

DIN EN ISO 22964



ICS 07.100.30; 67.100.01

**Mikrobiologie der Lebensmittelkette –
Horizontales Verfahren zum Nachweis von *Cronobacter* spp.
(ISO 22964:2017);
Deutsche Fassung EN ISO 22964:2017**

Microbiology of the food chain –
Horizontal method for the detection of *Cronobacter* spp. (ISO 22964:2017);
German version EN ISO 22964:2017

Microbiologie de la chaîne alimentaire –
Méthode horizontale pour la recherche de *Cronobacter* spp. (ISO 22964:2017);
Version allemande EN ISO 22964:2017

Gesamtumfang 34 Seiten

DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34 „Food products“ (Sekretariat: AFNOR, Frankreich) und vom Technischen Komitee CEN/TC 275 „Lebensmittelanalytik - Horizontale Verfahren“ (Sekretariat: DIN, Deutschland) erstellt.

Das zuständige deutsche Gremium ist der Arbeitsausschuss NA 057-01-06-AA „Mikrobiologie der Lebensmittelkette“ im DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL).

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

ISO 6887 (alle Teile)	siehe DIN EN ISO 6887 (alle Teile)
ISO 7218	siehe DIN EN ISO 7218
ISO 11133	siehe DIN EN ISO 11133
ISO 16140 (alle Teile)	siehe DIN EN ISO 16140 (alle Teile)
ISO 17468	siehe DIN EN ISO 17468
ISO 18593	siehe DIN ISO 18593 ^{*)}
ISO/TS 17728	siehe DIN CEN ISO/TS 17728, DIN SPEC 17728

^{*)} Die Veröffentlichung des Dokuments (DIN ISO 18593) als DIN EN ISO 18593 ist in Vorbereitung.

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

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

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 16140 (alle Teile), *Mikrobiologie der Lebensmittelkette — Verfahrensvalidierung*

DIN EN ISO 17468, *Mikrobiologie der Lebensmittelkette — Technische Anforderungen und Leitfaden zur Einführung oder Überarbeitung eines genormten Referenzverfahrens*

DIN ISO 18593, *Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln — Horizontales Verfahren für Probenahmetechniken von Oberflächen mittels Abklatschplatten und Tupfer*

— Leerseite —

Deutsche Fassung

Mikrobiologie der Lebensmittelkette —
Horizontales Verfahren zum Nachweis von *Cronobacter* spp.
(ISO 22964:2017)

Microbiology of the food chain —
Horizontal method for the detection of *Cronobacter* spp.
(ISO 22964:2017)

Microbiologie de la chaîne alimentaire —
Méthode horizontale pour la recherche de *Cronobacter* spp.
(ISO 22964:2017)

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 13. März 2017 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, 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	4
Vorwort	5
Einleitung	6
1 Anwendungsbereich	7
2 Normative Verweisungen	7
3 Begriffe	7
4 Abkürzungen	8
5 Kurzbeschreibung	8
5.1 Nicht selektive Voranreicherung in BPW	8
5.2 Anreicherung in einem selektiven Medium (CSB)	8
5.3 Ausplattierung und Identifizierung auf chromogenem Agar (CCI-Agar)	8
5.4 Bestätigung	8
6 Nährmedien und Reagenzien	8
7 Ausrüstung und Verbrauchsmaterialien	9
8 Probenahme	9
9 Vorbereitung der Untersuchungsprobe	10
10 Durchführung (wie in Anhang A dargestellt)	10
10.1 Prüfmenge	10
10.2 Voranreicherung	10
10.3 Anreicherung	10
10.4 Isolierung präsumtiver <i>Cronobacter</i> spp.	10
10.5 Bestätigung	11
10.5.1 Allgemeines	11
10.5.2 Herstellung von Reinkulturen	11
10.5.3 Biochemische Bestätigung	11
10.6 Auswertung der biochemischen Ergebnisse	13
11 Angabe der Ergebnisse	13
12 Leistungsmerkmale des Verfahrens	13
12.1 Ringversuch	13
12.2 Empfindlichkeit	14
12.3 Spezifität	14

12.4	LOD ₅₀	14
13	Untersuchungsbericht	14
Anhang A (normativ) Schema des Prüfverfahrens		15
Anhang B (normativ) Zusammensetzung, Herstellung und Leistungsprüfung von Nährmedien und Reagenzien		16
Anhang C (informativ) Unterscheidung von <i>Cronobacter</i> spp. von anderen Gattungen		25
Anhang D (informativ) Untersuchungen zur Methodenvvalidierung und Leistungsmerkmale des Verfahrens		26
Literaturhinweise		29

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (EN ISO 22964:2017) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34 „Food products“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 275 „Lebensmittelanalytik - Horizontale Verfahren“ erarbeitet, dessen Sekretariat von DIN gehalten wird.

