

I. Feuerpfeil¹ · R. Szewzyk² · A. Hummel¹

¹Umweltbundesamt, Bad Elster · ²Umweltbundesamt, Berlin

Die mikrobiologischen Nachweisverfahren der neuen Trinkwasserverordnung (TrinkwV 2001)

Zur Bestimmung der mikrobiologischen Parameter nach § 15 Abs.1 TrinkwV 2001 [1] sind die in der Anlage 5 Nr. 1. angegebenen Nachweisverfahren als Referenzverfahren vorgegeben. Diese Verfahren sind prinzipiell andere als die in der TrinkwV 1990 [2] angegebenen.

Während in der TrinkwV 1990, Anlage 1, Flüssigkeitsanreicherungsverfahren zum Nachweis der mikrobiologischen Parameter vorgeschrieben waren, sind die neuen Referenzverfahren Membranfiltrationsverfahren (mit Ausnahme der Bestimmung der Koloniezahlen).

Beide Verfahren – Anreicherung von Mikroorganismen durch Wachstum in einem flüssigen Nährmedium bzw. durch Filtration eines bestimmten Wasservolumens durch ein Membranfilter – haben Vorteile, aber auch Nachteile.

In der Flüssigkeitsanreicherung (ohne selektive Zusätze) haben durch Aufbereitung und Desinfektion „geschädigte“ Mikroorganismen Wachstumsvorteile. Auch Wässer mit hohem Trübstoffgehalt sind gut zu untersuchen. Nachteilig bei diesem Verfahren sind die relativ langen Bearbeitungszeiten und aufwendige Methoden zur Quantifizierung (Titerbestimmung, Bestimmung der MPN-Zahl), wenn das Ausmaß der Verunreinigung, d. h. eine bestimmte Anzahl von Mikroorganismen aus der Wasserprobe, bestimmt werden soll.

Die Vorteile der Membranfiltrationsverfahren nach der neuen TrinkwV 2001 sind schnellere Bearbeitungszeiten und eine einfache Quantifizierung durch Auszählen der Zielorganismen auf dem Membranfilter. Nachteilig wirkt sich ins-

besondere beim Einsatz von wenig selektiven Agarmedien aus, dass die hohe Begleitflora (z. B. bei Untersuchungen von Rohwässern, bei Wässern aus der Aufbereitung oder generell stärker kontaminierten Proben) den Filter „überwuchert“. Dann ist die Anzahl der Mikroorganismen in der Probe, wenn überhaupt, erst nach Untersuchung mehrerer Verdünnungsstufen anzugeben, da bei mehr als 200 Kolonien auf einem Membranfilter eine differenzierte Auswertung nicht mehr möglich ist (ISO CD 8199) [3]. Das Ergebnis kann auch negativ beeinflusst werden, wenn das untersuchte Wasser viele Trübstoffe aufweist, welche die Filterporen zusetzen können.

Die Vorgabe von quantitativen Referenzverfahren (Membranfiltrationsverfahren) in der neuen TrinkwV 2001 bedeutet nicht, dass die Nachweise nach einer quantitativen Methode erfolgen müssen. Auch weiterhin können P/A (presence/absence)-Verfahren eingesetzt werden, sofern ihre Gleichwertigkeit mit der Referenzmethode nachgewiesen wurde.

In der TrinkwV 2001 sind folgende mikrobiologische Nachweisverfahren (Anlage 5 Nr. 1., zu § 15 Abs. 1) als Referenzverfahren zur Bestimmung der mikrobiologischen Parameter (Anlage 1, Teil I und Teil II, zu § 5 Abs. 2 und 3) und Indikatorparameter (Anlage 3, zu § 7) angegeben:

E.coli/coliforme Bakterien: DIN EN ISO 9308–1 [4],
Enterokokken: DIN EN ISO 7899–2 [5],
Pseudomonas aeruginosa: DIN EN 12780 [6],

Bestimmung kultivierbarer Mikroorganismen – Koloniezahl bei 22°C: nach Anlage 1 Nr. 5 TrinkwV 1990 oder nach DIN EN ISO 6222 [7].

Bestimmung kultivierbarer Mikroorganismen – Koloniezahl bei 36°C: nach Anlage 1 Nr. 5 TrinkwV 1990 oder nach DIN EN ISO 6222.

