

DIN EN ISO 6579



ICS 07.100.30

Ersatz für
DIN EN ISO 6579:2003-03

**Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln –
Horizontales Verfahren zum Nachweis von *Salmonella* spp.
(ISO 6579:2002+Amd 1:2007);
Deutsche Fassung EN ISO 6579:2002+A1:2007**

Microbiology of food and animal feeding stuffs –
Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp. (ISO 6579:2002+Amd 1:2007);
German version EN ISO 6579:2002+A1:2007

Microbiologie des aliments –
Méthode horizontale pour la recherche des *Salmonella* spp. (ISO 6579:2002+Amd 1:2007);
Version allemande EN ISO 6579:2002+A1:2007

Gesamtumfang 44 Seiten

Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) im DIN

Nationales Vorwort

Dieses Dokument enthält unverändert die Internationale Norm ISO 6579:2003+Amd 1:2007, die vom SC 9 „Microbiology“ (Sekretariat: Frankreich) des Technischen Komitees ISO/TC 34 „Agricultural food products“ (Sekretariat: Frankreich/Brasilien) erarbeitet wurde. Aufgrund der Ergebnisse der parallelen Abstimmung im Rahmen der Wiener Vereinbarung gilt diese Norm ebenso als Europäische Norm EN ISO 6579:2002+A1:2007.

Die Mitarbeit des DIN im SC 9 des ISO/TC 34 und in der Arbeitsgruppe 6 des CEN/TC 275 „Lebensmittelanalytik — Horizontale Verfahren“ wird über den Arbeitsausschuss „Mikrobiologische Lebensmitteluntersuchung einschließlich Schnellverfahren“ des Normenausschusses Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) wahrgenommen.

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

ISO 6887-1	siehe DIN EN ISO 6887-1
ISO 8261	siehe DIN EN ISO 8261
ISO/TS 11133-1	siehe DIN V ENV ISO 11133-1
ISO/TS 11133-2	siehe DIN ISO/TS 11133-2

Änderungen

Gegenüber DIN EN ISO 6579:2003-03 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) im Abschnitt 2 „Normative Verweisungen“ den einleitenden Text geändert und zwei Literaturverweisungen aufgenommen;
- b) nach dem Anhang C den Anhang D „Nachweis von *Salmonella* spp. in Tierkot und in Umgebungsproben aus der Primärproduktion“ ergänzt;
- c) unter „Literaturhinweise“ den Literaturhinweis [4] gestrichen und durch die Referenzen [7], [8], [9] und [10] ergänzt.

Frühere Ausgaben

DIN EN 12824: 1998-02

DIN EN ISO 6579: 2002-12, 2003-03

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 8261, *Milch und Milchprodukte — Allgemeiner Leitfaden für die Vorbereitung von Untersuchungsproben und die Herstellung von Anschüttelungen und Dezimalverdünnungen für mikrobiologische Untersuchungen*

DIN V ENV ISO 11133-1, *Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln — Anleitungen für die Zubereitung und Herstellung von Nährmedien — Teil 1: Allgemeine Anleitungen für die Qualitätssicherung bei der Zubereitung von Nährmedien im Laboratorium*

DIN ISO/TS 11133-2, *Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln — Anleitung für die Vorbereitung und Herstellung von Nährmedien — Teil 2: Praktische Anleitungen zur Leistungsprüfung von Nährmedien*

— Leerseite —

Deutsche Fassung

Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln —
Horizontales Verfahren zum Nachweis von *Salmonella* spp.
(ISO 6579:2002+Amd 1:2007)

Microbiology of food and animal feeding stuffs —
Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp.
(ISO 6579:2002+Amd 1:2007)

Microbiologie des aliments —
Méthode horizontale pour la recherche des *Salmonella* spp.
(ISO 6579:2002+Amd 1:2007)

Diese Europäische Norm EN ISO 6579:2002 wurde von CEN am 30. Mai 2002 angenommen.