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

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. CEN [und/oder CENELEC] ist/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 22964:2017 wurde von CEN als EN ISO 22964:2017 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 zur freiwilligen Natur von Normen, 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 von dem Europäischen Komitee für Normung (CEN) Technisches Komitee CEN/TC 275, *Lebensmittelanalytik - Horizontale Verfahren*, in Zusammenarbeit mit dem ISO Technischen Komitee ISO/TC 34, *Food products*, Unterkomitee SC 9, *Microbiology*, in Übereinstimmung mit der Vereinbarung zur technischen Zusammenarbeit zwischen ISO und CEN (Wiener Vereinbarung) erarbeitet.

Diese erste Ausgabe ersetzt die Technische Spezifikation ISO/TS 22964:2006, welche mit den folgenden Änderungen technisch überarbeitet wurde:

- der Anwendungsbereich wurde um den Nachweis von *Cronobacter* spp. in Lebensmittelprodukten für den Menschen sowie in Futtermitteln und Umgebungsproben erweitert und der Titel wurde entsprechend angepasst;
- die Anreicherungsbouillon, modifizierte Lauryl-Sulfat-Tryptose-Bouillon (mLST), wurde durch eine *Cronobacter*-Selektivbouillon (CSB) ersetzt;
- der Isolierungsagar, *Enterobacter-sakazakii*-Isolierungsagar (ESIA), wurde durch chromogenen *Cronobacter*-Isolierungs(CCI)-Agar ersetzt;
- mehrere Bestätigungsprüfungen wurden durch andere Prüfungen entsprechend Tabelle 1 in diesem Dokument ersetzt.

Einleitung

Dieses Dokument beschreibt ein horizontales Verfahren zum Nachweis von *Cronobacter* spp. in Lebensmitteln, Futtermitteln und in Umgebungsproben. Die wesentlichen im Vorwort aufgeführten Änderungen, die im Vergleich zu ISO/TS 22946:2006 in dieses Dokument eingebracht wurden, werden als erheblich betrachtet (siehe ISO 17468 [2]).

Aufgrund der großen Vielfalt von Lebens- und Futtermittelprodukten ist dieses horizontale Verfahren nicht unbedingt bis ins Detail für bestimmte Produkte geeignet. In diesem Fall dürfen abweichende Verfahren, die für diese Produkte spezifisch sind, angewendet werden, wenn dies aus berechtigten fachlichen Gründen unbedingt erforderlich ist. Dennoch sollten alle Anstrengungen unternommen werden, dieses horizontale Verfahren so weit wie möglich anzuwenden.

Bei der nächsten Überarbeitung dieses Dokuments werden sämtliche dann zur Verfügung stehende Informationen über die Umsetzung dieses horizontalen Verfahrens und die Gründe für Abweichungen von diesem Verfahren bei einzelnen Produkten berücksichtigt werden.

Die Harmonisierung von Untersuchungsverfahren kann nicht sofort erfolgen. Für bestimmte Produktgruppen können bereits Internationale Normen und/oder nationale Normen bestehen, die diesem horizontalen Verfahren nicht entsprechen. Es ist jedoch anzustreben, sie bei einer Überarbeitung an dieses Dokument anzupassen, so dass es sich bei eventuell noch verbleibenden Abweichungen von diesem horizontalen Verfahren nur um solche handelt, die aus berechtigten technischen Gründen erforderlich sind.

1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument legt ein horizontales Verfahren zum Nachweis von *Cronobacter* spp. fest.

Vorbehaltlich der in der Einleitung erörterten Einschränkungen gilt dieses Dokument für

- Lebensmittelprodukte und Zutaten, die für den menschlichen Verzehr oder als Futtermittel bestimmt sind, und
- Umgebungsproben im Bereich der Herstellung von Lebensmitteln und des Umgangs mit Lebensmitteln.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente werden im Text in solcher Weise in Bezug genommen, dass einige Teile davon oder ihr gesamter Inhalt Anforderungen des vorliegenden Dokuments darstellen. 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 (alle Teile), *Microbiology of the food chain — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination*

ISO 7218, *Microbiology of food and animal feeding stuffs — General requirements and guidance for microbiological examinations*

ISO 11133, *Microbiology of food, animal feed and water — Preparation, production, storage and performance testing of culture media*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

ISO und IEC stellen terminologische Datenbanken für die Verwendung in der Normung unter den folgenden Adressen bereit:

- IEC Electropedia: unter <http://www.electropedia.org/>
- ISO Online Browsing Platform: unter <http://www.iso.org/obp>

3.1

***Cronobacter* spp.**

Mikroorganismen, die auf chromogenem *Cronobacter*-Isolierungs(CCI)-Agar [10] typische Kolonien bilden und die beschriebenen charakteristischen biochemischen Eigenschaften aufweisen, wenn die Prüfungen nach diesem Dokument durchgeführt werden

3.2

Nachweis von *Cronobacter* spp.

Ermittlung von *Cronobacter* spp. (3.1) in einer vorgegebenen Masse oder einem vorgegebenen Volumen eines Produkts oder auf einer vorgegebenen Fläche bei der Untersuchung nach den in diesem Dokument festgelegten Verfahren