

RESOLUTION OIV-OENO 6620-2023

HORIZONTALS VERFAHREN FÜR DIE ZÄHLUNG VON KOAGULASE-POSITIVEN STAPHYLOKOKKEN

DIE GENERALVERSAMMLUNG,

GESTÜTZT auf Artikel 2 Absatz IV des Übereinkommens vom 3. April 2001 zur Gründung der Internationalen Organisation für Rebe und Wein,

GESTÜTZT auf die Arbeiten der Unterkommission „Analysemethoden“ zur Entwicklung von Analysemethoden für Traubensaft, konzentrierten Traubensaft, rückverdünnten Traubensaft und Traubennektar,

GESTÜTZT auf die Norm ISO 6888-2:2021 über die Zählung von koagulase-positiven Staphylokokken, die auf der Website der ISO^[1] abgerufen werden kann.

GESTÜTZT auf die Arbeiten der OIV-Sachverständigengruppe „Mikrobiologie“ und die befürwortende Stellungnahme des Wissenschaftlich-Technischen Ausschusses der OIV zur Verweisung auf diese ISO-Norm, in dem Wissen, dass einige Elemente dieser ISO-Norm dem Urheberrecht unterliegen können,

AUF VORSCHLAG der Kommission „Önologie“,

BESCHLIESST, die folgende mikrobiologische Analyseverfahren für Traubensaft, konzentrierten Traubensaft, rückverdünnten Traubensaft und Traubennektar anzunehmen.

HORIZONTALS VERFAHREN FÜR DIE ZÄHLUNG VON KOAGULASE-POSITIVEN STAPHYLOKOKKEN

Vorwort

ISO (die Internationale Organisation für Normung) ist eine weltweite Vereinigung nationaler Normungsorganisationen (ISO--Mitgliedsorganisationen). Die Erstellung von internationalen Normen wird üblicherweise von Technischen Komitees von ISO durchgeführt. Jede Mitgliedsorganisation, die Interesse an einem Thema hat, für welches ein Technisches Komitee gegründet wurde, hat das Recht, in diesem Komitee vertreten zu sein. Internationale staatliche und nichtstaatliche Organisationen, die in engem Kontakt mit ISO stehen, nehmen ebenfalls an der Arbeit teil. ISO arbeitet bei allen elektrotechnischen Themen eng mit der Internationalen Elektrotechnischen

Kommission (IEC) zusammen.

Die Verfahren, die bei der Entwicklung dieses Dokuments angewendet wurden und die für die weitere Pflege vorgesehen sind, werden in den ISO/IEC--Direktiven, Teil 1 beschrieben. Es sollten insbesondere die unterschied-lichen Annahmekriterien für die verschiedenen Arten von ISO-Dokumenten- beachtet werden. Dieses Dokument wurde in Überein-stimmung mit den Gestaltungs-regeln der ISO/IEC-Direktiven, Teil 2 erarbeitet (siehe www.iso.org/directives).

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. ISO ist nicht dafür verant-wortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren. Details zu allen während der Entwicklung des Dokuments identifizierten Patentrechten finden sich in der Einleitung und/oder in der ISO--Liste der erhaltenen Patenterklärungen (siehe www.iso.org/patents).

Jeder in diesem Dokument verwendete Handelsname dient nur zur Unterrichtung der Anwender und bedeutet keine Anerkennung.

Für eine Erläuterung des freiwilligen Charakters von Normen, der Bedeutung ISO-spezifischer Begriffe und Ausdrücke in Bezug auf Konformitätsbewertungen sowie Informationen darüber, wie ISO die Grundsätze der Welthandels-organisation (WTO) hinsichtlich technischer Handelshemmnisse (TBT) berücksichtigt (siehe www.iso.org/iso/foreword.html).

Dieses Dokument wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34, Lebensmittel, Unterkomitee SC 9, Mikrobiologie in Zusammenarbeit mit dem Europäischen Komitee für Normung (CEN), Technisches Komitee CEN/TC 463, Mikrobiologie der Lebensmittelkette gemäß der Vereinbarung über technische Zusammenarbeit zwischen ISO und CEN (Wiener Vereinbarung) erarbeitet.

Diese zweite Ausgabe annulliert und ersetzt die erste Ausgabe (ISO 6888-2:1999), die technisch überarbeitet wurde. Sie berücksichtigt auch die Änderung ISO 6888-2:1999/Amd 1:2003. Die wesentlichen Änderungen gegenüber der vorherigen Ausgabe sind folgende:

- der Titel wurde geändert, um sich auf die "Lebensmittelkette" zu beziehen;
- der Status von ISO 6888-1 und diesem Dokument wurden näher erläutert;
- das Dokument wurde an ISO 7218:2007 angepasst, d. h. das Gießen des geschmolzenen Agarmediums bei 44 °C bis 47 °C;
- alle Vorkommnisse, wenn angemessen, wurden von "35 °C oder 37 °C" geändert

zu "34 °C bis 38 °C";

- alle Vorkommnisse der Bebrütungszeit, wenn angemessen, wurden von "18 h bis 24 h" geändert zu "24 h ± 2 h";
- Anforderungen zu Verwendung von ISO 11133 wurden hinzugefügt;
- alle verfügbaren Normen in Bezug auf Probenahmetechniken wurden aktualisiert;
- das Flussdiagramm Verfahren in Anhang A wurde aktualisiert;
- Nährmedien und Reagenzien mit Leistungsprüfung wurden hinzugefügt und in Anhang B verschoben;
- die Leistungsprüfung für das Kaninchenplasma Fibrinogen Agar (RPFA, en: rabbit plasma fibrinogen agar) Medium wurde hinzugefügt;
- Ergebnisse des Ringversuchs (aus ISO 6888-2:1999/Amendment 1:2003, Präzisionsdaten) wurden aktualisiert;
- die Literaturhinweise wurden aktualisiert.

