

DIN EN ISO 19250

ICS 07.100.20

Einsprüche bis 2012-12-08

Entwurf

**Wasserbeschaffenheit –
Bestimmung von *Salmonella* spp. (ISO 19250:2010);
Deutsche Fassung FprEN ISO 19250:2012**

Water quality –
Detection of *Salmonella* spp. (ISO 19250:2010);
German version FprEN ISO 19250:2012

Qualité de l'eau –
Recherche de *Salmonella* spp. (ISO 19250:2010);
Version allemande FprEN ISO 19250:2012

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2012-10-01 wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und Stellungnahme vorgelegt.

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

Stellungnahmen werden erbeten

- vorzugsweise als Datei per E-Mail an naw@din.de in Form einer Tabelle. Die Vorlage dieser Tabelle kann im Internet unter www.din.de/stellungnahme oder für Stellungnahmen zu Norm-Entwürfen der DKE unter www.dke.de/stellungnahme abgerufen werden;
- oder online im Norm-Entwurfs-Portal des DIN unter www.entwuerfe.din.de, sofern dort wiedergegeben;
- oder in Papierform an den Normenausschuss Wasserwesen (NAW) im DIN, 10772 Berlin (Hausanschrift: Burggrafenstr. 6, 10787 Berlin).

Die Empfänger dieses Norm-Entwurfs werden gebeten, mit ihren Kommentaren jegliche relevanten Patentrechte, die sie kennen, mitzuteilen und unterstützende Dokumentationen zur Verfügung zu stellen.

Gesamtumfang 30 Seiten

Normenausschuss Wasserwesen (NAW) im DIN

Nationales Vorwort

Dieser europäische Norm-Entwurf ist die Deutsche Fassung der vom Technischen Komitee ISO/TC 147 „Water quality“ der Internationalen Organisation für Normung (ISO) erarbeiteten Internationalen Norm ISO 19250:2010, die als FprEN ISO 19250:2012 durch das Technische Komitee CEN/TC 230 „Wasseranalytik“ (Sekretariat: DIN, Deutschland) übernommen wurde. Dieser Norm-Entwurf wird nach einem positiven Abstimmungsergebnis innerhalb der CEN-Mitglieder als Europäische Norm EN ISO 19250 in Deutsch, Englisch und Französisch herausgegeben.

Die nationalen Normenorganisationen sind verpflichtet, diese Europäische Norm dann vollständig und unverändert in ihr nationales Normenwerk zu übernehmen.

Für Deutschland war der Unterausschuss NA 119-01-03-03 UA „Mikrobiologie“ des Arbeitsausschusses NA 119-01-03 AA „Wasseruntersuchung“ im Normenausschuss Wasserwesen (NAW) im DIN an der Bearbeitung beteiligt.

Nach einem im CEN mit positivem Ergebnis durchgeführten einstufigen Annahmeverfahren (UAP) wird dieses Bestimmungsverfahren als Europäische Norm in das DIN-Normenwerk übernommen.

Bezeichnung des Verfahrens:

Bestimmung von *Salmonella* spp. (K 18):

Verfahren DIN EN ISO 19250 — K 18

Für die in diesem Dokument zitierten Internationalen Normen wird im Folgenden auf die entsprechenden Deutschen Normen hingewiesen:

ISO 3696	siehe DIN ISO 3696
ISO 6579	siehe DIN EN ISO 6579
ISO 6887-1	siehe DIN EN ISO 6887-1
ISO 7218	siehe DIN EN ISO 7218
ISO 8199	siehe DIN EN ISO 8199
ISO 19458	siehe DIN EN ISO 19458
ISO/TS 11133-1	siehe DIN ISO/TS 11133-1
ISO/TS 11133-2	siehe DIN CEN ISO/TS 11133-2 (DIN SPEC 10126)
ISO/TR 13843	siehe DIN V ENV ISO 13843

Es ist erforderlich, bei den Untersuchungen nach dieser Norm Fachleute oder Facheinrichtungen einzuschalten und bestehende Sicherheitsvorschriften zu beachten.

Bei Anwendung der Norm ist im Einzelfall je nach Aufgabenstellung zu prüfen, ob und inwieweit die Festlegung von zusätzlichen Randbedingungen erforderlich ist.

Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung

Die als DIN-Normen veröffentlichten Einheitsverfahren sind bei der Beuth Verlag GmbH einzeln oder zusammengefasst erhältlich. Außerdem werden die genormten Einheitsverfahren in der Loseblattsammlung „Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung“ gemeinsam von der Beuth Verlag GmbH und von dem Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA publiziert.

Alle für die Abwasserverordnung (AbwV¹⁾) nach § 57, Absatz 1, Nummer 1 des Gesetzes zur Ordnung des Wasserhaushaltes (Wasserhaushaltsgesetz — WHG¹⁾) über „Anforderungen an das Einleiten von Abwasser in Gewässer“ relevanten Einheitsverfahren sind zusammen mit der AbwV und dem WHG als Loseblattsammlung „Analysenverfahren in der Abwasserverordnung — Rechtsvorschriften und Normen“ (Ergänzungsbände) von der Beuth Verlag GmbH herausgegeben worden.

Normen oder Norm-Entwürfe mit dem Gruppentitel „*Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung*“ sind in folgende Gebiete (Haupttitel) aufgeteilt:

Allgemeine Angaben (Gruppe A)	(DIN 38402)
Sensorische Verfahren (Gruppe B)	(DIN 38403)
Physikalische und physikalisch-chemische Kenngrößen (Gruppe C)	(DIN 38404)
Anionen (Gruppe D)	(DIN 38405)
Kationen (Gruppe E)	(DIN 38406)
Gemeinsam erfassbare Stoffgruppen (Gruppe F)	(DIN 38407)
Gasförmige Bestandteile (Gruppe G)	(DIN 38408)
Summarische Wirkungs- und Stoffkenngößen (Gruppe H)	(DIN 38409)
Biologisch-ökologische Gewässeruntersuchung (Gruppe M)	(DIN 38410)
Mikrobiologische Verfahren (Gruppe K)	(DIN 38411)
Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L)	(DIN 38412)
Einzelkomponenten (Gruppe P)	(DIN 38413)
Schlamm und Sedimente (Gruppe S)	(DIN 38414)
Suborganismische Testverfahren (Gruppe T)	(DIN 38415).

Außer den in der Reihe DIN 38402 bis DIN 38415 genormten Untersuchungsverfahren liegen eine Reihe Europäischer und Internationaler Normen als DIN-EN-, DIN-EN-ISO- und DIN-ISO-Normen vor, die ebenfalls Bestandteil der „Deutschen Einheitsverfahren“ sind.

Über die bisher erschienenen Teile dieser Normen gibt die Geschäftsstelle des Normenausschusses Wasserwesen (NAW) im DIN Deutsches Institut für Normung e. V., Telefon 030 2601–2448, oder die Beuth Verlag GmbH, 10772 Berlin (Hausanschrift: Burggrafenstr. 6, 10787 Berlin), Auskunft.

Diesem Verfahren wird bei der Einsortierung in die „Deutschen Einheitsverfahren“ die DEV-Nummer K 18 zugeordnet.

¹⁾ Nachgewiesen in der DITR-Datenbank der DIN Software GmbH, zu beziehen bei: Beuth Verlag GmbH, 10772 Berlin.

Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN EN ISO 6579, *Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln — Horizontales Verfahren zum Nachweis von Salmonella spp.*

DIN EN ISO 6887-1, *Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln — 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 7218, *Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln — Allgemeine Anforderungen und Leitlinien für mikrobiologische Untersuchungen*

DIN EN ISO 8199, *Wasserbeschaffenheit — Allgemeine Anleitung zur Zählung von Mikroorganismen durch Kulturverfahren*

DIN EN ISO 19458, *Wasserbeschaffenheit — Probenahme für mikrobiologische Untersuchungen*

DIN ISO 3696, *Wasser für analytische Zwecke — Anforderungen und Prüfungen*

DIN ISO/TS 11133-1, *Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln — Anleitungen für die Vorbereitung und Herstellung von Nährmedien — Teil 1: Allgemeine Anleitungen für die Qualitätssicherung bei der Zubereitung von Nährmedien im Laboratorium*

