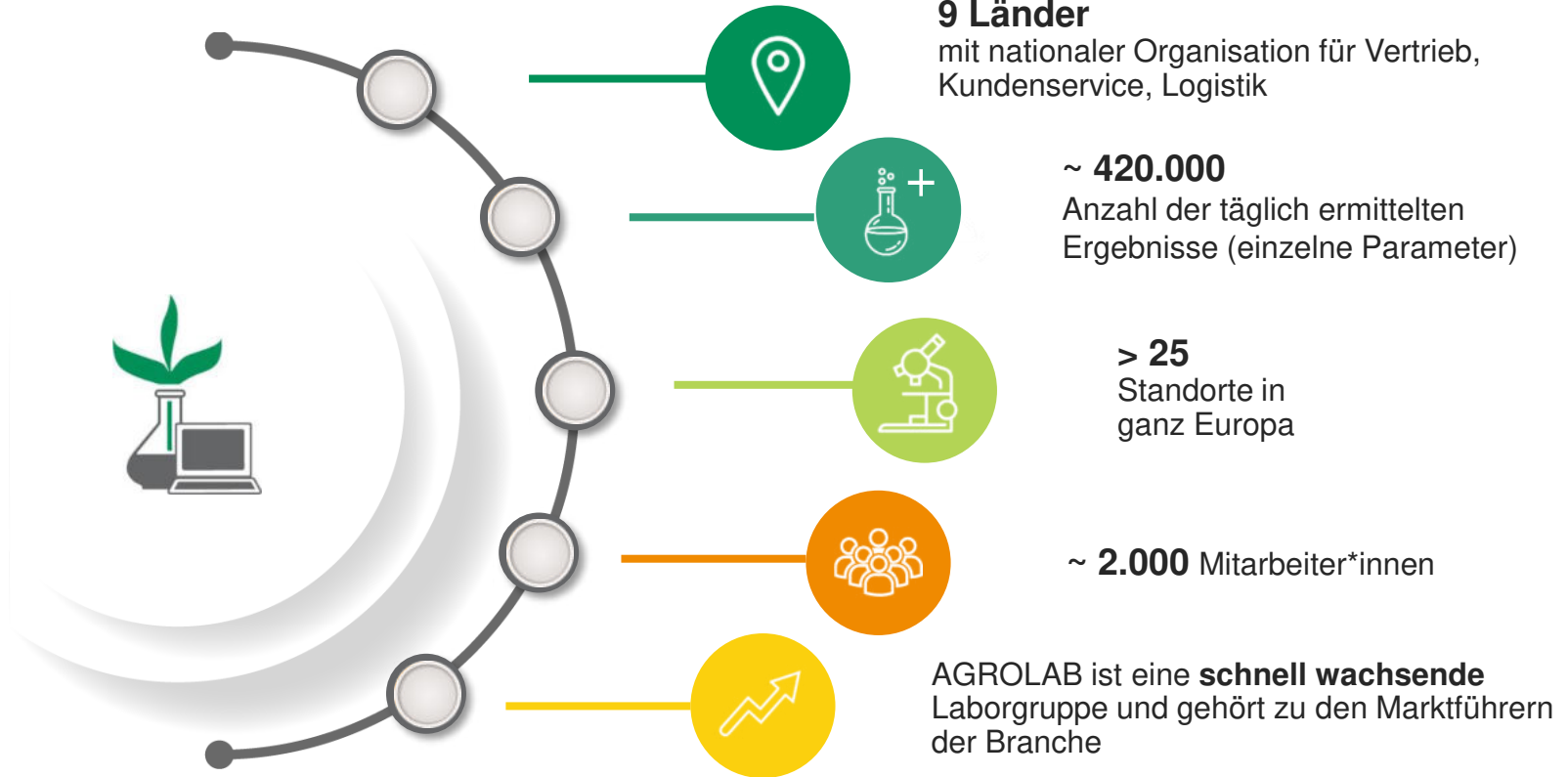




**Alternative
Bestätigungen
in der Mikrobiologie
für regulatorische
Untersuchungen nach
TrinkwV**





AGROLAB GROUP



INTERNATIONAL EXPERIENCE

AGROLAB works
for its customers nearly
everywhere in

EUROPE

-  Agricultural laboratory
-  Environmental laboratory
-  Food and feed laboratory
-  Further contact persons



AGENDA

1.
Alternative
Bestä-
tigungen

3.
Normung

5.
Weiteres
Vorgehen

2.
Vorhanden
Dokumente

4.
Wasser vs.
Lebensmittel

1. ALTERNATIVE BESTÄTIGUNGEN

ALTERNATIVE BESTÄTIGUNGSVERFAHREN

Fettsäurenanalyse

Gen-Sonden / Fluoreszenzfärbungen

IR-Spektroskopie

MALDI-TOF

PCR (klassische PCR, Realtime-PCR)

Sequenzierung

etc.



