

Inhaltsverzeichnis

Geleitwort XV

Autorenverzeichnis XVII

1	Allgemeines	1
	<i>Konrad Botzenhart und Irmgard Feuerpfeil</i>	
1.1	Zielsetzungen	1
2	Methodische Grundlagen	5
	<i>Benedikt Schaefer</i>	5
2.1	Reinigen und Sterilisieren der Labormaterialien	5
	<i>Benedikt Schaefer</i>	
2.1.1	Reinigung	6
2.1.2	Heißluftsterilisation	6
2.1.3	Lagerung von sterilen Labormaterialien	7
2.2	Herstellung und Aufbewahrung von Nährböden	7
	<i>Benedikt Schaefer</i>	
2.2.1	Fertignährböden	8
2.2.2	Zubereitung	8
2.2.3	Sterilisation	9
2.2.4	Lagerung der gebrauchsfertigen Nährböden	9
2.2.5	Konfektionierung	10
2.3	Entsorgung	10
	<i>Benedikt Schaefer</i>	
	Literatur zu Kapitel 2 bis 2.3	11
2.4	Entnahme und Transport von Proben	12
	<i>Peter Schindler</i>	
2.4.1	Allgemeines	12
2.4.2	Probenahmegeräte und Zubehör	13
2.4.3	Probenahmebegleitschein	13
2.4.4	Entnahme von Trinkwasser	14
2.4.5	Entnahme von sonstigen Wasserproben	17
2.4.6	Probentransport	18
	Literatur	19

2.5	Mikrobiologisches Messen 19 <i>Steffen Uhlig</i>
2.5.1	Einführung 19
2.5.2	Modellierung des Messfehlers 20
2.5.3	Gussplattenverfahren 23
2.5.4	Membranfilterverfahren 24
2.5.5	Most Probable Number-Methode (MPN-Verfahren) 26
2.5.6	Titer-Methode 30 Literatur 30
2.6	Vergleichbarkeit mikrobiologischer Messmethoden 30 <i>Steffen Uhlig</i> Literatur 32
2.7	Nationale/internationale Normung 32 <i>Regine Szewzyk</i>
2.7.1	Nationale Normung 32
2.7.2	Internationale Normung 33 Literatur 37
3	Qualitätssicherung 39 <i>Benedikt Schaefer</i> 39 Literatur 41
3.1	Laborakkreditierung <i>Haribert Schickling und Jürgen-M. Schulz</i> 41
3.1.1	Ablauf der Akkreditierung 47
3.1.1.1	Antragsverfahren 48
3.1.1.2	Begutachtungsverfahren 49
3.1.1.3	Akkreditierung 49
3.1.1.4	Überwachungsverfahren 50
3.1.2	Anforderungen nach ISO/IEC 17025 50
3.1.3	Schwerpunkte der Begutachtung 54
3.1.3.1	Interne Audits und Managementbewertungen 54
3.1.3.2	Zuverlässiger Umgang mit Referenzstämmen 54
3.1.3.3	Methodenvalidierung 55
3.1.3.4	Eignungsprüfung 56
3.1.3.5	Probenahme 56
3.1.3.6	Unparteilichkeit 57
3.1.3.7	Unterauftrag 58
3.1.4	Hinweis 58
3.2	Mikrobiologische Ringversuche zur externen Qualitätskontrolle im Rahmen der Trinkwasserverordnung 2001 59 <i>Ernst-August Heinemeyer und Katrin Luden</i>
3.2.1	Einleitung 59
3.2.2	Qualität der Präparation im Vergleich 61
3.2.3	Präparation der Proben, Versendung, Auswertung 63
3.2.4	Ergebnisse der teilnehmenden Labore 64

3.2.5	Probleme	65
3.2.6	Coliforme Bakterien und E. coli	65
3.2.7	Clostridium perfringens	67
3.2.8	Legionella	69
3.2.9	Diskussion	70
3.2.10	Ringversuche und Messunsicherheit	71
3.2.11	Top-down-Ansatz (Beispiel: Nachweis von Legionella)	72
3.2.12	Bottom-up Ansatz – Messunsicherheit nach VAM	74
3.2.13	Messunsicherheit nach EUROLAB	75
3.2.14	Folgerungen	76
	Literatur	77