Die Änderung A1 modifiziert die Europäische Norm EN ISO 6579:2002. Sie wurde von CEN am 23. Mai 2007 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, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, den Niederlanden, Norwegen, Österreich, Portugal, Rumänien, 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
1 Anwendungsbereich	5
2 Normative Verweisungen	5
3 Begriffe	5
4 Kurzbeschreibung	6
5 Nährmedien, Chemikalien und Seren	7
6 Geräte und Glasgeräte	8
7 Probenahme	9
8 Probenvorbereitung	9
9 Durchführung	10
10 Auswertung	16
11 Untersuchungsbericht	16
12 Qualitätssicherung	16
Anhang A (normativ) Fließschema der Untersuchung	17
Anhang B (normativ) Zusammensetzung und Herstellung der Nährmedien und Chemikalien	18
Anhang C (informativ) Ergebnisse vom Ringversuch	30
Anhang D (normativ) Nachweis von <i>Salmonella</i> spp. in Tierkot und in Umgebungsproben aus der Primärproduktion	33
Literaturhinweise	40

Vorwort

Dieses Dokument wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34 „Agricultural 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 Januar 2003, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis Januar 2003 zurückgezogen werden.

Diese Europäische Norm ersetzt EN 12824:1997.

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, Malta, Niederlande, Norwegen, Österreich, Portugal, Schweden, Schweiz, Spanien, die Tschechische Republik und das Vereinigte Königreich.

Anerkennungsnotiz

Der Text der Internationalen Norm ISO 6579:2002 wurde vom CEN als Europäische Norm ohne irgendeine Änderung genehmigt.

Vorwort der Änderung A1

Dieses Dokument (EN ISO 6579:2002/A1:2007) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34 „Agricultural food products“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 275 „Lebensmittelanalytik — Horizontale Verfahren“ erarbeitet, dessen Sekretariat vom DIN gehalten wird.

Diese Änderung zur Europäischen Norm EN ISO 6579:2002 muss den Status einer nationalen Norm erhalten, entweder durch Veröffentlichung eines identischen Textes oder durch Anerkennung bis Januar 2008 und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis Januar 2008 zurückgezogen werden.

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Texte dieses Dokuments Patentrechte berühren können. CEN ist 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, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, Niederlande, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, Rumänien, Schweden, Schweiz, Slowakei, Slowenien, Spanien, Tschechische Republik, Ungarn, Vereinigtes Königreich und Zypern.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO 6579:2002/Amd.1:2007 wurde vom CEN als EN ISO 6579:2002/A1:2007 ohne irgendeine Änderung 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 soweit wie möglich anzuwenden.

Bei der nächsten Überarbeitung dieser Internationalen Norm 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 diesen horizontalen Verfahren nicht entsprechen. Es ist anzustreben, sie bei einer Überarbeitung an diese Internationale Norm anzupassen, so dass es sich bei den noch verbleibenden Abweichungen nur um solche handelt, die fachlich begründet sind.

WARNUNG — Um die Gesundheit des Laborpersonals sicherzustellen, ist es wichtig, dass der Nachweis von Salmonellen, und insbesondere von *Salmonella* Typhi und *Salmonella* Paratyphi, nur in entsprechend ausgestatteten Laboratorien unter Aufsicht eines erfahrenen Mikrobiologen vorgenommen wird und dass das gesamte bebrütete Material mit größter Sorgfalt unschädlich beseitigt wird.

1 Anwendungsbereich

Diese Internationale Norm legt ein horizontales Verfahren zum Nachweis von Salmonellen fest, einschließlich *Salmonella* Typhi und *Salmonella* Paratyphi.

In Abhängigkeit von den in der Einleitung erörterten Einschränkungen gilt diese Internationale Norm für

- Produkte, die für den menschlichen Verzehr oder als Futtermittel bestimmt sind;
- Umgebungsproben im Bereich der Herstellung von Lebensmitteln und beim Umgang mit Lebensmitteln.

WARNUNG — Es ist möglich, dass nach diesem Untersuchungsverfahren nicht alle *Salmonella* Typhi und *Salmonella* Paratyphi wachsen.

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, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination — Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions*

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

ISO 8261:1996, *Milk and milk products — General guidance for the preparation of test samples, initial suspensions and decimal dilutions for microbiological examination*

ISO/TS 11133-1, *Microbiology of food and animal feeding stuffs — Guidelines on preparation and production of culture media — Part 1: General guidelines on quality assurance for the preparation of culture media in the laboratory*

ISO/TS 11133-2, *Microbiology of food and animal feeding stuffs — Guidelines on preparation and production of culture media — Part 2: Practical guidelines on performance testing of culture media*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieser Internationalen Norm gelten die folgenden Begriffe.

