

DIN EN ISO 10272-1



ICS 07.100.30

Ersatz für
DIN EN ISO 10272-1:2017-09

**Mikrobiologie der Lebensmittelkette –
Horizontales Verfahren zum Nachweis und zur Zählung von *Campylobacter*
spp. –
Teil 1: Nachweisverfahren (ISO 10272-1:2017 + Amd 1:2023);
Deutsche Fassung EN ISO 10272-1:2017 + A1:2023**

Microbiology of the food chain –
Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. –
Part 1: Detection method (ISO 10272-1:2017 + Amd 1:2023);
German version EN ISO 10272-1:2017 + A1:2023

Microbiologie de la chaîne alimentaire –
Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Campylobacter* spp. –
Partie 1: Méthode de recherche (ISO 10272-1:2017 + Amd 1:2023);
Version allemande EN ISO 10272-1:2017 + A1:2023

Gesamtumfang 62 Seiten

DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument enthält die Europäische Norm EN ISO 10272-1:2017, erarbeitet vom Technischen Komitee CEN/TC 275 „Lebensmittelanalytik — Horizontale Verfahren“, dessen Sekretariat von DIN (Deutschland) gehalten wird, in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee ISO/TC 34 „Food products“ sowie deren Änderung 1 (EN ISO 10272-1/A1:2023), erarbeitet vom Technischen Komitee CEN/TC 463 „Mikrobiologie der Lebensmittelkette“, dessen Sekretariat von AFNOR (Frankreich) gehalten wird, in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee ISO/TC 34 „Food products“ und angenommen von CEN am 2022-11-29.

Das zuständige deutsche Gremium ist der Arbeitsausschuss NA 057-01-06 AA „Mikrobiologie der Lebensmittelkette“ im DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL).

Der Beginn und das Ende von neuem oder geändertem Text werden durch die Markierungen **A1** **A1** angezeigt.

Aktuelle Informationen zu diesem Dokument können über die Internetseiten von DIN (www.din.de) durch eine Suche nach der Dokumentennummer aufgerufen werden.

Für die in diesem Dokument zitierten internationalen Dokumente wird im Folgenden auf die entsprechenden deutschen Dokumente hingewiesen:

ISO 6887 (alle Teile)	siehe	DIN EN ISO 6887 (alle Teile)
ISO 7218	siehe	DIN EN ISO 7218
ISO 10272-2	siehe	DIN EN ISO 10272-2
ISO 11133	siehe	DIN EN ISO 11133
ISO 13307	siehe	DIN EN ISO 13307
ISO 16140 (alle Teile)	siehe	DIN EN ISO 16140 (alle Teile)
ISO 16140-6	siehe	DIN EN ISO 16140-6
ISO 17468	siehe	DIN EN ISO 17468
ISO 17604	siehe	DIN EN ISO 17604
ISO 18593	siehe	DIN EN ISO 18593
ISO 22119	siehe	DIN EN ISO 22119
ISO 22174	siehe	DIN EN ISO 22174
ISO/TS 17728	siehe	DIN CEN ISO/TS 17728 (DIN SPEC 10053)

Änderungen

Gegenüber DIN EN ISO 10272-1:2017-09 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) Abschnitt 3: Begriff 3.1 modifiziert;
- b) Unterabschnitt 4.1 um eine Anmerkung ergänzt;
- c) Unterabschnitt 9.5.1 um eine Anmerkung ergänzt;
- d) Unterabschnitt 9.6 modifiziert;
- e) Unterabschnitt 11.1 um einen Satz ergänzt;
- f) Anhang B: Abschnitt B.3 ersetzt und Abschnitt B.11 modifiziert (Tabelle B.1 ersetzt);
- g) Anhang C um eine Anmerkung ergänzt;

- h) Anhang D, Anhang E und Anhang F neu hinzugefügt;
- i) Literaturhinweise um neue Dokumente ergänzt.

Frühere Ausgaben

DIN EN ISO 10272-1: 2006-04, 2017-09

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN CEN ISO/TS 17728 (DIN SPEC 10053), *Mikrobiologie der Lebensmittelkette — Probenahmetechniken für die mikrobiologische Untersuchung von Lebensmittel- und Futtermittelproben*

DIN EN ISO 6887 (alle Teile), *Mikrobiologie der Lebensmittelkette — Vorbereitung von Untersuchungsproben und Herstellung von Erstverdünnungen und von Dezimalverdünnungen für mikrobiologische Untersuchungen*

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

DIN EN ISO 10272-2, *Mikrobiologie der Lebensmittelkette — Horizontales Verfahren zum Nachweis und zur Zählung von *Campylobacter* spp. — Teil 2: Koloniezählverfahren*

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

DIN EN ISO 13307, *Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln — Primärproduktion — Probenahmetechniken*

DIN EN ISO 16140 (alle Teile), *Mikrobiologie der Lebensmittelkette — Verfahrensvalidierung*

DIN EN ISO 16140-6, *Mikrobiologie der Lebensmittelkette — Verfahrensvalidierung — Teil 6: Arbeitsvorschrift für die Validierung von (urheberrechtlich geschützten) Alternativverfahren für die Bestätigungs- und Typisierungsprüfung*

DIN EN ISO 17468, *Mikrobiologie der Lebensmittelkette — Technische Anforderungen und Leitfaden zur Einführung oder Überarbeitung eines genormten Referenzverfahrens*