GRÜNDE FÜR ALTERNATIVE METHODEN





NORMEN MIT BESTÄTIGUNGSSCHRITTEN

***E. coli* & Coliforme Bakterien**

DIN EN ISO 9308-1

Intestinale Enterokokken

DIN EN ISO 7899-2

Pseudomonas aeruginosa

DIN EN ISO 16266

Clostridium perfringens

DIN EN ISO 14189

Legionella spec.

ISO 11731 und DIN EN ISO 11731

LISTE DER NACHWEISVERFAHREN

Liste alternativer mikrobiologischer Nachweisverfahren (nach § 15 Abs. 1 TrinkwV 2001)

Umwelt
Bundesamt

3. Änderungsmitteilung

Stand: Juni 2015

Parameter	Referenzverfahren	alternatives Verfahren
Escherichia coli und coliforme Bakterien	DIN EN ISO 9308-1 Anlage 5, Teil I, Buchstabe a) TrinkwV 2001	Colilert®-18/Quanti-Tray®*
Enterokokken	DIN EN ISO 7899-2 Anlage 5, Teil I, Buchstabe b) TrinkwV 2001	Chromocult®-Enterokokken-Agar Enterolert®-DW/Quanti-Tray®*
Pseudomonas aeruginosa	DIN EN ISO 16266 Anlage 5, Teil I, Buchstabe c) TrinkwV 2001	Pseudalert®/Quanti-Tray®*
Koloniezahl bei 22 °C und 36 °C	DIN EN ISO 6222 Anlage 5, Teil I, Buchstabe d), Doppelbuchstabe aa) TrinkwV 2001 oder Anlage 5, Teil I, Buchstabe d) Doppelbuchstabe bb) TrinkwV 2001 ^b	-
Clostridium perfringens (einschließlich Sporen)	Anlage 5, Teil I, Buchstabe e) TrinkwV 2001	-
Legionella spec.	ISO 11731 und DIN EN ISO 11731-2 Anlage 5, Teil I, Buchstabe f) TrinkwV 2001 unter Berücksichtigung ggf. vorliegender Empfehlungen des UBA	-

* US-Patent Nr.: 5,610,029 vom 11.3.1997; 5,518,892 vom 21.5.1996; 5,620,895 vom 15.4.1997; 5,753,456 vom 19.5.1998.

^b Es sind die in den jeweiligen Referenzverfahren angegebenen Bebrütungstemperaturen einzuhalten. Bei der Dokumentation der Ergebnisse ist in jedem Fall das eingesetzte Verfahren mit anzugeben.

Alle zitierten Normen sind vom Beuth-Verlag GmbH, 10772 Berlin, zu beziehen.



ALTERNATIVEN NACHWEISVERFAHREN

Änderungen:

- Nährmedium
- Andere Methodik (z.B. MPN statt Filtration)

⇒ Der „primäre“ Zählwert kann beeinflusst sein

DIN EN ISO 17994

Wasserbeschaffenheit - Anforderungen für den Vergleich der relativen Wiederfindung von Mikroorganismen durch zwei quantitative Verfahren

ALTERNATIVEN BESTÄTIGUNGSVERFAHREN

- ⇒ Der „primäre“ Zählwert wird unverändert ermittelt:
 - Gleiche Medium
 - Gleiche Methodik

- ⇒ Bestätigungsverfahren wird ersetzt
 - ⇒ **Vorgaben???**
 - ⇒ **Möglichkeiten???**

Albert Einstein:

„Die Definition von Wahnsinn ist: immer wieder das Gleiche zu tun und andere Ergebnisse zu erwarten.“

2. VORHANDENE DOKUMENT



WELCHE DOKUMENTE HABEN WIR?



