

DIN 10120

ICS 07.100.30

Ersatz für
DIN 10120:2001-07**Untersuchung von Lebensmitteln –
Nachweis von Salmonellen mittels Impedanz-Verfahren**Analysis of foodstuffs –
Detection of Salmonella with impedance-methodAnalyse pour produits alimentaires –
Recherche de Salmonella à base d'impédance-méthode

Gesamtumfang 18 Seiten

DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)

Inhalt

	Seite
Vorwort	3
1 Anwendungsbereich.....	4
2 Normative Verweisungen	4
3 Begriffe	4
4 Kurzbeschreibung	5
4.1 Allgemeines	5
4.2 Voranreicherung.....	5
4.3 Anreicherung	5
4.4 Isolierung.....	5
4.5 Bestätigung	6
5 Chemikalien und Nährmedien.....	6
5.1 Allgemeines	6
5.2 Nährmedien	6
5.3 Antiseren	7
6 Geräte.....	7
7 Probenahme	7
8 Durchführung.....	7
8.1 Vorbereitung der Proben.....	7
8.2 Voranreicherung.....	8
8.3 Anreicherung	8
8.4 Auswertung der Messergebnisse	9
8.5 Isolierung.....	9
8.6 Bestätigung	9
9 Auswertung und Angabe der Ergebnisse.....	10
10 Untersuchungsbericht	10
Anhang A (normativ) Zusammensetzung und Herstellung von Nährmedien und Reagenzien	11
Anhang B (informativ) Leistungsprüfung zur Qualitätssicherung der Nährmedien für die Impedanzanalytik.....	16
Anhang C (informativ) Fließschemata der Verfahren	17
Literaturhinweise.....	18

Vorwort

Diese Norm wurde vom Arbeitsausschuss NA 057-01-06 AA „Mikrobiologie der Lebensmittelkette“ im DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) erarbeitet.

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. DIN ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren.

Änderungen

Gegenüber DIN 10120:2001-07 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) Abschnitt 2 „Normative Verweisungen“ wurde aktualisiert;
- b) Details zu 5.2.3 „Nährmedien für die Anreicherung“ wurden als normativer Anhang A „Zusammensetzung und Herstellung von Nährmedien und Reagenzien“ aufgenommen;
- c) Anhang B „Leistungsprüfung zur Qualitätssicherung der Nährmedien für die Impedanzanalytik“ und Anhang C „Fließschemata der Verfahren“ wurden aufgenommen;
- d) technische und redaktionelle Überarbeitung sowie Ergänzungen zwecks Anpassung an die derzeit gültigen Gestaltungsregeln.

Frühere Ausgaben

DIN 10120: 2001-07

1 Anwendungsbereich

Diese Norm legt ein Verfahren zum Nachweis von Salmonellen mittels Impedanzmessung fest.

ANMERKUNG Auf die Vorschriften des Infektionsschutzgesetzes (IfSG) wird hingewiesen.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente, die in diesem Dokument teilweise oder als Ganzes zitiert werden, sind für die Anwendung dieses Dokuments erforderlich. Bei datierten Verweisungen gilt nur die in Bezug genommene Ausgabe. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe des in Bezug genommenen Dokuments (einschließlich aller Änderungen).

DIN 10115, *Grundlagen des Nachweises und der Bestimmung von Mikroorganismen in Lebensmitteln mittels Impedanz-Verfahren*

DIN EN ISO 6579-1:2017-07, *Mikrobiologie der Lebensmittelkette — Horizontales Verfahren zum Nachweis, zur Zählung und zur Serotypisierung von Salmonellen — Teil 1: Nachweis von Salmonella spp. (ISO 6579-1:2017); Deutsche Fassung EN ISO 6579-1:2017*

DIN EN ISO 6887-1, *Mikrobiologie der Lebensmittelkette — Vorbereitung von Untersuchungsproben und Herstellung von Erstverdünnungen und von Dezimalverdünnungen für mikrobiologische Untersuchungen — Teil 1: Allgemeine Regeln für die Herstellung von Erstverdünnungen und Dezimalverdünnungen*

DIN EN ISO 7218, *Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln — Allgemeine Anforderungen und Leitlinien für mikrobiologische Untersuchungen*

DIN EN ISO 11133, *Mikrobiologie von Lebensmitteln, Futtermitteln und Wasser — Vorbereitung, Herstellung, Lagerung und Leistungsprüfung von Nährmedien*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

3.1

Salmonellen

Mikroorganismen, die bei Wachstum und Vermehrung in flüssigen Anreicherungsmedien (Probenflüssigkeiten) aufgrund ihrer spezifischen Stoffwechselaktivität Veränderungen von elektrischen Messgrößen bewirken, typische Kolonien auf festen Selektivmedien bilden und bei der Untersuchung nach diesem Verfahren die hier beschriebenen biochemischen, serologischen und molekularbiologischen Eigenschaften aufweisen

3.2

Nachweis von Salmonellen

Verfahren, mit dem die Anwesenheit oder Abwesenheit lebensfähiger Formen dieser Mikroorganismen in einer untersuchten Probenmenge festgestellt wird

Anmerkung 1 zum Begriff: In dieser Norm wird die Anwesenheit von Salmonellen anhand eines auffälligen Kurvenverlaufs der Messgrößen während der Bebrütung der Probenflüssigkeit durch eine oder mehrere Kenngrößen (z. B. Medienimpedanz; Elektrodenimpedanz) angezeigt.

4 Kurzbeschreibung

4.1 Allgemeines

Die Untersuchung wird im Allgemeinen in mehreren aufeinander folgenden Schritten durchgeführt, da Salmonellen im Probenmaterial in geringer Anzahl, subletal geschädigt oder gemeinsam mit einer größeren Anzahl anderer Mikroorganismen vorkommen können.

