DIN EN 17710:2025-03 (D)

Pflanzen-Biostimulanzien - Nachweis von Listeria monocytogenes; Deutsche Fassung EN 17710:2024

Inhalt

Seite

Europäisches Vorwort 7

Einleitung 8

1 Anwendungsbereich 9

2 Normative Verweisungen 9

3 Begriffe 9

4 Kurzbeschreibung 10
4.1 Allgemeines 10
4.2 Voranreicherung in selektivem flüssigem Medium 10
4.3 Anreicherung in/auf Selektivmedien 10
4.4 Ausplattieren auf festen Selektivmedien 11
4.5 Bestätigung 11

5 Nährmedien, Reagenzien, Antiseren 11

6 Ausrüstung und Verbrauchsmaterialien 11

7 Probenahme 12

8 Vorbereitung der Untersuchungsprobe 12
8.1 Allgemeines 12
8.2 Flüssige (wasserbasierte) Formulierungen 12
8.3 Flüssige (ölbasierte) Formulierungen – emulgierbares Konzentrat (EC, en: emulsifiable concentrate) 13
8.3.1 Allgemeines 13
8.3.2 Feste Formulierungen – wasserdispergierbares Pulver (WP) 13
8.3.3 Feste Formulierungen – wasserdispergierbares Granulat (WDG) 13
8.3.4 Feste Formulierungen – Pellets, Granulate und Mikrogranulate (langsame Freisetzung) 13
8.3.5 Feste Substrate 13
8.4 Nicht-selektive Voranreicherung 13
8.5 Selektive Anreicherung 13
8.6 Ausplattieren 14
8.6.1 Allgemeines 14
8.6.2 Listerien-Agar nach Ottaviani und Agosti (Abschnitt B.4) 14
8.6.3 Zweites Selektivmedium 15
8.7 Bestätigung für *L. monocytogenes* 15
8.7.1 Allgemeines 15
8.7.2 Auswahl von Kolonien für die Bestätigung 15
8.7.3 Bestätigungsuntersuchungen für *L. monocytogenes* 15
8.8 Bewertung der morphologischen und physiologischen Eigenschaften und der biochemischen Reaktionen 18
8.9 Zusätzliche Charakterisierung isolierter Stämme (optional) 18

9 Angabe der Ergebnisse 19

10 Leistungsmerkmale des Verfahrens 19
10.1 Ringversuch 19
10.2 Empfindlichkeit 19
10.3 Spezifität 19

10.4 Positiver Vorhersagewert (PPV, en: positive predictive value) ... 19
10.5 Negativer Vorhersagewert (NPV, en: negative predictive value) ... 19
11 Untersuchungsbericht ... 19
12 Qualitätssicherung ... 20
Anhang A (normativ) Verfahrensschema ... 21
Anhang B (normativ) Zusammensetzung und Herstellung der Nährmedien und Reagenzien ... 22
B.1 Allgemeines ... 22
B.2 Erstes selektives Anreicherungsmedium: Halb-Fraser-Bouillon ... 22
B.2.1 Grundmedium ... 22
B.2.2 Lithiumchloridlösung ... 23
B.2.3 Nalidixinsäure-Natriumsalz-Lösung ... 23
B.2.4 Acriflavin-Hydrochlorid-Lösung ... 24
B.2.5 Ammoniumeisen(III)-citrat-Lösung ... 24
B.2.6 Vollständiges Medium ... 24
B.3 Zweites selektives Anreicherungsmedium: Fraser–Bouillon ... 25
B.3.1 Grundmedium ... 25
B.3.2 Acriflavin-Hydrochlorid-Lösung ... 25
B.3.3 Ammoniumeisen(III)-citrat-Lösung ... 25
B.3.4 Vollständiges Medium ... 26
B.4 Listerien-Agar nach Ottaviani und Agosti (ALOA) ... 26
B.4.1 Grundmedium ... 26
B.4.2 Nalidixinsäurelösung ... 27
B.4.3 Ceftazidimlösung ... 27
B.4.4 Polymyxin-B-Lösung ... 27
B.4.5 Antibiotika-Supplement ... 28
B.4.6 Supplement ... 28
B.4.7 Vollständiges Medium ... 29
B.5 Zweites festes Selektivmedium ... 29
B.6 Leistungsprüfung zur Qualitätssicherung der Nährmedien ... 29
B.7 Wasserstoffperoxidlösung ... 30
B.8 Beweglichkeitsagar ... 30
B.8.1 Zusammensetzung ... 30
B.8.2 Herstellung ... 30
B.9 Blutagar ... 30
B.9.1 Grundmedium ... 30
B.9.2 Defibriniertes Blut (Schaf, Kalb oder Rind) ... 31
B.9.3 Vollständiges Medium ... 31
B.10 Phosphatgepufferte Kochsalzlösung (PBS, en: phosphate-buffered saline) ... 31
B.10.1 Zusammensetzung ... 31
B.10.2 Herstellung ... 31
B.11 Suspension von roten Blutkörperchen ... 31
B.12 CAMP-Medium (Christie, Atkins, Munch-Petersen) und Prüfstämme ... 32
B.12.1 Allgemeines ... 32
B.12.2 Grundmedium ... 32
B.12.3 Blutmedium ... 32
B.12.4 Vollständiges Medium ... 32
B.13 Kohlenhydrat-Bouillon (L-Rhamnose und D-Xylose) ... 32
B.13.1 Grundmedium ... 32
B.13.2 Kohlenhydratlösungen ... 33
B.13.3 Vollständiges Medium ... 33
B.14 Trypton-Soja-Hefeextraktagar (TSYEA) ... 33
B.14.1 Zusammensetzung ... 33
B.14.2 Herstellung ... 34
B.14.3 Herstellung der Agarplatten ... 34
Anhang C (informativ) Validierungsstudie und Leistungsmerkmale des Verfahrens ... 35

C.1 Allgemeines **35**
C.2 Im Ringversuch verwendete Materialien **35**
C.3 Ergebnisse des Ringversuchs **36**
C.4 Statistische Analyse **37**

Anhang ZA (informativ) Zusammenhang zwischen dieser Europäischen Norm und den grundlegenden Anforderungen der abzudeckenden Verordnung (EU) 2019/1009 zur Bereitstellung von EU-Düngeprodukten auf dem Markt **38**

Literaturhinweise **39**

Bilder

Bild A.1 — Fließschema des Nachweisverfahrens für *Listeria monocytogenes* in Proben von mikrobiellen Pflanzen-Biostimulanzien und aus dem Bereich der mikrobiellen Produktion **21**

Tabellen

Tabelle 2 — Bestätigungsuntersuchungen für *L. monocytogenes* **16**

Tabelle C.1 — Materialien, die im Ringversuch zum Nachweis von *Listeria monocytogenes* in Pflanzen-Biostimulanzien untersucht wurden **35**

Tabelle C.2 — Ergebnisse der Datenanalyse nach Untersuchung von handelsüblichen Biostimulanzien **36**

Tabelle C.3 — Kontingenzanalyse **37**

Tabelle ZA.1 — Zusammenhang zwischen dieser Europäischen Norm und der Verordnung (EU) 2019/1009 ..... **38**