

AA-Anleitung

MicroSnap – Coliforme und *E. coli*



Bestandteile:

- MicroSnap Anreicherungs Besteck für Oberflächenabstriche, Flüssigkeiten und Nahrungsmittelsuspensionen (HrSt.# MS1-CEC)
- MicroSnap Anreicherungsbrühe für filtrierbare Flüssigproben (HrSt # MS1-CEC-BROTH-2ML)
- MicroSnap Coliform Detektions-Besteck (HrSt. # MS2-COLIFORM)
- MicroSnap *E. coli* Detektions-Besteck (HrSt # MS2-ECOLI)

Beschreibung / Einsatzzweck:

Die MicroSnap Testgruppe steht für schnelle Biolumineszenztests zum Nachweis und zur Auszählung spezifischer Organismen. MS2-COLIFORM & MS2-ECOLI Tests weisen spezifisch *Coliforme* and *Escherichia coli* in weniger als 8 Stunden nach.

Die Tests bestehen aus einem Anreicherungsstäbchen mit einem spezifischen Wachstumsmedium und einem Detektionsstäbchen mit einem bioluminogenen Substrat. Der Nachweis wird in einem kleinen tragbaren Luminometer angezeigt. In Step 1 (Anreicherung), wird die Probe in einem Wachstumsmedium angereichert. Mit vermehrtem Bakteriumwachstum geht auch das Wachstum der Diagnostik-Enzyme einher (Beta-Galactosidase und Beta-Glucuronidase), die für die bioluminogene Reaktion erforderlich sind. Die Inkubationsdauer richtet sich nach der gewünschten Empfindlichkeit. Nach der Inkubation wird ein Aliquot der Probe in das Detektionsstäbchen transferiert. In Step 2 (Detektion) wird das Detektionsstäbchen aktiviert und 10 Minuten inkubiert. In dieser Zeit reagiert ein spezifisches Substrat mit dem diagnostischen Enzym unter Lichtproduktion. Das Licht wird in Sekundenschnelle im Luminometer gemessen. Die Lichtemission ist direkt proportional zur vorhandenen Bakterienkonzentration.

Der MicroSnap wird als Test einer Oberfläche, einer Produktprobe, von Wasser oder anderer filtrierbarer Flüssigkeiten eingesetzt. MicroSnap ist für die Lebensmittelindustrie entwickelt worden, insbesondere für die Fleisch-, Milch- und Gemüse verarbeitende Industrie sowie für die Trinkwasser- und Getränkeindustrie.

Benötigte Materialien (Nicht enthalten):

- Verdüner für Produktproben. o Gepuffertes Peptonwasser o M.R.D.-Verdüner Butterfields o Andere validierte Flüssigkeiten der Wahl
- Sterile 0.45µm Filter, Filterzubehör, 47mm Petrischalen für große Probenflüssigkeiten
- Inkubator für 37°C ± 0.5°C
- EnSURE o. SystemSURE Plus Luminometer

Testablauf:

Instructional Video: www.youtube.com/HygieneTV

Step 1: Anreicherung

Der Anreicherungsprozess wird weiter unten beschrieben und in Schritt 1 der Diagramme dargestellt.

Oberflächenproben und Produktproben:

- 1) Entnehmen Sie eine Probe und geben Sie diese in das MicroSnap Anreicherungsbesteck (Part. # MS1-CEC). Als Probe gelten:
 - 1.1 Oberfläche – einen Abstrich nehmen von einer 10 x 10 cm großen Fläche oder – bei unregelmäßigen Oberflächen – so viel wie möglich, um eine repräsentative Probe zu erhalten.
 - 1.2 Flüssigkeit - 1mL flüssige Nahrungs-, Getränke- oder Wasserproben werden direkt in das Anreicherungsbesteck gegeben.
 - 1.3 Feststoff - 1mL eines 10% w/v (Gew/Vol) Lebensmittel-Homogenates direkt in das Anreicherungsbesteck. Das Homogenat sollte unter Beachtung mikrobiologischer Standards erstellt werden (i.a. 50g in 450ml Diluent gem. der AOAC Validierung). Andere Probengrößen müssten vom Anwender validiert werden.
- 2) Geben Sie den Tupfer wieder in das Röhrchen zurück. Das Besteck sollte genau so aussehen, wie bei der ersten Entnahme aus der Packung.
- 3) Aktivieren Sie das Anreicherungsbesteck durch Hin- und Herbiegen.
- 4) Den Bulbus-Tupfer aus dem Röhrchen etwa 3 – 5 cm hochziehen, und den Bulbus gut ausdrücken, um die gesamte Flüssigkeit auf den Boden des Röhrchens zu entleeren. Den Bulbustupfer wieder fest ins Röhrchen drücken, um die Probe zu sichern.
- 5) Schütteln Sie das Röhrchen sanft, um Probe und Anreicherungsflüssigkeit zu vermischen.
- 6) Inkubation bei 37° ± 0.5°C. 6 Std für einen quantitativen Nachweis,
- 7) 8 Stunden für den qualitativen Nachweis Ja/Nein.

