

Hochschule für angewandte Wissenschaften Hamburg

Fakultät Life Science

Studiengang Ökotoxikologie

**Vorkommen und Tenazität von *Legionella species*  
in Trinkwasser**

Bachelorarbeit

Tag der Abgabe: 10.02.2015

**Vorgelegt von**

Melanie Hüpsel

Matrikelnummer: 2098480

**Betreuender Prüfer**

Prof. Dr. Michael Häusler

**Zweiter Prüfer**

Alexander Hartmann

## Vorwort

Diese Bachelorarbeit wurde im Anschluss an das Pflichtpraktikum des Studiengangs Ökotoxikologie der HAW Hamburg in Zusammenarbeit mit dem Labor Dr. Graner & Partner erstellt.

An dieser Stelle möchte ich die Gelegenheit nutzen, mich bei all denen zu bedanken, die diese Bachelorarbeit ermöglicht und mich bei der Erstellung unterstützt haben.

Zunächst möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Michael Häusler für die Betreuung, auch während des Praktikums, herzlich bedanken.

Ein besonderer Dank geht an das Labor Dr. Graner & Partner, insbesondere an Alexander Hartmann für die Überlassung des Themas und die Übernahme der Zweitkorrektur.

Allen Mitarbeitern des Labors Dr. Graner & Partner der Abteilung Mikrobiologie möchte ich recht herzlich für die gute Zusammenarbeit und die Unterstützung danken, ohne die die Arbeit in dieser Form nicht möglich gewesen wäre.

Des Weiteren bedanke ich mich bei Herrn Dr. Peter Riemschneider, Herrn Dr. Daniel Schäfer und Frau Conny Bartholmes für ihre fachliche Unterstützung.

Ein ganz besonderer Dank geht an meinen Freund, Jasper Stern, der mich während der Erstellung der Arbeit immer wieder aufgebaut und motiviert hat.

Meinen Eltern danke ich von ganzem Herzen für ihre Unterstützung, ihr Vertrauen, ihr Verständnis und ihren Optimismus, denn ohne sie wäre das Studium nicht möglich gewesen.

## Inhalt

Vorwort.....	I
Abkürzungsverzeichnis .....	IV
Abbildungsverzeichnis.....	V
Tabellenverzeichnis.....	VI
1 Einleitung.....	1
2 Grundlagen.....	3
2.1 Mikrobiologische Grundlagen .....	3
2.2 Rechtliche Grundlagen und Empfehlungen .....	4
2.2.1 Trinkwasserverordnung 2001 .....	5
2.2.2 Empfehlung des Umweltbundesamtes .....	6
2.2.3 DVGW-Arbeitsblatt W 551 / April 2004 .....	6
2.3 Aktueller Stand zur Probenahme und Probenanalyse .....	7
2.3.1 Vorbereitung .....	7
2.3.2 Probenahme .....	7
2.3.3 Probentransport.....	9
2.3.4 Analyse der Proben .....	9
2.3.5 Auswertung der Analyse .....	11
3 Vorkommen von Legionellen in Trinkwasser .....	13
3.1 Ziel der Untersuchung .....	13
3.2 Ausgewähltes Datenmaterial.....	13
3.3 Auswertung und Diskussion der Ergebnisse von 2012 bis 2014.....	13
3.3.1 Vorkommenshäufigkeit von Legionella species und Vergleich zweier Analysemethoden.....	14
3.3.2 Häufigkeit der kontaminierten Immobilien .....	20

3.3.3	Zusammenhang zwischen dem Vorkommen von Legionella species und der Temperatur .....	22
3.4	Fazit der statistischen Untersuchung .....	26
4	Tenazität von Legionellen .....	28
4.1	Ziel der Untersuchung .....	28
4.2	Material und Methoden .....	28
4.3	Ergebnisse und Diskussionen zur Tenazität von Legionellen .....	29
4.4	Fazit der Versuche.....	35
5	Zusammenhang zwischen Vorkommen und Tenazität .....	36
6	Abschlussbetrachtung.....	37
6.1	Zusammenfassung der wichtigsten Erkenntnisse.....	37
6.2	Kritische Betrachtung der Arbeit.....	37
6.3	Ausblick.....	39
	Literaturverzeichnis .....	VII
	Rechtsquellenverzeichnis.....	X
	Zusammenfassung.....	XI
	Eidesstattliche Erklärung.....	XIII
	Anhang.....	XIV

