



---

## DAR-4-EM-06

---

# Akkreditierung von mikrobiologischen Labora- torien

## **ZWECK**

Dieses Dokument wurde von einer gemeinsamen EA/EURACHEM - Arbeitsgruppe erstellt. Es ergänzt ISO/IEC 17025 und gibt spezielle Anleitung zur Akkreditierung von Laboratorien, die mikrobiologische Prüfungen durchführen, sowohl für die Be-gutachter als auch für die Laboratorien, die sich auf die Akkreditierung vorbereiten. ISO/IEC 17025 bleibt das maßgebliche Dokument. In Streitfällen entscheiden die einzelnen Akkreditierungsstellen über ungelöste Fragen. Die in diesem Dokument angegebenen Anleitungen können auch für diejenigen von Nutzen sein, die eine Zer-tifizierung nach ISO 9000 anstreben.

### *Autoren*

Die Veröffentlichung wurde von einer Arbeitsgruppe Lebensmittel des EA Laboratory Committee in Zusammenarbeit mit Eurachem erstellt.

### *Offizielle Sprache*

Der Text darf nach Bedarf in andere Sprachen übersetzt werden. Die englischsprachige Version bleibt jedoch die maßgebliche Fassung.

### *Urheberrecht*

EA hat das Urheberrecht an diesem Text. Der Text darf nicht zum Weiterverkauf kopiert werden.

### *Weitere Informationen*

Weitere Informationen über diese Veröffentlichung erhalten Sie von Ihrem Nationalen EA-Mitglied oder vom Vorsitzenden des EA-Laboratory Committee, Herrn Hanspeter Ischi [hanspeter.ischi@metas.ch](mailto:hanspeter.ischi@metas.ch) bzw. vom Convenor der EA-Arbeitsgruppe Lebensmittel, Frau Elisa Gredilla [egredilla@enac.es](mailto:egredilla@enac.es)

Besuchen Sie bitte unsere Website, auf der Sie die neuesten Informationen finden:  
<http://www.european-accreditation.org>

*Datum der Genehmigung: Juni 2002*

*Datum der Einführung: Juni 2002*

*Übergangsfrist:---*

---

## INHALT

---

<b>1</b>	<b>EINFÜHRUNG UND GELTUNGSBEREICH DES DOKUMENTS</b>	<b>5</b>
<b>2</b>	<b>PERSONAL</b>	<b>6</b>
<b>3</b>	<b>UMGEBUNG</b>	<b>7</b>
3.1	Räumlichkeiten	7
3.2	Umgebungsüberwachung	9
3.3	Hygiene	9
<b>4</b>	<b>VALIDIERUNG VON PRÜFVERFAHREN</b>	<b>10</b>
<b>5</b>	<b>MESSUNSICHERHEIT</b>	<b>11</b>
<b>6</b>	<b>GERÄTE - WARTUNG, KALIBRIERUNG UND LEISTUNGSVERIFIZIERUNG</b>	<b>12</b>
6.1	Wartung	12
6.2	Kalibrierung und Verifizierung der Leistungsfähigkeit	13
<b>7</b>	<b>REAGENZEN UND KULTURMEDIEN</b>	<b>16</b>
7.1	Reagenzien	16
7.2	Intern hergestellte Medien	16
7.3	Gebrauchsfertige Medien	16
7.4	Kennzeichnung	17
<b>8</b>	<b>REFERENZMATERIALIEN UND REFERENZKULTUREN</b>	<b>18</b>
8.1	Referenzmaterialien	18
8.2	Referenzkulturen	18
<b>9</b>	<b>PROBENAHME</b>	<b>19</b>
<b>10</b>	<b>HANDHABUNG UND IDENTIFIZIERUNG DER PROBEN</b>	<b>19</b>
<b>11</b>	<b>ENTSORGUNG KONTAMINierter ABFÄLLE</b>	<b>20</b>
<b>12</b>	<b>QUALITÄTSSICHERUNG VON ERGEBNISSEN/QUALITÄTSKONTROLLE DER LEISTUNG</b>	<b>20</b>
12.1	Interne Qualitätskontrolle	20
12.2	Externe Qualitätsbewertung	21
<b>13</b>	<b>PRÜFBERICHTE</b>	<b>21</b>
<b>ANHANG A</b>	<b>GLOSSAR</b>	<b>22</b>
<b>ANHANG B</b>	<b>VERWEISUNGEN</b>	<b>25</b>
<b>ANHANG C</b>	<b>ALLGEMEINER EINSATZ VON REFERENZKULTUREN</b>	<b>26</b>
<b>ANHANG D</b>	<b>LEITFADEN ZUR KALIBRIERUNG UND NACHPRÜFUNG</b>	<b>27</b>
<b>ANHANG E</b>	<b>LEITFADEN ZUR GERÄTEVALIDIERUNG UND LEISTUNGSVERIFIZIERUNG</b>	<b>28</b>
<b>ANHANG F</b>	<b>LEITFADEN ZUR INSTANDHALTUNG</b>	<b>30</b>

# 1 EINFÜHRUNG UND GELTUNGSBEREICH DES DOKUMENTS

- 1.1 Die allgemeinen Anforderungen an die Akkreditierung sind in der Internationalen Norm *General requirements for the competence of testing and calibration laboratories* (ISO/IEC 17025, 1. Ausgabe, 1999), nachstehend als ISO 17025 bezeichnet, festgelegt. All diese Anforderungen sind von den Laboratorien, die eine Akkreditierung anstreben, zu erfüllen.
- 1.2 Das vorliegende Dokument dient als Zusatz zur ISO 17025, indem es sowohl Begutachtern als auch Laboratorien, in denen mikrobiologische Prüfungen durchgeführt werden, einen spezifischen Leitfaden zur Verfügung stellt. All jenen, die Material-, Produkt und Substanzprüfungen vornehmen, gibt es eine detaillierte Anleitung zur Interpretation von der ISO 17025. Dieser Leitfaden kann bei der Durchführung von allen objektiven Messungen, sei es in der Routine-, Nichtroutine- oder als Teil der Forschungs- und Entwicklungsarbeit angewandt werden. Obwohl das Dokument in erster Linie für mikrobiologische Untersuchungen von Lebensmittel und Umweltproben verfasst worden ist, so können die allgemeinen Grundsätze doch auf andere Gebiete angewandt werden. Die ISO 17025 bleibt das maßgebliche Dokument und in Streitfällen entscheiden die Akkreditierungsstellen über ungelöste Fragen. Der vorliegende Leitfaden kann ebenso jenen dienen, die eine Anerkennung nach Qualitätsnormen wie GLP, GMP, GCP anstreben.
- 1.3 Dieser Leitfaden kann als „Anwendungsdokument“ für mikrobiologische Prüfungen, wie in Anhang B von der ISO 17025 dargelegt, angesehen werden. Der Leitfaden wurde in Zusammenarbeit zwischen EURACHEM und EA erstellt und dient als Mittel zur einheitlichen Herangehensweise an die Laborakkreditierung unter EA-Mitgliedern, insbesondere jenen, die Mitglieder des Multilateralen Abkommens von EA sind.
- 1.4 Unter mikrobiologischen Prüfungen werden verstanden: Sterilitätsprüfungen, Nachweis, Isolierung, Zählung und Identifizierung von Mikroorganismen (Viren, Bakterien, Pilze und Protozoen) sowie ihrer Metaboliten in verschiedenen Materialien und Produkten, oder jegliche Untersuchung, bei der Mikroorganismen als Teil eines Detektionssystems eingesetzt werden, sowie der Einsatz von Mikroorganismen bei Umweltprüfungen. Daher ist es erforderlich, einige der Anleitungen in diesem Dokument, z. B. jene, die die Laborumgebung betreffen, in geeigneter Weise zu interpretieren. Das vorliegende Dokument kann auch als Leitfaden für Laboratorien dienen, die mikrobiologische Arbeitstechniken in Bereichen einsetzen, die der Mikrobiologie verwandt sind, wie z. B. Biochemie, Molekularbiologie und Zellkultur. Allerdings können zusätzliche Anforderungen an solche Laboratorien gestellt werden.
- 1.5 Dieses Dokument befasst sich mit der Qualität von Prüfergebnissen und hat nicht speziell mit Gesundheits- oder Sicherheitsfragen zu tun. Jedoch sollte die Laborpraxis den nationalen Gesundheits- und Sicherheitsvorschriften entsprechen. Es ist besonders erwähnenswert, dass in einigen Fällen Gesundheits- und Sicherheitsbelange eine Auswirkung auf die Qualität der Prüfung haben können und das Laboratorium gefordert sein wird, diese zu berücksichtigen.
- 1.6 Definitionen von Begriffen sind in Anhang A enthalten.

