

Mikrobiologische Richtwerte Teil II: Behälter aus Glas und Kunststoffen

Alternativmethoden zu ILV-Merkblatt 15 und 19

Mikrobiologische Untersuchungsmethoden

Für die Bestimmung der Innen- und Aussen-Gesamt-Oberflächenkeimzahlen von Glas- und Kunststoff-behältern (Gesamtkeimbelastung/Bioburden) sowie deren Verschlüsse werden modifizierte Methoden nach ILV-Merkblatt 19 [17] und ILV-Merkblatt 15 [18] empfohlen.

Anzahl der Probenstücke: mind. 20 Behälter bzw. Verschlüsse

- **Spülen, Schütteln und Membran-Filtration, modifiziert nach ILV-Merkblatt 19** [17] Behälter mit Phosphat-gepuffertes Pepton-Kochsalz-Bouillon, (Merck 1.10582, Oxoid BR 14a) oder Ringer-Lösung (Merck Nr. 1.15525, Oxoid BR 52) pH 7,0, spülen, Netzmittel z.B. Tween 80 zufügen (Merck Nr. 8.22187), mit Ultraschall für mind. 2 Minuten behandeln.

Alternativverfahren 1: Behälter zusätzlich mit autoklaviertem Seesand (ca. 0,5 g pro 100 ml) versetzen und auf einem speziellen Schüttelapparat (Bottle Turner, Fa. Steinfurth GmbH, Essen) max. 10 Minuten schütteln.

Alternativverfahren 2 zur Bestimmung der Aussen- bzw. Aussen- und Innen-Keimbelastung von Verpackungsbehältern, deren Vorformen (preforms) sowie deren Verschlüsse aus Kunststoffen (Labormethode des Fraunhofer-IVV, modifiziert nach ILV-Merkblatt 19)

Vorsterilisierte, heißsiegelbare Kunststoff-Beutel (blender bags, blender sachets) mit Füllvolumen von 100 ml bis 3,5 Liter mit steriler Phosphat-gepuffertes Pepton-Kochsalz-Bouillon oder Ringer-Lösung, mit Netzmittel, z.B. Tween 80, pH 7,0 befüllen (Füllmenge abhängig von Probenvolumen). Die Untersuchungsproben (Behälter und preforms mit/ohne Verschlüsse, Verschlüsse separat) in die Beutel einbringen und mind. 2 min schütteln bzw. walken (manuell oder mit einem Walk-(Stomacher)-Laborgerät.

Die jeweils erzielten Spüllösungen durch Membranfilter (Porendurchmesser 0,45 µm) filtrieren, diese auf vorbereitete Keimzahl-Agars legen und 48 h bis 5 d bei 30°C bebrüten. Auszählen aller sichtbaren koloniebildenden Einheiten (KbE). Folgende Keimzahl-Agars eignen sich für die Bestimmung der Gesamt-

Oberflächen-Keimzahlen: CASO-Agar bzw. Plate-Count-Agar, pH $7 \pm 0,2$ (z.B. Merck Nr. 1.05458, 1.05463, Oxoid CM131, CM 325)

- **Beschichten transparenter Behälter (Glas, Kunststoff) mit Nähragar, modifiziert nach ILV-Merkblatt 15** [18]. Behälter mit noch flüssigem Keimzählagar, max. 50°C, durch Eingießen beschichten, ca. 3 mm starke Schicht., gleichmäßige Beschichtung durch Rotation des Behälters. Steril verschließen und bebrüten: 48 h bis zu 7 d bei 30°C. Auszählen aller sichtbaren koloniebildenden Einheiten (KbE). Zur Beschichtung eignen sich folgende Keimzähl-Agars: CASO-Agar bzw. Plate-Count-Agar, pH $7 \pm 0,2$ (z.B. Merck Nr. 1.05458, 1.05463, Oxoid CM131, CM 325)

W.Hennlich / IVV / 26.10.09