Eine Liste aller Teile der Reihe ISO 6888 ist auf der ISO-Website abrufbar.

Rückmeldungen oder Fragen zu diesem Dokument sollten an die nationale Normungsorganisation des Anwenders gerichtet werden. Eine vollständige Liste dieser Stellen findet sich unter www.iso.org/members.html.

Einführung

ISO 6888-1, dieses Dokument und **ISO 6888-3** beschreiben drei horizontale Verfahren für den Nachweis und die Zählung von koagulase-positiven Staphylokokken, zu denen enterotoxische Stämme gezählt werden. Hier ist hauptsächlich *Staphylococcus aureus*, gemeint, aber auch *S. intermedius* und einige Stämme von *S. hyicus*.

In diesem Dokument beruht die Charakterisierung von Staphylokokken auf einer positiven Koagulase-Reaktion, es wird jedoch anerkannt, dass einige Stämme von *Staphylococcus aureus* schwach positive Koagulase-Reaktionen aufweisen. Diese letztgenannten Stämme können mit anderen Bakterien verwechselt werden, sie können jedoch von diesen Bakterien mit zusätzlichen Prüfungen, die nicht in diesem Dokument enthalten sind, unterschieden werden, wie zum Beispiel anhand der Lysostaphin-Empfindlichkeit und der Bildung von Hämolyisin, von Thermonuklease und von Säure aus Mannit (siehe **ISO 7218** und Literaturhinweis [13]).

Die im Vorwort aufgeführten wesentlichen technischen Änderungen, die in diesem

Dokument gegenüber der vorherigen Ausgabe vorgenommen wurden, werden als geringfügig betrachtet (siehe **ISO 17468**). Sie haben eine geringe Auswirkung auf die Leistungsmerkmale der Methode.

Die Ergebnisse des Ringversuchs und der Untersuchung der Proben sind in Anhang C aufgeführt.

WARNHINWEIS: Um die Gesundheit des Laborpersonals nicht zu gefährden, müssen Tests zur Zählung von Staphylokokken nur in ordnungsgemäß ausgestatteten Laboratorien unter der Aufsicht eines qualifizierten Mikrobiologen durchgeführt werden. Bei der Entsorgung aller bebrüteten Materialien muss große Sorgfalt angewendet werden. Personen, die dieses Dokument verwenden, sollten mit der gängigen Laborpraxis vertraut sein. Dieses Dokument erhebt nicht den Anspruch, alle Sicherheitsaspekte zu behandeln, die mit seiner Verwendung verbunden sind. Es liegt in der Verantwortung des Anwenders, angemessene Sicherheits- und Gesundheitspraktiken einzuführen.

1. Anwendungsbereich

Dieses Dokument legt ein horizontales Verfahren zur Zählung von koagulase-positiven Staphylokokken fest, indem Kolonien gezählt werden, die auf einem festen Medium (Kaninchenplasma-Fibrinogen-Agar-Medium) nach aerober Inkubation bei 34 °C bis 38 °C erhalten wurden (siehe Literaturhinweis [10]).

Das Verfahren gilt für:

- Erzeugnisse, die für den menschlichen Verzehr vorgesehen sind;
- Erzeugnisse, die als Futtermittel vorgesehen sind;
- Umgebungsproben im Bereich der Herstellung und Handhabung von Lebensmitteln und Futtermitteln;
- Proben aus dem Bereich der Primärproduktion.

Diese horizontale Methode wurde ursprünglich entwickelt, um alle Proben der Lebensmittelkette zu untersuchen.

Aufgrund der großen Vielfalt an Produkten in der Lebensmittelkette ist es möglich, dass diese horizontale Methode nicht in jedem Detail für alle Produkte geeignet ist. Man geht jedoch davon aus, dass die erforderlichen Änderungen so gering wie möglich gehalten werden, so dass sie nicht zu einer erheblichen Abweichung von dieser horizontalen Methode führen.

Auf der Grundlage der zum Zeitpunkt der Veröffentlichung dieses Dokuments verfügbaren Informationen wird diese Methode als nicht (vollauf) geeignet angesehen für die Untersuchung von fermentierten Produkten oder anderen Produkten, die eine technologische Flora auf der Basis von *Staphylococcus* spp. (z.B. *S. xylosus*) enthalten (wie Käse aus Rohmilch und bestimmte Rohfleischerzeugnisse), die möglicherweise kontaminiert sind mit:

- Staphylokokken, die atypische Kolonien auf Baird-Parker-Agar bilden;
- Hintergrundflora, die erwünschte Kolonien verschleiern kann.