Große filtrierbare Proben:

- 1) Probe ziehen bis maximal 100ml und durch eine 0.45 µm Filtermembrane mit 25 mm o. 47 mm Durchmesser filtern.
- 2) Den Filter aseptisch in eine sterile passende Petrischale geben, ca 47 mm Durchmesser.
- 3) Den gesamten Inhalt des Anreicherungsmediums (MS1-CECBROTH-2ML) in die sterile Petrischale füllen.
- 4) Die Petrischale bei 37° ± 0.5°C inkubieren. Zwecks Auszählens sind 6 Std. zu inkubieren. Zwecks Ausschlusses sind 8 Std. zu inkubieren.

Step 2: Detektion:

Der Detektionsvorgang wird im Folgenden beschrieben und unter Schritt 2 in den Diagrammen dargestellt

- 1) Lassen Sie das MicroSnap Coliform o. das MicroSnap *E. coli* Detektionsbesteck Raumtemperatur annehmen (10 Min. auf 22-26° C). Das Testbesteck mehrmals an die Handinnenfläche antippen oder eine kräftige Schleuderbewegung nach unten hin ausführen. Dies lässt die Extraktionsflüssigkeit auf den Grund des Röhrchens gelangen.
- 2) Transfer der angereicherten Probe in das Detektionsbesteck.
 - 2.1 Ein Proben-Aliquot (optimales Volumen sind 0,1ml = 3 Tropfen) aus dem Anreicherungsbesteck in das Detektionsbesteck tropfen. Dabei wird der Tupfer des Anreicherungsbestecks als Pipette genutzt: Durch Drücken des Bulbus und wieder Loslassen wird der Probensatz im Röhrchenboden gemischt und in den Bulbustupfer aufgezogen. Den Tupfer aus dem (Bulbus)Röhrchen ziehen und 3 Tropfen = 0.1ml bis zur Markierung ins (Detektions)Röhrchen des Detektionsbestecks tropfen. Der Probenrest kann ins Anreicherungsbesteck zwecks weiterer Tests zurück befördert werden.
 - 2.2 Bei gefilterten Proben, wird das Proben-Aliquot von 0,1 ml aseptisch von der Brühe in der Petrischale genommen und in das Detektionsbesteck getropft.
- 3) Aktivieren Sie das Detektionsbesteck durch Brechen des Knickverschlusses, indem Sie mit Daumen und Zeigefinger den Bulbus vor und zurück biegen. Drücken sie den Bulbus 3 mal, um die gesamte Flüssigkeit auf den Grund des Röhrchens zu befördern.
- 4) Zum Vermischen sanft hin und her schwenken.
- 5) Das Detektionsbesteck 10 Min. (± 0.2 min) bei 37° ± 0.5°C inkubieren.
- 6) Geben Sie nach 10 Minuten Inkubation das gesamte Besteck ins Luminometer, schließen Sie den Deckel und halten Sie das Gerät aufrecht, drücken Sie die Taste „OK“ um die Messung zu starten. Das Ergebnis liegt nach 15 Sekunden Zählzeit vor.
- 7) Das Ergebnis wird in RLU (Relative Licht Einheiten) auf dem Display angezeigt. Die RLU-Schranken im Gerät entsprechend den erwünschten CFU-Akzeptanz/Ablehnungs-Niveaus ausrichten. Siehe Die Korrelation finden Sie im Abschnitt "Interpretation der Ergebnisse".