3.1

Salmonellen

Mikroorganismen, die typische Kolonien auf festen Selektivmedien bilden und bei der Untersuchung nach dem in dieser Internationalen Norm festgelegten Verfahren die beschriebenen biochemischen und serologischen Eigenschaften besitzen

3.2

Nachweis von Salmonellen

Feststellung der Anwesenheit oder Abwesenheit von Salmonellen (3.1) in einer vorgegebenen Produktmenge bei der Untersuchung nach dem in dieser Internationalen Norm festgelegten Verfahren

4 Kurzbeschreibung

4.1 Allgemeines

Der Nachweis von Salmonellen erfordert vier aufeinander folgende Schritte (siehe auch Anhang A).

ANMERKUNG Salmonellen können in geringer Anzahl anwesend sein und häufig gemeinsam mit einer beträchtlich größeren Anzahl anderer Enterobacteriaceae-Gattungen oder anderen Familien vorkommen. Deshalb ist eine selektive Anreicherung erforderlich; ferner ist häufig eine Voranreicherung erforderlich, um den Nachweis geschädigter Salmonellen zu ermöglichen.

4.2 Voranreicherung in einem nicht selektiven, flüssigen Nährmedium

Gepuffertes Peptonwasser bei Umgebungstemperatur wird mit der Einwaage beimpft und (18 ± 2) h bei (37 ± 1) °C bebrütet.

Für einige Lebensmittel werden andere Voranreicherungsverfahren verwendet. Siehe 9.1.2.

Bei großen Mengen kann das gepufferte Peptonwasser vor der Beimpfung mit der Einwaage auf (37 ± 1) °C erwärmt werden.

4.3 Anreicherung in selektiven, flüssigen Nährmedien

Rappaport-Vassiliadis-Medium mit Soja (RVS-Anreicherungsbouillon) und eine Muller-Kauffmann Tetrathionat-Novobiocin-Bouillon (MKTTn-Bouillon) werden mit der nach 4.2 erhaltenen Kultur beimpft.

Die RVS-Bouillon wird (24 ± 3) h bei $(41,5 \pm 1)$ °C bebrütet. Die MKTTn-Bouillon wird (24 ± 3) h bei (37 ± 1) °C bebrütet.

4.4 Ausstrich und Identifizierung

Zwei feste Selektivmedien werden mit den nach 4.3 erhaltenen Kulturen beimpft:

- Xylose-Lysin-Desoxycholat-Agar, XLD-Agar;
- wahlweise ein anderes festes Selektivnährmedium zur Ergänzung von XLD-Agar, das insbesondere zur Isolierung von laktose-positiven Salmonellen einschließlich *Salmonella* Typhi und *Salmonella* Paratyphi geeignet ist.

Bebrütung des XLD-Agar bei (37 ± 1) °C und Prüfung nach (24 ± 3) h. Das zweite Selektivmedium wird nach den Empfehlungen des Herstellers bebrütet.

ANMERKUNG Medien wie Brilliantgrün-Agar (BGA), Bismutsulfit-Agar usw. können als zweites Ausstreichmedium verwendet werden.

4.5 Bestätigung

Salmonellenverdächtige Kolonien werden nach 4.4 subkultiviert, und die Identität wird mit geeigneten biochemischen und serologischen Tests bestätigt.

5 Nährmedien, Chemikalien und Seren

5.1 Allgemeines

Zur üblichen Laborpraxis siehe ISO 7218.

5.2 Nährmedien und Chemikalien

ANMERKUNG Der besseren Übersichtlichkeit wegen werden Zusammensetzung und Herstellung der zahlreichen, für die Untersuchung notwendigen Nährmedien und Chemikalien in Anhang B beschrieben.

5.2.1 Nicht selektives Voranreicherungsmedium: Gepuffertes Peptonwasser

Siehe B.1.

5.2.2 Erstes selektives Anreicherungsmedium: Rappaport-Vassiliadis-Medium mit Soja (RVS-Bouillon)

Siehe B.2.

5.2.3 Zweites selektives Anreicherungsmedium: Muller-Kauffmann Tetrathionat-Novobiocin-Bouillon (MKTn-Bouillon)

Siehe B.3.

5.2.4 Feste Selektivmedien für die Isolierung

5.2.4.1 Erstes Medium: Xylose-Lysin-Desoxycholat-Agar (XLD-Agar)

Siehe B.4.

5.2.4.2 Zweites Medium

Die Wahl des zweiten geeigneten Nährmediums liegt im Ermessen des Untersuchungslaboratoriums. Den Anweisungen des Herstellers zu seiner Zubereitung sollte präzise gefolgt werden.

