

DIN EN ISO 23036-1



ICS 07.100.30

Einsprüche bis 2019-12-18

Entwurf

**Mikrobiologie der Lebensmittelkette –
Verfahren zum Nachweis von Anisakidae L3-Larven in Fisch und
Fischereierzeugnissen –
Teil 1: UV-Pressverfahren (ISO/DIS 23036-1:2019);
Deutsche und Englische Fassung prEN ISO 23036-1:2019**

Microbiology of the food chain –
Methods for the detection of Anisakidae L3 larvae in fish and fishery products –
Part 1: UV-press method (ISO/DIS 23036-1:2019);
German and English version prEN ISO 23036-1:2019

Microbiologie de la chaîne alimentaire –
Méthodes de recherche des larves L3 d'Anisakidae dans les poissons et produits de la pêche –
Partie 1: Méthode avec presse et lumière UV (ISO/DIS 23036-1:2019);
Version allemande et anglaise prEN ISO 23036-1:2019

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2019-10-18 wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und Stellungnahme vorgelegt.

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

Stellungnahmen werden erbeten

- vorzugsweise online im Norm-Entwurfs-Portal von DIN unter www.din.de/go/entwuerfe 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/go/stellungnahmen-norm-entwuerfe oder für Stellungnahmen zu Norm-Entwürfen der DKE unter www.dke.de/stellungnahme abgerufen werden;
- oder in Papierform an den DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL), 10772 Berlin, Saatwinkler Damm 42/43, 13627 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 28 Seiten

DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 23036-1:2019) 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 (Deutschland) 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).

Um Zweifelsfälle in der Übersetzung auszuschließen, ist die englische Originalfassung beigelegt. Die Nutzungsbedingungen für den deutschen Text des Norm Entwurfes gelten gleichermaßen auch für den englischen Text.

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

ISO 7218 siehe DIN EN ISO 7218

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN EN ISO 7218, *Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln — Allgemeine Anforderungen und Leitlinien für mikrobiologische Untersuchungen*

Mikrobiologie der Lebensmittelkette — Verfahren zum Nachweis von Anisakidae L3-Larven in Fisch und Fischereierzeugnissen — Teil 1: UV-Pressverfahren (ISO/DIS 23036-1:2019)

Microbiologie de la chaîne alimentaire — Méthodes de recherche des larves L3 d'Anisakidae dans les poissons et produits de la pêche — Partie 1 : Méthode avec presse et lumière UV (ISO/DIS 23036-1:2019)

Microbiology of the food chain — Methods for the detection of Anisakidae L3 larvae in fish and fishery products — Part 1: UV-press method (ISO/DIS 23036-1:2019)

ICS:

Deskriptoren:

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

STD Version 2.9p

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	3
Vorwort	4
Einleitung	5
1 Anwendungsbereich	6
2 Normative Verweisungen	6
3 Begriffe	6
4 Kurzbeschreibung	7
5 Geräte und Verbrauchsmaterialien	7
6 Probenahme	7
7 Durchführung	7
7.1 Probenwägung	7
7.2 Vorbereitung der Probe	8
7.3 Pressen	8
7.4 Einfrieren	8
7.5 Auftauen	8
7.6 Sichtprüfung	8
8 Dokumentation	9
9 Angabe der Ergebnisse	9
10 Leistungsmerkmale des Verfahrens	9
Anhang A (informativ) Probenahme	10
Anhang B (informativ) Ergebnisse nach dem UV-Pressverfahren	11
Anhang C (informativ) Beispiel für ein Labor-Arbeitsblatt zur Aufzeichnung von Daten bei der Prüfung von Fischfilets mittels UV-Pressverfahren	12
Literaturhinweise	13

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 23036-1:2019) 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.

Dieses Dokument ist derzeit zur parallelen Umfrage vorgelegt.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO/DIS 23036-1:2019 wurde von CEN als prEN ISO 23036-1:2019 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

Vorwort

ISO (die Internationale Organisation für Normung) ist eine weltweite Vereinigung nationaler Normungsorganisationen (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 Themen 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.

Eine Auflistung aller Teile der Normenreihe ISO 23036 ist auf der ISO-Internetseite abrufbar.