## **2 PERSONAL**

### **ISO 17025, Abschnitt 5.2**

- 2.1** Mikrobiologische Prüfungen sollten entweder von einem erfahrenen Mitarbeiter, der eine mikrobiologische Fachausbildung oder eine vergleichbare Ausbildung besitzt, durchgeführt oder von diesem überwacht werden. Alternativqualifikationen können von der Akkreditierungsstelle anerkannt werden, sofern das Personal umfangreiche Berufserfahrung auf dem durch die Laborakkreditierung abgedeckten Gebiet erworben hat. Das Personal sollte über praktische Laborerfahrung verfügen, bevor es autorisiert wird, akkreditierte Tätigkeiten unbeaufsichtigt durchzuführen, oder bevor es als erfahren genug gilt, akkreditierte Tätigkeiten zu überwachen. Spezifische nationale Vorschriften haben mehr Gewicht als die Richtlinien dieses Leitfadens.
- 2.2** Wenn das Laboratorium Meinungen und Interpretationen zu den Prüfergebnissen in die Berichte aufnimmt, so muss dies von autorisiertem Personal erfolgen, das entsprechende Erfahrungen und sachbezogenes Wissen zu der spezifischen Anwendung besitzt, einschließlich z. B. gesetzliche und technologische Anforderungen und Annahmekriterien.
- 2.3** Die Laborleitung muss sicherstellen, dass das gesamte Personal in geeigneter Weise geschult ist, um eine kompetente Durchführung der Prüfungen und eine kompetente Bedienung der Geräte zu gewährleisten. Dies sollte eine Schulung in den Grundarbeitstechniken einschließen, z. B. Ausplattieren, Auszählen der Kolonien, sterile Arbeitstechniken etc., wobei die Annehmbarkeit der Ergebnisse unter Verwendung objektiver Kriterien erfolgt. Mitarbeiter dürfen nur dann Prüfungen an Proben vornehmen, wenn ihre Kompetenz anerkannt ist oder wenn sie unter entsprechender Aufsicht arbeiten. Die Beibehaltung des Kompetenzniveaus sollte laufend überprüft werden und bei Bedarf sollten erneute Schulungen in Betracht gezogen werden. Wird eine Methode oder Arbeitstechnik nicht ständig angewandt, so kann es erforderlich sein, die Leistungsfähigkeit des Personals vor der Prüfungsdurchführung zu verifizieren. Der kritische Zeitraum zwischen den Prüfungsdurchführungen sollte ermittelt und dokumentiert werden. Die Interpretation von Prüfergebnissen zur Identifizierung und Verifizierung von Mikroorganismen ist eng gebunden an die Erfahrung des durchführenden Mitarbeiters und sollte bei jeder Analyse durchführenden Mitarbeiter regelmäßig überwacht werden.
- 2.4** In manchen Fällen kann es geeignet sein, Kompetenz nicht im Hinblick auf Verfahren, sondern im Hinblick auf eine besondere Arbeitstechnik oder bezogen auf ein Instrument zu definieren.

### **3 UMGEBUNG**

#### **ISO 17025, Abschnitt 5.2**

##### **3.1 Räumlichkeiten**

**3.1.1** Das typische Laboratorium besteht aus den Prüfräumen (wo spezifische mikrobiologische Prüfungen und damit in Zusammenhang stehende Tätigkeiten ausgeführt werden) und den Nebenräumen (Eingangsbereich, Gänge, Verwaltungsbereich, Garderoben und Toiletten, Lagerräume, Archive etc.). An die Prüfräume werden in der Regel besondere Anforderungen gestellt.

Abhängig von der Art der durchzuführenden Untersuchungen, sollte der Zutritt zu dem mikrobiologischen Laboratorium nur autorisiertem Personal gewährt werden. Sind derartige Auflagen in Kraft, ist das Personal hinzuweisen auf:

- (a) den Zweck eines bestimmten Laborbereichs;
- (b) die Auflagen, die die Tätigkeiten innerhalb solcher Bereiche betreffen;
- (c) die Gründe dieser Auflagen;
- (d) die entsprechenden Sicherheitsstufen.

**3.1.2** Das Prüflaboratorium muss so angelegt sein, dass Risiken von Kreuzkontaminationen minimiert werden, wenn dies die durchzuführende Prüfart erfordert. Dies kann beispielsweise erreicht werden, wenn:

- (a) das Laboratorium nach dem „kein Weg führt zurück“ - Prinzip konstruiert wird;
- (b) die Prüfungen sequenziell durchgeführt werden und geeignete Vorsichtsmaßnahmen eine vollständige Prüfung und die Unversehrtheit der Probe sicherstellen (z. B. durch den Gebrauch von versiegelten Behältern);
- (c) die Tätigkeiten unter zeitlicher oder räumlicher Trennung erfolgen.

**3.1.3** Im allgemeinen wird es als gute Laborpraxis angesehen, wenn getrennte Räumlichkeiten oder eindeutig abgegrenzte Bereiche vorhanden sind für:

- Probeneingang und vorgesehene Lagerbereiche;
- Probenvorbereitung (ein separater Raum sollte hierfür zur Verfügung stehen, da z. B. ein erhöhtes Kontaminationsrisiko bei der Herstellung pulverförmiger Produkte gegeben ist);
- Untersuchung der Proben einschließlich Inkubation;
- Lagerung der Referenzorganismen;
- Herstellung der Medien und der Geräte einschließlich ihrer Sterilisation;
- Überprüfung der Sterilität;
- Dekontamination.

Der Waschbereich (nach der Dekontamination) kann mit anderen Bereichen des Laboratoriums geteilt werden, sofern die nötigen Vorkehrungen getroffen werden, eine Übertragung von Substanzspuren, die sich nachteilig auf das Wachstum von Mikroorganismen auswirken könnten, zu verhindern. Die Nützlichkeit einer räumlichen Trennung ist auf der Grundlage der für das Laboratorium gültigen Tätigkeiten (z. B. Anzahl der auszuführenden Prüfungen, Art der Prüfungen) zu beurteilen.

Um zufällige Kreuzkontamination zu verhindern, sollte Laborausrüstung nicht routinemäßig zwischen den einzelnen Bereichen ausgetauscht werden. In Laboratorien für molekularbiologische Untersuchungen sollten in jedem Arbeitsbereich genau zugeordnete Pipetten, Pipettenspitzen, Zentrifugen, Röhrchen etc. vorhanden sein (Trennung zwischen Arbeitsbereichen mit niedriger-mittlerer-hoher DNA-Konzentration).

- 3.1.4** Ausreichend Raum sollte vorhanden sein, um die Arbeitsbereiche in einem sauberen und aufgeräumten Zustand zu halten. Die hierzu benötigte Raumgröße ist unter dem Gesichtspunkt des Probenvolumens und der allgemeinen internen Organisation des Laboratoriums zu ermitteln. Die Räumlichkeiten sollten vorhandenen nationalen Regelungen genügen.
- 3.1.5** Arbeitsräume sollten entsprechend gelüftet werden und eine geeignete Temperatur aufweisen. Dies kann durch natürlichen oder künstlichen Luftaustausch oder durch Klimatisierung erfolgen. Beim Betrieb einer Klimaanlage ist darauf zu achten, dass die Filter für die Art der auszuführenden Arbeiten geeignet sind und regelmäßig geprüft, gewartet und ersetzt werden.
- 3.1.6** Eine Reduzierung der Kontamination kann erreicht werden durch:
- glatte Oberflächen von Wänden, Decken, Böden und Labortischen (die Glätte einer Oberfläche ist danach zu beurteilen, wie leicht diese zu reinigen ist). Gekachelte Labortischoberflächen sind nicht zu empfehlen.
  - konkave Verbindungsleisten zwischen Fußboden, Wand und Zimmerdecke .
  - Während der Arbeitsgänge sollte das Öffnen der Fenster und Türen auf ein Minimum beschränkt werden.
  - Sonnenschutz sollte an der Gebäudeaußenseite angebracht werden.
  - Sofern eine äußere Befestigung des Sonnenschutzes nicht möglich ist, sollten innen angebrachte Sonnenblenden zu Reinigungszwecken leicht zugänglich sein.
  - Flüssigkeitsführende Rohre sollten nicht über Arbeitsflächen geleitet werden, außer sie befinden sich in einem hermetisch geschlossenen Gehäuse.
  - Staubfilter sollten in die Luftzufuhr des Belüftungssystems eingesetzt werden.
  - Ein separates Handwaschsystem, das vorzugsweise nicht mit der Hand zu bedienen ist, sollte vorhanden sein.
  - Schränke sollten bis zur Zimmerdecke reichen.

- Rauhes oder unbehandeltes Holz sollte nicht verwendet werden.
- Bei der Anordnung von Lagergegenständen und Geräten ist auf eine einfache Reinigung zu achten.
- Mobiliar, Dokumente und Gegenstände, das bzw. die nicht absolut notwendig für die Prüfungen sind, sollte/n entfernt werden.

Diese Auflistung erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit und nicht alle der genannten Kriterien sind in jeder Situation anwendbar.

Idealerweise sollten die Raumdecken eine glatte Oberfläche mit bündig installierten Beleuchtungskörpern aufweisen. Lässt die Bauweise des Gebäudes dies nicht zu (wie im Fall von abgehängten Zimmerdecken und Hängelampen), sollte das Laboratorium den Nachweis erbringen, dass die daraus entstehenden Hygienrisiken unter Kontrolle sind und dass zu deren Ausschaltung wirksame Mittel vorhanden sind, wie z. B. eine Oberflächenreinigung und (Keim-)Überwachung.

- 3.1.7** Wenn die Laboratorien sich in Bereichen mit Fertigungsstätten befinden, muss das Personal Kenntnis vom Kontaminationspotential der Produktionsbereiche haben und es sollte darlegen, dass es entsprechende Maßnahmen getroffen hat, um ein derartiges Ereignis zu verhindern.

## **3.2 Umgebungsüberwachung**

- 3.2.1** Es sollte ein entsprechendes Programm zur Überwachung der Umgebung entwickelt werden einschließlich z. B. des Einsatzes von Luftkeimplatten und Abstrichproben von Oberflächen. Annehmbare Hintergrundwerte sollten festgelegt werden, und es sollte ein dokumentiertes Verfahren zum Umgang mit Situationen geben, in denen diese Grenzwerte überschritten werden. Die Datenanalyse sollte das Erkennen von Tendenzen beim Ausmaß der Kontamination ermöglichen.

