

## Inhaltsverzeichnis

**Vorwort zur zweiten Auflage XIII**

**Vorwort zur ersten Auflage XV**

**Abkürzungen XVII**

<b>1</b>	<b>Einführung in die Mikrobiologie 1</b>
1.1	Historisches 2
1.2	Bedeutung 3
1.3	Mikroorganismengruppen 4
1.4	Die Bakterienzelle 11
1.4.1	Bakterienmorphologie 12
1.4.2	Bakterienphysiologie 13
1.5	Taxonomie der Mikroorganismen 18
1.5.1	Klassifikation 18
1.5.2	Nomenklatur 23
1.6	Medizinische Mikrobiologie 23
1.6.1	Infektionsrouten 23
	Literatur 27
<b>2</b>	<b>Rahmenbedingungen für den Betrieb mikrobiologischer Laboratorien 31</b>
2.1	Gesetze und technische Regelwerke 31
2.2	Medizinische Betreuung der Mitarbeiter 36
2.3	Betriebsbeschreibung für mikrobiologische Laboratorien 39
2.4	Einrichtung mikrobiologischer Laboratorien 41
2.4.1	Benötigte Geräte/Ausrüstung 41
2.5	Nährmedien 43
2.5.1	Flüssige Nährmedien (Bouillons) 43
2.5.2	Feste Nährböden 44
2.5.3	Selektive Nährmedien 47
2.5.4	Nährmedien mit chromogenen Substraten 47
2.6	Rezepturen 52

2.6.1	Eigene Herstellung	78
2.6.2	Einkauf	78
	Literatur	79
<b>3</b>	<b>Kalibrierung und Qualifizierung der Geräte</b>	<b>81</b>
3.1	Waage	84
3.2	pH-Meter	85
3.3	Kolbenhubpipetten	85
3.4	Stoppuhr	85
3.5	Geräte zur Erreichung bestimmter Temperaturen	86
3.5.1	Thermometer	86
3.5.2	Brutschrank	87
3.5.3	Kühlschrank/Kühltruhe	89
3.5.4	Heißluftsterilisator	89
3.5.5	Autoklav	90
3.6	Clean Bench	91
3.7	Air Sampler	92
3.8	Partikelzähler	93
3.9	Messgerät zur Bestimmung der Wasseraktivität	96
3.10	Fotometer/Reader	97
3.11	Tube Reader für Endotoxinbestimmungen	97
3.12	Fluoreszenzreader für Endotoxinbestimmungen	99
	Literatur	99
<b>4</b>	<b>Stammhaltung</b>	<b>101</b>
4.1	Bezug	101
4.2	Versand	105
4.3	Lagerung	106
4.4	Kultivierung	106
	Literatur	108
<b>5</b>	<b>Betriebshygiene</b>	<b>109</b>
5.1	Hygiene	109
5.1.1	Arzneimittel- und Wirkstoffherstellungsverordnung (AMWHV)	110
5.1.2	Was ist das Ziel der Betriebshygiene?	111
5.1.3	Personalhygiene	111
5.1.4	Aufnahme eines Hygienekatasters	111
5.2	Mikrobiologische Grundlagen zur Hygiene	112
5.2.1	Kontaminationsquellen während der Herstellung	113
5.2.2	Einflussfaktoren der mikrobiellen Reinheit	115
5.3	Hygienemaßnahmen	115
5.4	Sterilisation, Desinfektion und aseptische Herstellung	127
5.4.1	Sterilisation	127
5.4.2	Desinfektion	128
5.4.3	Asepsis	134

