

ICS 07.100.20

Ersatz für
DIN V 38411-9:1993-01

German standard methods for the examination of water, waste water and sludge — Microbiological methods (group K) — Part 9: Determination of enterobacterial common antigen (ECA) for the detection of lactose-fermenting enterobacteriaceae (K 9)

Méthodes normalisées allemandes pour l'analyse des eaux, des eaux résiduaires et des boues — Méthodes microbiologiques (groupe K) — Partie 9: Détermination du enterobactériel commun antigen (ECA) pour la détection des enterobactériaceae fermentant la lactose (K 9)

Inhalt

	Seite
Vorwort	2
1 Anwendungsbereich	3
2 Normative Verweisungen	3
3 Begriffe	4
4 Störungen	5
5 Grundlage des Verfahrens	5
6 Bezeichnung	6
7 Geräte	6
8 Reagenzien	7
9 Probenahme und Probenkonservierung	8
10 Durchführung	8
11 Kalibrierung des ELISA	10
12 Blindwertmessungen	10
13 Berechnung der Ergebnisse	10
14 Angabe der Ergebnisse	10
15 Verfahrenskennndaten	11
16 Untersuchungsbericht	11
Anhang A (informativ) Erläuterungen	12

Fortsetzung Seite 2 bis 13

Normenausschuss Wasserwesen (NAW) im DIN Deutsches Institut für Normung e.V.

Vorwort

Diese Norm wurde gemeinsam mit der Wasserchemischen Gesellschaft — eine Fachgruppe in der Gesellschaft Deutscher Chemiker — aufgestellt (siehe Anhang A).

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 zusätzlicher Randbedingungen erforderlich ist. Zu DIN 38411 „Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung — Mikrobiologische Verfahren (Gruppe K)“ gehören weitere Teile. Eine Übersicht der Gruppen A bis T der „Deutschen Einheitsverfahren“ enthält Anhang A.

Anhang A ist informativ.

Änderungen

Gegenüber DIN V 38411-9:1993-01 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) der Anwendungsbereich wurde um Badewasser erweitert;
- b) das Verfahren wurde überarbeitet, u. a. Abschnitt Berechnung;
- c) der Abschnitt Verfahrenskenndaten des Ringversuches wurde aufgenommen;
- d) die Norm wurde redaktionell überarbeitet.

Frühere Ausgaben

DIN V 38411-9:1993-01

Warnhinweis: Anwender dieser Norm sollten mit der üblichen Laborpraxis vertraut sein. Diese Norm gibt nicht vor, alle unter Umständen mit der Anwendung des Verfahrens verbundenen Sicherheitsaspekte anzusprechen. Es liegt in der Verantwortung des Anwenders, angemessene Sicherheits- und Schutzmaßnahmen zu treffen und sicherzustellen, dass diese mit nationalen Festlegungen übereinstimmen.

Einleitung

Diese Norm berücksichtigt aus Gründen der Übersichtlichkeit nur eine spezielle Form des Sandwich-ELISA (3.3), da bei der Entwicklung der Methodik die praktische Anwendung auf Trinkwasser und entsprechende Proben Vorrang gegenüber der methodischen Vielfalt im immunologischen Verfahren hatte.

Die Verwendung verschiedenartiger Enzyme und Substrate zur Markierung bzw. zum Nachweis des Detektor-Antikörpers ohne grundlegende Änderung der Testcharakteristika des Sandwich-ELISA ist bei immunologischen Verfahren gängige Praxis.

Die Beschränkung des Verfahrens auf ein bestimmtes Enzym und ein bestimmtes Substrat wäre eine unnötige Einschränkung der für die Praxis wünschenswerten Vielfalt. Deshalb wird hier beispielhaft ein Sandwich-ELISA vorgestellt, der es dem Anwender gestattet, den Test mit einem Photometer für Mikrotiterplatten, das preiswerter ist als das Fluoreszenzmessgerät, auszuwerten. Dieser ELISA hat zudem den Vorteil, dass die Reagenzien kommerziell erhältlich sind.

Zur Familie der Enterobacteriaceae gehören sowohl obligat pathogene Spezies, wie Salmonellen und Shigellen, als auch fakultativ pathogene Darmbewohner wie z. B. Enterobacter, Klebsiella, Serratia und andere sowie Bakterien, die auch Umweltstandorte besiedeln (z. B. Rahnella). Die zu den Enterobacteriaceae gehörenden coliformen Keime wie z. B. Escherichia coli werden seit langem als Indikatoren für eine hygienische Beeinträchtigung des Trinkwassers herangezogen [1], wenn sie auch aufgrund genetischer Merkmale zwischenzeitlich nicht mehr als taxonomisch einheitliche Gruppe verstanden werden können.

