

DIN ISO 16649-1



ICS 07.100.30

Ersatz für
DIN ISO 16649-1:2009-12

**Mikrobiologie der Lebensmittelkette –
Horizontales Verfahren für die Zählung von beta-Glucuronidase-positiven
Escherichia coli –
Teil 1: Koloniezählverfahren bei 44 °C mit Membranen und
5-Brom-4-Chlor-3-Indol-beta-D-Glucuronid (ISO 16649-1:2018)**

Microbiology of the food chain –
Horizontal method for the enumeration of beta-glucuronidase-positive *Escherichia coli* –
Part 1: Colony-count technique at 44 °C using membranes and 5-bromo-4-chloro-3-indolyl
beta-D-glucuronide (ISO 16649-1:2018)

Microbiologie de la chaîne alimentaire –
Méthode horizontale pour le dénombrement des *Escherichia coli* bêta-glucuronidase
positive –
Partie 1: Technique de comptage des colonies à 44 °C au moyen de membranes et de
5-bromo-4-chloro-3-indolyl bêta-D glucuronide (ISO 16649-1:2018)

Gesamtumfang 17 Seiten

DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)

Inhalt

	Seite
Nationales Vorwort.....	3
Nationaler Anhang NA (informativ) Literaturhinweise	4
Vorwort	5
Einleitung	6
1 Anwendungsbereich.....	7
2 Normative Verweisungen	7
3 Begriffe	7
4 Kurzbeschreibung.....	8
4.1 Einwaage, Erstverdünnung, Verdünnungen und Wiederbelebungs-schritt	8
4.2 Kultur auf Selektivmedium.....	8
4.3 Berechnung.....	8
5 Nährmedien und Reagenzien.....	8
6 Geräte und Verbrauchsmaterialien.....	8
7 Probenahme	9
8 Herstellung der Untersuchungsprobe	9
9 Durchführung.....	10
9.1 Allgemeines	10
9.2 Einwaage, Erstverdünnung und Verdünnungen	10
9.3 Wiederbelebungs-schritt.....	10
9.4 Überführung auf Selektivmedium und Bebrütung.....	10
9.5 Zählung der Kolonie bildenden Einheiten (KBE).....	10
9.6 Berechnung.....	11
10 Angabe der Ergebnisse	11
11 Leistungsmerkmale des Verfahrens.....	11
12 Prüfbericht.....	11
13 Qualitätssicherung.....	11
Anhang A (normativ) Zusammensetzung und Herstellung von Nährmedien und Reagenzien	12
A.1 Allgemeines	12
A.2 Wiederbelebungsmedium: Mineralien-modifizierter-Glutamat-Agar (MMGA, en: minerals-modified glutamate agar) [12] [14].....	12
A.2.1 Zusammensetzung	12
A.2.2 Herstellung.....	13
A.2.3 Herstellung der Agarplatten.....	13
A.3 Selektivmedium: Trypton-Galle-X-Glucuronid-Agar (TBX, en: tryptone-bile X-glucuronide agar).....	13
A.3.1 Zusammensetzung	13
A.3.2 Herstellung.....	13
A.3.3 Herstellung der Agarplatten.....	14
A.4 Leistungsprüfung zur Qualitätssicherung der Nährmedien und der Membran.....	14
Literaturhinweise.....	16

Nationales Vorwort

Dieses Dokument enthält die deutsche Übersetzung der Internationalen Norm ISO 16649-1:2018, die vom Technischen Komitee ISO/TC 34 „Food products“, Unterkomitee SC 9 „Microbiology“ erarbeitet wurde, dessen Sekretariat von AFNOR (Frankreich) gehalten wird.

Das zuständige nationale Normungsgremium 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 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 16649-2	siehe	DIN ISO 16649-2
ISO 16649-3	siehe	DIN EN ISO 16649-3
ISO 17468	siehe	DIN EN ISO 17468
ISO 17604	siehe	DIN EN ISO 17604
ISO 18593	siehe	DIN EN ISO 18593
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.

Änderungen

Gegenüber DIN ISO 16649-1:2009-12 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- Umgebungsproben und Proben aus der Primärproduktion wurden im Anwendungsbereich hinzugefügt;
- eine Mindestdauer der Bebrütung (20 h) von Trypton-Galle-X-Glucuronid-Agar (TBX) während der selektiven Isolierung wurde aufgenommen;
- Leistungsprüfung zur Qualitätssicherung der Nährmedien und der Membranen für den Transfer wurde hinzugefügt;
- um die Sicherheit der Anwender zu erhöhen, wurde zum Auflösen des chromogenen Bestandteils (BCIG) die Verwendung des Lösungsmittels Dimethylsulfoxid (DMSO) nicht mehr empfohlen;
- die Zusammensetzung des Mineralien-modifizierten Glutamat-Agars (MMGA) wurde entsprechend der ursprünglichen Rezeptur korrigiert (Asparaginsäure 0,024 g und Arginin 0,02 g) [12];
- die Einfügung einer Nationalen Fußnote im Anwendungsbereich.

