DIN EN ISO 11290-1:2026-11 (D)

Mikrobiologie der Lebensmittelkette - Horizontales Verfahren für den Nachweis und die Zählung von Listeria monocytogenes und von Listeria spp. - Teil 1: Nachweisverfahren (ISO 11290-1:2017 + Amd. 1:2026); Deutsche Fassung EN ISO 11290-1:2017 + A1:2026

Inhalt

Seite

Europäisches Vorwort 8

A1 Europäisches Vorwort der Änderung 1 A1 9

Vorwort 10

A1 Vorwort der Änderung 1 A1 12

Einleitung 13

1 Anwendungsbereich 14

2 Normative Verweisungen 14

3 Begriffe 14

4 Kurzbeschreibung 15
4.1 Allgemeines 15
4.2 Erste Anreicherung in einem selektiven flüssigen Anreicherungsmedium mit verminderten Konzentrationen an selektiven Agenzien (Halb-Fraser-Bouillon) 15
4.3 Zweite Anreicherung in einem selektiven flüssigen Anreicherungsmedium mit vollständigen Konzentrationen an selektiven Agenzien (Fraser-Bouillon) 16
4.4 Ausplattierung und Identifizierung 16
4.5 Bestätigung 16

5 Nährmedien und Reagenzien 16

6 Geräte und Verbrauchsmaterialien 16

7 A1 Probenahme, Transport und Lagerung der Proben A1 17

8 Vorbereitung der Untersuchungsprobe 17

9 Durchführung 17
9.1 Prüfmenge und Erstverdünnung 17
9.2 Erste Anreicherung 18
9.3 Zweite Anreicherung 18
9.4 Ausplattierung und Identifizierung 18
9.4.1 Allgemeines 18
9.4.2 Listerien-Agar nach Ottaviani und Agosti 19
9.4.3 Zweites Selektivmedium 19
9.5 Bestätigung von *Listeria monocytogenes* oder *Listeria* spp. 19
9.5.1 Auswahl von Kolonien für die Bestätigung 19
9.5.2 Bestätigung von *L. monocytogenes* 20
9.5.3 Bestätigung von *Listeria* spp. 24
9.6 Bewertung der morphologischen und physiologischen Eigenschaften und der biochemischen Reaktionen 25
9.7 Zusätzliche Charakterisierung isolierter Stämme (optional) 25

10 Angabe der Ergebnisse 26

11 Leistungsmerkmale des Verfahrens 26
11.1 Verfahrensvalidierungsstudie 26

11.2 Empfindlichkeit ... **26**
11.3 Spezifität ... **26**
11.4 Nachweisgrenze (LOD_{50}) ... **26**
12 Untersuchungsbericht ... **26**
13 Qualitätssicherung ... **26**
Anhang A (normativ) Verfahrensschema ... **27**
Anhang B (normativ) Zusammensetzung und Herstellung der Nährmedien und Reagenzien ... **28**
B.1 Erstes selektives Anreicherungsmedium: Halb-Fraser-Bouillon ... **28**
B.1.1 Grundmedium ... **28**
B.1.2 Lithiumchloridlösung ... **28**
B.1.3 Nalidixinsäure-Natriumsalz-Lösung ... **29**
B.1.4 Acriflavin-Hydrochlorid-Lösung ... **29**
B.1.5 Ammoniumeisen(III)-citrat-Lösung ... **29**
B.1.6 Vollständiges Medium ... **30**
B.2 Zweites selektives Anreicherungsmedium: Fraser–Bouillon ... **30**
B.2.1 Grundmedium ... **30**
B.2.2 Acriflavin-Hydrochlorid-Lösung ... **31**
B.2.3 Ammoniumeisen(III)-citrat-Lösung ... **31**
B.2.4 Vollständiges Medium ... **31**
B.3 Listerien-Agar nach Ottaviani und Agosti [16] [17] ... **31**
B.3.1 Grundmedium ... **31**
B.3.2 Nalidixinsäurelösung ... **32**
B.3.3 Ceftazidimlösung ... **32**
B.3.4 Polymyxin-B-Lösung ... **32**
B.3.5 Antibiotika-Supplement ... **32**
B.3.6 Supplement ... **33**
B.3.7 Vollständiges Medium ... **33**
B.4 Zweites festes Selektivmedium ... **33**
B.5 〈A1〉 Leistungsprüfung zur Qualitätssicherung der Nährmedien und Reagenzien 〈A1〉 ... **34**
B.6 Wasserstoffperoxidlösung ... **43**
B.7 Beweglichkeitsagar ... **43**
B.7.1 Zusammensetzung ... **43**
B.7.2 Herstellung ... **43**
B.8 Blutagar ... **43**
B.8.1 Grundmedium ... **43**
B.8.2 Defibriniertes Blut (Schaf, Kalb oder Rind) ... **44**
B.8.3 Vollständiges Medium ... **44**
B.9 Phosphatgepufferte Kochsalzlösung (PBS; en: Phosphate-buffered saline) ... **44**
B.9.1 Zusammensetzung ... **44**
B.9.2 Herstellung ... **44**
B.10 Suspension von roten Blutkörperchen ... **44**
B.11 CAMP-Medium (Christie, Atkins, Munch-Petersen) und Prüfstämme ... **45**
B.11.1 Allgemeines ... **45**
B.11.2 Grundmedium ... **45**
B.11.3 Blutmedium ... **45**
B.11.4 Vollständiges Medium ... **45**
B.12 Kohlenhydrat-Bouillon (L-Rhamnose und D-Xylose) ... **45**
B.12.1 Grundmedium ... **45**
B.12.2 Kohlenhydratlösungen ... **46**
B.12.3 Vollständiges Medium ... **46**
B.13 Reagenzien für die Voges-Proskauer-(VP-)Reaktion ... **46**
B.13.1 VP-Medium ... **46**
B.13.2 α-Naphthol, ethanolische Lösung ... **46**
B.13.3 Kaliumhydroxidlösung ... **47**
B.14 Trypton-Soja-Hefeextrakt-Agar (TSYEA) ... **47**
B.14.1 Zusammensetzung ... **47**

