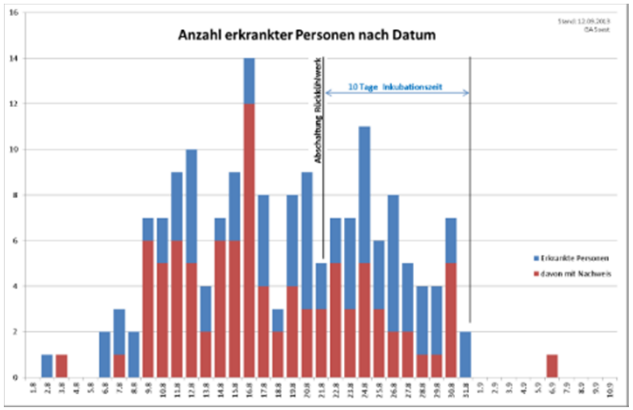
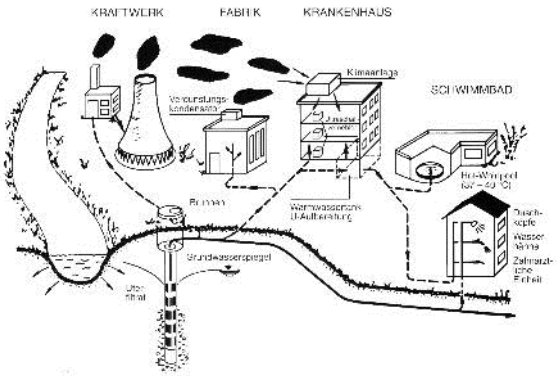
Legionellen in Nicht-Trinkwässern: Analytik, Bewertung, Befunde





Dr. Stefan Pleischl

Institut für Hygiene und Öffentliche Gesundheit
der Universität Bonn

universitätbonn

Institute for Hygiene and Public Health
ihph

Üblicherweise auf Legionellen zu untersuchende Matrices

- Trinkwasser
- Badewasser
- Befeuchterwasser
- Kühlwasser
- Prozesswasser

universitätbonn
Institute for Hygiene and Public Health
ihph

Legionellen-Ausbruch Warstein 2013

universitätbonn
Institute for Hygiene and Public Health
ihph

Probennahme der LKW- Sprühanlage zwecks Staubvermeidung durch Kalksteintransport in Straßenniveau, 21.8.2013

NRZ 22.08.13

Warstein sucht Legionellen-Herd

Zahl der Erkrankten liegt bei über 80. Hygiene-Experte aus Bonn vor Ort

Auf der Suche nach den gefährlichen Legionellen nahm das Team von Professor Exner in Warstein auch an Springbrunnen und Beregnungsanlagen Proben. FOTO: NRZ

