

# DIN CEN ISO/TS 15213-3:2024-10 (D)

Mikrobiologie der Lebensmittelkette - Horizontales Verfahren zum Nachweis und zur Zählung von *Clostridium* spp. - Teil 3: Nachweis von *Clostridium perfringens* (ISO/TS 15213-3:2024); Deutsche Fassung CEN ISO/TS 15213-3:2024

---

Inhalt	Seite
Europäisches Vorwort.....	10
Vorwort.....	11
Einleitung.....	12
1 Anwendungsbereich.....	13
2 Normative Verweisungen.....	14
3 Begriffe.....	14
4 Kurzbeschreibung.....	15
4.1 Allgemeines.....	15
4.2 Anreicherung in einem flüssigen Selektivmedium.....	15
4.3 Isolierung auf einem festen Selektivmedium.....	15
4.4 Bestätigung.....	15
5 Nährmedien und Reagenzien.....	15
6 Geräte und Verbrauchsmaterialien.....	15
7 Probenahme.....	16
8 Vorbereitung der Untersuchungsprobe.....	17
9 Durchführung.....	17
9.1 Allgemeines.....	17
9.2 Prüfmenge und Erstverdünnung.....	17
9.3 Selektive Anreicherung.....	17
9.4 Isolierung.....	17
9.5 Bestätigung von <i>C. perfringens</i> .....	18
9.5.1 Selektion von Kolonien für die Bestätigung.....	18
9.5.2 Prüfung auf saure Phosphatase.....	19
9.5.3 Prüfung mittels Sulfit-Indol-Motilität-Agar (SIM-Agar).....	19
9.5.4 Differenzierung zwischen humanpathogenen und nichtpathogenen <i>C. perfringens</i> - Stämmen (optional).....	19
9.5.5 Auswertung.....	19
10 Angabe der Ergebnisse.....	19
11 Indikative Leistungsmerkmale des Verfahrens.....	20
11.1 Validierung basierend auf den Grundsätzen von ISO 17468.....	20
11.2 Indikative Leistungsmerkmale.....	20
12 Untersuchungsbericht.....	23
13 Qualitätssicherung.....	23
Anhang A (normativ) Fließschema des Verfahrens.....	24
Anhang B (normativ) Nährmedien und Reagenzien.....	25
B.1 Allgemeines.....	25
B.2 Rapid-Perfringens-Medium (RPM).....	25
B.2.1 Rapid-Perfringens-Grundmedium.....	25

B.2.2	Neomycin-Polymyxin-Lösung.....	26
B.2.3	Milchpulverlösung.....	26
B.2.4	Vollständiges Rapid-Perfringens-Medium (RPM).....	27
B.3	Tryptose-Sulfit-Cycloserin-Agar (TSC-Agar).....	27
B.3.1	Basismedium.....	27
B.3.2	D-Cycloserinlösung.....	28
B.3.3	Vollständiges Medium.....	28
B.4	Lactose-Eigelb-Neomycin-Agar (LENA).....	29
B.4.1	Lactose-Agar-Grundmedium.....	29
B.4.2	Neomycinlösung.....	29
B.4.3	Eigelb-Emulsion (Konzentration von etwa 20 % (z. B. 200 ml/l) oder nach den Anweisungen des Herstellers).....	29
B.4.4	Vollständiger Lactose-Eigelb-Neomycin-Agar.....	30
B.5	Columbia-Blutagar (CBA).....	30
B.5.1	Columbia-Blutagar-Grundmedium.....	30
B.5.2	Defibriniertes Blut (Pferde- oder Schafsblut).....	31
B.5.3	Vollständiges Grundmedium.....	31
B.6	Reagenz für saure Phosphatase.....	31
B.6.1	Zusammensetzung.....	31
B.6.2	Herstellung.....	32
B.7	Sulfit-Indol-Motilität-Agar (SIM-Agar).....	32
B.7.1	Zusammensetzung.....	32
B.7.2	Herstellung.....	32
B.8	Kovacs-Reagenz.....	32
B.8.1	Zusammensetzung.....	32
B.8.2	Herstellung.....	32
B.9	Leistungsprüfung.....	33
Anhang C (informativ) Indikative Leistungsmerkmale des Verfahrens mit Verwendung von TSC-Isolierungsagar und Prüfung auf saure Phosphatase zur Bestätigung.....		35
Anhang D (informativ) Indikative Leistungsmerkmale des Verfahrens mit Verwendung von TSC-Isolierungsagar und Prüfung mittels SIM-Agar.....		40
Anhang E (informativ) Indikative Leistungsmerkmale des Verfahrens mit Verwendung von LENA-Isolierungsagar und Prüfung auf saure Phosphatase zur Bestätigung.....		45
Anhang F (informativ) Indikative Leistungsmerkmale des Verfahrens mit Verwendung von LENA-Isolierungsagar und Prüfung mittels SIM-Agar zur Bestätigung.....		50
Anhang G (informativ) Molekulare Differenzierung zwischen pathogenen und nichtpathogenen <i>Clostridium perfringens</i> .....		55
Literaturhinweise.....		56

