DIN EN ISO 10705-3

ICS 07.100.20 Einsprüche bis 2024-07-10

Entwurf

Wasserbeschaffenheit – Nachweis und Zählung von Bakteriophagen – Teil 3: Validierung von Verfahren für die Konzentration von Bakteriophagen in Wasser (ISO 10705-3:2003); Deutsche und Englische Fassung prEN ISO 10705-3:2024

Water quality –
Detection and enumeration of bacteriophages –
Part 3: Validation of methods for concentration of bacteriophages from water
(ISO 10705-3:2003);
German and English version prEN ISO 10705-3:2024

Qualité de l'eau –
Détection et dénombrement des bactériophages –
Partie 3: Validation des méthodes de concentration des bactériophages dans l'eau
(ISO 10705-3:2003);
Version allemande et anglaise prEN ISO 10705-3:2024

Anwendungswarnvermerk

Dieser Entwurf mit Erscheinungsdatum 2024-05-10 wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und Stellungnahme vorgelegt.

Weil das beabsichtigte Dokument von der vorliegenden Fassung abweichen kann, ist die Anwendung dieses Entwurfs besonders zu vereinbaren.

Stellungnahmen werden erbeten

- vorzugsweise online im Norm-Entwurfs-Portal von DIN unter www.din.de/go/entwuerfe bzw. für Norm-Entwürfe der DKE auch im Norm-Entwurfs-Portal der DKE unter www.entwuerfe.normenbibliothek.de, sofern dort wiedergegeben;
- oder als Datei per E-Mail an naw@din.de möglichst in Form einer Tabelle. Die Vorlage dieser Tabelle kann im Internet unter www.din.de/go/stellungnahmen-norm-entwuerfe oder für Stellungnahmen zu Norm-Entwürfen der DKE unter www.dke.de/stellungnahme abgerufen werden;
- oder in Papierform an den DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW), 10772 Berlin oder Am DIN-Platz, Burggrafenstr. 6, 10787 Berlin.

Es wird gebeten, mit den Kommentaren zu diesem Entwurf jegliche relevanten Patentrechte, die bekannt sind, mitzuteilen und unterstützende Dokumentationen zur Verfügung zu stellen.

Gesamtumfang 37 Seiten

DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW)

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 10705-3:2024-06

Nationales Vorwort

Der Text von ISO 10705-3:2003 wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 147 „Water quality“ der Internationalen Organisation für Normung (ISO) erarbeitet und als prEN ISO 10705-3:2024 durch das Technische Komitee CEN/TC 230 „Wasseranalytik“ übernommen, dessen Sekretariat von DIN (Deutschland) gehalten wird.

Das zuständige deutsche Normungsgremium ist der Unterausschuss NA 119-01-03-03 UA „Mikrobiologie“ des Arbeitsausschusses NA 119-01-03 AA „Wasseruntersuchung (CEN/TC 230, ISO/TC 147)“ im DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW).

Um Zweifelsfälle in der Übersetzung auszuschließen, ist die englische Originalfassung beigefügt. Die Nutzungsbedingungen für den deutschen Text des Norm-Entwurfes gelten gleichermaßen auch für den englischen Text.

Für die in diesem Dokument zitierten Dokumente wird im Folgenden auf die entsprechenden deutschen Dokumente hingewiesen:

ISO 6887-1	siehe	DIN EN ISO 6887-1
ISO 8199	siehe	DIN EN ISO 8199
ISO 10705-1	siehe	DIN EN ISO 10705-1
ISO 10705-2	siehe	DIN EN ISO 10705-2
ISO/TR 13843	siehe	DIN EN ISO 13843
ISO 19458	siehe	DIN EN ISO 19458

ISO 10705 besteht unter dem allgemeinen Titel *Water quality — Detection and enumeration of bacteriophages* aus den folgenden Teilen:

— *Part 1: Enumeration of F-specific RNA bacteriophages*

— *Part 2: Enumeration of somatic coliphages*

— *Part 3: Validation of methods for concentration of bacteriophages from water*

— *Part 4: Enumeration of bacteriophages infecting Bacteroides fragilis*

Bezeichnung des Verfahrens:

Validierung von Verfahren für die Konzentration von Bakteriophagen in Wasser (K 21)

Verfahren DIN EN ISO 10705-3-K 21

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 10705-3:2024-06

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 von zusätzlichen Randbedingungen erforderlich ist.