Allerdings haben die Norm ISO 6888-1 und dieses Dokument einen gleichwertigen Status erhalten.

2. Normative Verweisungen

Auf die folgenden Dokumente wird im Text in der Weise verwiesen, dass ihr Inhalt ganz oder teilweise den Anforderungen des vorliegenden Dokuments entspricht. Bei datierten Verweisungen gilt nur die angegebene Ausgabe. Bei undatierten Verweisungen gilt die neueste Ausgabe des referenzierten Dokuments (einschließlich etwaiger Änderungen).

- ISO 6887 (alle Teile), Mikrobiologie der Lebensmittelkette - Vorbereitung von Untersuchungsproben und Herstellung von Erstverdünnungen und von Dezimalverdünnungen für mikrobiologische Untersuchungen
- ISO 7218, Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln - Allgemeine Anforderungen und Leitlinien für mikrobiologische Untersuchungen
- ISO 11133, Mikrobiologie von Lebensmitteln, Futtermitteln und Wasser - Vorbereitung, Herstellung, Lagerung und Leistungsprüfung von Nährmedien

3. Begriffe und Definitionen

Für das vorliegende Dokument gelten die folgenden Begriffe und Definitionen.

ISO und IEC unterhalten terminologische Datenbanken zur Verwendung in der Normung unter den folgenden Adressen:

- ISO Online browsing platform: verfügbar auf <https://www.iso.org/obp>

- IEC Electropedia: verfügbar auf <http://www.electropedia.org/>

3.1. Koagulase-positive Staphylokokken

Bakterien, die in einem selektiven Nährmedium (Kaninchenplasma-Fibrinogen-Agar-Medium) typische Kolonien bilden

Anmerkung 1 zum Eintrag: Die typischen Kolonien sind in Ziffer 9.3 aufgeführt.

3.2. Zählung von koagulase-positiven Staphylokokken

Bestimmung der Anzahl von koagulase-positiven Staphylokokken (3.1) pro Gramm, pro Milliliter, pro Quadratzentimeter oder pro Probenahmegerät/beprobte Fläche

Eine beprobte Fläche ist eine Fläche, die nicht durch eine numerische Größe definiert ist, z.B. ein heißer Wasserhahn, ein Türgriff.

Nur informative Abschnitte der Normen sind öffentlich zugänglich. Um den vollständigen Inhalt einzusehen, muss die Norm durch Klicken auf den Button „Kaufen“ erworben werden.

Literatur

- [1] ISO 707, Milch und Milcherzeugnisse - Leitfaden zur Probenahme
- [2] ISO 6888-1, Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln - Horizontales Verfahren für die Zählung von koagulase-positiven Staphylokokken (Staphylococcus aureus und andere Species) - Teil 1: Verfahren mit Baird-Parker-Agar
- [3] ISO 6888-3, Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln - Horizontales Verfahren für die Zählung von koagulase-positiven Staphylokokken (Staphylococcus aureus und andere Spezies) - Teil 3: Nachweis und MPN-Verfahren für niedrige Keimzahlen
- [4] ISO 13307, Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln - Primärproduktion - Probenahmetechniken
- [5] ISO 16140:2003, Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln - Arbeitsvorschrift für die Validierung alternativer Verfahren
- [6] ISO 17604, Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln - Probenahme von Schlachttierkörpern zur mikrobiologischen Untersuchung

- [7] ISO 17468, Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln - Technische Anforderungen und Leitfaden zur Einführung oder Überarbeitung von Standardverfahren
- [8] ISO/TS 17728, Mikrobiologie der Lebensmittelkette - Probenahmetechniken für die mikrobiologische Untersuchung von Lebensmittel- und Futtermittelproben
- [9] ISO 18593, Mikrobiologie der Lebensmittelkette - Horizontales Verfahren für Probenahmetechniken von Oberflächen
- [10] IDF 145A:1997, Milch und Milchprodukte — Zählung von koagulase-positiven Staphylokokken — Koloniezählverfahren
- [11] BOOTHBY J., GENIGEORGIS C. and FANELLI M.J. Tandem Coagulase / Thermonuclease Agar Method for the Detection of *Staphylococcus aureus*. *Appl. and Environmental microbiology*. 1979, Band 37, Seiten 298-302.
- [12] De Buyser M.L., Lombard B., Schulten S.M., In't Veld P.H., Scotter S.L., Rollier P., Lahellec C., Validation of EN ISO standard methods 6888 part 1 and part 2:1999, Enumeration of coagulase-positive staphylococci in foods. *Int. J. Food Microbiol.* 2003, 83(2), Seiten 185-194
- [13] Kloos W.E., Systematics and the natural history of staphylococci. In: *Staphylococci*, *J. Appl. Bacteriol. Symp. Suppl.*, 1990, 69, Seiten 25 s-37 s; and *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2. Ausgabe*, Band 3, 2009, Seiten 372-421

^[1] <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:6888:-2:ed-2:v1:en>