

DIN EN ISO 10272-2



ICS 07.100.30

Ersatz für
DIN EN ISO 10272-2:2017-09

**Mikrobiologie der Lebensmittelkette –
Horizontales Verfahren zum Nachweis und zur Zählung von *Campylobacter*
spp. –
Teil 2: Koloniezählverfahren (ISO 10272-2:2017 + Amd 1:2023);
Deutsche Fassung EN ISO 10272-2:2017 + A1:2023**

Microbiology of the food chain –
Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. –
Part 2: Colony-count technique (ISO 10272-2:2017 + Amd 1:2023);
German version EN ISO 10272-2:2017 + A1:2023

Microbiologie de la chaîne alimentaire –
Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Campylobacter* spp. –
Partie 2: Technique par comptage des colonies (ISO 10272-2:2017 + Amd 1:2023);
Version allemande EN ISO 10272-2:2017 + A1:2023

Gesamtumfang 55 Seiten

DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument enthält die Europäische Norm EN ISO 10272-2:2017, 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 10272-2/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 5725-2:1994	siehe	DIN ISO 5725-2:2002-12
ISO 6887 (alle Teile)	siehe	DIN EN ISO 6887 (alle Teile)
ISO 7218	siehe	DIN EN ISO 7218
ISO 11133	siehe	DIN EN ISO 11133
ISO 13307	siehe	DIN EN ISO 13307
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 10272-2:2017-09 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) Abschnitt 3: Begriff 3.1 modifiziert;
- b) Unterabschnitt 9.4.1 um eine Anmerkung ergänzt;
- c) Unterabschnitt 9.5.1 modifiziert;
- d) Unterabschnitt 9.5.4 modifiziert;
- e) Unterabschnitt 9.5.5 modifiziert (Tabelle 2 ersetzt);
- f) Unterabschnitt 11.1 um einen Satz ergänzt;
- g) Anhang B: Abschnitt B.2 modifiziert;
- h) Anhang B: Abschnitt B.9 modifiziert (Tabelle B.1 ersetzt);

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

Frühere Ausgaben

DIN EN ISO 10272-2: 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 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 16140-6, *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*

DIN ISO 5725-2:2002-12, *Genauigkeit (Richtigkeit und Präzision) von Messverfahren und Messergebnissen — Teil 2: Grundlegende Methode für Ermittlung der Wiederhol- und Vergleichpräzision eines vereinheitlichten Messverfahrens (ISO 5725-2:1994 einschließlich Technisches Korrigendum 1:2002)*

Deutsche Fassung

Mikrobiologie der Lebensmittelkette —
Horizontales Verfahren zum Nachweis
und zur Zählung von *Campylobacter* spp. —
Teil 2: Koloniezählverfahren
(ISO 10272-2:2017 + Amd 1:2023)

Microbiology of the food chain —
Horizontal method for detection
and enumeration of *Campylobacter* spp. —
Part 2: Colony-count technique
(ISO 10272-2:2017 + Amd 1:2023)

Microbiologie de la chaîne alimentaire —
Méthode horizontale pour la recherche et le
dénombrement de *Campylobacter* spp. —
Partie 2: Technique par comptage des colonies
(ISO 10272-2:2017 + Amd 1:2023);

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 1. Mai 2017 angenommen. Die Änderung A1 modifiziert die Europäische Norm EN ISO 10272-2:2017. 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	5
Ⓐ) Europäisches Vorwort der Änderung 1	6
Vorwort	7
Ⓐ) Vorwort der Änderung 1	8
Einleitung	9
1 Anwendungsbereich	10
2 Normative Verweisungen	10
3 Begriffe	10
4 Kurzbeschreibung	11
4.1 Allgemeines	11
4.2 Herstellung von Verdünnungen	11
4.3 Zählung	11
4.4 Bestätigung	11
5 Nährmedien und Reagenzien	11
6 Geräte und Verbrauchsmaterialien	12
7 Probenahme	12
8 Vorbereitung der Untersuchungsprobe	13
9 Durchführung	13
9.1 Prüfmenge, Erstverdünnung und weitere Verdünnungen	13
9.2 Beimpfung und Bebrütung	13
9.3 Zählung charakteristischer Kolonien	13
9.4 Bestätigung von <i>Campylobacter</i>	14
9.4.1 Allgemeines	14
9.4.2 Auswahl von Kolonien für die Bestätigung	14
9.4.3 Untersuchung der Morphologie und Beweglichkeit	14
9.4.4 Untersuchung des aeroben Wachstums bei 25 °C	14
9.4.5 Nachweis von Oxidase-Aktivität	14
9.4.6 Auswertung	15
9.5 Identifizierung von <i>Campylobacter</i> -Spezies (optional)	15
9.5.1 Allgemeines	15
9.5.2 Nachweis von Katalase-Aktivität	15
9.5.3 Nachweis der Hydrolyse von Hippurat	15
9.5.4 Nachweis der Hydrolyse von Indoxylacetat	16
9.5.5 Auswertung	16
10 Angabe der Ergebnisse	17
11 Leistungsmerkmale des Verfahrens	17
11.1 Ringversuch	17
11.2 Wiederholgrenze	17
11.3 Vergleichsgrenze	18
12 Untersuchungsbericht	19
Anhang A (normativ) Fließschema des Verfahrens	20
Anhang B (normativ) Nährmedien und Reagenzien	21
B.1 Allgemeines	21
B.2 Verdünnungsmittel	21
B.3 Modifizierter Aktivkohle-Cefoperazon-Desoxycholat-Agar (mCCD-Agar)	21
B.3.1 Grundmedium	21
B.3.2 Antibiotische Lösung	22
B.3.3 Vollständiges Medium	22
B.4 Columbia-Blut-Agar	22
B.4.1 Grundmedium	22
B.4.2 Steriles Schafs- oder Pferdeblut	23