Die vorliegende Norm enthält das vom DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW) und von der Wasserchemischen Gesellschaft – Fachgruppe in der Gesellschaft Deutscher Chemiker (GDCh) – gemeinsam erarbeitete Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung:

Validierung von Verfahren für die Konzentration von Bakteriophagen in Wasser (K 21).

Die als DIN-Normen veröffentlichten Deutschen Einheitsverfahren sind bei der DIN Media GmbH einzeln oder zusammengefasst erhältlich. Außerdem werden die genormten Deutschen Einheitsverfahren in der Loseblattsammlung „Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung“ gemeinsam von der DIN Media GmbH und der Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA publiziert.

Normen oder Norm-Entwürfe mit dem Gruppentitel „*Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung*“ sind in folgende Gebiete (Haupttitel) aufgeteilt:

Allgemeine Angaben (Gruppe A)

Sensorische Verfahren (Gruppe B)

Physikalische und physikalisch-chemische Kenngrößen (Gruppe C)

Anionen (Gruppe D)

Kationen (Gruppe E)

Gemeinsam erfassbare Stoffgruppen (Gruppe F)

Gasförmige Bestandteile (Gruppe G)

Summarische Wirkungs- und Stoffkenngrößen (Gruppe H)

Mikrobiologische Verfahren (Gruppe K)

Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L)

Biologisch-ökologische Gewässeruntersuchung (Gruppe M)

Einzelkomponenten (Gruppe P)

Schlamm und Sedimente (Gruppe S)

Suborganismische Testverfahren (Gruppe T)

Aktuelle Informationen zu diesem Dokument können über die Internetseiten von DIN (www.din.de) durch eine Suche nach der Dokumentennummer aufgerufen werden.

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 10705-3:2024-06

Nationaler Anhang NA
(informativ)

Literaturhinweise

DIN EN ISO 6887-1, *Mikrobiologie der Lebensmittelkette — Vorbereitung von Untersuchungsproben und Herstellung von Erstverdünnungen und von Dezimalverdünnungen für mikrobiologische Untersuchungen — Teil 1: Allgemeine Regeln für die Herstellung von Erstverdünnungen und Dezimalverdünnungen*

DIN EN ISO 8199, *Wasserbeschaffenheit — Allgemeine Anforderungen und Anleitung für mikrobiologische Untersuchungen mittels Kulturverfahren*

DIN EN ISO 10705-1, *Wasserbeschaffenheit — Nachweis und Zählung von Bakteriophagen — Teil 1: Zählung von F-spezifischen RNA-Bakteriophagen*

DIN EN ISO 10705-2, *Wasserbeschaffenheit — Nachweis und Zählung von Bakteriophagen — Teil 2: Zählung von somatischen Coliphagen*

DIN EN ISO 13843, *Wasserbeschaffenheit — Anforderungen zur Bestimmung von Leistungsmerkmalen von quantitativen mikrobiologischen Verfahren*

DIN EN ISO 19458, *Wasserbeschaffenheit — Probenahme für mikrobiologische Untersuchungen*

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 10705-3:2024-06

– Entwurf –

April 2024

prEN ISO 10705-3

Wasserbeschaffenheit – Nachweis und Zählung von Bakteriophagen – Teil 3: Validierung von Verfahren für die Konzentration von Bakteriophagen in Wasser (ISO 10705-3:2003)

Water quality – Detection and enumeration of bacteriophages – Part 3: Validation of methods for concentration of bacteriophages from water (ISO 10705-3:2003)