DIN EN ISO 17604, *Mikrobiologie der Lebensmittelkette — Probenahme von Schlachttierkörpern zur mikrobiologischen Untersuchung*

DIN EN ISO 18593, *Mikrobiologie der Lebensmittelkette — Horizontales Verfahren für Probenahmetechniken von Oberflächen*

DIN EN ISO 22119, *Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln — Real-time-Polymerase-Kettenreaktion (PCR) zum Nachweis von pathogenen Mikroorganismen in Lebensmitteln — Allgemeine Anforderungen und Begriffe*

DIN EN ISO 22174, *Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln — Polymerase-Kettenreaktion (PCR) zum Nachweis von pathogenen Mikroorganismen in Lebensmitteln — Allgemeine Anforderungen und Begriffe*

Deutsche Fassung

Mikrobiologie der Lebensmittelkette —
Horizontales Verfahren zum Nachweis
und zur Zählung von *Campylobacter* spp. —
Teil 1: Nachweisverfahren (ISO 10272-1:2017 + Amd 1:2023)

Microbiology of the food chain —
Horizontal method for detection
and enumeration of *Campylobacter* spp. —
Part 1: Detection method
(ISO 10272-1:2017 + Amd 1:2023)

Microbiologie de la chaîne alimentaire —
Méthode horizontale pour la recherche et le
dénombrement de *Campylobacter* spp. —
Partie 1: Méthode de recherche
(ISO 10272-1:2017 + Amd 1:2023)

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 1. Mai 2017 angenommen. Die Änderung A1 modifiziert die Europäische Norm EN ISO 10272-1:2017. Sie wurde vom CEN am 29. November 2022 angenommen.

Die CEN-Mitglieder sind gehalten, die CEN/CENELEC-Geschäftsordnung zu erfüllen, in der die Bedingungen festgelegt sind, unter denen dieser Europäischen Norm ohne jede Änderung der Status einer nationalen Norm zu geben ist. Auf dem letzten Stand befindliche Listen dieser nationalen Normen mit ihren bibliographischen Angaben sind beim CEN-CENELEC-Management-Zentrum oder bei jedem CEN-Mitglied auf Anfrage erhältlich.

Diese Europäische Norm besteht in drei offiziellen Fassungen (Deutsch, Englisch, Französisch). Eine Fassung in einer anderen Sprache, die von einem CEN-Mitglied in eigener Verantwortung durch Übersetzung in seine Landessprache gemacht und dem CEN-CENELEC-Management-Zentrum mitgeteilt worden ist, hat den gleichen Status wie die offiziellen Fassungen.

CEN-Mitglieder sind die nationalen Normungsinstitute von Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, den Niederlanden, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, der Republik Nordmazedonien, Rumänien, Schweden, der Schweiz, Serbien, der Slowakei, Slowenien, Spanien, der Tschechischen Republik, der Türkei, Ungarn, dem Vereinigten Königreich und Zypern.



EUROPÄISCHES KOMITEE FÜR NORMUNG
EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION
COMITÉ EUROPÉEN DE NORMALISATION

CEN-CENELEC Management-Zentrum: Rue de la Science 23, B-1040 Brüssel

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	6
Ⓐ) Europäisches Vorwort der Änderung 1	7
Vorwort	8
Ⓐ) Vorwort der Änderung 1	10
Einleitung	11
1 Anwendungsbereich	12
2 Normative Verweisungen	12
3 Begriffe	12
4 Kurzbeschreibung	13
4.1 Allgemeines	13
4.2 Anreicherung in selektivem flüssigen Medium	13
4.2.1 Nachweisverfahren A	13
4.2.2 Nachweisverfahren B	13
4.2.3 Nachweisverfahren C	14
4.3 Isolierung auf selektivem festen Medium	14
4.3.1 Nachweisverfahren A	14
4.3.2 Nachweisverfahren B	14
4.3.3 Nachweisverfahren C	14
4.3.4 Nachweisverfahren A, B und C	14
4.4 Bestätigung	14
5 Nährmedien und Reagenzien	14
6 Geräte und Verbrauchsmaterialien	14
7 Probenahme	15
8 Vorbereitung der Untersuchungsprobe	15
9 Durchführung	15
9.1 Allgemeines	15
9.2 Prüfmenge und Erstverdünnung	16
9.2.1 Allgemeines	16
9.2.2 Nachweisverfahren A	16
9.2.3 Nachweisverfahren B	16
9.2.4 Nachweisverfahren C	16
9.3 Anreicherung	17
9.3.1 Nachweisverfahren A	17
9.3.2 Nachweisverfahren B	17
9.4 Isolierung	17
9.4.1 Nachweisverfahren A	17
9.4.2 Nachweisverfahren B	17
9.4.3 Nachweisverfahren A, B und C	17
9.5 Bestätigung von <i>Campylobacter</i>	17
9.5.1 Allgemeines	17
9.5.2 Auswahl von Kolonien für die Bestätigung	18
9.5.3 Untersuchung der Morphologie und Beweglichkeit	18
9.5.4 Untersuchung des aeroben Wachstums bei 25 °C	18
9.5.5 Nachweis der Oxidase-Aktivität	18
9.5.6 Auswertung	19
9.6 Identifizierung von <i>Campylobacter</i> -Spezies (optional)	19
9.6.1 Allgemeines	19
9.6.2 Nachweis von Katalase-Aktivität	19
9.6.3 Nachweis der Hydrolyse von Hippurat	19
9.6.4 Nachweis der Hydrolyse von Indoxylacetat	20
9.6.5 Auswertung	20

