

E DIN EN ISO 11133:2025-08 (D/E)

Erscheinungsdatum: 2025-07-04

Mikrobiologie der Lebensmittelkette, Futtermittel und Wasser - Vorbereitung, Herstellung, Lagerung und Leistungsprüfung von Nährmedien und Reagenzien (ISO/DIS 11133:2025); Deutsche und Englische Fassung prEN ISO 11133:2025

Microbiology of the food chain, animal feed and water - Preparation, production, storage and performance testing of culture media and reagents (ISO/DIS 11133:2025); German and English version prEN ISO 11133:2025

Inhalt	Seite
Europäisches Vorwort.....	11
Vorwort.....	12
Einleitung.....	14
1 Anwendungsbereich.....	17
2 Normative Verweisungen.....	17
3 Begriffe.....	17
3.1 Allgemeine Begriffe.....	18
3.2 Terminologie zur Leistungsprüfung.....	18
3.3 Terminologie zu Nährmedien.....	19
3.4 Terminologie zu Prüfmikroorganismen.....	23
3.5 Terminologie für Reagenzien und Supplemente.....	25
4 Qualitätssicherungsmanagement.....	25
4.1 Dokumentation.....	25
4.1.1 Dokumentation durch den Hersteller oder die Lieferfirma.....	25
4.1.2 Abnahme von Produkten bei Anlieferung.....	26
4.2 Lagerung.....	26
4.2.1 Allgemeines.....	26
4.2.2 Qualitätsmanagement und Produktkontrolle bei Trockennährmedien und Supplementen.....	26
4.2.3 Qualitätsmanagement und Produktkontrolle bei Fertignährmedien.....	26
4.2.4 Qualitätsmanagement und Produktkontrolle bei Reagenzien.....	27
4.3 Herstellung von Nährmedien und Reagenzien im Laboratorium.....	27
4.3.1 Allgemeines.....	27
4.3.2 Qualität der Bestandteile des Grundnährmediums.....	28
4.3.3 Wasser.....	28
4.3.4 Wägen und Rehydratisieren.....	29
4.3.5 Lösen und Dispergieren.....	29
4.3.6 Messen und Einstellen des pH-Wertes.....	29
4.3.7 Abfüllen.....	29
4.3.8 Sterilisation.....	29
4.3.9 Herstellen von Supplementen.....	30
4.4 Lagerung und Haltbarkeitsdauer von hergestellten Nährmedien.....	30
4.4.1 Handelsübliche Nährmedien und Reagenzien.....	30
4.4.2 Herstellung von Nährmedien und Reagenzien im Laboratorium.....	31
4.5 Vorbereitung für die Verwendung.....	32
4.5.1 Verflüssigen von Agar-Nährmedien.....	32
4.5.2 Entlüften von Nährmedien.....	32
4.5.3 Zugabe von Supplementen.....	32
4.5.4 Herstellung von festen und halbfesten Nährmedien in Petrischalen.....	33