Folgetests:

Wenn der MicroSnap Coliform Test positiv ist, wird auf Vorliegen oder Nicht-Vorliegen von *E. coli* getestet, hierzu ist Step 2 des obigen Testablaufes zu wiederholen mit dem MS2-ECOLI Detektionsbesteck. Falls nur der *E. coli*-Test durchgeführt wurde, sollte bedacht werden, diesen durch einen zusätzlichen Test zu bestätigen.

Interpretation der Ergebnisse:

Die Ergebnisse werden in Relativen Lichteinheiten angezeigt (RLU). Tabelle 1 zeigt die geschätzten CFU-Äquivalente für die gemessenen RLU. Die Aussage gilt für die in der Probe vorhandenen Coliformen bzw. *E. coli* Keime.

Hygiene's 2 für diesen Test zugelassene Luminometer unterscheiden sich durch Performance und Empfindlichkeit, demzufolge unterscheiden sich auch die RLU-Werte (S. Tabelle 1). SystemSURE Plus und EnSURE Luminometer haben eine 4-stellige RLU-Anzeige und Ergebnisse ≥10,000 RLU sind außerhalb der Anzeigeskala.

Quantitative Messung:

Inkubationszeit: 6 Stunden

Die Lichtemission ist proportional zu dem Ausgangsinokulum und korrespondiert mit der entsprechenden Bakterienzahl (ausgedrückt in CFU = KBE).

AA-Anleitung MicroSnap – Coliforme und *E. coli*

Siehe Tabelle 1. Die Werte stammen aus der AOAC Validierung von 2013. Die Übereinstimmung zwischen den traditionellen Methoden und MicroSnap ist größer als 92%.

Tabelle 1: Beziehung zwischen KBE and MicroSnap Coliform and *E.coli* RLU

Geschätzte KBE	RLU Äquivalent	
	SystemSURE Plus	EnSURE
<10	< 2	< 2
<20	< 3	< 4
<50	< 6	< 7
<100	< 8	< 12
<200	< 12	< 20
<500	< 25	< 35
<1000	< 50	< 60
<5000	< 85	< 180
<10000	< 150	< 300

Qualitative Messung:

Inkubationszeit: 8 Stunden

Qualitative Messungen (vorhanden ja/nein) werden i.a. vorgenommen, um niedrige Spiegel einer Kontamination wie <10 CFU/g in einem Lebensmittel oder <1 KBE/100mL in einer Wasserprobe aufzudecken. Nach der Probenzubereitung würde das Inokulum im Anreicherungsschritt entweder kein Bakterium oder ≥ 1 KBE enthalten.

Nach 8 Stunden Inkubation bei 37°C, erzeugt ein Inokulum von 1 KBE genügend enzymatische Aktivität für einen Nachweis. Die Werte für "vorhanden/nicht vorhanden" wurden in der AOAC-Validierungsstudie mit inokulierten Lebensmittelproben aus dem 405 Coliforme-Stamm und 315 *E. coli*-Stamm kalkuliert. Die RLU-Schranken für "vorhanden, nicht vorhanden" zeigt Tabelle 2 unten.

Tabelle 2: Die RLU-Schranken für die qualitative Messung

Ergebnis	SystemSURE Plus	EnSURE
Nichtvorhanden	0	0
fraglich	1	1
vorhanden	≥ 2	≥ 2

Die meisten Inokula von Coliformen & *E. coli* Bakterien mit einem niedrigen Spiegel produzieren genügend Enzymaktivität, wenn 8 Stunden inkubiert wurde. Eine Verlängerung der Anreicherung über 8 Stunden hinaus bringt für die Nachweisgrenze oder Empfindlichkeit keinen Nutzen.

Ergebnisse mit niedrigem RLU (z.B. 0,4) zeigen eine geringe Kontamination an. Der RLU-Ausschlag wird bei verlängerter (10 Minuten oder mehr) Inkubation des Detektionsbesteckes bei 37°C graduell erhöht. Umgekehrt werden Proben ohne Kontamination, keine Steigerung des RLU-Ergebnisses haben (siehe Tabelle 3). Dies gewährt eine höhere Sicherheit bei der Interpretation der Ergebnisse.

