

Nachweis von Legionellen in Trinkwasser Probennahme, Untersuchungsgang und Bewertung

1 Anlass

Die geänderte Trinkwasserverordnung (TrinkwV 2001)ⁱ schreibt für die Untersuchung von Legionellen in Trinkwasser-Installationen von Gebäuden die Probennahme gemäß DIN EN ISO 19458ⁱⁱ, Tabelle 1, Zweck b) vor. Damit ist die Empfehlung des Umweltbundesamtes aus dem Jahr 2000ⁱⁱⁱ in einigen Details nicht mehr aktuell. Diese neue Empfehlung des Umweltbundesamtes dient daher der Klarstellung und gibt Hinweise zur Umsetzung der Vorgaben von Trinkwasserverordnung und allgemein anerkannten Regeln der Technik bezüglich der Legionellenuntersuchung. Die Empfehlung des Umweltbundesamtes aus dem Jahr 2000 wird hiermit zurückgezogen.

2 Trinkwasser

Es ist zu unterscheiden zwischen einer systemischen Untersuchung gemäß Trinkwasserverordnung § 14 Abs. 3 und einer Untersuchung zur Feststellung der Trinkwasserqualität an Entnahmestellen „so wie das Wasser verwendet wird“. Für eine systemische Untersuchung wird der Einfluss der Probennahmestelle, wie in DIN EN ISO 19458, Tabelle 1, unter Zweck b) beschrieben, so gering wie möglich gehalten. Die Probe soll die hygienischen Verhältnisse im Verteilungssystem des Gebäudes widerspiegeln. Wenn gemäß Tabelle 1, Zweck c) beprobt wird, sind Aussagen über die Wasserqualität „so wie das Wasser verwendet wird“ möglich, inklusive eines eventuellen Einflusses der Entnahmematur. Die so erhaltenen Ergebnisse können aber nicht verallgemeinert werden und gelten ausschließlich für die Wasserqualität an der beprobten Entnahmematur.

Im Folgenden wird die systemische Untersuchung gemäß Trinkwasserverordnung beschrieben. Darüber hinausgehende Untersuchungen mit Probenahmen gemäß DIN EN ISO 19458, Tabelle 1, Zweck c) können zum Beispiel in Hochrisikobereichen, in Krankenhäusern sowie anderen medizinischen Einrichtungen und Pflegeeinrichtungen oder bei der Abklärung einer möglichen Infektionsquelle im Umfeld einer Erkrankung sinnvoll sein.

2.1 Festlegung der Probennahmestellen

Gemäß Trinkwasserverordnung § 14 Abs. 3 hat der Betreiber von Trinkwasser-Installationen in Gebäuden bei gewerblicher oder öffentlicher Tätigkeit für Probennahmestellen gemäß der allgemein anerkannten Regeln der Technik zu sorgen. Die Verpflichtung für Planer, Einrichtungen zur fachgerechten Probennahme vorzusehen, ergibt sich aus der VDI-Richtlinie 6023^{iv}. Sie ist auch enthalten im Entwurf der DIN 1988-200^v.

Die Trinkwasserverordnung schreibt eine Probennahme gemäß DIN EN ISO 19458, Tabelle 1, Zweck b) vor. Daher ist eine Desinfektion der Probennahmematur erforderlich. Bei der Installation und bei der Auswahl von Probennahmematuren sind abflammbare Ausführungen zu bevorzugen (siehe auch VDI 6023 Abschnitt 4.1). Unter der Probennahmematur muss genügend Abstand sein, damit Probennahmegefäße ohne Kontakt mit der Probennahmematur unter den Auslauf gehalten werden können. Es ist auf einfache Zugänglichkeit, auf Sauberkeit und geeignete Kennzeichnung der Probennahmestellen zu achten.

Für die systemische Untersuchung können beispielsweise desinfizierbare Entnahmearmaturen oder Eckventile an Waschbecken genutzt werden. An Duschen oder Duschköpfen können Proben gemäß DIN EN ISO 19458, Tabelle 1, Zweck c) zur Beurteilung der Wasserqualität „so wie das Wasser verwendet wird“ entnommen werden. Für eine systemische Untersuchung mit Desinfektion der Probennahmestelle gemäß Trinkwasserverordnung sind sie nicht geeignet.