## **3.3 Hygiene**

- 3.3.1** Es sollte ein dokumentiertes Reinigungsprogramm für die Laborausstattung, Ausrüstung und Oberflächen geben. Berücksichtigt werden sollten die Ergebnisse aus der Umgebungsüberwachung und die Möglichkeit der Kreuzkontamination. Es sollte ein Verfahren zum Umgang mit verschütteten Materialien vorhanden sein.
- 3.3.2** Es sollten Maßnahmen zur Verhinderung von Staubbelastungen getroffen werden, indem ausreichend Lagerraum geschaffen wird, indem so wenig wie möglich Schreiarbeiten im Laboratorium durchgeführt werden und indem Pflanzen und persönliches Eigentum in Laborarbeitsbereichen verboten werden.
- 3.3.3** Im mikrobiologischen Laboratorium sollte Kleidung (ggf. einschließlich Haar- und Bartschutz, Handschuhe, Schuhe etc.) getragen werden, die für die auszuführenden Untersuchungsarten geeignet ist und vor dem Verlassen des Prüfbereichs wieder abgelegt wird. Das ist insbesondere in Laboratorien für molekularbiologische Untersuchungen wichtig, wo z. B. Kreuzkontamination durch Umsetzen von einem Bereich mit hoher DNA-Belastung in einen Bereich mit niedriger DNA-Belastung unabsichtlich verursacht werden kann. In vielen Laboratorien kann ein Laborkittel ausreichend sein.

3.3.4 Entsprechende Möglichkeiten zum Hände waschen sollten vorhanden sein.

## 4 VALIDIERUNG VON PRÜFVERFAHREN

4.1 Die Validierung mikrobiologischer Prüfverfahren sollte unter tatsächlichen Prüfbedingungen erfolgen. Dies kann durch natürlich kontaminierte Produkte erreicht werden oder durch Produkte, die mit einem zuvor bestimmten Anteil an Mikroorganismen beimpft wurden. Der die Analyse durchführende Mitarbeiter sollte sich bewusst sein, dass das Zufügen kontaminierter Organismen zu einer Matrix nur oberflächlich das Vorhandensein natürlich vorkommender Kontaminationen nachahmt. Jedoch ist dies oft die beste und einzige Lösung. Das Ausmaß der erforderlichen Validierung hängt von dem Verfahren und der Anwendung ab.

Das Laboratorium muss Standardverfahren validieren, wenn es sie auf Matrices anwendet, die im Standardverfahren nicht spezifiziert sind.

4.2 Qualitative mikrobiologische Prüfverfahren, bei denen das Ergebnis als nachgewiesen/nicht nachgewiesen unter Einbeziehung von Bestätigungs- und Identifizierungsverfahren angegeben wird, sollten gegebenenfalls durch Abschätzen der Spezifität, der relativen Richtigkeit, der positiven Abweichung, der negativen Abweichung, der Detektionsgrenze, des Matrixeffekts sowie der Wiederhol- und Vergleichspräzision (Definitionen siehe Anhang A) validiert werden.

4.3 Bei quantitativen mikrobiologischen Prüfverfahren sollten Spezifität, Sensitivität, relative Richtigkeit, positive Abweichung, negative Abweichung, Wiederholpräzision, Vergleichspräzision und die Bestimmungsgrenze innerhalb einer vorgegebenen Variabilität betrachtet und gegebenenfalls experimentell quantifiziert werden. Werden verschiedene Probenarten untersucht, müssen durch die Matrices bedingte Unterschiede berücksichtigt werden. Zur Auswertung der Ergebnisse sollten geeignete statistische Verfahren eingesetzt werden.

4.4 Die Laboratorien müssen sämtliche Validierungsdaten zu kommerziellen Prüfsystemen (Kits), die im Laboratorium eingesetzt werden, aufbewahren. Diese Validierungsdaten können durch Ringversuche sowie durch Validierungsdaten, die vom Hersteller vorgelegt wurden und einer Bewertung durch Dritte (z. B. AOAC<sup>1</sup>) unterliegen, erhalten werden. Sind keine Validierungsdaten verfügbar bzw. nicht vollständig anwendbar, so hat das Laboratorium die Validierung des Verfahrens abzuschließen.

4.5 Wird verlangt, dass eine modifizierte Version eines Verfahrens die gleichen Spezifikationen wie das Originalverfahren erfüllt, dann sollten Vergleichsuntersuchungen mit Parallelproben durchgeführt werden, um dies sicher zu stellen. Versuchsplanung und Analyse der Ergebnisse müssen statistisch gesichert sein.

4.6 Selbst nach abgeschlossener vollständiger Validierung hat der Anwender noch stets zu verifizieren, dass die dokumentierte Leistungsfähigkeit erreicht wird, z. B. durch den Gebrauch von künstlich beimpften Proben oder Referenzmaterialien einschließlich zugehöriger Matrices.

---

<sup>1</sup> Association of Analytical Communities

## 5 MESSUNSICHERHEIT

- 5.1 Die internationale Definition des Begriffs Messunsicherheit ist in *ISO International vocabulary of basic and general terms in metrology*: 1993 (siehe Anhang B) beschrieben. Die von den europäischen Akkreditierungsstellen erwartete allgemeine Herangehensweise zur Ermittlung und Angabe der Messunsicherheit im Prüfwesen beruht auf den Empfehlungen des International Committee for Weights and Measures (CIPM), wie beschrieben im *Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement*, 1995, ISO Genf.
- 5.2 Mikrobiologische Untersuchungen fallen üblicherweise in die Kategorie, die eine strenge, metrologische und statistisch gesicherte Berechnung der Messunsicherheit ausschließt. Im allgemeinen kann die Schätzung der Unsicherheit allein auf die Daten aus der Wiederhol- und Vergleichspräzision gestützt werden, idealerweise allerdings unter Einbeziehung von Abweichungen (z. B. aus den Ergebnissen von Eignungsprüfungen). Die einzelnen Komponenten der Unsicherheit sollten identifiziert werden und es sollte nachgewiesen werden, dass sie unter Kontrolle stehen, und deren Beitrag zur Variabilität der Ergebnisse sollte bewertet werden. Einige Komponenten (z. B. Pipettierung, Wäge- und Verdünnungseffekte) können leicht gemessen und einfach bewertet werden, um nachzuweisen, dass sie einen vernachlässigbaren Beitrag zur Gesamtunsicherheit beisteuern. Andere Komponenten (z.B. Probenstabilität und Probenvorbereitung) sind nicht direkt messbar und ihr Beitrag kann statistisch nicht bewertet werden, aber ihre Wichtigkeit für die Variabilität der Ergebnisse sollte auch berücksichtigt werden.
- 5.3 Es wird erwartet, dass akkreditierte mikrobiologische Prüflaboratorien Kenntnisse über die Verteilung von Mikroorganismen innerhalb von Matrices, die sie untersuchen, haben und dies auch bei der Probenteilung berücksichtigen. Es wird jedoch nicht empfohlen, dass diese Komponente der Unsicherheit bei Schätzungen mit einbezogen wird, sofern die Bedürfnisse des Kunden dies nicht anderweitig vorschreiben. Die Hauptgründe dafür sind, dass die Unsicherheit aufgrund der Verteilung der Organismen innerhalb der Produktmatrix keine Funktion der Leistungsfähigkeit des Laboratoriums ist und bei einzelnen untersuchten Proben einmalig sein kann und weil die Prüfverfahren die zu verwendende Probengröße unter Berücksichtigung geringer Homogenität angeben sollten.
- 5.4 Das Konzept der Unsicherheit kann nicht direkt auf qualitative Prüfergebnisse, wie man sie z.B. bei reinen Nachweistests oder der Bestimmung von Merkmalen/Kriterien zur Identifizierung erhält, angewandt werden. Dennoch sollten einzelne Variabilitätsquellen, wie z. B. die gleichbleibende Qualität der Reagenzien und der Interpretation des die Analyse durchführenden Mitarbeiters, identifiziert werden und es sollte nachgewiesen werden, dass diese unter Kontrolle stehen. Außerdem sollte bei Untersuchungen, bei denen die Nachweisgrenze eine wichtige Eigenschaft für die Eignung des Verfahrens darstellt, die mit dem Inoculum verbundene Unsicherheit, die zur Bestimmung der Grenze verwendet wird, geschätzt und deren Bedeutung beurteilt werden. Laboratorien sollten Kenntnis haben von der Häufigkeit falsch positiver und falsch negativer Ergebnisse, die mit den qualitativen Tests, die sie verwenden, verbunden sind.

## 6 GERÄTE - WARTUNG, KALIBRIERUNG UND LEISTUNGSVERIFIZIERUNG

### ISO 17025, Abschnitt 5.5

---

Version 1.0 • Vom DAR-ATF am 24.04.2003 zur Anwendung empfohlen (EA-4/10 07/02 rev02)

Seite 11 von 31 Seiten

Übersetzung: DAR-Geschäftsstelle; Das englische Original bleibt die maßgebliche Fassung.  
Copyright DAR-Geschäftsstelle, BAM, Berlin - Nachdruck und Vertrieb nur mit Genehmigung des Herausgebers

Als Teil eines Qualitätsmanagementsystems wird von einem Laboratorium ein dokumentiertes Programm zur Wartung, Kalibrierung und Leistungsverifizierung seiner Geräte gefordert.

## **6.1 Wartung**

(Hinweise zur Wartung von Geräten können ISO 7218 entnommen werden.)

**6.1.1** Die Wartung notwendiger Geräte hat in festgelegten Abständen zu erfolgen, die von Faktoren wie der Einsatzhäufigkeit bestimmt werden. Es sind darüber detaillierte Aufzeichnungen zu führen. Beispiele zur Wartung von Geräten und Zeitabstände sind dem Anhang F zu entnehmen.