universitätbonn ihph

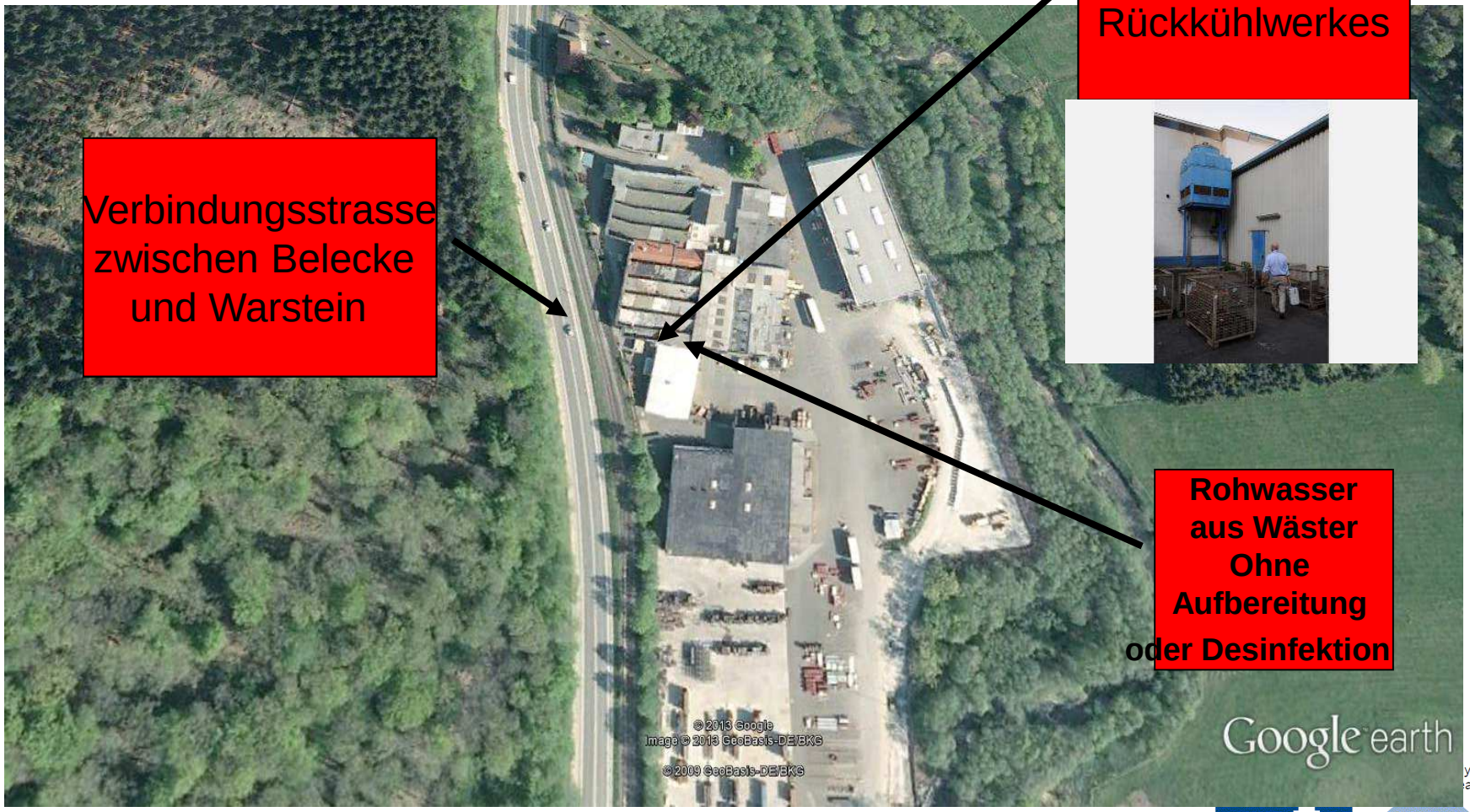
21.8.2013:Rückkühlwerk von Betrieb 1

universitätbonn

Institute for Hygiene and Public Health

ihph

- Untersuchung von 68 Rückkühlwerken.
- Mehr als 880 Umweltproben auf Legionellen untersucht.



universitätbonn ihph

Kommunale Kläranlage Warstein

universitätbonn ihph

Offenes Klärbecken

universitätbonn

Institute for Hygiene and Public Health

ihph

Im Rahmen des Ausbruchsmanagements neu auf Legionellen zu untersuchende Matrices

- Flußwasser
- Rohwasser
- Abwasser
- (Belebt-) Schlamm
- Feststoffe

universitätbonn

Institute for Hygiene and Public Health

ihph

Zu untersuchende Wässer und wasserhaltige Matrices

universitätbonn

Institute for Hygiene and Public Health

ihph

Nachweisverfahren für Legionellen

- ISO 11731 (1998)
  Water Quality - Detection and enumeration of *Legionella*
- ISO/CD 11731-2 (in Vorbereitung)
  Water Quality - Detection and enumeration of *Legionella*
  - Part 2: Detection in drinking water and treated bathing waters by a membrane filtration method
  (Methode veröffentlicht in Bundesgesundheitsblatt 1999-42:650 - 656)
- Empfehlung des Umweltbundesamtes:
  Nachweis von Legionellen in Trinkwasser und Badebeckenwasser (nach Anhörung der Trink- und Badewasserkommission)
  (veröffentlicht in Bundesgesundheitsblatt 2000-43:911 - 915)