4.5.5	Vorbereitung von Nährmedien in Plattenform für die Beimpfung.....	33
4.6	Bebrütung von festen und halbfesten Nährmedien in Petrischalen.....	33
4.7	Entsorgung von Nährmedien und Reagenzien.....	34
5	Prüfmikroorganismen für die Leistungsprüfung	34
5.1	Allgemeines.....	34
5.2	Auswahl der Prüfmikroorganismen	34
5.3	Konservierung und Erhaltung von Prüfmikroorganismen	35
5.3.1	Allgemeines.....	35
5.3.2	Prüfmikroorganismen von kommerziellen Anbietern	35
5.3.3	Im Laboratorium hergestellte Referenz-Stammkulturen.....	35
5.3.4	Stammkulturen.....	36
5.3.5	Gebrauchskulturen.....	36
5.4	Mikroorganismen für die Leistungsprüfung.....	36
5.4.1	Allgemeines.....	36
5.4.2	Herstellung.....	36
6	Qualitätslenkung und Leistungsprüfung von Nährmedien und Reagenzien.....	40
6.1	Allgemeine Anforderungen.....	40
6.2	Physikalische und chemische Qualitätslenkung.....	40
6.3	Mikrobiologische Qualitätslenkung.....	41
6.3.1	Allgemeines.....	41
6.3.2	Referenz-Nährmedium.....	41
6.3.3	Mikrobielle Kontamination	41
6.4	Allgemeine Leitlinien für die mikrobiologische Leistungsprüfung.....	42
6.4.1	Allgemeines.....	42
6.4.2	Fertignährmedium.....	42
6.4.3	Aus handelsüblichen Trockenformulierungen hergestellte Nährmedien.....	43
6.4.4	Aus einzelnen Grundsubstanzen hergestellte Nährmedien	44
6.5	Leistungsbewertung und Auswertung der Ergebnisse	49
6.6	Bestätigungs-Nährmedien und -Reagenzien	49
6.6.1	Bestätigungs-Nährmedien.....	49
6.6.2	Bestätigungsreagenzien.....	49
7	Verfahren zur Leistungsprüfung von festen Nährmedien	49
7.1	Allgemeines.....	49
7.2	Verfahren für quantitative Prüfungen	50
7.2.1	Verfahren für quantitative Prüfungen – Definitionen.....	50
7.2.2	Quantitatives Verfahren für die Produktivität fester Nährmedien	50
7.3	Prüfung von Nährmedien, die für die Membranfiltration verwendet werden.....	52
7.4	Prüfung von Nährmedien, die als Abklatschplatten verwendet werden	52
7.4.1	Durchführung.....	52
7.4.2	Auswertung der Ergebnisse.....	52
7.5	Verfahren für qualitative Prüfungen zur Bestimmung der Produktivität und Selektivität.....	53
7.5.1	Qualitatives Ausstrichverfahren zur Bestimmung der Produktivität und Selektivität.....	53
7.5.2	Bestimmung der Spezifität.....	53
7.5.3	Andere qualitative Verfahren für feste Nährmedien.....	53
8	Verfahren zur Leistungsprüfung von flüssigen Nährmedien.....	54
8.1	Allgemeines.....	54
8.2	Quantitatives Röhrenverfahren für die Leistungsprüfung von flüssigen Anreicherungs-Nährmedien (Verfahren der Verdünnung bis zur Extinktion).....	54
8.2.1	Allgemeines.....	54
8.2.2	Herstellen der Verdünnungsreihe.....	54
8.2.3	Verfahren zur Prüfung des flüssigen Nährmediums	55
8.2.4	Berechnung und Auswertung der Ergebnisse.....	55
8.3	Qualitatives Röhrenverfahren für die Leistungsprüfung von selektiven flüssigen Nährmedien	55
8.3.1	Allgemeines.....	55
8.3.2	Durchführung.....	56