Qualité de l'eau – Détection et dénombrement des bactériophages – Partie 3: Validation des méthodes de concentration des bactériophages dans l'eau (ISO 10705-3:2003)

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 10705-3:2024-06

E DIN EN ISO 10705-3:2024-06
prEN ISO 10705-3:2024 (D)

Inhalt

Seite

Europäisches Vorwort . . . 3
Vorwort . . . 4
1 Anwendungsbereich . . . 5
2 Normative Verweisungen . . . 5
3 Begriffe . . . 5
4 Grundlage des Verfahrens . . . 6
5 Reagenzien . . . 6
6 Geräte und Glasgeräte . . . 6
7 Probennahme . . . 7
8 Vorbereitung von Abwasserproben für das Aufstocken . . . 7
9 Durchführung . . . 8
9.1 Herstellung von aufgestockten Proben . . . 8
9.1.1 Chargenverfahren . . . 8
9.1.2 Inline-Aufkonzentrierungsverfahren . . . 8
9.2 Bewertung der Wiederfindung . . . 9
10 Berechnung . . . 10
11 Kontrolle der analytischen Qualität . . . 11
12 Analysenbericht . . . 11
Anhang A (informativ) Empfohlene Verfahren zur Aufkonzentrierung von Bakteriophagen aus Wasser in Abhängigkeit von Volumen, Trübung und Partikelgehalt . . . 12
A.1 Adsorptions-/Elutionsverfahren mit elektropositiven Filtern . . . 12
A.2 Membranfiltration . . . 13
A.3 Flockung mit Magnesiumhydroxid . . . 13
Anhang B (informativ) Beispiel für eine Validierung eines Aufkonzentrierungsverfahrens . . . 14
B.1 Aufstockmittel . . . 14
B.2 Herstellung von aufgestockten Proben . . . 14
B.3 Aufkonzentrierung . . . 14
B.4 Auswertung der Wiederfindung . . . 14
B.5 Datenanalyse . . . 15
B.6 Kontrolle der analytischen Qualität . . . 16
Literaturhinweise . . . 17

Bilder

Bild B.1 — Einfluss des Volumens auf die Wiederfindung . . . 16

Tabellen

Tabelle B.1 — Zählwert der Phagen im Aufstockmittel . . . 14
Tabelle B.2 — Ergebnisse der Phagenzählung . . . 15
Tabelle B.3 — Ergebnisse der Wiederfindung . . . 15
Tabelle B.4 — Ergebnisse der Bewertung der Wiederfindung . . . 16

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 10705-3:2024-06

Europäisches Vorwort

Der Text von ISO 10705-3:2003 wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 147 „Water quality“ der Internationalen Organisation für Normung (ISO) erarbeitet und vom Technischen Komitee CEN/TC 230 „Wasseranalytik“ als prEN ISO 10705-3:2024 übernommen, dessen Sekretariat von DIN gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur CEN-Umfrage vorgelegt.

Rückmeldungen oder Fragen zu diesem Dokument sollten an das jeweilige nationale Normungsinstitut des Anwenders gerichtet werden. Eine vollständige Liste dieser Institute ist auf den Internetseiten von CEN abrufbar.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO 10705-3:2003 wurde von CEN als prEN ISO 10705-3:2024 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 10705-3:2024-06

Vorwort

ISO (die Internationale Organisation für Normung) ist eine weltweite Vereinigung von Nationalen Normungsorganisationen (ISO-Mitgliedsorganisationen). Die Erstellung von Internationalen Normen wird normalerweise von ISO Technischen Komitees durchgeführt. Jede Mitgliedsorganisation, die Interesse an einem Thema hat, für welches ein Technisches Komitee gegründet wurde, hat das Recht, in diesem Komitee vertreten zu sein. Internationale Organisationen, staatlich und nicht-staatlich, in Liaison mit ISO, nehmen ebenfalls an der Arbeit teil. ISO arbeitet eng mit der Internationalen Elektrotechnischen Kommission (IEC) bei allen elektrotechnischen Themen zusammen.

