

	DIN EN ISO 7899-3	
ICS 07.100.20	Einsprüche bis 2024-07-17	
<div>Entwurf</div>		
<p>Wasserbeschaffenheit – Nachweis und Zählung von intestinalen Enterokokken – Teil 3: Verfahren zur Bestimmung der wahrscheinlichsten Keimzahl (ISO/DIS 7899-3:2024); Deutsche und Englische Fassung prEN ISO 7899-3:2024</p> <p>Water quality – Enumeration of intestinal enterococci – Part 3: Most probable number method (ISO/DIS 7899-3:2024); German and English version prEN ISO 7899-3:2024</p> <p>Qualité de l’eau – Dénombrement des entérocoques intestinaux – Partie 3: Méthode du nombre le plus probable (ISO/DIS 7899-3:2024); Version allemande et anglaise prEN ISO 7899-3:2024</p> <p>Anwendungswarnvermerk</p> <p>Dieser Entwurf mit Erscheinungsdatum 2024-05-17 wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und Stellungnahme vorgelegt.</p> <p>Weil das beabsichtigte Dokument von der vorliegenden Fassung abweichen kann, ist die Anwendung dieses Entwurfs besonders zu vereinbaren.</p> <p>Stellungnahmen werden erbeten</p> <ul style="list-style-type: none">– 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 naw@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 Wasserwesen (NAW), 10772 Berlin oder Am DIN-Platz, Burggrafenstr. 6, 10787 Berlin. <p>Es wird gebeten, mit den Kommentaren zu diesem Entwurf jegliche relevanten Patentrechte, die bekannt sind, mitzuteilen und unterstützende Dokumentationen zur Verfügung zu stellen.</p> <p>Gesamtumfang 35 Seiten</p> <p>DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW)</p>		

Nationales Vorwort

Das Dokument prEN ISO 7899-3:2024 wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 147 „Water quality“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 230 „Wasseranalytik“ erarbeitet, dessen Sekretariat von DIN (Deutschland) gehalten wird.

Das zuständige nationale Normungsgremium ist der Unterausschuss NA 119-01-03-03 UA „Mikrobiologie“ im DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW).

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.

DIN EN ISO 7899 besteht unter dem allgemeinen Titel *Wasserbeschaffenheit — Nachweis und Zählung von intestinalen Enterokokken* aus den folgenden Teilen:

- Teil 1: *Miniaturisiertes Verfahren durch Animpfen in Flüssigmedium (MPN-Verfahren)*
- Teil 2: *Verfahren durch Membranfiltration*
- Teil 3: *Verfahren zur Bestimmung der wahrscheinlichsten Keimzahl*

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

ISO 8199:2018	siehe	DIN EN ISO 8199:2021-12
ISO 11133	siehe	DIN EN ISO 11133
ISO 13843:2017	siehe	DIN EN ISO 13843:2018-03
ISO 19458	siehe	DIN EN ISO 19458
ISO/TR 13843:2000	siehe	DIN V ENV ISO 13843:2001-12 (beide zurückgezogen)

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

Bezeichnung des Verfahrens:

Nachweis und Zählung von intestinalen Enterokokken — Teil 3: Verfahren zur Bestimmung der wahrscheinlichsten Keimzahl (K 22)

Verfahren DIN EN ISO 7899-3-K 22

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.

Die vorliegende Norm enthält das vom DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW) und von der Wasserchemischen Gesellschaft – Fachgruppe in der Gesellschaft Deutscher Chemiker (GDCh) – gemeinsam erarbeitete Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung:

Nachweis und Zählung von intestinalen Enterokokken — Teil 3: Verfahren zur Bestimmung der wahrscheinlichsten Keimzahl (K 22).

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

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

- Allgemeine Angaben (Gruppe A);
- Sensorische Verfahren (Gruppe B);
- Physikalische und physikalisch-chemische Kenngrößen (Gruppe C);
- Anionen (Gruppe D);
- Kationen (Gruppe E);
- Gemeinsam erfassbare Stoffgruppen (Gruppe F);
- Gasförmige Bestandteile (Gruppe G);
- Summarische Wirkungs- und Stoffkenngößen (Gruppe H);
- Mikrobiologische Verfahren (Gruppe K);
- Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L);
- Biologisch-ökologische Gewässeruntersuchung (Gruppe M);
- Einzelkomponenten (Gruppe P);
- Schlamm und Sedimente (Gruppe S);
- Suborganismische Testverfahren (Gruppe T).