8.3.3	Berechnung und Auswertung der Ergebnisse.....	57
8.4	Qualitatives Einröhrchenverfahren (Trübung) für die Leistungsprüfung von flüssigen Nährmedien.....	57
8.4.1	Allgemeines.....	57
8.4.2	Durchführung.....	57
8.4.3	Auswertung der Ergebnisse.....	58
8.5	Flüssige Mehrzweck-Nährmedien.....	58
9	Verfahren zur Leistungsprüfung von Verdünnungsmitteln und Transportmedien.....	58
9.1	Allgemeines.....	58
9.2	Verfahren zur Prüfung von Verdünnungsmitteln.....	59
9.2.1	Verfahren für die quantitative Prüfung von Verdünnungsmitteln.....	59
9.3	Verfahren zur Prüfung von Transportmedien.....	59
9.3.1	Allgemeines.....	59
9.3.2	Verfahren zur quantitativen Prüfung von flüssigen Transportmedien.....	60
9.3.3	Verfahren zur qualitativen Prüfung von festen Transportmedien.....	60
10	Dokumentation der Prüfergebnisse.....	61
10.1	Durch den Hersteller bereitzustellende Informationen.....	61
10.2	Rückverfolgbarkeit.....	61
Anhang A (informativ) Bezeichnung der Bestandteile von Nährmedien und Reagenzien in Internationalen Normen für die mikrobiologische Untersuchung von Lebens- und Futtermitteln sowie Wasser.....		
A.1	Allgemeines.....	62
A.2	Peptone.....	62
A.3	Extrakte und Aufgüsse.....	62
A.4	Agar.....	62
A.5	Andere.....	63
Anhang B (normativ) Herstellung einer Referenz-Stammkultur und einer Gebrauchskultur.....		
B.1	Herstellung einer Referenz-Stammkultur aus einem Referenzstamm.....	64
B.2	Herstellung einer Stamm- oder Gebrauchskultur aus einer Referenz-Stammkultur (5.4.2.1, 5.4.2.2).....	66
Anhang C (normativ) Ablaufschemata der Verfahren zur Leistungsprüfung.....		
C.1	Allgemeines.....	67
C.2	Quantitatives Verfahren für feste Nährmedien: Produktivität und Selektivität (siehe 7.2.2 und Bild C.1).....	67
C.3	Quantitatives Röhrchenverfahren für die Leistungsprüfung von flüssigen Anreicherungs-Nährmedien — Verfahren der Verdünnung bis zur Extinktion (siehe 8.2 und Bild C.2).....	68
C.4	Qualitatives Einröhrchenverfahren für selektive flüssige Anreicherungs-Nährmedien (mit Ziel-, Nicht-Zielmikroorganismen oder einer Mischung aus Ziel- und Nicht-Zielmikroorganismen im selben Röhrchen) (siehe 8.3 und Bild C.3).....	68
C.5	Qualitatives Einröhrchenverfahren (Trübung) für die Leistungsprüfung von nicht selektiven und selektiven flüssigen Nährmedien (siehe 8.4 und Bild C.4).....	70
Anhang D (informativ) Beispiel einer Karte für die Aufzeichnung von Prüfergebnissen zu Nährmedien.....		
Anhang E (normativ) Prüfmikroorganismen und Leistungskriterien für Nährmedien und Reagenzien.....		
Anhang F (normativ) Referenz-Nährmedien.....		
F.1	Allgemeines.....	111
F.2	Trypton-Soja-Agar (TSA).....	111
F.2.1	Zusammensetzung.....	111
F.2.2	Herstellung.....	111
F.3	Sabouraud-Dextrose-Agar.....	112
F.3.1	Zusammensetzung.....	112
F.3.2	Herstellung.....	112

