

Prüfung der Homogenisierungsleistung des Inlabtec Serial Diluters

1 Einleitung

Dieses Verfahren beurteilt die Homogenisierungsleistung des Serial Diluters. Dazu werden die Keimzahlen vor und nach einer zusätzlichen manuellen Durchmischung desselben Beutelinhalts verglichen. Eine zusätzliche Durchmischung ohne relevante Veränderung weist auf eine ausreichende automatische Homogenisierung unter den geprüften Bedingungen hin.

Geräte, die Prüfergebnisse beeinflussen können, müssen vor ihrem Einsatz in einem akkreditierten Labor verifiziert werden. Für die Erstverifizierung werden parallele Aliquote derselben homogenisierten Probe sowohl mit dem Serial Diluter als auch mit der bisher im Labor etablierten Methode zur Herstellung der Verdünnungsreihe unter ansonsten identischen Bedingungen untersucht.

Dieses interne Verfahren unterstützt die Erstverifizierung und die anschliessende regelmässige Beurteilung der Homogenisierungsleistung gemäss ISO 7218:2024, Abschnitt 6.4.4.4. Das konkrete Verfahren und das Akzeptanzkriterium sind interne Festlegungen und werden von der Norm nicht vorgegeben. Bei regelmässigen Beurteilungen vermeidet das Verfahren, dass die bisher im Labor etablierte Methode zur Herstellung der Verdünnungsreihe ausschliesslich zu Vergleichszwecken weitergeführt werden muss. Da diese Methode nicht mehr routinemässig angewendet wird, könnte ihre Reaktivierung nur für periodische Vergleiche zusätzliche Variabilität und ein erhöhtes Fehlerrisiko mit sich bringen und dadurch die Zuverlässigkeit des Vergleichs verringern. Das Labor legt daher auf Grundlage des vorgesehenen Verwendungszwecks und eines risikobasierten Ansatzes fest, wie dieses interne Verfahren angewendet wird, einschliesslich Anwendungsbereich, repräsentativer Prüfbedingungen, Akzeptanzkriterien und Überwachungsintervalle.

Die Mischergeschwindigkeit und die Mischdauer können zusätzlich mithilfe des Beschleunigungssensors eines Smartphones überprüft werden. Dies liefert einen indirekten Nachweis für die korrekte mechanische Funktion des Mixers, ersetzt jedoch nicht die hier beschriebene mikrobiologische Beurteilung (siehe «Prüfung der mechanischen Funktion des Mixers des Inlabtec Serial Diluters»).

Erfolgreiche Ergebnisse aus Ringversuchen liefern weitere Nachweise für die Eignung des Geräts innerhalb des gesamten Untersuchungsverfahrens und für die fortlaufende Beherrschung der Methode durch das Labor unter den beurteilten Bedingungen.

2 Prinzip

Nach Abschluss der Verdünnungsreihe, die aus einer 1:10-Erstverdünnung der Probe hergestellt wurde, werden ausgewählte Verdünnungsstufen unmittelbar nach der automatischen Homogenisierung ausplattiert. Anschliessend wird der nahezu gesamte verbleibende Beutelinhalt in eine sterile 10-mL-Pipette aufgezogen und mit gleichmässiger Geschwindigkeit zurück in denselben Beutel abgegeben. Die Strömung durch die Pipette

sowie der dadurch entstehende Flüssigkeitsstrahl und die Umwälzung bewirken eine zusätzliche Durchmischung. Danach werden die Verdünnungsstufen erneut ausplattiert. Verändert sich die Keimzahl nicht relevant, gilt die automatische Homogenisierung unter den geprüften Bedingungen als ausreichend.

Da die Ergebnisse vor und nach der zusätzlichen Durchmischung aus derselben Verdünnung im selben Beutel stammen, ermöglicht das Verfahren eine einfache und gezielte Beurteilung der Homogenisierungsleistung. Andere Faktoren, welche die Bestimmung der Keimzahl beeinflussen, bleiben weitgehend konstant.