**6.1.2** Aufmerksamkeit sollte einer möglichen Kreuzkontamination gelten, die durch den Einsatz der Geräte entstehen kann, z. B.:

- sollte Einwegmaterial sauber und ggf. steril sein;
- sollten wieder verwendete Glasgeräte sorgfältig gereinigt und ggf. sterilisiert werden;
- sollten Laboratorien im Idealfall über einen separaten Autoklaven für die Dekontamination verfügen. Ein Laboratorium kann jedoch auch mit nur einem einzigen Autoklaven auskommen, vorausgesetzt, dass geeignete Vorsichtsmaßnahmen zur Trennung des Dekontaminationsbetriebs und des Sterilisationsbetriebs befolgt werden, und dass sowohl für den Autoklaveninnenraum als auch für das Äußere des Autoklaven eine dokumentierte Reinigungsanweisung vorhanden ist.

**6.1.3** Die Instandhaltung der nachfolgend genannten Geräte erfolgt in der Regel durch deren Reinigung und Wartung, durch deren Inspektion hinsichtlich einer Beschädigung und durch generelle Verifizierung und - wo relevant - durch Sterilisation:

- Allgemeine Gebrauchsgegenstände - Filtriergeräte, Glas- oder Kunststoffbehälter (Flaschen, Proberöhrchen), Petrischalen aus Glas oder Kunststoff, Instrumente für die Probenahme, Impfnadeln oder -ösen aus Platin, aus Chrom-Nickel-Stahl oder, als Einwegartikel, aus Kunststoff;
- Wasserbäder, Brutschränke, Sicherheitswerkbänke, Autoklaven, Homogenisatoren, Kühlschränke, Gefrierschränke;
- Volumetrische Geräte wie Pipetten, automatische Dispenser und Spiralplattengeräte.
- Messinstrumente wie Thermometer, Zeitschaltuhren, Waagen, pH-Meter, Kolonienzähler.

## **6.2 Kalibrierung und Verifizierung der Leistungsfähigkeit**

**6.2.1** Das Laboratorium muss ein Programm zur Kalibrierung und Verifizierung der Leistungsfähigkeit jener Geräte, die einen direkten Einfluss auf die Testresultate haben, erstellen. Die Häufigkeit, mit der eine derartige Kalibrierung und Verifizierung der Leistungsfähigkeit durchzuführen ist, wird von dokumentierten Erfahrungswerten

bestimmt und basiert auf dem Gebrauch, der Art und der bisherigen Leistungsfähigkeit der Geräte. Die Zeiträume zwischen Kalibrierung und Verifizierung sollen kürzer sein als die ermittelte Zeitdauer, in der Geräteeinstellungen außerhalb akzeptabler Grenzen driften. Beispiele zu Kalibrierzeiträumen und typischen Leistungsüberprüfungen sind in den Anhängen D und E für verschiedene Laborgeräte zusammengestellt.

### **6.2.2 Temperaturmessgeräte**

- (a) Hat die Temperaturmessung einen direkten Einfluss auf das Untersuchungsergebnis oder ist diese kritisch für die genaue Leistung der Geräte, so sollten die Temperaturmessinstrumente, wie z. B. Flüssigkeitsthermometer aus Glas, Thermoelemente, Platin-Widerstandsthermometer, die z. B. in Brutschränken und Autoklaven benutzt werden, von geeigneter Qualität sein, um die Spezifikation der Untersuchungsmethode zu erreichen.
- (b) Die Kalibrierung von Geräten muss auf nationale oder internationale Standards für Temperatur rückführbar sein. Wenn die Genauigkeit es zulässt, können Geräte verwendet werden, die nachweislich in Übereinstimmung mit einer entsprechenden und national oder international anerkannten Fertigungsspezifikation arbeiten (z. B. ISO 1770 für Flüssigkeitsthermometer aus Glas). Derartige Geräte können z. B. für die Überwachung von Lagerkühl- und -gefrierschränken und auch von Brutschränken und Wasserbädern verwendet werden, wenn die tolerierbaren Abweichung um die Zieltemperatur dies gestattet. Die Verifizierung der Leistung derartiger Geräte ist erforderlich.

### **6.2.3 Brutschränke, Wasserbäder, Sterilisatoren**

Die Stabilität der Temperatur, die Gleichmäßigkeit der Temperaturverteilung und die Zeitdauer, die benötigt wird, um Gleichgewichtsbedingungen in Brutschränken, Wasserbädern, Sterilisatoren und temperaturgeregelten Räumen zu erreichen, muss bei Inbetriebnahme ermittelt und aufgezeichnet werden, insbesondere im Hinblick auf typische Gebrauchssituationen (z. B. Lage, Zwischenraum und Höhe von übereinander geschichteten Petrischalen). Nach jeder größeren Reparatur oder Modifikation muss die Beibehaltung der bei der Erstvalidierung der Geräte aufgezeichneten Kenndaten überprüft und dokumentiert werden. Laboratorien müssen die Betriebstemperatur dieser Geräte überwachen und die Aufzeichnungen aufbewahren.

### **6.2.4 Autoklaven einschließlich Medienpreparatoren**

Die folgenden Ausführungen stellen kurz die erwartete Herangehensweise an die Kalibrierung und die Feststellung und Überwachung der Leistungsfähigkeit dar. Es wird jedoch anerkannt, dass eine quantitative Prüfung von Materialien und Gegenständen, die autoklaviert werden, die es ermöglicht, eine Variation zwischen und innerhalb der Chargen zu erkennen, auch eine gleichwertige Qualitätssicherung bieten kann.

- (a) Autoklaven sollten Zeit und Temperatur mit festgelegten erlaubten Abweichungen einhalten können. Geräte, die nur mit einem Druckmesser ausgestattet sind, sind nicht geeignet. Sensoren, die zur Regelung und Überwachung der Autoklaviervorgänge verwendet werden, erfordern eine Kalibrierung und die Leistungsfähigkeit von Zeitmessern muss überprüft werden.

- (b) Eine Erstvalidierung sollte Studien zur Leistungsfähigkeit (Studien zur räumlichen Temperaturverteilung) für jeden praxisnahen Arbeitsablauf und jede Beladungssituation beinhalten. Dieser Vorgang ist nach umfangreichen Reparaturen oder Modifikationen (z. B. Auswechslung des Temperaturfühlers oder der Steuereinheit, der Beladungseinheit, des Arbeitsablaufs) bzw. wo dies die Ergebnisse der Qualitätskontrolle an den Medien anzeigen, zu wiederholen. Genügend Temperaturfühler sollten innerhalb der Beladung (z. B. in Behältern, die mit Flüssigkeit bzw. einem Medium gefüllt sind) angeordnet sein, um Standortunterschiede nachweisen zu können. Bei Geräten zur Medienherstellung, bei denen eine gleichmäßige Erwärmung nicht anders nachgewiesen werden kann, wird der Einsatz von zwei Sensoren, einer neben dem Messfühler und einer entfernt davon, im allgemeinen als angebracht betrachtet. Validierung und Re-Validierung sollten die Aufwärm- und Abkühlzeiten sowie die Zeit bei der Sterilisationstemperatur berücksichtigen.
- (c) Es sollten klare Bedienungsanweisungen vorhanden sein, die sich auf Wärmeprofile stützen, die für den typischen Einsatz während der Validierung/Re-Validierung festgelegt sind. Annahme-/Ablehnkriterien sollten festgelegt und die Aufzeichnungen für die Betriebsweise der Autoklaven, einschließlich Temperatur und Zeit, für jeden Zyklus aufbewahrt werden.
- (d) Die Überwachung sollte durch eine der folgenden Möglichkeiten erfolgen:
  - (i) mittels Thermoelement und Schreiber zur Erstellung eines Diagramms oder Ausdrucks;
  - (ii) durch direkte Ablesung und Aufzeichnung der Maximaltemperatur sowie der Zeit, während der diese Temperatur gehalten wurde.

Zusätzlich zur direkten Ablesung der Autoklaventemperatur kann dessen Effektivität während jedes Betriebs mittels chemischer oder biologischer Indikatoren, die für Sterilisations-/Dekontaminationszwecke geeignet sind, überprüft werden. Autoklavierbänder oder Indikatorstreifen sollten nur verwendet werden, um nachzuweisen, dass das Material einen Autoklaviervorgang durchlaufen hat. Sie sollten nicht dazu dienen, die Vollständigkeit eines ordnungsgemäßen Autoklaviervorganges nachzuweisen.

### 6.2.5 Gewichte und Waagen

Gewichte und Waagen müssen in regelmäßigen Abständen (unter Berücksichtigung ihres vorgesehenen Gebrauchs) kalibriert werden und auf nationale/internationale Normale rückführbar sein.

