

## DIN EN ISO 16649-3



ICS 07.100.30

Ersatz für  
DIN EN ISO 16649-3:2015-09

**Mikrobiologie der Lebensmittelkette –  
Horizontales Verfahren zur Zählung von  $\beta$ -Glucuronidase-positiven  
*Escherichia coli* –**

**Teil 3: Nachweis und Bestimmung der wahrscheinlichsten Keimzahl  
unter Verwendung von 5-Brom-4-Chlor-3-Indol- $\beta$ -D-Glucuronid  
(ISO 16649-3:2015, korrigierte Fassung 2016-12-15);  
Deutsche Fassung EN ISO 16649-3:2015**

Microbiology of the food chain –

Horizontal method for the enumeration of  $\beta$ -glucuronidase positive *Escherichia coli* –  
Part 3: Detection and most probable number technique using  
5-bromo-4-chloro-3-indolyl- $\beta$ -D-glucuronide  
(ISO 16649-3:2015, Corrected version 2016-12-15);  
German version EN ISO 16649-3:2015

Microbiologie de la chaîne alimentaire –

Méthode horizontale pour le dénombrement des *Escherichia coli*  $\beta$ -glucuronidase positive –  
Partie 3: Recherche et technique du nombre le plus probable utilisant le  
bromo-5-chloro-4-indolyl-3  $\beta$ -D-glucuronate  
(ISO 16649-3:2015, Version corrigée 2016-12-15);  
Version allemande EN ISO 16649-3:2015

Gesamtumfang 21 Seiten

DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)

## Nationales Vorwort

Dieses Dokument (EN ISO 16649-3:2015) enthält unverändert die Internationale Norm ISO 16649-3:2015, die vom Unterkomitee SC 9 „Microbiology“ (Sekretariat: AFNOR, Frankreich) des Technischen Komitees ISO/TC 34 „Food products“ (Sekretariat: AFNOR/ABNT, Frankreich/Brasilien) erarbeitet wurde. Auf Grund des Beschlusses des CEN/TC 275 „Lebensmittelanalytik — Horizontale Verfahren“ wurde die Bearbeitung im parallelen Abstimmungsverfahren unter Federführung des ISO/TC 34/SC 9 durchgeführt.

Die Mitarbeit des DIN beim Europäischen Komitee für Normung (CEN) wird für den Bereich des CEN/TC 275 (Sekretariat: DIN, Deutschland) über den Arbeitsausschuss NA 057-01-06 AA „Mikrobiologie der Lebensmittelkette“ wahrgenommen.

Für die in diesem Dokument zitierten Internationalen Normen wird im Folgenden auf die entsprechenden Deutschen Normen hingewiesen:

|            |                         |
|------------|-------------------------|
| ISO 6887-1 | siehe DIN EN ISO 6887-1 |
| ISO 6887-2 | siehe DIN EN ISO 6887-2 |
| ISO 6887-3 | siehe DIN EN ISO 6887-3 |
| ISO 6887-4 | siehe DIN EN ISO 6887-4 |
| ISO 6887-5 | siehe DIN EN ISO 6887-5 |
| ISO 6887-6 | siehe DIN EN ISO 6887-6 |
| ISO 7218   | siehe DIN EN ISO 7218   |
| ISO 11133  | siehe DIN EN ISO 11133  |

## Änderungen

Gegenüber DIN ISO/TS 16649-3:2009-12 wurden die folgenden Änderungen vorgenommen:

- a) die ursprünglich veröffentlichte Technische Spezifikation ISO/TS 16649-3:2005-09 wurde inhaltlich auf den Stand der Technik gebracht und redaktionell überarbeitet;
- b) zusätzlich wurde neu ein Verfahren zum Nachweis von *E. coli* mit aufgenommen.

Gegenüber DIN EN ISO 16649-3:2015-09 wurden folgende Korrekturen vorgenommen:

- a) in 4.1.4, erste Zeile, wurde „(22 ± 2) h“ durch „(21 ± 3) h“ ersetzt;
- b) in 4.2.5, erste Zeile, wurde „(22 ± 2) h“ durch „(21 ± 3) h“ ersetzt;
- c) Tabelle 1 wurde ersetzt;
- d) Tabelle 2 wurde ersetzt;
- e) in 9.1.4, erste Zeile, wurde „(22 ± 2) h“ durch „(21 ± 3) h“ ersetzt;
- f) in 9.2.5, erste Zeile, wurde „(22 ± 2) h“ durch „(21 ± 3) h“ ersetzt;
- g) in 9.2.5, zweite Zeile, wurde „drei“ durch „sechs“ ersetzt.

**Frühere Ausgaben**

DIN ISO/TS 16649-3: 2009-12

DIN EN ISO 16649-3: 2015-09

## 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 6887-2, *Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln — Vorbereitung von Untersuchungsproben und Herstellung von Erstverdünnungen und von Dezimalverdünnungen für mikrobiologische Untersuchungen — Teil 2: Spezifische Regeln für die Vorbereitung von Fleisch und Fleischerzeugnissen*

DIN EN ISO 6887-3, *Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln — Vorbereitung von Untersuchungsproben und Herstellung von Erstverdünnungen und von Dezimalverdünnungen für mikrobiologische Untersuchungen — Teil 3: Spezifische Regeln für die Vorbereitung von Fisch und Fischerzeugnissen*

DIN EN ISO 6887-4, *Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln — Vorbereitung von Untersuchungsproben und Herstellung von Erstverdünnungen und von Dezimalverdünnungen für mikrobiologische Untersuchungen — Teil 4: Spezifische Regeln für die Vorbereitung von anderen Erzeugnissen als Milch und Milcherzeugnisse, Fleisch und Fleischerzeugnisse, Fisch und Fischerzeugnisse*