Die Probennahmestellen, die für die Durchführung einer systemischen Untersuchung gemäß Trinkwasserverordnung § 14 Abs. 3 notwendig sind, beschreibt das DVGW-Arbeitsblatt W 551^{vi}. Für eine orientierende Untersuchung sind danach mindestens am Abgang des Trinkwassererwärmers, am Wiedereintritt der Zirkulationsleitung in den Trinkwassererwärmer sowie an jedem Steigstrang Probennahmestellen erforderlich. Die Probennahmestellen an den Steigsträngen sind an den Stellen mit der längsten Fließstrecke vom Trinkwassererwärmer einzubauen. Einzelzuleitungen zu Entnahmearmaturen bleiben dabei unberücksichtigt. Die Probennahmestellen sollen so kurz wie möglich an die Steigstränge, an die vom Trinkwassererwärmer abgehende Leitung sowie an die Leitung zum Wiedereintritt der Zirkulation in den Trinkwassererwärmer angebunden sein. Probennahmestellen, bei denen die Einzelzuleitung offensichtlich besonders lang ist, sind für eine systemische Untersuchung ungeeignet.

Wenn der Betreiber dieser Verpflichtung für geeignete Probennahmestellen zu sorgen nicht nachgekommen ist oder das Gesundheitsamt Zweifel an der Eignung der Probennahmestellen hat, kann das Gesundheitsamt gemäß Trinkwasserverordnung § 20 anordnen, die Proben „an bestimmten Probennahmestellen nach bestimmten technischen Vorgaben zur Durchführung [...] zu entnehmen oder entnehmen zu lassen.“

2.2 Probennahme

Die Probennahme darf nur durch akkreditierte Labors erfolgen. Diese Labors werden auf Listen der obersten Landesbehörden aufgeführt. Externe Probennehmer müssen in das Qualitätssicherungssystem des Labors eingebunden sein. Eine Zertifizierung des Probennehmers allein genügt nicht den Anforderungen der Trinkwasserverordnung. Die Verantwortung für Auswahl der Probennahmestellen und Durchführung der Probennahme verbleibt ausschließlich bei der Laborleitung des akkreditierten Labors. Eine Abhängigkeit des Probennehmers vom Betreiber der Trinkwasser-Installation muss ausgeschlossen sein.

Das Warmwasserinstallationssystem und, falls erforderlich, das Kaltwasserinstallationssystem sind getrennt voneinander zu beproben. Die Beprobung von Mischwasser ist zu vermeiden. Falls nur Mischwasser für eine Probennahme zur Verfügung steht, ist das auf dem Protokoll der Probennahme zu vermerken.

Die Probennahme erfolgt im Routinebetrieb der Trinkwasser-Installation. Die Proben an allen geforderten Probennahmestellen sind am gleichen Kalendertag zu entnehmen.

Die Probennahme ist zu dokumentieren. Folgende Angaben müssen mindestens enthalten sein:

- Bezeichnung der Probennahmestelle (so dass die Probennahmestelle verwechslungssicher zugeordnet werden kann)
- Name des Probennehmers
- Art der Probennahme (Zweck b) oder Zweck c) gemäß Tabelle 1 DIN EN ISO 19458)

- Datum und Uhrzeit der Probennahme
- Wassertemperatur bei der Probennahme
- Wassertemperatur bei Temperaturkonstanz

Vor der Probennahme werden Anbauten wie Strahlregler von der Armatur entfernt. Die Probennahmestelle muss durch Abflammen oder chemisch desinfiziert werden. Nach der Desinfektion wird ein Liter Wasser in einen Messbecher ablaufen gelassen. Sofort anschließend (ohne Schließen und erneutes Öffnen der Armatur) werden 250 Milliliter Wasser in das sterile Probennahmegefäß abgefüllt und das Probennahmegefäß wird verschlossen. Danach werden unverzüglich weitere 250 ml in einen Messbecher abgefüllt und ebenfalls unverzüglich wird die Temperatur dieses Wassers bestimmt. Diese Temperatur („Probennahmetemperatur“) wird dokumentiert. Anschließend wird der Messbecher weiter gefüllt und dabei die Temperatur kontinuierlich gemessen, bis die Temperatur nicht mehr weiter ansteigt. Die so bestimmte „konstante Temperatur“ wird ebenfalls dokumentiert.

Zum Transport und zur Lagerung der Proben enthalten sowohl DIN EN ISO 19458 als auch DIN EN ISO 11731-2^{vii} Angaben. Gemäß DIN EN ISO 11731-2 sind Proben so schnell wie möglich dem Labor zu übergeben, vorzugsweise innerhalb eines Tages, jedoch nicht später als nach zwei Tagen. Wird die Probe am selben Arbeitstag untersucht, transportiert man die Proben lichtgeschützt bei Umgebungstemperatur. Andernfalls werden die Proben während des Transportes gekühlt – idealerweise bei $(5 \pm 3) \text{ }^\circ\text{C}$. Heiße Wasserproben sollten direkt nach der Probennahme abgekühlt werden. In der Regel sollte die mikrobiologische Untersuchung so bald wie möglich nach Ankunft im Labor begonnen werden, vorzugsweise am Tag der Probennahme.