10	Angabe der Ergebnisse	20
11	Leistungsmerkmale des Verfahrens	21
11.1	Ringversuch	21
11.2	Empfindlichkeit	21
11.3	Spezifität	21
11.4	LOD ₅₀	21
12	Untersuchungsbericht	21
Anhang A (normativ) Fließschema des Verfahrens		22
Anhang B (normativ) Nährmedien und Reagenzien		23
B.1	Allgemeines	23
B.2	Bolton-Bouillon	23
B.2.1	Grundmedium	23
B.2.2	Steriles lysiertes Pferdeblut	23
B.2.3	Antibiotische Lösung	24
B.2.4	Vollständiges Medium	24
B.3	 Preston-Bouillon	24
B.3.1	Grundmedium	24
B.3.2	Steriles lysiertes Pferdeblut	25
B.3.3	Antibiotische Lösung	25
B.3.4	Wachstumszusatz	25
B.3.5	Vollständiges Medium	25
B.4	Modifizierter Aktivkohle-Cefoperazon-Desoxycholat-Agar (mCCD-Agar)	26
B.4.1	Grundmedium	26
B.4.2	Antibiotische Lösung	26
B.4.3	Vollständiges Medium	26
B.5	Selektives Ausplattierungsmedium, bei dem andere selektive Prinzipien als bei mCCD-Agar genutzt werden	27
B.6	Columbia-Blut-Agar	27
B.6.1	Grundmedium	27
B.6.2	Steriles Schafs- oder Pferdeblut	27
B.6.3	Vollständiges Medium	27
B.7	Reagens für den Nachweis von Oxidase-Aktivität	28
B.7.1	Zusammensetzung	28
B.7.2	Herstellung	28
B.8	Reagens für den Nachweis von Katalase-Aktivität	28
B.8.1	Zusammensetzung	28
B.8.2	Herstellung	28
B.9	Reagenzien für den Nachweis der Hydrolyse von Hippurat	28
B.9.1	Natriumhippuratlösung	28
B.9.2	Ninhydrinlösung, Massenanteil von 3,5 %	28
B.10	Indoxylacetat-Plättchen	29
B.10.1	Zusammensetzung	29
B.10.2	Herstellung	29
B.11	Leistungsprüfung zur Qualitätssicherung der Nährmedien	29
Anhang C (informativ) Untersuchungen zur Verfahrensvalidierung und Leistungsmerkmale		32
Anhang D (informativ) Multiplex-Real-Time-PCR-Verfahren zur Bestätigung von thermotoleranten <i>Campylobacter</i> spp.		36
D.1	Allgemeines	36
D.2	Kurzbeschreibung	36
D.3	Reagenzien	36
D.3.1	Reagenzien für die Nukleinsäure-Extraktion	36
D.3.2	Reagenzien für die Real-Time-PCR	36
D.4	Geräte	37
D.4.1	Für die Nukleinsäure-Extraktion verwendete Ausstattung	37
D.4.2	Für die Real-Time-PCR verwendete Ausstattung	37
D.5	Durchführung	38
D.5.1	Nukleinsäure-Extraktion	38

D.5.2	PCR-Ansatz	38
D.5.3	PCR-Kontrollen	38
D.5.4	Temperatur-Zeit-Programm	39
D.6	Auswertung der Ergebnisse	39
D.7	Leistungsmerkmale des Verfahrens	39
D.7.1	Allgemeines	39
D.7.2	Theoretische Bewertung des Verfahrens	39
D.7.3	Inklusivität und Exklusivität	40
Anhang E	(informativ) PCR-Verfahren zur molekularen Bestätigung und Identifizierung von thermotoleranten <i>Campylobacter</i> spp.	41
E.1	Allgemeines	41
E.2	Gelbasiertes Multiplex-PCR-Verfahren zur Bestätigung und Identifizierung von thermotoleranten <i>Campylobacter</i> spp.	41
E.2.1	Allgemeines	41
E.2.2	Kurzbeschreibung	41
E.2.3	Reagenzien	41
E.2.4	Geräte	43
E.2.5	Durchführung	44
E.2.6	Auswertung der Ergebnisse	47
E.2.7	Leistungsmerkmale	47
E.3	Multiplex-Real-Time-PCR-Verfahren zur Bestätigung und Identifizierung von thermotoleranten <i>Campylobacter</i> spp.	49
E.3.1	Allgemeines	49
E.3.2	Kurzbeschreibung	49
E.3.3	Reagenzien	49
E.3.4	Geräte	50
E.3.5	Durchführung	51
E.3.6	Auswertung der Ergebnisse	52
E.3.7	Leistungsmerkmale	52
Anhang F	(informativ) Untersuchungen zur Verfahrensvalidierung und Leistungsmerkmale	54
F.1	Ringversuch zum Multiplex-Real-Time-PCR-Verfahren zur Bestätigung von thermotoleranten <i>Campylobacter</i> spp. (siehe Anhang D)	54
F.2	Ringversuch zum gelbasierten Multiplex-PCR-Verfahren zur Bestätigung und Identifizierung von thermotoleranten <i>Campylobacter</i> spp. (siehe Abschnitt E.2)	54
F.3	Ringversuch zum Real-Time-PCR-Verfahren zur Bestätigung und Identifizierung von thermotoleranten <i>Campylobacter</i> spp. (siehe Abschnitt E.3)	55
Literaturhinweise		57