INTERNATIONAL STANDARD

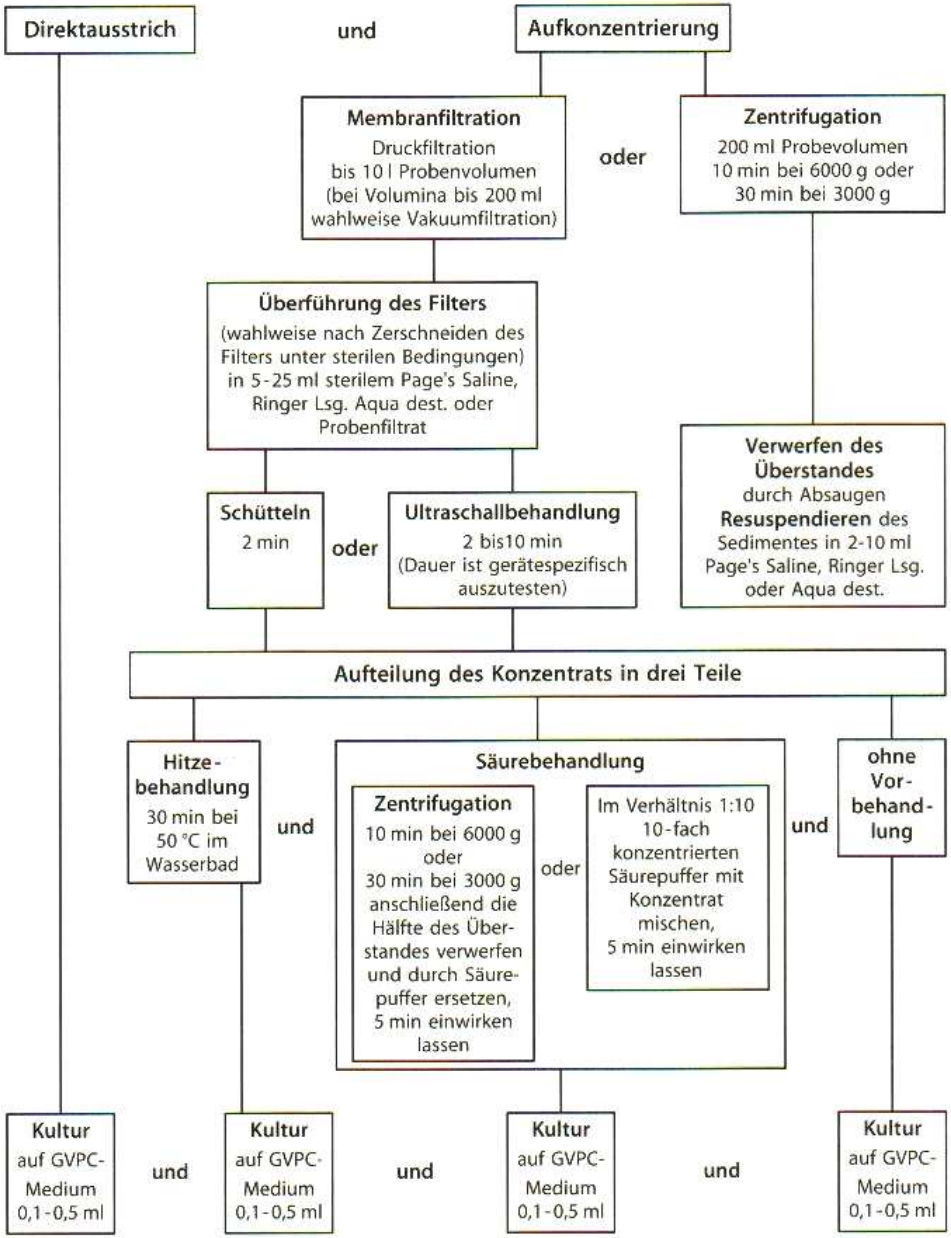
ISO 11731

First edition
1998-5-01

Water quality — Detection and enumeration of *Legionella*

Qualité de l'eau — Recherche et dénombrement des Legionella

Untersuchungsgang nach ISO 11731



Bundesgesundheitsbl -
Gesundheitsforsch - Gesundheitsschutz
1999 · 42:650–656 © Springer-Verlag 1999