3 Zusätzlich benötigte Materialien

- Sterile 10-mL-Pipetten für die manuelle Durchmischung
- Zusätzliche Nährmedien

4 Durchführung

4.1 Verdünnungsreihe und erste Ausplattierung

- Probe gemäss der anzuwendenden Untersuchungsmethode vorbereiten.
- Verdünnungsreihe mit dem Serial Diluter herstellen.
- Geeignete Verdünnungsstufen unmittelbar nach der automatischen Homogenisierung ausplattieren.
- Platten mit «vor zusätzlicher Durchmischung» beschriften.

4.2 Zusätzliche manuelle Durchmischung

- Den verbleibenden Inhalt der zu prüfenden Verdünnungsbeutel einmal möglichst vollständig in eine sterile 10-mL-Pipette aufziehen und mit gleichmässiger Geschwindigkeit vollständig in denselben Beutel zurückgeben.

Beim Aufziehen und Abgeben Schaumbildung, Flüssigkeitsverlust und Kontamination vermeiden.

Wenn mehrere Verdünnungsstufen geprüft werden, mit der höchsten Verdünnung, d. h. der niedrigsten Mikroorganismenkonzentration, beginnen. Anschliessend dieselbe Pipette für jede nachfolgend niedrigere Verdünnungsstufe verwenden und den Vorgang wiederholen. Vor dem Wechsel zur nächsten Verdünnungsstufe den Inhalt der Pipette vollständig abgeben.

Diese Reihenfolge minimiert die Verschleppung höherer Mikroorganismenkonzentrationen in stärker verdünnte Proben und ermöglicht die effiziente Verwendung derselben Pipette innerhalb einer Verdünnungsreihe. Für jede neue Probe oder unabhängige Verdünnungsreihe eine neue sterile Pipette verwenden.

4.3 Zweite Ausplattierung

- Die zusätzlich durchmischten Verdünnungsstufen unmittelbar erneut ausplattieren.
- Dasselbe Ausplattievolumen und dasselbe Ausplattierverfahren wie bei der ersten Ausplattierung verwenden.
- Platten mit «nach zusätzlicher Durchmischung» beschriften und alle Platten unter identischen Bedingungen inkubieren.

5 Auswertung

Die Keimzahlen vor («Vorher») und nach («Nachher») der zusätzlichen Durchmischung gemäss der anzuwendenden Untersuchungsmethode in KBE/mL oder KBE/g berechnen. Für die Auswertung dürfen nur Ergebnisse innerhalb des in der anzuwendenden Untersuchungsmethode festgelegten auswertbaren Koloniezahlbereichs verwendet werden.

Die absolute logarithmische Differenz wird wie folgt berechnet:

$$\Delta \log_{10} = |\log_{10}(\text{Nachher}) - \log_{10}(\text{Vorher})|$$

Alternativ kann das Verhältnis berechnet werden:

$$\text{Faktor} = \text{höheres Ergebnis} \div \text{niedrigeres Ergebnis}$$

Berechnungsbeispiel

$$\text{Vorher} = 1,2 \times 10^4 \text{ KBE/mL}$$

$$\text{Nachher} = 1,8 \times 10^4 \text{ KBE/mL}$$

$$\text{Faktor} = 1,8 \times 10^4 \div 1,2 \times 10^4 = 1,5$$

$$\Delta \log_{10} = |\log_{10}(1,8 \times 10^4) - \log_{10}(1,2 \times 10^4)| = 0,176$$

Das Ergebnis erfüllt das Akzeptanzkriterium.

6 Akzeptanzkriterium

Die Homogenisierung gilt unter den geprüften Bedingungen als ausreichend, wenn die absolute logarithmische Differenz 0,3 log₁₀ nicht überschreitet:

$$\Delta \log_{10} \leq 0,3$$

Dies entspricht ungefähr einem Faktor von 2:

$$\text{höheres Ergebnis} \div \text{niedrigeres Ergebnis} \leq 2,0$$

Bei bestimmten Vergleichen mikrobiologischer Methoden kann eine Differenz von bis zu 0,5 log₁₀ als Beurteilungskriterium verwendet werden. Bei der vorliegenden Prüfung stammen beide Ergebnisse aus denselben Verdünnungsstufen in denselben Beuteln, und die zusätzliche manuelle Durchmischung ist der einzige bewusst veränderte Prüfschritt. Deshalb wurde das strengere interne Akzeptanzkriterium von 0,3 log₁₀ festgelegt.

