

DIN EN ISO 11290-1



ICS 07.100.30

Ersatz für
DIN EN ISO 11290-1:1997-03

**Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln –
Horizontales Verfahren für den Nachweis und die Zählung von *Listeria monocytogenes* –
Teil 1: Nachweisverfahren (ISO 11290-1:1996 + AMD 1:2004);
Deutsche Fassung EN ISO 11290-1:1996 + A1:2004**

Microbiology of food and animal feeding stuffs –
Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* –
Part 1: Detection method (ISO 11290-1:1996 + AMD 1:2004);
German version EN ISO 11290-1:1996 + A1:2004

Microbiologie des aliments –
Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Listeria monocytogenes* –
Partie 1: Méthode de recherche (ISO 11290-1:1996 + AMD 1:2004);
Version allemande EN ISO 11290-1:1996 + A1:2004

Gesamtumfang 36 Seiten

Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) im DIN

Nationales Vorwort

Diese Europäische Norm enthält unverändert die Internationale Norm ISO 11290-1:1996 + AMD 1:2004, die vom Unterkomitee SC 9 „Mikrobiologie der Lebensmittel und Futtermittel“ (Sekretariat: Frankreich) des Technischen Komitees ISO/TC 34 „Landwirtschaftliche Lebensmittelerzeugnisse“ (Sekretariat: Ungarn) erarbeitet wurde. Aufgrund der Ergebnisse der parallelen Abstimmung im Rahmen der Wiener Vereinbarung gilt diese Norm ebenso als Europäische Norm EN ISO 11290-1:1996 + A1:2004.

Die Mitarbeit des DIN in der Arbeitsgruppe 6 des CEN/TC 275 wird über den Arbeitsausschuss „Mikrobiologische Lebensmitteluntersuchung einschließlich Schnellverfahren“ des Normenausschusses Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) wahrgenommen.

Anlass zur Überarbeitung der ISO 11290-1:1996 war die Entscheidung, die Selektivmedien zu ändern und Präzisionsdaten einzuarbeiten.

Der Text der Änderung ist durch eine senkrechte Linie am linken Rand gekennzeichnet.

Für die im Abschnitt 2 zitierte Internationale Norm wird im Folgenden auf die entsprechende aktuelle Deutsche Norm hingewiesen:

ISO 6887 siehe DIN EN ISO 6887 (alle Teile)

Änderungen

Gegenüber DIN EN ISO 11290-1:1997-03 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

— Änderungen EN ISO 11290-1:1996/A1:2004 eingearbeitet

Frühere Ausgaben

DIN EN ISO 11290-1:1997-03

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

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

ICS 07.100.30

Deutsche Fassung

Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln Horizontales Verfahren für den Nachweis und die Zählung von *Listeria monocytogenes* Teil 1: Nachweisverfahren (ISO 11290-1:1996 + AMD 1:2004)

Microbiology of food and animal feeding stuffs —
Horizontal method for the detection and enumeration of
Listeria monocytogenes —
Part 1: Detection method
(ISO 11290-1:1996 + AMD 1:2004)

Microbiologie des aliments —
Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement
de *Listeria monocytogenes* —
Partie 1: Méthode de recherche
(ISO 11290-1:1996 + AMD 1:2004)

Diese Europäische Norm wurde von CEN am 15. November 1996 angenommen.

Die Änderung A1 wurde von CEN am 30. September 2004 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 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 Management-Zentrum mitgeteilt worden ist, hat den gleichen Status wie die offiziellen Fassungen.

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



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

Management-Zentrum: rue de Stassart, 36 B-1050 Brüssel

Inhalt

	Seite
Vorwort.....	3
Vorwort der Änderung A 1	4
Einleitung	5
1 Anwendungsbereich	6
2 Normative Verweisungen	6
3 Begriffe.....	6
4 Prinzip	6
5 Nährmedien und Chemikalien.....	7
6 Geräte und Glasgeräte.....	8
7 Probenahme.....	9
8 Vorbereitung der Untersuchungsprobe.....	9
9 Durchführung	10
10 Angabe der Ergebnisse	14
11 Präzision des Verfahrens	15
12 Untersuchungsbericht.....	16
Anhang A (normativ) Verfahrensschema.....	17
Anhang B (normativ) Zusammensetzung und Herstellung der Nährmedien und Reagenzien	18
Anhang C (informativ) Beleuchtungstest nach Henry	30
Anhang D (informativ) Ergebnisse des Ringversuchs.....	31
Literaturhinweise.....	34

Vorwort

Dieses Dokument EN ISO 11290-1:1996 wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34 „Agricultural food products“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 275 „Lebensmittelanalytik — Horizontale Verfahren“ erarbeitet, dessen Sekretariat vom DIN gehalten wird.

