

DIN EN ISO 21528-2

ICS 07.100.30

Einsprüche bis 2014-09-11
Vorgesehen als Ersatz für
DIN ISO 21528-2:2009-12

Entwurf

**Mikrobiologie der Lebensmittelkette –
Horizontales Verfahren zum Nachweis und zur Zählung von
Enterobacteriaceae –
Teil 2: Koloniezählverfahren (ISO/DIS 21528-2:2014);
Deutsche Fassung prEN ISO 21528-2:2014**

Microbiology of the food chain –
Horizontal methods for the detection and enumeration of *Enterobacteriaceae* –
Part 2: Colony-count method (ISO/DIS 21528-2:2014);
German version prEN ISO 21528-2:2014

Microbiologie de la chaîne alimentaire –
Méthodes horizontales pour la recherche et le dénombrement des *Entérobacteriaceae* –
Partie 2: Méthode par comptage des colonies (ISO/DIS 21528-2:2014);
Version allemande prEN ISO 21528-2:2014

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2014-07-11 wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und Stellungnahme vorgelegt.

Weil die beabsichtigte Norm von der vorliegenden Fassung abweichen kann, ist die Anwendung dieses Entwurfes besonders zu vereinbaren.

Stellungnahmen werden erbeten

- vorzugsweise online im Norm-Entwurfs-Portal des DIN unter www.entwuerfe.din.de bzw. für Norm-Entwürfe der DKE auch im Norm-Entwurfs-Portal der DKE unter www.entwuerfe.normenbibliothek.de, sofern dort wiedergegeben;
- oder als Datei per E-Mail an nal@din.de möglichst in Form einer Tabelle. Die Vorlage dieser Tabelle kann im Internet unter www.din.de/stellungnahme oder für Stellungnahmen zu Norm-Entwürfen der DKE unter www.dke.de/stellungnahme abgerufen werden;
- oder in Papierform an den Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) im DIN, 10772 Berlin (Hausanschrift: Burggrafenstr. 6, 10787 Berlin).

Die Empfänger dieses Norm-Entwurfs werden gebeten, mit ihren Kommentaren jegliche relevanten Patentrechte, die sie kennen, mitzuteilen und unterstützende Dokumentationen zur Verfügung zu stellen.

Gesamtumfang 21 Seiten

Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) im DIN

Nationales Vorwort

Der hiermit der Öffentlichkeit zur Stellungnahme vorgelegte Norm-Entwurf wurde von der Arbeitsgruppe 6 „Mikrobiologie der Lebensmittelkette“ (Sekretariat: AFNOR, Frankreich) des Technischen Komitees CEN/TC 275 „Lebensmittelanalytik — Horizontale Verfahren“ (Sekretariat: DIN, Deutschland) erarbeitet. Auf Grund der Zusammenarbeit mit dem ISO/TC 34/SC 9 „Microbiology“ (Sekretariat: AFNOR, Frankreich) im Rahmen der Wiener Vereinbarung ist dieser Norm-Entwurf auch als Internationaler Norm-Entwurf erschienen.

Die Mitarbeit des DIN im SC 9 des ISO/TC 34 „Food products“ und in der Arbeitsgruppe 6 des CEN/TC 275 „Lebensmittelanalytik — Horizontale Verfahren“ wird über den Arbeitsausschuss NA 057-01-06 AA „Mikrobiologische Lebensmitteluntersuchung einschließlich Schnellverfahren“ des Normenausschusses Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) wahrgenommen.

Für die in diesem Dokument zitierten Internationalen Normen wird im Folgenden auf die entsprechenden Deutschen Normen 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 18593	siehe	DIN ISO 18593

Änderungen

Gegenüber DIN ISO 21528-2:2009-12 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) in dieser überarbeiteten Ausgabe wurde der Bestätigungsschritt dahingehend geändert, dass Glukose-Agar durch ein OF-Medium ersetzt wurde;
- b) die Leistungsprüfung zur Qualitätssicherung der Nährmedien wurde zu Abschnitt 5 hinzugefügt;
- c) in einem informativen Anhang wurden Präzisionsdaten auf Grundlage der Ergebnisse einer Ringstudie unter Verwendung des in dieser Ausgabe verwendeten Verfahrens eingefügt;
- d) das gesamte Dokument wurde redaktionell überarbeitet.