Der Zusammenhang zwischen der logarithmischen Differenz und dem Faktor lautet:

$$10^{0,3} = 1,995 \approx 2,0$$

ISO 7218:2024 legt kein numerisches Akzeptanzkriterium für die Verifizierung der Homogenisierungsleistung fest.

Logarithmische Differenz	Faktor	Beurteilung
$\Delta \log_{10} \leq 0,3$	$\leq 2,0$	Akzeptanzkriterium erfüllt
$\Delta \log_{10} > 0,3$	$> 2,0$	Akzeptanzkriterium nicht erfüllt

Bei wiederholten Prüfungen muss auch die Richtung der Differenz beurteilt werden. Ein reproduzierbarer Anstieg der Keimzahl nach zusätzlicher manueller Durchmischung weist darauf hin, dass die Mikroorganismen durch die automatische Homogenisierung möglicherweise nicht ausreichend gleichmässig verteilt wurden. Zufällige Zu- und Abnahmen gelten nicht als systematisch.

7 Interpretation

Wenn das Akzeptanzkriterium erfüllt ist, kann folgende Schlussfolgerung formuliert werden:

Die zusätzliche manuelle Durchmischung führte zu keiner relevanten Veränderung der Keimzahl. Die automatische Homogenisierung durch den Inlabtec Serial Diluter war unter den geprüften Bedingungen ausreichend.

Wird das Kriterium nicht erfüllt, ist die Prüfung unter vergleichbaren Bedingungen zu wiederholen. Ein bestätigter Anstieg von mehr als $0,3 \log_{10}$ nach der manuellen Durchmischung weist auf eine unzureichende automatische Homogenisierung hin, sofern andere Ursachen ausgeschlossen wurden. Die Mischdauer überprüfen, bei Bedarf verlängern und die Prüfung wiederholen.

Eine reproduzierbare Abnahme sollte ebenfalls untersucht werden, weist für sich allein jedoch nicht auf eine unzureichende Homogenisierung hin. Mögliche Ursachen sind Schwankungen bei der Probenahme oder Ausplattierung, Sedimentation, Aggregation, Zeitverzögerungen oder niedrige Koloniezahlen.

8 Dokumentation

- Geräteidentifikation, Datum und verantwortliche Person
- Probe oder Prüfsuspension, Mikroorganismus und Verdünnungsmittel
- Geräteeinstellungen, Mischdauer und geprüfte Verdünnungsstufen
- Koloniezahlen, berechnete Keimzahlen, absolute logarithmische Differenzen und Beurteilung
- Abweichungen, Untersuchungen und ergriffene Massnahmen

Diese Prüfung weist die Homogenisierungsleistung nur unter den untersuchten Bedingungen nach und stellt für sich allein keine Erstverifizierung des Geräts für den vorgesehenen Verwendungszweck dar. Das Labor legt auf Grundlage der vorgesehenen Anwendungen und einer Risikobeurteilung die repräsentativen Proben, Mikroorganismen, Akzeptanzkriterien und Überwachungsintervalle fest.

9 Literatur

ISO 7218:2024. Microbiology of the food chain — General requirements and guidance for microbiological examinations. Abschnitt 6.4.4.4.

ISO 6887-1:2017, einschliesslich Änderung 1:2024. Microbiology of the food chain — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination — Part 1.

Boubetra, A., Le Nestour, F., Allaert, C. and Feinberg, M. (2011). "Validation of alternative methods for the analysis of drinking water and their application to Escherichia coli." Applied and Environmental Microbiology, 77(10), 3360–3367. DOI: 10.1128/AEM.00020-11.

Bergis, H., Bonanno, L., Asséré, A. and Lombard, B. (2021). EURL Lm Technical Guidance Document on Challenge Tests and Durability Studies for Assessing Shelf-life of Ready-to-eat Foods Related to Listeria monocytogenes. Version 4, 1 July 2021.