Diese Europäische Norm muss den Status einer nationalen Norm erhalten, entweder durch Veröffentlichung eines identischen Textes oder durch Anerkennung bis Juni 1997, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis Juni 1997 zurückgezogen werden.

Entsprechend der CEN/CENELEC-Geschäftsordnung sind die nationalen Normungsinstitute der folgenden Länder gehalten, diese Europäische Norm zu übernehmen: Belgien, Dänemark, Deutschland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Luxemburg, Niederlande, Norwegen, Österreich, Portugal, Schweden, Schweiz, Spanien und das Vereinigte Königreich.

ISO 11290-1 besteht aus den folgenden Teilen unter dem allgemeinen Titel: *Mikrobiologie — Horizontales Verfahren für den Nachweis und die Zählung von Listeria monocytogenes*:

— Teil 1: Nachweisverfahren

— Teil 2: Zählverfahren

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO 11290-1:1996 wurde vom CEN als EN ISO 11290-1:1996 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

Vorwort der Änderung A 1

Der Text der Änderung EN ISO 11290-1:1996/A1:2004 zur EN ISO 11290-1:1996 des Technischen Komitees ISO/TC 34 „Lebensmittelerzeugnisse“ wurde als Änderung zur Europäischen Norm durch das Technische Komitee CEN/TC 275 „Lebensmittelanalytik — Horizontale Verfahren“, dessen Sekretariat vom DIN gehalten wird, übernommen.

Diese Änderung der Europäischen Norm EN ISO 11290-1:1996 muss den Status einer nationalen Norm erhalten, entweder durch Veröffentlichung eines identischen Textes oder durch Anerkennung bis April 2005, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis April 2005 zurückgezogen werden.

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Bestandteile des vorliegenden Dokumentes Patentrechten unterliegen können. CEN und ISO sind nicht für die Kenntlichmachung einiger oder aller diesbezüglichen Patentrechte verantwortlich.

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

Anerkennungsnotiz

Der Text der Änderung zu der Internationalen Norm ISO 11290-1:1996/AMD1:2004 wurde von CEN als Änderung zur Europäischen Norm ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

Einleitung

Wegen der großen Vielzahl an Lebensmitteln und Futtermitteln ist dieses horizontale Verfahren nicht unbedingt bis ins Einzelne für bestimmte Produkte geeignet, für manche kann die Anwendung anderer Untersuchungsverfahren notwendig sein. Dennoch sollte stets versucht werden, dem vorgegebenen Verfahren so weit wie möglich zu folgen und nur dann abzuweichen, wenn es aus fachlichen Gründen unvermeidbar ist.

Bei der nächsten Überarbeitung dieses Teils von ISO 11290 werden sämtliche dann zur Verfügung stehenden Informationen über die Akzeptanz dieser Norm und die Gründe für Abweichungen bei einzelnen Produkten berücksichtigt werden.

Die Harmonisierung der Untersuchungsverfahren kann nicht sofort erfolgen. Für bestimmte Produktgruppen können bereits Internationale Normen und/oder nationale Normen bestehen, die diesem Verfahren nicht entsprechen. Es ist jedoch zu hoffen, dass diese Normen bei einer Überarbeitung an diesen Teil von ISO 11290 angepasst werden, so dass es sich bei den verbleibenden Änderungen von dem horizontalen Verfahren nur noch um solche handelt, die fachlich begründet sind.

WARNUNG — Zum Schutz der Gesundheit des Laborpersonals ist es wichtig, dass die Prüfung für den Nachweis von *Listeria monocytogenes* nur in einwandfrei ausgerüsteten Laboratorien unter der Leitung eines erfahrenen Mikrobiologen durchgeführt wird und dass die Beseitigung allen bebrüteten Materials mit großer Vorsicht geschieht. Besonders empfohlen wird, dass keine schwangeren Frauen mit *L. monocytogenes* arbeiten.

1 Anwendungsbereich

Dieser Teil von ISO 11290 legt ein horizontales Verfahren für den Nachweis von *Listeria monocytogenes* fest.

Vorbehaltlich der in der Einleitung angegebenen Einschränkungen ist dieser Teil von ISO 11290 auf Lebensmittel und Futtermittel anwendbar.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden zitierten Dokumente 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).