Originalien und Übersichtsarbeiten

S. Pleischl [1] · E. Frahm [2] · B. Langer [3] · I. Märthesheimer [4] · T. Richter [5] · R. Szewzyk [6] · B. Schaefer [7] · U. Schwien [8] · W. Treder [9]

[1] Hygiene-Institut der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn · [2] WFM Wasserforschung Mainz GmbH · [3] Hygiene-Institut des Ruhrgebiets zu Gelsenkirchen · [4] Medizinal-, Lebensmittel- und Veterinäruntersuchungsamt Südhessen (Darmstadt) · [5] Institut für Mikrobiologie und Hygiene (IMH) im Berliner Betrieb für zentrale gesundheitliche Aufgaben (BBGes) · [6] Institut für Wasser-, Boden- und Lufthygiene (WaBoLu) im Umweltbundesamt Berlin · [7] Institut für Wasser-, Boden- und Lufthygiene (WaBoLu) im Umweltbundesamt Bad Elster · [8] Institut Fresenius Taunusstein · [9] Umweltlabor ACB GmbH Münster

Ergebnisse eines Ringversuchs zum Vergleich zweier Nachweisverfahren für Legionellen in Wasserproben aus dem DIN ad hoc-Arbeitskreis „Legionellen"

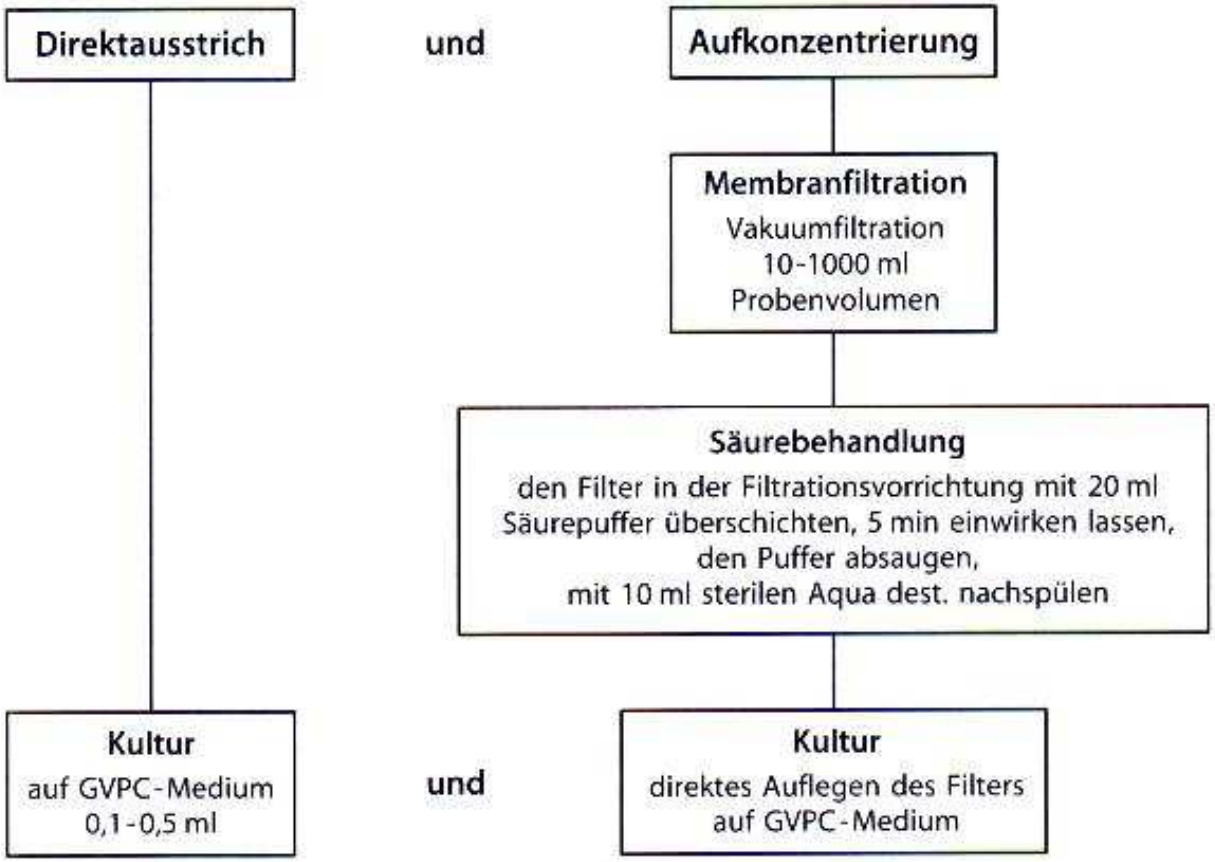
Bundesgesundheitsbl -
Gesundheitsforsch - Gesundheitsschutz
2000 · 43:911–915 © Springer-Verlag 2000