### 6.2.6 Volumetrische Geräte

- (a) Volumetrische Geräte, wie z. B. automatische Dispenser, Dispenser/Verdünnungsgeräte, mechanische Handpipetten und Einwegpipetten dürfen alle im mikrobiologischen Laboratorium eingesetzt werden. Laboratorien sollten eine Eingangsprüfung der volumetrischen Geräte vornehmen sowie regelmäßige Überprüfungen durchführen, um die ordnungsgemäße Funktionsfähigkeit innerhalb der geforderten Spezifikationen sicher zu stellen. Glasgeräte, die innerhalb spezifischer Toleranzen zertifiziert wurden, bedürfen keiner Verifizierung. Eine Verifizierung der Geräte hat zu erfolgen, um die Übereinstimmung von abgemessenem und eingestelltem Volumen (für verschiedene Einstellungen bei Instrumenten mit variabel einstellbarem Volumen) zu gewährleisten und um die Genauigkeit unter Wiederholbedingungen zu ermitteln.
- (b) Volumetrische Einweggeräte sollten von Herstellern bezogen werden, die über ein anerkanntes und relevantes Qualitätsmanagementsystem verfügen. Nach einer bei Erstlieferung erfolgten Verifizierung der Geräte ist es ratsam, ihre Genauigkeit mittels Stichproben zu überprüfen. Hat der Hersteller kein anerkanntes Qualitätsmanagementsystem, sollten die Laboratorien die Geräte bei jeder Lieferung einer Eignungsprüfung unterziehen.

### 6.2.7 Weitere Geräte

Leitfähigkeitsmessgeräte, Sauerstoffmessgeräte, pH-Meter und weitere ähnliche Messinstrumente sollten entweder in regelmäßigem Turnus oder vor jedem Gebrauch verifiziert werden. Puffer, die zur Instrumentenkalibrierung eingesetzt werden, sollten unter geeigneten Bedingungen gelagert und mit ihrem Verfallsdatum versehen werden.

Wird das Untersuchungsergebnis durch Feuchtigkeit beeinflusst, so sollten Hygrometer kalibriert werden, wobei die Kalibrierung auf nationale/internationale Standards rückführbar ist.

Zeitmesser, einschließlich der Zeitschaltuhr des Autoklaven, sollten mittels eines geeichten Zeitmessers oder unter Verwendung des nationalen Zeitsignals verifiziert werden.

Bei der Verwendung von Zentrifugen in Prüfverfahren sollte eine Bewertung des kritischen Zustands der Zentrifugalkraft vorgenommen werden. Falls diese kritisch ist, ist die Zentrifuge zu kalibrieren.

## **7 REAGENZIEN UND KULTURMEDIEN**

### **ISO 17025, Abschnitte 4.6 und 5.5**

#### **7.1 Reagenzien**

Laboratorien sollten sicher stellen, dass die Qualität der eingesetzten Reagenzien für die betreffenden Prüfungen geeignet ist. Sie sollten eine Eingangsverifizierung jedes Produkts sowie eine Verifizierung während der Lagerzeit durch Einsatz positiver und negativer Kontrollorganismen, die auf anerkannte nationale oder internationale Kultursammlungen rückführbar sind, vornehmen.

#### **7.2 Intern hergestellte Medien**

**7.2.1** Die geeignete Qualität von Kulturmedien, Verdünnungsmitteln und anderen Suspensionsflüssigkeiten sollte, wo relevant, intern geprüft werden im Hinblick auf:

- Wiederfindung bzw. Überlebensfähigkeit der Zielorganismen,
- Hemmung oder Unterdrückung von Nicht-Zielorganismen;
- biochemische (differentielle und diagnostische) Eigenschaften,
- physikalische Eigenschaften (z. B. pH-Wert, Volumen und Sterilität).

Quantitative Verfahren zur Bewertung der Wiederfindung bzw. Überlebensfähigkeit sind vorzuziehen (siehe auch ISO 11133 Teil 1 und 2).

**7.2.2** Rohmaterialien (sowohl kommerziell dehydrierte Zubereitungen als auch einzelne Bestandteile) sollten entsprechend gelagert werden, z. B. kühl, trocken und dunkel. Alle Behälter, insbesondere jene, die dehydrierte Medien enthalten, sollten luftdicht verschlossen sein. Dehydrierte Medien, die Klumpen oder Risse aufweisen oder eine Farbveränderung aufzeigen, sollten nicht verwendet werden. Zur Herstellung der Medien sollte destilliertes, entionisiertes Wasser oder Wasser aus Umkehrosmoseanlagen, das frei von bakteriziden und wachstumshemmenden Substanzen ist, verwendet werden, es sei denn, die Prüfmethode schreiben etwas anderes vor.

**7.2.3** Die Lebensdauer von zubereiteten Medien unter genau festgelegten Lagerbedingungen muss bestimmt und überprüft werden.

#### **7.3 Gebrauchsfertige Medien**

**7.3.1** Alle Medien (und Verdünnungslösungen sowie andere Suspensionsflüssigkeiten), die gebrauchsfertig bezogen wurden bzw. teilweise fertig sind, müssen vor Gebrauch validiert werden. Die Bewertung der Leistungsfähigkeit bei der Wiederfindung oder der Überlebensfähigkeit der Zielorganismen sowie bei der Hemmung bzw. Unterdrückung von Nicht-Zielorganismen muss vollständig quantitativ sein; Merkmale (z. B. physikalische und biochemische Eigenschaften) sollten unter Verwendung von objektiven Kriterien bewertet werden.

**7.3.2** Als Teil der Validierung muss das Laboratorium über angemessenes Wissen zu den Qualitätsspezifikationen des Herstellers verfügen, die mindestens folgende Angaben enthalten:

- Name der Medien und Liste der Bestandteile, einschließlich aller Zusätze
- Lebensdauer und verwendete Annehmbarkeitskriterien
- Lagerungsbedingungen
- Art und Häufigkeit der Probenahme
- Kontrollen zur Sterilität
- Überprüfung des Wachstums der verwendeten Ziel- und Nicht-Zielorganismen (mit Angabe der Identifikationsnummer der Kultursammlung) sowie Annehmbarkeitskriterien
- Physikalische Überprüfungen und verwendete Annehmbarkeitskriterien
- Ausgabedatum der Spezifikation

**7.3.3** Medienchargen sollten identifizierbar sein. Jeder Charge ist eine Erklärung, dass die Spezifikationen erfüllt sind, beizulegen. Das Laboratorium sollte sicher stellen, dass es vom Hersteller über alle Änderungen bezüglich der Qualitätsspezifikation informiert wird.

**7.3.4** Wenn der Hersteller von Medien, die gebrauchsfertig bzw. teilweise fertig beschafft wurden, einem anerkannten Qualitätsmanagementsystem (z. B. ISO-9000-registriert) unterliegt, können Überprüfungen durch das Laboratorium zur Übereinstimmung der Lieferungen mit den Spezifikationen, die bei der Erstvalidierung definiert wurden, unter Annahme einer gleichbleibenden Qualität, angewandt werden. Unter anderen Umständen würden angemessene Überprüfungen jeder erhaltenen Charge notwendig sein.

## **7.4 Kennzeichnung**

Laboratorien müssen sicher stellen, dass alle Reagenzien (einschließlich der Stammlösungen), Medien, Verdünnungslösungen und andere Suspensionsflüssigkeiten in geeigneter Weise gekennzeichnet sind, so dass ihre Identität, ihre Konzentration, die Lagerbedingungen, das Herstellungsdatum, das Verfallsdatum und/oder der empfohlene Lagerzeitraum ersichtlich sind. Das für die Herstellung zuständige Personal sollte aus den Aufzeichnungen identifizierbar sein.

## **8 REFERENZMATERIALIEN UND REFERENZKULTUREN**

### **ISO 17025, Abschnitt 5.6.3**

#### **8.1 Referenzmaterialien**

Referenzmaterialien und zertifizierte Referenzmaterialien (siehe Definition in Anhang A) stellen ein wesentliches Mittel zur Rückführung von Messungen dar und werden zum Beispiel eingesetzt, um:

- die Richtigkeit von Ergebnissen zu belegen,
- Geräte zu kalibrieren,
- die Leistungsfähigkeit eines Laboratoriums zu überwachen,
- Verfahren zu validieren und
- die Vergleichbarkeit von Verfahren zu gestatten.

Wenn möglich, sollten Referenzmaterialien in geeigneten Matrices verwendet werden.

#### **8.2 Referenzkulturen**

**8.2.1** Referenzkulturen sind erforderlich, um die annehmbare Leistungsfähigkeit von Medien (einschließlich Testkits) festzulegen, um Verfahren zu validieren und um die laufende Leistungsfähigkeit zu begutachten/zu bewerten. Die Rückführbarkeit ist z. B. für die Festlegung der Leistungsfähigkeit von Medien bei der Validierungen von Testkits und Verfahren erforderlich. Zum Nachweis der Rückführbarkeit müssen Laboratorien, sofern erhältlich, Referenzstämme von Mikroorganismen einsetzen, die direkt aus einer anerkannten nationalen oder internationalen Sammlung stammen. Ersatzweise können kommerzielle Abkömmlinge von Referenzstämmen eingesetzt werden, wenn das Laboratorium nachgewiesen hat, dass sie für den Verwendungszweck alle relevanten Eigenschaften besitzen.

**8.2.2** In Anlehnung an ISO 11133-1 können Referenzstämme einmal angezogen werden, um Referenz-Stammkulturen zu erhalten. Reinheitsprüfungen und biochemische Tests sollten gegebenenfalls nebeneinander erfolgen. Es wird empfohlen, Referenz-Stammkulturen in Aliquots entweder tiefgefroren oder gefriergetrocknet zu lagern. Arbeitskulturen für die tägliche Laborarbeit sind bevorzugt direkt aus der Referenz-Stammkultur anzuziehen (siehe Anhang C zur Herstellung von Bakterienkulturen). Aufgetaute Referenz-Stammkulturen dürfen nicht wieder eingefroren und verwendet werden.

**8.2.3** Arbeitskulturen sollten nicht subkultiviert werden außer wenn es in einem Standardverfahren gefordert und genau festgelegt ist, oder wenn Laboratorien nachweisen können, dass es zu keinen Veränderungen bei den relevanten Eigenschaften kommt.

