

DIN 10183-2



ICS 07.100.30; 67.100.10

Entwurf

Einsprüche bis 2023-12-13
Vorgesehen als Ersatz für
DIN 10183-2:1991-05

Mikrobiologische Milchuntersuchung – Bestimmung von Escherichia coli – Teil 2: Membran-Agar-Verfahren

Microbiological analysis of milk –
Determination of Escherichia coli –
Part 2: Membrane-agar method

Analyse microbiologique du lait –
Détermination des Escherichia coli –
Partie 2: Méthode membrane-agar

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2023-10-13 wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und Stellungnahme vorgelegt.

Weil die beabsichtigte Norm von der vorliegenden Fassung abweichen kann, ist die Anwendung dieses Entwurfs besonders zu vereinbaren.

Stellungnahmen werden erbeten

- vorzugsweise online im Norm-Entwurfs-Portal von DIN unter www.din.de/go/entwuerfe bzw. für Norm-Entwürfe der DKE auch im Norm-Entwurfs-Portal der DKE unter www.entwuerfe.normenbibliothek.de, sofern dort wiedergegeben;
- oder als Datei per E-Mail an nal@din.de möglichst in Form einer Tabelle. Die Vorlage dieser Tabelle kann im Internet unter www.din.de/go/stellungnahmen-norm-entwuerfe oder für Stellungnahmen zu Norm-Entwürfen der DKE unter www.dke.de/stellungnahme abgerufen werden;
- oder in Papierform an den DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL), 10772 Berlin oder Am DIN-Platz, Burggrafenstr. 6, 10787 Berlin.

Es wird gebeten, mit den Kommentaren zu diesem Entwurf jegliche relevanten Patentrechte, die bekannt sind, mitzuteilen und unterstützende Dokumentationen zur Verfügung zu stellen.

Gesamtumfang 15 Seiten

DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)

Inhalt

	Seite
Vorwort	3
1 Anwendungsbereich	5
2 Normative Verweisungen	5
3 Begriffe	5
4 Kurzbeschreibung des Verfahrens	5
5 Nährmedien und Reagenzien	6
5.1 Mineralien-modifizierter Glutamat-Agar (MMGA, en: minerals-modified glutamate agar) [1] [2]	6
5.1.1 Zusammensetzung	6
5.1.2 Herstellung	7
5.2 Caseinpepton-Galle-Agar (TBA, en: tryptone bile agar) [3]	7
5.2.1 Zusammensetzung	7
5.2.2 Herstellung	7
5.3 Verdünnungsflüssigkeit	8
5.4 Indol-Reagenz nach Vracko und Sherris	8
5.4.1 Zusammensetzung	8
5.4.2 Herstellung	8
5.5 Leistungsprüfung zur Qualitätssicherung der Nährmedien, Reagenzien, Verdünnungsmittel und Membran für den Transfer	8
6 Geräte und Hilfsmittel	12
7 Probenahme	12
8 Durchführung	13
8.1 Vorbereiten der Probe	13
8.2 Herstellen der Verdünnungen	13
8.3 Wiederbelebung	13
8.4 Überführung auf Selektivmedium und Bebrütung	13
8.5 Bestätigung	14
9 Auswertung	14
9.1 Zählen der Kolonien	14
9.2 Berechnung und Angabe der Ergebnisse	14
9.3 Berechnung der Anzahl an <i>E. coli</i>	14
10 Untersuchungsbericht	14
Literaturhinweise	15

Tabellen

Tabelle 1 — Leistungskriterien von MMGA und der Transfermembran	9
Tabelle 2 — Leistungskriterien von TBA und Indol-Reagenz nach Vracko und Sherries	9
Tabelle 3 — Leistungskriterien der Verdünnungsmittel	11

Vorwort

Dieses Dokument wurde vom Arbeitsausschuss NA 057-05-13 AA „Milch und Milcherzeugnisse — Probenahme- und Untersuchungsverfahren“ im DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) erarbeitet.

DIN 10183, *Mikrobiologische Milchuntersuchung — Bestimmung der Escherichia coli*, besteht aus den folgenden Teilen:

- Teil 1: *Verfahren mit flüssigem Nährmedium*
- Teil 2: *Membran-Agar-Verfahren*
- Teil 3: *Fluoreszenzoptisches Verfahren mit paralleler Bestimmung coliformer Keime*

Aktuelle Informationen zu diesem Dokument können über die Internetseiten von DIN (www.din.de) durch eine Suche nach der Dokumentennummer aufgerufen werden.

Es besteht ein Zusammenhang mit der von der International Organization for Standardization (ISO) herausgegebenen Internationalen Norm ISO 11866-2:2005.

Dieses Dokument enthält gegenüber der Internationalen Norm folgende Änderungen:

- Dieses Dokument ist anwendbar für Speiseeis und Speiseeispulver.
- Aus Verdünnungen beimpfte Transfermembranen werden auf Mineralien-modifiziertem Glutamat-Agar (MMGA) mindestens 2 h bei 37 °C vorbebrütet.
- Es wurde die Leistungsprüfung zur Qualitätssicherung der Nährmedien, Reagenzien und Verdünnungsmittel festgelegt.
- Zur Berechnung der Ergebnisse wurde auf die Verfahren nach DIN EN ISO 7218 verwiesen.