ISO 6887:1983, *Microbiology — General guidance for the preparation of dilutions for microbiological examination*

ISO 7218:1996, *Microbiology of food and animal feeding stuffs — General rules for microbiological examinations*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

3.1

Listeria monocytogenes

Mikroorganismen, die auf festen selektiven Medien typische Kolonien bilden und die die beschriebenen morphologischen, physiologischen und biochemischen Merkmale zeigen, wenn nach diesem Teil von ISO 11290 Untersuchungen durchgeführt werden

3.2

Nachweis von *Listeria monocytogenes*

Bestimmung der An- oder Abwesenheit dieser Mikroorganismen in einer bestimmten Produktmenge, wenn nach diesem Teil von ISO 11290 Untersuchungen durchgeführt werden

4 Prinzip

Innerhalb dieses Teils von ISO 11290 sind für den Nachweis von *L. monocytogenes* vier aufeinander folgende Stufen (siehe Fließschema in Anhang A) erforderlich.

ANMERKUNG *L. spp.* können in geringer Zahl vorhanden sein und werden oft von beträchtlich größeren Zahlen anderer Gattungen begleitet. Deshalb ist eine selektive Anreicherung erforderlich. Es ist auch notwendig, geschädigte *Listeria spp.* nachzuweisen. Das erste selektive Anreicherungsmedium mit verminderter Inhibitorkonzentration erfüllt zumindest einen Teil dieser Aufgaben.

4.1 Erste Anreicherung in einem selektiven flüssigen Anreicherungsmedium mit verminderten Konzentrationen an selektiven Agentien (1/2 Fraser-Bouillon)

Beimpfen eines ersten selektiven flüssigen Anreicherungsmediums, das ein Volumenteil Lithiumchlorid und jeweils ein halbes Volumenteil an Acriflavin und Nalidixinsäure enthält (1/2 Fraser-Bouillon) und das auch als Verdünnungsflüssigkeit für die Einwaage (9.1) verwendet wird.

Bebrütung für 24 h bei 30 °C.

4.2 Zweite Anreicherung in einem selektiven flüssigen Anreicherungsmedium mit vollständigen Konzentrationen an selektiven Agentien (Fraser-Bouillon)

Beimpfen eines vollständigen selektiven Anreicherungsmediums (Fraser-Bouillon) mit einer Kultur aus 4.1.

48 h Bebrütung der Fraser-Bouillon bei 35 °C oder 37 °C.

4.3 Ausstreichen und Identifizieren

Mit den nach 4.1 und 4.2 erhaltenen Kulturen erfolgt der Ausstrich auf zwei festen Selektivmedien:

- Listerien-Agar nach Ottaviani und Agosti (ALOA¹) (siehe Literaturhinweise [1] und B.3);
- ein beliebiges anderes festes Selektivmedium nach Wahl des Labors zur Ergänzung von Listerien-Agar nach Ottaviani und Agosti, wie Oxford-Agar oder PALCAM-Agar.

Bebrütung des Listerien-Agars nach Ottaviani und Agosti bei 37 °C ± 1 °C und Untersuchung nach 24 h ± 3 h Bebrütung, und, wenn erforderlich, nach weiteren 24 h ± 3 h, um auf die Anwesenheit von charakteristischen Kolonien zu prüfen, die vermutlich *L. monocytogenes* sind.

Bebrütung des zweiten Selektivmediums bei einer geeigneten Temperatur und Untersuchung nach einer geeigneten Zeitdauer.

4.4 Bestätigung

Erzeugen von Subkulturen von den Kolonien, die vermutlich *L. monocytogenes* sind und wie in 4.3 beschrieben auf Platten ausgestrichen wurden, und Bestätigung durch geeignete morphologische, physiologische und biochemische Prüfungen.

5 Nährmedien und Chemikalien

5.1 Allgemeines

Zur üblichen Laborpraxis siehe ISO 7218.

ANMERKUNG Die Zusammensetzung und Herstellung von Nährmedien und Reagenzien wird aufgrund der großen Anzahl zur Verbesserung der Übersichtlichkeit des Textes in Anhang B angegeben.

5.2 Erstes selektives Anreicherungsmedium: Fraser-Bouillon mit verminderten Konzentrationen an selektiven Agentien (1/2 Fraser-Bouillon)

Siehe Abschnitt B.1.

5.3 Zweites selektives Anreicherungsmedium mit vollständigen Konzentrationen an selektiven Agentien (Fraser-Bouillon)

Siehe Abschnitt B.2.

1) ALOA ist ein Beispiel für ein geeignetes handelsübliches Medium. Diese Angabe dient nur zur Unterrichtung der Anwender dieses Teils von ISO 11290 und bedeutet keine Anerkennung dieses genannten Produkts durch ISO. Die Verwendung anderer Medien mit der gleichen Formulierung ist zulässig.