Tabelle 3: Erweiterte Inkubation

Instrument	1 Ergebnis 10 Min. Inkubation	2. Ergebnis Verlängerte Inkubation	Ergebnis
EnSURE	4 RLU	4 RLU	Negativ
EnSURE	4 RLU	10 RLU	Positiv

AOAC Validierung:

Die vom AOAC Research Institute unter *Performance Tested Methods*SM getesteten Lebensmittel sind in Tabelle 4 unten aufgeführt

Tabelle 4: Validierte Matrices

Coliforme 6 Std. Assay Quantitativ	<i>E. coli</i> 6 Std. Assay Quantitativ	Coliforme 8 Std. Assay Qualitativ	<i>E. coli</i> 8 Std. Assay Qualitativ
Rinderhack	Rinderhack	Rinderhack	Rinderhack
Belegtes Brötchen	BLT-Sandwich	—	BLT-Sandwich
Kabeljau roh	Kabeljau roh	Kabeljau roh	Kabeljau roh
Huhn gekocht	Huhn gekocht	Huhn gekocht	Huhn gekocht
Kopfsalat	Kopfsalat	—	—
Milch	Milch	Milch	Milch
Huhn roh	Huhn roh	Huhn roh	Huhn roh
Kochschinken	Kochschinken	—	—
Garnelen roh	Garnelen roh	Garnelen roh	Garnelen roh
Mineralwasser	Mineralwasser	Mineralwasser	—

Einschluss/Ausschluss:

Die Ergebnisse dieser qualitativen Studien belegen die Testeigenschaft, die auf der Nachweisbarkeit von Organismen beruht. Einschluss heißt Nachweis von Bakterien der Coliformen- und *E. coli*-Gruppe. Ausschluss heißt die Fähigkeit, andere Bakterien, die nicht zu den Coliformen oder zu den *E. coli* gehören auszuschließen, selbst bei hohen Inokulationsspiegeln. MicroSnap misst korrekt alle Bakterien, die bei der erforderlichen Zielkonzentration von 1000 CFU/ml getestet wurden. Die Gesamtliste ist bei Hygiena erhältlich.

Selbst bei niedrigen Spiegeln von 10 -100 KBE/ml misst MicroSnap mit hoher Wahrscheinlichkeit. (S. Tabelle 5 unten). Die Empfindlichkeit (<95%) ist eine berechnete Aussage über die geringsten nachweisbaren Inokulum-Spiegel und nicht zu deuten als ein Fehler beim Nachweis von Organismen.

Tabelle 5: Nachweiswahrscheinlichkeit bei niedrigen Spiegeln (10-100 KBE/ml)

	8 Stunden Coliforme %		8 Stunden <i>E. coli</i> %	
	SystemSURE Plus ^A	EnSURE ^B	SystemSURE Plus ^A	EnSURE ^B
Empfindlichkeit	94	96	88	100
Spezifität	100	100	100	100
PPV (pos. VW)	100	100	100	100
NPV (neg. VW)	92	100	92	100
Genauigkeit	96	100	95	100

A – SystemSURE Plus- Werte in der AOAC Validierungsstudie mit n = 30 Coliforme (alle nicht *E. coli*) und n = 30 *E. coli*

B – EnSURE- Werte in der unabhängigen Studie von Campden Food Laboratories mit n = 45 Stämmen.

Kontrollen:

Es ist empfehlenswert, Positiv- und Negativkontrollen gemäß guter Laborpraxis durchzuführen. Hygiena bietet folgende Kontrollen an:

- Kontrollstäbchen-Set für den Luminometer (Hrst.# PCD4000)
- Positive Coliform-Kontrollen (Hrst # MS-PC-COLIFORM)

Probeneinflüsse:

Einige Nahrungsmittel enthalten natürlicher Spiegel des spezifischen Enzyms und können einen erhöhten Wert anzeigen, der zu einer falsch positiven Anzeige führen könnte (z.B. einige fermentierte Milchprodukte und einige (grüne) Blattsalate.) Jedoch wird hierdurch die Testdurchführung nicht beeinträchtigt, da niedrige Spiegel von Coliformen and *E. coli* vor dem erhöhten Hintergrund nachweisbar sind. Bei diesen Lebensmitteln ist es ratsam, zuerst den Hintergrund vor der Inkubation gleich mit Step 2 zu prüfen sowie nach der Inkubation. Um die Möglichkeit falsch positiver Resultate zu vermeiden, müssen die Schranken umjustiert werden, um die erhöhten Hintergrundspiegel über die minimale Nachweisgrenze hinaus, siehe Tabelle 1 & 2, anzupassen. Für die Mehrheit der Lebensmittel ist dies kein Problem und dieser Hinweis geschieht nur vorsichtshalber.