Clostridium perfringens (einschließlich Sporen):

Das Verfahren ist in der TrinkwV 2001 beschrieben.

Die in der TrinkwV 2001 als Referenzverfahren angegebenen Normen sind vom Beuth-Verlag in Berlin [8] zu beziehen.

Das Nachweisverfahren für *Clostridium perfringens* aus Wasserproben wird derzeit bei ISO genormt. Die Norm wird voraussichtlich Ende des Jahres als Committee Draft (CD) vorliegen, so dass im Jahr 2003 ausschließlich nach dieser Norm zu arbeiten ist.

Nach § 15 Abs.1 können andere als die in Anlage 5 Nr. 1. bezeichneten mikrobiologischen Untersuchungsverfahren angewendet werden, wenn das Umweltbundesamt festgestellt hat, dass die mit ihnen erzielten Ergebnisse mindestens gleichwertig sind, wie die mit den vorgegebenen Referenzverfahren ermittelten Ergebnisse. Alternative, gleichwertige Verfahren werden vom Umweltbundesamt in einer Liste im Bundesgesund-

© Springer-Verlag 2002

Dr. Irmgard Feuerpfeil
Umweltbundesamt, Dienstgebäude Bad Elster,
Heinrich-Heine-Straße 12, 08645 Bad Elster
E-Mail: irmgard.feuerpfeil@uba.de

heitsblatt (Bundesgesundheitsblatt-Gesundheitsforschung-Gesundheitsschutz, Springer-Verlag) veröffentlicht, die bei Bedarf aktualisiert wird. Ein entsprechender Antrag auf Aufnahme eines alternativen Verfahrens in die Liste kann beim Umweltbundesamt gestellt werden. Anträge sind an die Abteilung „Trink- und Badebeckenwasserhygiene“ des Umweltbundesamtes, Fachgebiet II 4.6 (Leitung Dr. I. Feuerpfeil) in Bad Elster zu richten [9].

Vergleichsuntersuchungen können nur mit solchen Nachweisverfahren durchgeführt werden, von denen die Verfahrenskenndaten bekannt sind (DINV ENV ISO 13843 [10]). Bei Vorliegen eines genormten Nachweisverfahrens wird davon ausgegangen, dass mit diesem Verfahren die Zielorganismen mit hinreichender Präzision und Genauigkeit nachgewiesen werden können.

E.coli/coliforme Bakterien

Nach der DIN EN ISO 9308-1 werden *E. coli* und coliforme Bakterien durch Membranfiltration, Bebrütung auf Laktose-TTC-Agar mit Tergitol und nachfolgende Bestätigungstests nachgewiesen. Da dieser Agar sehr sensitiv ist, eignet sich das Nachweisverfahren nur für Trinkwasseruntersuchungen mit geringer Begleitflora.

Die Definition von *E. coli* nach der TrinkwV 1990, „Laktosefermentation zu Säure und Gas, negative Oxidasereaktion, positive Indolbildung, negative Citratreaktion und Fermentation von Glukose oder Mannit zu Säure und Gas bei 44°C“, wird bei Verwendung der nach der neuen Trinkwasserverordnung vorgeschriebenen Referenzmethode DIN EN ISO 9308-1 durch die Definition „Säurebildung durch Laktosefermentation (Besitz des Enzyms β -Galaktosidase), negative Oxidasereaktion und positive Indolbildung bei 44°C“ ersetzt. Die Gasbildung wird also nicht mehr als notwendiges Merkmal zur Charakterisierung von *E. coli* herangezogen. Damit werden nach der neuen Trinkwasserverordnung auch anaerogene *E.-coli*-Stämme erfasst, dies kann zu einer Erhöhung der positiven Nachweise für *E. coli* führen.

Auch für die Bestimmung der coliformen Bakterien fällt das Merkmal „Gasbildung“ weg. Coliforme Bakterien werden danach durch „Säurebildung durch Laktosefermentation (Besitz des

Enzyms β -Galaktosidase) sowie durch negative Oxidasereaktion“ definiert. Auch bei diesem Parameter ist aufgrund der neuen Definition mit einem Anstieg an positiven Nachweisen durch anaerogene coliforme Bakterien zu rechnen.

