

DIN EN ISO 6887-1

ICS 07.100.30

Entwurf

Einsprüche bis 2014-02-20
Vorgesehen als Ersatz für
DIN EN ISO 6887-1:1999-04

**Mikrobiologie der Lebensmittelkette –
Vorbereitung von Untersuchungsproben und Herstellung von
Erstverdünnungen und von Dezimalverdünnungen für mikrobiologische
Untersuchungen –
Teil 1: Allgemeine Regeln für die Herstellung von Erstverdünnungen und
Dezimalverdünnungen (ISO/DIS 6887-1:2013);
Deutsche Fassung prEN ISO 6887-1:2013**

Microbiology of the food chain –

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/DIS 6887-1:2013);

German version prEN ISO 6887-1:2013

Microbiologie de la chaîne alimentaire –

Préparation des échantillons de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique –

Partie 1: Règles générales pour la préparation de la suspension mère et des dilutions décimales (ISO/DIS 6887-1:2013);

Version allemande prEN ISO 6887-1:2013

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2013-12-20 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 33 Seiten

Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) im DIN

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 6887-1:2013) enthält unverändert den internationalen Norm-Entwurf ISO/DIS 6887-1:2013, der vom Unterkomitee SC 9 „Microbiology“ (Sekretariat: AFNOR, Frankreich) des Technischen Komitees ISO/TC 34 „Food products“ (Sekretariat: Frankreich/Brasilien) erarbeitet wurde. Auf Grund des Beschlusses des CEN/TC 275 „Lebensmittelanalytik – Horizontale Verfahren“ (Sekretariat: DIN, Deutschland) wird die Bearbeitung im parallelen Abstimmungsverfahren unter Federführung des ISO/TC 34/SC 9 durchgeführt.

Die zuständige Arbeitsgruppe innerhalb des CEN/TC 275 ist die Working Group WG 6 „Mikrobiologie der Lebensmittelkette“. Die Mitarbeit des DIN beim Europäischen Komitee für Normung (CEN) wird für den Bereich der CEN/TC 275/WG 6 über den Arbeitsausschuss „Mikrobiologische Lebensmitteluntersuchung einschließlich Schnellverfahren“ wahrgenommen.

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

ISO 7218 siehe DIN EN ISO 7218

Änderungen:

Gegenüber DIN EN ISO 6887-1:1999-04 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) die Norm wurde komplett neu überarbeitet und inhaltlich erweitert. Die Überarbeitung erfolgte im Kontext mit der Überarbeitung der Normen DIN EN ISO 6887-2:2004-01, DIN EN ISO 6887-3:2003-12 und DIN EN ISO 6887-4:2012-01;
- b) der Abschnitt 8 „Probenvorbereitung“ wurde erweitert, und es wurden Anforderungen aus den Normen DIN EN ISO 6887 Teile 2 bis 4 aufgenommen;
- c) der Abschnitt 9 „Spezifische Verfahrensweisen“ enthält neu Festlegungen Bündeln und Sammeln von Proben für die qualitative Analytik;
- d) der Norm-Entwurf enthält neu die Anhänge A bis D;
- e) das gesamte Dokument wurde redaktionell angeglichen.

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

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

**Mikrobiologie der Lebensmittelkette — Vorbereitung von
Untersuchungsproben und Herstellung von Erstverdünnungen und von
Dezimalverdünnungen für mikrobiologische Untersuchungen —
Teil 1: Allgemeine Regeln für die Herstellung von Erstverdünnungen und
Dezimalverdünnungen (ISO/DIS 6887-1:2013)**

Microbiologie de la chaîne alimentaire — Préparation des échantillons de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique — Partie 1 : Règles générales pour la préparation de la suspension mère et des dilutions décimales (ISO/DIS 6887-1:2013)

Microbiology of the food chain — 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/DIS 6887-1:2013)

ICS:

Deskriptoren:

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

STD Version 2.5a

Inhalt

Seite

Vorwort	4
Einleitung.....	5
1 Anwendungsbereich	6
2 Normative Verweisungen	6
3 Begriffe	6
4 Kurzbeschreibung	8
5 Verdünnungsmittel	8
5.1 Grundstoffe	8
5.2 Verdünnungsmittel zur allgemeinen Verwendung	8
5.2.1 Peptonsalz-Lösung	8
5.2.2 Gepuffertes Peptonwasser	9
5.2.3 Doppelt konzentriertes gepuffertes Peptonwasser	9
5.3 Verdünnungsmittel für spezielle Zwecke	9
5.4 Verteilen und Sterilisieren des Verdünnungsmittels	9
6 Geräte.....	10
7 Probenahme	11
8 Probenvorbereitung.....	11
8.1 Gefrorene Produkte	11
8.1.1 Allgemeines	11
8.1.2 Kleine Proben, die vor der Untersuchung aufgetaut werden	12
8.1.3 Große Stücke oder Blöcke, die im gefrorenen Zustand beprobt werden	12
8.2 Harte und trockene Produkte	13
8.3 Trockenprodukte und andere Produkte mit geringem Wassergehalt	13
8.4 Flüssige und nicht viskose Produkte	13
8.5 Saure Produkte	13
8.6 Stark fetthaltige (mehr als 20 %) Lebensmittel.....	14
8.7 Mehrkomponentenprodukte	14
8.8 Verpackte Produkte	14
8.9 Oberflächenproben (Tupfer und andere Hilfsmittel)	15
9 Spezifische Verfahrensweisen	15
9.1 Einwaage und Erstverdünnung (Ausgangsverdünnung)	15
9.2 Dauer der Durchführung	16
9.3 Verfahren zum Bündeln (en: pooling) und Sammeln (en: compositing) für qualitative Prüfungen	16
10 Weitere Verdünnungen	17
10.1 Dezimalverdünnungsreihe	17
10.2 Andere Verdünnungsreihen	18
Anhang A (informativ) Darstellung von Verfahren zum Bündeln und Zusammensetzen	19
A.1 Zusammengesetzte Proben	19
A.2 Gebündelte Proben	20
A.3 Gebündelte Prüfmengen	21
A.4 Gebündelte (vor-)angereicherte Prüfmengen	22

Anhang B (informativ) Verfahren zur Probenahme aus gefrorenen Prüfstücken oder Blöcken	23
B.1 Nicht homogene Blöcke.....	23
B.2 Homogene Prüfstücke	23
Anhang C (informativ) Daten, die die Zuverlässigkeit von Untersuchungsergebnissen in Abhängigkeit vom Umfang der Prüfmengen darstellen	25
C.1 Niederländische Studie zum Vergleich von verschiedenen Probenumfängen und Auswirkungen der Homogenisierung von Proben	25
C.2 Französische Studie zum Vergleich von 7 verschiedenen Verfahren der Probenvorbereitung	26
Anhang D (informativ) Verifizierungsprotokoll zum Bündeln von Proben für qualitative Untersuchungen	28
D.1 Untersuchungen zum Bündeln	28
D.1.1 Inokula	28
D.1.2 Probenvorbereitung	28
D.1.3 Bündeln von Prüfmengen.....	29
D.1.4 Bündeln von (Vor)Anreicherungsportionen	29
D.2 Bestätigung des Befunds	30
Literaturhinweise	31

Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 6887-1:2013) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34 „Food products“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 275 „Lebensmittelanalytik — Horizontale Verfahren“ erarbeitet, dessen Sekretariat vom DIN gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur parallelen Umfrage vorgelegt.

Dieses Dokument wird EN ISO 6887-1:1999 ersetzen.

ISO 6887 besteht unter dem allgemeinen Titel "*Microbiology of the food chain — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination*" aus den folgenden Teilen:

- *Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and dilutions*
- *Part 2: Specific rules for the preparation of meat and meat products*
- *Part 3: Specific rules for the preparation of fish and fishery products*
- *Part 4: Specific rules for the preparation of miscellaneous products*

[Dieser Teil umfasst die Probenvorbereitung einer Vielzahl von Produkten, die nicht in den anderen Teilen erfasst sind, wie nachfolgend angeführt: sehr saure Produkte, sehr harte Produkte, Getreide und Getreideerzeugnisse, Tierfutter, Gelatine, Margarine und milchfreie Streichfette, Trockenprodukte und Produkte mit geringer Wasseraktivität (a_w), Eier und Eiprodukte, gereifte/fermentierte Produkte, Backwaren und Getränke.]