Internationale Normen werden in Übereinstimmung mit den Gestaltungsregeln der ISO/IEC-Direktiven, Teil 2 erarbeitet.

Die Hauptaufgabe der Technischen Komitees besteht in dem Erarbeiten von Internationalen Normen. Die von den Technischen Komitees angenommenen Norm-Entwürfe werden den Mitgliedsorganisationen zur Umfrage zur Verfügung gestellt. Für eine Veröffentlichung als Internationale Norm wird eine Zustimmung von mindestens 75 % der Mitgliedsländer, die abgestimmt haben, benötigt.

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. ISO ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren.

ISO 10705-3 wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 147, *Water quality*, Unterkomitee SC 4, *Microbiological methods*, erarbeitet.

ISO 10705 besteht unter dem allgemeinen Titel *Water quality — Detection and enumeration of bacteriophages* aus den folgenden Teilen:

— *Part 1: Enumeration of F-specific RNA bacteriophages*

— *Part 2: Enumeration of somatic coliphages*

— *Part 3: Validation of methods for concentration of bacteriophages from water*

— *Part 4: Enumeration of bacteriophages infecting Bacteroides fragilis*

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 10705-3:2024-06

1 Anwendungsbereich

Dieser Teil von ISO 10705 legt die allgemeinen Grundsätze für die Bewertung der Leistungsfähigkeit von Verfahren für die Aufkonzentrierung von Bakteriophagen aus Wasser fest. Eine Aufkonzentrierung wird für Wasserproben empfohlen, die voraussichtlich < 3 pfp (Plaque formende Partikel) je Milliliter enthalten. Aufkonzentrierungsverfahren können bei allen Arten von Wasser angewendet werden, sofern die Menge und Beschaffenheit der suspendierten und/oder gelösten Stoffe das Aufkonzentrierungsverfahren nicht beeinträchtigen.

Dieser Teil von ISO 10705 enthält keine detaillierten Angaben zu Aufkonzentrierungsverfahren, sondern umreißt die grundlegenden Prinzipien zur Bewertung der Eignung eines bestimmten Verfahrens für eine bestimmte Art und Menge von Wasser. Anhang A enthält Beispiele für Verfahren, die sich als zufriedenstellend erwiesen haben, und deren Anwendungsbereiche.

WARNHINWEIS — Anwender dieses Teils von ISO 10705 sollten mit der üblichen Laborpraxis vertraut sein. In diesem Teil von ISO 10705 wird nicht der Anspruch erhoben, alle bei seiner Anwendung möglicherweise auftretenden Sicherheitsprobleme zu behandeln. Es liegt in der Verantwortung des Arbeitsgebers, geeignete Sicherheits- und Gesundheitspraktiken vorzusehen und die Einhaltung etwaiger nationaler Bestimmungen sicherzustellen.

WICHTIG — Das mit der Validierung von Verfahren für die Aufkonzentrierung von Bakteriophagen aus Wasser befasste Laborpersonal muss unbedingt über einschlägige Erfahrungen mit den Verfahren zur Zählung von Bakteriophagen verfügen (siehe ISO/TR 13843 [1]).

2 Normative Verweisungen

Die folgenden zitierten Dokumente sind für die Anwendung dieses Dokuments erforderlich. Bei datierten Verweisungen gilt nur die in Bezug genommene Ausgabe. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe des in Bezug genommenen Dokuments (einschließlich aller Änderungen).