4 Bakteriologische Wasseruntersuchung 79

4.1	Koloniezahl	79
	<i>Irmgard Feuerpfeil</i>	
4.1.1	Begriffsbestimmung	79
4.1.2	Anwendungsbereich	79
4.1.3	Nährböden	81
4.1.3.1	Nähragar	82
4.1.3.2	Hefeextraktagar (nach DIN EN ISO 6222, 1999)	82
4.1.4	Untersuchungsgang	82
4.1.5	Störungsquellen	83
4.1.6	Auswertung	84
4.1.7	Angabe der Ergebnisse	84
	Literatur	85
4.2	<i>E. coli</i> -coliforme Bakterien (einschließlich pathogener Varianten)	85
	<i>Peter Schindler</i>	
4.2.1	Begriffsbestimmung	85
4.2.2	Anwendungsbereich	87
4.2.3	Nährböden und Reagenzien	88
4.2.3.1	Nährböden und Reagenzien für Trinkwasser	88
4.2.3.2	Nährböden und Reagenzien zur Untersuchung von Mineral-, Quell- und Tafelwasser	90
4.2.3.3	Nährböden und Reagenzien für Schwimmbeckenwasser	92
4.2.3.4	Nährböden und Reagenzien für Oberflächenwasser	93
4.2.3.5	Nährböden und Reagenzien für sonstige Untersuchungen	93
4.2.4	Untersuchungsgang	93
4.2.4.1	Untersuchung von Trinkwasser nach TrinkwV 2001 mit dem Referenzverfahren mit Lactose-TTC-Agar durch Membranfiltration (nach DIN EN ISO 9308-1, 2001)	93
4.2.4.2	Untersuchung von Trinkwasser (TrinkwV 2001) mit dem anerkannten Alternativverfahren Colilert®-18/Quanti-Tray® mittels MPN-Flüssiganreicherung	99
4.2.4.3	Untersuchung von Mineral-, Quell- und Tafelwasser	103

4.2.4.4	Untersuchung von Schwimmbeckenwasser (nach DIN 19643, 1997) 106
4.2.4.5	Untersuchung von Badegewässern auf E. coli nach der EG-Richtlinie 2006/7/EG 106
4.2.4.6	Untersuchung von Oberflächengewässern auf Coliforme 108
4.2.4.7	Weitere Untersuchungsverfahren 109
4.2.4.8	Untersuchung sonstiger Proben 112
4.2.5	Störungsquellen 112
4.2.6	Auswertung 113
4.2.7	Angabe der Ergebnisse 113
4.2.8	Künftige Methoden 114 Literatur 114
4.3	Weitere Enterobakterien 116 <i>Peter Schindler</i>
4.3.1	Salmonellen 116
4.3.1.1	Begriffsbestimmung 116
4.3.1.2	Anwendungsbereich 117
4.3.1.3	Nährmedien und Reagenzien 117
4.3.1.4	Untersuchungsgang 123
4.3.1.5	Weitere Methoden 129
4.3.1.6	Störungsquellen 129
4.3.1.7	Auswertung 130
4.3.1.8	Angabe der Ergebnisse 130 Literatur 131
4.3.2	Yersinia 132 <i>Irmgard Feuerfeil</i>
4.3.2.1	Begriffsbestimmung 132
4.3.2.2	Anwendungsbereich 132
4.3.2.3	Nährböden und Reagenzien 133
4.3.2.4	Untersuchungsgang 136
4.3.2.5	Störungsquellen 139
4.3.2.6	Auswertung 140
4.3.2.7	Angabe der Ergebnisse 140 Literatur 141
4.4	Enterokokken 142 <i>Irmgard Feuerfeil</i>
4.4.1	Begriffsbestimmung 142
4.4.2	Anwendungsbereich 142
4.4.3	Nährböden 143
4.4.4	Untersuchungsgang 146
4.4.4.1	Nachweisverfahren nach Mineral- und Tafelwasserverordnung 147
4.4.4.2	Membranfiltration (Untersuchung von Trinkwasser) 149
4.4.5	Störungsquellen 153
4.4.6	Auswertung 154