## Abkürzungsverzeichnis

DIN	Deutsches Institut für Normung
DVGW	Deutscher Verein des Gas- und Wasserfaches e.V.
EN	Europäische Norm
et al.	et alii (und andere [Autoren])
etc.	et cetera (und so weiter)
Hrsg.	Herausgeber
IfSG	Infektionsschutzgesetz
ISO	International Organization for Standardization
KbE/mL	Koloniebildende Einheit pro Milliliter
n.n.	nicht nachweisbar
o.J.	ohne Jahr
TrinkwV	Trinkwasserverordnung
z.B.	zum Beispiel

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 relative Häufigkeiten der Untersuchungsergebnisse auf <i>Legionella species</i> der Jahre 2012, 2013 und 2014 .....	15
Abbildung 2 Trend zur Häufigkeit des Vorkommens von Legionellen.....	16
Abbildung 3 Vergleich von nativer Analyseverfahren und der Analyseverfahren mit Säurebehandlung.....	17
Abbildung 4 Übereinstimmung der Ergebnisse von zwei Analyseverfahren zur Untersuchung auf <i>Legionella species</i> .....	19
Abbildung 5 Relative Häufigkeiten von kontaminierten Immobilien .....	20
Abbildung 6 Überblick des Vorkommens von <i>Legionella species</i> in Immobilien .....	21
Abbildung 7 Abhängigkeit des Legionellen-Vorkommens von der Maximaltemperatur 2012 bis 2014 .....	23
Abbildung 8 Abhängigkeit des Legionellen-Vorkommens von der Temperatur der Probenahme 2012 bis 2014 .....	24
Abbildung 9 Temperaturverteilung von Maximaltemperatur und Temperatur bei Probenahme .....	25
Abbildung 10 Vergleich von relativen Abweichungen der Anfangskonzentrationen von der Versuchsreihe mit sterilem, entionisiertem Wasser bei 6 °C, Raumtemperatur(RT), 30 °C und 42 °C .....	30
Abbildung 11 Vergleich von relativen Abweichungen der Anfangskonzentrationen von der Versuchsreihe mit unbehandeltem Trinkwasser bei 6 °C, Raumtemperatur(RT), 30 °C und 42 °C .....	32
Abbildung 12 Vergleich von sterilem, entionisiertem Wasser und unbehandeltem Trinkwasser bei 6 °C und 42 °C.....	33
Abbildung 13: Tenazität von Legionellen in Kundenproben .....	34

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1	Absolute Häufigkeiten der Untersuchungsergebnisse auf Legionella species der Jahre 2012, 2013 und 2014 .....	14
-----------	---	----

## 1 Einleitung

Trinkwasser ist im Volksmund das wichtigste Lebensmittel. Doch es wird nicht nur als Lebensmittel genutzt, sondern auch zur Körperpflege. Da Trinkwasser nicht steril ist, kann es einen idealen Lebensraum für viele Bakterien bieten. Zu diesen Bakterien zählen auch Legionellen. Die sogenannte Legionellose oder auch Legionärskrankheit kann tödliche Folgen haben. Da Legionellen vorwiegend durch Aerosol in die Lungen gelangen und dort zu einer schweren Pneumonie führen können, ist besonders beim Duschen mit kontaminiertem Wasser Vorsicht geboten (Lück et al., 2002, S. 174).

Dem Robert-Koch-Institut wurden 2013 insgesamt 922 Legionellosen gemeldet. Davon hatte die Krankheit bei 48 Patienten einen tödlichen Verlauf. Dies entspricht einer Letalität von 5,2 %. Nur vier der insgesamt 27 meldepflichtigen Krankheiten mit mindestens 100 Krankheitsfällen haben eine höhere Letalität. Besonders beunruhigend ist die, seit der Einführung der Meldepflicht 2001, kontinuierlich steigende Anzahl der gemeldeten Legionellosen (Robert Koch-Institut, 2014, S. 41/131ff).

Aufgrund der Meldepflicht können alle diagnostizierten Legionellosen verzeichnet und statistisch untersucht werden (§ 7, Abs. 1, Satz 1, Nr. 27, IfSG). Anders sieht es bei den Daten über das Vorkommen von Legionellen in deutschen Immobilien bzw. deren Warmwassersystemen aus. Mit der Novellierung der Trinkwasserverordnung 2001 kam es zwar zu einer Einführung der Untersuchungspflicht von Trinkwasser auf Legionellen, jedoch müssen seitdem nur die Überschreitungen des technischen Maßnahmenwertes von 100 koloniebildenden Einheiten pro 100 Milliliter (KbE/100 mL) Trinkwasser dem zuständigen Gesundheitsamt gemeldet werden (§ 14 Abs. 1 Satz 1 Nr. 1 TrinkwV). Daraus können somit keine Angaben über die Anzahl der kontaminierten Immobilien gemacht werden. Durch bereits durchgeführte, meist örtlich begrenzte, Untersuchungen zum Vorkommen von Legionellen konnten diese bei 19 bis 62 % der untersuchten Immobilien nachgewiesen werden (Harmuth, 2006, S. 42; Pleischl, 2004, S. 46).