Bilder

Bild A.1	— Fließschema der Verfahren zum Nachweis von <i>Campylobacter</i> in der Lebensmittelkette	22
----------	--	----

Tabellen

Tabelle 1	— Eigenschaften von <i>Campylobacter</i>	19
Tabelle 2	— Eigenschaften von <i>Campylobacter</i> -Spezies	20
Tabelle B.1	— Leistungsprüfung von Nährmedien für <i>Campylobacter</i>	30
Tabelle C.1	— Ergebnisse der Datenauswertung von Proben aus Blinddarm-Material von Masthähnchen (Verfahren C, direkte Ausplattierung)	33
Tabelle C.2	— Ergebnisse der Datenauswertung von Proben aus gefrorenem Spinat (Verfahren A, Bolton-Bouillon)	33

Tabelle C.3 — Ergebnisse der Datenauswertung von Proben aus Hackfleisch (Schwein/Rind) (Verfahren A, Bolton-Bouillon)	34
Tabelle C.4 — Ergebnisse der Datenauswertung von Proben aus Rohmilch (Verfahren B, Preston-Bouillon)	34
Tabelle C.5 — Ergebnisse der Datenauswertung von Proben aus Hühnerhaut (Verfahren B, Preston-Bouillon)	34
Tabelle D.1 — Sequenzen von Oligonukleotiden	37
Tabelle D.2 — Reagenzien	38
Tabelle D.3 — Temperatur-Zeit-Programm	39
Tabelle D.4 — Inklusivität und Exklusivität	40
Tabelle E.1 — Sequenzen von Oligonukleotiden	42
Tabelle E.2 — Reagenzien	45
Tabelle E.3 — Temperatur-Zeit-Programm	46
Tabelle E.4 — Größe von Amplifikationsprodukten	47
Tabelle E.5 — Inklusivität und Exklusivität	48
Tabelle E.6 — Sequenzen von Oligonukleotiden	50
Tabelle E.7 — Reagenzien	51
Tabelle E.8 — Temperatur-Zeit-Programm	52
Tabelle E.9 — Inklusivität und Exklusivität	53
Tabelle F.1 — Daten aus dem Ringversuch	54
Tabelle F.2 — Inklusivität und Exklusivität	54
Tabelle F.3 — Daten aus dem Ringversuch	55
Tabelle F.4 — Inklusivität und Exklusivität	55
Tabelle F.5 — Daten aus dem Ringversuch	56
Tabelle F.6 — Inklusivität und Exklusivität	56

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (EN ISO 10272-1:2017) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34 „Food products“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 275 „Lebensmittelanalytik — Horizontale Verfahren“ erarbeitet, dessen Sekretariat von DIN gehalten wird.

Diese Europäische Norm muss den Status einer nationalen Norm erhalten, entweder durch Veröffentlichung eines identischen Textes oder durch Anerkennung bis Januar 2018, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis Januar 2018 zurückgezogen werden.

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

Dieses Dokument ersetzt EN ISO 10272-1:2006.

Dieses Dokument wurde im Rahmen eines Normungsauftrages erarbeitet, den die Europäische Kommission und die Europäische Freihandelszone dem CEN erteilt haben.

Entsprechend der CEN-CENELEC-Geschäftsordnung sind die nationalen Normungsinstitute der folgenden Länder gehalten, diese Europäische Norm zu übernehmen: Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, Niederlande, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, Rumänien, Schweden, Schweiz, Serbien, Slowakei, Slowenien, Spanien, Tschechische Republik, Türkei, Ungarn, Vereinigtes Königreich und Zypern.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO 10272-1:2017 wurde von CEN als EN ISO 10272-1:2017 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

A1 Europäisches Vorwort der Änderung 1

Dieses Dokument (EN ISO 10272-1:2017/A1:2023) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34 „Food products“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 463 „Mikrobiologie der Lebensmittelkette“ erarbeitet, dessen Sekretariat von AFNOR gehalten wird.

Diese Europäische Norm muss den Status einer nationalen Norm erhalten, entweder durch Veröffentlichung eines identischen Textes oder durch Anerkennung bis August 2023, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis August 2023 zurückgezogen werden.

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

Rückmeldungen oder Fragen zu diesem Dokument sollten an das jeweilige nationale Normungsinstitut des Anwenders gerichtet werden. Eine vollständige Liste dieser Institute ist auf den Internetseiten von CEN abrufbar.

