

	DIN ISO 8870	
ICS 07.100.30; 67.100.30	Entwurf	Einsprüche bis 2024-04-09 Vorgesehen als Ersatz für die 2022-08 zurückgezogene Norm DIN 10197:1988-05
Milch und Erzeugnisse auf Milchbasis – Nachweis der durch koagulase-positive Staphylokokken gebildeten Thermonuclease (ISO 8870:2006); Text Deutsch und Englisch Milk and milk-based products – Detection of thermonuclease produced by coagulase-positive staphylococci (ISO 8870:2006); Text in German and English Lait et produits laitiers – Recherche de la thermonucléase en provenance des staphylocoques à coagulase positive (ISO 8870:2006); Texte en allemand et anglais Anwendungswarnvermerk Dieser Entwurf mit Erscheinungsdatum 2024-02-09 wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und Stellungnahme vorgelegt. Weil das beabsichtigte Dokument 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 25 Seiten DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)		

Inhalt

	Seite
Nationales Vorwort	3
Nationaler Anhang NA (informativ) Literaturhinweise	4
Vorwort	5
Vorwort	6
1 Anwendungsbereich	7
2 Normative Verweisungen	7
3 Begriffe	7
4 Kurzbeschreibung	7
5 Nährmedien und Reagenzien	7
6 Prüfeinrichtung	10
7 Probenahme	10
8 Durchführung	11
8.1 Vorbereitung der Untersuchungsprobe	11
8.1.1 Milch	11
8.1.2 Milcherzeugnisse	11
8.1.3 Allgemeine Verfahrensweise	11
8.2 Vorbereitung des Prüfmikroorganismus (Positivkontrolle)	11
8.3 Vorbereitung des Toluidinblau O-DNA-Agars	12
8.4 Nachweis von Thermonuclease	12
9 Auswertung und Interpretation	12
10 Untersuchungsbericht	12
Literaturhinweise	13

Nationales Vorwort

Dieses Dokument enthält die deutsche Übersetzung der Internationalen Norm ISO 8870:2006, die vom Technischen Komitee ISO/TC 34 „Food products“ erarbeitet wurde, dessen Sekretariat von AFNOR (Frankreich) gehalten wird.

Das zuständige nationale Normungsgremium ist der Arbeitsausschuss NA 057-05-13 AA „Milch und Milcherzeugnisse – Probenahme- und Untersuchungsverfahren“ im DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL).

Um Zweifelsfälle in der Übersetzung auszuschließen, ist die englische Originalfassung beigelegt. Die Nutzungsbedingungen für den deutschen Text des Norm-Entwurfes gelten gleichermaßen auch für den englischen Text.

Für die in diesem Dokument zitierten Dokumente wird im Folgenden auf die entsprechenden deutschen Dokumente hingewiesen:

ISO 707	siehe	DIN EN ISO 707
ISO 8261	siehe	DIN EN ISO 8261*

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

Änderungen

Gegenüber der 2022-08 zurückgezogenen Norm DIN 10197:1988-05 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) Beschränkung des Anwendungsbereiches auf "Milch und Milcherzeugnisse";
- b) Aufnahme von Abschnitt 2 „Normative Verweisungen“;
- c) Aktualisierung der Zusammensetzung und des pH-Wertes von Hirn-Herz-Nährbouillon in 5.7;
- d) Aktualisierung von Abschnitt 7 zum empfohlenen Probenahmeverfahren;
- e) Aufnahme von Obergrenzen zur Zentrifugalbeschleunigung in 8.1.3.4 und 8.2.1;
- f) Aufnahme eines Hinweises in Abschnitt 9 zur Anzahl der koagulase-positiven Staphylokokken bei positiver Prüfung auf Thermonuklease;
- g) Aufnahme von Abschnitt „Literaturhinweise“;
- h) redaktionelle Überarbeitung des Dokuments.

* Die Norm wurde zurückgezogen. Aktuelle Ausgabe lautet DIN EN ISO 6887-5.

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN EN ISO 707, *Milch und Milcherzeugnisse — Leitfaden zur Probenahme*

DIN EN ISO 8261, *Milch und Milchprodukte — Allgemeiner Leitfaden für die Vorbereitung von Untersuchungsproben und die Herstellung von Anschüttelungen und Dezimalverdünnungen für mikrobiologische Untersuchungen*

Vorwort

ISO (die Internationale Organisation für Normung) ist eine weltweite Vereinigung nationaler Normungsinstitute (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 Normungsthemen eng mit der Internationalen Elektrotechnischen Kommission (IEC) zusammen.

Internationale Normen werden in Übereinstimmung mit den Gestaltungsregeln der ISO/IEC Directives, Teil 2, erarbeitet.

Die Hauptaufgabe der Technischen Komitees besteht in dem Erarbeiten von Internationalen Normen. Die von den Technischen Komitees angenommenen Norm-Entwürfe werden den Mitgliedsorganisationen zur Umfrage zur Verfügung gestellt. Für eine Veröffentlichung als Internationale Norm wird eine Zustimmung von mindestens 75 % der Mitgliedsländer, die abgestimmt haben, benötigt.

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

ISO 8870|IDF 83 wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34, *Food products*, Unterkomitee SC 5, *Milk and milk products*, und der International Dairy Federation (IDF) erarbeitet. Sie wird von ISO und IDF gemeinsam veröffentlicht.

Vorwort

IDF (the International Dairy Federation) ist ein weltweiter Verband im Bereich der Milchwirtschaft mit nationalen Komitees in jedem Mitgliedsland. Jedes nationale Komitee hat das Recht, in den ständigen Ausschüssen (Standing Committees) des IDF, die die technische Arbeit ausführen, vertreten zu sein. IDF arbeitet bei der Entwicklung von standardisierten Verfahren zur Analyse und Probenahme von Milch und Milcherzeugnissen mit ISO zusammen.