DIN CEN ISO/TS 11133-2 (DIN SPEC 10126), *Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln — Anleitung für die Vorbereitung und Herstellung von Nährmedien — Teil 2: Praktische Anleitung zur Leistungsprüfung von Nährmedien*

DIN V ENV ISO 13843, *Wasserbeschaffenheit — Richtlinie zur Validierung mikrobiologischer Verfahren (ISO/TR 13843:2000); Deutsche Fassung ENV ISO 13843:2001*

Wasserbeschaffenheit — Bestimmung von *Salmonella* spp. (ISO 19250:2010)

Qualité de l'eau — Recherche de Salmonella spp. (ISO 19250:2010)

Water quality — Detection of Salmonella spp. (ISO 19250:2010)

ICS: 07.100.20

Deskriptoren

Dokument-Typ: Europäische Norm
Dokument-Untertyp:
Dokument-Stage: einstufiges Annahmeverfahren
Dokument-Sprache: D

STD Version 2.4e - RC2

Inhalt

Seite

Vorwort	3
Einleitung.....	4
1 Anwendungsbereich	5
2 Normative Verweisungen.....	5
3 Begriffe	5
4 Grundlage des Verfahrens	6
4.1 Allgemeines	6
4.2 Voranreicherung in nicht-selektivem Flüssigmedium	6
4.3 Anreicherung in selektivem Flüssigmedium	6
4.4 Ausplattierung und Erkennung	6
4.5 Bestätigung	6
5 Geräte.....	7
6 Probenahme	7
7 Kulturmedien und Reagenzien	7
8 Durchführung	8
8.1 Probenvorbereitung.....	8
8.2 Nicht-selektive Voranreicherung.....	8
8.3 Selektive Anreicherung	9
8.4 Ausplattieren	9
8.5 Bestätigung	9
9 Angabe der Ergebnisse.....	12
10 Untersuchungsbericht	12
11 Qualitätssicherung	12
Anhang A (normativ) Diagramm der Vorgehensweise	13
Anhang B (normativ) Zusammensetzung und Zubereitung von Kulturmedien und Reagenzien	14
B.1 Gepuffertes Peptonwasser (BPW)	14
B.2 Rappaport-Vassiliadis-Bouillon mit Soja (RVS)	14
B.3 Xylose-Lysin-Desoxycholat-Agar (XLD-Agar)	16
B.4 Nähragar	16
B.5 Drei-Zucker/Eisen-Agar (TSI-Agar)	17
B.6 Harnstoff-Agar (Christensen)	17
B.7 L-Lysin-Decarboxylierungsmedium.....	18
B.8 Selenit-Cystin-Bouillon	18
B.9 Muller-Kauffmann-Tetrathionat-Novobiocin-Bouillon (MKTn).....	19
B.10 Filtrierhilfsmittel.....	20
Anhang C (informativ) Ergebnisse des Ringversuchs	21
C.1 Einleitung.....	21
C.2 Verteilung der Zellen in den Proben und Teilproben	21
Literaturhinweise	26

Vorwort

Der Text von ISO 19250:2010 wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 147 „Water quality“ der Internationalen Organisation für Normung (ISO) erarbeitet und als FprEN ISO 19250:2012 durch das Technische Komitee CEN/TC 230 „Wasseranalytik“, dessen Sekretariat vom DIN gehalten wird, übernommen.

Dieses Dokument ist derzeit zum einstufigen Annahmeverfahren vorgelegt.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO 19250:2010 wurde vom CEN als FprEN ISO 19250:2012 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

Einleitung

Salmonella spp. sind Bakterien, die weltweit weit verbreitet sind. Sie werden üblicherweise als Krankheitserreger eingeordnet, obwohl ihre Virulenz und Pathogenität stark variiert. Zu den natürlichen Wirten von *Salmonella* spp. gehören Menschen, landwirtschaftliche Nutztiere und Haustiere sowie wild lebende Tiere, einschließlich Vögel. Menschen und Tiere können diese Bakterien entweder als asymptomatische Träger oder während einer Krankheit ausscheiden. Es ist daher unmöglich, sie aus der Umwelt zu eliminieren. Nach einer Infektion von Menschen kann die Übertragung von *Salmonella* spp. schwere Krankheiten zur Folge haben.

