



Institut luxembourgeois de la normalisation
de l'accréditation, de la sécurité et qualité
des produits et services

ILNAS-EN ISO 7218:2007

Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln - Allgemeine Anforderungen und Leitlinien für mikrobiologische Untersuchungen (ISO

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

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

08/2007



Nationales Vorwort

Diese Europäische Norm EN ISO 7218:2007 wurde als luxemburgische Norm ILNAS-EN ISO 7218:2007 übernommen.

Alle interessierten Personen, welche Mitglied einer luxemburgischen Organisation sind, können sich kostenlos an der Entwicklung von luxemburgischen (ILNAS), europäischen (CEN, CENELEC) und internationalen (ISO, IEC) Normen beteiligen:

- Inhalt der Normen beeinflussen und mitgestalten
- Künftige Entwicklungen vorhersehen
- An Sitzungen der technischen Komitees teilnehmen

<https://portail-qualite.public.lu/fr/normes-normalisation/participer-normalisation.html>

DIESES WERK IST URHEBERRECHTLICH GESCHÜTZT

Kein Teil dieser Veröffentlichung darf ohne schriftliche Einwilligung weder vervielfältigt noch in sonstiger Weise genutzt werden - sei es elektronisch, mechanisch, durch Fotokopien oder auf andere Art!

ICS 07.100.30

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 Zentralsekretariat 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

	Seite
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.