



Leitfaden zur Keimzahl-Routineuntersuchung mit dem BactoScan 8000 S

1 Allgemeines

Die hygienische Bewertung der Anlieferungsmilch ist ein wichtiger Bestandteil der Gütebewertung der Rohmilch. Dabei steht seit dem Erlass der EU-Milch-Hygiene-Richtlinie 92/46/EWG der vorbeugende gesundheitliche Verbraucherschutz beim Verzehr von Milch und Milchprodukten im Vordergrund. Der Gesamtkeimzahl-Bestimmung kommt dabei eine Schlüsselrolle zu.

Die Keimzahlausgabe am BactoScan 8000S erfolgt in 1000 Impulsen/ ml; diese entsprechen 1 IBC (Individual Bactoscan Count)

2 Anwendungsbereich

Dieser Leitfaden legt die allgemeinen Kriterien zur Keimzahl- Routineuntersuchung mit dem BactoScan-8000S fest.

Ganz besonderer Wert wird dabei auf die Kontrolle von Chemikalien und Referenzmaterialien sowie auf die Funktionsfähigkeit der Geräte gelegt.

3 Probenvorbereitung

Alle zur Messung kommenden Proben sind einer Sichtprüfung zu unterziehen. Sinnfällig veränderte Proben bzw. nicht konservierte Proben sind gegebenenfalls von der Untersuchung auszuschließen.

Die Probenvorbereitung erfolgt analog der Bedienungsanleitung des Geräteherstellers. Dabei ist sicherzustellen, dass die Proben die geforderte Temperatur aufweisen.

4 Durchzuführende Maßnahmen im Routinebetrieb

4.1 Chemikalien und Arbeitslösungen

Der zur Kalibrierung der Geräte erforderliche BZ-Standard und die für die Routineuntersuchung notwendigen Chemikalien können trotz Qualitätskontrolle beim Hersteller, innerhalb und zwischen verschiedenen Chargen Inhomogenität und Niveauunterschiede aufweisen, die zu unterschiedlichen Messwerten führen können.

Bei der Eingangskontrolle sind deshalb folgende Maßnahmen durchzuführen:

Für den BZ-Standard und den Farbstoff Acridinorange ist eine Charge (Ankercharge) zu bestimmen, die als Ankerwert für nachfolgende Chargen herangezogen wird, um



Leitfaden zur Keimzahl-Routineuntersuchung mit dem Bactoscan 8000S

Niveauunterschiede zu erkennen.

Die zulässige Toleranz zwischen verschiedenen BZ-Standard-Chargen und der Ankercharge muss kleiner gleich ± 3 Diskriminatorlevel (DL)-Einheiten sein.

Die zulässige Toleranz zwischen verschiedenen Acridinorange- Chargen und der Ankercharge muss kleiner gleich $\pm 5 \%$ sein.

Die BZ-Standard- und Acridinorange- Ergebnisse der Eingangskontrolle sind in einer Regelkarte zu dokumentieren.

Das Enzym ist bezüglich Temperaturempfindlichkeit zu prüfen.

Der BZ-Standard und der Farbstoff Acridinorange sind innerhalb einer Charge auf dessen Homogenität zu überprüfen. Dabei sind die Toleranzen wie zwischen verschiedenen Chargen einzuhalten.

Die restlichen Chemikalien wie: Buffer- Powder, Lysierungspulver, Gradient, Emulsifier- und Reinigungsmittel sind nach praktischen Erfahrungswerten zu kontrollieren. Da bisher keine Differenzen, die den Messwert beeinflussen festgestellt wurden, können keine Grenzwerte festgelegt werden.

Es wird empfohlen, nur geprüfte Standards und Chemikalien mit Qualitätszertifikat vom Hersteller zum Einsatz zu bringen.

Die Lagerungs-Bedingungen sind nach Vorgabe und Anweisung des Herstellers einzuhalten.

4.2 Überprüfung der Funktionsfähigkeit

Es wird zwischen täglich, wöchentlich, monatlich und halbjährlich durchzuführender Kontrolle unterschieden. Werden die im folgendem beschriebenen Tests erfolgreich absolviert, sind die Geräte einsatzbereit. Sämtliche Kontrollergebnisse sind zu protokollieren.