- *Part 5: Specific rules for the preparation of milk and milk products*
- *Part 6: Specific rules for the preparation of samples taken at the primary production stage.*

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO/DIS 6887-1:2013 wurde vom CEN als prEN ISO 6887-1:2013 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

Einleitung

Wegen der großen Vielfalt von Lebens- und Futtermitteln ist dieses horizontale Verfahren möglicherweise nicht bis ins Einzelne für bestimmte Produkte geeignet. In diesem Fall dürfen unterschiedliche Verfahren, die speziell auf diese Produkte zutreffen, angewendet werden, wenn dies aus gerechtfertigten fachlichen Gründen absolut notwendig ist. Dennoch sollte stets versucht werden, dieses horizontale Verfahren so weit wie möglich anzuwenden.

Bei der nächsten Überarbeitung dieses Teils von ISO 6887 werden sämtliche dann zur Verfügung stehenden Informationen über den Grad der Einhaltung dieses horizontalen Verfahrens und die Gründe für Abweichungen von diesem Verfahren bei bestimmten Produkten berücksichtigt werden.

Die Harmonisierung der Untersuchungsverfahren kann nicht sofort erfolgen; für bestimmte Produktgruppen bestehen möglicherweise bereits Internationale Normen und/oder nationale Normen, die diesem horizontalen Verfahren nicht entsprechen. Es besteht die Hoffnung, dass derartige Normen, wenn sie überprüft werden, so geändert werden, dass sie diesem Teil von ISO 6887 soweit entsprechen, dass die einzigen zum Schluss verbleibenden Abweichungen von diesem horizontalen Verfahren diejenigen sind, die aus gängigen technischen Gründen notwendig sind.

Dieser Teil von ISO 6887 legt die allgemeinen Regeln für die Vorbereitung von Proben, die Herstellung von Erstverdünnungen und nachfolgenden Verdünnungen für mikrobiologische Untersuchungen fest. In den anderen Teilen von ISO 6887 werden spezielle Regeln für die Vorbereitung von Proben und die Herstellung der Erstverdünnung angeführt, die jeweils die Vielfalt von Lebens- und Futtermitteln sowie Umgebungsproben erfassen, für die ISO 6887 gilt.

Bei einer Reihe von Produkten ist es aufgrund des physikalischen Zustandes des Produktes (wie z. B. bei trockenen Produkten, hochviskosen Produkten) oder des Vorhandenseins von hemmenden Stoffen (wie z. B. Gewürzen, hohem Salzgehalt) oder des Säuregehalts usw. notwendig, besondere Vorsichtsmaßnahmen zu ergreifen, insbesondere bei der Herstellung der Erstverdünnung. Diese sind allgemein gefasst in diesem Teil von ISO 6887 enthalten.

Alle speziellen Verdünnungsmittel oder Vorgehensweisen, die bei bestimmten Produkten oder Mikroorganismen in spezifischen genormten Verfahren erforderlich sind, sollten weiterhin anstelle der allgemeinen in dieser Normenreihe aufgeführten Regeln verwendet werden. Dazu können gehören:

- spezielle Verfahren zur Rehydratation bei Lebensmitteln mit geringer Wasseraktivität, um den osmotischen Schock zu minimieren;
- die Wahl geeigneter Temperaturen zur Unterstützung der Suspension von Kakao, Gelatine, Milchpulver usw.;
- Verfahren zur Wiederbelebung für die bessere Wiederherstellung/Wiederfindung von durch die Verarbeitung und Lagerung des Lebensmittels gestressten Mikroorganismen;
- Homogenisierungsverfahren und -dauer, spezifisch für die konkreten Produkte (z. B. Getreide) und/oder für spezielle Bestimmungen (z. B. Hefen und Schimmelpilze).