## Bilder

Bild A.1	— Fließschema des Verfahrens zum Nachweis von <i>C. perfringens</i> .....	24
----------	---	----

## Tabellen

Tabelle 1	— Übersicht über die indikativen LOD <sub>50</sub> -Werte aus dem Ringversuch mit Verwendung von TSC-Isolierungsagar und Prüfung auf saure Phosphatase zur Bestätigung.....	20
Tabelle 2	— Übersicht über die indikativen LOD <sub>50</sub> -Werte aus dem Ringversuch mit Verwendung von TSC-Isolierungsagar und Prüfung mittels SIM-Agar zur Bestätigung.....	21

<b>Tabelle 3 — Übersicht über die indikativen LOD<sub>50</sub>-Werte aus dem Ringversuch mit Verwendung von LENA-Isolierungsagar und Prüfung auf saure Phosphatase zur Bestätigung</b> .....	<b>22</b>
<b>Tabelle 4 — Übersicht über die indikativen LOD<sub>50</sub>-Werte aus dem Ringversuch mit Verwendung von LENA-Isolierungsagar und Prüfung mittels SIM-Agar zur Bestätigung</b> .....	<b>22</b>
<b>Tabelle B.1 — Leistungsprüfung zur Qualitätssicherung der Nährmedien/Reagenzien</b> .....	<b>33</b>
<b>Tabelle C.1 — Ergebnisse der Datenanalyse von Fleisch in Dosen (Kategorie: verzehrfertige, aufwärmfertige Fleischprodukte)</b> .....	<b>35</b>
<b>Tabelle C.2 — Ergebnisse der Datenanalyse von Eipulver (Kategorie: Eier und Eiprodukte)</b> .....	<b>36</b>
<b>Tabelle C.3 — Ergebnisse der Datenanalyse von Fisch in Dosen (Kategorie: verzehrfertige, aufwärmfertige Fischereiprodukte)</b> .....	<b>36</b>
<b>Tabelle C.4 — Ergebnisse der Datenanalyse von Ananas in Dosen (Kategorie: verarbeitetes Obst und Gemüse)</b> .....	<b>37</b>
<b>Tabelle C.5 — Ergebnisse der Datenanalyse von probiotischer Säuglingsnahrung (Kategorie: Säuglingsnahrung und Getreideprodukte für Kleinkinder)</b> .....	<b>38</b>
<b>Tabelle C.6 — Ergebnisse der Datenanalyse von Fertigsuppe (Kategorie: Mehrkomponenten-Lebensmittel bzw. Mahlzeitkomponenten)</b> .....	<b>38</b>
<b>Tabelle C.7 — Ergebnisse der Datenanalyse von Tuchproben (Kategorie: Umgebungsproben [Lebensmittel- oder Futtermittelproduktion])</b> .....	<b>39</b>
<b>Tabelle D.1 — Ergebnisse der Datenanalyse von Fleisch in Dosen (Kategorie: verzehrfertige, aufwärmfertige Fleischprodukte)</b> .....	<b>40</b>
<b>Tabelle D.2 — Ergebnisse der Datenanalyse von Eipulver (Kategorie: Eier und Eiprodukte)</b> .....	<b>41</b>
<b>Tabelle D.3 — Ergebnisse der Datenanalyse von Fisch in Dosen (Kategorie: verzehrfertige, aufwärmfertige Fischereiprodukte)</b> .....	<b>41</b>
<b>Tabelle D.4 — Ergebnisse der Datenanalyse von Ananas in Dosen (Kategorie: verarbeitetes Obst und Gemüse)</b> .....	<b>42</b>
<b>Tabelle D.5 — Ergebnisse der Datenanalyse von probiotischer Säuglingsnahrung (Kategorie: Säuglingsnahrung und Getreideprodukte für Kleinkinder)</b> .....	<b>43</b>
<b>Tabelle D.6 — Ergebnisse der Datenanalyse von Fertigsuppe (Kategorie: Mehrkomponenten-Lebensmittel bzw. Mahlzeitkomponenten)</b> .....	<b>43</b>
<b>Tabelle D.7 — Ergebnisse der Datenanalyse von Tuchproben (Kategorie: Umgebungsproben [Lebensmittel- oder Futtermittelproduktion])</b> .....	<b>44</b>
<b>Tabelle E.1 — Ergebnisse der Datenanalyse von Fleisch in Dosen (Kategorie: verzehrfertige, aufwärmfertige Fleischprodukte)</b> .....	<b>45</b>
<b>Tabelle E.2 — Ergebnisse der Datenanalyse von Eipulver (Kategorie: Eier und Eiprodukte)</b> .....	<b>46</b>
<b>Tabelle E.3 — Ergebnisse der Datenanalyse von Fisch in Dosen (Kategorie: verzehrfertige, aufwärmfertige Fischereiprodukte)</b> .....	<b>47</b>
<b>Tabelle E.4 — Ergebnisse der Datenanalyse von Ananas in Dosen (Kategorie: verarbeitetes Obst und Gemüse)</b> .....	<b>47</b>