ISO 3696:1987, *Water for analytical laboratory use — Specification and test methods*

ISO 6887-1, *Microbiology of food and animal feeding stuffs — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination — Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions*

ISO 8199, *Water quality — General guide to the enumeration of micro-organisms by culture*

ISO 10705-1, *Water quality — Detection and enumeration of bacteriophages — Part 1: Enumeration of F-specific RNA bacteriophages*

ISO 10705-2, *Water quality — Detection and enumeration of bacteriophages — Part 2: Enumeration of somatic coliphages*

ISO 10705-4, *Water quality — Detection and enumeration of bacteriophages — Part 4: Enumeration of bacteriophages infecting Bacteroides fragilis*

ISO/IEC Guide 2, *Standardization and related activities — General vocabulary*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die Begriffe nach ISO/IEC Guide 2 und die folgenden Begriffe:

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 10705-3:2024-06

3.1
Bakteriophagen
bakterielle Viren, die in der Lage sind, ausgewählte Wirtsstämme zu infizieren

ANMERKUNG Bakteriophagen erzeugen sichtbare Plaques (Freisetzungszonen) in einem konfluenten Rasen des Wirtsstamms, der unter geeigneten Nährbedingungen gewachsen ist.

4 Grundlage des Verfahrens

Die Probe wird nach einem Verfahren der Wahl behandelt, wobei die Bakteriophagen von einem relativ großen Probenvolumen (100 ml bis zu mehreren Litern) zu einem kleineren Volumen (typischerweise wenige bis 20 ml) aufkonzentriert werden. Die aufkonzentrierte Probe wird dann nach einem Verfahren aus einer internationalen Norm oder einer anderen geeigneten Arbeitsvorschrift auf Bakteriophagen untersucht.

Das zu bewertende Aufkonzentrierungsverfahren sollte ausführlich in einer Arbeitsvorschrift beschrieben sein, die so weit wie möglich dem Aufbau von ISO-Normen folgt. Die Beschreibung sollte die Zielgruppe(n) der Bakteriophagen und die Verfahren zu ihrem Nachweis, die zu analysierenden Wasserarten und Volumenbereiche sowie Ausnahmen vom Anwendungsbereich, z. B. Trübung, enthalten.

Das Verfahren wird nach den in diesem Teil von ISO 10705 festgelegten Grundsätzen validiert. Das Validierungsverfahren besteht darin, die Wiederfindung von Bakteriophagen in einer Reihe von Proben zu bestimmen, die mit auf natürlichem Wege verschmutztem Wasser (Roh- oder behandeltem Abwasser) beimpft wurden. Die Wiederfindung wird in einer Reihe von Volumen untersucht und dabei besonders auf die Vergleichpräzision geachtet.

5 Reagenzien

Für die Herstellung der Nährmedien werden Zugabestoffe von einheitlicher Qualität und Chemikalien von anerkannter Analysenreinheit verwendet. Für Informationen zur Lagerung siehe ISO 8199, außer bei entsprechenden Angaben in diesem Teil von ISO 10705. Als Alternative werden getrocknete Vollnährmedien verwendet und dabei die Anweisungen des Herstellers genau befolgt.

Chemikalien anderer Reinheitsgrade dürfen verwendet werden, wenn sie nachweislich zu den gleichen Ergebnissen führen.

5.1 Wasser für die Herstellung von Medien, in Glas destilliertes Wasser oder deionisiertes Wasser, das frei von Stoffen ist, die das Bakterienwachstum unter den Prüfbedingungen hemmen könnten, und mindestens der Qualität 3 nach ISO 3696 entspricht.

5.2 Verdünnungsmittel zur Herstellung von Verdünnungen, Pepton-Salzlösung oder ein anderes geeignetes Verdünnungsmittel nach ISO 6887-1 oder ISO 8199.

5.3 Nährmedien und Referenzkulturen, wie im entsprechenden Standardverfahren in ISO 10705-1, ISO 10705-2 und ISO 10705-4 für die Phagenuntersuchung festgelegt.

5.4 Glycerol (ρ = 870 g/l), 15 min lang bei (121 ± 3) °C autoklaviert und im Dunkeln bei Raumtemperatur höchstens 1 Jahr lang gelagert.