Empfehlung des Umweltbundesamtes

Nachweis von Legionellen in Trinkwasser und Badebeckenwasser

Empfehlung des Umweltbundesamtes nach Anhörung der Trink- und Badewasserkommission des Umweltbundesamtes

Untersuchungsgang nach ISO CD 11731-2 (alternatives Verfahren)



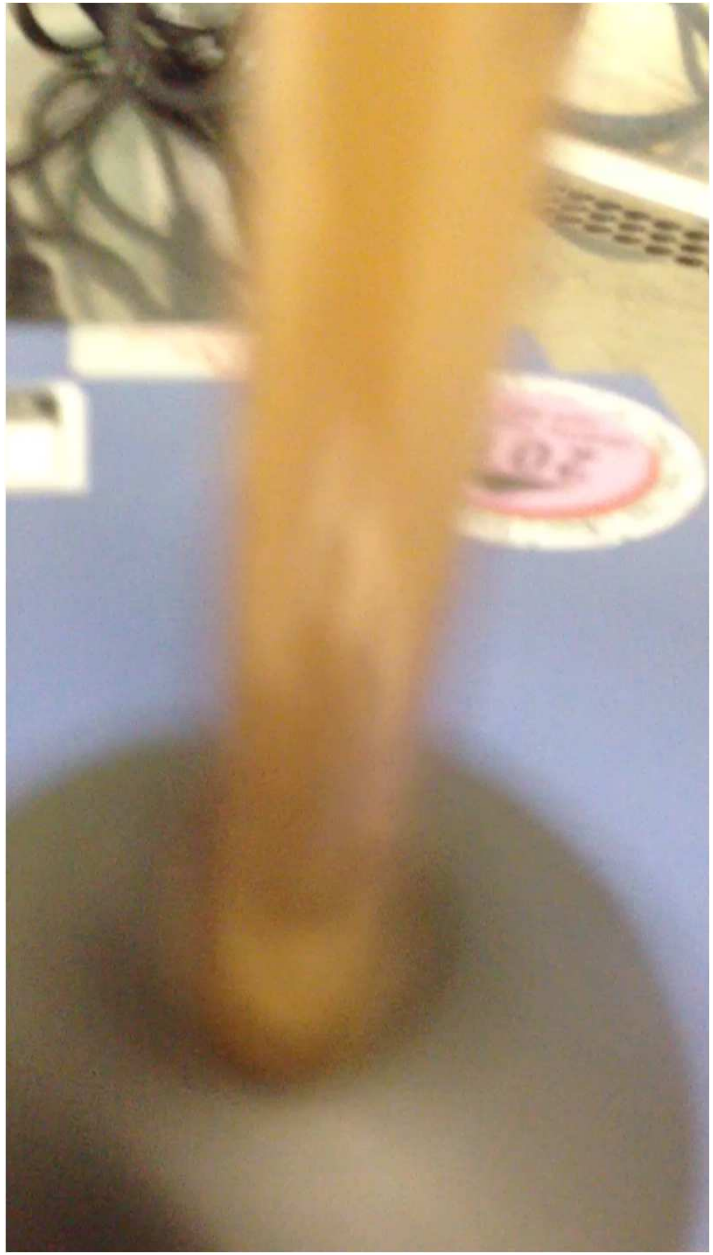
Wie behandelt man solche Proben?