5.4.4	Entwesung	135
5.4.5	Pasteurisierung	135
5.4.6	Konservierung	135
5.5	Hygieneplan für mikrobiologische Laboratorien	135
5.6	Schädlingsbekämpfung ( <i>Pest Control</i> )	138
5.7	Hygienebeauftragte	141
5.8	Durchführung von Hygieneschulungen	141
	Literatur	145
<b>6</b>	<b>Umgebungsmonitoring</b>	<b>147</b>
6.1	Methoden	147
6.1.1	Prüfung der Raumluft	148
6.1.2	Prüfung von Oberflächen	149
6.1.3	Prüfung der Mitarbeiter	150
6.2	Mikrobiologisches Monitoring im Sterilitätstest-Isolator	152
6.2.1	Beispiel für einen Isolator	153
6.3	Physikalisches Monitoring in der Sterilproduktion	156
6.4	Physikalischer Betrieb	159
6.5	Auswertung der Mikroorganismen	161
6.6	Register der Mikroorganismen	162
6.6.1	Gram(+)-Bakterien	162
6.6.2	Gram(-)-Bakterien	166
6.6.3	Partiell säurefeste Stäbchen	171
6.6.4	Hefen	171
6.6.5	Pilze	172
	Literatur	173
<b>7</b>	<b>Qualitätskontrolle</b>	<b>175</b>
7.1	Arzneibuchmethoden ( <i>Compendial Methods</i> )	175
7.1.1	Bestimmung von TAMC/TYMC und von spezifizierten Mikroorganismen	177
7.1.2	Prüfung auf Sterilität	180
7.1.3	Nachweis von fiebererzeugenden Substanzen	182
7.1.4	Prüfung auf ausreichende Konservierung	205
7.1.5	Bestimmung von Antibiotikaaktivitäten	210
7.1.6	Bestimmung von Mykoplasmen	211
7.1.7	Prüfung auf Mykobakterien	214
7.1.8	Auswertung von Bioindikatoren	215
7.2	Nichtarzneibuchmethoden ( <i>Non-compendial Methods</i> )	218
7.2.1	Bestimmung von Vitaminkonzentrationen	218
7.2.2	Bestimmung von 1,3- $\beta$ -D-Glucanen	224
7.2.3	Prüfung von Packmitteln	226
7.2.4	Nachweis probiotischer Bakterien	229
7.2.5	Mikroskopische Zellgrößenmessung	231

7.2.6	Bioburden-Bestimmung von Reinigungs- und Desinfektionsmitteln	232
7.2.7	Inokulationsversuche	233
7.3	Tests unter Verwendung von Tiermodellen	235
7.3.1	Kaninchen: Prüfung auf Pyrogene – Ph. Eur. 2.6.8	236
7.3.2	Ratte: Allen-Doisy-Test	237
7.3.3	Maus ( <i>Mus musculus</i> ): Prüfung auf anomale Toxizität – Ph. Eur. 2.6.9	238
7.3.4	Meerschweinchen ( <i>Cavia aperea</i> ): Prüfung auf Histamin – Ph. Eur. 2.6.10	238
7.4	Zellkulturmethoden	239
7.4.1	Betriebsbeschreibung eines Zellkulturlabors	240
7.4.2	Passagierung von Zellen	242
7.4.3	Bestimmung der Gesamtzellzahl und der Lebendzellzahl in der Zählkammer	243
7.5	Validierung der Arzneibuchmethoden	244
7.5.1	Prüfung auf Sterilität	244
7.5.2	Prüfung auf TAMP/TYMC und spezifizierte Mikroorganismen	247
7.5.3	Prüfung auf Endotoxine	256
7.5.4	Bestimmung von Antibiotikakonzentrationen	268
	Literatur	274
<b>8</b>	<b>Prozessvalidierungen</b>	<b>277</b>
8.1	Nährmedienabfüllung ( <i>Media Fill</i> )	278
8.1.1	<i>Media Fill Fail</i>	283
8.1.2	Neue Entwicklungen bei den <i>Media-fill</i> -Bouillons	284
8.2	Enpyrogenisierung	285
8.2.1	Enpyrogenisierungstunnel	287
8.3	Validierung der Sterilisation mit trockener Hitze	288
8.4	Validierung der Sterilisation mittels feuchter Hitze (Autoklav)	290
8.5	Validierung der Sterilfiltration	291
8.5.1	Validierung des Filtertyps	292
8.5.2	Validierung des Filtrationssystems	292
8.5.3	Integritätsprüfung von Membranfiltern	293
8.6	Container-Closure-Integrity-Test	294
8.7	Reinigungsvalidierung	298
8.7.1	Mikrobiologische Methoden in der Reinigungsvalidierung	300
	Literatur	301
<b>9</b>	<b>Mikrobiologische Untersuchung von Wasser</b>	<b>303</b>
9.1	Probennahme	305
9.2	Probentransport	306
9.3	Verwendung der verschiedenen Wasserqualitäten	311
9.4	Gereinigtes Wasser (Aqua purificata, AP)	311
9.5	Hochgereinigtes Wasser (HPW)	312