Im Rahmen eines DIN-Arbeitskreises wurden bereits Vergleichsuntersuchungen des Verfahrens nach TrinkwV 1990, abgeleitet von DIN 38411-T.6 [11], mit dem neuen Referenzverfahren nach TrinkwV 2001 für Trinkwässer, Brunnenwässer, Grundwässer und Oberflächenwässer durchgeführt. Die vorliegenden Ergebnisse lassen keine endgültige Bewertung der Gleichwertigkeit zu. Da in Deutschland durch das Verfahren nach TrinkwV 1990, Flüssigkeitsanreicherung in Laktosebouillon, die hygienische Sicherheit bei der Trinkwasserüberwachung bisher gewährleistet wurde und außerdem in vielen Laboratorien jahrzehntelange gute Erfahrungen mit diesem Verfahren vorliegen, wird das Umweltbundesamt im Jahr 2003 weitere Untersuchungen zur Gleichwertigkeit koordinieren.

Die Bestimmung von *E. coli* und coliformen Bakterien nach TrinkwV 2001 ist außerdem mit dem sog. Colilert®-18/Quanti-Tray®-Verfahren möglich, da für dieses Verfahren die Gleichwertigkeit zur DIN EN ISO 9308-1 nachgewiesen wurde. Der Nachweis von *E. coli* erfolgt bei diesem Verfahren mittels eines fluorogenen Substrats, das durch das Enzym β -D-Glukuronidase gespalten werden kann. Coliforme Bakterien werden über ein chromogenes Substrat, das durch das Enzym β -D-Galaktosidase gespalten werden kann, nachgewiesen. Die Quantifizierung geschieht mithilfe eines mit Vertiefungen versehenen Reaktionssystems (zum einmaligen Gebrauch) durch Ermittlung der MPN-Zahl.

Enterokokken

Mit dem Begriff „Fäkalstreptokokken“ aus der TrinkwV 1990 wurde eine Vielzahl verschiedener Streptokokkenarten, die sich durch den Besitz des so genannten Lancefield-Gruppen-Antigens D auszeichnen (so genannte D-Streptokokken), erfasst. Neuerdings fasst man die meisten Arten zu einer Gattung *Enterococcus* zusammen, die im Wesentlichen die Arten *E. hirae*, *E. durans*, *E. faecalis* und *E. faecium* beinhaltet. Diese werden als intestinale Enterokokken bezeichnet. Deshalb wird der Parameter in der neuen

Trinkwasserverordnung als „Enterokokken“ und nicht mehr mit dem alten Begriff „Fäkalstreptokokken“ bezeichnet.

Nach der DIN EN ISO 7899-2 werden intestinale Enterokokken durch Membranfiltration, Bebrütung auf Agar nach Slanetz und Bartley und nachfolgende Bestätigung auf Galle-Äsculin-Azid-Agar nachgewiesen. Dabei wird die Fähigkeit der Enterokokken zur Reduktion von TTC (Triphenyltetrazoliumchlorid), zur Äsculinhydrolyse sowie ihre Resistenz gegen Rindergalle (Hemmung der Begleitflora) ausgenutzt.

Vergleichsuntersuchungen [12] zwischen diesem Referenzverfahren und dem Verfahren nach der TrinkwV 1990 mit Azid-Glukose-Bouillon haben gezeigt, dass mit dem Referenzverfahren bessere Ergebnisse, auch in kürzerer Zeit, zu erzielen sind. Ähnliche Ergebnisse wurden durch Auswertung von Ringversuchsdaten gewonnen. Daher wird die Aufnahme dieses Verfahrens in die TrinkwV 2001 begrüßt.

Pseudomonas aeruginosa

Das Nachweisverfahren für *Pseudomonas aeruginosa* aus Wasserproben nach TrinkwV 2001, Anlage 1, Teil II, ist ebenfalls ein Membranfiltrationsverfahren. Es unterscheidet sich prinzipiell vom Verfahren nach DIN 38411-T.8 [13] durch den ersten Anreicherungsschritt. Nach dem Verfahren nach DIN 38411-T.8 erfolgt die Anreicherung in Malachitgrün-Pepton-Bouillon, nach DIN EN 12780 wird das Filter nach Filtration der Probe direkt auf ceftrimidhaltigen Agar (CN-Agar) aufgelegt. Auf diesem Agar wächst *Pseudomonas aeruginosa* mit typischer Farbstoffbildung bzw. Fluoreszenz. Weitere, unter Umständen notwendige Bestätigungsschritte zur Artbestimmung sind bei beiden Normen vom Nachweisprinzip her ähnlich. Vergleichsuntersuchungen zwischen „altem“ und „neuem“ Verfahren wurden bisher nicht durchgeführt.