4.4.7	Angabe der Ergebnisse	154
	Literatur	155
4.5	Clostridien	156
	<i>Annette Hummel</i>	
4.5.1	Begriffsbestimmung	156
4.5.2	Anwendungsbereich	156
4.5.3	Nährmedien und Reagenzien	158
4.5.4	Nachweismethode	161
4.5.4.1	Nachweisverfahren für sulfitreduzierende sporenbildende Anaerobier: Flüssigkeitsanreicherung und Membranfiltration	161
4.5.4.2	Nachweisverfahren für C. perfringens nach Trinkwasserverordnung 2001 (m-CP-Agar)	164
	Literatur	167
4.6	Pseudomonas aeruginosa	168
	<i>Konrad Botzenhart</i>	
4.6.1	Begriffsbestimmung	168
4.6.2	Anwendungsbereich	170
4.6.3	Nachweisverfahren nach DIN EN 12780 (2002)	171
4.6.3.1	Grundlagen	171
4.6.3.2	Nährmedien und Reagenzien	172
4.6.3.3	Untersuchungsgang	174
4.6.3.4	Zählung	176
4.6.3.5	Angabe der Ergebnisse und Untersuchungsbericht	176
4.6.4	Nachweisverfahren nach Mineral- und Tafelwasserverordnung	177
4.6.4.1	Grundlagen	177
4.6.4.2	Nährböden und Reagenzien	178
4.6.4.3	Untersuchungsgang	179
4.6.5	Störungsquellen, zusätzliche Hinweise	179
	Literatur	181
4.7	Aeromonas	182
	<i>Irmgard Feuerpfeil</i>	
4.7.1	Begriffsbestimmung	182
4.7.2	Anwendungsbereich	182
4.7.3	Nährböden und Reagenzien	183
4.7.4	Untersuchungsgang	185
4.7.4.1	Flüssigkeitsanreicherungsverfahren	185
4.7.4.2	Membranfiltrationsverfahren	187
4.7.5	Störungsquellen	187
4.7.6	Auswertung	188
4.7.7	Angabe der Ergebnisse	189
	Literatur	189
4.8	Campylobacter	190
	<i>Annette Hummel</i>	
4.8.1	Begriffsbestimmung	190
4.8.2	Anwendungsbereich	191

x | Inhaltsverzeichnis

- 4.8.3 Nährmedien und Reagenzien 192
- 4.8.4 Untersuchungsgang 195
- 4.8.5 Störungsquellen 200
- 4.8.6 Auswertung und Angabe der Ergebnisse 200
Literatur 202
- 4.9 Legionellen 203
Benedikt Schaefer
- 4.9.1 Begriffsbestimmung 203
- 4.9.2 Anwendungsbereich 203
- 4.9.3 Nährböden und Reagenzien 205
- 4.9.4 Untersuchungsgang 206
 - 4.9.4.1 Probenahme 208
 - 4.9.4.2 Direktausstrich 210
 - 4.9.4.3 Membranfiltrationsverfahren 211
 - 4.9.4.4 Inkubation und Auswertung 211
 - 4.9.4.5 Zentrifugationsverfahren 212
- 4.9.5 Störungsquellen 212
- 4.9.6 Auswertung und Angabe der Ergebnisse 213
Literatur 213
- 4.10 Atypische Mykobakterien 214
Roland Schulze-Röbbecke
- 4.10.1 Begriffsbestimmung 214
- 4.10.2 Anwendungsbereich 215
- 4.10.3 Nährböden und Reagenzien 215
 - 4.10.3.1 Reagenzien für die Dekontamination 215
 - 4.10.3.2 Löwenstein-Jensen-Medium (LJ) 215
 - 4.10.3.3 Middlebrook-7H10-Agar mit OADC-Anreicherung und Glycerin (7H10) 216
 - 4.10.3.4 Reagenzien für die Ziehl-Neelsen-Färbung 216
 - 4.10.4 Untersuchungsgang 216
 - 4.10.4.1 Dekontamination des Probenmaterials 218
 - 4.10.4.2 Anreicherung des Probenmaterials durch Filtration 218
 - 4.10.4.3 Kulturelle Anzüchtung 220
 - 4.10.4.4 Abgrenzung von anderen Bakteriengattungen und Differenzierung 221
 - 4.10.5 Störungsquellen 222
 - 4.10.6 Auswertung 223
 - 4.10.7 Angabe der Ergebnisse 223
Literatur 223
- 4.11 Nachweis von *Vibrio cholerae*, *Vibrio vulnificus* und anderen *Vibrio*-Arten 224
Martin Exner, Gerhard Hauk und Andrea Rechenburg
- 4.11.1 Begriffsbestimmung 224
- 4.11.2 Anwendungsbereich 225
- 4.11.3 Geräte, Nährmedien und Reagenzien 225