Anhand der Daten von Untersuchungen auf Legionellen in Trinkwasser des Labors Dr. Graner & Partner soll im Rahmen dieser Arbeit eine Aussage zum Vorkommen in den Jahren 2012 bis 2014 für die Metropolregion München gemacht werden. Mit diesen Daten kann eine aktuelle Darstellung mit Bezug zur Praxis gemacht werden.

Das Labor Dr. Graner & Partner ist ein mittelständisches Unternehmen mit Sitz in München, welches chemische und mikrobiologische Analysen in den Bereichen Umwelt, Lebensmittel,



Kosmetik, Arzneimittel und Bedarfsgegenstände durchführt. Im Jahr 1964 wurde das Labor Dr. Graner & Partner von Dr. Gerhard Graner gegründet. Seit 2001 gehört es zu der Sakosta Holding AG, wodurch fachübergreifende Lösungskonzepte mit Hilfe von Mitgliedern der Unternehmensgruppe erstellt werden können. Mehr als 70 Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter sorgen für ein breites Leistungsspektrum. Das Labor Dr. Graner & Partner ist in allen Teilbereichen nach DIN EN 17025 akkreditiert. Außerdem gibt es regelmäßige Teilnahmen an Ringversuchen anerkannter Institutionen. Die Arbeit findet unter der Einhaltung eines strengen Qualitätsmanagements statt und durch ein internes, EDV-gestütztes Qualitätsmanagement-System können die ermittelten Messwerte gesichert werden.

Das Leistungsspektrum der Untersuchung von Wässern umfasst die Analyse gemäß Trinkwasserverordnung, Mineral- und Tafelwasserverordnung, sowie gemäß DIN 19643 bei Schwimmbadwässern (Labor Dr. Graner & Partner, 2010).

Bei der Untersuchung von Trinkwasser auf Legionellen ist es nach der DIN EN ISO 19458 notwendig die Proben innerhalb von 48 Stunden nach der Probenahme mikrobiologisch zu analysieren (DIN EN ISO 19458, 2006, S. 26). Häufig kommt es daher in den analytischen Laboren zu einem hohen Arbeitsaufkommen, besonders vor Wochenenden und Feiertagen. Um den Analyseprozess flexibler gestalten zu können, muss herausgefunden werden, wie sich die Konzentration von Legionellen innerhalb eines bestimmten Zeitraums verändert. Daher wird im zweiten Teil der Arbeit eine Untersuchung zur Tenazität von *Legionella species* in Trinkwasserproben durchgeführt.

## 2 Grundlagen

Der erste Teil dieser Ausarbeitung beschäftigt sich mit dem grundlegenden, aktuellen Wissen über *Legionella species*. Zunächst werden mikrobiologische Grundlagen aus der Literatur zusammenfassend wiedergegeben. Anschließend werden Gesetze und Empfehlungen sowie der aktuelle Stand zur Durchführung der Probenahme und Probenanalyse von Trinkwasser auf *Legionella species* dargestellt.

### 2.1 Mikrobiologische Grundlagen

1976 wurde die Familie der Legionellaceae bei amerikanischen Legionären entdeckt, wodurch diese Bakterien ihren Namen bekommen haben. Aufgrund ihrer schlechten Anfärbbarkeit und den besonderen Wachstumsbedingungen blieben sie über lange Zeit unentdeckt. (Suerbaum et al., 2012, S. 298)

Legionellen sind stäbchenförmige, gramnegative Bakterien mit einer Größe von 0,3-0,9 x 1,5-2 µm. Sie sind aerobe, nicht sporulierende und fakultativ intrazelluläre Bakterien. Bei der ersten Isolation benötigen sie L-Cystein und Eisen(III)-Ionen für das Wachstum, welches langsam ist. Es gibt 48 Legionella Arten (*Legionella species*) und 70 Serogruppen (gleiche Antigeneigenschaften). Die wichtigste humanpathogene Species ist Legionella pneumophila. Sie hat einen Anteil von 90 % bei akuten Erkrankungen (Bugert, 2012, S. 482).