Einleitung

Nematoden der Familie Anisakidae haben einen komplexen Lebenszyklus, der eine Vielzahl von Wirtstieren umfasst. Adulte Vertreter der Anisakidae leben im Magen von Meeressäugern, wo sie sich in der Schleimhaut einbetten. Von den adulten Weibchen produzierte, nicht embryonierte Eier werden mit den Fäkalien der Meeressäuger ausgeschieden. Im Meerwasser embryonieren die Eier und Larven des ersten Stadiums (L1) entwickeln sich darin. Die Larven häuten sich und werden zu frei schwimmenden Larven des zweiten Stadiums (L2). Werden sie von Krebstieren gefressen, entwickeln sie sich zu Larven des dritten Stadiums (L3). In diesem Stadium sind sie infektiös für Fische und Kalamare. Durch Prädation werden die Larven von Fisch zu Fisch übertragen, dabei verbleiben sie im L3-Stadium. Wenn das Wirtstier stirbt, wandern manche Larven aus der Bauchhöhle ins Muskelgewebe. Menschen sind zufällige Wirte. Sie können sich durch den Verzehr von rohen oder nicht ausreichend gegarten Fischen und Tintenfischen, die lebensfähige L3 enthalten, infizieren.

Nematoden der Familie Anisakidae sind Erreger der humanen Anisakidose, einer Krankheit, die nicht nur eine den Menschen betreffende Gefährdung der öffentlichen Gesundheit darstellt, sondern auch zu wirtschaftlichen Problemen für Fischerei und Lebensmittelsicherheit führt (auch die Bezeichnung Anisakiasis für die von Vertretern der Gattung *Anisakis* hervorgerufene Krankheit ist geläufig). Weltweit fungieren marine und wilde anadrome Fische als Zwischenwirte der Anisakidae, dagegen sind Meeressäuger die eigentlichen Wirtstiere.

Um das Risiko, dass kontaminierte Fische beim Verbraucher ankommen, auf ein Mindestmaß zu reduzieren und damit das Auftreten von humaner Anisakidose zu verhindern, werden Sichtprüfungsverfahren zum Nachweis von Anisakidaelarven in Fischen eingesetzt.

Das UV-Pressverfahren und die künstliche Verdauung von Fischmuskelgewebe sind speziell entwickelte Verfahren, um Nematodenlarven in Fischen nachzuweisen und das Ausmaß des Befalls einer Charge zu beurteilen. Beide Verfahren wurden in multizentrischen Ringversuchen validiert und geprüft (siehe Abschnitt 10).

Alternative Verfahren können unter der Voraussetzung, dass nachgewiesen wurde, dass sie mit den in dieser Norm beschriebenen Verfahren gleichwertig sind, für die Analyse verwendet werden.

1 Anwendungsbereich

In diesem Teil von ISO 23036 wird ein Verfahren für den Nachweis von L3-Anisakidaelarven, die häufig in marinen und anadromen Fischen vorkommen, festgelegt. Das Verfahren kann bei frischem und/oder gefrorenem Fisch sowie bei leicht verarbeiteten Fischprodukten, wie etwa marinierten, gesalzenen oder kalt geräucherten Fischprodukten, angewendet werden.

Mit diesem Verfahren ist es möglich, parasitäre Infektionen durch Schätzen der Anzahl der in der Fischmuskulatur vorhandenen Parasiten zu quantifizieren.

Mit dem Verfahren lassen sich jedoch weder Spezies noch Genotyp der nachgewiesenen Parasiten bestimmen. Hierzu muss eine endgültige Identifizierung mittels morphologischer und/oder molekularer Verfahren erfolgen.

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

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

3.1
L3-Anisakidaelarven
zur Familie der Anisakidae, insbesondere den Gattungen *Anisakis*, *Contracaecum* und *Pseudoterranova* gehörende Larven des dritten Stadiums (L3)

Anmerkung 1 zum Begriff: Aus praktischen Gründen kann auch die Gattung *Hysterothylacium*, die zur Familie Raphidascarididae gehört und bereits als Anisakidae klassifiziert wird, hierunter fallen.