Da Wasser einer dieser Übertragungswege ist, sollte die An- oder Abwesenheit von *Salmonella* im Wasser überwacht werden. *Salmonella* können in allen Arten häuslichen oder landwirtschaftlichen Abwassers, Süßwasser einschließlich Grund- und Trinkwasser sowie Meerwasser vorkommen.

Für den Nachweis von *Salmonella* spp. in Wasser muss üblicherweise ein Konzentrierungsschritt durchgeführt werden. Da Zellen von *Salmonella* spp. in wässriger Umgebung geschädigt werden können, benötigt man für ihren Nachweis in Wasser üblicherweise einen Voranreicherungsschritt.

WARNUNG — Um die Gesundheit des Laborpersonals nicht zu gefährden, ist es unbedingt erforderlich, dass Untersuchungen zum Nachweis von *Salmonella* und besonders *S. enterica* sbsp. *enterica* ser. Typhi (*Salmonella* ser. Typhi) und *S. enterica* susp. *enterica* ser. Paratyphi (*Salmonella* ser. Paratyphi) nur in entsprechend ausgerüsteten Laboratorien unter der Verantwortung eines ausgebildeten Mikrobiologen durchgeführt werden, und dass das gesamten bebrütete Material höchst sorgfältig entsorgt wird.

Anwender dieser Internationalen Norm sollten mit der üblichen Laborpraxis vertraut sein. Diese Norm gibt nicht vor, alle unter Umständen mit der Anwendung des Verfahrens verbundenen Sicherheitsaspekte anzusprechen. Es liegt in der Verantwortung des Arbeitsgebers, angemessene Sicherheits- und Schutzmaßnahmen zu treffen und sicherzustellen, dass diese mit nationalen Festlegungen übereinstimmen.

WICHTIG — Es ist unbedingt notwendig, dass Untersuchungen nach dieser Internationalen Norm von entsprechend ausgebildetem Personal durchgeführt werden.

1 Anwendungsbereich

Diese Internationale Norm legt ein Verfahren zum Nachweis von *Salmonella* spp. (präsumtiv oder bestätigt) in Wasserproben fest. Es ist möglich, dass bei besonderen epidemiologischen Situationen oder bei Untersuchungen von Krankheitsausbrüchen auch andere Medien benötigt werden.

WARNUNG — Es ist möglich, dass das Verfahren nicht alle *Salmonella* ser. Typhi und ser. Paratyphi erfasst.

ANMERKUNG Für eine semi-quantitative Untersuchung können MPN-Ansätze (en: most probable number – wahrscheinlichste Zahl) unter Verwendung geeigneter Probenvolumen durchgeführt werden. Für diese Fälle wird das Volumen des gepufferten Peptonwassers entsprechend angepasst.

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 6579, *Microbiology of food and animal feeding stuff — Horizontal method for the detection of Salmonella spp.*

ISO 6887-1, *Microbiology of food and animal feeding stuff — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination — Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions*

ISO 7218, *Microbiology of food and animal feeding stuffs — General requirements and guidance for microbiological examinations*

ISO 7704, *Water quality — Evaluation of membrane filters used for microbiological analyses*

ISO 8199, *Water quality — General guide to the enumeration of micro-organisms by culture*

ISO 19458, *Water quality — Sampling for microbiological analysis*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

3.1

präsumtive *Salmonella* spp.

Bakterien, die im selektiven Anreicherungsmedium wachsen und die typische oder atypische Kolonien auf dem Selektivmedium bilden

3.2

bestätigte *Salmonella* spp.

Bakterien, die im selektiven Anreicherungsmedium wachsen, typische und verdächtige Kolonien auf dem festen Selektivmedium bilden und die spezifische biochemische und serologische Eigenschaften zeigen

ANMERKUNG Die spezifischen biochemischen und serologischen Eigenschaften werden durch die in dieser Internationalen Norm beschriebenen Tests bestimmt.

3.3

Nachweis von *Salmonella* spp.

Feststellung der An- oder Abwesenheit von *Salmonella* spp. (3.4)

3.4

***Salmonella* spp.**

Salmonella

Bakterien, die typische oder atypische Kolonien auf festem Selektivmedium bilden und die spezifische biochemische und serologische Eigenschaften zeigen