Legionellen haben ihren natürlichen Lebensraum in Frischwasserbiotopen und sind damit in geringer Anzahl in Oberflächengewässern und im Grundwasser zu finden. Somit sind sie auch als weit verbreitete Umweltkeime beschrieben. Durch die Einführung der Installationstechnik von Warmwassersystemen können Legionellen unter bestimmten Bedingungen auch in Haushalte gelangen. Der ausschlaggebende Faktor für das Vorkommen und die Vermehrung ist dabei die Wassertemperatur. Temperaturen zwischen 25 °C und 45 °C bieten den Legionellen ideale Wachstumsbedingungen, wobei das Temperaturoptimum bei 37 °C liegt. Im Wasser mit Temperaturen unter 20 °C können Legionellen vorkommen, sich jedoch nicht nennenswert vermehren. Im warmen Wasser ab 55 °C kann das Wachstum gehemmt werden und ab 60 °C kommt es zum Absterben (Bugert, 2012, S. 482; Robert Koch-Institut, 2013, Ratgeber für Ärzte).

Zu einer Infektion mit Legionellen kommt es in der Regel durch kontaminierte Aerosole. Dabei spielen legionellenhaltige Amöbenpartikel eine große Rolle, denn Legionellen aktivieren ihre Virulenzgene intrazellulär. Da bis heute keine Pathogenitätsfaktoren identifiziert

werden konnten, können Legionellen-Stämme nicht sicher nach ihrer Virulenz eingeteilt werden. Kommt es zu einer Infektion, können Umwelt- und Patientenisolate typisiert werden, um die verdächtige Infektionsquelle zu finden und anschließend zu beseitigen (Lück, Steinert, 2006, S.440).

Die Infektion mit Legionellen kann zwei unterschiedliche Krankheiten hervorrufen. Zum einen die Legionellose, auch Legionärskrankheit und zum anderen das Pontiac-Fieber. Bei beiden Krankheiten sind keine Übertragungen von Mensch zu Mensch bekannt.

Die Legionärskrankheit hat eine Inkubationsdauer von ca. zwei bis zehn Tagen. Es kommt zunächst zu uncharakteristischen Krankheitserscheinungen wie Gliederschmerzen und Kopfschmerzen. Schon nach einigen Stunden treten weitere Symptome wie Thorax-schmerzen, Schüttelfrost und Fieber auf. Die schwere atypische Form der Pneumonie (Lungenentzündung) kann mit einer Beteiligung des Zentralnervensystems einhergehen, wodurch Benommenheit oder Verwirrheitszustände vorkommen können.

Das Pontiac-Fieber hat eine Inkubationsdauer von ca. fünf bis 66 Stunden. Diese Krankheit hat einen milderen Verlauf mit leichten grippalen Symptomen. Jedoch wird eine Pneumonie ausgeschlossen. Des Weiteren erholen sich die Patienten auch ohne Antibiotikatherapie innerhalb weniger Tage. Menschen mit einem geschwächten Immunsystem stellen bei beiden Krankheiten eine Risikogruppe dar. Darunter fallen vor allem alte und kranke Menschen(Lück, Steinert, 2006, S.440; Robert Koch-Institut, 2013, S. 63).

Das Krankheitsbild einer Legionellose bietet keine Rückschlüsse auf die Ursache der Infektion. Zum Nachweis ist eine spezifische Erregerdiagnostik, z.B. durch die Untersuchung von Urin auf Legionella-Antigene oder besser durch einen kulturellen Nachweis, erforderlich. Bei einer Infektion mit Legionellen ist es äußerst wichtig, die Infektionsquelle zu bestimmen, da die Quelle immer in der Umwelt ist und dadurch unter bestimmten Umständen weitere Personen infiziert werden können. Dabei ist die Inkubationszeit zu beachten. Besonders in Krankenhäusern und Pflegeheimen ist die Aufklärung von höchster Bedeutung, da Risikogruppen besonders gefährdet sind (Schaefer et al., 2011, S. 674).

## 2.2 Rechtliche Grundlagen und Empfehlungen

Die Analysen auf Legionellen in Trinkwasser stützen sich auf verschiedene Gesetze und Empfehlungen, die im folgenden Abschnitt vorgestellt werden.

### 2.2.1 Trinkwasserverordnung 2001

Die Trinkwasserverordnung wurde am 21. Mai 2001 ausgefertigt und trat am 01. Januar 2003 in Kraft.

