

DIN EN ISO 11290-2



ICS 07.100.30

Ersatz für
DIN EN ISO 11290-2:1998-08

**Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln –
Horizontales Verfahren für den Nachweis und die Zählung von *Listeria monocytogenes* –
Teil 2: Zählverfahren (ISO 11290-2:1998 + AMD 1:2004);
Deutsche Fassung EN ISO 11290-2:1998 + A1:2004**

Microbiology of food and animal feeding stuffs –
Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* –
Part 2: Enumeration method (ISO 11290-2:1998 + AMD 1:2004);
German version EN ISO 11290-2:1998 + A1:2004

Microbiologie des aliments –
Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Listeria monocytogenes* –
Partie 2: Méthode de dénombrement (ISO 11290-2:1998 + AMD 1:2004);
Version allemande EN ISO 11290-2:1998 + A1:2004

Gesamtumfang 28 Seiten

Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) im DIN

Nationales Vorwort

Diese Europäische Norm enthält unverändert die Internationale Norm ISO 11290-2:1998 + 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 11290-2:1998 + 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 11290-2:1998 war die Entscheidung, das Medium zur Zählung von *Listeria monocytogenes* zu ändern.

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

Für die im Abschnitt 2 zitierten Internationalen Normen wird im Folgenden auf die entsprechende Deutschen Normen hingewiesen:

ISO 6887-1	siehe DIN EN ISO 6887-1
ISO 11290-1	siehe DIN EN ISO 11290-1

Änderungen

Gegenüber DIN EN ISO 11290-2:1998-08 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

— Änderungen EN ISO 11290-2:1998/A1:2004 eingearbeitet

Frühere Ausgaben

DIN EN ISO 11290-2: 1998-08

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

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

DIN EN ISO 11290-1, *Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln — Horizontales Verfahren für den Nachweis und die Zählung von *Listeria monocytogenes* — Teil 1: Nachweisverfahren.*

Deutsche Fassung

**Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln
Horizontales Verfahren für den Nachweis und die Zählung von
Listeria monocytogenes
Teil 2: Zählverfahren
(ISO 11290-2:1998 + AMD 1:2004)**

Microbiology of food and animal feeding stuffs —
Horizontal method for the detection and enumeration of
Listeria monocytogenes —
Part 2: Enumeration method
(ISO 11290-2:1998 + AMD 1:2004)

Microbiologie des aliments —
Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement
de *Listeria monocytogenes* —
Partie 2: Méthode de dénombrement
(ISO 11290-2:1998 + AMD 1:2004)

Diese Europäische Norm wurde von CEN am 21. Juni 1998 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 A1	3
Einleitung	4
1 Anwendungsbereich	5
2 Normative Verweisungen	5
3 Begriffe.....	5
4 Prinzip	5
5 Nährmedien und Chemikalien.....	6
6 Geräte und Glasgeräte.....	6
7 Probenahme.....	7
8 Vorbereitung der Untersuchungsprobe.....	7
9 Durchführung	7
10 Angabe der Ergebnisse (siehe ISO 7218)	12
11 Präzision	14
12 Qualitätssicherung der Nährmedien	14
13 Untersuchungsbericht.....	14
Anhang A (normativ) Verfahrensschema.....	15
Anhang B (normativ) Zusammensetzung und Herstellung der Nährmedien und Reagenzien	16
Anhang C (informativ) Beleuchtungstest nach Henry	25
Literaturhinweise.....	26

Vorwort

Dieses Dokument EN ISO 11290-2:1998 wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34 „Lebensmittelerzeugnisse“ 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 Januar 1999, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis Januar 1999 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, Tschechische Republik und Vereinigtes Königreich.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO 11290-2:1998 wurde vom CEN als EN ISO 11290-2:1998 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

Vorwort der Änderung A1

Der Text der Änderung EN ISO 11290-2:1998/A1:2004 zur EN ISO 11290-2:1998 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 11290-2:1998 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, die Niederlande, Norwegen, Österreich, Portugal, Schweden, die Schweiz, die Slowakei, Spanien, die Tschechische Republik, Ungarn, Vereinigtes Königreich und Zypern.