Entsprechend der CEN-CENELEC-Geschäftsordnung sind die nationalen Normungsinstitute der folgenden Länder gehalten, diese Europäische Norm zu übernehmen: Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, die Republik Nordmazedonien, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, Niederlande, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, Rumänien, Schweden, Schweiz, Serbien, Slowakei, Slowenien, Spanien, Tschechische Republik, Türkei, Ungarn, Vereinigtes Königreich und Zypern.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO 10272-1:2017/Amd 1:2023 wurde von CEN als EN ISO 10272-1:2017/A1:2023 ohne irgendeine Abänderung genehmigt. **A1**

Vorwort

ISO (die Internationale Organisation für Normung) ist eine weltweite Vereinigung von Nationalen Normungsorganisationen (ISO-Mitgliedsorganisationen). Die Erstellung von Internationalen Normen wird normalerweise von ISO Technischen Komitees durchgeführt. Jede Mitgliedsorganisation, die Interesse an einem Thema hat, für welches ein Technisches Komitee gegründet wurde, hat das Recht, in diesem Komitee vertreten zu sein. Internationale Organisationen, staatlich und nicht-staatlich, in Liaison mit ISO, nehmen ebenfalls an der Arbeit teil. ISO arbeitet eng mit der Internationalen Elektrotechnischen Kommission (IEC) bei allen elektrotechnischen Themen zusammen.

Die Verfahren, die bei der Entwicklung dieses Dokuments angewendet wurden und die für die weitere Pflege vorgesehen sind, werden in den ISO/IEC-Direktiven, Teil 1 beschrieben. Im Besonderen sollten die für die verschiedenen ISO-Dokumentenarten notwendigen Annahmekriterien beachtet werden. Dieses Dokument wurde in Übereinstimmung mit den Gestaltungsregeln der ISO/IEC-Direktiven, Teil 2 erarbeitet (siehe www.iso.org/directives).

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. ISO ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren. Details zu allen während der Entwicklung des Dokuments identifizierten Patentrechten finden sich in der Einleitung und/oder in der ISO-Liste der empfangenen Patenterklärungen (siehe www.iso.org/patents).

Jeder in diesem Dokument verwendete Handelsname wird als Information zum Nutzen der Anwender angegeben und stellt keine Anerkennung dar.

Eine Erläuterung der Bedeutung ISO-spezifischer Benennungen und Ausdrücke, die sich auf Konformitätsbewertung beziehen, sowie Informationen über die Beachtung der Grundsätze der Welthandelsorganisation (WTO) zu technischen Handelshemmnissen (TBT, en: Technical Barriers to Trade) durch ISO enthält der folgende Link: www.iso.org/iso/foreword.html.

Dieses Dokument wurde vom Europäischen Komitee für Normung (CEN), dem Technischen Komitee CEN/TC 275 *Lebensmittelanalytik — Horizontale Verfahren* in Zusammenarbeit mit dem ISO Technischen Komitee ISO/TC 34 *Food products*, Unterkomitee SC 9 *Microbiology* in Übereinstimmung mit der Vereinbarung über technische Zusammenarbeit zwischen ISO und CEN (Wiener Vereinbarung) erarbeitet.

Diese zweite Ausgabe ersetzt die erste Ausgabe (ISO 10272-1:2006), die technisch überarbeitet wurde. Die wichtigsten Änderungen sind folgende:

- Proben aus der Primärproduktion wurden in den Anwendungsbereich aufgenommen;
- das Nachweisverfahren wurde insofern erweitert, als dass die Möglichkeit eines zweiten Anreicherungsmediums (Preston-Bouillon) aufgenommen wurde, vorrangig, um Probleme mit Begleitflora, die resistent gegen β -Lactam-Antibiotika der dritten Generation (wie Cefoperazon im Bolton-Bouillon) ist, zu lösen;
- das Nachweisverfahren wurde insofern erweitert, als dass die Möglichkeit direkten Ausplattierens auf mCCDA aufgenommen wurde;
- die Anmerkung zur Verwendung von verschlossenen Behältern mit reduziertem Kopfraum als eine Alternative zur Bebrütung in mikroaerober Atmosphäre wurde entfernt;
- die Bestätigungsuntersuchungen durch Untersuchungen des mikroaeroben Wachstums bei 25 °C und des aeroben Wachstums bei 41,5 °C wurden durch die Untersuchung des aeroben Wachstums bei 25 °C ersetzt;
- die Leistungsprüfung zur Qualitätssicherung der Nährmedien wurde zu Anhang B hinzugefügt;

— die Leistungsmerkmale wurden zu Anhang C hinzugefügt.

Eine Liste aller Teile der Normenreihe ISO 10272 ist auf der ISO-Internetseite zu finden.

A1 Vorwort der Änderung 1

ISO (die Internationale Organisation für Normung) ist eine weltweite Vereinigung nationaler Normungsinstitute (ISO-Mitgliedsorganisationen). Die Erstellung von Internationalen Normen wird üblicherweise von Technischen Komitees von ISO durchgeführt. Jede Mitgliedsorganisation, die Interesse an einem Thema hat, für welches ein Technisches Komitee gegründet wurde, hat das Recht, in diesem Komitee vertreten zu sein. Internationale staatliche und nichtstaatliche Organisationen, die in engem Kontakt mit ISO stehen, nehmen ebenfalls an der Arbeit teil. ISO arbeitet bei allen elektrotechnischen Normungsthemen eng mit der Internationalen Elektrotechnischen Kommission (IEC) zusammen.