„Zweck der Verordnung ist es, die menschliche Gesundheit vor den nachteiligen Einflüssen, die sich aus der Verunreinigung von Wasser ergeben, das für den menschlichen Gebrauch bestimmt ist, durch Gewährleistung seiner Genussstauglichkeit und Reinheit nach Maßgabe der folgenden Vorschriften zu schützen“ (§ 1, Satz 1, TrinkwV 2001)

Nach zwei Änderungsverordnungen in den Jahren 2011 und 2012 kam es am 02.08.2013 zur Bekanntgabe der neusten Fassung der Trinkwasserverordnung im Bundesgesetzblatt Teil 1 Seite 2977 (BGBl. I S. 2977).

Mindestens einmal jährlich muss Trinkwasser, wenn es öffentlich abgegeben wird, nach den Vorgaben von §14 Absatz 3 der TrinkwV 2001 auf Legionellen untersucht werden. Die Untersuchungspflicht für Inhaber von Großanlagen die zur Trinkwassererwärmung dienen und dieses gewerblich, aber nicht öffentlich abgeben, müssen die Untersuchung nur alle drei Jahre nach den Vorgaben von §14 Absatz 3 der TrinkwV 2001 durchführen bzw. durchführen lassen (Anlage 4 Teil 2 Absatz b TrinkwV 2001).

In §14 Absatz 3 der TrinkwV 2001 geht es um die Pflicht von systemischen Untersuchungen an mehreren repräsentativen Probenahmestellen. Die Untersuchungspflicht liegt dann vor, wenn es zur Bildung von Aerosolen des Trinkwassers kommen kann (§ 14, Absatz 3, TrinkwV 2001).

Der technische Maßnahmenwert von *Legionella species* für Anlagen der Trinkwasser-Installation liegt bei 100 KbE/100 mL (Anlage 3, Teil 2, TrinkwV 2001).

Wird der technische Maßnahmenwert bei der orientierenden Untersuchung überschritten, müssen Maßnahmen zur Senkung der Legionellenkonzentration im Trinkwasser eingeleitet werden. Zusätzlich ist die Informationsweitergabe an das zuständige Gesundheitsamt Pflicht (§ 3, Absatz 1, Nr. 9, TrinkwV 2001).

Alle Probenahmen zur Untersuchung von Trinkwasser dürfen nur von zugelassenen Laboren bzw. Probenehmern durchgeführt werden. Bis zum 31. Dezember 2013 musste die erste Untersuchung abgeschlossen sein. Die Probenahme ist nach der DIN EN ISO 19458, wie in Zweck b beschrieben, durchzuführen. Die Wasserprobe muss nach der DIN EN ISO 11731 Teil 2, der DIN EN ISO 11731-2008 und unter Beachtung der Empfehlungen des Umweltbundesamtes auf *Legionella species* analysiert werden. (Anlage 5, Absatz f, TrinkwV 2001)

### 2.2.2 Empfehlung des Umweltbundesamtes

Aufgrund der Änderungen in der Trinkwasserverordnung hat das Umweltbundesamt die Empfehlung zur systemischen Untersuchung von Trinkwasser-Installationen auf Legionellen angepasst und am 23. August 2012 veröffentlicht. Diese Empfehlung dient zur Orientierung aller am Prozess der Untersuchung auf Legionellen beteiligten Personen und Institutionen (Umweltbundesamt, 2012, S.1).

Für diese Arbeit gehört die Empfehlung zur Angabe der Ergebnisse zu einer der wichtigsten Inhalte. Alle Ergebnisse werden in der Einheit KbE/100 mL angegeben. Wachsen auf einer Agar-Platte mehr als 200 Kolonien, ist der statistische Fehler so hoch, dass eine Vergleichbarkeit nicht mehr gewährleistet werden kann. Daher werden solche Ergebnisse mit >200 angegeben (Umweltbundesamt, 2012, S. 7).

### 2.2.3 DVGW-Arbeitsblatt W 551 / April 2004

Das Arbeitsblatt W 551 des deutschen Vereins des Gas- und Wasserfaches e.V. vom April 2004 mit dem Titel „Trinkwassererwärmungs- und Trinkwasserleitungsanlagen; Technische Maßnahmen zur Verminderung des Legionellenwachstums; Planung, Errichtung, Betrieb und Sanierung von Trinkwasser-Installationen“ bietet ein allgemein anerkanntes Regelwerk der Technik (DVGW, 2004, S. 1).