DIN EN ISO 17994

Anwendungsbereich schließt diese Norm zur Bestätigung aus



DIN EN ISO 16140-6

Mikrobiologie der Lebensmittelkette -
Verfahrensvalidierung - Teil 6: Arbeitsvorschrift für
die Validierung von (urheberrechtlich geschützten)
Alternativverfahren für die Bestätigungs- und
Typisierungsprüfung



**ALLE Dokumente passen nicht zu unserer
Fragestellung.**

ZUSAMMENFASSUNG



Neue Technologien

Schneller
Einfacher
Robuster

Viele Interessante
Möglichkeiten



Validierungsprotokolle

Keine für Wasser

Man kann nur „in Anlehnung
an X“ validieren

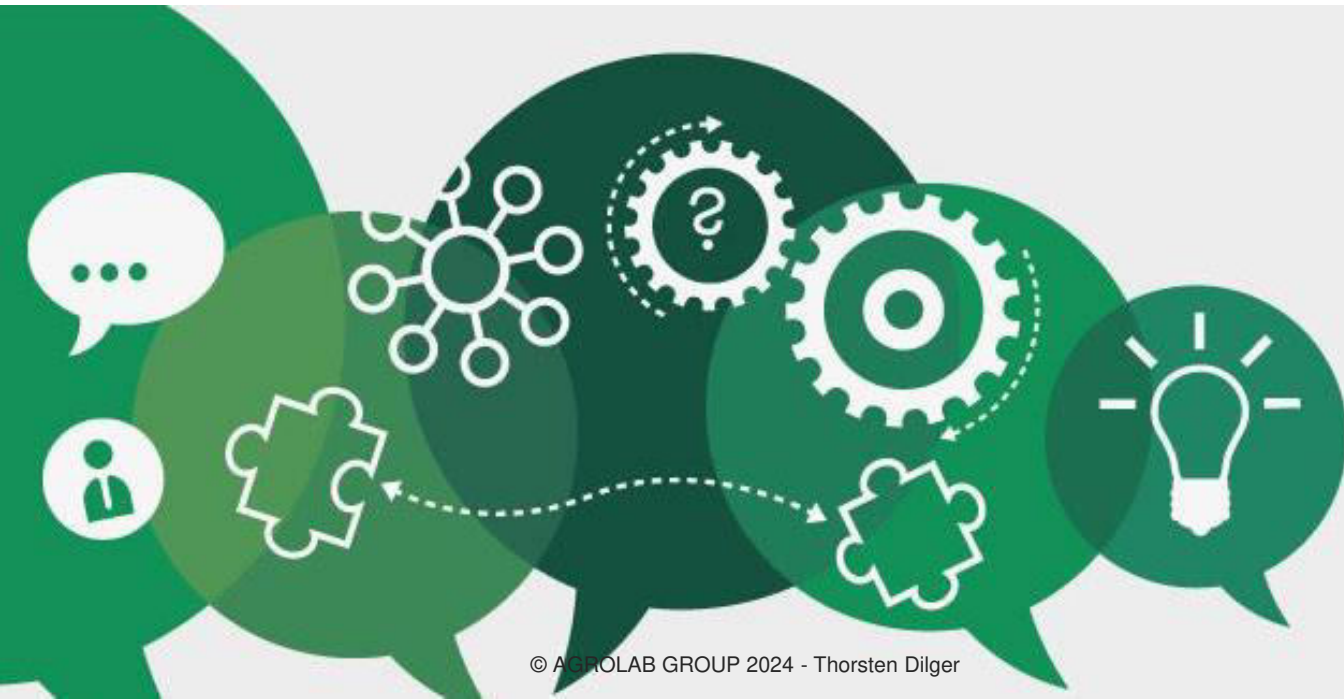


Rechtsicherheit

KEINE
RECHTSICHERHEIT

Keine Möglichkeit einer
Anerkennung

UND NUN???