5.2.5 Nähragar

Siehe B.5.

5.2.6 Dreizucker-Eisen-Agar (TSI-Agar)

Siehe B.6.

5.2.7 Harnstoff-Agar (Christensen)

Siehe B.7.

5.2.8 L-Lysin-Decarboxylase-Medium

Siehe B.8.

5.2.9 Reagenz zum Nachweis von  Galactosidase (oder vorbereitete Papierscheiben, die entsprechend den Anweisungen des Herstellers zu verwenden sind)

Siehe B.9.

5.2.10 Reagenzien für die Voges-Proskauer-(VP-)Reaktion

Siehe B.10.

5.2.11 Reagenzien für die Indol-Reaktion

Siehe B.11.

5.2.12 Halbfester Nähragar

Siehe B.12.

5.2.13 Physiologische Kochsalzlösung

Siehe B.13.

5.3 Seren

Im Handel sind agglutinierende Salmonellen-Antiseren für ein oder mehrere O-Antigene erhältlich, d. h. Antiseren, die eine oder mehrere „O“-Gruppen enthalten (so genannte mono- oder polyvalente Anti-O-Seren), Anti-Vi-Seren und Antiseren, die Antikörper für eine oder mehrere „H“-Faktoren enthalten (so genannte mono- oder polyvalente Anti-H-Seren).

Es sollte unbedingt sichergestellt werden, dass die verwendeten Antiseren geeignet sind, alle Salmonellen-Serovaren zu erfassen. Empfehlenswert ist die Verwendung von Antiseren eines z. B. durch eine entsprechende amtliche Kontrollbehörde anerkannten Lieferanten.

6 Geräte und Glasgeräte

Einweggeräte mit geeigneten Kennwerten sind eine geeignete Alternative zu wiederverwendbaren Glasgeräten.

Übliche Ausstattung eines mikrobiologischen Labors (siehe ISO 7218) und insbesondere die folgenden Geräte:

6.1 Gerät für die Trockensterilisation (Wärmeschrank) oder Dampfsterilisation (Autoklav)

Siehe ISO 7218.

6.2 Trocknungskammer oder Wärmeschrank, Wärmeübertragung durch Umluft, auf Betriebstemperaturen zwischen 37 °C und 55 °C einstellbar.

6.3 Brutschrank, je nach vereinbarter Temperatur auf (37 ± 1) °C einstellbar.

6.4 Wasserbad, auf $(41,5 \pm 1)$ °C einstellbar, oder Brutschrank, auf $(41,5 \pm 1)$ °C einstellbar.

6.5 Wasserbäder, zwischen 44 °C und 47 °C einstellbar

6.6 Wasserbad, auf (37 ± 1) °C einstellbar.

Es wird empfohlen, ein Wasserbad zu verwenden (6.4, 6.5 und 6.6), das ein antibakterielles Agens wegen der niedrigen Infektionsdosis von Salmonellen enthält.

6.7 Impfösen von ungefähr 3 mm Durchmesser oder 10 µl, oder sterile Pipetten.

6.8 pH-Messgerät, kalibrierbar auf $\pm 0,1$ pH bei 20 °C bis 25 °C.

6.9 Kulturröhrchen oder -kolben, mit geeignetem Volumen.

Es dürfen Kulturröhrchen oder -kolben mit ungiftigem Metall- oder Kunststoff-Schraubverschluss verwendet werden.

6.10 Messpipetten oder automatische Pipetten, Nennvolumen 10 ml und 1 ml, mit 0,5 ml- bzw. 0,1 ml-Skalenteilungswert.

6.11 Kleine Petrischalen, (Durchmesser 90 mm bis 100 mm) und/oder große Petrischalen (Durchmesser 140 mm).

7 Probenahme

Es ist wichtig, dass das Labor eine repräsentative Probe empfängt, die während des Transports oder der Lagerung nicht beschädigt oder verändert wurde.

Die Probenahme wird in dieser Internationalen Norm nicht festgelegt. Dazu ist die spezielle entsprechende Internationale Norm heranzuziehen, die sich mit dem betreffenden Produkt befasst. Liegt keine derartige Internationale Norm vor, wird den betreffenden Vertragspartnern empfohlen, diesbezüglich eine Vereinbarung zu treffen.