Änderungen

Gegenüber DIN 10183-2:1991-05 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) Aktualisierung des Vorwortes;
- b) Aktualisierung von Abschnitt 2 „Normative Verweisungen“;
- c) Anpassung der Bezeichnung des Wiederbelebungsmediums Glutaminat-Nährboden an die übliche Bezeichnung in anderen Normen; die neue Bezeichnung lautet: Mineralien-modifizierter Glutamat-Agar;
- d) Anpassung der Zusammensetzung des Mineralien-modifizierten Glutamat-Agars (MMGA) entsprechend der ursprünglichen Rezeptur (Bezeichnung der Bestandteile und Streichung der Bestandteile Caseinhydrolysat und Bromkresolpurpur) [1];
- e) Anpassung der Bezeichnung des Selektivmediums Caseinpepton-Galle-Nährboden an die übliche Bezeichnung in anderen Normen; die neue Bezeichnung lautet: Caseinpepton-Galle-Agar;
- f) Ergänzung der Summenformeln und CAS-Nummern in der Zusammensetzung der Nährmedien und des Reagenzes in Abschnitt 5;

- g) Aufnahme des neuen Unterabschnitts 5.5 „Leistungsprüfung zur Qualitätssicherung der Nährmedien, Reagenzien, Verdünnungsmittel und Membran für den Transfer“;
- h) Unterabschnitt 8.2 wurde durch eine Verweisung auf DIN EN ISO 7218 ersetzt;
- i) Aufnahme von Abschnitt „Literaturhinweise“;
- j) technische und redaktionelle Überarbeitung sowie Ergänzungen zwecks Anpassung an die derzeit gültigen Gestaltungsregeln.

1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument legt ein Verfahren zur Bestimmung von *Escherichia coli* durch ein Koloniezählverfahren nach Wiederbelebung fest.

Das Verfahren ist auch anwendbar für Speiseeis und Speiseeispulver.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente werden im Text in solcher Weise in Bezug genommen, dass einige Teile davon oder ihr gesamter Inhalt Anforderungen des vorliegenden Dokuments darstellen. Bei datierten Verweisungen gilt nur die in Bezug genommene Ausgabe. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe des in Bezug genommenen Dokuments (einschließlich aller Änderungen).

DIN EN ISO 6887-1, *Mikrobiologie der Lebensmittelkette — Vorbereitung von Untersuchungsproben und Herstellung von Erstverdünnungen und von Dezimalverdünnungen für mikrobiologische Untersuchungen — Teil 1: Allgemeine Regeln für die Herstellung von Erstverdünnungen und Dezimalverdünnungen*

DIN EN ISO 6887-5, *Mikrobiologie der Lebensmittelkette — Vorbereitung von Untersuchungsproben und Herstellung von Erstverdünnungen und von Dezimalverdünnungen für mikrobiologische Untersuchungen — Teil 5: Spezifische Regeln für die Vorbereitung von Milch und Milcherzeugnissen*

DIN EN ISO 7218, *Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln — Allgemeine Anforderungen und Leitlinien für mikrobiologische Untersuchungen*

DIN EN ISO 11133, *Mikrobiologie von Lebensmitteln, Futtermitteln und Wasser — Vorbereitung, Herstellung, Lagerung und Leistungsprüfung von Nährmedien*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

DIN und DKE stellen terminologische Datenbanken für die Verwendung in der Normung unter den folgenden Adressen bereit:

- DIN-TERMinologieportal: verfügbar unter <https://www.din.de/go/din-term>
- DKE-IEV: verfügbar unter <https://www.dke.de/DKE-IEV>

3.1

Escherichia coli

E. coli

Mikroorganismus, der bei 44 °C auf Caseinpepton-Galle-Agar unter den in diesem Dokument festgelegten Bedingungen Indol-positive Kolonien bilden kann

4 Kurzbeschreibung des Verfahrens

Von der flüssigen oder in den flüssigen Zustand versetzten Untersuchungsprobe werden dezimale Verdünnungen hergestellt. Jeweils 1 ml der Verdünnungen wird auf einer Transfermembran, die auf einer Platte mit vorgetrocknete Mineralien-modifizierten Glutamat-Agar aufgelegt ist, ausgestrichen und 2 h bis 4 h bei 37 °C vorbebrütet. Die beimpfte und vorbebrütete Transfermembran wird auf Caseinpepton-Galle-Agar übertragen und 18 h bis 24 h bei 44 °C bebrütet. Die Indolbildung wird geprüft, indem die bebrütete Transfermembran in Indol nach Vracko und Sherris-Reagenz gelegt wird.

Aus der Anzahl der auf der Transfermembran gewachsenen und mittels Indol-Reagenz bestätigten Kolonien wird die Anzahl der *E. coli* je Gramm, je Milliliter, je Quadratzentimeter der Probe oder je Probenahmeverrichtung berechnet.