4.2.1 Tägliche Kontrollen

4.2.1.1 Startroutine

Die folgenden Kontrollen sind täglich vor Beginn der Routineuntersuchung durchzuführen.

Die Stamm- und Gebrauchslösungen sowie die Standards sind nach Herstellerangaben vorzubereiten und einzusetzen. Dabei ist zu beachten, dass die Leitfähigkeit des Wassers kleiner als $5 \mu\text{S}/\text{cm}$ ist.

Überprüfung des Hauptdrucks nach Herstellerangaben:

Die zulässige Toleranz ist $5 \text{ bar} \pm 0,5 \text{ bar}$

Das Objektiv ist morgens und/oder nach Bedarf zu reinigen.



Die Filmbreite muss innerhalb von 40 bis 45 Einheiten liegen und stabil sein.

Der Diodencheck ist mit mindestens 3 Messungen durchzuführen. Die zulässige Toleranz beträgt $6\ 600 \pm 5$

Überprüfung des Detektors.

Der Sollwert beträgt 20 Einheiten. Als Minimum werden 16 Einheiten toleriert.

Die Transferzeit von der Milchammer zur Zentrifuge ist zu kontrollieren. Sie soll ca. 8,5 Sekunden betragen.

Von der Blindlösung sind mindestens 10 Einzelmessungen durchzuführen. Die Einzelwerte müssen kleiner als 20 000 Impulse/ml und der Mittelwert kleiner als 10 000 Impulse/ml sein.

Vom BZ-Standard sind mindestens 5 Einzelmessungen durchzuführen.

Der Diskriminatorlevel (DL) muss größer als 40 Einheiten, das Detektorniveau (DC) muss größer als 16 Einheiten sein.

Vom Hüfner Standard A und B sind mindestens 5 Einzelmessungen durchzuführen. Die Mittelwert-Berechnung erfolgt mit den letzten 5 Einzelwerten. Die zulässige Toleranz muss kleiner gleich 15 % zum Sollwert sein.

Von der Pilot- oder Kontrollmilch sind mindestens 5 Einzelmessungen durchzuführen. Die Mittelwert-Berechnung erfolgt mit den letzten 5 Einzelwerten.

Die Pilot- oder Kontrollmilch soll zwischen 80 000 und 250 000 Impulsen/ml liegen. Die zulässige Toleranz muss bei Werten

bis 100 000 Impulsen/ml kleiner gleich $\pm 25\ 000$ Impulse/ml und
über 100 000 Impulsen/ml kleiner gleich $\pm 20\ %$ sein.

Vom Hüfner Standard und der Pilot- oder Kontrollmilch ist jeweils ein PHA- Bild auszudrucken und zu dokumentieren.

Es wird empfohlen, die genannten Startroutinekontrollen in einer Regelkarte oder Checkliste (siehe Punkt 6 – Mitgeltende Dokumente) zur Qualitätssicherung zu dokumentieren.

4.2.1.2 Tägliche Routinekontrollen

Während der Routineuntersuchung ist nach spätestens 50 Proben eine Pilot- oder Kontrollmilch zu untersuchen.

Die zulässige Toleranz muss bei Werten

bis 100 000 Impulsen/ml kleiner gleich $\pm 25\ 000$ Impulse/ml und
über 100 000 Impulsen/ml kleiner gleich 20 % sein.

Die Auswertung aller Einzelwerte erfolgt mit Regelkarte oder EDV-Programm.

Zur Verschleppungskontrolle ist am Beginn der Untersuchung und danach mindestens alle 4 Stunden eine Blindlösung zu untersuchen.



Der Einzelwert muss kleiner 20 000 Impulse/ml sein.

Bei Überschreiten des Grenzwertes ist eine Gerätereinigung durchzuführen.

Eine Volumenkontrolle der einzelnen Arbeitslösungen muss nur dann durchgeführt werden, wenn technische Störungen und/oder Messwert-Differenzen mit Referenzmaterialien festgestellt werden.

Die Gerätespülung und -Reinigung hat nach Vorgabe und Anweisung des Geräteherstellers zu erfolgen.