8 Probenvorbereitung

Die Probe ist nach der speziellen Internationalen Norm vorzubereiten, die sich mit dem Produkt befasst. Liegt keine derartige Internationale Norm vor, wird den betreffenden Vertragspartnern empfohlen, diesbezüglich eine Vereinbarung zu treffen.

9 Durchführung (siehe Fließschema in Anhang A).

9.1 Einwaage und Ausgangsverdünnung

9.1.1 Allgemeines

Siehe ISO 6887-1 und die spezielle Internationale Norm, die sich mit dem betreffenden Produkt befasst. Für Milch und Milcherzeugnisse siehe ISO 8261.

Das unter 4.2 und 5.2.1 als Voranreicherungsmedium festgelegte gepufferte Peptonwasser wird im Allgemeinen als Verdünnungsflüssigkeit für die Ausgangsverdünnung verwendet.

Sofern die vorgeschriebene Einwaage von 25 g abweicht, ist das Volumen des Voranreicherungsmediums so zu wählen, dass sich ein Verhältnis von 1/10 ergibt (Masse zu Volumen).

Falls mehr als eine 25-g-Probenmenge von einer festgelegten Lebensmittelcharge zu untersuchen ist und nachgewiesen werden kann, dass eine Vereinigung der einzelnen Untersuchungsproben zu einer Sammelprobe das Ergebnis für dieses spezielle Lebensmittel nicht beeinflusst, dürfen die Probenmengen zusammengefügt werden, um die Anzahl der zu untersuchenden Einzelproben zu reduzieren. Wenn z. B. 10 Einwaagen von jeweils 25 g zu untersuchen sind, werden die 10 Einheiten zu einer Sammelprobe von 250 g vereinigt und 2,25 l Voranreicherungsmedium hinzugefügt. Alternativ dazu dürfen die 0,1-ml-Anteile (in 10 ml der RVS-Bouillon) und 1-ml-Anteile (in 10 ml der MKTTn-Bouillon) der Voranreicherungsmedien von den 10 Einzelproben (9.3.1) zur Anreicherung in 100 ml der selektiven Anreicherungsmedien vereinigt werden.

9.1.2 Spezielle Vorbereitung der Ausgangsverdünnung für bestimmte Lebensmittel

ANMERKUNG Die folgenden speziellen Vorbereitungen sind nur Salmonellen betreffend. Spezielle Vorbereitungen zum Nachweis von anderen Mikroorganismen werden in ISO 6887-2, ISO 6887-3, ISO 6887-4 und ISO 8261 beschrieben.

9.1.2.1 Kakao und Produkte, die Kakao enthalten (zum Beispiel mehr als 20 %)

Sofern die Lebensmittel stark mit grampositiver Flora kontaminiert sind, sind zu dem gepufferten Peptonwasser (5.2.1) vorzugsweise 50 g/l Casein (kein saures Casein) oder 100 g/l steriles Magermilchpulver hinzuzugeben. Nach etwa 2 h Bebrütung werden 0,018 g/l Brilliantgrün hinzugefügt, falls das Lebensmittel wahrscheinlich hoch mit Gram-positiver Flora kontaminiert ist.

9.1.2.2 Saure und ansäuernde Lebensmittel

Es ist sicherzustellen, dass der pH-Wert während der Voranreicherung nicht unter 4,5 absinkt.

ANMERKUNG Der pH-Wert von sauren und ansäuernden Lebensmitteln ist stabiler bei Verwendung von doppelt konzentriertem gepufferten Peptonwasser.

9.2 Nicht selektive Voranreicherung

Die Ausgangsverdünnung (9.1) wird (18 ± 2) h bei (37 ± 1) °C bebrütet.

9.3 Selektive Anreicherung

9.3.1 0,1 ml der nach 9.2 bebrüteten Kultur werden in ein Kulturröhrchen überführt, das 10 ml RVS-Bouillon (5.2.2) enthält; 1 ml der nach 9.2 bebrüteten Kultur werden in ein Kulturröhrchen überführt, das 10 ml MKTTn-Bouillon (5.2.3) enthält.

9.3.2 Die beimpfte RVS-Bouillon (9.3.1) wird (24 ± 3) h bei ($41,5 \pm 1$) °C bebrütet. Die beimpfte MKTTn-Bouillon wird (24 ± 3) h bei (37 ± 1) °C bebrütet. Die maximal zulässige Bebrütungstemperatur (42,5 °C) sollte nicht überschritten werden.