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

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN EN ISO 8199:2021-12, *Wasserbeschaffenheit — Allgemeine Anforderungen und Anleitung für mikrobiologische Untersuchungen mittels Kulturverfahren (ISO 8199:2018); Deutsche Fassung EN ISO 8199:2018*

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

DIN EN ISO 13843:2018-03, *Wasserbeschaffenheit — Anforderungen zur Bestimmung von Leistungsmerkmalen von quantitativen mikrobiologischen Verfahren (ISO 13843:2017); Deutsche Fassung EN ISO 13843:2017*

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

DIN V ENV ISO 13843:2001-12, *Wasserbeschaffenheit — Richtlinie zur Validierung mikrobiologischer Verfahren (ISO/TR 13843:2000); Deutsche Fassung ENV ISO 13843:2001*

**Wasserbeschaffenheit – Nachweis und Zählung von intestinalen Enterokokken –
Teil 3: Verfahren zur Bestimmung der wahrscheinlichsten Keimzahl
(ISO/DIS 7899-3:2024)**

Water quality – Enumeration of intestinal enterococci – Part 3: Most probable number method
(ISO/DIS 7899-3:2024)

Qualité de l'eau – Dénombrement des entérocoques intestinaux – Partie 3: Méthode du nombre le plus probable (ISO/DIS 7899-3:2024)

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	3
Vorwort	4
Einleitung	5
1 Anwendungsbereich	6
2 Normative Verweisungen	6
3 Begriffe	6
4 Kurzbeschreibung	7
5 Geräte und Glasgeräte	8
6 Kulturmedien und Reagenzien	8
6.1 Grundlegende Materialien	9
6.2 Verdünnungsmittel	9
6.3 Antischaummittel	9
7 Probenahme	9
8 Verfahren	9
8.1 Transport und Lagerung der Proben	9
8.2 Beimpfen von Medien	9
8.2.1 Trinkwasser	9
8.2.2 Badewasser (Süß- oder Salzwasser)	10
8.3 Bebrütung	10
8.4 Untersuchung der Ergebnisse	10
9 Angabe von Ergebnissen	10
10 Prüfbericht	10
11 Qualitätssicherung	10
Anhang A (informativ) Weitere mikrobiologische Informationen zu intestinalen Enterokokken .	12
Anhang B (normativ) Zusammensetzung von Enterolert-DW	13
Anhang C (informativ) Validierung (Leistungsmerkmale) von Enterolert-DW/Quanti-Tray für die Zählung von intestinalen Enterokokken in Wasser	14
C.1 Leistungsdaten für Trinkwasser	14
C.2 Leistungsdaten für Badewasser	14
C.3 Maintenance Portal	15
Literaturhinweise	16

Tabellen

Tabelle 1 — Leistungsprüfung des Nährmediums ^a	11
Tabelle A.1 — Leistungsdaten von Enterolert-DW für Trinkwasser	14
Tabelle A.2 — Leistungsdaten von Enterolert-DW für Badewasser	15

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 7899-3:2024) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 147 „Water quality“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 230 „Wasseranalytik“ erarbeitet, dessen Sekretariat von DIN gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur parallelen Umfrage vorgelegt.

Rückmeldungen oder Fragen zu diesem Dokument sollten an das jeweilige nationale Normungsinstitut des Anwenders gerichtet werden. Eine vollständige Liste dieser Institute ist auf den Internetseiten von CEN abrufbar.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO/DIS 7899-3:2024 wurde von CEN als prEN ISO 7899-3:2024 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

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.

Die Verfahren, die bei der Entwicklung dieses Dokuments angewendet wurden und die für die weitere Pflege vorgesehen sind, werden in den ISO/IEC Directives, Teil 1, beschrieben. Es sollten insbesondere die unterschiedlichen Annahmekriterien für die verschiedenen ISO-Dokumentenarten beachtet werden. Dieses Dokument wurde in Übereinstimmung mit den Gestaltungsregeln der ISO/IEC Directives, Teil 2, erarbeitet (siehe www.iso.org/directives).