5.4 Feste Selektivmedien

5.4.1 Erstes Medium: Listerien-Agar nach Ottaviani und Agosti (ALOA¹⁾ [1]

Siehe B.3.

5.4.2 Zweites Medium

Die Wahl des zweiten Mediums liegt im Ermessen des untersuchenden Labors. Bei Verwendung eines handelsüblichen Mediums ist den Anweisungen des Herstellers zur Zubereitung genau zu folgen.

5.5 Festes Nährmedium: Trypton-Soja-Hefe-Extrakt-Agar (TSYEA)

Siehe Abschnitt B.5.

5.6 Flüssiges Nährmedium: Trypton-Soja-Hefe-Extrakt-Bouillon (TSYEB)

Siehe Abschnitt B.6.

5.7 Schafblut-Agar

Siehe Abschnitt B.7.

5.8 Kohlenhydrat-Bouillon (Rhamnose und Xylose)

Siehe Abschnitt B.8.

5.9 Beweglichkeits-Agar (wahlweise)

Siehe Abschnitt B.9.

5.10 CAMP (Christie, Atkins, Munch-Petersen)-Medium und Teststämme

Siehe Abschnitt B.10.

5.11 Wasserstoffperoxid-Lösung

Siehe Abschnitt B.11.

5.12 Phosphatgepufferte Kochsalzlösung (PBS)

Siehe Abschnitt B.12.

6 Geräte und Glasgeräte

Übliche mikrobiologische Ausrüstung (siehe ISO 7218) und im Besonderen:

6.1 Geräte für die Trockensterilisierung (Wärmeschrank) oder Dampfsterilisierung (Autoklav).

Siehe ISO 7218.

1) siehe Seite 5.

6.2 Wärmeschrank oder Brutschrank, zwischen $25\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ und $50\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ regelbar.

6.3 Brutschränke, in denen die beimpften Medien, Platten und Röhrchen innerhalb der folgenden Temperaturbereiche gehalten werden können:

- a) $25\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$;
- b) $30\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ und;
- c) $35\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ oder $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$.

6.4 Wasserbad, auf $47\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ regelbar.

6.5 Impfösen, aus Platin-Iridium oder Nickel-Chrom mit einem Durchmesser von etwa 3 mm oder **Impfnadeln** aus demselben Material, oder **hockeyförmige Glasstäbe** oder **Einmalimpfösen**.

6.6 pH-Messgerät mit einer Ablesegenauigkeit von 0,01 pH-Einheiten bei 25 °C und Messgenauigkeit von $\pm 0,1$ pH-Einheiten bei 25 °C .

6.7 Kulturröhrchen oder Kolben mit geeignetem Volumen, für die Sterilisierung und die Aufbewahrung von Nährmedien und die Bebrütung von flüssigen Medien.

6.8 Messzylinder, Nennvolumen 50 ml bis 1 000 ml, zum Herstellen der Verdünnungen der vollständigen Medien.

6.9 Messpipetten mit 10 ml und 1 ml Nennvolumen, in 0,5 ml bzw. 0,1 ml Skalenteilungswerte eingeteilt.

6.10 Petrischalen, Durchmesser 90 mm bis 100 mm.

6.11 Gefäße, die für die mikroaerobe Bebrütung geeignet sind (wahlweise).

6.12 Gasgemisch (wahlweise) mit festgelegter Zusammensetzung für die mikroaerobe Bebrütung:

5 % bis 12 % CO_2 , 5 % bis 15 % O_2 und 75 % N_2 .

6.13 Ausstattung für den Beleuchtungstest nach Henry (wahlweise)

Siehe Anhang C.

6.14 Mikroskop, vorzugsweise Phasenkontrastmikroskop, mit Objektträgern und Deckgläsern.

7 Probenahme

Es ist wichtig, dass das Labor eine repräsentative Probe erhält, die während des Transportes nicht beschädigt oder verändert wurde.

Die Probenahme wird in diesem Teil von ISO 11290 nicht festgelegt. Falls keine spezifische Internationale Norm besteht, wird den Vertragspartnern empfohlen, eine Vereinbarung über die Probenahme zu treffen.

8 Vorbereitung der Untersuchungsprobe

Die Untersuchungsprobe wird in Übereinstimmung mit der für das jeweilige Produkt geeigneten spezifischen Internationalen Norm vorbereitet. Falls eine derartige spezifische Internationale Norm nicht besteht, wird den Vertragspartnern empfohlen, eine Vereinbarung über die Vorbereitung der Untersuchungsprobe zu treffen.