Die Verfahren, die bei der Entwicklung dieses Dokuments angewendet wurden und die für die weitere Pflege vorgesehen sind, werden in den ISO/IEC-Directives, Teil 1 beschrieben. Es sollten insbesondere die unterschiedlichen Annahmekriterien für die verschiedenen ISO-Dokumentenarten beachtet werden. Dieses Dokument wurde in Übereinstimmung mit den Gestaltungsregeln der ISO/IEC-Directives, Teil 2 erarbeitet (siehe www.iso.org/directives).

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. ISO ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren. Details zu allen während der Entwicklung des Dokuments identifizierten Patentrechten finden sich in der Einleitung und/oder in der ISO-Liste der erhaltenen Patenterklärungen (siehe www.iso.org/patents).

Jeder in diesem Dokument verwendete Handelsname dient nur zur Unterrichtung der Anwender und bedeutet keine Anerkennung.

Für eine Erläuterung des freiwilligen Charakters von Normen, der Bedeutung ISO-spezifischer Begriffe und Ausdrücke in Bezug auf Konformitätsbewertungen sowie Informationen darüber, wie ISO die Grundsätze der Welthandelsorganisation (WTO, en: World Trade Organization) hinsichtlich technischer Handelshemmnisse (TBT, en: Technical Barriers to Trade) berücksichtigt, siehe www.iso.org/iso/foreword.html.

Dieses Dokument wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34, *Food products*, Unterkomitee SC 9, *Microbiology*, in Zusammenarbeit mit dem Europäischen Komitee für Normung (CEN), Technisches Komitee CEN/TC 463, *Mikrobiologie der Lebensmittelkette*, in Übereinstimmung mit der Vereinbarung zur technischen Zusammenarbeit zwischen ISO und CEN (Wiener Vereinbarung) erarbeitet.

Eine Auflistung aller Teile der Normenreihe ISO 10272 ist auf der ISO-Internetseite abrufbar.

Rückmeldungen oder Fragen zu diesem Dokument sollten an das jeweilige nationale Normungsinstitut des Anwenders gerichtet werden. Eine vollständige Auflistung dieser Institute ist unter www.iso.org/members.html zu finden. **A1**

Einleitung

Die wesentlichen im Vorwort angegebenen und in diesem Dokument im Vergleich zu ISO 10272-1:2006 eingeführten Änderungen werden als geringfügig betrachtet (siehe ISO 17468).

Aufgrund der großen Vielfalt an Lebens- und Futtermittelprodukten ist dieses horizontale Verfahren nicht unbedingt bis ins Detail für bestimmte Produkte geeignet. So können bei einigen anderen Produkten gegebenenfalls andere Verfahren erforderlich werden. Dennoch ist zu hoffen, dass stets versucht wird, dieses horizontale Verfahren so weit wie möglich umzusetzen und dass Abweichungen von diesem Verfahren nur dann vorgenommen werden, wenn dies aus technischen Gründen absolut notwendig ist.

Bei der nächsten Überarbeitung dieses Dokuments werden sämtliche dann zur Verfügung stehenden Informationen über die Umsetzung dieses horizontalen Verfahrens und die Gründe für Abweichungen bei einzelnen Produkten berücksichtigt werden. Die Harmonisierung von Untersuchungsverfahren kann nicht sofort erfolgen. Für bestimmte Produktgruppen können bereits Internationale Normen und/oder nationale Normen bestehen, die diesem horizontalen Verfahren nicht entsprechen. Es ist jedoch anzustreben, solche Normen bei einer Überarbeitung an dieses Dokument anzupassen, so dass es sich bei den noch verbleibenden Abweichungen von diesem horizontalen Verfahren schlussendlich nur um solche handelt, die aus berechtigten technischen Gründen erforderlich sind.

1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument legt ein horizontales Verfahren zum Nachweis von *Campylobacter* spp. durch Anreicherung oder direktes Ausplattieren fest. Es ist anwendbar für

- Produkte, die für den menschlichen Verzehr bestimmt sind,
- Produkte, die als Futtermittel bestimmt sind,
- Umgebungsproben im Bereich der Herstellung von Lebens- und Futtermitteln und beim Umgang mit Lebens- und Futtermitteln und
- Proben aus der Primärproduktion, wie Tierkot, Staub und Tupfer.

WARNUNG — Um die Gesundheit des Laborpersonals sicherzustellen, ist es unerlässlich, dass Untersuchungen zum Nachweis von *Campylobacter* nur in ordnungsgemäß ausgestatteten Laboren unter Aufsicht eines erfahrenen Mikrobiologen vorgenommen werden und dass das gesamte bebrütete Material mit größter Sorgfalt entsorgt wird. Personen, die dieses Dokument anwenden, sollten mit der üblichen Laborpraxis vertraut sein. Dieses Dokument erhebt nicht den Anspruch, dass alle mit seiner Anwendung verbundenen Sicherheitsaspekte, falls vorhanden, angesprochen werden. Es obliegt der Verantwortung des Anwenders, angemessene Sicherheits- und Gesundheitsschutzmaßnahmen zu treffen.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente werden im Text in solcher Weise in Bezug genommen, dass einige Teile davon oder ihr gesamter Inhalt Anforderungen des vorliegenden Dokuments darstellen. 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).

ISO 6887 (alle Teile), *Microbiology of the food chain — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination*

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

ISO 11133, *Microbiology of food, animal feed and water — Preparation, production, storage and performance testing of culture media*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten folgende Begriffe.

