DIN EN ISO 15213-1

ICS 07.100.30

Mikrobiologie der Lebensmittelkette – Horizontales Verfahren zum Nachweis und zur Zählung von *Clostridium* spp. – Teil 1: Zählung von sulfitreduzierenden *Clostridium* spp. durch Koloniezählverfahren (ISO 15213-1:2023); Deutsche Fassung EN ISO 15213-1:2023

Microbiology of the food chain –
Horizontal method for the detection and enumeration of *Clostridium* spp. –
Part 1: Enumeration of sulfite-reducing *Clostridium* spp. by colony-count technique (ISO 15213-1:2023);
German version EN ISO 15213-1:2023

Microbiologie de la chaîne alimentaire –
Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Clostridium* spp. –
Partie 1: Dénombrement des bactéries *Clostridium* spp. sulfito-réductrices par la technique de comptage des colonies (ISO 15213-1:2023);
Version allemande EN ISO 15213-1:2023

Gesamtumfang 34 Seiten

DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: DIN EN ISO 15213-1:2023-05

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (EN ISO 15213-1:2023) 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 (Frankreich) gehalten wird.

Das zuständige deutsche Normungsgremium ist der Arbeitskreis NA 057-01-06-02 AK „Sporenbildende Bakterien“ im DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL).

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

ISO 707	siehe	DIN EN ISO 707
ISO 6887 (all parts)	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 16140-4	siehe	DIN EN ISO 16140-4
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 19036:2019	siehe	DIN EN ISO 19036:2020-05
ISO/TS 17728	siehe	DIN CEN ISO/TS 17728

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

Documents
Document Sharing Hub
Full document details: DIN EN ISO 15213-1:2023-05

Nationaler Anhang NA
(informativ)

Literaturhinweise

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

DIN EN ISO 707, *Milch und Milcherzeugnisse — Leitfaden zur Probenahme*

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 16140-4, *Mikrobiologie der Lebensmittelkette — Verfahrensvalidierung — Teil 4: Arbeitsvorschrift für Einzel-Labor-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 von genormten Referenzverfahren*

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 19036:2020-05, *Mikrobiologie der Lebensmittelkette — Feststellung von Messunsicherheiten bei quantitativen Bestimmungen (ISO 19036:2019); Deutsche Fassung EN ISO 19036:2019*

AVA Documents
Document Sharing Hub

Full document details: DIN EN ISO 15213-1:2023-05

— Leerseite —

Documents
Document Sharing Hub
Full document details: DIN EN ISO 15213-1:2023-05

EUROPÄISCHE NORM

EUROPEAN STANDARD

NORME EUROPÉENNE

EN ISO 15213-1

Februar 2023

ICS 07.100.30

Deutsche Fassung

Mikrobiologie der Lebensmittelkette — Horizontales Verfahren zum Nachweis und zur Zählung von *Clostridium* spp. — Teil 1: Zählung von sulfitreduzierenden *Clostridium* spp. durch Koloniezählverfahren (ISO 15213-1:2023)

Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection and enumeration of *Clostridium* spp. — Part 1: Enumeration of sulfite-reducing *Clostridium* spp. by colony-count technique (ISO 15213-1:2023)

Microbiologie de la chaîne alimentaire — Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Clostridium* spp. — Partie 1: Dénombrement des bactéries *Clostridium* spp. sulfito-réductrices par la technique de comptage des colonies (ISO 15213-1:2023)

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 24. Dezember 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 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

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: DIN EN ISO 15213-1:2023-05

Inhalt

Seite

Europäisches Vorwort 4
Vorwort 5
Einleitung 7
1 Anwendungsbereich 8
2 Normative Verweisungen 9
3 Begriffe 9
4 Kurzbeschreibung 9
4.1 Allgemeines 9
4.2 Herstellung von Verdünnungen 10
4.3 Zählung 10
4.4 Bestätigung 10
5 Nährmedien und Reagenzien 10
6 Geräte und Verbrauchsmaterialien 10
7 Probenahme 11
8 Herstellung der Untersuchungsprobe 11
9 Durchführung 12
9.1 Allgemeines 12
9.2 Prüfmenge, Erstverdünnung und Verdünnungen 12
9.3 Hitzebehandlung zur Selektion von Sporen 12
9.4 Beimpfung und Bebrütung 12
9.5 Zählung typischer Kolonien 13
9.6 Bestätigung sulfitreduzierender *Clostridium* spp. 14
10 Angabe der Ergebnisse 14
11 Validierung des Verfahrens 15
11.1 Ringversuch 15
11.2 Leistungsmerkmale 15
12 Untersuchungsbericht 16
13 Qualitätssicherung 16
Anhang A (normativ) Fließschema des Verfahrens 17
Anhang B (normativ) Nährmedien und Reagenzien 19
B.1 Allgemeines 19
B.2 Eisensulfitagar (ISA, en: iron sulfite agar) 19
B.2.1 Zusammensetzung 19
B.2.2 Herstellung 19
B.3 Columbia-Blutagar (CBA) 20
B.3.1 Columbia-Blutagar-Grundmedium 20
B.3.2 Defibriniertes Blut (Pferde- oder Schafsblut) 20
B.3.3 Vollständiges Grundmedium 20
B.4 Leistungsprüfung 21

Documents
Document Sharing Hub
Full document details: DIN EN ISO 15213-1:2023-05

Anhang C (informativ) Leistungsmerkmale des Verfahrens **23**

Anhang D (informativ) Spezielle Arbeitsvorschrift für die Zählung von sulfitreduzierenden *Clostridium* spp. in Futtermitteln **26**
D.1 Allgemeines **26**
D.2 Kurzbeschreibung **26**
D.3 Nährmedien und Reagenzien **26**
D.3.1 Futtermittel-Erstverdünnungslösung **26**
D.3.2 Futtermittel-Verdünnungslösung **27**
D.3.3 Polyoxyethylen-80-Sorbitan-Monolaurat (PSM) (CAS-Nr. 9005-65-6) **27**
D.4 Geräte und Verbrauchsmaterialien **27**
D.5 Durchführung **28**
D.5.1 Prüfmenge und Herstellung der Erstverdünnung **28**
D.5.2 Schüttelverfahren **28**
D.5.3 Beutel-Walk-Mischer-Verfahren **28**
D.5.4 Erste Verdünnung **29**
D.6 Leistungsprüfung **29**

Literaturhinweise **30**

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: DIN EN ISO 15213-1:2023-05

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (EN ISO 15213-1:2023) 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.