DIN EN ISO 6887-5, *Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln — Vorbereitung von Untersuchungsproben und Herstellung von Erstverdünnungen und von Dezimalverdünnungen für mikrobiologische Untersuchungen — Teil 5: Spezifische Regeln für die Vorbereitung von Milch und Milcherzeugnissen*

DIN EN ISO 6887-6, *Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln — Vorbereitung von Untersuchungsproben und Herstellung von Erstverdünnungen und von Dezimalverdünnungen für mikrobiologische Untersuchungen — Teil 6: Spezifische Regeln für die Vorbereitung von Proben aus der Primärproduktion*

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*

Deutsche Fassung

Mikrobiologie der Lebensmittelkette —  
Horizontales Verfahren zur Zählung von  $\beta$ -Glucuronidase-  
positiven *Escherichia coli* —  
Teil 3: Nachweis und Bestimmung der  
wahrscheinlichsten Keimzahl unter Verwendung von  
5-Brom-4-Chlor-3-Indol- $\beta$ -D-Glucuronid  
(ISO 16649-3:2015, korrigierte Fassung 2016-12-15)

Microbiology of the food chain —  
Horizontal method for the enumeration of beta-  
glucuronidase-positive *Escherichia coli* —  
Part 3: Detection and most probable number technique  
using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- $\beta$ -D-glucuronide  
(ISO 16649-3:2015, Corrected version 2016-12-15)

Microbiologie de la chaîne alimentaire —  
Méthode horizontale pour le dénombrement des  
*Escherichia coli* bêta-glucuronidase positive —  
Partie 3: Recherche et technique du nombre  
le plus probable utilisant  
le bromo-5-chloro-4-indolyl-3  $\beta$ -D-glucuronate  
(ISO 16649-3:2015, Version corrigée 2016-12-15)

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 16. April 2015 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 des CEN-CENELEC 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, der ehemaligen jugoslawischen Republik Mazedonien, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, den Niederlanden, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, Rumänien, Schweden, der Schweiz, 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: Avenue Marnix 17, B-1000 Brüssel

## Inhalt

|                                                                                       | Seite |
|---------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Europäisches Vorwort .....                                                            | 3     |
| Vorwort .....                                                                         | 4     |
| Einleitung .....                                                                      | 6     |
| 1 Anwendungsbereich.....                                                              | 7     |
| 2 Normative Verweisungen .....                                                        | 7     |
| 3 Begriffe .....                                                                      | 8     |
| 4 Kurzbeschreibung .....                                                              | 8     |
| 4.1 Nachweisverfahren .....                                                           | 8     |
| 4.2 Zählverfahren .....                                                               | 8     |
| 5 Verdünnungsflüssigkeiten und Nährmedien .....                                       | 10    |
| 5.1 Allgemeines .....                                                                 | 10    |
| 5.2 Verdünnungsflüssigkeiten .....                                                    | 10    |
| 5.3 Nährmedien .....                                                                  | 10    |
| 5.3.1 Mineralien-modifiziertes Glutamat-Medium (selektives Anreicherungsmedium) ..... | 10    |
| 5.3.2 Trypton-Galle-Glucuronid-Agar (zweites selektives Anreicherungsmedium) .....    | 11    |
| 5.3.3 Leistungsprüfung zur Qualitätssicherung der Nährmedien .....                    | 12    |
| 6 Geräte und Glasgeräte.....                                                          | 13    |
| 7 Probenahme .....                                                                    | 13    |
| 8 Vorbereitung der Untersuchungsprobe .....                                           | 13    |
| 9 Durchführung.....                                                                   | 14    |
| 9.1 Nachweisverfahren .....                                                           | 14    |
| 9.1.1 Einwaage, Erstverdünnung und weitere Verdünnungen.....                          | 14    |
| 9.1.2 Bebrütung des selektiven Anreicherungsmediums.....                              | 14    |
| 9.1.3 Subkultivierung.....                                                            | 14    |
| 9.1.4 Zweite Bebrütung .....                                                          | 14    |
| 9.1.5 Untersuchung der Platten .....                                                  | 14    |
| 9.1.6 Interpretation .....                                                            | 14    |
| 9.2 Zählverfahren .....                                                               | 14    |
| 9.2.1 Einwaage, Erstverdünnung und weitere Verdünnungen.....                          | 14    |
| 9.2.2 Beimpfen des selektiven Anreicherungsmediums.....                               | 14    |
| 9.2.3 Bebrütung.....                                                                  | 15    |
| 9.2.4 Subkultivierung.....                                                            | 15    |
| 9.2.5 Zweite Bebrütung .....                                                          | 15    |
| 9.2.6 Untersuchung der Platten .....                                                  | 15    |
| 9.2.7 Interpretation .....                                                            | 15    |
| 10 Auswertung.....                                                                    | 16    |
| 10.1 Nachweisverfahren .....                                                          | 16    |
| 10.2 Zählverfahren .....                                                              | 16    |
| 11 Präzision .....                                                                    | 16    |
| 12 Untersuchungsbericht .....                                                         | 16    |
| Literaturhinweise.....                                                                | 17    |

## **Europäisches Vorwort**

Dieses Dokument (EN ISO 16649-3:2015) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34 „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 November 2015, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis November 2015 zurückgezogen werden.

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. CEN [und/oder] CENELEC sind nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren.

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, Slowakei, Slowenien, Spanien, Tschechische Republik, Türkei, Ungarn, Vereinigtes Königreich und Zypern.

### **Anerkennungsnotiz**

Der Text von ISO 16649-3:2015, korrigierte Fassung 2016-12-15 wurde von CEN als EN ISO 16649-3:2015 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.