

## Inhaltsverzeichnis

**Geleitwort** XV

**Autorenverzeichnis** XVII

<b>1</b>	<b>Allgemeines</b>	<b>1</b>
	<i>Konrad Botzenhart und Irmgard Feuerpfel</i>	
1.1	Zielsetzungen	1
<b>2</b>	<b>Methodische Grundlagen</b>	<b>5</b>
	<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	Probenahmegefäße 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
<b>3</b>	<b>Qualitätssicherung</b>	<b>39</b>
	<i>Benedikt Schaefer</i>	<b>39</b>
	Literatur	41
3.1	Laborakkreditierung	
	<i>Haribert Schickling und Jürgen-M. Schulz</i>	<b>41</b>
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 <i>E. coli</i>	65
3.2.7	<i>Clostridium perfringens</i>	67
3.2.8	<i>Legionella</i>	69
3.2.9	Diskussion	70
3.2.10	Ringversuche und Messunsicherheit	71
3.2.11	Top-down-Ansatz (Beispiel: Nachweis von <i>Legionella</i> )	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
<b>4</b>	<b>Bakteriologische Wasseruntersuchung</b>	<b>79</b>
4.1	Koloniezahl	79
	<i>Irmgard Feuerpfel</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 <i>E. coli</i> 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	<i>Yersinia</i>	132
	<i>Irmgard Feuerpfel</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 Feuerpfel</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 <i>C. perfringens</i> nach Trinkwasserverordnung 2001 (m-CP-Agar)	164
	Literatur	167
4.6	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	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	<i>Aeromonas</i>	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	<i>Campylobacter</i>	190
	<i>Annette Hummel</i>	
4.8.1	Begriffsbestimmung	190
4.8.2	Anwendungsbereich	191

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
	<i>Benedikt Schaefer</i>	
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
	<i>Roland Schulze-Röbbecke</i>	
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 <i>Vibrio cholerae</i> , <i>Vibrio vulnificus</i> und anderen <i>Vibrio</i> -Arten	224
	<i>Martin Exner, Gerhard Hauk und Andrea Rechenburg</i>	
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 <i>V. cholerae</i>	227
4.11.4.2	Probenansatz zum Nachweis von <i>V. vulnificus</i>	227
4.11.5	Auswertung	229
4.11.6	Differenzierung	230
4.11.6.1	Nachweis von <i>V. cholerae</i>	230
4.11.6.2	Nachweis von <i>V. vulnificus</i>	230
4.11.6.3	Biochemische Reaktionen	232
4.11.7	Angabe der Ergebnisse	232
4.11.8	Qualitätssicherung	232
	Literatur	232
<b>5</b>	<b>Virologische und protozoologische Wasseruntersuchungen</b>	<b>233</b>
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 <sub>50</sub> )	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 Wasserviropologie	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



<b>6</b>	<b>Molekularbiologische Methoden</b>	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
<b>7</b>	<b>Spezifische Kriterien</b>	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 Hambsch 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

*Konrad Botzenhart und Irmgard Feuerpfeil*

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	Kleinbadeteiche	350
8.6.3	Wasser in Beckenbädern	352
8.7	Mineral-, Quell- und Tafelwasser	352
8.8	Rohwasser	353
	Literatur	355

## **9 Anhang** 359

*Irmgard Feuerpfeil*

## **Sachregister** 367