3. NORMUNG



**NORMUNG WURDE
BEANTRAGT**



**AUSSCHÜSSE HABEN
ZUGESTIMMT**



ARBEITSKREIS GEGRÜNDET

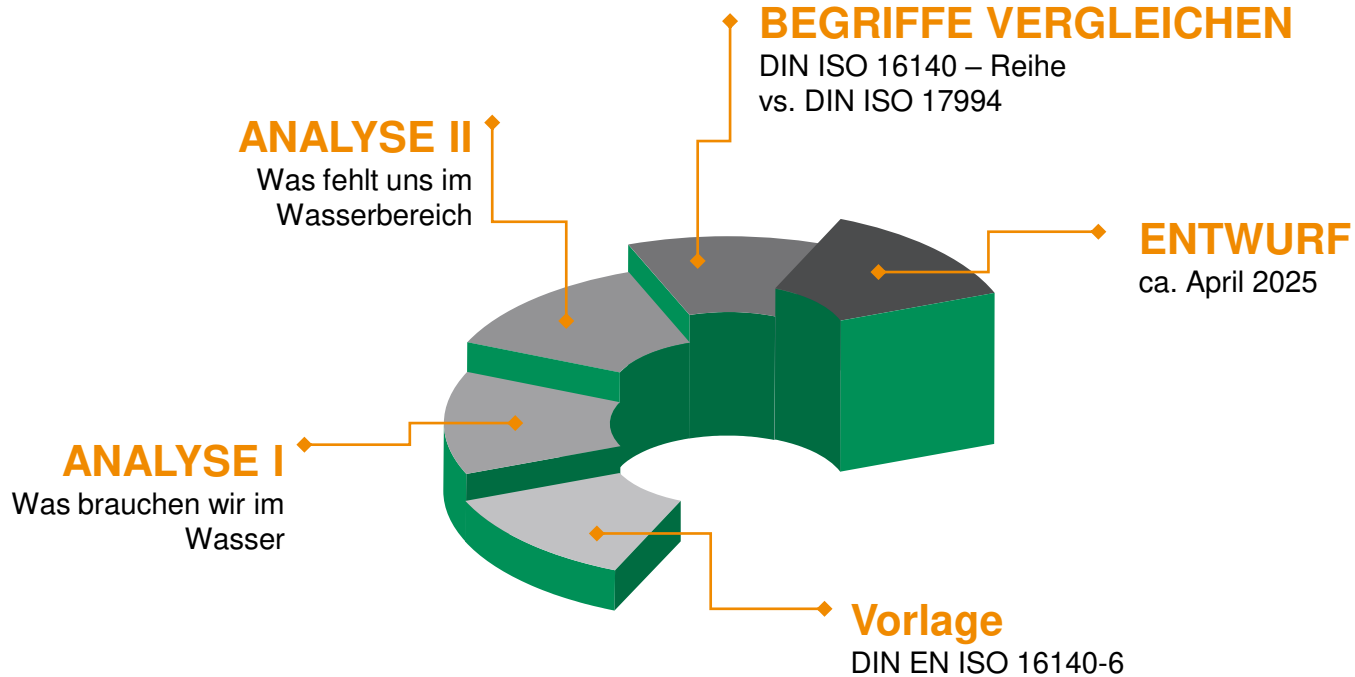
NA 119-01-03-03-03 AK
**„Alternative Bestätigungs-
reaktionen in der
Mikrobiologie“**



ARBEITSAUFTRAG

- Erstellung einer nationalen Norm, die als Internationale Norm übernommen werden kann
- Universell anwendbare Norm für alternative Bestätigungsverfahren

VORGEHENSEISE IN DER ARBEITSGRUPPE



DIN 38411–25

Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-,
Abwasser- und Schlammuntersuchung -
Mikrobiologische Verfahren (Gruppe K) -
Teil 25:

Arbeitsvorschrift für die Validierung von
Alternativen Bestätigungsverfahren und
für Verifizierungen von validierten
alternativen Bestätigungsverfahren (K 25)



JETZT ALLES GEREGELT?

- Klare Arbeitsanweisung
- Vorgaben

ABER:

- In den Normen gibt es (noch?) keine Öffnungsklauseln.
- Daher muss die Gleichwertigkeit anerkannt werden
- Bzw. Öffnungsklauseln in die Normen eingefügt werden



4. WASSER VS. LEBENSMITTEL

Wie gehen andere Bereiche mit der Fragestellung um?

LEBENSMITTELBEREICH

Öffnungsklauseln in den Normen



DIN EN ISO 10272-1:2023-07 (Campylobacter):

„Als Alternative Bestätigung... können andere Untersuchungen angewendet werden, vorausgesetzt, die Eignung des alternativen Verfahrens ist verifiziert.“



DIN EN ISO 6579-1:2020-08 (Salmonellen):

„ANMERKUNG 2 Alternative Verfahren können zur Bestätigung der Isolate als Salmonella spp. angewendet werden, vorausgesetzt, die Eignung des alternativen Verfahrens ist verifiziert (AFNOR Validierung liegt vor.)“

WASSER

DIN EN ISO 11731:2019-03 Legionellen:

„ANMERKUNG Alternative Verfahren können eingesetzt werden, um die Isolate als Legionella-Spezies zu bestätigen, sofern die Eignung des alternativen Verfahrens bestätigt wurde“

WARUM KANN DIESE KLAUSEL NICHT GENUTZT WERDEN?

- Anmerkung sind nicht normativ
- Unklar, wie eine Eignung gezeigt werden kann



5. WEITERES VORGEHEN

DIE NÄCHSTEN SCHRITTE

Herstelleraufgaben

ANWENDUNG

Die Verfahren können gemäß Beschied in den Laboren angewendet werden.

GLEICHWERTIGKEIT?