Koloniezahlbestimmung

Die Bestimmung der Koloniezahlen ist aus gesundheitlichen, aber auch aus aufbereitungsstechnischen Aspekten zur Beurteilung der Wasserqualität in der TrinkwV 2001 beibehalten worden (Anlage 3, lfd. Nr. 9 und 10, zu § 7).

Da im Rahmen der internationalen Normung das alte DIN-Verfahren (DIN

38411-T.5 [14]) durch die neue DIN EN ISO 6222 zur Bestimmung der Koloniezahlen ersetzt und zusätzlich aus der EU-Richtlinie „Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch“ [15] die Anforderung „ohne anormale Veränderung“ bei Anwendung des neuen Verfahrens in die TrinkwV 2001 übernommen wurde, gab es große Probleme bei der Beurteilung der durch die jeweiligen Verfahren erzielten unterschiedlichen Werte.

Vergleichsuntersuchungen beider Methoden ergaben, dass vor allem bei den Ergebnissen der Bebrütung bei 20°C (ehemalige DIN 38411-T.5) bzw. 22°C (DIN EN ISO 6222) erhebliche Unterschiede messbar waren, insbesondere bei Rohwasseruntersuchungen und Wasserproben der Trinkwasseraufbereitung. Die Ergebnisse bei einer Bebrütung von 37°C (ehemalige DIN 38411-T.5) bzw. 36°C (DIN EN ISO 6222) waren dagegen in den meisten Fällen vergleichbar. Dies lässt vermuten, dass mit dem neuen Verfahren mehr Umweltbakterien erfasst werden, die an niedrigere Nährstoffkonzentrationen angepasst sind.

In der TrinkwV 2001 wird deshalb vorgegeben, dass bei Anwendung anderer Verfahren (z. B. nach DIN EN ISO 6222) für mindestens ein Jahr die Bestimmung der Koloniezahlen parallel nach dem Verfahren der TrinkwV 1990 (entspricht der ehemaligen DIN 38411-T.5) durchgeführt werden soll. Dies erleichtert die Beurteilung der zu erwartenden unterschiedlichen Werte im Sinne der Anforderung „ohne anormale Veränderung“. Nach Erheben vieler „doppelter“ Proben sollte es für jede Wasserversorgung möglich sein, eine „anormale“ Veränderung für die entsprechende Aufbereitung zu definieren.

Bei Untersuchung nur einer Wasserprobe und der Anwendung beider Verfahren kommt man allerdings bei der Bewertung der (erwartungsgemäß ungleichen) Befunde in Schwierigkeiten. Auch deshalb ist es zu begrüßen, dass nach Anlage 5 Nr. 1 TrinkwV 2001 das „alte“ Verfahren nach TrinkwV 1990 mit der derzeitigen, in der Praxis bewährten Bewertung der Befunde (Anlage 3, Bemerkungen zu Nr. 9 und 10) eingesetzt werden kann.

Unabhängig vom angewandten mikrobiologischen Nachweisverfahren muss ein plötzlicher oder kontinuierlicher Anstieg der Koloniezahlen unverzüglich der zuständigen Behörde gemeldet werden (Anlage 3, zu § 7 TrinkwV 2001).

Es soll noch darauf hingewiesen werden, dass bei Anwendung des Verfahrens nach TrinkwV 1990 die dort genannten Inkubationstemperaturen (20°C ± 2°C; 36°C ± 1°C) einzuhalten sind, obwohl die Parameter nach Anlage 3 (zu § 7) TrinkwV 2001 als „Koloniezahl bei 22°C“ bzw. „Koloniezahl bei 36°C“ bezeichnet werden.

Clostridium perfringens

In der TrinkwV 1990 sind auf Anweisung der zuständigen Behörde auch „sulfitreduzierende sporenbildende Anaerobier“ in 20 ml Wasserprobe zu untersuchen (§ 13 Abs. 1, 4.a). Mit dem in der o.g. Verordnung angegebenen Nachweisverfahren werden überwiegend Vertreter der Gattung *Clostridium* erfasst. Neben fäkalen Vertretern werden auch Bakterien nichtfäkalen Ursprungs nachgewiesen.