B.4.3	Vollständiges Medium	23
B.5	Reagens für den Nachweis von Oxidase-Aktivität	23
B.5.1	Zusammensetzung	23
B.5.2	Herstellung	23
B.6	Reagens für den Nachweis von Katalase-Aktivität	23
B.6.1	Zusammensetzung	23
B.6.2	Herstellung	23
B.7	Reagenzien für den Nachweis der Hydrolyse von Hippurat	23
B.7.1	Natriumhippuratlösung	23
B.7.2	Ninhydrinlösung, Massenanteil von 3,5 %	24
B.8	Indoxylacetat-Plättchen	24
B.8.1	Zusammensetzung	24
B.8.2	Herstellung	24
B.9	Leistungsprüfung zur Qualitätssicherung der Nährmedien	24
Anhang C (informativ)	Untersuchungen zur Verfahrensvalidierung und Leistungsmerkmale	26
Anhang D (informativ)	Multiplex-Real-Time-PCR-Verfahren zur Bestätigung von thermotoleranten <i>Campylobacter</i> spp.	29
D.1	Allgemeines	29
D.2	Kurzbeschreibung	29
D.3	Reagenzien	29
D.3.1	Reagenzien für die Nukleinsäure-Extraktion	29
D.3.2	Reagenzien für die Real-Time-PCR	29
D.4	Geräte	30
D.4.1	Für die Nukleinsäure-Extraktion verwendete Ausstattung	30
D.4.2	Für die Real-Time-PCR verwendete Ausstattung	30
D.5	Durchführung	31
D.5.1	Nukleinsäure-Extraktion	31
D.5.2	PCR-Ansatz	31
D.5.3	PCR-Kontrollen	31
D.5.4	Temperatur-Zeit-Programm	32
D.6	Auswertung der Ergebnisse	32
D.7	Leistungsmerkmale des Verfahrens	32
D.7.1	Allgemeines	32
D.7.2	Theoretische Bewertung des Verfahrens	32
D.7.3	Inklusivität und Exklusivität	33
Anhang E (informativ)	PCR-Verfahren zur molekularen Bestätigung und Identifizierung von thermotoleranten <i>Campylobacter</i> spp.	34
E.1	Allgemeines	34
E.2	Gelbasiertes Multiplex-PCR-Verfahren zur Bestätigung und Identifizierung von thermotoleranten <i>Campylobacter</i> spp.	34
E.2.1	Allgemeines	34
E.2.2	Kurzbeschreibung	34
E.2.3	Reagenzien	34
E.2.4	Geräte	36
E.2.5	Durchführung	37
E.2.6	Auswertung der Ergebnisse	40
E.2.7	Leistungsmerkmale	40
E.3	Multiplex-Real-Time-PCR-Verfahren zur Bestätigung und Identifizierung von thermotoleranten <i>Campylobacter</i> spp.	41
E.3.1	Allgemeines	41
E.3.2	Kurzbeschreibung	41
E.3.3	Reagenzien	41
E.3.4	Geräte	43
E.3.5	Durchführung	43
E.3.6	Auswertung der Ergebnisse	45
E.3.7	Leistungsmerkmale	45
Anhang F (informativ)	Untersuchungen zur Verfahrensvalidierung und Leistungsmerkmale	47