Weitere Hinweise zur Probennahme finden sich in einer DVGW twin^{viii} sowie in einer DVGW-Wasser-Information^{ix}

2.3 Untersuchungsgang

Die Untersuchung erfolgt gemäß Trinkwasserverordnung § 15 Abs. 4 durch akkreditierte und von den zuständigen Landesbehörden gelistete Laboratorien. Die Trinkwasserverordnung schreibt als Untersuchungsmethode ISO 11731^x sowie DIN EN ISO 11731-2 vor. Es werden 100 ml der Probe mittels Vakuumfiltration und zweimal je 0,5 ml der Probe mittels Direktausstrich untersucht. Die Membranfiltration weiterer Volumina (z.B. 10 ml oder 1 Liter) ist fakultativ.

Es wird nur der Ansatz der Membranfiltration gemäß DIN EN ISO 11731-2 mit Säure behandelt. Eine Behandlung der Direktansätze mit Säure oder Hitze ist nicht zulässig.

2.4 Angabe der Ergebnisse

Gemäß DIN EN ISO 8199^{xi} werden Ansätze in die Gesamtauswertung einbezogen, die zwischen 10 und 200 zählbare Kolonien aufweisen. Aufgrund der bei Legionellenuntersuchungen häufig zu beobachtenden Anzahl von Kolonien bei den Ansätzen wird empfohlen, auch die Ansätze mit fünf oder mehr zählbaren Kolonien in die Gesamtauswertung mit einzubeziehen. Ansätze mit mehr als 200 Kolonien oder mit weniger als 5 Kolonien werden nur berücksichtigt, wenn ansonsten keine anderen auswertbaren Ansätze vorliegen. Diese Auswertung unter Berücksichtigung von Ansätzen mit weniger als fünf Kolonien oder mehr als 200

Kolonien muss im Ergebnisbericht erklärt werden. Auch muss angegeben werden, welche Ansätze gegebenenfalls nicht zur Auswertung mit herangezogen wurden.

Die Gesamtauswertung erfolgt gemäß Formel (1) in Abschnitt 8.4 von DIN EN ISO 8199 und wird als KBE / 100 ml angegeben.

$$\text{Formel (1): } C_S = \frac{Z}{V_{tot}} \times V_S$$

Dabei ist

C_S die berechnete Anzahl an KBE im Referenzvolumen V_S der Probe;

Z die Summe aller gezählten Kolonien auf den Platten oder Membranfiltern verschiedener Verdünnung d_1, d_2, \dots, d_i oder verschiedener Volumina der Untersuchungsprobe (Probe oder Verdünnung);

V_S das gewählte Referenzvolumen zur Angabe der Konzentration der Mikroorganismen in einer Probe;

V_{tot} das berechnete Gesamtvolumen der Originalprobe in den ausgezählten Platten.

Beispiel 1:

1. Direktansatz (0,5 ml): 17 Kolonien

2. Direktansatz (0,5 ml): 8 Kolonien

Membranfiltration (100 ml): 158 Kolonien

$$C_S = \frac{[17+8+158]KBE}{[0,5+0,5+100] ml} \times 100 = \frac{183 KBE}{101 ml} \times 100 = 181,1 \text{ KBE} / 100 \text{ ml}$$

oder gerundet 181 KBE / 100 ml

Beispiel 2:

1. Direktansatz (0,5 ml): 35 Kolonien

2. Direktansatz (0,5 ml): 57 Kolonien

Membranfiltration (100 ml): > 200 Kolonien (nicht auswertbar)

$$C_S = \frac{[35+57]KBE}{[0,5+0,5] ml} \times 100 = \frac{92 KBE}{1 ml} \times 100 = 9200 \text{ KBE} / 100 \text{ ml}$$

Bei dem Ergebnisbericht für Beispiel 2 muss mit angegeben werden, dass das Ergebnis unter Berücksichtigung nur der Direktansätze erhalten wurde, weil die Membranfiltration nicht auswertbar war (> 200 Kolonien).

Beispiel 3:

1. Direktansatz (0,5 ml): 1 Kolonie

2. Direktansatz (0,5 ml): 3 Kolonien

Membranfiltration (100 ml): 0 Kolonien

$$C_S = \frac{[1+3]KBE}{[0,5+0,5] ml} \times 100 = \frac{4 KBE}{1 ml} \times 100 = 400 \text{ KBE} / 100 \text{ ml}$$

Bei dem Ergebnisbericht für Beispiel 3 muss mit angegeben werden, dass das Ergebnis unter Berücksichtigung nur der Direktansätze erhalten wurde und dass bei den Direktansätzen jeweils weniger als 5 Kolonien zählbar waren.