AA-Anleitung MicroSnap – Coliforme und *E. coli*

Sämige und opake Proben wie unverdünnte Milch können wegen des Brechungseffektes durch Licht gestört werden. Hier sind weitere Proben-
vorbereitung und Testvalidierung erforderlich

Einige Stämme von *Shigella sonnei* können eine falsch positive Reaktion verursachen, welches ebenso eine Limitierung des chromogenen Mediums, das auf dem gleichen diagnostischen Prinzip beruht, darstellt. Stämme von *Hafnia alvei* werden nicht erfasst.

Sicherheit & Vorsichtsmaßnahmen:

Die Komponenten des MicroSnap Testbestecks stellen kein gesundheitliches Risiko dar, wenn sie korrekt angewandt werden. Benutzte Testbestecke, die positive Ergebnisse erzielen, können Gefahrgut sein und müssen gemäß guter Laborpraxis und gemäß geltender Gesundheits- und Sicherheitsregularien sicher entsorgt werden. Vor dem Entsorgen desinfizieren. MicroSnap Testbestecke werden durch Autoklavieren oder durch ein Bad in 20% iger Lauge, 1 Std. lang, desinfiziert.

1. Die Testbestecke sind für den Einmalgebrauch bestimmt.
2. Die Testbestecke nicht nach dem Ablaufdatum benutzen.
3. Die Probennahme sollte aseptisch durchgeführt werden, um Kreuzkontaminationen zu vermeiden.
4. Beachte die korrekte Inkubations-Temperatur und die - Zeit.

Lagerung & Haltbarkeit:

Bei 2 - 8°C lagern.

Die Testbestecke haben eine Haltbarkeit von 12 Monaten. Das Verfallsdatum ist auf dem Etikett sowie auf dem Besteck gedruckt.

Warnung & Verantwortlichkeit des Anwenders:

1. MicroSnap Testbestecke wurden nicht mit allen möglichen Lebensmittelprodukten, Verarbeitungsverfahren, Testprotokollen oder allen möglichen Stämmen der Coliformen durchgeführt.
2. Nicht zur Diagnostik bei Mensch und Tier geeignet.
3. Kein einzelnes Kulturmedium wird den gleichen Bakterienstamm wiederfinden oder einen speziellen Stamm aufzeigen wie ein anderes

Medium. Andere externe Faktoren wie Probennahme, Testprotokoll und Handhabung können die Untersuchung beeinflussen.

4. Es liegt in der Verantwortung des Anwenders, eine Methode zur Auswertung einer ausreichenden Anzahl an Proben auszuwählen.
5. Was bei jedem anderen Kulturmedium gilt, gilt auch für MicroSnap: die Ergebnisse treffen keine Aussage über die Produktqualität.
6. Das Personal muss in der korrekten Technik der Testdurchführung geschult sein.

Hygiena Haftung:

Hygiena wird weder für den Anwender, noch für andere Personen für Verluste und Schäden, direkter oder indirekter Art, die während des Testvorganges oder infolge der Anwendung des Testbesteckes auftreten, haften. Falls dieses Produkt nachweislich defekt ist, so ist es Hygiena's ausschließliche Pflicht, dies zu ersetzen oder den Kaufpreis zu erstatten. Informieren Sie Hygiena unverzüglich innerhalb von 5 Tagen nach dem Auftreten jeglichen vermuteten Defekts und senden Sie das Produkt zurück an Hygiena. Bitte rufen Sie den Kundenservice an, um eine Autorisierungsnummer für die Warenrücksendung zu erhalten.