- Ansatzbedingungen:
  - Proben stehen unangekündigt im Labor
  - große Anzahl von Proben
  - Zeitdruck

- Überlegungen:
  - ISO 11731 setzt Rahmenbedingungen
  - Vorfiltrieren (grobporige Laborfilter „Kaffeefilter“) ?
  - Aufkonzentrieren überhaupt sinnvoll ?
  - in Belebtschlamm hohe Begleitkontamination zu erwarten
  - Verdünnungsreihen ?
  - Hitzebehandlung ?
  - Säurebehandlung ?

Filtrieren (Vorversuche)

- Schon bei leicht verfärbten, getrübten Proben nicht mehr sinnvoll



Weiteres Vorgehen

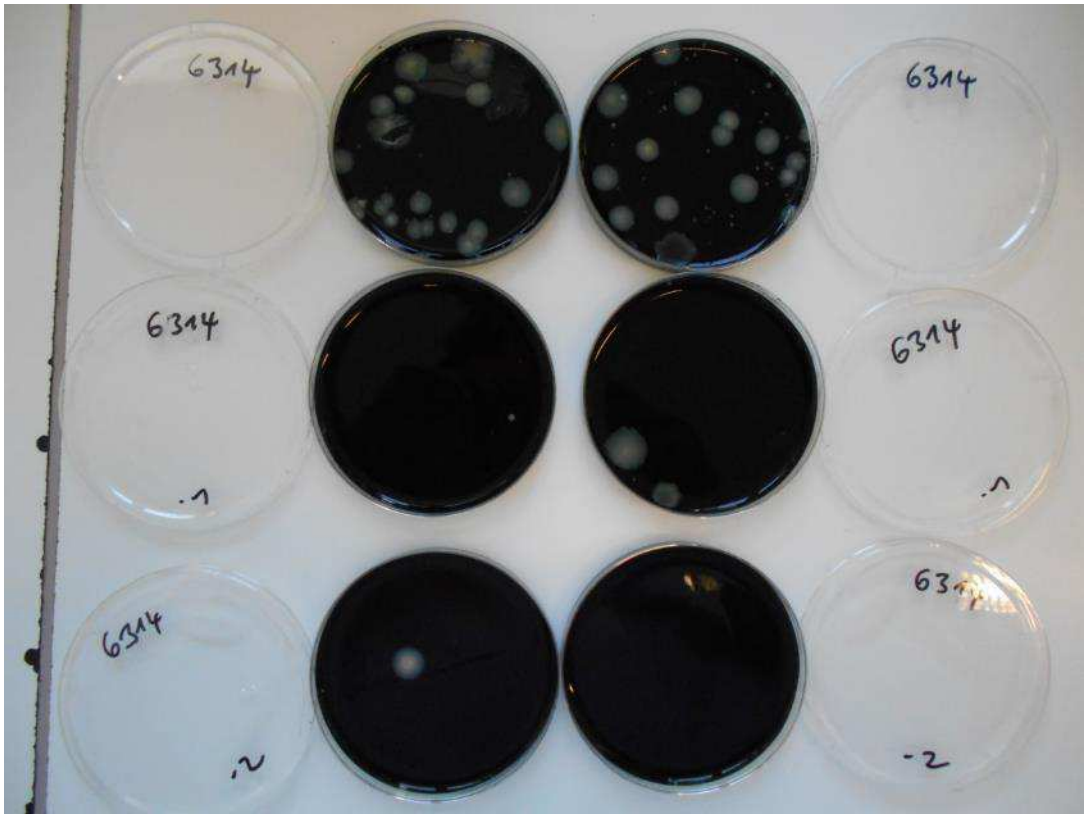
- Information aus Vorversuch:
  - Aufkonzentrierung nicht zielführend

