

DIN EN ISO 18465



ICS 07.100.30

**Mikrobiologie der Lebensmittelkette –
Quantitative Bestimmung von emetischem Toxin (Cereulid) mittels
LC-MS/MS (ISO 18465:2017);
Deutsche Fassung EN ISO 18465:2017**

Microbiology of the food chain –
Quantitative determination of emetic toxin (cereulide) using LC-MS/MS (ISO 18465:2017);
German version EN ISO 18465:2017

Microbiologie de la chaîne alimentaire –
Détermination quantitative de la toxine émétique (céreulide) par CL-SM/SM
(ISO 18465:2017);
Version allemande EN ISO 18465:2017

Gesamtumfang 23 Seiten

DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (EN ISO 18465:2017) wurde 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“ erarbeitet.

Das zuständige deutsche Gremium 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 Internationalen Normen wird im Folgenden auf die entsprechenden Deutschen Normen hingewiesen:

ISO 1042	siehe DIN EN ISO 1042
ISO 3696	siehe DIN ISO 3696
ISO 5725-2	siehe DIN ISO 5725-2

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN EN ISO 1042, *Laborgeräte aus Glas — Meßkolben*

DIN ISO 3696, *Wasser für analytische Zwecke — Anforderungen und Prüfungen*

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

Deutsche Fassung

Mikrobiologie der Lebensmittelkette —
Quantitative Bestimmung von emetischem Toxin (Cereulid)
mittels LC-MS/MS
(ISO 18465:2017)

Microbiology of the food chain —
Quantitative determination of emetic toxin (cereulide)
using LC-MS/MS
(ISO 18465:2017)

Microbiologie de la chaîne alimentaire —
Détermination quantitative de la toxine émétique (céreulide)
par CL-SM/SM
(ISO 18465:2017)

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 28. Dezember 2016 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, 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: Avenue Marnix 17, B-1000 Brüssel

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	3
Vorwort	4
Einleitung	5
1 Anwendungsbereich	6
2 Normative Verweisungen	6
3 Begriffe	6
4 Kurzbeschreibung	6
5 Reagenzien	7
6 Geräte und Ausrüstung	8
7 Durchführung	9
7.1 Probenvorbereitung	9
7.2 Herstellung der Standards	10
7.3 LC-MS/MS-Analyse	11
7.3.1 LC-Bedingungen	11
7.3.2 MS-Bedingungen und Anpassungsparameter	11
7.3.3 Übergänge (Multiple Reaction Monitoring, MRM)	12
8 Berechnung	13
9 Qualitätskontrollen	13
10 Präzision	14
10.1 Allgemeines	14
10.2 Wiederholpräzision	14
10.3 Vergleichpräzision	15
Anhang A (informativ) Ergebnisse des Ringversuchs	17
Anhang B (informativ) Mögliche Übergänge von Cereulid bei der MS [3]	19
Literaturhinweise	21

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (EN ISO 18465:2017) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 275 „Lebensmittelanalytik — Horizontale Verfahren“, dessen Sekretariat von DIN gehalten wird, in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee ISO/TC 34 „Food products“ erarbeitet.

Diese Europäische Norm muss den Status einer nationalen Norm erhalten, entweder durch Veröffentlichung eines identischen Textes oder durch Anerkennung bis August 2017, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis August 2017 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.

Dieses Dokument wurde unter einem Mandat erarbeitet, das 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 18465:2017 wurde vom CEN als EN ISO 18465:2017 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

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 Technischen Komitee ISO/TC 34 *Food products*, Subkomitee SC 9 *Microbiology*, in Übereinstimmung mit der Vereinbarung über technische Zusammenarbeit zwischen ISO und CEN (Wiener Vereinbarung) erarbeitet.

Einleitung

Cereulid, das in Lebensmitteln von einigen Stämmen von *Bacillus cereus* gebildete emetische Toxin, ist ein wärmebeständiges und säurestabiles Toxin, das bei Aufnahme Übelkeit und Erbrechen verursacht. In sehr seltenen Fällen können Menschen nach der Aufnahme des Toxins sterben. Aufgrund seiner Stabilität kann das Toxin noch vorhanden sein, auch wenn *B. cereus* nicht mehr nachgewiesen werden kann. Die Anwesenheit von Cereulid scheint mit stärkereichen Lebensmitteln wie Reis(-gerichten) und Pasta(-gerichten) zusammenzuhängen. Jedoch weisen neueste Daten darauf hin, dass das Auftreten von lebensmittelassoziierten Krankheitsausbrüchen, die durch Cereulid verursacht sind, häufiger auf Lebensmittel im Allgemeinen zurückzuführen ist [9]. Das Toxin besitzt eine zyklische Struktur und besteht aus insgesamt 12 Monomeren mit sich wiederholenden Sequenzen von (D-O-Leucin-D-Alanin-L-O-Valin-L-Valin). Für den Nachweis und/oder zur quantitativen Bestimmung des Toxins wurden mehrere Verfahren entwickelt. Einige dieser Verfahren sind unspezifische Bioassays [3, 4], und andere Verfahren beruhen spezifisch auf der chemischen Analyse mittels Flüssigchromatographie gekoppelt mit Massenspektrometrie (LC-MS/MS) für den Nachweis und/oder zur Quantifizierung des Toxins [5, 6, 7, 8]. Die chemischen Verfahren sind für Cereulid spezifischer und wurden deshalb als Basis für die Normung eines Verfahrens zur quantitativen Bestimmung von Cereulid gewählt. Kürzlich wurden Forschungen bezüglich der Chemodiversität von Cereulid durchgeführt. Mindestens 18 Varianten an Cereulid wurden mittels UHPLC-TOFMS und Ionenfallen-Massenspektrometer-Sequenzierung nachgewiesen, darunter die bislang unbekannten Isocereulide A-G [10].