Das Verfahren erfasst alle Lactose fermentierenden Enterobacteriaceae, z. B. auch Escherichia coli ohne Gasbildung aus Lactose.

1 Anwendungsbereich

Diese Norm legt ein Verfahren zur Analyse von Trink- und Rohwasser sowie Mineral- und Tafelwasser fest. Darüber hinaus kann das Verfahren auch zur Untersuchung von Grundwasser, Oberflächen- und Badegewässer sowie Meerwasser angewandt werden.

Wird der immunologische Nachweis mit einem statistisch auswertbaren Titer-Verfahren kombiniert, ist eine quantitative Erfassung der Zielbakterien möglich.

2 Normative Verweisungen

Diese Norm enthält durch datierte oder undatierte Verweisungen Festlegungen aus anderen Publikationen. Diese normativen Verweisungen sind an den jeweiligen Stellen im Text zitiert, und die Publikationen sind nachstehend aufgeführt. Bei datierten Verweisungen gehören spätere Änderungen oder Überarbeitungen nur zu dieser Norm, falls sie durch Änderung oder Überarbeitung eingearbeitet sind. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe der in Bezug genommenen Publikation (einschließlich Änderungen).

DIN 12035, *Laborgeräte aus Glas — Enghals-Standflaschen ohne Stopfen*.

DIN 12331, *Laborgeräte aus Glas — Becher*.

DIN 12691, *Laborgeräte aus Glas — Vollpipetten mit einer Marke, schnell-ablaufend, Wartezeit 15 Sekunden, Klasse AS*.

DIN 38411-1, *Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung — Mikrobiologische Verfahren (Gruppe K) — Vorbereitung zur mikrobiologischen Untersuchung von Wasserproben (K 1)*.

DIN 38411-6, *Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung — Mikrobiologische Verfahren (Gruppe K) — Nachweis von Escherichia coli und coliformen Keimen (K 6)*.

- [1] Verordnung über Trinkwasser und über Wasser für Lebensmittelbetriebe (Trinkwasserverordnung — TrinkwV) vom 12. Dezember 1990.
- [2] Wecker, M., Hübner, I., Obst, U., Bitter-Suermann, D.: Vergleichende Untersuchungen von Enterobacteriaceae im Trink- und Oberflächenwasser mit neuen immunologischen und herkömmlichen mikrobiologischen Verfahren. *Vom Wasser* 69, (1987), S. 177–181.
- [3] Obst, U., Hübner, I., Wecker, M. und Bitter-Suermann, D.: Immunological method using monoclonal antibodies to detect Enterobacteriaceae in drinking water. *Aqua* 38, (1989), S. 136–142.
- [4] Obst, U.: Einsatz neuartiger mikrobiologisch-immunologischer Verfahren in der Wasseranalytik. *DVGW-Schriftenreihe Wasser*. Nr. 108, (1990), S. 171–186.
- [5] Hübner, I., Bitter-Suermann, D., Borniger, R., Dobberstein, J., Klittich, G., Obst, U., Pohl, V., van Assche, J., Weisgerber, C.: Die Vornorm DIN V 38411 K 9 für den Schnellnachweis von Lactose fermentierenden Enterobacteriaceae — erprobt von 6 Trinkwasserlabors. *gwf Wasser/Abwasser* 136, (1995), S. 187–193.
- [6] Böttger, E.C., Jürs, M., Barrett, T., Wachsmuth, K., Metzger, S., Bitter-Suermann, D.: Qualitative and quantitative determination of Enterobacterial Common Antigen (ECA) with monoclonal antibodies. Expression of ECA by two Actinobacillus Species. *J. Clin. Microbiol.* 25, (1987), S. 377–382.

3 Begriffe

Für die Anwendung dieser Norm gelten die folgenden Begriffe.

3.1

Enterobacterial Common Antigen (ECA)

familienspezifisches Antigen der Enterobacteriaceae

3.2

immunologische Verfahren

analytische Verfahren, bei denen die spezifische Reaktion zwischen Antigen und Antikörper für den Nachweis einer der beiden Reaktionspartner ausgenutzt wird

3.3

Sandwich-ELISA (Sandwich-Enzyme Linked Immunosorbent Assay)

immunologisches Verfahren, bei dem der gesuchte Analyt (z.B. Antigen) zwischen einem Festphasen-fixierten Reaktanten (z.B. Antikörper) und einem zweiten, markierten Reaktanten (z.B. Antikörper) gebunden wird. Der zweite Reaktant ist mit einem Enzym markiert. Die Detektion der gesamten Reaktion erfolgt über die enzymatische Umsetzung eines chromogenen Substrats