

## **RESOLUTION OIV-OENO 662N-2023**

### **HORIZONTALS VERFAHREN FÜR DIE ZÄHLUNG VON BETA-GLUCURONIDASE-POSITIVEN ESCHERICHIA COLI**

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 16649-2:2001 über das Verfahren zur Zählung von Beta-Glucuronidase-positiven Escherichia coli, das auf der Website der ISO<sup>[1]</sup> 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 Analysemethode für Traubensaft, konzentrierten Traubensaft, rückverdünnten Traubensaft und Traubennektar anzunehmen.

### **HORIZONTALS VERFAHREN FÜR DIE ZÄHLUNG VON BETA-GLUCURONIDASE-POSITIVEN ESCHERICHIA COLI**

#### **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.

Internationale Normen werden gemäß den Regeln der ISO/IEC-Direktiven, Teil 3, ausgearbeitet.

Von technischen Komitees verabschiedete Entwürfe internationaler Normen werden zur Abstimmung an die Mitgliedsorganisationen verteilt. Ihre Veröffentlichung als Internationale Norm erfordert die Zustimmung von mindestens 75 % der stimmberechtigten Mitgliedsorganisationen.

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Teils der Norm **ISO 16649** Patentrechte berühren können. ISO ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren.

Die internationale Norm **ISO 16649-2** wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34, Lebensmittel, Unterkomitee SC 9, Mikrobiologie, erarbeitet.

Die Norm **16649** mit dem Titel „Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln - Horizontales Verfahren zur Zählung von  $\beta$ -Glucuronidase-positiven Escherichia coli“ besteht aus folgenden Teilen:

- Teil 1: Koloniezählverfahren bei 44 °C mit Membranen und 5-Brom-4-Chlor-3-Indol-beta D-Glucuronid
- Teil 2: Koloniezählverfahren bei 44 °C mit 5-Brom-4-Chlor-3-Indol-beta-D-Glucuronid
- Teil 3: MPN-Verfahren

## **Teil 2: Koloniezählverfahren bei 44 °C mit 5-Brom-4-Chlor-3-Indol-beta-D-Glucuronid**

### **Einführung**

Aufgrund der großen Vielfalt an Lebens- und Futtermitteln ist diese horizontale Methode für einige Produkte möglicherweise nicht in allen Einzelheiten geeignet. Dabei können, sofern aus technisch vertretbaren Gründen zwingend erforderlich, unterschiedliche produktspezifische Methoden zum Einsatz kommen. Es sollte jedoch versucht werden, diese horizontale Methode so weit wie möglich anzuwenden.

Bei der nächsten Überprüfung dieses Teils der Norm **ISO 16649** werden alle

verfügbaren Informationen darüber berücksichtigt, inwieweit diese horizontale Methode befolgt wurde und aus welchen Gründen bei bestimmten Produkten von dieser Methode abgewichen wurde.

Die Harmonisierung von Prüfverfahren kann nicht unmittelbar erfolgen, und es können bereits internationale oder nationale Normen für bestimmte Produktgruppen existieren, die mit dieser horizontalen Methode nicht kompatibel sind. Wenn solche Normen überprüft werden, ist zu hoffen, dass sie geändert werden, um diesem Teil der Norm **ISO 16649** zu entsprechen, so dass schließlich nur solche Abweichungen von dieser horizontalen Methode verbleiben, die aus wohlbekanntem technischen Gründen notwendig sind.

In dieser internationalen Norm werden zwei horizontale Verfahren (ISO 16649-1 und ISO 16649-2) für die Zählung von  $\beta$ -Glucuronidase-positiven *Escherichia coli* beschrieben.

Der Anwender kann zwischen den Normen **ISO 16649-1** und **ISO 16649-2** wählen. Beide Teile sind für allgemeine Anwendungen geeignet. Die Norm **ISO 16649-1** sollte jedoch für Lebensmittel verwendet werden, die stark gestresste Zellen enthalten können.

## 1. Anwendungsbereich

In diesem Teil der **ISO 16649** wird ein horizontales Verfahren zur Zählung von  $\beta$ -Glucuronidase-positiven *Escherichia coli* in Produkten festgelegt, die für den menschlichen Verzehr oder als Tierfutter vorgesehen sind. Es handelt sich um ein Koloniezählverfahren bei 44 °C auf einem festen Nährboden, das einen chromogenen Inhaltsstoff zum Nachweis des Enzyms  $\beta$ -Glucuronidase enthält.