Arbeitskulturen sollten nicht subkultiviert werden, um Referenz-Stammkulturen zu ersetzen. Kommerzielle Abkömmlinge von Referenzstämmen dürfen nur als Arbeitskulturen verwendet werden.

## **9 PROBENAHE**

### **ISO 17025, Abschnitt 5.7**

- 9.1** In vielen Fällen sind Prüflaboratorien für die primäre Probenahme zum Erhalt von Probenmaterial nicht zuständig. Wenn sie zuständig sind, wird unbedingt empfohlen, dass diese Probenahme durch die Qualitätssicherung und idealerweise durch die Akkreditierung erfasst wird.
- 9.2** Transport und Lagerung sollten unter Bedingungen stattfinden, die die Unversehrtheit der Probe garantieren (z. B. gegebenenfalls gekühlt oder gefroren). Die Bedingungen sollten überwacht und die Aufzeichnungen aufbewahrt werden. Gegebenenfalls muss die Verantwortlichkeit für Transport, Lagerung zwischen der Zeit der Probenahme und der Ankunft beim Prüflaboratorium eindeutig dokumentiert sein. Die Untersuchung der Proben sollte so bald als möglich nach der Probenahme erfolgen und sollte den entsprechenden Normen und/oder nationalen/internationalen Regelungen entsprechen.
- 9.3** Die Probenahme sollte nur durch geschultes Personal erfolgen. Sie sollte unter sterilen Bedingungen und unter Verwendung steriler Ausrüstung erfolgen. Umgebungsbedingungen, wie z. B. Luftverschmutzung und Temperatur, sollten am Ort der Probenahme überwacht und aufgezeichnet werden. Der Zeitpunkt der Probenahme sollte aufgezeichnet werden.

## **10 HANDHABUNG UND IDENTIFIZIERUNG DER PROBEN**

### **ISO 17025, Abschnitte 5.7 und 5.8**

- 10.1** Die mikrobiologische Flora kann auf Faktoren wie Temperatur oder Lager- und Transportdauer empfindlich reagieren, so dass es wichtig ist, den Zustand der Probe beim Empfang durch das Laboratorium zu überprüfen und aufzuzeichnen.
- 10.2** Das Laboratorium sollte über Verfahren verfügen, die die Probenanlieferung und -identifizierung regeln. Wenn die Probe infolge physischer Beschädigung, unvorschriftsmäßiger Temperatur, beschädigter Verpackung oder mangelhafter Kennzeichnung unzulänglich oder in einem schlechten Zustand ist, sollte das Laboratorium den Kunden benachrichtigen, bevor es eine Entscheidung zur Prüfung oder Ablehnung der Probe trifft. Auf jeden Fall sollte der Zustand der Probe im Prüfbericht angegeben werden.
- 10.3** Das Laboratorium sollte alle relevanten Informationen aufzeichnen, insbesondere folgende Angaben:
- (a) Eingangsdatum, gegebenenfalls mit Uhrzeit;
  - (b) Zustand der Probe beim Eingang sowie Temperatur, wenn erforderlich;
  - (c) Daten zur Durchführung der Probenahme (Datum der Probenahme, Probenahmebedingungen, etc.).
- 10.4** Proben zur Prüfung, müssen unter geeigneten Bedingungen gelagert werden, um Veränderungen der Mikroorganismen zu minimieren. Die Lagerbedingungen sollten genau festgelegt und aufgezeichnet werden.

- 10.5** Das Verpackungsmaterial und die Etiketten der Proben können möglicherweise stark kontaminiert sein und sollten daher mit Sorgfalt gehandhabt und gelagert werden, um eine Ausbreitung der Kontaminanten zu verhindern.
- 10.6** Die Entnahme von Teilproben durch das Laboratorium unmittelbar vor der Untersuchung wird als Teil des Untersuchungsverfahrens betrachtet. Sie sollte nach nationalen oder internationalen Normen, falls vorhanden, oder durch validierte hausinterne Methoden erfolgen. Verfahren zur Entnahme von Teilproben, die die ungleichmäßige Verteilung der Mikroorganismen berücksichtigen, sollten entwickelt werden (eine allgemeine Anleitung wird in ISO 6887 und ISO 7218 gegeben).
- 10.7** Für die Aufbewahrung und Beseitigung der Proben ist eine schriftliche Verfahrensanweisung festzulegen. Proben sollten gelagert werden, bis die Ergebnisse vorhanden sind, oder auch länger, wenn gefordert. Proben, von denen bekannt ist, dass sie stark kontaminiert sind, sind vor ihrer Entsorgung zu dekontaminieren (siehe 11.1).

## **11 ENTSORGUNG KONTAMINierter ABFÄLLE**

- 11.1** Die korrekte Beseitigung kontaminierter Abfälle hat keine direkte Auswirkung auf die Qualität der Analyse, obgleich die Verfahren so gestaltet sein sollten, dass sie die Möglichkeit einer Kontamination der Prüfumgebung oder des Prüfmaterials gering halten. Sie ist jedoch ein Ausdruck guter Laborführung und sollte in Übereinstimmung mit nationalen/internationalen Umwelt-, Gesundheits- und Sicherheitsbestimmungen erfolgen (siehe auch ISO 7218).

## **12 QUALITÄTSSICHERUNG DER ERGEBNISSE/QUALITÄTSKONTROLLE DER LEISTUNG**

### **ISO 17025, Abschnitt 5.9**

#### **12.1 Interne Qualitätskontrolle**

- 12.1.1** Interne Qualitätskontrolle beinhaltet alle Verfahren, die ein Laboratorium für die kontinuierliche Bewertung seiner Arbeit ausführt. Hauptziel ist es, die Stetigkeit der täglichen Ergebnisse und deren Konformität mit vorher festgelegten Kriterien sicher zu stellen.
- 12.1.2** Ein Programm zur regelmäßigen Überprüfung ist notwendig um nachzuweisen, dass Schwankungen unter Kontrolle sind (z. B. unter den die Analyse durchführenden Mitarbeitern und zwischen der Ausrüstung und dem Material etc.). Alle Prüfungen innerhalb des Akkreditierungsbereichs des Laboratoriums müssen mit einbezogen werden. Das Programm kann beinhalten:
- Einsatz gespikter Proben
  - Einsatz von Referenzmaterialien (einschließlich Ringversuchsmaterialien )
  - Wiederholungsprüfungen
  - Wiederholungsbewertung der Prüfergebnisse

Der Zeitraum zwischen diesen Überprüfungen wird durch den Aufbau des Programms und durch die Anzahl der tatsächlichen Prüfungen beeinflusst. Es wird empfohlen, dass, wo möglich, die Prüfungen Kontrollen zur Leistungsüberwachung beinhalten.

- 12.1.3** Unter besonderen Umständen kann ein Laboratorium für eine Prüfung akkreditiert werden, die nur selten durchgeführt wird. Es wird anerkannt, dass in solchen Fällen ein laufendes internes Programm zur Qualitätskontrolle ungeeignet sein kann und dass ein Vorgehen zum Nachweis einer zufriedenstellenden Leistung, das parallel zur Prüfung durchgeführt wird, angemessener sein mag.

## **12.2 Externe Qualitätsbewertung (Eignungsprüfung)**

- 12.2.1** Laboratorien sollten regelmäßig an Ringversuchen, die den Geltungsbereich ihrer Akkreditierung betreffen, teilnehmen. Vorzugsweise sollten Ringversuche gewählt werden, die entsprechende Matrices verwenden. Unter besonderen Umständen kann die Teilnahme verpflichtend sein.

- 12.2.2** Laboratorien sollten externe Qualitätsbewertungen nicht nur zur Bewertung der Abweichungen des Laboratoriums verwenden, sondern auch um die Wirksamkeit des gesamten Qualitätsmanagementsystems zu begutachten.

## **13 PRÜFBERICHTE**

### **ISO 17025, Abschnitt 5.10**

- 13.1** Falls das Ergebnis der Auszählung negativ ist, sollte es wie folgt angegeben werden „für eine bestimmte Einheit nicht nachgewiesen“ oder „unter der Nachweisgrenze für eine bestimmte Einheit“. Das Ergebnis sollte nicht angegeben werden mit „Null für eine bestimmte Einheit“, es sei denn es handelt sich um eine gesetzliche Anforderung. Qualitative Prüfergebnisse sollten wie folgt angezeigt werden: „in einer bestimmten Menge/einem bestimmten Volumen nachgewiesen/nicht nachgewiesen“. Sie können ebenfalls ausgedrückt werden als „weniger als eine bestimmte Anzahl von Organismen für eine bestimmte Einheit“, wenn die bestimmte Anzahl der Organismen die Nachweisgrenze des Verfahrens übersteigt und dies mit dem Kunden abgestimmt ist.
- 13.2** Wenn eine Abschätzung der Unsicherheit des Prüfergebnisses im Prüfbericht angegeben wird, müssen alle Grenzen (insbesondere wenn die Schätzung nicht die Komponente enthält, die durch die Verteilung der Mikroorganismen innerhalb der Probe hervorgerufen wird) dem Kunden deutlich dargelegt werden.

## Anhang A

### Kalibrierung

## Glossar

Tätigkeiten zur Ermittlung des Zusammenhangs zwischen den ausgegebenen Werten eines Messgerätes oder einer Messeinrichtung oder den von einer Maßverkörperung oder von einem Referenzmaterial dargestellten Werten und den zugehörigen, durch Normale festgelegten Werten einer Messgröße unter vorgegebenen Bedingungen

### ANMERKUNGEN

1 Das Ergebnis einer Kalibrierung erlaubt entweder die Zuordnung der Werte der Messgröße zur Anzeige oder die Ermittlung von Korrekturen für die Anzeige

2 Durch eine Kalibrierung können auch andere metrologische Merkmale wie die Wirkung von Einflussgrößen ermittelt werden

3 Das Ergebnis einer Kalibrierung kann in einem Dokument festgehalten werden, das auch Kalibrierschein oder Kalibrierbericht genannt wird.

