

DIN ISO 21528-1



ICS 07.100.30

**Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln –
Horizontales Verfahren zum Nachweis und zur Zählung von
Enterobacteriaceae –
Teil 1: Nachweis und Zählung mittels MPN-Technik mit Voranreicherung
(ISO 21528-1:2004)**

Microbiology of food and animal feeding stuffs –
Horizontal methods for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae –
Part 1: Detection and enumeration by MPN technique with pre-enrichment
(ISO 21528-1:2004)

Microbiologie des aliments –
Méthodes horizontales pour la recherche et le dénombrement des Enterobacteriaceae –
Partie 1: Recherche et dénombrement à l'aide de la technique NPP avec
préenrichissement (ISO 21528-1:2004)

Gesamtumfang 17 Seiten

Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) im DIN

Inhalt

	Seite
Nationales Vorwort	3
Einleitung.....	5
1 Anwendungsbereich	6
2 Normative Verweisungen.....	6
3 Begriffe	7
4 Kurzbeschreibung	7
4.1 Nachweis von Enterobacteriaceae (siehe Anhang A).....	7
4.2 Zählung nach dem MPN-Verfahren (siehe Anhang B).....	7
5 Verdünnungsflüssigkeiten, Nährmedien und Reagenzien.....	8
5.1 Verdünnungsflüssigkeit: Gepuffertes Peptonwasser (BPW)	8
5.2 Nährmedien	8
5.3 Oxidase-Reagens.....	11
6 Geräte und Glasgeräte	12
7 Probenahme	12
8 Vorbereitung der Untersuchungsprobe	12
9 Durchführung	13
9.1 Allgemeines	13
9.2 Nachweisverfahren	13
9.3 Zählverfahren (MPN-Verfahren).....	13
9.4 Isolierung und Auswahl zur Bestätigung.....	14
9.5 Subkultivierung ausgewählter Kolonien	14
9.6 Prüfungen zur biochemischen Bestätigung	14
10 Auswertung	15
10.1 Bestätigte positive Röhrchen	15
10.2 Nachweisverfahren	15
10.3 Zählverfahren: Berechnung der wahrscheinlichsten Keimzahl (MPN)	15
11 Präzision	15
12 Untersuchungsbericht	15
Anhang A (normativ) Fließdiagramm des Ablaufs des Nachweisverfahrens	16
Anhang B (normativ) Fließdiagramm des Ablaufs des MPN-Verfahrens	17

Nationales Vorwort

Die Internationale Norm ISO 21528-1:2004 ist unverändert in diese Norm übernommen worden. ISO 21528-1:2004 wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34 „Food products“ (Sekretariat: Frankreich/Brasilien), Unterkomitee SC 9 „Microbiology“ (Sekretariat: Frankreich) erarbeitet.

Die Mitarbeit des DIN wird für den Bereich des ISO/TC 34/SC 9 über den Arbeitsausschuss „Mikrobiologische Lebensmitteluntersuchung einschließlich Schnellverfahren“ des Normenausschusses Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) wahrgenommen.

DIN ISO 21528 besteht unter dem allgemeinen Titel *Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln — Horizontales Verfahren zum Nachweis und zur Zählung von Enterobacteriaceae* aus folgenden Teilen:

- Teil 1: Nachweis und Zählung mittels MPN-Verfahren mit Voranreicherung
- Teil 2: Koloniezählverfahren.

Die in ISO 21528-1:2004 auszugsweise zitierte ISO 7218:1996 war nicht in das nationale Normenwerk übernommen worden. Die Folgeausgabe ISO 7218:2007 ist als DIN EN ISO 7218:2007 erschienen.