Ggf. wird eine Gleichwertigkeit festgestellt



DIN 38411-25

wird veröffentlicht

VALIDIERUNGSDATEN

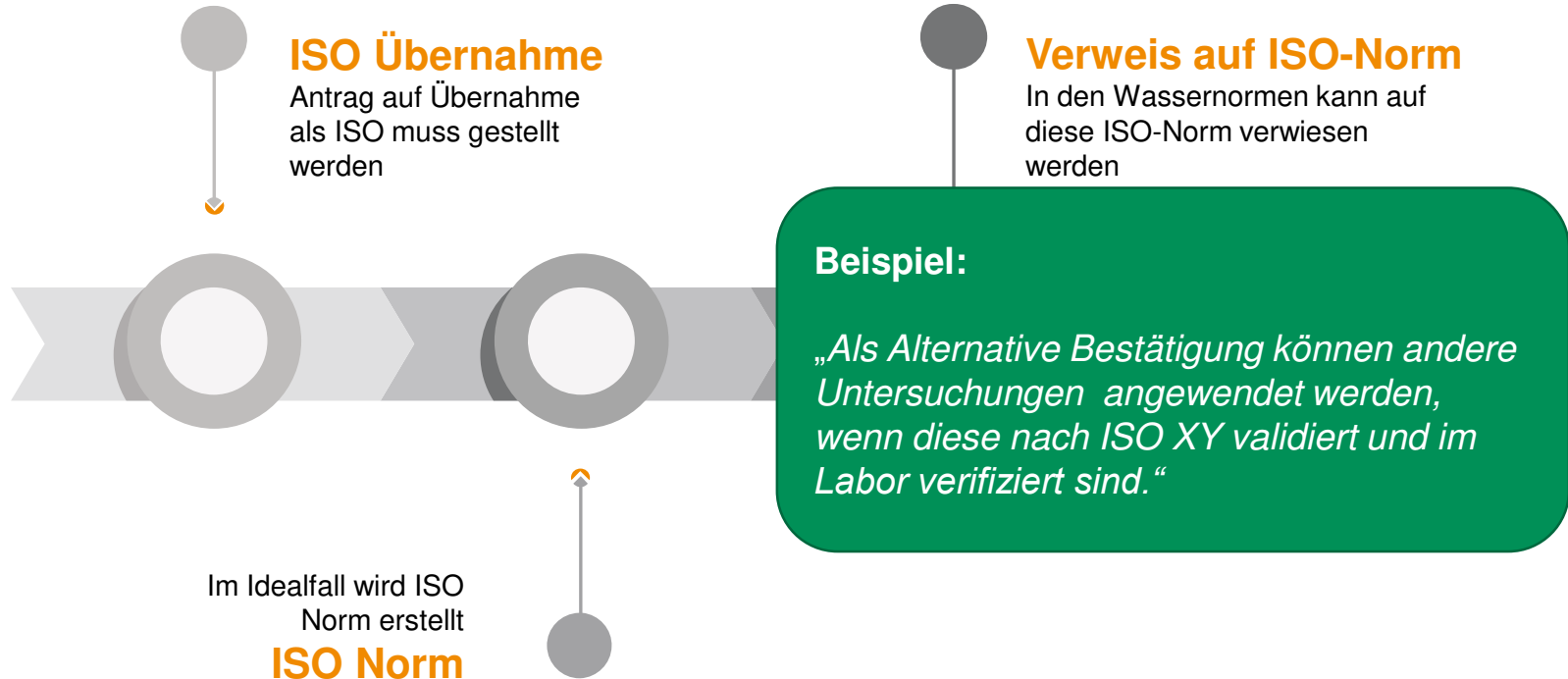
Hersteller von „Alternativen Bestätigungsverfahren“ erheben die Validierungsdaten nach der Norm

UBA-ANTRAG (?)

Mit den Daten wird eine Gleichwertigkeit beim UBA beantragt, wenn keine Öffnungsklausel vorhanden

DIE NÄCHSTEN SCHRITTE

Normung



WAS BISHER MÖGLICH IST:

Wenn nicht in der Norm
=> Validierung

Gesetzlich geregelten Bereich

- Alternative Bestätigungen als ZUSATZ möglich
- Ergebnis der Norm zählt

Nicht geregelter Bereich

- Alternative Bestätigungen möglich (wenn in der Norm erlaubt)
- als ZUSATZ möglich

Hausmethoden

- Zur Bestätigung und Identifikation möglich



AGROLAB GROUP

Your labs. YOUR Service



**Thank you for your
attention!**