F.1	Ringversuch zum Multiplex-Real-Time-PCR-Verfahren zur Bestätigung von thermotoleranten <i>Campylobacter</i> spp. (siehe Anhang D)	47
F.2	Ringversuch zum gelbasierten Multiplex-PCR-Verfahren zur Bestätigung und Identifizierung von thermotoleranten <i>Campylobacter</i> spp. (siehe Abschnitt E.2)	47
F.3	Ringversuch zum Real-Time-PCR-Verfahren zur Bestätigung und Identifizierung von thermotoleranten <i>Campylobacter</i> spp. (siehe Abschnitt E.3)	48
	Literaturhinweise	50

Bilder

Bild A.1	Fließschema des Verfahrens zur Zählung von <i>Campylobacter</i> in der Lebensmittelkette	20
----------	--	----

Tabellen

Tabelle 1	Eigenschaften von <i>Campylobacter</i>	15
Tabelle 2	Eigenschaften von <i>Campylobacter</i> -Spezies	17
Tabelle B.1	Leistungsprüfung von Nährmedien für <i>Campylobacter</i>	25
Tabelle C.1	Ergebnisse der Datenanalyse, erhalten mit Blinddarm-Material von Masthähnchen	26
Tabelle C.2	Ergebnisse der Datenanalyse, erhalten mit gefrorenem Spinat	27
Tabelle C.3	Ergebnisse der Datenanalyse, erhalten mit gefrorenem Hackfleisch (Schwein/Rind)	27
Tabelle C.4	Ergebnisse der Datenanalyse, erhalten mit Rohmilch	28
Tabelle C.5	Ergebnisse der Datenanalyse, erhalten mit Hühnerhaut	28
Tabelle D.1	Sequenzen von Oligonukleotiden	30
Tabelle D.2	Reagenzien	31
Tabelle D.3	Temperatur-Zeit-Programm	32
Tabelle D.4	Inklusivität und Exklusivität	33
Tabelle E.1	Sequenzen von Oligonukleotiden	35
Tabelle E.2	Reagenzien	37
Tabelle E.3	Temperatur-Zeit-Programm	38
Tabelle E.4	Größe von Amplifikationsprodukten	39
Tabelle E.5	Inklusivität und Exklusivität	41
Tabelle E.6	Sequenzen von Oligonukleotiden	42
Tabelle E.7	Reagenzien	44
Tabelle E.8	Temperatur-Zeit-Programm	45
Tabelle E.9	Inklusivität und Exklusivität	46
Tabelle F.1	Daten aus dem Ringversuch	47
Tabelle F.2	Inklusivität und Exklusivität	47
Tabelle F.3	Daten aus dem Ringversuch	48
Tabelle F.4	Inklusivität und Exklusivität	48
Tabelle F.5	Daten aus dem Ringversuch	49
Tabelle F.6	Inklusivität und Exklusivität	49

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (EN ISO 10272-2:2017) 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 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 10272-2:2017 wurde von CEN als EN ISO 10272-2:2017 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

▣_{A1} Europäisches Vorwort der Änderung 1

Dieses Dokument (EN ISO 10272-2:2017/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 10272-2:2017/Amd 1:2023 wurde von CEN als EN ISO 10272-2:2017/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 erste Ausgabe ersetzt ISO/TS 10272-2:2006, die technisch überarbeitet wurde. Die wichtigsten Änderungen sind folgende:

- Proben aus der Primärproduktion wurden in den Anwendungsbereich aufgenommen;
- Verdünnungsreihen werden in Angleichung an ISO 7218 einzeln statt doppelt ausplattiert;
- 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/TS 10272-2:2006 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 Einzelne 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 zur Zählung von *Campylobacter* spp. 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 zur Zählung 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 unterhalten terminologische Datenbanken für die Verwendung in der Normung unter den folgenden Adressen:

- 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 9.4 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

Zählung von *Campylobacter*

Bestimmung der Anzahl an koloniebildenden Einheiten (KBE) von *Campylobacter* (3.1), die je Gramm, je Milliliter, je Quadratzentimeter oder je Probenahmeverrichtung bei Untersuchung nach diesem Dokument festgestellt werden

4 Kurzbeschreibung

4.1 Allgemeines

Die Zählung von *Campylobacter* erfordert drei aufeinanderfolgende Schritte, wie in Anhang A festgelegt.

4.2 Herstellung von Verdünnungen

In Bezug auf die Herstellung von Dezimalverdünnungen aus der Prüfmenge siehe ISO 6887.

4.3 Zählung

Das selektive feste Medium, modifizierter Aktivkohle-Cefoperazon-Desoxycholat-Agar (mCCD-Agar), wird bei flüssigen Produkten mit einem festgelegten Umfang der Prüfmenge bzw. bei anderen Produkten mit einem festgelegten Umfang an Erstverdünnung beimpft.