Kontaktinformation:

Falls Sie weitere Informationen wünschen, kontaktieren Sie uns:

Hygiena International Ltd

Phone: +44 1923 818821
Fax: +44 1923 818825
Email: info@hygiena.com
www.hygiena.com

Übersetzt und bearbeitet von

MEDOGEN Diagnostika

Ortsstraße 8, 86450 Altenmünster
Tel/Fax: 08295 2030 / 2040
Email: medogen@t-online.de
www.medogen.de

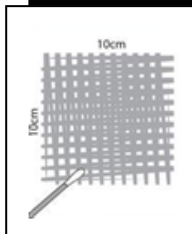
Instruktionsvideo:
www.youtube.com/HygienaTV

AA-Anleitung MicroSnap – Coliforme und *E. coli*

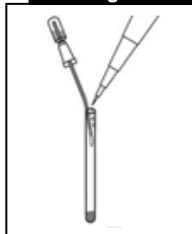
Schritt 1 Anreicherung aus Oberflächenabstrichen, flüssigen und festen Proben

1.

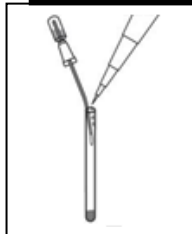
Oberfläche



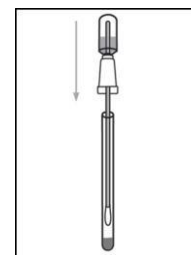
Flüssigkeiten



Feste Proben



2.



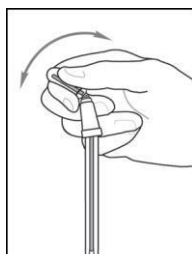
1.1. **Oberfläche:** Mit dem Anreicherungstupfer einen Abstrich einer 10x10 cm großen Fläche oder mehr entnehmen.

1.2. **Flüssigkeiten:** 1ml einer Getränke- oder Wasserprobe direkt in das Anreicherungs-röhrchen.

1.3. **Feste Proben:** 1ml aus 10%iger G/Vol-Suspension aus festen Proben direkt in das Anreicherungs-röhrchen.

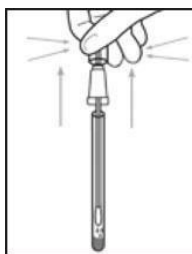
2. Den Abstrichtupfer wieder zurück in das Röhrchen setzen.

3.



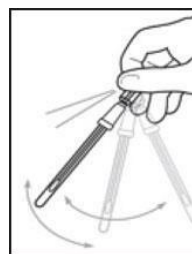
3. Aktivieren Sie das Testbesteck. Biegen Sie den Kolben bis zum Brechen des Knickverschlusses nach vorne und zurück durch.

4.



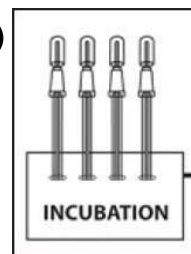
4. Den Stift etwa 3-5 cm aus dem Röhrchen ziehen, den Bulbus ausdrücken, damit die Flüssigkeit in den Röhrchenboden fließt. Jetzt sollte alle Flüssigkeit am Röhrchenboden sein.

5.



5. Das Abstrichbesteck leicht schwenken, um die Probe mit der Flüssigkeit zu vermengen.

6.

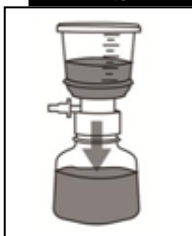


6. Bei 37 ± 0.5 °C inkubieren:
6 Std für die quantitative Messung
8 Std für die qualitative Messung.
Die angereicherte Probe ist fertig.
Zu Schritt 2 gehen.

Schritt 1 Großvolumige filtrierbare Flüssigkeiten

1.1

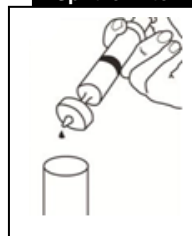
Filter



1.1. **Filter:** Probe durch ein 0,45 µm (Micron) Filter laufen lassen.

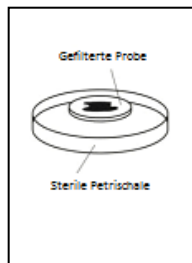
1.2

Spritzenfilter



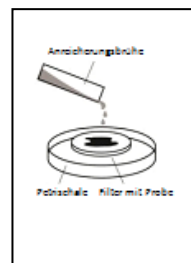
1.2. **Spritzenfilter:** Probe durch ein 0,45 µm (Micron) Spritzenfilter drücken.