Im Allgemeinen wird davon ausgegangen, dass der Nachweis von Clostridien sporen aufgrund ihrer Resistenz auf eine auch schon länger zurückliegende Kontamination hinweist. Mit dem neuen Bestimmungsverfahren nach TrinkwV 2001 soll der Nachweis eines „rein fäkalen“ Vertreters der Clostridien, *Clostridium perfringens* einschließlich Sporen, erfolgen.

Clostridium-perfringens-Sporen sollen ähnlich umwelt- und chlorresistent wie z. B. Parasitendauerformen sein und sind deshalb in der EU-Richtlinie [15] als neuer „Indikator“ eingeführt und so in die TrinkwV 2001 übernommen worden (Anlage 3, lfd. Nr. 4, zu § 7). Im Falle der Trinkwasseraufbereitung aus Oberflächenwasser oder oberflächenwasserbeeinflussten Ressourcen ist der Parameter *Clostridium perfringens* (einschließlich Sporen) routinemäßig in 100 ml Wasserprobe zu untersuchen. Gemäß Anlage 4 TrinkwV 2001 muss *Clostridium perfringens* jedoch im Rahmen der periodischen Untersuchungen auch in nicht oberflächenwasserbeeinflusstem Grundwasser untersucht werden (nach Anlage 4, I.1., Anmerkung 2 „Sternchen“). Diese Forderung ist aus fachlicher Sicht nicht sinnvoll. Die zuständigen Gesundheitsämter können in diesen Fällen auf die Untersuchung von *Clostridium perfringens* verzichten.

Da zum Nachweis von *Clostridium perfringens* aus Wasserproben noch kein genormtes Verfahren vorliegt, ist in der EU-Richtlinie und der TrinkwV 2001 ein

Verfahren in Textform zitiert. Dieses Verfahren wurde im Bereich der internationalen Normungsaktivitäten mit verschiedenen Nachweisverfahren, vorwiegend aus dem Lebensmittelbereich, verglichen. Im Ergebnis dieser Vergleiche wurde in die noch in Bearbeitung befindliche Norm ISO WD 6461-2 statt des m-CP-Agars ein anderes selektives Medium, der Tryptose-Sulfit-Cycloserin(TSC)-Agar, aufgenommen [16]. Dieser wird auch in der Lebensmittelmikrobiologie zum Nachweis von *Clostridium perfringens* herangezogen. Durch Bestätigungstests der auf diesem Agar typisch gewachsenen Kolonien wird *Clostridium perfringens* nachgewiesen. Nach Fertigstellung der Norm (ISO 6461-2, Membranfiltration auf TSC-Agar) soll sie den in der EU-Richtlinie und in der TrinkwV 2001 angegebenen Verfahrenstext ersetzen.

Auswertung quantitativer Ergebnisse

Für alle Referenzverfahren gilt, dass zur Auswertung die Berechnung der Anzahl der Mikroorganismen in der Probe nach der ISO CD 8199 [3] vorgenommen werden muss. Diese Norm wird derzeit aktualisiert; das Prinzip der Berechnung eines Ergebnisses aus den abgelesenen Anzahlen an Kolonien auf den Agarplatten wird davon aber unberührt bleiben.

Bei Verwendung nur einer Verdünnungsstufe bzw. bei Filtration von ausschließlich 100 ml Probe ist eine Berechnung nach unten angegebener Formel nicht notwendig. Die Formel wird angewendet für die Auswertung der abgelesenen Ergebnisse, wenn unterschiedliche Verdünnungen einer Probe angesetzt bzw. unterschiedliche Volumina einer Probe filtriert werden.