Anerkennungsnotiz

Der Text der Änderung zu der Internationalen Norm ISO 11290-2:1998/AMD 1:2004 wurde von CEN als Änderung zur Europäische 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. In diesem Fall, wenn es nachweisbar aus fachlichen Gründen unbedingt erforderlich ist, dürfen andere produktspezifische Verfahren verwendet werden. Dennoch sollte stets versucht werden, dieses horizontale Verfahren so weit wie möglich anzuwenden.

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 schließlich 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. Es wird besonders empfohlen, dass weibliches Laborpersonal auf die speziellen Risiken für einen sich entwickelnden Foetus hingewiesen werden, die durch Infektion der Mutter bei der Arbeit mit *Listeria monocytogenes* entstehen können. Nationale Rechtssetzung kann außerdem noch spezifischere Forderungen enthalten.

1 Anwendungsbereich

Dieser Teil von ISO 11290 legt ein horizontales Verfahren für die Zählung von *Listeria monocytogenes* fest.

ANMERKUNG Dieses Verfahren ermöglicht auch die Zählung von anderen Listerien-Spezies, die gegebenenfalls als Indikatoren für den Hygienestatus von Lebensmitteln und Futtermitteln herangezogen werden.

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

Im Allgemeinen (siehe Anmerkung in 9.2.1) beträgt die untere Grenze bei der Zählung mit diesem Verfahren 10 koloniebildende Einheiten *L. monocytogenes* je Milliliter bei flüssigen Proben oder 100 koloniebildende Einheiten *L. monocytogenes* je Gramm bei anderen Proben.

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 6887-1, *Microbiology of food and animal feeding stuffs — Preparation of test samples, of initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination — Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and of decimal dilutions*

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

ISO 11290-1:1996, *Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* — Part 1: Detection method*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

3.1

Listeria monocytogenes

Mikroorganismen, die auf dem beschriebenen festen selektiven Medium typische Kolonien bilden, und die die beschriebenen morphologischen, physiologischen und biochemischen Merkmale zeigen, wenn die Untersuchung nach diesem Teil von ISO 11290 durchgeführt wird

3.2

Zählung von *Listeria monocytogenes*

Bestimmung der Anzahl der koloniebildenden Einheiten (KBE) von *Listeria monocytogenes* (siehe 3.1) in einer festgelegten Produktmenge, wenn die Untersuchung nach diesem Teil von ISO 11290 durchgeführt wird

4 Prinzip

Innerhalb dieses Teils von ISO 11290 sind für die Zählung von *L. monocytogenes* sechs aufeinander folgende Stufen erforderlich: (Siehe Ablaufschema in Anhang A).

4.1 Die Ausgangssuspension wird, je nach Bedarf, mit einer der beiden beschriebenen Verdünnungslösungen hergestellt.

4.2 Wiederbelebung bei 20 °C für 1 h.

4.3 Eine festgelegte Menge der Einwaage bei flüssigen Proben oder an Erstverdünnung bei anderen Proben wird auf das feste Selektivmedium in zwei Petrischalen ausgestrichen.

Unter den gleichen Bedingungen werden weitere Platten hergestellt, wobei Dezimalverdünnungen der Einwaage oder der Erstverdünnung verwendet werden.

4.4 Die Platten werden bei 37 °C bebrütet und nach 24 h und 48 h untersucht.

4.5 Die Kolonien, die möglicherweise *Listeria monocytogenes* sind, werden mit den beschriebenen Verfahren bestätigt.

4.6 Die Anzahl an *Listeria monocytogenes* je Gramm oder je Milliliter der Probe wird aus der Anzahl der bestätigten Kolonien errechnet.

5 Nährmedien und Chemikalien

Zur üblichen Laborpraxis siehe ISO 7218.