[VIM: 1993 ISO International vocabulary of basic and general terms in metrology].

### Zertifiziertes Referenzmaterial

Referenzmaterial mit Zertifikat, von dem ein Merkmalswert oder mehrere Merkmalswerte zertifiziert sind durch ein Verfahren, mit dem die Rückführbarkeit auf diejenige Einheit, in der der Merkmalswert bzw. die Merkmalswerte ausgedrückt wird bzw. werden, belegt werden kann, und für das jeder zertifizierte Wert mit einer Unsicherheit angegeben wird, die einem bestimmten Vertrauensbereich entspricht.

[ISO Guide 30:1992 Terms and definitions used in connection with reference materials]

### Bestimmungsgrenze

Anwendbar auf quantitative mikrobiologische Prüfungen - Die geringste Anzahl von Organismen, die innerhalb einer vorgegebenen Variabilität unter den experimentellen Bedingungen des eingesetzten Verfahrens bestimmt werden kann.

### Nachweisgrenze

Anwendbar auf qualitative mikrobiologische Prüfungen - Die geringste Anzahl von Mikroorganismen, die nachgewiesen werden können, deren Zahlenwert jedoch nicht exakt bestimmbar ist.

### Negative Abweichung

Tritt auf, wenn das Alternativverfahren ein nicht bestätigtes negatives Resultat ergibt und das Referenzverfahren zu einem positiven Ergebnis führt. Diese Abweichung führt zum falsch-negativen Resultat, wenn nachgewiesen ist, dass das richtige Ergebnis positiv ist.

<b>Positive Abweichung</b>	Tritt auf, wenn das Alternativverfahren ein nicht bestätigtes positives Resultat ergibt und das Referenzverfahren zu einem negativen Ergebnis führt. Diese Abweichung wird zum falsch-positiven Resultat, wenn nachgewiesen wird, dass das richtige Ergebnis negativ ist.
<b>Referenzkulturen</b>	Kollektiver Begriff für Referenzstämme, Referenzstammkulturen und Arbeitskulturen
<b>Referenzstämme</b>	Mikroorganismen, die mindestens auf Gattungs- und Artenebene definiert sind, die katalogisiert und nach ihren Merkmalen beschrieben sind, möglichst unter Angabe ihrer Herkunft.  [ISO 11133-1:2000] Üblicherweise erhältlich von einer nationalen oder internationalen Sammlung.
<b>Referenzmaterial</b>	Material oder Substanz von dem/der eine Eigenschaft oder mehrere Eigenschaften ausreichend homogen und so gut gesichert ist bzw. sind, dass sie für die Kalibrierung von Messgeräten, die Beurteilung einer Messmethode oder die Zuweisung von Werten zu Materialien verwendet werden kann bzw. können.  [ISO Guide 30:1992]
<b>Referenzmethode</b>	Genauestens untersuchte Methode, die klar und exakt die notwendigen Bedingungen und Verfahrensweisen zur Messung eines oder mehrerer Merkmalswerte beschreibt, von der erwiesen ist, dass sie eine ihrer vorgesehenen Verwendung entsprechende Richtigkeit und Genauigkeit besitzt, und die daher dazu eingesetzt werden kann, die Richtigkeit anderer Methoden in Bezug auf die gleiche Messung zu bewerten, insbesondere durch ihren Einsatz zur Charakterisierung eines Referenzmaterials.
<b>Referenzstammkulturen</b>	Eine Reihe von einzelnen identischen Kulturen, die von einer Subkultur aus dem Referenzstamm erhalten wurden. [ISO 11133-1:2000]
<b>Relative Richtigkeit</b>	Das Maß für den Grad der Übereinstimmung zwischen den Resultaten der zu bewertenden Methode und jenen, die mit einer anerkannten Referenzmethode erhalten wurden.
<b>Wiederholpräzision</b>	Bezeichnet das Ausmaß der gegenseitigen Annäherung von Resultaten, die durch aufeinanderfolgende Messungen derselben Messgröße unter identischen Messbedingungen erhalten werden. [VIM: 1993 ISO International vocabulary of basic and general terms in metrology]

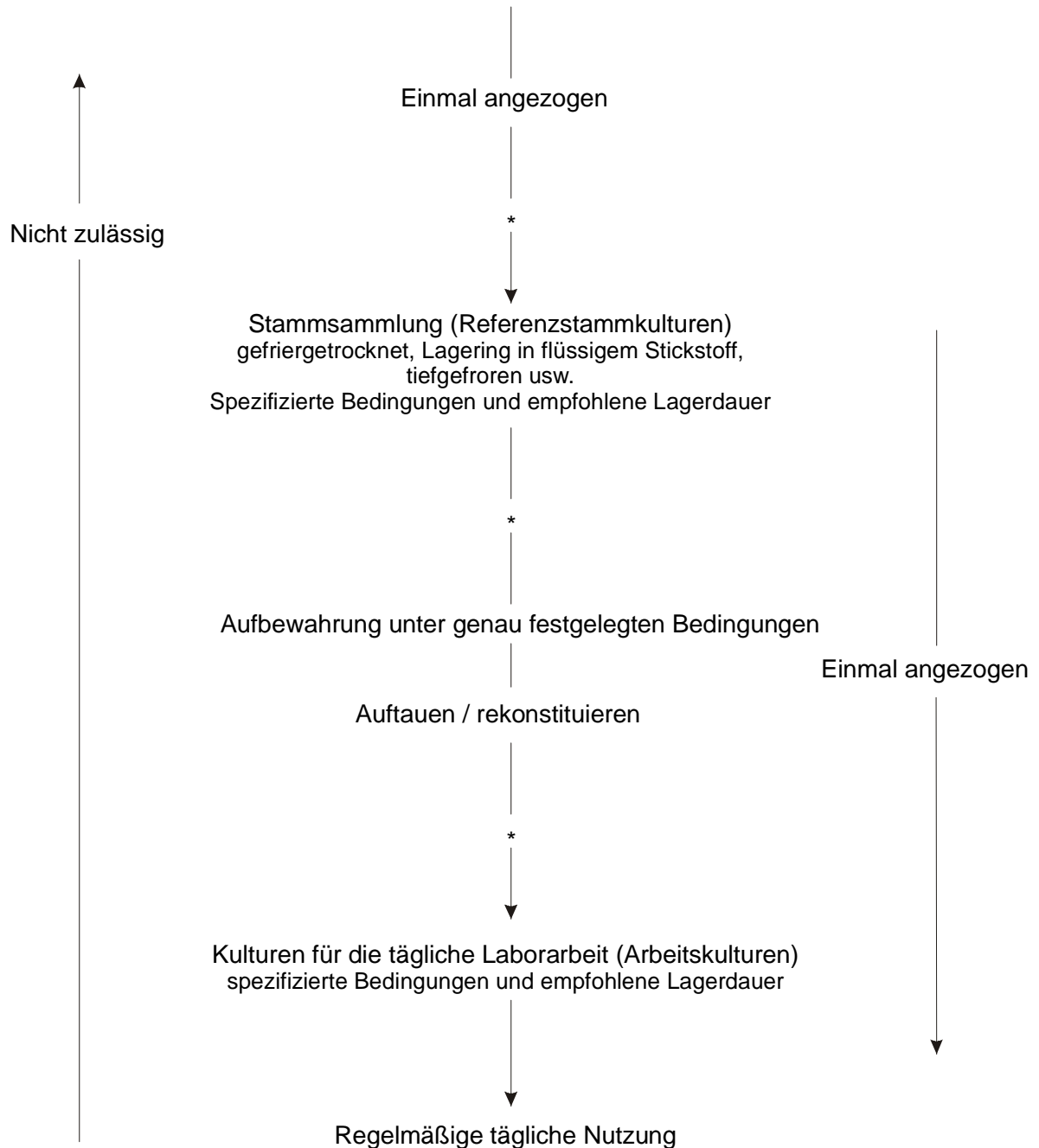
<b>Vergleichspräzision</b>	Ausmaß der gegenseitigen Annäherung zwischen Messergebnissen derselben Messgröße, gewonnen unter veränderten Messbedingungen [VIM: 1993 ISO International vocabulary of basic and general terms in metrology]
<b>Empfindlichkeit</b>	Anteil positiver Kulturen oder Kolonien an der Gesamtzahl die in der vorläufigen Untersuchung korrekt zugeordnet wurden. [ISO 13843:2000]
<b>Spezifität</b>	Anteil negativer Kulturen oder Kolonien an der Gesamtzahl, die in der vorläufigen Untersuchung korrekt zugeordnet wurden. [ISO 13843:2000]
<b>Arbeitskulturen</b>	Eine primäre Subkultur, die von einer Referenzstammkulturen angezogen wurde. [ISO 11133-1:2000]
<b>Validierung</b>	Bestätigung durch Bereitstellung eines objektiven Nachweises, dass die Anforderungen für einen spezifischen beabsichtigten Gebrauch oder eine spezifische beabsichtigte Anwendung erfüllt worden sind. [ISO 9000:2000]
<b>Verifizierung</b>	Bestätigung durch Bereitstellung eines objektiven Nachweises, dass festgelegte Anforderungen erfüllt worden sind. [ISO 9000:2000]

1. ISO/IEC 17025, General requirements for the competence of testing and calibration laboratories
2. IOS 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs - General rules for microbiological examinations
3. ISO 6887-1, Preparation of dilutions
4. ISO Guide 30, Terms and definitions used in connection with reference materials
5. ISO 999, Quality management systems - fundamentals and vocabulary
6. VIM: 1993, ISO international vocabulary of basic and general terms in metrology
7. ISO (CIPM):1995, Guide to the expression of uncertainty in measurements
8. Draft ISO/DIS 16140, Food microbiology. Protocol for the validation of alternative methods
9. ISO 13843, Water quality - Guidance on validation of microbiological methods.
10. ISO 11133-1, Microbiology of food and animal feeding stuffs. Guidelines on preparation and production of culture media. Part 1 - General guidelines on quality assurance for the preparation of media in the laboratory
11. Draft ISO/FDIS 11133-2, Microbiology of food and animal feeding stuffs. Guidelines on preparation and production of culture media. Part 2 - Practical guidelines on performance testing on culture media
12. EN 12741, Biotechnology - Laboratories for research, development and analysis - Guidance for biotechnology laboratory operations

## Anhang C

## Allgemeiner Einsatz von Referenzkulturen

Referenzstamm der aus einer von der Akkreditierungsstelle akzeptierten Quelle kommt.



