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 Röhrchenverfahren 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 Röhrchenverfahren 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 ... 62
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 ... 64
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 ... 67
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 ... 71

Anhang E (normativ) Prüfmikroorganismen und Leistungskriterien für Nährmedien und Reagenzien ... 73

Anhang F (normativ) Referenz-Nährmedien ... 111
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 *Campylobacter*) 112
F.4.1 Zusammensetzung 112
F.4.2 Defibriniertes 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 121

Anhang I (informativ) Quantitative Prüfung von flüssigen Nährmedien 123
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 127
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 Kontrollstämme 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 131
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 ±1 s 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 hitzegestressten *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium WDCM00031 in KBE/ml (log_{10}) aus BPW (Daten berechnet aus BPW (Beispieldaten) 154

Tabelle M.2 — Lag-Zeiten von hitzegestressten *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium WDCM00031 (Daten berechnet aus Beispielwerten in Tabelle M.1) 155