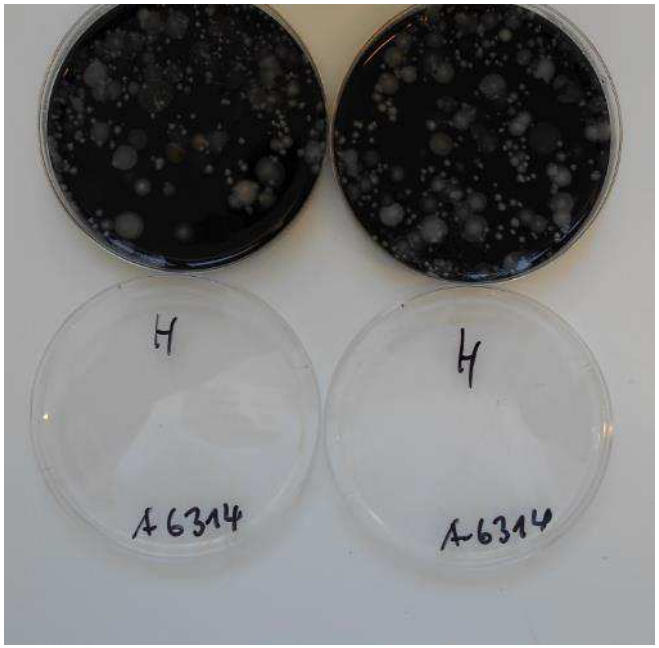
  also:

- Verdünnungsreihen mit
  - Hitzebehandlung
  - Säurebehandlung

- Erfolgsversprechend, aber stark abhängig von gelungener Homogenisierung (Schütteln, Ultraschall, Vortex, Ultraturrax)

Ansätze nach Verdünnungsreihen und Säurebehandlung





Befunde

universitätsklinikumbonn

Institute for Hygiene and Public Health

DAkkS Deutsche Akkreditierungsstelle D-PL-13125-01-01

Untersuchungsbefund vom 11.03.2014

Auftraggeber:	[redacted]		
Objekt:	Diverse Objekte	**Anlage, Probenart:**	Sonstiges, Abwasser, Oberflächenwasser
Entnahme am:	18.02.2014 **durch:** [redacted]	**Anlass:**	Kontrolluntersuchung **Ansatz Labor:** 19.02.2014

Lfd. Nr.	Leg.-Nr.	Bezeichnung der Probe	Uhrzeit	Temperatur Sofort	Temp. bei PN	Temp. bei Konstanz	KBE bei 22°C	KBE bei 36°C	Legionellen	Legionellen Serologie	Legionellen i. Feststoff	Probe-nahme*	
				°C	°C	°C	KBE/1mL	KBE/1mL	KBE/100mL	Serogruppe	KBE /g		
		Bestimmungsverfahren:		DIN 38404/4 (1976)	DIN 38404/4 (1976)	DIN 38404/4 (1976)	TrinkwV 2011, Anl. 5	TrinkwV 2011, Anl. 5	ISO 11731 (1998)	Latex-Test (OXOID)	ISO 11731 (1998)	s. unten	
		Maßnahmewert:		-	-	-	-	-	-	-	-		
[redacted]	H2014 -1266	[redacted]	-	-	-	-	-	-	600	L. spec	-	-	○
	H2014 -1267		-	-	-	-	-	-	-	L. spec	267.000	-	○
	H2014 -1268		-	-	-	-	-	-	<100	-	-	-	
	H2014 -1269		-	-	-	-	-	-	<100	-	-	-	●
	H2014 -1270		-	-	-	-	-	-	2.100.000	2-14, L. spec	-	-	○
	H2014 -1271		-	-	-	-	-	-	<100	-	-	-	
	H2014 -1272		-	-	-	-	-	-	<1.000	-	-	-	❍
	H2014 -1273		-	-	-	-	-	-	5.000	1, 2 - 14	-	-	
	H2014 -1274		-	-	-	-	-	-	<1.000	-	-	-	❍
	H2014 -1275		-	-	-	-	-	-	<1.000	-	-	-	❍
	H2014 -1276		-	-	-	-	-	-	<1.000	-	-	-	❍

● Hohe Begleitkontamination

❍ Hohe Begleitkontamination. Originalansätze nicht auswertbar, in Verdünnungen kein Nachweis. Vorhandensein von Legionellen nicht auszuschließen.