4.11.3.1	Benötigte Geräte	225
4.11.3.2	Nährböden und Reagenzien	225
4.11.3.3	Weitere Medien	226
4.11.4	Untersuchungsgang	226
4.11.4.1	Probenansatz zum Nachweis von V. cholerae	227
4.11.4.2	Probenansatz zum Nachweis von V. vulnificus	227
4.11.5	Auswertung	229
4.11.6	Differenzierung	230
4.11.6.1	Nachweis von V. cholerae	230
4.11.6.2	Nachweis von V. vulnificus	230
4.11.6.3	Biochemische Reaktionen	232
4.11.7	Angabe der Ergebnisse	232
4.11.8	Qualitätssicherung	232
	Literatur	232
5	Virologische und protozoologische Wasseruntersuchungen	233
5.1	Bakteriophagen	233
	<i>Stefanie Huber</i>	
5.1.1	Begriffsbestimmung	233
5.1.2	Anwendungsbereich	233
5.1.3	Nährmedien und Reagenzien	235
5.1.3.1	Medien für den Nachweis von FRNA-Phagen	236
5.1.3.2	Medien für den Nachweis somatischer Coliphagen	237
5.1.4	Untersuchungsgang	238
5.1.4.1	Nachweis von FRNA-Bakteriophagen	239
5.1.4.2	Nachweis von somatischen Coliphagen	241
5.1.4.3	Proben mit sehr geringen Phagenzahlen	242
5.1.5	Störungsquellen	243
5.1.6	Auswertung und Angabe der Ergebnisse	244
	Literatur	244
5.2	Enterale oder enteropathogene Viren	246
	<i>Jens Fleischer</i>	
5.2.1	Begriffsbestimmung	246
5.2.2	Anwendungsbereich	247
5.2.2.1	Viruskonzentrationen im Abwasser	247
5.2.3	Anreicherung von Viren aus Wasserproben	248
5.2.3.1	Filtration durch elektropositive Filter (Virosorb-1 MDS)	249
5.2.3.2	Filtration über Glaswolle-gepackte Säulen	250
5.2.4	Quantifizierungsmethoden auf Zellkultur	253
5.2.4.1	Plaque-Forming-Units (PFU)-Test für den direkten Nachweis von Enteroviren oder anderen enteropathogenen Viren auf Zell-Monolayern	255
5.2.4.2	Quantifizierung nach dem Most-Probable-Number (MPN) Verfahren	257
5.2.4.3	Quantifizierung nach Tissue Culture Infective Dose 50 (TCID ₅₀)	258

5.2.5	Nukleinsäure-Extraktion mittels Silicapartikeln	258
5.2.5.1	Nukleinsäure-Extraktion mittels Silicapartikeln	258
5.2.5.2	Polymerase-Kettenreaktion (PCR)	259
5.2.5.3	PCR-Beispiele	261
5.2.5.4	Agarose-Gel-Elektrophorese	268
5.2.6	3-stufiges Untersuchungsschema Wasservirologie	270
5.2.7	Störungsquellen	270
5.2.8	Angabe der Ergebnisse	270
	Literatur	270
5.3	Cryptosporidien und Giardien	274
	<i>Albrecht Wiedenmann</i>	
5.3.1	Begriffsbestimmung	274
5.3.2	Anwendungsbereich	276
5.3.3	Auswahl einer geeigneten Methode	276
5.3.4	Prüfung der Sinnhaftigkeit einer Untersuchung auf Cryptosporidien und Giardien	278
5.3.5	Prinzipielle Verfahrensschritte	278
5.3.6	Spezielle Geräte und Reagenzien	279
5.3.6.1	Ermittlung der Wiederfindungsrate	279
5.3.6.2	Probennahme	279
5.3.6.3	Filtration	279
5.3.6.4	Transport	281
5.3.6.5	Filterelution	281
5.3.6.6	Eluatkonzentrierung	281
5.3.6.7	Separation	281
5.3.6.8	Detektion	282
5.3.6.9	Reinigung und Desinfektion der Geräte	282
5.3.7	Untersuchungsgang	282
5.3.7.1	Ermittlung der Wiederfindungsrate	282
5.3.7.2	Probengewinnung und Transport	283
5.3.7.3	Filterelution	285
5.3.7.4	Eluatkonzentrierung	285
5.3.7.5	Immunomagnetische Separation	285
5.3.7.6	FITC-MAB Markierung und mikroskopischer Nachweis	286
5.3.7.7	Desinfektion und Reinigung der Geräte	286
5.3.7.8	Auswertung	287
5.3.8	Störungsquellen	289
5.3.9	Angabe der Ergebnisse	291
5.3.10	Interne Qualitätskontrolle	291
5.3.11	Externe Qualitätskontrolle	291
5.3.12	Laborakkreditierung	292
5.3.13	Alternativ-Verfahren, weitergehende Diagnostik und Methoden-Entwicklungen	292
	Literatur	293