3.2
UV-Pressverfahren
Verfahren zum Nachweis von Anisakidaelarven im Muskelgewebe von Fischen mittels UV-Untersuchung nach Pressen und Einfrieren

Anmerkung 1 zum Begriff: Unter UV-Licht erscheinen L3 als helle, fluoreszierende Flecken unterschiedlicher Farbe, zum Teil hängt dies von der jeweiligen Anisakis-Spezies ab.

4 Kurzbeschreibung

Das UV-Pressverfahren beruht auf der besonderen Eigenschaft gefrorener Anisakidaelarven, aufgrund des in ihrem Körper enthaltenen Pigments („Lipochroms“) Lipofuscin unter UV-Licht zu fluoreszieren. Der Nachweis von Nematoden erfolgt daher durch die Untersuchung von platt gepressten, gefrorenen Filets aus frischem oder aufgetautem Fisch unter UV-Licht. Das Verfahren darf auch zur Parasitenbeschau von größeren Fischarten wie etwa gezüchtetem Atlantischem Lachs (*Salmo salar*), Kabeljau (*Gadus* spp.) oder Heilbutt (*Hippoglossus hippoglossus*) verwendet werden. In diesem Fall muss jedes Filet bzw. jede Fischseite in kleinere Stücke zerteilt werden, welche dann einzeln bearbeitet und untersucht werden. Die Proben werden in durchsichtige Kunststoffbeutel gegeben, zu einer 1 mm bis 2 mm dicken Schicht gepresst und dann eingefroren. Nach dem Einfrieren und anschließendem Auftauen der Filets erfolgt eine Sichtprüfung, bei der jeder Beutel unter einer UV-Lichtquelle mit 366 nm betrachtet wird. Jede Anisakidaelarve wird hierbei als heller, fluoreszierender Fleck erscheinen, sodass das Ergebnis einfach festzuhalten ist und die ungefähre Lokalisierung der Infektion bestimmt werden kann.

Es liegen empirische Nachweise vor, die belegen, dass durch Kochen, Salzen und Marinieren getötete Anisakidaelarven auch ohne vorheriges Einfrieren eine helle Fluoreszenz aufweisen. Daher kann das Verfahren auch zum Nachweis von Nematoden in derartigen Produkten verwendet werden.

Es gibt keine internen Qualitätskontrollen, die bei der Durchführung des Verfahrens angewendet werden können.

5 Geräte und Verbrauchsmaterialien

Die üblichen mikrobiologischen Laborgeräte (siehe ISO 7218) und insbesondere die folgenden:

5.1 Vakuumpresssystem, eine automatische oder handbetriebene hydraulische Pressvorrichtung mit 7 bar bis 8 bar.

5.2 Durchsichtige Kunststoffbeutel angemessener Dicke und Größe (z. B. 300 × 700 × 0,075 mm LDPE), die Größe der Kunststoffbeutel hängt dabei von der Größe der Probe und der Pressvorrichtung ab (bspw. können für Heringsfilets Beutel mit 700 mm Länge und 300 mm Breite verwendet werden).

5.3 UV-Transilluminator (366 nm).

5.4 Gefrierschrank mit –20 °C.

6 Probenahme

Die Probenahme ist kein Bestandteil des in dieser Internationalen Norm festgelegten Verfahrens, wird jedoch in Anhang A beschrieben. Wenn keine spezifischen Internationalen Normen vorliegen, die die Probenahme bei Fischgewebe festlegen, wird empfohlen, dass die beteiligten Parteien diesbezüglich eine Vereinbarung treffen.

7 Durchführung

WARNUNG — Bei der Arbeit mit UV-Licht sollten allgemeine Sicherheitsmaßnahmen (z. B. die Vermeidung längeren Hautkontakts) berücksichtigt werden; Augenschutz oder eine in der Prüfkammer installierte UV-Schutzscheibe aus Glas, die für den jeweiligen Typ von UV-Lampe geeignet sind, sollten verwendet werden. Die Pressvorrichtung sollte mit besonderer Aufmerksamkeit gehandhabt werden, um jegliche Schädigung des die Prüfung durchführenden Personals zu vermeiden.

7.1 Probenwägung

Jede Probe muss gewogen und ihr Gewicht aufgezeichnet werden.