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

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 15213-1:2023 wurde von CEN als EN ISO 15213-1:2023 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

Documents
Document Sharing Hub
Full document details: DIN EN ISO 15213-1:2023-05

Vorwort

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-Direktiven, 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-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 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.

Diese erste Ausgabe von ISO 15213-1 ersetzt ISO 15213:2003, die technisch überarbeitet wurde.

Die wesentlichen Änderungen sind folgende:

— der Anwendungsbereich wurde erweitert und umfasst nun auch Proben aus dem Bereich der Primärproduktion;

— der Anwendungsbereich des Verfahrens wurde von „sulfitreduzierenden Bakterien“ zu „sulfitreduzierenden *Clostridium* spp.“ geändert: daher werden die typischen Kolonien auf den Eisensulfit-Agarplatten bestätigt;

— die Konzentration von Sulfit im Eisensulfitagar wurde von 1,0 g/l auf 0,5 g/l reduziert;

— die Hitzebehandlung von 10 min bei 80 °C wurde für den Fall einer hohen Begleitflora oder zur ausschließlichen Zählung von Sporen von sulfitreduzierenden *Clostridium* spp. in der Probe optional gemacht;

— die Option zur Verwendung von Röhrchen zum Beimpfen wurde entfernt;

— die Option zur Bebrütung der Proben bei 50 °C für die Zählung von thermophilen, sulfitreduzierenden Bakterien wurde entfernt;

AVA Documents
Document Sharing Hub

Full document details: DIN EN ISO 15213-1:2023-05

— eine Beschreibung, wie die Bestätigung typischer Kolonien durchgeführt werden muss, wurde hinzugefügt;

— das Fließschema in Anhang A, welches eine kurze Beschreibung des Verfahrens zeigt, wurde überarbeitet;

— in Anhang C wurden die Leistungsmerkmale hinzugefügt;

— Anhang D wurde hinzugefügt, um eine spezielle Arbeitsvorschrift für die Zählung von sulfitreduzierenden *Clostridium* spp. in Futtermitteln zur Verfügung zu stellen.

Eine Auflistung aller Teile der Normenreihe ISO 15213 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.

Documents
Document Sharing Hub
Full document details: DIN EN ISO 15213-1:2023-05

Einleitung

Sulfitreduzierende *Clostridium* spp. sind obligat anaerobe, grampositive, sporenbildende, stabförmige Bakterien. Die wichtigsten Spezies in dieser Gruppe sind *Clostridium (C.) perfringens, C. bifermentans, C. sporogenes* und *C. botulinum*. Einige Spezies können lebensmittelbedingte Erkrankungen verursachen. Als ubiquitär verbreitete Bakterien sind sie überwiegend in der Natur zu finden. Die *Clostridium*-Spezies leben in Erdböden und im Darmtrakt von Tieren und Menschen.

Sulfitreduzierende *Clostridium* spp., einschließlich *C. perfringens*, werden häufig als mikrobielle Indikatoren für Clostridienkontaminationen in der Herstellung von Lebensmitteln (z. B. Fleischproduktion) verwendet. Diese haben die Fähigkeit, hitzebeständige Sporen zu produzieren. Außerhalb der Milchindustrie ist die Verwendung von sulfitreduzierenden *Clostridium* spp. als mikrobieller Indikator auf eine relativ geringe Anzahl von Lebensmitteln beschränkt. Derzeit werden sie in nicht milchhaltigen Lebensmitteln entweder als Indikator für fäkale Verunreinigung (insbesondere *C. perfringens*, siehe auch ISO 15213-2 und ISO/TS 15213-3) und/oder als Indikator für die Desinfektions-/Prozessüberwachung im Zusammenhang mit dem potenziellen Wachstum und Überleben von anaeroben sporenbildenden Bakterien angewendet.

Dieses Dokument beschreibt das horizontale Verfahren für die Zählung von sulfitreduzierenden *Clostridium* spp. in Lebensmitteln, Futtermitteln, Umgebungsproben und Proben aus der Primärproduktion. Das Verfahren für die Zählung von *C. perfringens* ist in ISO 15213-2 beschrieben. Das Verfahren für den Nachweis von *C. perfringens* ist in ISO/TS 15213-3 beschrieben. Diese drei Teile sind als Reihe Internationaler Normen veröffentlicht, da die Verfahren eng miteinander verbunden sind. Diese Verfahren werden häufig in Verbindung miteinander in einem Labor durchgeführt und die Medien und ihre Leistungsmerkmale können ähnlich sein.

Die im Vorwort aufgezählten wesentlichen technischen Änderungen gegenüber ISO 15213:2003, die in diesem Dokument eingeführt werden, gelten als erheblich (siehe ISO 17468).

Diese Änderungen haben einen erheblichen Einfluss auf die Leistungsmerkmale des Verfahrens.

AVA Documents
Document Sharing Hub

Full document details: DIN EN ISO 15213-1:2023-05