ISO und IEC stellen terminologische Datenbanken für die Verwendung in der Normung unter den folgenden Adressen bereit:

- IEC Electropedia: unter <http://www.electropedia.org/>
- ISO Online Browsing Platform: unter <http://www.iso.org/obp>

3.1

Campylobacter

[A] Gattung von Mikroorganismen der Familie *Campylobacteraceae*, die auf selektiven festen Medien, wie modifiziertem Aktivkohle-Cefoperazon-Desoxycholat-(mCCD-)Agar, nach Bebrütung in einer mikroaeroben Atmo-

sphäre bei 41,5 °C charakteristische Kolonien bilden und bei biochemischen Bestätigungsuntersuchungen und mikroskopischer Untersuchung bestimmte Merkmale aufweisen

Anmerkung 1 zum Begriff: Mikroskopie, die biochemischen Bestätigungsuntersuchungen und die Eigenschaften von *Campylobacter* sind in 9.5 beschrieben.

Anmerkung 2 zum Begriff: Dieses Dokument bezieht sich auf die thermotoleranten *Campylobacter*-Spezies, die für die menschliche Gesundheit relevant sind. Die am häufigsten vorkommenden und für die menschliche Gesundheit relevanten Spezies sind *Campylobacter jejuni* und *Campylobacter coli*. Jedoch sind auch weitere Spezies beschrieben worden (*Campylobacter lari*, *Campylobacter upsaliensis* und weitere).

Anmerkung 3 zum Begriff: *Campylobacter* lässt sich in der Regel in den selektiven Anreicherungsmedien Bolton-Bouillon und Preston-Bouillon züchten. ^{A1}

3.2

Nachweis von *Campylobacter*

Bestimmung der Anwesenheit oder Abwesenheit von *Campylobacter* (3.1) in einer vorgegebenen Produktmenge, wenn die Untersuchung nach diesem Dokument durchgeführt wird

4 Kurzbeschreibung

4.1 Allgemeines

Der Nachweis von *Campylobacter* erfordert drei aufeinanderfolgende Schritte, wie in Anhang A festgelegt.

In Abhängigkeit von der Art der Probe und dem Zweck der Untersuchung können drei verschiedene Nachweisverfahren angewendet werden:

- **Nachweisverfahren A:** Nachweis von *Campylobacter* durch Anreicherung, bei Proben mit geringer Anzahl von *Campylobacter* und geringer Menge an Begleitflora und/oder mit gestressten *Campylobacter*;
- **Nachweisverfahren B:** Nachweis von *Campylobacter* durch Anreicherung, bei Proben mit geringer Anzahl von *Campylobacter* und starker Begleitflora;
- **Nachweisverfahren C:** Nachweis von *Campylobacter* durch direktes Ausplattieren, bei Proben mit hoher Anzahl von *Campylobacter*.

^{A1} ANMERKUNG Die im Nachweisverfahren B verwendete Anreicherungsbouillon (Preston-Bouillon) kann zu selektiv sein, um die Wiederfindung von *Campylobacter*-Stämmen (insbesondere *C. coli*) zu ermöglichen, siehe ISO 17995 [18]. Die Zugabe von Wachstumszusatz zur Preston-Bouillon verbessert die Wiederfindung von *Campylobacter* spp. und einige Stämme wachsen ohne diesen Zusatz nicht. Dieses Problem trat nach der Veröffentlichung von ISO 10272-1:2017 auf und ist auf die Eigenschaften der antibiotischen Lösung zurückzuführen. Unterstützende Daten sind abrufbar unter: <https://standards.iso.org/iso/10272/-1/ed-1/en/amd/1/>. ^{A1}

4.2 Anreicherung in selektivem flüssigen Medium

4.2.1 Nachweisverfahren A

Die Prüfmenge wird zu dem flüssigen Anreicherungsmedium (Bolton-Bouillon) hinzugefügt.

Es wird in mikroaerober Atmosphäre 4 h bis 6 h bei 37 °C und anschließend 44 h bei 41,5 °C bebrütet.

4.2.2 Nachweisverfahren B

Die Prüfmenge wird zu dem flüssigen Anreicherungsmedium (Preston-Bouillon) hinzugefügt.

Es wird in mikroaerober Atmosphäre 24 h bei 41,5 °C bebrütet.

4.2.3 Nachweisverfahren C

Es wird kein Anreicherungsverfahren durchgeführt.

4.3 Isolierung auf selektivem festen Medium

4.3.1 Nachweisverfahren A

Von der in 4.2 erhaltenen Anreicherungskultur werden zwei selektive feste Medien beimpft:

- modifizierter Aktivkohle-Cefoperazon-Desoxycholat-Agar (mCCD-Agar);
- ein weiteres selektives festes Medium für *Campylobacter*, bei dem andere selektive Prinzipien als bei mCCD-Agar genutzt werden.

4.3.2 Nachweisverfahren B

Von der in 4.2 erhaltenen Anreicherungskultur wird der selektive mCCD-Agar beimpft.

4.3.3 Nachweisverfahren C

Die Prüfmenge wird direkt oder nach dem Suspendieren in einer geeigneten Menge an Flüssigkeit auf dem selektiven mCCD-Agar ausplattiert.

4.3.4 Nachweisverfahren A, B und C

Die selektiven festen Medien werden bei 41,5 °C in mikroaerober Atmosphäre bebrütet und nach 44 h darauf untersucht, ob verdächtige *Campylobacter*-Kolonien vorhanden sind.