**HINWEIS - Stämme von *Escherichia coli*, die bei 44 °C kein Wachstum aufweisen, und insbesondere  $\beta$ -Glucuronidase-negative Stämme wie *Escherichia coli* O157, werden nicht festgestellt.**

## 2. Normative Verweisungen

Die folgenden normativen Dokumente enthalten Festlegungen, die durch Verweisung in diesem Text Bestandteil des vorliegenden Teils der Norm 16649 sind. Bei datierten Verweisungen gehören spätere Änderungen oder Überarbeitungen dieser Publikationen nicht zu diesem Standard. Anwender dieses Teils der Norm ISO 16649 werden jedoch gebeten, die Möglichkeit zu prüfen, die jeweils neusten Ausgaben der nachfolgend angegebenen normativen Dokumente anzuwenden. Bei undatierten Verweisen hat die aktuellste Fassung des normativen Dokuments, auf das verwiesen

wird, Gültigkeit. ISO- und IEC-Mitglieder besitzen Verzeichnisse der gültigen internationalen Normen.

- **ISO 6887-1**, Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln - Vorbereitung von Untersuchungsproben und Herstellung von Erstverdünnungen und Dezimalverdünnungen für mikrobiologische Untersuchungen - Teil 1: Allgemeine Regeln für die Herstellung von Erstverdünnungen und Dezimalverdünnungen
- **ISO 7218**, Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln - Allgemeine Regeln für mikrobiologische Untersuchungen

### 3. Begriffe und Definitionen

Für diesen Teil der Norm ISO 16649 gelten die folgenden Begriffe und Definitionen.

#### 3.1. $\beta$ -Glucuronidase-positive *Escherichia coli*

Bakterien, die bei 44 °C auf einem Trypton-Galle-Glucuronid-Medium (TBX) unter den in diesem Teil der ISO 16649 festgelegten Bedingungen typische blaue Kolonien bilden.

#### 3.2. Zählung von $\beta$ -Glucuronidase-positiven *Escherichia coli*

Bestimmung der Anzahl koloniebildender Einheiten (KBE) von  $\beta$ -Glucuronidase-positiven *Escherichia coli* pro Milliliter oder pro Gramm Probe, wenn die Prüfung und die Berechnungen in Übereinstimmung mit diesem Teil der Norm ISO 16649 durchgeführt werden.

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

#### Literatur

- [1] BLAZKO N. Evaluation of the  $\beta$ -glucuronidase substrate 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- $\beta$ -D-glucuronide in a 24 hour direct plating method for *Escherichia coli*. J. Food Protection, 51, Seite 402.
- [2] DAMARE J.M., CAMPBELL D.F. and JOHNSON R.W. Simplified direct plating method for enhanced recovery of *Escherichia coli* in food. Journal of Food Science, 50, 1985, Seiten 1736-1737, 1746.

- [3] DELISLE G.L. and LEY A. Rapid detection of *Escherichia coli* in urine samples by a new chromogenic  $\beta$ -glucuronidase assay. *J. Clin. Microbiol.*, 27, 1989, Seiten 778-779.
- [4] KILIAN M. and BULOW P. Rapid diagnosis of Enterobacteriaceae. Detection of bacterial glycosidases. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, Sect. B, 84, 1976, Seiten 245-251.
- [5] KILIAN M. and BULOW P. Rapid identification of Enterobacteriaceae. Use of a  $\beta$ -glucuronidase detecting agar medium (PGUA agar) for the identification of *Escherichia coli* in primary cultures of urine samples. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, Sect. B, 87, 1979, Seiten 271-276.
- [6] LEY A.N., BOWERS R.J. and WOLFE S. Indoxyl- $\beta$ -D-glucuronide, a novel chromogenic reagent for the specific detection and enumeration of *Escherichia coli* in environmental sample. *Canadian Journal of Microbiology*, 34, 1988, Seiten 690-693.
- [7] MANAFI M. and KNEIFEL W. A combined chromogenic-fluorogenic medium for the simultaneous detection of total coliforms and *E. coli* in water. *Zentralbl. Hyg.*, 189, 1989, Seiten 225-234.
- [8] OGDEN I.D. and WATT A.J. An evaluation of fluorogenic and chromogenic assays for the direct enumeration of *Escherichia coli*. *Letters in Applied Microbiology*, 13, 1991, Seiten 212-215.
- [9] RESTAINO L., FRAMPTON E.W. and LYON R.H. Use of chromogenic substrate 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- $\beta$ -D-glucuronide (X-GLUC) for enumeration of *Escherichia coli* on 24 hours from ground beef. *J. Food Protection*, 53 (6), 1990, Seiten 508-510.
- [10] WATKINS W.D., RIPPEY S.C., CLAVET C.R. KELLY-REITZ D.J. and BURKHARDT W. Novel compound for identifying *Escherichia coli*. *Applied Environmental Microbiology*, 54, 1988, Seiten 1874-1875.

---

<sup>[1]</sup> <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:16649:-2:ed-1:v1:en>