

BACHELOR-ABSCHLUSSARBEIT

Validierung einer ISO-konformen Probenvorbereitung
und Herstellung von Erst- und Dezimalverdünnung für
mikrobiologische Untersuchungen im Rahmen des
Projektes „Akkreditierung nach ISO 17025“ der
Qualitätskontrolle Mikrobiologie der Symrise AG

Verfasser: Christoph Weidler



1. Gutachter: Dr. rer. nat. Britta Beyerlein
 2. Gutachter: Prof. Dr. rer. nat. Dipl.-Chem. Tillmann Schmelter
- Datum der Abgabe: 24.10.2017

Zusammenfassung

Die mikrobiologische Qualitätskontrolle der Symrise AG in Holzminden beschäftigt sich mit der Akkreditierung nach DIN EN ISO/IEC 17025 „Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien“ (ISO/IEC 17025:2007-1). Die Einführung dieser Norm mit ihren Anforderungen an das Managementsystem und an den technischen Stand des Labors fördert die Akzeptanz und Repräsentativität der Prüf- und Kalibrierergebnisse. Den bedeutendsten Teil der technischen Anforderungen behandelt dabei die Kontrolle der eingesetzten Prüfverfahren. Im Einklang mit den Bedürfnissen der Kunden werden die Verfahren ausgewählt und auf ihre Zweckmäßigkeit geprüft. Sind Verfahren vorhanden, die nach Norm ablaufen, muss bestätigt werden, dass eine korrekte Anwendung im Labor stattfindet (Verifizierung). Bei alternativen Verfahren, die Abweichungen zur Norm aufweisen, muss eine Eignungsprüfung mittels Validierung erfolgen. Im Hinblick darauf wird die Alternativmethode mit der genormten Referenzmethode verglichen, um den Nachweis zu liefern, dass bei gleichen Beurteilungen die modifizierte Methode zulässig ist. Der Validierungsaufwand wird durch definierte Validierungskriterien festgelegt. Die Auswahl dieser Kriterien richtet sich nach Art und Wichtigkeit der Methode, sowie dem gewünschten Untersuchungsziel. Im Rahmen dieses Prozesses wird die Validierung der Probenvorbereitung und Herstellung von Erst- und Dezimalverdünnung für Flavor-Produkte geplant und durchgeführt.

Die Alternativmethode der QC Microbiology umfasst die Standardverdünnung, in der aus ca. 10 g Probe eine 10^{-1} Erstverdünnung mit gepuffertem Peptonwasser als Verdünnungsmittel hergestellt wird. Für die Entwicklung der Referenzmethode werden die zu untersuchenden Symrise-Produkte analog zu den Forderungen der DIN EN ISO 6887 „Vorbereitung von Untersuchungsproben und Herstellung von Erstverdünnungen und von Dezimalverdünnungen für mikrobiologische Untersuchungen von Lebensmitteln“ in vier Produktkategorien eingeteilt. Jede Produktkategorie wird separat betrachtet und umgesetzt. Bei Kategorien, die ISO-konform vorbereitet werden, kommt es zu einer Verifizierung bzw. Matrixvalidierung. Die zwei übrigen Produktkategorien werden durch Methodenvergleiche validiert.

Tabelle 1: Produktkategorien

Produktkategorie	ISO-Anforderungen	Vorgehen
Neutralisation bei sauren Produkten	Gepuffertes Peptonwasser mit Bromkresolpurpur als Indikator, pH-Ausgleich mit NaOH	Verifizierung der ISO-Anforderungen
Zusatz zu Verdünnung (Produkte mit Fettgehalt $\geq 20\%$)	Gepuffertes Peptonwasser mit Tween® 80 als Zusatz	Validierung der Standardverdünnung gegen ISO-Anforderungen
Spezielle Verdünnungslösung (Milchprodukte)	Dikaliumhydrogenphosphat-Lösung	Validierung der Standardverdünnung gegen ISO-Anforderungen
Keimhemmende Produkte 1:x Einwaage	Dezimalverdünnungen (10^{-2} oder höher)	Matrixvalidierung

Aufgrund dessen, dass die Probenvorbereitung inklusive der Herstellung von Verdünnungen dem präanalytischen Teil einer Untersuchung angehört und keine Resultate hervorbringt, wird die Gesamtkeimzahl mit dem Gussplattenverfahren als nicht-selektives Verfahren zur Zählung von Mikroorganismen zusätzlich eingeführt.

Eine statistische Auswertung aller erbrachten Rohdaten zeigt, dass die Validierungen bzw. Verifizierungen der vier Produktkategorien die Akzeptanzkriterien für mikrobiologische Prüfverfahren erfüllen. Somit wurde die Probenvorbereitung und Herstellung von Erst- und Dezimalverdünnung der QC Microbiology erfolgreich validiert.

Folglich werden die erlangten Kenntnisse für die weitere Methodvalidierung eine wichtige Grundlage darstellen, da die Probenvorbereitung einen bedeutenden Einfluss auf die gesamten Prüfverfahren hat.