Rückschlüsse

- Schwierige, unterschiedliche Matrices
  (von TW-ähnlich über Schlamm bis Festkörper)
- Oftmals keine Konzentrationsangabe für die Proben möglich, sondern nur Angabe der Nachweisgrenze
- Je inhomogener die Probe desto schwieriger die Ergebnisbildung
- Keine einheitliche Vorgehensweise definiert

- was passiert, wenn unterschiedliche Labore mit verschiedenen Lösungsansätzen zu unterschiedlichen Zeiten an den selben Stellen Proben entnehmen?

Reaktionen der Presse, hier z.B.
WAZ-online vom 22.02.2014:

LEGIONELLEN

Warum gibt es unterschiedliche Messwerte?

„...Nach den Messwerten wird ja die Gefahrenlage bewertet – und diese Werte sind also rein vom Zufall abhängig?
Wir orientieren uns immer am ‘worst case', das heißt, wir gehen vom schlechtesten Fall aus. Die Labore retten sich im Moment damit, dass sie bei trübem Wasser sagen: Wir wissen es nicht genau.
Das eine Labor sagt dann: Es ist unter einer Million. Das kann null sein, kann aber auch 999 999 sein.
Das andere Labor sagt es sind 100, weil wir die genau aus der Probe hochgerechnet haben.
Daraus ergeben sich Probleme, das steht außer Frage.
Diese sind uns aber bekannt und genau deswegen gibt es jetzt auch diese Arbeitsgruppe unter Leitung des LANUV, die in Zusammenarbeit mit den Laboren neue Leitfäden für diese Analysierung erarbeiten soll (siehe Infokasten, Anm. d. Red.).
Aber ganz wichtig: Wir reden hier von trübem Wasser.
...“

Konsequenz

Landesamt für Natur,
Umwelt und Verbraucherschutz NRW
Abteilung 6, Zentrale Umweltanalytik

Stand 06.01.2015

Konzeptvorschlag zur Harmonisierung der Legionellenuntersuchung
- Teil 3 – Laborarbeiten

Inhaltsverzeichnis -Teil 3- Laborarbeiten

1. Anforderungen an Messinstitute 2

2. Allgemeine Empfehlungen zur Probenahmeplanung/ Durchführung der Probenahme 3

3. Ankunft der Probe im Labor 5

4. Laboruntersuchungen 6

4.1 Untersuchung von Proben gemäß der laborseitig getroffenen Einteilung:
„klares (Ab-)Wasser ohne sichtbare Partikel, geringe bis mäßige Begleitflora zu erwarten „ 6

4.2 Untersuchung von Proben gemäß der laborseitig getroffenen Einteilung:
„klares (Ab-)Wasser mit Partikeln, gefärbtes Ab/Wasser, kein KA Ablauf/ Zulauf, geringe bis mäßige Begleitflora zu erwarten“ 6

4.3 Untersuchung von Proben gemäß der laborseitig getroffenen Einteilung:
„KA Zulauf oder andere (Ab-)Wässer mit hoher zu erwartender Begleitflora“ 7

4.4 Untersuchung von Proben gemäß der laborseitig getroffenen Einteilung:
„KA Ablauf oder andere (Ab-)Wässer mit mäßiger bis hoher zu erwartender Begleitflora (noch auswertbar)“ 7

4.5 Untersuchung von Proben gemäß der laborseitig getroffenen Einteilung:
„Proben aus dem Belebungsbecken“ 8

4.6 Untersuchung von Proben gemäß der laborseitig getroffenen Einteilung:
„Klärschlamm“ 9

4.7 Untersuchung von Proben gemäß der laborseitig getroffenen Einteilung:
„Feststoffe Sonstiges: z.B. Sediment, Sielhaut“ 10

Stand 06.01.2016 f. Abschlussbericht Legionellen

- Harmonisierung
- Erste interne Ringversuche der bei dem Störfall in Warstein beteiligten Labore
- Ringversuch des LANUV für interessierte Labore

universitätbonn

Institute for Hygiene and Public Health
ihph