4.2 Voranreicherung

4.2.1 Allgemeines

Gepuffertes Peptonwasser (BPW, 5.2.2) wird mit der Probe beimpft und dann $18\text{ h} \pm 2\text{ h}$ bei $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ bebrütet. Für bestimmte Lebensmittel ist die Verwendung anderer Anreicherungsmedien erforderlich.

Es muss sichergestellt sein, dass das gepufferte Peptonwasser über die gesamte Minimalbebrütungsdauer von 16 h eine Temperatur von $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ hat. Gegebenenfalls muss das BPW, z. B. für große Volumen, auf $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ vorgewärmt werden.

4.2.2 Kakao und kakaohaltige Produkte (z. B. mehr als 20 %)

Zum BPW (5.2.2) werden 50 g/l Casein (kein saures Casein) oder 100 g/l steriles Magermilchpulver gegeben. Wenn eine hohe Kontamination der Probe mit grampositiver Flora erwartet wird, sollten 0,018 g/l Brillantgrün zur Voranreicherungslösung gegeben werden. 25 g des Produkts werden mit 225 ml Voranreicherungslösung homogenisiert. Die Suspension wird bei Raumtemperatur 60 min stehen gelassen. Der Suspension wird anschließend 0,45 ml 1%iger Brillantgrünlösung zugesetzt.

4.2.3 Saure und säuernde Lebensmittel

Es muss sichergestellt sein, dass der pH-Wert nicht unter 4,5 absinkt.

ANMERKUNG Der pH-Wert von sauren und säuernden Lebensmitteln ist stabiler wenn doppelkonzentriertes BPW verwendet wird (siehe auch DIN EN ISO 6887-1 und DIN EN ISO 6887-4).

4.3 Anreicherung

Zwei Messzellen mit unterschiedlichen selektiven, flüssigen Nährmedien werden mit einer bestimmten Menge des bebrüteten Voranreicherungsnährmediums beimpft. Die Probenflüssigkeiten werden in der Bebrütungseinheit des Impedanzmesssystems mindestens 18 h bei $37\text{ °C} \pm 0,5\text{ °C}$ bzw. $40\text{ °C} \pm 0,5\text{ °C}$ bebrütet.

ANMERKUNG Die Bebrütungszeit kann als Ergebnis der matrixspezifischen Evaluierung von den vorgegebenen 18 h abweichen. Insbesondere kritische Matrices, wie z. B. Schokolade und Proben in denen Salmonellen hohem Hitze- oder Trockenstress ausgesetzt waren, können längere Bebrütungszeiten erfordern.

Die Empfindlichkeit (verwendete Detektionsschwelle) der Impedanzmessung und die Bebrütungszeit sind auf die zu untersuchende Matrix abzustimmen. Dazu können die Empfehlungen der Hersteller oder die Ergebnisse der laborinternen Evaluierungstests herangezogen werden.

4.4 Isolierung

Sind die Messergebnisse aus einer oder beiden Messzellen als verdächtig zu bewerten, werden jeweils zwei feste, selektive Nährböden beimpft und bebrütet. Danach wird auf die Anwesenheit von Kolonien untersucht, die auf Grund ihres Aussehens salmonellenverdächtig sind.

4.5 Bestätigung

Die salmonellenverdächtigen Kolonien werden in Reinkulturen subkultiviert und auf ihre besonderen serologischen, biochemischen und molekularbiologischen Eigenschaften untersucht.

Für geeignete Bestätigungsreaktionen siehe DIN EN ISO 6579-1:2017-07.

5 Chemikalien und Nährmedien

5.1 Allgemeines

Zur üblichen Laborpraxis siehe DIN EN ISO 7218 und DIN EN ISO 11133.

5.2 Nährmedien

5.2.1 Allgemeines

Eine vollständige Auflistung aller verwendbaren Voranreicherungs- und Anreicherungs-nährmedien befindet sich in Anhang A.

Alternativ dürfen auch Fertignährmedien oder Trockennährböden verwendet werden. In letzterem Fall müssen die Herstellerangaben zur Zubereitung eingehalten werden.

5.2.2 Nährmedien für die Voranreicherung (Gepuffertes Peptonwasser; en: buffered peptone water, BPW); (Voranreicherungen für spezielle Matrices)

Nach DIN EN ISO 6579-1:2017-07, 4.2 und B.2.

5.2.3 Nährmedien für die Anreicherung (Modifiziertes Magnesiumchlorid-Malachitgrün-Impedanz-Medium nach RAPPAPORT-VASSILIADIS (mod. RVI-Medium); Modifiziertes Selenit-Cystin-Impedanz-Medium nach EASTER-GIBSON (mod. SCI-Medium); Modifiziertes Selenit-Cystin-Impedanz-Medium nach OGDEN (mod. SCI-O-Medium))

Siehe A.2

5.2.4 Nährboden für die Isolierung: Xylose-Lysin-Desoxycholat-Agar (XLD-Agar)

Nach DIN EN ISO 6579-1:2017-07, B.6.

5.2.5 Nährböden, Nährmedien, Reagenzien und Lösungen für die Identifizierung

5.2.5.1 Nähragar (Beispiel für ein nicht selektives Nährmedium)

Nach DIN EN ISO 6579-1:2017-07, B.7.

5.2.5.2 Dreizucker-Eisen-Agar (TSI-Agar)

Nach DIN EN ISO 6579-1:2017-07, B.8.

5.2.5.3 Harnstoff-Agar (nach Christensen)

Nach DIN EN ISO 6579-1:2017-07, B.9.

5.2.5.4 L-Lysin-Decarboxylase-Medium (LDC)

Nach DIN EN ISO 6579-1:2017-07, B.10.