Es ist darauf zu achten, dass beim Enzym die vorgegebenen Temperaturtoleranzen des Geräteherstellers eingehalten werden, da es bei erhöhten Temperaturen zu einer Inaktivierung des Enzyms und somit zu erhöhten Impulswerten kommen kann.

4.2.2 Wöchentliche Kontrollen

Kontrollieren, ob die Füllmenge des Wasserbehälters für die Mikropipette in Ordnung ist.

Die Wanne der Inkubationseinheit reinigen und kontrollieren, ob die Befestigungsschraube der Reinigungsdüse angezogen ist.

Den Reinigungsschwamm an der rotierenden Scheibe kontrollieren und bei Bedarf wechseln.

Den Fokus der Lampe überprüfen.

Die ordnungsgemäße Entleerung der Zentrifuge kontrollieren.

Die BactoScan 8000S Control Sample (BCS) sollte wöchentlich untersucht werden. Die Vorbereitung und Untersuchung hat nach Herstelleranweisung zu erfolgen.

Es sind mindestens 5 Messungen von der Control Sample und anschließend 5 Blankproben zu untersuchen. Die zulässige Toleranz der Einzelmessungen muss kleiner gleich $\pm 20\%$, die des Mittelwertes kleiner gleich $\pm 10\%$ vom Sollwert sein.

Die Standardabweichung muss kleiner gleich $\pm 0,2$ log-Einheiten sein.

Die Wiederholbarkeit kleiner gleich 5%

Die Verschleppung muss kleiner gleich 1% sein und wird wie folgt berechnet:

$$\text{Verschleppung in \%} = \frac{\text{Blank 1} - \text{Mittelwert(Blank 3 und 4)}}{\text{Mittelwert Control Sample}} \times 100$$

4.2.3 Monatliche Kontrollen

Austauschen der 5 Luftfilter

Reinigen der Ventilatoren

Überprüfen des Silikagels



Autoklavieren des Kolbens für die Arbeitslösungen

Wiederholbarkeitstest mit 20 Proben durchführen. Die Standardabweichung muss kleiner als 0,04 sein.

Verschleppungsprüfung durchführen, wobei der Verschleppungsfehler kleiner als 1,0 % sein muss.

Überprüfung der Verschleppung zwischen den Bechern in der Inkubationseinheit auf die folgende 10. Probe.

4.2.4 Halbjährliche Kontrollen

Wartung der Geräte:

Alle Schläuche, die mit der Probe in Berührung kommen und/oder durch ein Quetschventil gehen, sind mindestens halbjährlich auszutauschen.

Im allgemeinen sind die Angaben des Herstellers zu beachten.

4.2.5 Jährliche Kontrollen

Alle sonstigen Schläuche sind mindestens einmal im Jahr zu wechseln.

Im allgemeinen sind die Angaben des Herstellers zu beachten.

5 Empfehlungen

Werden die angegebenen Toleranzen nicht erreicht, sind Gerät und Reagentien gemäß Anleitung des Herstellers zu prüfen, die Ursachen zu beheben und die Geräteüberprüfung zu wiederholen.

Es wird auf das jeweilige Qualitätsmanagement verwiesen, wie zu verfahren ist, wenn die Grenzwerte nicht eingehalten werden. Alle Kontrollen sind in einem Qualitätsmanagement-System zu dokumentieren.

6 Mitgeltende Dokumente

- **Betriebsanweisung** des Herstellers
- Checkliste – BactoScan-8000S

7. History- Chart

- Version 1.01. vom 15.11.2004, Originalversion

Checkliste BactoScan- 8000-S

Gerätenummer	Monat	Labor



Leitfaden zur Keimzahl-Routineuntersuchung mit dem Bactoscan 8000S

Datum					
Blindwert					
Beginn					
nach 4 Stunden					
nach 8 Stunden					
Faktor-BZ					
DL-Wert					
Gain-Wert					
DC-Wert					
-BZ-Standard					
-Hüfner A					
-Kontrollmilch					
Hüfner					
A: Soll					
A: Ist					
B: Soll					
B: Ist					
BCS-Standard					
KM-Wert					
Soll					
Ist					
Herstellung					
Bemerkungen					
Unterschrift/Visum					