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 8261	siehe DIN EN ISO 8261
ISO/TS 11133-1	siehe DIN ISO/TS 11133-1
ISO/TS 11133-2	siehe DIN ISO/TS 11133-2

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

DIN ISO/TS 11133-1, *Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln — Anleitungen für die Vorbereitung 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 Anleitung zur Leistungsprüfung von Nährmedien*

**Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln —
Horizontales Verfahren zum Nachweis und zur Zählung von Enterobacteriaceae —
Teil 1: Nachweis und Zählung mittels MPN-Technik mit Voranreicherung**

Einleitung

Dieser Teil von ISO 21528 soll eine allgemeine Anleitung für die Untersuchung von Produkten bereitstellen, die nicht in bereits vorhandenen Internationalen Normen behandelt werden. Die Norm sollte von Organisationen beachtet werden, die mikrobiologische Prüfverfahren für die Anwendung bei Lebens- oder Futtermitteln erarbeiten. Wegen der großen Vielfalt von Produkten in diesem Anwendungsbereich sind diese Leitlinien möglicherweise für bestimmte Produkte nicht bis ins Einzelne geeignet und bei einigen anderen Produkten kann die Anwendung anderer Verfahren notwendig sein. Trotzdem wird angenommen, dass in jedem Fall alle Anstrengungen unternommen werden, um die vorliegenden Leitlinien soweit wie möglich anzuwenden und dass Abweichungen von den Leitlinien nur dann erfolgen, wenn es aus technischen Gründen unbedingt notwendig ist.

Bei der nächsten Überarbeitung dieses Teils von ISO 21528 werden sämtliche dann zur Verfügung stehenden Informationen hinsichtlich des Umfangs, in dem diese Leitlinien befolgt wurden und der Gründe für Abweichungen von diesen Leitlinien bei besonderen Produkten berücksichtigt werden.

Die Harmonisierung von Untersuchungsverfahren 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 ist jedoch anzustreben, dass solche Normen bei einer Überarbeitung verändert werden, um diesem Teil von ISO 21528 zu entsprechen, so dass es sich bei schließlich noch verbleibenden Abweichungen von diesem horizontalen Verfahren nur um solche handelt, die aus berechtigten technischen Gründen erforderlich sind.

1 Anwendungsbereich

Dieser Teil von ISO 21528 legt ein Verfahren mit Voranreicherung zum Nachweis von Enterobacteriaceae fest. Es gilt für

- Produkte, die für den menschlichen Verzehr und als Futtermittel bestimmt sind und
- Umgebungsproben im Bereich der Herstellung und Behandlung von Lebensmitteln.

Die Zählung erfolgt durch Berechnung der wahrscheinlichsten Keimzahl (en: most probable number, MPN) nach dem Bebrüten bei 37 °C (oder 30 °C)¹⁾ in flüssigem Nährmedium.

Das Verfahren ist anwendbar,

- wenn davon auszugehen ist, dass die gesuchten Mikroorganismen vor der Anreicherung einer Wiederbelebung bedürfen und
- wenn die gesuchte Anzahl im Bereich von (1 bis 100) je Milliliter oder je Gramm der Untersuchungsprobe liegt.

Eine Beschränkung der Anwendbarkeit dieses Teils von ISO 21528 wird durch die Anfälligkeit des Verfahrens für ein hohes Maß an Variabilität bedingt (siehe Abschnitt 11).

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 6887-1:1999, *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 6887-2, *Microbiology of food and animal feeding stuffs — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination — Part 2: Specific rules for the preparation of meat and meat products*

ISO 6887-3, *Microbiology of food and animal feeding stuffs — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination — Part 3: Specific rules for the preparation of fish and fishery products*

ISO 6887-4, *Microbiology of food and animal feeding stuffs — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination — Part 4: Specific rules for the preparation of products other than milk and milk products, meat and meat products, and fish and fishery products*

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

ISO 8261, *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 11133-2:2003, *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*

1) Die Temperatur von 37 °C wird üblicherweise verwendet, wenn die Zählung von Enterobacteriaceae für hygienische Zwecke erfolgt. Alternativ kann eine Temperatur von 30 °C gewählt werden, wenn die Zählung von Enterobacteriaceae für technologische Zwecke durchgeführt wird und psychrotrophe Enterobacteriaceae einschließt.