B.14.2 Herstellung **47**

Anhang C (informativ) Unterscheidung von *Listeria* spp. von anderen Gattungen **48**

Anhang D (informativ) Reaktionen zur Identifizierung von *Listeria*-Arten **50**

Anhang E (informativ) *Listeria*-Selektivagar **53**

Anhang F (informativ) Ergebnisse von Ringversuchen zum Nachweis von *Listeria monocytogenes* **54**

F.1 Ergebnisse der Ringversuche **54**

F.2 $LOD_{50\,\%}$-Werte aus der Literatur **56**

Literaturhinweise **59**

Bilder

Bild 1 — Beimpfung und Auswertung der CAMP-Testplatten **23**

Bild A.1 — Verfahrensschema **27**

Tabellen

Tabelle 1 —Bestätigungsuntersuchungen für *L. monocytogenes* **20**

Tabelle 2 — Bestätigungsuntersuchungen für *Listeria* spp. **25**

Tabelle B.1 — Leistungsprüfung zur Qualitätssicherung der für die Anreicherung und Isolierung verwendeten Nährmedien **35**

Tabelle B.2 — Leistungsprüfung zur Qualitätssicherung der für die Bestätigungsprüfungen verwendeten Nährmedien und Reagenzien **37**

Tabelle C.1 — Unterscheidung von *Listeria* spp. von anderen bakteriellen Gattungen oder Arten **48**

Tabelle D.1 — Wesentliche in diesem Dokument beschriebene Untersuchungen (siehe 9.5) **50**

Tabelle D.2 — Zusätzliche Reaktionen zur Identifizierung von *Listeria*-Arten[e] **51**

Tabelle E.1 — Nicht handelsübliche *Listeria*-Selektivagar (Auszug aus Literaturhinweis [7]) **53**

Tabelle F.1 — Ergebnisse der Datenauswertung von Proben von kalt geräuchertem Lachs **54**

Tabelle F.2 — Ergebnisse der Datenauswertung der Umgebungsproben (in Verdünnungslösung eingetauchte Gazepads) **55**

Tabelle F.3 — Ergebnisse der Datenauswertung von Proben von Fertigsalaten (Gemisch aus frischem Spinat und Eisbergsalat) **55**

Tabelle F.4 — Ergebnisse der Datenauswertung von Proben von Säuglingsanfangsnahrung in Pulverform **55**

Tabelle F.5 — Ergebnisse der Datenauswertung von Proben von Käse (Quark aus Analogkäse) **56**

Tabelle F.6 — $LOD_{50\,\%}$ (KBE/25 g bzw. 25 ml) **57**

Tabelle F.7 — AFNOR-Validierungsberichte mit $LOD_{50\,\%}$-Werten [20] **57**