\* Gegebenenfalls Reinheitstests und biochemische Tests

Jede Phase dieses Ablaufs muss vollständig dokumentiert werden und es sind detaillierte Aufzeichnungen über alle Stadien zu führen.

## Anhang D

## Leitfaden zur Kalibrierung und Nachprüfung

Diese Angaben können als Leitfaden dienen. Die Häufigkeit ist abhängig von der jeweiligen Notwendigkeit, vom Typ und von der bisherigen Leistungsfähigkeit der Geräte.

Gerät	Anforderung	vorgeschlagene Häufigkeit
Referenzthermometer (Flüssigkeitsthermometer)	Vollständig rückführbare Rekalibrierung Punktkalibrierung (z. B. Gefrierpunkt)	alle 5 Jahre jährlich
Referenzthermoelement	Vollständig rückführbare Rekalibrierung Abgleich mit Referenzthermometer	alle 3 Jahre jährlich
Arbeitsthermometer & Arbeitsthermoelement	Abgleich mit Referenzthermometer am Gefrierpunkt und/oder Arbeitstemperaturbereich	jährlich
Waagen	Vollständig rückführbare Kalibrierung	jährlich
Kalibriergewichte	Vollständig rückführbare Kalibrierung	alle 5 Jahre
Prüfgewicht(e)	Abgleich mit kalibriertem Gewicht oder auf der Waage direkt nach der rückführbaren Kalibrierung	jährlich
Volumetrische Glasgeräte	Gravimetrische Kalibrierung auf die erforderliche Toleranz	jährlich
Mikroskope	Rückführbare Kalibrierung der Mikrometerschraube (wo angebracht)	bei Inbetriebnahme
Hygrometer	Rückführbare Kalibrierung	jährlich
Zentrifugen	Rückführbare Kalibrierung oder Abgleich mit einem unabhängigen Tachometer, wie jeweils anwendbar	jährlich

Diese Angaben können als Leitfaden dienen. Die Häufigkeit ist abhängig von der jeweiligen Notwendigkeit, dem Typ und der bisherigen Leistungsfähigkeit der Geräte.

Gerät	Anforderung	vorgeschlagene Häufigkeit
Temperaturgeregelte Geräte (Brutschränke, Bäder, Kühlschränke, Gefrierschränke)	(a) Nachweis der Temperaturstabilität und ihrer gleichförmigen Verteilung (b) Temperatur überwachen	(a) bei Inbetriebnahme, alle zwei Jahre und nach Reparatur/Modifikation (b) täglich / bei jedem Gebrauch
Sterilisatoren	(a) Nachweis der Temperaturstabilität und ihrer gleichförmigen Verteilung (b) Temperatur überwachen	(a) bei Inbetriebnahme, alle zwei Jahre und nach Reparatur / Modifikation (b) bei jedem Gebrauch
Autoklaven	(a) Charakteristika ermitteln für typische Beladung / typischen Betriebszyklus (b) Temperatur / Zeit überwachen	(a) bei Inbetriebnahme und nach Reparatur / Modifikation (b) bei jedem Gebrauch
Sicherheitswerkbänke	(a) Leistungsfähigkeit ermitteln (b) Überwachung durch Partikelzählung (c) Überwachung der Luftströmung	(a) bei Inbetriebnahme und nach Reparatur / Modifikation (b) wöchentlich (c) nach jedem Gebrauch
Sicherheitswerkbänke mit laminarer Luftströmung	(a) Leistungsfähigkeit ermitteln (b) Überprüfung mit Sterilplatten	(a) bei Inbetriebnahme und nach Reparatur / Modifikation (b) wöchentlich
Zeitmesser	Abgleich mit nationalem Zeitsignal	jährlich
Mikroskope	Einstellung überprüfen	täglich / bei jedem Gebrauch
pH-Meter	Einstellen unter Verwendung von mindestens zwei Pufferlösungen von entsprechender Qualität	täglich / bei jedem Gebrauch
Waagen	Nullpunkt und Prüfgewicht überprüfen	täglich / bei jedem Gebrauch
Reinstwassersysteme für die Entionisierung und Umkehrosmose	(a) Leitfähigkeit überprüfen (b) Kontamination mit Mikroorganismen überprüfen	(a) wöchentlich (b) monatlich
Gravimetrische Verdün-	(a) Gewicht und Dosiervolu-	(a) täglich

nungsgeräte	men (Dosiergewicht) überprüfen (b) Überprüfung des Verdünnungsverhältnisses	(b) täglich
Mediendispenser	Überprüfung des Dosiervolumen	bei jeder Einstellung oder jedem Ersatz
Pipettierhilfen / Pipetten	Überprüfung der Richtigkeit und Genauigkeit des Dosiervolumens	regelmäßig (unter Berücksichtigung der Gebrauchshäufigkeit und der Verwendungsart)
Spiralplattengerät	(a) Leistungsfähigkeit gegenüber konventioneller Methode ermitteln (b) Überprüfung des Zustands der Nadel und der Anfangs- und Endpunkte (c) Überprüfung des Dosiervolumens	(a) bei Inbetriebnahme, dann jährlich  (b) täglich / bei jedem Gebrauch  (c) monatlich
Kolonienzähler	Abgleich mit der manuellen Zählung	jährlich
Zentrifugen	Abgleich mit kalibriertem und unabhängigem Tachometer	jährlich
Anaerobentöpfe / Brutschränke	O <sub>2</sub> -Indikator	bei jedem Gebrauch
Laborumgebung	Beobachtung der Luft- und Oberflächenkontamination mittels z. B. Luftkeimsammler, Luftplatten, Kontaktplatten oder Abstrichen	wöchentlich

## Anhang F

## Leitfaden zur Instandhaltung

Diese Angaben können als Leitfaden dienen. Die Häufigkeit ist abhängig von der jeweiligen Notwendigkeit, dem Typ und der bisherigen Leistungsfähigkeit der Geräte.

Gerät	Anforderung	vorgeschlagene Häufigkeit
(a) Brutschränke (b) Kühlschränke (c) Gefrierschränke, Sterilisatoren	Reinigung und Desinfektion der Innenflächen	(a) monatlich (b) wenn erforderlich (z. B. alle drei Monate) (c) wenn erforderlich (z. B. jährlich)
Wasserbäder	Leeren, reinigen, desinfizieren und wieder auffüllen	monatlich oder halbjährlich, falls ein Biozid benutzt wird
Zentrifugen	(a) Kundendienst (b) reinigen und desinfizieren	(a) jährlich (b) bei jedem Gebrauch
Autoklaven	(a) optische Überprüfung der Dichtung, reinigen und trocken wischen (b) Generalüberholung (c) Sicherheitsprüfung der Druckkammer	(a) regelmäßig, laut Herstellerempfehlung (b) jährlich oder laut Herstellerempfehlung (c) jährlich oder laut Herstellerempfehlung
Sicherheitswerkbänke Werkbänke mit laminarer Luftströmung	Kundendienst und Überprüfung der Mechanik	jährlich oder laut Herstellerempfehlung
Mikroskope	Generalüberholung	jährlich
pH-Meter	Elektrode reinigen	bei jedem Gebrauch
Waagen, gravimetrische Verdünnungsgeräte	(a) Reinigung (b) Kundendienst	(a) bei jedem Gebrauch (b) jährlich
Destillationsapparate	Reinigung und Entkalkung	nach Bedarf (z. B. alle drei Monate)
Reinstwassersysteme für die Entionisierung, Umkehrosmose	Kartusche/Membran austauschen	nach Empfehlung des Herstellers
Anaerobentöpfe	reinigen/desinfizieren	nach jedem Gebrauch
Mediendispenser, volumetrische Geräte, Pipetten und allgemeine Gebrauchsgegenstände	dekontaminieren, reinigen und gegebenenfalls sterilisieren	bei jedem Gebrauch
Spiralplattengeräte	(a) Kundendienst (b) dekontaminieren, reinigen und sterilisieren	(a) jährlich (b) bei jedem Gebrauch

Gerät	Anforderung	vorgeschlagene Häufigkeit
Laboratorium	(a) Reinigen und desinfizieren der Arbeitsflächen (b) Reinigen der Böden, desinfizieren der Ausgüsse und der Waschbecken (c) Reinigen und desinfizieren anderer Flächen	(a) täglich und während der Benutzung (b) wöchentlich (c) alle drei Monate