

**Veröffentlichungen aus dem Technologiezentrum Wasser**

**Band 94 – Durchflusszytometrie als schnelle Detektionsmethode für Bakterien**

# Inhaltsverzeichnis

<b>Inhaltsverzeichnis .....</b>	<b>I</b>
<b>1 Einleitung und Projektziele.....</b>	<b>3</b>
1.1 Einleitung .....	3
1.2 Projekt FlowDetect .....	4
1.3 Projektziele .....	4
<b>2 Theoretische Grundlagen .....</b>	<b>6</b>
2.1 Trinkwasserhygiene .....	6
2.2 Durchflusszytometrie.....	6
2.2.1 Mikrobiologische Nachweisverfahren .....	6
2.2.2 Prinzip der Durchflusszytometrie .....	7
2.2.3 FACS – Fluoreszenz-aktivierte Zellsortierung .....	13
<b>3 Vergleich von Durchflusszytometrie mit anderen mikrobiologischen Verfahren...14</b>	
3.1 Mikroskopische Gesamtzellzahl .....	14
3.2 Kulturverfahren: Laborkulturen .....	15
3.3 Kulturverfahren: Umweltproben.....	15
3.4 Fazit .....	17
<b>4 Charakterisierung von HNA und LNA Signalen .....</b>	<b>18</b>
4.1 Grundlagen und Fragestellung .....	18
4.2 Mikroskopie von HNA und LNA Zellen .....	20
4.3 Kultivierung von HNA und LNA Zellen.....	21
4.4 Korrelation der Messparameter .....	22
4.5 Anwendungsbeispiele .....	24
4.5.1 Wachstum einer Probe bei Lagerung im Kühlschrank .....	24
4.5.2 Stagnationseffekte im Wasserhahn .....	24
4.5.3 Filtration von Mineralwasser.....	25
4.6 Fazit .....	27
<b>5 Lebend/tot-Differenzierung.....</b>	<b>28</b>
5.1 Lebend/tot-Differenzierung in der Durchflusszytometrie .....	28
5.2 Ozon .....	31
5.2.1 Einleitung .....	31
5.2.2 Wirkung verschiedener Ozonkonzentrationen .....	32
5.2.3 Zeitliche Wirkung von Ozon.....	35
5.2.4 Einfluss von Ozon auf SSC und FSC .....	35
5.2.5 Fazit .....	38
5.3 Chlor .....	38
5.3.1 Einleitung .....	38
5.3.2 Einfluss des pH-Wertes auf die lebend/tot-Differenzierung.....	39
5.3.3 Fazit .....	43
5.4 UV-Strahlung.....	44
5.4.1 Einleitung .....	44
5.4.2 Etablierung neuer Farbstoffe .....	45
5.4.3 Variablen der Protokolle .....	45

## II Inhaltsverzeichnis

---

5.4.4	DiBac .....	46
5.4.5	CFDA und CFDA-SE.....	50
5.4.6	CTC .....	52
5.4.7	2-NBDG .....	54
5.4.8	Fazit .....	56
5.5	Ergebnisübersicht und Fazit .....	57
<b>6</b>	<b>Spezifische Detektion .....</b>	<b>59</b>
6.1	Einleitung – Warum eine spezifische Detektion? .....	59
6.2	Auswahl der Sonden .....	60
6.3	Etablierung von Flow-FISH Protokollen .....	60
6.3.1	Konventionelle Flow-FISH.....	60
6.3.2	Kompetitive Flow-FISH.....	64
6.3.3	Methodenoptimierung.....	68
6.4	Anwendung bei Wasserproben .....	74
6.5	Zusammenfassung und Fazit .....	76
<b>7</b>	<b>Anwendungsbeispiele zum Monitoring in Aufbereitung und Verteilung.....</b>	<b>77</b>
7.1	Trinkwasserversorgung Magdeburg .....	77
7.2	Prozesskontrolle am Beispiel von Trinkwasseraufbereitungsanlagen und einer Fernwasserleitung.....	80
7.2.1	Untersuchte Aufbereitungsanlagen und Fernwasserleitung.....	80
7.2.1.1	Aufbereitungsprozess im Wasserwerk Granetalsperre .....	80
7.2.1.2	Verteilung des Trinkwassers über Fernwasserleitung .....	81
7.2.1.3	Aufbereitungsprozess im Wasserwerk Ramlingen.....	83
7.2.1.4	Untersuchungsparameter.....	83
7.2.2	Ergebnisse der Aufbereitung im WW Granetalsperre und der FWL Grane-Ost ..	84
7.2.3	Ergebnisse der Aufbereitung im WW Ramlingen.....	91
7.2.4	Zusammenfassung und Fazit .....	97
<b>8</b>	<b>Versuche zur Standardisierung.....</b>	<b>98</b>
8.1	Einleitung .....	98
8.2	Probenahmegefäße: Kunststoff und Glas.....	98
8.3	Lagerung der Proben .....	99
8.4	Färbeprotokoll .....	101
8.4.1	Einfluss der Inkubationszeit.....	101
8.4.2	Einfluss der Zeit bis zur Messung.....	105
8.4.3	Verschleppung von Zellen (Waschschritte) .....	110
8.4.4	Einfluss von Farbstoffen und Lösungsmitteln .....	111
8.5	Gating .....	116
8.5.1	Allgemeines über das Gating .....	116
8.5.2	TCC .....	116
8.5.3	HNA und LNA .....	120
8.5.4	ICC.....	122
8.6	Einfluss von Störstoffen.....	123
8.7	Fazit .....	128
<b>9</b>	<b>Ringversuche .....</b>	<b>129</b>

9.1.1	Übersicht.....	129
9.1.2	Vorgehensweise.....	129
9.1.3	Methode zum Vergleich der Messwerte .....	130
9.1.4	Individuelle und einheitliche Auswertung .....	130
9.1.5	Abweichung der Replikate.....	130
9.1.6	Ergebnisübersicht .....	132
9.1.7	Details zu Ringversuch I.....	133
9.1.8	Details zu Ringversuch II.....	138
9.1.9	Details zu Ringversuch III.....	143
9.1.10	Fazit der Ringversuche .....	147
<b>10</b>	<b>SOPs.....</b>	<b>148</b>
10.1	Einleitung .....	148
10.2	Kurz-SOP auf einer Seite .....	148
10.3	Detailliertes SOP .....	149
10.3.1	Probenahme und Lagerung.....	149
10.3.2	Vorbehandlung der Proben .....	149
10.3.3	Zusätzliche Kontrollen .....	150
10.3.4	Färbung der Proben .....	151
10.3.5	Messung im Durchflusszytometer .....	152
10.3.6	Auswertung der Daten und Gating .....	155
10.4	Tipps für unerfahrene Nutzer.....	158
<b>11</b>	<b>Verfügbare Geräte .....</b>	<b>159</b>
<b>12</b>	<b>Schlussfolgerungen und Ausblick .....</b>	<b>160</b>
12.1	Zusammenfassendes Fazit .....	160
12.2	Ausblick.....	161
<b>13</b>	<b>Danksagung .....</b>	<b>162</b>
<b>14</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>163</b>
<b>15</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis.....</b>	<b>168</b>
<b>16</b>	<b>Abbildungsverzeichnis.....</b>	<b>169</b>
<b>17</b>	<b>Tabellenverzeichnis.....</b>	<b>178</b>