9.6	Wasser für Injektionszwecke (Wfl) 313
9.6.1	Rouging/Blacking 313
9.7	Wasser zum Verdünnen konzentrierter Hämodialyselösungen 314
9.8	Wasser zur Herstellung von Extrakten 314
9.9	Trinkwasser 316
9.10	Legionellen 318
	Literatur 321
<b>10</b>	<b>Mikrobiologische Schnellmethoden (<i>Rapid Microbiological Methods</i>) 323</b>
10.1	Bestimmung über den ATP-Gehalt 324
10.2	Bestimmung über den Einbau von Fluoreszenzmarkern 327
10.2.1	Scan RDI™ (AES-Chemunex-bioMerieux) 327
10.2.2	Milliflex® Quantum (Merck) 328
10.3	Durchfluszytometrie 329
	Literatur 331
<b>11</b>	<b>Automation im mikrobiologischen Labor 333</b>
11.1	Färbeautomaten 333
11.2	Geräte zur Zählung der Kolonien (KBE) 334
11.3	Nährmedienabfüllautomat 334
11.4	Automation des Endotoxintests 335
	Literatur 335
<b>12</b>	<b>Qualitätssicherung 337</b>
12.1	Aufbau eines SOP-Systems 337
12.2	Schulungen 339
12.3	Audits und Inspektionen 340
12.3.1	Verhalten bei Audits 341
12.3.2	Selbstinspektionen 342
12.3.3	Behörden-Audits 343
12.3.4	Kunden-Audits 344
12.3.5	Lieferanten-Audits 344
12.3.6	Weitere Audits 344
12.4	Vorgehensweise bei OOS- und OOE-Ergebnissen 346
12.4.1	Prüfung auf Endotoxine 349
12.4.2	Prüfung auf TAMC und TYMC 350
12.4.3	Prüfung auf Sterilität 351
12.4.4	Prüfung auf Pyrogene 352
	Literatur 353
<b>13</b>	<b>Identifizierung von Mikroorganismen 355</b>
13.1	Wachstumskurve 355
13.2	Generationszeit 356
13.3	Herstellung von Reinkulturen 356

13.4	Sensorische und makroskopische Merkmale	357
13.5	Mikroskopische Untersuchung	357
13.5.1	Mikroskope	357
13.5.2	Mikroskopische Präparate	360
13.6	Färbungen	361
13.6.1	Farblösungen	362
13.7	Prinzip der „bunten Reihe“	364
13.8	Immunologische Verfahren	366
13.9	PCR	367
13.10	Gaschromatografie (FAME)	368
13.11	FT-IR-Spektroskopie	368
13.12	MALDI-TOF	369
	Literatur	370
<b>14</b>	<b>Reinigung, Sterilisation, Dekontamination und Entsorgung</b>	<b>371</b>
14.1	Reinigung	371
14.2	Sterilisation	372
14.2.1	Trockene Hitze (Heißluftsterilisator)	372
14.2.2	Feuchte Hitze (Autoklav)	372
14.2.3	Strahlung	372
14.2.4	Gase	373
14.2.5	Kinetik der Keimtötung	373
14.2.6	Bowie-Dick-Test	374
14.2.7	Risikoanalyse für Autoklaven	374
14.3	Laborreinigung und -desinfektion	377
14.3.1	Qualifizierung einer Laborspülmaschine	379
14.3.2	Validierung	379
14.4	Entsorgung infektiösen Abfalls	380
14.5	Desinfektionsmaßnahmen bei Havarien	380
	Literatur	381
<b>15</b>	<b>Prüfungen im Lohnauftrag (Outsourcing)</b>	<b>383</b>
	Literatur	384
	<b>Mikrobiologische Netzwerke</b>	<b>385</b>
	Literatur	387
	<b>Adressen</b>	<b>389</b>
	<b>Fachliteratur</b>	<b>397</b>
	<b>Glossar</b>	<b>409</b>
	<b>Stichwortverzeichnis</b>	<b>411</b>