2.



2. Nach der Filtration den Filter aseptisch entfernen und in eine sterile Petrischale plazieren.

3.



3. Anreicherungsbrühe (2 ml) auf die Petrischale aufbringen.

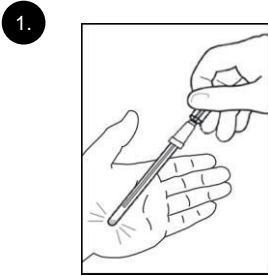
4.



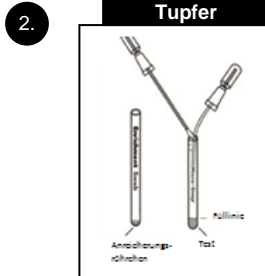
4.-Bei 37 ± 0.5 °C inkubieren:
6 Std für die quantitative Messung
8 Std für die qualitative Messung.
Die angereicherte Probe ist fertig.
Zu Schritt 2 gehen.

AA-Anleitung MicroSnap – Coliforme und *E. coli*

Schritt 2 Nachweis

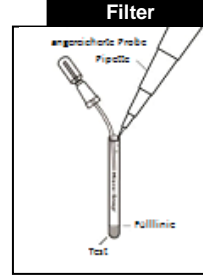


1. Lassen Sie das MicroSnap Detektions-besteck Raumtemperatur annehmen. Mehrmals an die Handfläche schnippen um die Flüssigkeit auf den Röhrchenboden zu bringen.

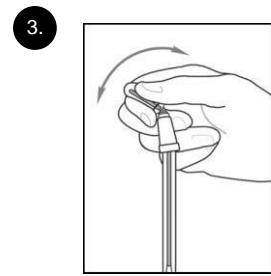


2.1. **Tupfer**: Aseptisch 0,1 ml (etwa 3 Tropfen bis zur Markierung) der angereicherten Probe aus dem MicroSnap Anreicherungs-besteck in das Coliforme Detektionsbesteck geben

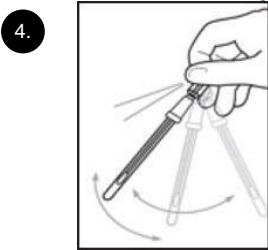
oder



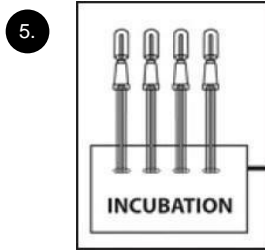
2.2. **Filter**: . Aseptisch 0,1 ml (etwa 3 Tropfen bis zur Markierung) der angereicherten Probe aus der Petrischale in das Coliforme Detektionsbesteck geben



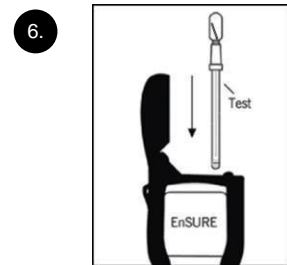
3. Aktivieren Sie das Testbesteck durch Brechen des Knickverschlusses. Drücken Sie den Bulbus mehrmals, um die Flüssigkeit auf den Boden des Röhrchens zu befördern.



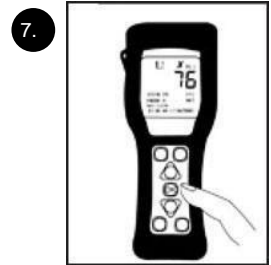
4. Das Testbesteck ca.2 Sekunden schwenken um die Probe mit der Flüssigkeit zu vermischen.



5. Das Coliforme Testbesteck inkubieren bei $37^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ und 10 ± 0.2 Minuten.



6. Das Testbesteck ins Luminometer einführen und die Messung starten.



7. Wenn ein positives Ergebnis für Coliforme gemessen wurde, kann das Vorliegen von *E.coli* durch das *E.coli*-Nachweisbesteck verifiziert werden. Hierzu ist der oben dargestellte Messablauf mit einem Aliquot aus der gleichen angereicherten Probe zu wiederholen.