Frühere Ausgaben

DIN 10110: 1992-11, 1994-08
DIN ISO 16649-1: 2009-12

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 16649-3, *Mikrobiologie der Lebensmittelkette — Horizontales Verfahren zur Zählung von β -Glucuronidase-positiven Escherichia coli — Teil 3: Nachweis und Bestimmung der wahrscheinlichsten Keimzahl unter Verwendung von 5-Brom-4-Chlor-3-Indol- β -D-Glucuronid*

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

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 ISO 16649-2, *Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln — Horizontales Verfahren für die Zählung von β -Glucuronidase-positiven Escherichia coli — Teil 2: Koloniezählverfahren bei 44 °C mit 5-Brom-4-Chlor-3-Indol- β -D-Glucuronid*

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*, erarbeitet.

Diese zweite Ausgabe ersetzt die erste Ausgabe (ISO 16649-1:2001), die mit den folgenden wesentlichen Änderungen technisch überarbeitet wurde.

- Umgebungsproben und Proben aus der Primärproduktion wurden im Anwendungsbereich hinzugefügt;
- eine Mindestdauer der Bebrütung (20 h) von Trypton-Galle-X-Glucuronid-Agar (en: tryptone-bile X-glucuronide, TBX) während der selektiven Isolierung wurde aufgenommen;
- die Leistungsprüfung für die Qualitätssicherung von Nährmedien und der Membran für den Transfer wurde hinzugefügt;
- um die Sicherheit des Anwenders zu erhöhen, wird zum Auflösen des chromogenen Substrats (BCIG) das Lösemittel Dimethylsulfoxid (DMSO) nicht mehr empfohlen;
- die Zusammensetzung des Mineralien-modifizierten Glutamat-Agars (MMGA) wurde auf die Werte der Originalformulierung korrigiert (Asparaginsäure 0,024 g und Arginin 0,02 g) [12].

Eine Auflistung aller Teile der Normenreihe ISO 16649 ist auf der ISO-Internetseite abrufbar.

Einleitung

Wegen der großen Vielfalt von Lebensmittel- und Futtermittelprodukten ist dieses horizontale Verfahren möglicherweise für bestimmte Produkte nicht bis ins Einzelne geeignet. In diesem Fall dürfen andere Verfahren, die spezifisch für diese Produkte sind, angewendet werden, sofern dies aus berechtigten technischen Gründen absolut erforderlich ist. Nichtsdestotrotz sollte alles versucht werden, dieses horizontale Verfahren so weit wie möglich anzuwenden.

Die im Vorwort aufgezählten wesentlichen Änderungen zu ISO 16649-1:2001, die in diesem Dokument eingeführt werden, werden als geringfügig betrachtet (siehe ISO 17468 [5]).

Bei der nächsten Überarbeitung dieses Dokuments werden alle zu dem Zeitpunkt verfügbaren Informationen hinsichtlich des Ausmaßes, in dem dieses horizontale Verfahren befolgt wurde, sowie die Gründe für Abweichungen von diesem Verfahren im Falle bestimmter Produkte berücksichtigt.

Die Harmonisierung von Prüfverfahren kann nicht sofort erfolgen, und für bestimmte Produktgruppen liegen möglicherweise bereits Internationale Normen und/oder nationale Normen vor, die diesem horizontalen Verfahren nicht entsprechen. Es wird erwartet, dass bei der Überprüfung solcher Normen diese so verändert werden, dass sie diesem Dokument entsprechen, sodass es sich bei schließlich noch verbleibenden Abweichungen von diesem horizontalen Verfahren nur um solche handelt, die aus berechtigten technischen Gründen erforderlich sind.

Es gibt drei horizontale Verfahren (ISO 16649-1, ISO 16649-2 und ISO 16649-3) für die Zählung von β -Glucuronidase-positiven *Escherichia coli* [3] [4].

Der Anwender kann entweder ISO 16649-1, ISO 16649-2 oder ISO 16649-3 wählen. Alle Teile sind für die allgemeine Anwendung bestimmt. Bei Lebensmitteln, die wahrscheinlich Zellen enthalten, die infolge bestimmter Eigenschaften der Lebensmittel oder bestimmter Bedingungen bei der Verarbeitung subletal geschädigt worden sind, sollte allerdings vorzugsweise ISO 16649-1 oder ISO 16649-3 angewendet werden, da diese beide einen Wiederbelebungs-schritt enthalten.