Unter denselben Bedingungen werden unter Verwendung von Dezimalverdünnungen der Prüfmenge oder der Erstverdünnung weitere Platten hergestellt.

Die Platten werden bei 41,5 °C in mikroaerober Atmosphäre bebrütet und nach 44 h untersucht, um die Anzahl der verdächtigen *Campylobacter*-Kolonien zu erfassen.

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 der Oxidase-Aktivität und eine aerobe Wachstumsprüfung bei 25 °C. Optional werden die *Campylobacter*-Spezies durch spezifische biochemische Untersuchungen und/oder molekulare Verfahren identifiziert.

Die Anzahl von koloniebildenden Einheiten (KBE) von *Campylobacter* je Einheit der Prüfmenge wird aus der Anzahl der bestätigten typischen Kolonien je Platte berechnet.

5 Nährmedien und Reagenzien

Zur üblichen Laborpraxis siehe ISO 7218 und ISO 11133.

Die Zusammensetzung der 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 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$, $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ und $(41,5 \pm 1)^\circ\text{C}$ einstellbar.

6.2 Wasserbad, auf $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ 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 9.4.5) nicht geeignet.

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

6.5 Geeignete Vorrichtung für das 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 und (wahlweise) große Petrischalen (Durchmesser etwa 140 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 Schlachttierkörpern 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°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 Prüfmenge, Erstverdünnung und weitere Verdünnungen

Siehe ISO 6887 und die spezifische, das betreffende Produkt behandelnde Internationale Norm.

Bei flüssigen Produkten wird aus der Prüfmenge bzw. bei anderen Produkten aus der Erstverdünnung eine Dezimalverdünnungsreihe hergestellt.

9.2 Beimpfung und Bebrütung

9.2.1 Mit einer sterilen Pipette wird 0,1 ml der Erstverdünnung (oder der Probe bei flüssigen Produkten) (9.1) auf die mCCD-Agarplatte (Abschnitt B.3) überführt. Der Vorgang wird bei Bedarf mit weiteren Dezimalverdünnungen wiederholt. Wird nur die Erstverdünnung verwendet, wird mit einer weiteren Platte eine Doppelbestimmung durchgeführt.

Wenn es bei bestimmten Produkten notwendig ist, geringe Keimzahlen von *Campylobacter* zu schätzen, darf die Auszählgrenze um einen Faktor von 10 verringert werden, indem 1,0 ml der Erstverdünnung untersucht wird. 1,0 ml des Inokulums wird auf der Oberfläche des Agarmediums in entweder einer großen Petrischale (140 mm) oder drei normalen Platten (90 mm) verteilt. In beiden Fällen werden Parallelproben hergestellt, indem zwei große Platten oder sechs normale Platten verwendet werden.

9.2.2 Mit einem sterilen Spatel wird das Inokulum gleichmäßig so schnell wie möglich auf die Agaroberfläche ausgestrichen. Es ist zu vermeiden, die Seitenwände der Petrischale mit dem Spatel zu berühren.

ANMERKUNG Das Trocknen der Platten ist für den Erhalt auszählbarer Platten entscheidend. Jedes Labor muss sachgerecht seine eigene einheitliche Methode zur Trocknung der Platten durchführen.

9.2.3 Die Platten (9.2.2) werden bei 41,5 °C (6.1) in mikroaerober Atmosphäre (6.5) bebrütet.

9.3 Zählung charakteristischer Kolonien

9.3.1 Nach (44 ± 4) h Bebrütung werden die Platten (9.2.3) auf das Vorhandensein typischer und/oder verdächtiger *Campylobacter*-Kolonien überprüft.

Typische Kolonien auf mCCD-Agar sind gräulich, oft mit metallischem Schein, flach und feucht und neigen zur Ausbreitung. Die Kolonien breiten sich tendenziell auf trockenerer Agaroberfläche weniger aus. Andere Kolonieförmigkeiten sind möglich.

ANMERKUNG Die Identifizierung von *Campylobacter*-Kolonien beruht zu einem großen Teil auf Erfahrung, und ihr Aussehen kann etwas variieren, nicht nur von Stamm zu Stamm, sondern auch von Charge zu Charge des verwendeten selektiven Nährmediums.

9.3.2 Die Platten (9.3.1), die weniger als 150 typische oder verdächtige Kolonien enthalten, werden ausgewählt; diese Kolonien werden gezählt und ihre Anzahl wird als präsumtive Kolonien je Platte aufgezeichnet. Anschließend werden fünf derartige Kolonien nach dem Zufallsprinzip zum Subkultivieren für die Bestätigungsprüfungen (9.4) ausgewählt.