Die allgemeine Formel zur Berechnung der Konzentration in KBE (koloniebildende Einheiten) pro Probevolumen (normalerweise 100 ml oder 1 ml) lautet dann:

$$C_s = \frac{Z}{A} \times V_s$$

wobei

C_s die Anzahl der KBE pro Referenzvolumen V_s der Probe ist;

Z die Summe aller gezählten Kolonien auf allen (auswertbaren) Platten von allen Verdünnungsstufen d_1, d_2, \dots, d_i ist; V_s das Bezugsvolumen ist;

A das Gesamtvolumen der ursprünglichen Probe, das auf die gezählten Platten aufgebracht wurde, ist.
A wird folgendermaßen berechnet:

$$A = (n_1 V_1 d_1) + (n_2 V_2 d_2) + \dots + (n_i V_i d_i)$$

wobei

A das Gesamtvolumen der ursprünglichen Probe, das auf die gezählten Platten aufgebracht wurde, ist;
 n_1, n_2, \dots, n_i die Anzahl der Platten bei der Verdünnung d_1, d_2, \dots, d_i ist;
 V_1, V_2, \dots, V_i das auf die Platten aufgebrauchte Testvolumen bei der Verdünnung d_1, d_2, \dots, d_i ist;
 d_1, d_2, \dots, d_i die Verdünnung, die für das Testvolumen V_1, V_2, \dots, V_i verwendet wurde, ist ($d = 1$ für eine unverdünnte Probe, $d = 0,1$ für eine 1:10 Verdünnung, etc.).

Zwei Beispiele sollen diese kompliziert klingenden Formeln verdeutlichen:

A. Koloniezahlbestimmung pro ml

Ablesung:

Unverdünnt: Platte 1: 78 Kolonien, Platte 2: 104 Kolonien,

Verdünnung 10^{-1} : Platte 1: 10 Kolonien, Platte 2: 16 Kolonien

Berechnung:

$$Z = 78 + 104 + 10 + 16 = 208$$

$$V_s = 1 \text{ ml}$$

$$A = (2 \times 1 \times 1) + (2 \times 1 \times 0,1) = 2,2$$

$$C_s = (208 : 2,2) \times 1 = 94,5$$

Ergebnis (nach Rundung): $C_s = 95$ KBE pro ml

B. Koloniezahlbestimmung pro 100 ml

Ablesung:

Filtration von 100 ml: 45 Kolonien,

Filtration von 10 ml: 10 Kolonien

Berechnung:

$$Z = 45 + 10 = 55$$

$$V_s = 100 \text{ ml}$$

$$A = (1 \times 100 \times 1) + (1 \times 10 \times 1) = 110$$

$$C_s = (55 : 110) \times 100 = 50$$

Ergebnis: $C_s = 50$ KBE pro 100 ml

C. Berechnung der Anzahl der Zielorganismen pro Untersuchungsprogramm

Bei einigen Referenzverfahren sind weitere Tests zur Bestätigung charakteristischer Kolonien notwendig. Dabei sollen möglichst alle dieser Kolonien bestätigt werden. In einigen Normen ist eine Zahl

der zu bestätigenden Kolonien vorgegeben. Die Anzahl der Zielorganismen auf der Platte ist dann nach folgender Formel zu berechnen:

wobei

x die rechnerisch ermittelte Gesamtzahl der bestätigten Zielorganismen pro Platte ist;

k die Zahl der bestätigten, von n ausgewählten charakteristischen Kolonien ist;

n die Anzahl der zur Bestätigung ausgewählten charakteristischen Kolonien ist;

z die Anzahl aller charakteristischen Kolonien auf der Platte ist.

Beispiel:

Ablesung:

30 typische Kolonien (gelb auf TTC-Agar)

10 daraus ausgewählte Kolonien zur Bestätigung

5 bestätigte Kolonien

Berechnung:

$$x = (5 : 10) \times 30 = 15$$

Ergebnis:

$$x = 15 \text{ Kolonien pro Platte}$$

In der Formel $C_s = \frac{Z}{A} \times V_s$

wird dann Z durch X (die Summe aller x) ersetzt, um den Bezug zum Untersuchungsvolumen herzustellen.

Qualitätssicherung

Da die Überschreitung der in der TrinkwV 2001 geforderten Grenzwerte für mikrobiologische Parameter und Indikatorparameter weitreichende Konsequenzen in seuchenhygienischer und epidemiologischer sowie auch in finanzieller Hinsicht haben kann, erfordern die gemäß TrinkwV 2001 durchzuführenden mikrobiologischen Untersuchungen erhebliche Sachkunde und eine optimale Qualitätssicherung. In § 15 Abs. 4 TrinkwV 2001 sind deshalb Qualitätsanforderungen an Trinkwasseruntersuchungsstellen angeben. Hier wird erstmalig der Nachweis einer Akkreditierung der entsprechenden Laboratorien gefordert. Die Grundlagen zur Erlangung einer Akkreditierung sind der DIN EN ISO/IEC 17025 [17] zu entnehmen.