WARNUNG — Die Anwendung dieser Norm kann die Anwendung gefährlicher Substanzen, Arbeitsgänge und Geräte einschließen. Es liegt in der Verantwortung des Anwenders dieser Norm, geeignete Vorsichtsmaßnahmen für den Arbeits- und Gesundheitsschutz zu treffen und die Anwendbarkeit einschränkender Vorschriften vor der Anwendung zu bestimmen.

1 Anwendungsbereich

Dieser Teil von ISO 6887 legt allgemeinen Regeln für die aerobe Herstellung von Erstverdünnungen und Verdünnungen für mikrobiologische Untersuchungen von Produkten fest, die für den Verzehr durch Menschen oder Tiere vorgesehen sind.

Dieser Teil von ISO 6887 gilt für den allgemeinen Fall und andere Teile gelten für spezifische Produktgruppen, wie im Vorwort dargelegt. Einige Aspekte sind möglicherweise auch auf molekulare Verfahren anwendbar, bei denen Matrices mit der Hemmung von PCR-Schritten in Zusammenhang stehen und folglich das Untersuchungsergebnis beeinflussen können.

Dieser Teil von ISO 6887 schließt die Vorbereitung von Proben für Untersuchungsverfahren zur Zählung und zum Nachweis aus, bei denen die Anweisungen für die Vorbereitung in spezifischen Internationalen Normen ausführlich dargelegt sind.

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

3 Begriffe

Für die Anwendung aller Teile von ISO 6887 gelten die folgenden Begriffe.

3.1

Laborprobe

Probe, die zum Versand an das Labor vorbereitet und zur Kontrolle oder Prüfung vorgesehen ist

[QUELLE: ISO 7002]

3.2

zusammengesetzte Probe

Sammelprobe

Mischprobe aus einer Anzahl von Einheiten derselben Art von Lebensmittel, Futtermittel, Tieren oder Umgebung, aus der eine Prüfmenge zur Untersuchung im Laboratorium entnommen wird

ANMERKUNG Siehe bildliche Darstellung einer zusammengesetzten Probe in Anhang A.

3.3

gebündelte Probe

gepoolte Probe

Mischprobe aus einer Anzahl von Einheiten derselben Art von Lebensmittel, Futtermittel, Tieren oder Umgebung, wobei die gesamte Mischung die Prüfmenge darstellt und als Ganzes zur Untersuchung im Laboratorium verwendet wird

ANMERKUNG Siehe bildliche Darstellung einer gebündelten Probe in Anhang A.

3.4

Untersuchungsprobe

aus der Laborprobe nach der im Prüfverfahren festgelegten Verfahrensweise hergestellte Probe, von der die Prüfmengen entnommen werden

[QUELLE: ISO 7002]

ANMERKUNG Die Herstellung der Laborprobe vor der Entnahme der Prüfmenge wird bei mikrobiologischen Untersuchungen selten angewendet.

3.5

Prüfmenge Einwaage

aus der Laborprobe entnommene, abgemessene repräsentative Probe (Volumen oder Masse) zur Verwendung bei der Herstellung der Erstverdünnung

ANMERKUNG Manchmal ist vor der Entnahme der Prüfmenge eine Herstellung der Laborprobe (3.4) erforderlich, das wird bei mikrobiologischen Untersuchungen jedoch selten angewendet.

3.6

Erstverdünnung

Ausgangsverdünnung

Suspension, Lösung oder Emulsion, die entsteht, wenn eine eingewogene oder abgemessene Menge des zu prüfenden Produkts (oder einer aus dem Produkt hergestellten Untersuchungsprobe) mit üblicherweise der neunfachen Menge Verdünnungsmittel gemischt wird, wobei eventuell vorhandene große Bestandteile absetzen gelassen werden

ANMERKUNG Neunfache Verdünnungen werden üblicherweise verwendet, um eine Dezimalverdünnungsreihe herzustellen, für spezielle Zwecke können jedoch andere Verhältnisse erforderlich sein.