F.4	Columbia-Blutagar (CBA)(Beispiel eines nicht selektiven Referenzmediums z. B. für Anaerobier und <i>Campylobacter</i>)	112
F.4.1	Zusammensetzung	112
F.4.2	Defibriertes Blut (Pferde- oder Schafsblut)	113
F.4.3	Vollmedium	113
Anhang G (informativ) Anwendung von Regelkarten zur Überwachung der quantitativen		
	Prüfung von festen Nährmedien	114
G.1	Allgemeines	114
G.2	Verwendung von Regelkarten zur Überwachung der Leistung von Nährmedien	115
G.2.1	Allgemeines Verfahren	115
G.2.2	Erstellen einer Regelkarte	115
G.2.3	Leistungsbewertung und Auswertung der Ergebnisse	116
G.2.4	Alternative Herangehensweisen zur Überwachung der Leistung von Nährmedien	117
G.2.5	Regelmäßige Überprüfung von Regelkarten	117
Anhang H (informativ) Qualitätssicherung von Nährmedien und Reagenzien — Fehlersuche		
Anhang I (informativ) Quantitative Prüfung von flüssigen Nährmedien		
I.1	Allgemeines	123
I.2	Verfahren zur quantitativen Prüfung von nicht selektiven flüssigen Nährmedien unter Verwendung von Zielmikroorganismen	123
I.2.1	Durchführung	123
I.2.2	Auszählung und Auswertung der Ergebnisse	123
I.2.3	Ablaufschema für das Verfahren zur quantitativen Prüfung von nicht selektiven flüssigen Nährmedien unter Verwendung von Zielmikroorganismen	124
I.3	Verfahren zur quantitativen Prüfung von selektiven flüssigen Nährmedien unter Verwendung von Zielmikroorganismen und Nicht-Zielmikroorganismen	125
I.3.1	Durchführung	125
I.3.2	Auszählung, Berechnung und Auswertung der Ergebnisse	125
I.3.3	Ablaufschema für ein quantitatives Verfahren für selektive flüssige Nährmedien unter Verwendung von Ziel- und Nicht-Zielmikroorganismen	126
Anhang J (normativ) Festlegung von mikrobiologischen Leistungsprüfungen für standardisierte Nährmedien und Reagenzien		
J.1	Allgemeines	127
J.2	Leistungskriterien, Verfahren und Ziele	127
J.3	Wahl von Kontrollstämmen für die Leistungsprüfung	128
J.3.1	Allgemeines	128
J.3.2	Beurteilung der Eignung neuer Kontrollstämmen	129
J.3.3	Neue Nährmedien und Reagenzien	129
J.3.4	Anzahl von Stämmen je Leistungskriterium	129
Anhang K (informativ) Leitfaden für die Herstellung standardisierter Prüfsuspensionen (Inokula) und die Konservierung durch Tiefstgefrieren		
K.1	Allgemeines	131
K.2	Nährmedien, Verdünnungsmittel und Kälteschutzmittel	131
K.2.1	Allgemeines	131
K.2.2	Kälteschutzmittel	131
K.2.3	Anreicherungs-Nährmedien	132
K.2.4	Verdünnungsmittel	133
K.2.5	Referenz-Nährmedien	134
K.3	Geräte und Verbrauchsmaterialien	134
K.4	Herstellung standardisierter Prüfsuspensionen (Inokula)	135
K.4.1	Einleitung	135
K.4.2	Kurzbeschreibung	135
K.4.3	Durchführung	136
K.5	Stabilisierung von standardisierten Prüfsuspensionen durch Tiefstgefrieren (sog. „gefrorene Standards in Milch“)	138
K.5.1	Allgemeines	138

K.5.2	Kurzbeschreibung.....	139
K.5.3	Herstellung der Mikroorganismen-Milch-Suspension.....	139
K.5.4	Portionieren und Einfrieren.....	139
K.5.5	Leistungsprüfung der gefrorenen Standards.....	140
K.5.6	Beispiele.....	140
Anhang L (informativ) Messung des pH-Werts von Nährmedien.....		146
L.1	Allgemeines.....	146
L.2	pH-Elektroden.....	146
L.3	Kalibrieren der pH-Elektrode.....	146
L.4	Verifizierung der pH-Elektrode.....	147
L.5	Messung der pH-Werte der Medien.....	148
L.6	Datenerfassung.....	149
L.7	Austausch von pH-Elektroden.....	149
Anhang M (informativ) Leitfaden für die Bewertung von gepuffertem Peptonwasser (en: buffered peptone water, BPW)		150
M.1	Allgemeines.....	150
M.2	Leistungsmerkmale und Einschränkungen.....	150
M.2.1	Leistungsmerkmale.....	150
M.2.2	Beschreibung des Konzepts und Einschränkungen.....	150
M.3	Durchführung.....	151
M.3.1	Nährmedien.....	151
M.3.2	Prüfstamm.....	151
M.3.3	Geräte und Verbrauchsmaterialien.....	152
M.3.4	Herstellung von Kulturen.....	152
M.3.5	Anwendung des Stressprotokolls.....	152
M.3.6	Messung der Schädigung.....	153
M.4	Anwendungsbeispiel.....	154
M.4.1	Schätzung der Lag-Zeit.....	154
Literaturhinweise.....		158