Hingewiesen werden muss auch auf die Tatsache, dass nach § 44 IfSG [18] für

die Bestimmung der Parameter *Pseudomonas aeruginosa* und *Clostridium perfringens* (und *Legionella* nach TrinkwV 2001 Anlage 4, I. 2) aus Wasserproben eine Erlaubnis zum Arbeiten mit diesen Mikroorganismen vorliegen muss. Für die Arbeiten zur Bestimmung der Koloniezahl, zum Nachweis von *E. coli* und coliformen Bakterien sowie der intestinalen Enterokokken ist eine Erlaubnis unseres Erachtens nicht erforderlich.

Literatur

1. Verordnung zur Novellierung der Trinkwasserverordnung (Trinkwasserverordnung – TrinkwV) vom 21. Mai 2001. BGBl I (2001):959–980
2. Verordnung über Trinkwasser und über Wasser für Lebensmittelbetriebe (Trinkwasserverordnung – TrinkwV) vom 5. Dezember 1990. BGBl I:2613–2629
3. ISO CD 8199 (2002) Water quality-General guide to the enumeration of microorganisms by culture. Beuth-Verlag, Berlin
4. DIN EN ISO 9308-1 (2001) Wasserbeschaffenheit – Nachweis und Zählung von *Escherichia coli* und coliformen Bakterien – Teil 1: Membranfiltrationsverfahren. Beuth-Verlag, Berlin
5. DIN EN ISO 7899-2 (2000) Wasserbeschaffenheit – Nachweis und Zählung von intestinalen Enterokokken – Teil 2: Verfahren durch Membranfiltration. Beuth-Verlag, Berlin
6. DIN EN 12780 (2002) Wasserbeschaffenheit – Nachweis und Zählung von *Pseudomonas aeruginosa* durch Membranfiltration. Beuth-Verlag, Berlin
7. DIN EN ISO 6222 (1999) Wasserbeschaffenheit – Quantitative Bestimmung der kultivierbaren Mikroorganismen – Bestimmung der Koloniezahl durch Einimpfen in ein Nähragarmedium. Beuth-Verlag, Berlin
8. Beuth-Verlag GmbH, Burggrafenstr. 6, 10787 Berlin, Postanschrift: Beuth-Verlag GmbH, 10772 Berlin
9. Mitteilung des Umweltbundesamtes nach Anhörung der Trinkwasserkommission des Umweltbundesamtes, Mikrobiologische Untersuchungsverfahren nach neuer Trinkwasserverordnung, Antrag auf Aufnahme alternativer Verfahren in die Liste des Umweltbundesamtes. Bundesgesundheitsblatt 3 (2002), S 311
10. DIN V ENV ISO 13843 (2001) Wasserbeschaffenheit – Richtlinie zur Validierung mikrobiologischer Verfahren. Beuth-Verlag, Berlin
11. DIN 38411-T.6 (1991) Mikrobiologische Verfahren – Nachweis von *Escherichia coli* und coliformen Keimen. Beuth-Verlag, Berlin
12. Heiber I, Frahm C, Obst U (1998) Vergleich von vier Nachweismethoden für Fäkalstreptokokken im Wasser. Zbl Hyg Umweltmed 20:357–369
13. DIN 38411-T.8 (1982) Mikrobiologische Verfahren – Nachweis von *Pseudomonas aeruginosa*. Beuth-Verlag, Berlin
14. DIN 38411 – T.5 (1971) Mikrobiologische Verfahren – Bestimmung der Koloniezahl. Beuth-Verlag, Berlin
15. EU-Richtlinie des Rates vom 3. November 1998 über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch (98/83/EG), Abl. EG Nr. L 330, S 32–54
16. ISO WD 6461-2 (2001) Water quality-detection and enumeration of *Clostridium perfringens* – Part 2: Method by membrane filtration. Arbeitspapier
17. DIN EN ISO/IEC 17025 (2000) Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien. Beuth-Verlag, Berlin
18. Gesetz zur Verhütung und Bekämpfung von Infektionskrankheiten des Menschen (Infektionsschutzgesetz – IfSG) vom 20.7.2000. BGBl I:1045–1077