3.7

weitere Verdünnungen

Suspensionen oder Lösungen, die durch Mischen eines abgemessenen Volumens der Erstverdünnung (3.6) mit dem x -fachen Volumen des Verdünnungsmittels und durch Wiederholen dieses Verfahrensschrittes mit weiteren Verdünnungen erhalten werden, bis eine Verdünnungsreihe erreicht ist, die sich für die Beimpfung von Nährmedien eignet

ANMERKUNG Neunfache Verdünnungen werden üblicherweise verwendet, um eine Dezimalverdünnungsreihe herzustellen, für spezielle Zwecke können jedoch andere Verhältnisse erforderlich sein.

3.8

gebündelte Prüfmengen

gepoolte Prüfmengen

Mischung von Prüfmengen aus einer Anzahl von Einheiten derselben Art von Lebensmittel, Futtermittel, Tieren oder Umgebung, wobei die gesamte Mischung die untersuchte Prüfmenge darstellt

ANMERKUNG Siehe bildliche Darstellung von gebündelten Prüfmengen in Anhang A.

3.9

gebündelte (vor)angereicherte Prüfmengen

gepoolte (vor)angereicherte Prüfmengen

einzelne (vor)angereicherte Prüfmengen aus einer Anzahl von Einheiten derselben Art von Lebensmittel, Futtermittel, Tieren oder Umgebung, von denen festgelegte Volumina zur weiteren Untersuchung vereinigt werden

ANMERKUNG Siehe bildliche Darstellung von gebündelten (vor)angereicherten Prüfmengen in Anhang A.

3.10

spezifische Norm

eine Internationale Norm oder ein Anleitungsdokument, das die Untersuchung eines bestimmten Produkts (oder einer Produktgruppe) für den Nachweis oder die Zählung eines bestimmten Mikroorganismus (oder einer Gruppe von Mikroorganismen) beschreibt

4 Kurzbeschreibung

Die Erstverdünnung (3.6) wird so hergestellt, dass eine möglichst homogene Verteilung der in der Prüfmenge (3.5) enthaltenen Mikroorganismen erreicht wird.

Falls erforderlich und je nach den Angaben in der spezifischen Norm werden weitere Verdünnungen (3.7) hergestellt, um die Anzahl von Mikroorganismen je Volumeneinheit zu verringern, um nach der Bebrütung ihr Wachstum oder fehlendes Wachstum (im Fall von Reagenzgläsern oder Flaschen) beobachten bzw. (im Fall von Platten) die Kolonien zählen zu können.

ANMERKUNG Um den Zählbereich auf ein bestimmtes optimales Intervall zu beschränken oder wenn eine hohe Anzahl von Mikroorganismen absehbar ist, ist es möglich, nur die notwendigen (Dezimal-)Verdünnungen (mindestens zwei aufeinanderfolgende Verdünnungen) abzuimpfen, die für die Zählung in Übereinstimmung mit den in ISO 7218 beschriebenen Berechnungen benötigt werden.

5 Verdünnungsmittel

5.1 Grundstoffe

Um die Vergleichpräzision der Untersuchungsergebnisse zu verbessern, wird empfohlen, dass entweder gebrauchsfertige Verdünnungsmittel, getrocknete Grundstoffe oder eine getrocknete vollständige Zubereitung verwendet werden sollten. Die Anweisungen des Herstellers sind in allen Fällen strikt zu befolgen.

Chemikalien müssen von anerkannter Analysenreinheit und für die mikrobiologische Untersuchung geeignet sein.

Das verwendete Wasser muss destilliertes Wasser oder Wasser von gleichwertiger Qualität sein (siehe ISO 7218 oder ISO 11133 [2]).

Hinsichtlich ausführlicher Regeln zur Herstellung von Nährmedien siehe ISO 11133 [2].

Sämtliche Verdünnungsmittel müssen nach ISO 11133 [2] auf eine annehmbare Leistung geprüft werden.

5.2 Verdünnungsmittel zur allgemeinen Verwendung

5.2.1 Peptonsalz-Lösung

5.2.1.1 Zusammensetzung

Enzymatisch verdautes Casein	1,0 g
Natriumchlorid	8,5 g
Wasser	1 000 ml