<b>Tabelle E.5 — Ergebnisse der Datenanalyse von probiotischer Säuglingsnahrung (Kategorie: Säuglingsnahrung und Getreideprodukte für Kleinkinder).....</b>	<b>48</b>
<b>Tabelle E.6 — Ergebnisse der Datenanalyse von Fertigsuppe (Kategorie: Mehrkomponenten-Lebensmittel bzw. Mahlzeitkomponenten) .....</b>	<b>48</b>
<b>Tabelle E.7 — Ergebnisse der Datenanalyse von Tuchproben (Kategorie: Umgebungsproben [Lebensmittel- oder Futtermittelproduktion]) .....</b>	<b>49</b>
<b>Tabelle F.1 — Ergebnisse der Datenanalyse von Fleisch in Dosen (Kategorie: verzehrfertige, aufwärmfertige Fleischprodukte).....</b>	<b>50</b>
<b>Tabelle F.2 — Ergebnisse der Datenanalyse von Eipulver (Kategorie: Eier und Eiprodukte).....</b>	<b>51</b>
<b>Tabelle F.3 — Ergebnisse der Datenanalyse von Fisch in Dosen (Kategorie: verzehrfertige, aufwärmfertige Fischereiprodukte) .....</b>	<b>51</b>
<b>Tabelle F.4 — Ergebnisse der Datenanalyse von Ananas in Dosen (Kategorie: verarbeitetes Obst und Gemüse) .....</b>	<b>52</b>
<b>Tabelle F.5 — Ergebnisse der Datenanalyse von probiotischer Säuglingsnahrung (Kategorie: Säuglingsnahrung und Getreideprodukte für Kleinkinder).....</b>	<b>53</b>
<b>Tabelle F.6 — Ergebnisse der Datenanalyse von Fertigsuppe (Kategorie: Mehrkomponenten-Lebensmittel bzw. Mahlzeitkomponenten) .....</b>	<b>53</b>
<b>Tabelle F.7 — Ergebnisse der Datenanalyse von Tuchproben (Kategorie: Umgebungsproben [Lebensmittel- oder Futtermittelproduktion]) .....</b>	<b>54</b>