

Nachweis von Salmonellen in Lebensmitteln mittels enzymgebundenen Fluoreszenzimmunoassay

DIN
10121

ICS 07.100.30

Detection of Salmonella in foodstuffs with enzyme linked fluorescent immuno-assay

Recherche de Salmonella dans les produits alimentaires par un test immuno-enzymatique fluorescent

Vorwort

Diese Norm wurde vom Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte, Arbeitsausschuss "Mikrobiologische Lebensmitteluntersuchung einschließlich Schnellverfahren" erarbeitet.

1 Anwendungsbereich

Diese Norm legt ein Routineverfahren zum Nachweis von Salmonellen mittels eines enzymgebundenen Fluoreszenzimmunoassay (ELFA) fest.

ANMERKUNG Auf die Vorschriften des Bundesseuchengesetzes wird verwiesen.

2 Normative Verweisungen

Diese Norm enthält durch datierte oder undatierte Verweisungen Festlegungen aus anderen Publikationen. Diese normativen Verweisungen sind an den jeweiligen Stellen im Text zitiert, und die Publikationen sind nachstehend aufgeführt. Bei datierten Verweisungen gehören spätere Änderungen oder Überarbeitungen dieser Publikationen nur zu dieser Norm, falls sie durch Änderung oder Überarbeitung eingearbeitet sind. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe der in Bezug genommenen Publikation.

DIN EN 12824:1998-02, *Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln — Horizontales Verfahren zum Nachweis von Salmonellen (ISO 6579:1993, modifiziert)*; Deutsche Fassung EN 12824:1997.

ISO 7218, *Microbiology of food and animal feeding stuffs — General rules for microbiological examinations*.

3 Begriffe

Für die Anwendung dieser Norm gelten die folgenden Begriffe:

3.1

Salmonellen

Mikroorganismen, die durch monoklonale Salmonella-Antikörper gebunden und durch eine Fluoreszenzreaktion erkannt werden. Salmonellen bilden typische Kolonien auf festen Selektivmedien und besitzen bei der Untersuchung nach dem in DIN EN 12824 festgelegten Verfahren die beschriebenen biochemischen und serologischen Eigenschaften.

3.2

Nachweis von Salmonellen

Feststellung der Anwesenheit dieser Mikroorganismen in einer vorgegebenen Produktmenge nach dem in dieser Norm vorgegebenen Verfahren.

Fortsetzung Seite 2 bis 5

Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) im DIN Deutsches Institut für Normung e.V.

4 Prinzip

4.1 Allgemeines

Der Nachweis von Salmonellen erfordert mehrere aufeinanderfolgende Schritte.

Bei Verwendung von kommerziell erhältlichen immunologischen Nachweisverfahren (ELFA-/ELISA-Testsysteme), die mit dieser Norm vergleichbare Ergebnisse erzielen, ist der Nachweis von Salmonellen grundsätzlich nach den Angaben des Herstellers zu führen. Das hier beschriebene Verfahren ist beispielhaft.

ANMERKUNG Salmonellen können im Probenmaterial in geringer Anzahl, subletal geschädigt oder gemeinsam mit einer größeren Anzahl anderer Mikroorganismen vorkommen. Daher sind eine Voranreicherung und eine selektive Anreicherung notwendig.

4.2 Voranreicherung in einem nicht selektiven, flüssigen Nährmedium

Gepuffertes Peptonwasser wird mit der Probe beimpft und 16 h bis 20 h bei 37 °C inkubiert.

4.3 Anreicherung in selektiven, flüssigen Medien

Ein Magnesiumchlorid-Malachitgrün-Medium (RV-Medium) und ein Selenit-Cystin-Medium werden mit der nach 4.2 erhaltenen Kultur beimpft und bei 42 °C bzw. 37 °C für 6 h bis 8 h inkubiert.

4.4 Inkubation nach der Anreicherung in einem nicht selektiven, flüssigen Medium

Mannose-(M-)Bouillon wird mit den nach 4.3 erhaltenen Kulturen beimpft und 18 h bei 42 °C inkubiert.

Nach der Inkubation werden 1 ml jeder M-Bouillon für 15 min im Wasserbad bei 100 °C erhitzt.

4.5 Nachweis von Salmonellen

Die nach 4.4 erhaltenen Suspensionen werden in einen Antikörperträger mit Salmonella-Antikörpern verbracht. Durch eine Antigen-Antikörper-Reaktion werden vorhandene Salmonellen gebunden und mit einer Fluoreszenzreaktion angezeigt.

4.6 Bestätigung und Identifizierung

Bei positivem Ausfall des Nachweises nach 4.5 werden der Teil der M-Bouillon, der nach 4.4 nicht erhitzt wurde, sowie das Magnesiumchlorid-Malachitgrün-Medium und das Selenit-Cystin-Medium nach 4.3 zur Bestätigung herangezogen. Zwei selektive feste Nährmedien werden mit diesen Kulturen beimpft.

Weiteres Vorgehen nach DIN EN 12824:1998-02, 4.3 und 4.4.

5 Nährmedien, Chemikalien und Seren

5.1 Allgemeines

Zur üblichen Laboratoriumspraxis siehe ISO 7218.

5.2 Nährmedien und Chemikalien

5.2.1 Allgemeines

Es werden alle Nährmedien und Chemikalien nach DIN EN 12824:1998-02, B.1 bis B.13 benötigt.

5.2.2 Flüssiges Medium nach der Anreicherung (M-Bouillon)