6	Molekularbiologische Methoden	297
	<i>Konrad Botzenhart</i>	
6.1	Molekularbiologische Verfahren mit praktischer Bedeutung (nach Köster et al. 2003)	298
6.1.1	Nachweis von Antigenen der gesuchten Mikroorganismen durch spezifische Antikörper	298
6.1.2	Immunfluoreszenzmikroskopie	298
6.1.3	Durchflusszytometrie, Fluorescent Activated Cell Sorting (FACS)	299
6.1.4	Immunomagnetische Separation (IMS)	299
6.1.5	Molekulare Hybridisierung (MH)	299
6.1.6	Restriktionsfragmentkartierung, Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus (RFLP)	300
6.1.7	Polymerase-Kettenreaktion (PCR)	300
6.1.8	DNA Chip Array, Biochips	302
6.1.9	Fluoreszenz in situ Hybridisierung (FISH)	302
6.2	Praktische Bedeutung	304
	Literatur	304
7	Spezifische Kriterien	305
7.1	Untersuchung des Einflusses von Werkstoffen auf die Vermehrung von Mikroorganismen im Trink- und Badewasserbereich in der Praxis und im Laborversuch	305
	<i>Dirk Schoenen</i>	
7.1.1	Einleitung	305
7.1.2	Untersuchungen der Besiedlung bzw. Bewuchsbildung in der Praxis	307
7.1.3	Exposition von Testkörpern und Untersuchung der Bewuchsbildung unter Laborbedingungen	308
7.1.4	Beurteilung nach dem DVGW Arbeitsblatt W270	310
7.1.5	Andere Beurteilungsverfahren	312
7.1.6	Ausblick	313
	Literatur	313
7.2	Bakterienvermehrungspotential	315
	<i>Beate Hambisch und Peter Werner</i>	
7.2.1	Begriffsbestimmung	315
7.2.2	Anwendungsbereich	316
7.2.3	Geräte und Chemikalien	316
7.2.3.1	Geräte	316
7.2.3.2	Chemikalien	317
7.2.4	Untersuchungsgang	318
7.2.4.1	Allgemeines	318
7.2.4.2	Vorbereitung der Wasserproben	318
7.2.4.3	Herstellung des Inokulums und Animpfung der vorbereiteten Wasserprobe	320

7.2.4.4	Registrierung der Wachstumskurven	320
7.2.4.5	Zusätzliche Analysen	321
7.2.5	Störungsquellen	321
7.2.6	Auswertung	322
7.2.7	Angabe der Ergebnisse	322
	Literatur	323
8	Bewertung	325
	<i>Konrad Botzenhart und Irmgard Feuerpfeil</i>	
8.1	Trinkwasser	325
8.1.1	Indikatorbakterien	327
8.1.2	Koloniezahl	328
8.1.3	E. coli	329
8.1.4	Coliforme Bakterien	331
8.1.5	Enterokokken	332
8.1.6	Clostridien	333
8.1.7	Pathogene Bakterien	334
8.1.8	Salmonellen	335
8.1.9	Shigellen	336
8.1.10	Vibrio cholerae, Vibrio vulnificus und weitere Vibrionen	337
8.1.11	Campylobacter	338
8.1.12	Yersinien	339
8.1.13	Pseudomonas aeruginosa	340
8.1.14	Aeromonaden	341
8.1.15	Legionellen	342
8.1.16	Atypische Mykobakterien	343
8.2	Enterale Viren, Coliphagen	344
8.3	Cryptosporidium und Giardia	345
8.4	Mikrobieller Bewuchs/Biofilme	347
8.5	Qualitätssicherung	347
8.6	Badewasser	348
8.6.1	Badegewässer	349
8.6.2	Kleintadeteiche	350
8.6.3	Wasser in Beckenbädern	352
8.7	Mineral-, Quell- und Tafelwasser	352
8.8	Rohwasse	353
	Literatur	355
9	Anhang	359
	<i>Irmgard Feuerpfeil</i>	
	Sachregister	367