ANMERKUNG Die Zusammensetzungen und Herstellungen der Nährmedien und Chemikalien werden aufgrund der großen Anzahl zur Verbesserung der Übersichtlichkeit des Textes in Anhang B beschrieben.

6 Geräte und Glasgeräte

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

6.1 Gerät für die Trockensterilisierung (Wärmeschrank) oder Dampfsterilisierung (Autoklav). Siehe ISO 7218.

6.2 Wärmeschrank oder Brutschrank, zwischen 25 °C ± 1 °C und 50 °C ± 1 °C regelbar.

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

- a) 20 °C ± 1 °C (wahlweise);
- b) 25 °C ± 1 °C (wahlweise);
- c) 35 °C ± 1 °C oder 37 °C ± 1 °C.

6.4 Wasserbad, regelbar auf 44 °C bis 47 °C.

6.5 Impfüsen oder Impfnadeln aus Platin-Iridium oder Nickel-Chrom, oder **Pasteurpipetten** oder **Einmalimpfüsen**.

6.6 Glas- oder Plastikspatel, steril.

6.7 pH-Messgerät mit einer Ablesegenauigkeit von 0,01 pH-Einheiten bei 25 °C und Messgenauigkeit von ±0,1 pH-Einheiten.

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

6.9 Messpipetten, Totalauslauf, mit 1 ml und 10 ml Nennvolumen, in 0,1 ml bzw. 0,5 ml Skalenteilungswerten.

6.10 Petrischalen, Durchmesser 90 mm und 140 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 % CO₂, 5 % bis 15 % O₂ und N₂ bis auf insgesamt 100 %.

6.13 Ausstattung für den Beleuchtungstest nach Henry (wahlweise)

Siehe Anhang C.

6.14 Mikroskop, vorzugsweise Phasenkontrastmikroskop.

7 Probenahme

Die Probenahme wird in diesem Teil von ISO 11290 nicht festgelegt. Falls keine spezifische Internationale Norm zur Probenahme für das zu untersuchende Produkt besteht, wird den Vertragspartnern empfohlen, diesbezüglich eine Vereinbarung zu treffen.

Es ist wichtig, dass das Labor eine repräsentative Probe erhält, die während des Transportes oder der Lagerung nicht beschädigt oder verändert wurde (siehe ISO 7218).

8 Vorbereitung der Untersuchungsprobe

Die Untersuchungsprobe wird in Übereinstimmung mit der 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.

9 Durchführung

9.1 Einwaage, Ausgangssuspension und Verdünnungen

Siehe ISO 6887-1 und jede für das zu untersuchende Produkt geeignete Internationale Norm.

Für die Herstellung der Erstverdünnung wird gepuffertes Peptonwasser (B.1) oder Halb-Fraser-Bouillon-Grundmedium (B.2) als Verdünnungsflüssigkeit verwendet.

Halb-Fraser-Bouillon-Grundmedium **ohne Zusatz von selektiven Agentien** darf als Verdünnungsflüssigkeit für Lebensmittel- oder Futtermittelproben verwendet werden, wenn sowohl das Nachweisverfahren (siehe ISO 11290-1) als auch dieses Zählverfahren mit derselben Untersuchungsprobe durchgeführt wird. Durch diese Vorgehensweise wird die Herstellung von zwei Erstverdünnungen umgangen; die selektiven Agentien werden zur Verdünnung gegeben, nachdem die Einwaage für die Zählung verwendet wurde. Im Untersuchungsbericht sollte angegeben werden, ob diese Vorgehensweise gewählt wurde.

Die Erstverdünnung wird 1 h ± 5 min bei 20 °C ± 2 °C zur Wiederbelebung der geschädigten Zellen stehen gelassen (falls notwendig im Brutschrank, 6.3.a)).

Wenn mit einer Verdünnungsreihe gearbeitet wird, so wird diese nach der Wiederbelebung hergestellt.