2.5 Beurteilung

Für eine Beurteilung der hygienisch-mikrobiologischen Verhältnisse in der beprobten Trinkwasser-Installation sind im Regelfall die Gesamtergebnisse unter Berücksichtigung aller Untersuchungsergebnisse aus dem untersuchten Gebäude zu bewerten. Von diesem Regelfall kann abgewichen werden, wenn besondere Umstände vorliegen. Das gilt insbesondere bei der Beurteilung von Hochrisikobereichen, bei der Beurteilung im Rahmen von weitergehenden Untersuchungen oder Nachuntersuchungen gemäß DVGW-Arbeitsblatt W 551 oder bei der Auswertung und Beurteilung von Proben, bei denen ein Teil der Ansätze nicht auswertbar sind (z.B. wegen Begleitflora). Die abweichende Beurteilung muss begründet werden.

Gemäß Trinkwasserverordnung § 16 Abs. 1 Nr. 1 muss der Unternehmer oder sonstige Inhaber einer Wasserversorgungsanlage dem Gesundheitsamt unverzüglich anzeigen, wenn der technische Maßnahmenwert von 100 KBE Legionellen pro 100 ml erreicht oder überschritten ist.

3 Hinweise zur Untersuchung von Schwimm- und Badebeckenwasser

Die Untersuchung des Beckenwassers hat gemäß der aktuellen DIN 19643^{xii} nach DIN EN ISO 11731 und die Untersuchung des Filtrats nach DIN EN ISO 11731-2 zu erfolgen. Nach dem Entwurf der überarbeiteten DIN 19643^{xiii} ist absehbar, dass in Zukunft voraussichtlich sowohl das Filtrat als auch das Beckenwasser nach DIN EN ISO 11731-2 untersucht werden.

Die Probennahme von Badebeckenwasser und Filtrat erfolgen gemäß DIN EN ISO 19458. In dieser Norm sind neben den Probennahmen an Entnahmemarmaturen auch Schöpfproben aus Becken beschrieben (Abschnitt 4.4.3). Das Filtrat ist an einer geeigneten und gekennzeichneten Probennahmearmatur gemäß Tabelle 1, Zweck b) zu beproben.

Für die Bewertung der Ergebnisse gelten die Angaben in DIN 19643.

ⁱ Trinkwasserverordnung vom 21. Mai 2001 (BGBl. I S. 959) in der Fassung der Bekanntmachung vom 28. November 2011 (BGBl. I S. 2370)

ⁱⁱ DIN EN ISO 19458: Wasserbeschaffenheit - Probenahme für mikrobiologische Untersuchungen, Beuth-Verlag, Berlin

ⁱⁱⁱ Empfehlung des Umweltbundesamtes: Nachweis von Legionellen in Trinkwasser und Badebeckenwasser, Bundesgesundheitsbl – Gesundheitsforsch – Gesundheitsschutz 2000, 43:911-915

^{iv} VDI-Richtlinie 6023: Hygiene in Trinkwasser-Installationen - Anforderungen an Planung, Ausführung, Betrieb und Instandhaltung, Beuth-Verlag, Berlin

^v Norm-Entwurf DIN 1988-200: Technische Regeln für Trinkwasser-Installationen - Teil 200: Installation Typ A (geschlossenes System) - Planung, Bauteile, Apparate, Werkstoffe; Technische Regel des DVGW, Ausgabe 2011-06, Beuth-Verlag, Berlin

- ^{vi} DVGW-Arbeitsblatt W 551: Trinkwassererwärmungs- und Trinkwasserleitungsanlagen - Technische Maßnahmen zur Verminderung des Legionellenwachstums - Planung, Errichtung, Betrieb und Sanierung von Trinkwasser-Installationen, Beuth-Verlag, Berlin
- ^{vii} DIN EN ISO 11731-2: Wasserbeschaffenheit - Nachweis und Zählung von Legionellen - Teil 2: Direktes Membranfiltrationsverfahren mit niedriger Bakterienzahl, Beuth-Verlag, Berlin
- ^{viii} DVGW twin Nr. 6: Durchführung der Probennahme zur Untersuchung des Trinkwassers auf Legionellen (ergänzende systemische Untersuchung von Trinkwasser-Installationen), DVGW, Bonn
- ^{ix} DVGW-Wasserinformation Nr. 74: Hinweise zur Durchführung von Probennahmen aus der Trinkwasser-Installation für die Untersuchung auf Legionellen, DVGW, Bonn
- ^x ISO 11731: Wasserbeschaffenheit - Nachweis und Zählung von Legionellen, Beuth-Verlag, Berlin
- ^{xi} DIN EN ISO 8199: Wasserbeschaffenheit - Allgemeine Anleitung zur Zählung von Mikroorganismen durch Kulturverfahren, Beuth-Verlag, Berlin
- ^{xii} DIN 19643: Aufbereitung von Schwimm- und Badebeckenwasser, Beuth-Verlag, Berlin
- ^{xiii} Norm-Entwurf DIN 19643: Aufbereitung von Schwimm- und Badebeckenwasser, Ausgabe 2011-05, Beuth-Verlag, Berlin