6 Geräte und Glasgeräte

SICHERHEITSVORKEHRUNGEN — Geräte für den Einsatz vor Ort sollten vor ihrer Verwendung desinfiziert werden. Es sind Sicherheitsvorkehrungen zu treffen, die für die eingesetzte Desinfektionslösung geeignet sind. Bei einigen Schritten der Aufkonzentrierung ist gegebenenfalls das Anlegen von hydrostatischem oder pneumatischem Druck erforderlich. Die einschlägigen Sicherheitsvorkehrungen sind zu beachten.

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 10705-3:2024-06

Es wird übliche mikrobiologische Laborausrüstung verwendet, wie im Verfahren für die Phagenuntersuchung (Abschnitt 8) und in der Arbeitsvorschrift für das Aufkonzentrierungsverfahren festgelegt.

7 Probennahme

Proben bis zu 10 l können problemlos ins Labor transportiert werden. Die Proben werden entnommen, wie in ISO 8199 (siehe auch ISO 19458 [2]) festgelegt, und ins Labor gebracht. Bei größeren Proben ist es ratsam, den ersten Schritt des Aufkonzentrierungsverfahrens am Entnahmeort durchzuführen. Dieser Prozess kann mehrere Stunden dauern. Wenn gleichzeitig auf Indikatorbakterien oder andere Mikroorganismen untersucht wird, wird für diese Untersuchungen eine zeitproportionale Probe entnommen, vorzugsweise durch Befüllen einer Probenflasche aus einem Seitenstrom des zur Aufkonzentrierung verwendeten Geräts. Filter, Fällschlämme oder andere Produkte aus dem ersten Aufkonzentrierungsschritt dürfen vor Ort weiterbehandelt oder ins Labor gebracht werden. Die Transport- und Lagerbedingungen bei Zwischenstufen des Prozesses werden in das Validierungsverfahren einbezogen.

8 Vorbereitung von Abwasserproben für das Aufstocken

Eine Abwasserprobe wird aus der Vorklärung oder der zweiten Reinigungsstufe (biologische Behandlung) entnommen und 20 min lang bei 1 000 g zentrifugiert oder durch ein Membranfilter mit einer Porengröße von 8 µm bis 12 µm filtriert. Der Überstand oder das Filtrat wird auf Schmelzeis gelagert. Die Zielbakteriophagen in einem Volumen von 1 ml werden nach dem gewählten Verfahren gezählt. Falls erforderlich wird die Probe so weit verdünnt, dass eine Konzentration von 60 pfp bis 200 pfp (Plaque formende Partikel) je Milliliter erhalten wird. Glycerol wird in solcher Menge hinzugefügt, dass ein endgültiger Volumenanteil von 5 % erhalten wird; es wird gut gemischt. Aliquote von jeweils 10 ml werden auf Glas- oder Kunststoffflaschen (oder -röhrchen oder -fläschchen) verteilt und bei (−20 ± 5) °C oder (−70 ± 10) °C tiefgekühlt. Zwei Flaschen werden bei Raumtemperatur aufgetaut. Aus jeder Flasche werden zwei Aliquote von jeweils 0,5 ml auf die Zielbakteriophagen untersucht. Die durchschnittlichen Zählwerte sollten innerhalb der oben genannten Grenzen liegen (d. h. 30 pfp bis 100 pfp je Platte). Die Zählwerte werden auf Homogenität innerhalb einer Flasche und zwischen Flaschen wie folgt untersucht:

$$T_1 = \sum_{i=1}^{T}\sum_{j=1}^{J}\left[\left(z_{ij} - \frac{z_{i+}}{J}\right)^2 / \left(\frac{z_{i+}}{J}\right)\right]$$

Dabei ist

T_1 der statistische Wert des Cochran-Dispersionstests zur Bestimmung der Varianz bei den pfp innerhalb eines Fläschchens des Referenzmaterials;

z_{i+} die Gesamtzahl der Plaques in den Doppelproben eines Fläschchens.

$$z_{i+} = \sum_{j=1}^{J} z_{ij}$$

I die Anzahl der Fläschchen (in diesem Fall 2);

J die Anzahl der Doppelproben (in diesem Fall 2).