Bilder

Bild B.1	— Ablaufschema zur Herstellung einer Referenz-Stammkultur aus einem Referenzstamm.....	65
Bild B.2	— Ablaufschema zur Herstellung einer Gebrauchskultur aus einem Referenzstamm.....	66
Bild C.1	— Ablaufschema für die quantitative Prüfung von festen Nährmedien.....	67
Bild C.2	— Ablaufschema für die Leistungsprüfung von flüssigen Anreicherungs-Nährmedien (Verfahren der Verdünnung bis zur Extinktion).....	68
Bild C.3	— Ablaufschema für das qualitative Einröhrchenverfahren für selektive flüssige Anreicherungs-Nährmedien.....	69
Bild C.4	— Ablaufschema für die qualitative Prüfung von flüssigen Nährmedien unter Verwendung eines einzelnen Röhrchens (Trübung).....	70
Bild G.1	— Beispiel einer Regelkarte, bei der eine Überschreitung der Regel 4-mal $\pm 1s$ beobachtet wird (Beispiel aus NEN 6603 [38]).....	117
Bild I.1	— Ablaufschema für die Leistungsprüfung von nicht selektiven flüssigen Nährmedien unter Verwendung von Zielmikroorganismen (siehe I.2.1 und I.2.2).....	124

Bild I.2 — Ablaufschema für die quantitative Prüfung von selektiven flüssigen Nährmedien unter Verwendung von Ziel- und Nicht-Zielmikroorganismen (siehe I.3.1 und I.3.2).....	126
Bild M.1 — Stressanwendung bei einem Stamm (der Prozess ist für jeden Stamm separat zu wiederholen).....	156
Bild M.2 — Der Achsenabschnitt des Inokulum-Gehalts mit im Bereich der exponentiellen Phase angelegter Tangente ist die Dauer der Lag-Phase [ISO 20976-1 (2019)].....	157
Tabellen	
Tabelle 1 — Angenäherte 95 %-Vertrauensbereiche für Koloniezahlen unter Annahme des Vorliegens einer Poisson-Verteilung [21] [26].....	39
Tabelle 2 — Qualitätslenkung und vom Endanwender-Laboratorium entsprechend der Art des Mediums durchzuführende Leistungsprüfungen.....	45
Tabelle D.1 — Beispiel einer Karte	71
Tabelle E.1 — Prüfmikroorganismen und Leistungskriterien für allgemein in der Lebensmittelmikrobiologie verwendete Nährmedien.....	76
Tabelle E.2 — Prüfmikroorganismen und Leistungskriterien für allgemein in der Wassermikrobiologie verwendete Nährmedien.....	90
Tabelle E.3 — Leistungsprüfung zur Qualitätssicherung der Nährmedien und Reagenzien für die Bestätigungs- und Charakterisierungsprüfungen in der Lebensmittel- und Wassermikrobiologie.....	97
Tabelle G.1 — Tabelle von außer Kontrolle geratenen Situationen in einer Regelkarte für Produktivitätsverhältnisse	116
Tabelle G.2 — Daten für 3 Regelkarten zur Bewertung anhand der vom Laboratorium festgelegten Grenzwerte (aus NEN 6603 [38]).....	119
Tabelle H.1 —	121
Tabelle J.1 — Kriterien, Verfahren und Ziele.....	127
Tabelle M.1 — Keimzahl von hitzestressen <i>Salmonella enterica</i> Serovar Typhimurium WDCM00031 in KBE/ml (\log_{10}) aus BPW (Daten berechnet aus BPW (Beispieldaten)	154
Tabelle M.2 — Lag-Zeiten von hitzestressen <i>Salmonella enterica</i> Serovar Typhimurium WDCM00031 (Daten berechnet aus Beispielergebnissen in Tabelle M.1)	155