4.4 Bestätigung

Die verdächtigen *Campylobacter*-Kolonien werden mit einem Mikroskop auf Morphologie und Beweglichkeit untersucht und auf einem nicht selektiven Blut-Agar subkultiviert; anschließend erfolgt die Bestätigung durch Nachweis von Oxidase-Aktivität und eine aerobe Wachstumsprüfung bei 25 °C. Optional werden die *Campylobacter*-Spezies durch spezifische biochemische Untersuchungen und/oder molekulare Verfahren identifiziert.

5 Nährmedien und Reagenzien

Zur üblichen Laborpraxis siehe ISO 7218 und ISO 11133.

Zusammensetzung von Nährmedien und Reagenzien sowie deren Herstellung sind in Anhang B beschrieben.

Zur Leistungsprüfung von Nährmedien siehe Anhang B.

6 Geräte und Verbrauchsmaterialien

Ausstattung zum Einmalgebrauch mit geeigneten Kennwerten ist eine annehmbare Alternative zu wiederverwendbaren Glasgeräten.

Übliche Ausstattung mikrobiologischer Labore (siehe ISO 7218) und insbesondere Folgendes.

6.1 Brutschränke, auf (25 ± 1) °C, (37 ± 1) °C und $(41,5 \pm 1)$ °C einstellbar.

6.2 Wasserbad, auf (37 ± 1) °C einstellbar.

6.3 Sterile Impfösen, mit einem Volumen von 10 µl und einem Volumen von 1 µl, und **Impfnadel** oder **Impfdraht**.

Impfösen aus Nickel/Chrom sind für den Oxidase-Nachweis (siehe 9.5.5) nicht geeignet.

6.4 Mikroskop, vorzugsweise mit Phasenkontrast (für die Betrachtung der charakteristischen Morphologie und Beweglichkeit von *Campylobacter*).

6.5 Geeignete Vorrichtung zum Erreichen einer mikroaeroben Atmosphäre, mit einem Sauerstoffgehalt von $(5 \pm 2) \%$, Kohlendioxidgehalt von $(10 \pm 3) \%$ und wahlweise einem Wasserstoffgehalt von $\leq 10 \%$, mit einem ausgleichenden Stickstoffgehalt.

Die geeignete mikroaerobe Atmosphäre kann mithilfe gasdichter Töpfe und Gasentwickler-Kits unter genauer Einhaltung der Anweisungen des Herstellers erreicht werden. Alternativ darf der Topf oder Brutschrank vor der Bebrütung mit einem geeigneten Gasgemisch gefüllt werden.

6.6 Sterile Petrischalen, mit einem Durchmesser von etwa 90 mm, vorzugsweise mit Nocken, um eine mikroaerobe Bebrütung zu begünstigen.

6.7 Kühlschränke, auf $(3 \pm 2) ^\circ\text{C}$ und auf $(5 \pm 3) ^\circ\text{C}$ einstellbar.

7 Probenahme

Die Probenahme ist kein Bestandteil des in diesem Dokument festgelegten Verfahrens. Siehe die spezifische Internationale Norm, die sich mit dem betreffenden Produkt befasst. Liegt keine spezifische Internationale Norm vor, die sich mit der Probenahme des betreffenden Produktes befasst, wird den betreffenden Vertragspartnern empfohlen, diesbezüglich eine Vereinbarung zu treffen.

Ein empfohlenes Probenahmeverfahren für Lebens- und Futtermittel ist in ISO/TS 17728, für die Probenahme aus dem Bereich der Primärproduktion in ISO 13307, für die Probenahme von Schlacht tierkörpern in ISO 17604 und für die Probenahme von Oberflächen in ISO 18593 angeführt.

Es ist wichtig, dass das Labor eine Probe erhält, die repräsentativ ist, und die Probe sollte während des Transports oder der Lagerung nicht beschädigt oder verändert worden sein.

Da *Campylobacter* sehr empfindlich gegenüber Einfrieren ist, jedoch am besten bei niedrigen Temperaturen überlebt, sollten die zu untersuchenden Proben nicht eingefroren, sondern bei $3 ^\circ\text{C}$ (6.7) gelagert und so bald wie möglich analysiert werden. Die Proben sind auch vor dem Austrocknen zu bewahren.

8 Vorbereitung der Untersuchungsprobe

Die Untersuchungsprobe wird nach der spezifischen Internationalen Norm, die sich mit dem betreffenden Produkt befasst, aus der Laborprobe vorbereitet; siehe ISO 6887 (alle Teile). Liegt keine spezifische Internationale Norm vor, wird den betreffenden Vertragspartnern empfohlen, diesbezüglich eine Vereinbarung zu treffen.

9 Durchführung

9.1 Allgemeines

In Abhängigkeit von der Art der Probe und dem Zweck der Untersuchung wird bzw. werden ein oder mehrere der drei verschiedenen Nachweisverfahren angewendet:

- **Nachweisverfahren A:** Nachweis von *Campylobacter* durch Anreicherung, bei Proben mit geringer Anzahl von *Campylobacter* und geringer Menge an Begleitflora und/oder mit gestressten *Campylobacter*, z. B. gekochte oder gefrorene Produkte;