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

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

Mikrobiologie der Lebensmittelkette — Horizontales Verfahren für den Nachweis und die Zählung von Enterobacteriaceae — Teil 2: Koloniezählverfahren (ISO/DIS 21528-2:2014)

Microbiologie de la chaîne alimentaire — Méthodes horizontales pour la recherche et le dénombrement des Enterobacteriaceae — Partie 2 : Méthode par comptage des colonies (ISO/DIS 21528-2:2014)

Microbiology of the food chain — Horizontal methods for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae — Part 2: Colony-count method (ISO/DIS 21528-2:2014)

ICS:

Deskriptoren:

Dokument-Typ: Europäische Norm
Dokument-Untertyp:
Dokumentstufe: parallele Umfrage
Dokumentsprache: D

STD Version 2.5a

Inhalt

	Seite
Vorwort	3
Einleitung.....	4
1 Anwendungsbereich	5
2 Normative Verweisungen	5
3 Begriffe	5
4 Kurzbeschreibung	6
4.1 Herstellen von Erstverdünnung und Dezimalverdünnungen.....	6
4.2 Isolierung.....	6
4.3 Bestätigung	6
4.4 Berechnung	6
5 Verdünnungsflüssigkeiten, Nährmedien und Reagenzien	6
5.1 Verdünnungsflüssigkeit.....	6
5.2 Nährmedien	7
5.2.1 Kristallviolett-Neutralrot-Galle-Glukose-Agar (VRBG-Agar)	7
5.2.2 Nähragar	8
5.2.3 OF-Glukose-Medium.....	9
5.3 Oxidase-Reagens.....	10
5.3.1 Zusammensetzung	10
5.3.2 Herstellung	10
5.4 Steriles Mineralöl	10
6 Geräte und Glasgeräte	11
7 Probenahme	11
8 Probenvorbereitung.....	11
9 Durchführung	12
9.1 Allgemeines	12
9.2 Einwaage, Erstverdünnung und Verdünnungen	12
9.3 Beimpfung und Bebrütung	12
9.4 Zählung und Auswahl von Kolonien zur Bestätigung	12
9.5 Subkultivierung ausgewählter Kolonien	13
9.6 Biochemische Bestätigung.....	13
9.6.1 Oxidase-Reaktion.....	13
9.6.2 Fermentationstest.....	13
9.6.3 Auswertung der biochemischen Prüfungen	13
9.7 Zählung der <i>Enterobacteriaceae</i> -Kolonien	13
9.8 Präzision	14
9.8.1 Ringstudie	14
9.8.2 Wiederholgrenze	14
9.8.3 Vergleichsgrenze	14
10 Untersuchungsbericht	15
Anhang A (normativ) Ergebnisse der Ringstudie	16
Literaturhinweise	19

Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 21528-2:2014) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 275 „Lebensmittelanalytik — Horizontale Verfahren“, dessen Sekretariat vom DIN gehalten wird, in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee ISO/TC 34 „Food products“ erarbeitet.

Dieses Dokument ist derzeit zur parallelen Umfrage vorgelegt.

Dieses Dokument wurde unter einem Mandat erarbeitet, das die Europäische Kommission und die Europäische Freihandelszone dem CEN erteilt haben, und unterstützt grundlegende Anforderungen der EU-Richtlinien.

Diese zweite Fassung von ISO 21528-2 ersetzt ISO 21528-2:2004. In dieser überarbeiteten Ausgabe wurde der Bestätigungsschritt dahingehend geändert, dass Glukose-Agar durch ein OF-Medium ersetzt wurde. In einem informativen Anhang wurden Präzisionsdaten auf Grundlage der Ergebnisse einer Ringstudie unter Verwendung des in dieser überarbeiteten Ausgabe verwendeten Verfahrens eingefügt.

ISO 21528 besteht unter dem allgemeinen Titel „*Microbiology of the food chain — Horizontal methods for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae*“ aus folgenden Teilen:

- *Part 1: Detection of Enterobacteriaceae*
- *Part 2: Colony-count technique*

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO/DIS 21528-2:2014 wurde vom CEN als prEN ISO 21528-2:2014 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

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 für die Zählung von *Enterobacteriaceae* fest. Es gilt für

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

Diese Verfahrensweise wird empfohlen, wenn erwartet wird, dass die Anzahl der gesuchten Kolonien mehr als 10 je Milliliter oder je Gramm der Untersuchungsprobe beträgt.

Das Verfahren der wahrscheinlichsten Keimzahl (en: most probable number, MPN), wie in ISO 21528-1 enthalten, wird im Allgemeinen angewandt, wenn davon auszugehen ist, dass die gesuchte Anzahl im Bereich von (1 bis 100) je Milliliter oder je Gramm der Untersuchungsprobe liegt.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente, die in diesem Dokument teilweise oder als Ganzes zitiert werden, 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 (alle Teile), *Microbiology of food and animal feeding stuffs — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination*

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

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

ISO 18593, *Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal methods for sampling techniques from surfaces using contact plates and swabs*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

3.1

Enterobacteriaceae

Mikroorganismen, die auf Kristallviolett-Neutralrot-Galle-Glukose-Agar charakteristische Kolonien bilden, Glukose vergären und eine negative Oxidase-Reaktion zeigen, wenn die Untersuchungen nach den in diesem Teil von ISO 21528 festgelegten Verfahren durchgeführt werden

3.2

Keimzahl der *Enterobacteriaceae*

Anzahl von *Enterobacteriaceae* in einem Milliliter oder Gramm oder je Einheitsfläche der mit einem Abstrich versehenen Untersuchungsprobe, wenn die Untersuchung nach dem in diesem Teil von ISO 21528 festgelegten Verfahren durchgeführt wird