus faecium</i> ^d	00177 00178				
						<i>Escherichia coli</i> ^d	00012 oder 00013	—	Qualitativ	Vollständige Hemmung (0)	—
						<i>Staphylococcus aureus</i> ^d	00032 oder 00034				

Vom Labor zu verwendende Kontrollstämme und Methodik:

Produktivität: *E. faecalis* WDCM 00009
und einer der beiden *E. faecium*-Stämme

Selektivität: einer der beiden *E. coli*-Stämme und einer der beiden *S. aureus*-Stämme

Methodik: Beimpfung des Testmediums mit Membranfiltration
und des Referenzmediums mit direkter Oberflächenbeimpfung

Nährmedien in der Mikrobiologie – Qualitätskontrolle: Umsetzung der normativen Anforderungen der ISO 11133 in die Praxis

Prüforganismen:

Es kann zertifiziertes oder nicht-zertifiziertes Referenzmaterial verwendet werden.

Die Haltung und Vorbereitung der Prüforganismen ist in der DIN EN ISO 11133 genau beschrieben.

Es wird eine Anleitung der Herstellung von Inokula aus flüssigen Übernacht-Kulturen beschrieben, aus denen dann mit Verdünnungsreihen die erforderlichen Suspensionen (Inokula) für die Prüfung hergestellt werden.

Es könne andere Verfahren für die Herstellung standardisierter Inokula verwendet werden.

Alternative Verfahren zur Herstellung von frischen Inokula aus Abschwemmungen von Oberflächenkulturen und zur Aufbewahrung vorbereiteter Inokula ist z.B. beschrieben im

„Leitfaden der ALTS-AG Mikrobiologie“ – siehe Webseite der CVUA Freiburg
(http://www.ua-bw.de/pub/beitrag.asp?subid=3&Thema_ID=8&ID=2096)

Eine Kopie des Dokuments kann beim ALTS unter ALTS@bvl.bund.de angefordert werden.

ALTS: Arbeitskreis der auf dem Gebiet der Lebensmittelhygiene und der Lebensmittel tierischer Herkunft tätigen Sachverständigen; ein Bund-Länder-Sachverständigen-Gremium, das einen wissenschaftlichen Erfahrungs- und Meinungsaustausch zu verschiedenen Fragen der amtlichen Untersuchung von tierischen Lebensmitteln führt und die Harmonisierung der Beurteilung von Untersuchungsergebnissen zum Ziel hat.

Vielen Dank !



Fragen ?

Barbara Gerten

Merck KGaA

Frankfurter Strasse 250

64293 Darmstadt

Deutschland

Tel.: 06151 / 72 5344

E-Mail:

barbara.gerten@merckgroup.com