ISO weist auf die Möglichkeit hin, dass die Anwendung dieses Dokuments mit der Verwendung eines oder mehrerer Patente verbunden sein kann. ISO bezieht jedoch in dieser Hinsicht keinerlei Stellung bezüglich Nachweis, Gültigkeit oder Anwendbarkeit jeglicher beanspruchten Patentrechte. Zum Zeitpunkt der Veröffentlichung dieses Dokuments lag ISO *keine* Mitteilung über ein Patent bzw. mehrere Patente vor, welche/s zur Umsetzung dieses Dokuments erforderlich sein könnte/n. Anwender werden jedoch darauf hingewiesen, dass dies möglicherweise nicht der aktuelle Informationsstand ist. Dieser kann jedoch der Patentdatenbank unter www.iso.org/patents entnommen werden. ISO ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren.

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 Welthandelsorganisation (WTO, en: World Trade Organization) hinsichtlich technischer Handelshemmnisse (TBT, en: Technical Barriers to Trade) berücksichtigt, siehe www.iso.org/iso/foreword.html.

Dieses Dokument wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 147, *Water Quality*, Unterkomitee SC 4, *Microbiological Methods* erarbeitet.

Dies ist die erste Ausgabe dieses Teils (ISO 7899:2024), welche technisch überarbeitet wurde.

Eine Auflistung aller Teile der Normenreihe ISO 7899 ist auf der ISO-Internetseite abrufbar.

Rückmeldungen oder Fragen zu diesem Dokument sollten an das jeweilige nationale Normungsinstitut des Anwenders gerichtet werden. Eine vollständige Auflistung dieser Institute ist unter www.iso.org/members.html zu finden.

Einleitung

Das Vorhandensein und das Ausmaß fäkaler Verschmutzung ist ein wichtiger Faktor bei der Beurteilung der Qualität eines Wasserkörpers und des Risikos für die menschliche Gesundheit durch Darminfektionen.

Die Untersuchung von Wasserproben auf das Vorhandensein von intestinalen Enterokokken (Genus *Enterococcus*), die üblicherweise im Verdauungstrakt und im Kot von Menschen und homöothermischen (warmblütigen) Tieren vorhanden sind, liefert einen Hinweis für eine solche Verunreinigung.

Ihr Vorhandensein kann zur Messung der Wirksamkeit von Behandlungsverfahren während der Trinkwasseraufbereitung verwendet werden und ist auch ein Anzeichen für Einsickerungen und andere Probleme mit der Unversehrtheit von Speicher- und Verteilungssystemen für die öffentliche Versorgung.

Im Gegensatz zu anderen Teilen dieser Norm kann dieser Teil für die Analyse nahezu aller Wasserarten, insbesondere von Trinkwasser und Proben mit hohen Hintergrundkeimzahlen, verwendet werden.

Es ist wichtig zu beachten, dass diese Norm auf der Verwendung eines validierten Produkts basiert, dessen Leistungsmerkmale nachgewiesen wurden (Anhang C), und dass sich die Untersuchung ohne weitere Bestätigung auf die Erkennung intestinaler Enterokokken aufgrund der Expression des β -D-Glucosidase-Enzyms stützt.

1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument legt ein Verfahren zur Zählung von intestinalen Enterokokken in Wasser fest, einschließlich *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus durans*, *Enterococcus avium*, *Enterococcus gallinarum*, *Enterococcus hirae*, *Enterococcus casseliflavus*. Das Verfahren basiert auf dem Wachstum von Zielorganismen in einem flüssigen Medium und der Berechnung der wahrscheinlichsten Keimzahl (MPN, en: Most Probable Number) der Mikroorganismen anhand von MPN-Tabellen oder geeigneten MPN-Informatikprogrammen.

Dieses Verfahren kann bei Trinkwasser und Badewasser (Süß- oder Salzwasser) sowie anderen ähnlichen Wasserarten angewendet werden, einschließlich solcher, die eine erhebliche Menge an Schwebstoffen enthalten, und es ermöglicht die Erkennung von Enterokokken mit 1 KBE/100 ml mit definitiven Ergebnissen innerhalb von (26 ± 2) h bei einer Anwesenheit heterotropher Bakterien in einer Anzahl von bis zu 1×10^6 je 100 ml Probe.

Enterokokken in Badewasser lassen sich am besten zählen, wenn die Proben 1 : 10 verdünnt werden.

Die Prüfung stützt sich auf die Erkennung intestinaler Enterokokken durch die Expression des Enzyms β -D-Glucosidase und liefert ohne weitere Prüfung positiver Probenvertiefungen innerhalb von 24 h ein bestätigtes Ergebnis.

