

## Inhaltsverzeichnis

**Vorwort zur zweiten Auflage** XIII

**Vorwort zur ersten Auflage** XV

**Abkürzungen** XVII

<b>1</b>	<b>Einführung in die Mikrobiologie</b>	<b>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</b>	 <b>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

### **3 Kalibrierung und Qualifizierung der Geräte 81**

- 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

### **4 Stammhaltung 101**

- 4.1 Bezug 101
- 4.2 Versand 105
- 4.3 Lagerung 106
- 4.4 Kultivierung 106
- Literatur 108

### **5 Betriebshygiene 109**

- 5.1 Hygiene 109
  - 5.1.1 Arzneimittel- und Stoffherstellungsverordnung (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 TAMC/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	Entpyrogenisierung	285
8.2.1	Entpyrogenisierungstunnel	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 (Wfi)	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>)</b>	<b>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	Durchflussszytometrie	329
	Literatur	331
<b>11</b>	<b>Automation im mikrobiologischen Labor</b>	<b>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</b>	<b>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</b>	<b>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>