Die Anzahl der Freiheitsgrade für T_1 ist gleich $I(J-1)$ und

$$T_2 = \sum_{j=1}^{J}\left[\left(z_{i+} - \frac{z_{++}}{I}\right)^2 / \left(\frac{z_{++}}{I}\right)\right]$$

Dabei ist

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 10705-3:2024-06

T_2 der statistische Wert des Cochran-Dispersionstests zur Bestimmung der Varianz bei den pfp in unterschiedlichen Fläschchen einer Charge des Referenzmaterials;

z_{++} die Gesamtzahl der Plaques für alle Fläschchen und Doppelproben $z_{++} = \sum_{i=1}^{I} (\sum z_{ij})$.

Die Anzahl der Freiheitsgrade für T_2 ist gleich $I-1$.

Wenn die Phagen innerhalb eines Fläschchens und im Vergleich der Fläschchen untereinander zufällig verteilt sind, folgen T_1 und T_2 ungefähr einer X^2-Verteilung mit 2 bzw. 1 Freiheitsgrad(en). Wenn $0{,}01 < T_1 < 5{,}99$ und $T_2 < 3{,}84$, werden die Proben angenommen.

ANMERKUNG Somatische Coliphagen, F-spezifische RNA-Bakteriophagen und *Bacteroides fragilis* infizierende Bakteriophagen, die in Rohabwasser, das wie oben beschrieben teilweise gereinigt wurde, natürlich vorkommen, erfahren keine signifikante Inaktivierung, wenn sie mit einem Volumenanteil von 5 % Glycerol tiefgekühlt werden, und sie können tiefgekühlt bei Temperaturen unter (-20 ± 5) °C, vorzugsweise bei (-70 ± 10) °C, ohne nennenswerte Abnahme der Anzahl mindestens ein Jahr lang gelagert werden.

9 Durchführung

9.1 Herstellung von aufgestockten Proben

9.1.1 Chargenverfahren

Von allen im Anwendungsbereich des Aufkonzentrierungsverfahrens genannten Wasserarten werden Proben genommen. Die Proben werden an verschiedenen Tagen entnommen, sodass vorzugsweise unterschiedliche Jahreszeiten und klimatische Bedingungen repräsentiert sind. Es werden mindestens fünf Proben jeder Probenwasserart untersucht. V_{max} wird als das größte Probenvolumen angenommen, das mit dem zu bewertenden Aufkonzentrierungsverfahren behandelt werden soll. Das für das Validierungsverfahren benötigte Probenvolumen muss dann mindestens $3 \times V_{max}$ betragen. Gefäße mit den folgenden Probenvolumen werden vorbereitet:

— $0{,}125 \times V_{max}$;

— $0{,}250 \times V_{max}$;

— $0{,}500 \times V_{max}$;

— V_{max}.

Jedem Gefäß wird 1 ml des auf Raumtemperatur vorgewärmten Aufstockmittels (siehe Abschnitt 8) zugegeben. Der Rest des Aufstockmittels wird auf Schmelzeis aufbewahrt.

9.1.2 Inline-Aufkonzentrierungsverfahren

Für alle im Anwendungsbereich des Aufkonzentrierungsverfahrens genannten Wasserarten werden Feldstudien durchgeführt. Die Untersuchungen werden an verschiedenen Tagen durchgeführt, sodass vorzugsweise unterschiedliche Jahreszeiten und klimatische Bedingungen repräsentiert sind. Für jede Wasserart werden mindestens fünf Proben untersucht. V_{max} wird als das größte Probenvolumen angenommen, das mit dem Aufkonzentrierungsverfahren behandelt werden soll. Feldstudien werden mit den folgenden Probenvolumen durchgeführt:

— $0{,}125 \times V_{max}$;

— $0{,}250 \times V_{max}$;

— $0{,}500 \times V_{max}$;

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 10705-3:2024-06