Dieses Dokument gilt nicht für abgefülltes Wasser, für das das Verfahren nicht validiert wurde und das deshalb nicht in den Anwendungsbereich dieses Dokuments fällt, sofern nicht vom Labor vor der Anwendung eine angemessene Validierung der Leistung dieses Verfahrens durchgeführt wurde.

WARNUNG — Anwender dieses Dokuments sollten mit der üblichen Laborpraxis vertraut sein. Dieses Dokument erhebt nicht den Anspruch, auf alle gegebenenfalls zutreffenden Sicherheitsfragen im Zusammenhang mit seiner Anwendung einzugehen. Es liegt in der Verantwortung des Anwenders, angemessene Sicherheits- und Schutzmaßnahmen zu treffen.

WICHTIG — Es ist unerlässlich, dass nach diesem Dokument durchgeführte Untersuchungen von entsprechend qualifiziertem Personal durchgeführt werden.

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).

ISO 8199:2018, *Water quality — General requirements and guidance for microbiological examinations by culture*

ISO 11133, *Microbiology of food, animal feed and water — Preparation, production, storage and performance testing of culture media*

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

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

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

— ISO Online Browsing Platform: verfügbar unter <https://www.iso.org/obp>

— IEC Electropedia: verfügbar unter <https://www.electropedia.org/>

3.1

intestinale Enterokokken

Mikroorganismen, die fähig sind, im definierten Substratmedium zu wachsen und die das Enzym β -D-Glucosidase exprimieren, wobei durch die enzymatische Spaltung von Ortho-Nitrophenyl- β -D-Glucosid eine grüne Farbe entsteht (durch Erzeugung eines gelben Stoffes in einer Bouillon, die ursprünglich eine blaue Farbe hat)

Anmerkung 1 zum Begriff: In dieser Norm ist der Begriff „intestinale Enterokokken“ gleichbedeutend mit Fäkalenterokokken und Enterokokken.

3.2

chromogenes Substrat

Substrat, das eine chromophore/fluorophore Gruppe und ein von den Bakterien oder Pilzen verwertbares Substrat enthält

Anmerkung 1 zum Begriff: Nach Spaltung des chromogenen/fluorogenen Substrats wird das Chromophor/Fluorophor frei und ein farbiges/fluoreszierendes Endprodukt sichtbar/kann unter Verwendung einer ultravioletten (UV-)Lampe nachgewiesen werden.

[QUELLE: ISO 11133:2014, 3.1.3]

3.3

chromogenes Nährmedium

Nährmedium, das ein oder mehrere chromogene/fluorogene Substrate enthält

Anmerkung 1 zum Begriff: Chromogene Nährmedien unterstützen die Identifizierung von Bakterien oder Pilzen anhand definierter farblicher und morphologischer Merkmale (nährmediumtypisches Wachstum). Fluorogene Medien erfordern die Sichtbarmachung mit Hilfe einer UV-Lampe. Die Produkte biochemischer Reaktionen, auf denen die Wirksamkeit chromogener/fluorogener Nährmedien beruht, sind in der Regel das Ergebnis enzymatischer Aktivitäten bestimmter Organismen, die ihrerseits stark von der genauen Einhaltung spezifischer Bedingungen (z. B. Temperatur, pH-Wert, Substratkonzentrationen) abhängen.

[QUELLE: ISO 11133:2014, 3.3.2.3]

3.4

chromogenes selektives Nährmedium

chromogenes/fluorogenes Nährmedium, das zusätzlich selektiv wirksame Bestandteile enthält, die die in Untersuchungsmaterialien enthaltene Begleitflora vollständig oder teilweise hemmen und damit den gezielten Nachweis von Zielmikroorganismen unterstützen

[QUELLE: ISO 11133:2014, 3.3.4.6.3]

4 Kurzbeschreibung

Zu einer Wasserprobe von 100 ml oder einer auf 100 ml verdünnten Probe wird Trockenmedium gegeben und anschließend sanft geschüttelt, um eine angemessene Mischung zur Auflösung des Mediums sicherzustellen.

Nach dem Auflösen wird die vorbereitete Probe je nach der Anzahl der erwarteten Zielmikroorganismen aseptisch entweder in ein MPN-Tray mit 51 Reaktionsvertiefungen für die Zählung von bis zu 200 Mikroorganismen oder in ein MPN-Tray mit 97 Reaktionsvertiefungen für die Zählung von bis zu 2 419 Mikroorganismen je 100 ml gegeben [1].

Die Trays werden thermisch versiegelt und anschließend bei $(41 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ für (26 ± 2) h bebrütet.