Die von den Arbeitsgruppen (Action Teams) und ständigen Ausschüssen angenommenen internationalen Norm-Entwürfe werden den nationalen Komitees zur Abstimmung vorgelegt. Für eine Veröffentlichung als Internationale Norm wird eine Zustimmung von mindestens 50 % der nationalen Komitees, die abgestimmt haben, benötigt.

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. IDF ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren.

ISO 8870|IDF 83 wurde von der International Dairy Federation (IDF) und vom Technischen Komitee ISO/TC 34, *Food products*, Unterkomitee SC 5, *Milk and milk products*, erarbeitet. Sie wird von IDF und ISO gemeinsam veröffentlicht.

Sämtliche Arbeiten wurde vom Joint ISO/IDF/AOAC Action Team on *Harmonization* des Standing Committee on *Microbiological methods of analysis* unter Federführung seines Projektleiters, Herrn H. Becker (DE), durchgeführt.

Diese Ausgabe von ISO 8870|IDF 83 ersetzt IDF 83A:1998, die technisch überarbeitet wurde.

1 Anwendungsbereich

Diese Internationale Norm legt ein Verfahren zum Nachweis von hitzestabiler DNase (Thermonuclease) fest, die von koagulase-positiven Staphylokokken in Milch und Milcherzeugnissen gebildet wird.

Das Enzym kann als Indikator dafür verwendet werden, dass das Staphylokokkenwachstum ein gefährliches Niveau erreicht hat, und kann das mögliche Vorhandensein von Staphylokokken-Enterotoxinen aufzeigen.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden zitierten Dokumente sind für die Anwendung dieses Dokuments erforderlich. 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).

ISO 8261|IDF 122, *Milk and milk products — General guidance for the preparation of test samples, initial suspensions and decimal dilutions for microbiological examination*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

3.1

Thermonuclease

durch koagulase-positive Staphylokokken gebildetes Enzym, das unter den in dieser Internationalen Norm festgelegten Bedingungen Desoxyribonucleinsäure (DNA) hydrolysiert

4 Kurzbeschreibung

Milch, rekonstituiertes Milchpulver oder homogenisierte Milcherzeugnisse werden nach Zugabe von Magermilchpulver auf einen pH-Wert von 3,8 eingestellt und zentrifugiert. Der Überstand wird mit Trichloressigsäure ausgefällt. Nach dem Zentrifugieren wird die Ausfällung auf einen pH-Wert von 8,5 eingestellt und Tris-Puffer wird hinzugefügt. Die Lösung wird anschließend 15 min in einem siedenden Wasserbad erhitzt und auf Thermonuclease-Aktivität in Toluidinblau-O-DNA-Agar geprüft. Die Farbe des Agars schlägt von Blau nach Rosa um, wenn die Thermonuclease das DNA-Molekül spaltet. Diese Farbreaktion ist auf die metachromatischen Eigenschaften von Toluidinblau O zurückzuführen.

5 Nährmedien und Reagenzien

5.1 Grundstoffe

Bezüglich der aktuellen Laborpraxis siehe ISO 8261|IDF 122.

Sofern nicht anders festgelegt, werden nur Reagenzien von anerkannter analytischer Qualität und nur destilliertes oder vollentsalztes Wasser oder Wasser entsprechender Reinheit verwendet.

Werden die zubereiteten Medien und Reagenzien nicht sofort verwendet, so werden sie, sofern nicht anders angegeben, im Dunkeln zwischen 0 °C und +5 °C höchstens einen Monat unter Bedingungen gelagert, die keine Veränderung ihrer Zusammensetzung bewirken.

E DIN ISO 8870:2024-03

5.2 Toluidinblau O-DNA-Agar

5.2.1 Tris-Puffer

5.2.1.1 Zusammensetzung

Tris(hydroxymethyl)aminomethan ($C_4H_{11}NO_3$)	6,06 g
Calciumchlorid ($CaCl_2$)	0,11 g
Wasser	1 000 ml

5.2.1.2 Herstellung

Das Tris(hydroxymethyl)aminomethan und das Calciumchlorid werden in 980 ml Wasser gelöst. Der pH-Wert wird auf 9,0 eingestellt und mit Wasser wird auf 1 000 ml aufgefüllt.

5.2.2 Grundmedium

5.2.2.1 Zusammensetzung

Desoxyribonucleinsäure (DNA) ^a	0,3 g
Natriumchlorid (NaCl)	10,0 g
Agar	10,0 g
Tris-Puffer (5.2.1)	1 000 ml
^a Die verwendete DNA muss erwiesenermaßen für den Nachweis von Thermonuclease geeignet sein.	

5.2.2.2 Herstellung

Die Bestandteile werden in einem Wasserbad (6.2) bis zum Sieden erhitzt, bis die DNA und der Agar vollständig aufgelöst sind (etwa 1,5 h).

5.2.3 Toluidinblau O-Lösung

5.2.3.1 Zusammensetzung

Toluidinblau O ($C_{15}H_{16}N_3SCl$) ^a	0,31 g
Wasser	10 ml
^a Toluidinblau O (Colour Index: C.I. Basic Blue 17; C.I. Nr. 52040).	

5.2.3.2 Herstellung

Toluidinblau O wird unter möglichst geringem Erwärmen in Wasser gelöst und anschließend durch Gaze (6.12) filtriert.

5.2.4 Vollständiges Medium

5.2.4.1 Zusammensetzung

Grundmedium (5.2.2)	1 000 ml
Toluidinblau O-Lösung (5.2.3)	3 ml