Inhalte sind unter anderem die Beschreibung der notwendigen Probenahmestellen, die Unterscheidung zwischen Klein- und Großanlagen, die Charakterisierung und Notwendigkeit von der orientierenden, der weitergehenden und der Nachuntersuchung, sowie die Beschreibung von Maßnahmen bei einer Kontamination mit Legionellen (DVGW, 2004, S. 3).

In Bezug auf Legionellen wird eine Sicherstellung der Temperaturen im Warmwasserkreislauf von mindestens 55 °C und am Auslauf der Erwärmungseinheit von mindestens 60 °C festgelegt. Diese Temperaturregelung gilt nicht für zentrale Trinkwassererwärmungsanlagen mit weniger als 400 Liter Speichervolumen oder dezentrale Durchlauferhitzer (DVGW, 2004, S. 7).

Die orientierende Untersuchung nach dem DVGW-Arbeitsblatt W 551 ist Voraussetzung zur Bewertung eines Warmwassersystems bezüglich Legionellen. Diese Untersuchung muss bei öffentlicher Abgabe des Trinkwassers einmal im Jahr, bzw. alle drei Jahre bei nicht öffentlicher Abgabe unaufgefordert durchgeführt werden und beinhaltet die Wasserentnahme am Ablauf der Erwärmungseinheit, am Rücklauf der Zirkulation und an allen relevanten Enden

der Steigstränge eines Gebäudes. Auch die orientierende Untersuchung ist nicht verpflichtend bei Erwärmungsanlagen mit weniger als 400 Liter Speichervolumen oder dezentralen Durchlauferhitzern (DVGW, 2004, S. 13).

### 2.3 Aktueller Stand zur Probenahme und Probenanalyse

Im Folgenden wird die Durchführung der Untersuchung von Trinkwasser auf Legionellen unter Anwendung der aktuellen Gesetze und Normen beschrieben. Zusätzlich wird darauf eingegangen, welches Material und welche Methoden innerhalb der Jahre 2012 bis 2014 im Labor Dr. Graner & Partner verwendet wurden.

#### 2.3.1 Vorbereitung

In der DIN EN ISO 19458 werden alle Schritte von der Vorbereitung über die Probenahme bis zur Lagerung der Trinkwasserprobe beschrieben, damit konsistente, unverfälschte Ergebnisse ermittelt werden können (DIN EN ISO 19458, 2006, S.4).

Nach der DIN EN ISO 19458 sollte bei jeder Probenahme von Trinkwasser zur mikrobiologischen Untersuchung zunächst der Zweck festgelegt werden. Je nach Zweck (siehe Kapitel 2.3.2) werden die Häufigkeit und die Anzahl der Probenahmen bestimmt. Um im Labor eine repräsentative Probe untersuchen zu können, ist eine fachgerechte Probenahme sehr wichtig. Da Mikroorganismen lebende Organismen sind, ist eine heterogene Verteilung nicht ausgeschlossen, denn es ist keine ideale Lösung möglich (DIN EN ISO 19458, 2006, S. 4).

Die Probenahmestelle muss repräsentativ und die Probenahme an der gleichen Stelle wiederholbar sein. Zusätzlich muss diese nach den Normen DIN 5667-1 und DIN 5667-2 gekennzeichnet werden. Vermieden werden sollten Probenahmestellen deren Bedingungen instabil sind (DIN EN ISO 19458, 2006, S. 5).

An welchen Stellen des Warmwassersystems die Proben genommen werden sollen, wird im DVGW Arbeitsblatt W551 beschrieben (siehe Kapitel 2.2.3).

#### 2.3.2 Probenahme

Bei der Probenahme ist die Schulung von Personal von besonderer Bedeutung und muss dokumentiert werden.

Für Proben, die auf Legionellen untersucht werden sollen, verwendet das Labor Dr. Graner & Partner sterile Einweg-Polyethylen-Flaschen mit Natriumthiosulfat. Diese Substanz dient der Inaktivierung von Chlor und anderen oxidierenden Desinfektionsmitteln im Wasser. Das

Volumen sollte 101 mL nicht unterschreiten (DIN EN ISO 19458, 2006, S. 6). In der Praxis werden daher meist 250 mL Wasser entnommen.

Es gibt drei verschiedene Zwecke der Probenahme. Zweck a beschreibt die Ermittlung der Wasserbeschaffenheit im Verteilungsnetz der jeweiligen Stadtwerke (Versorger). Zweck b dient der Ermittlung der Wasserbeschaffenheit an der Entnahmeapparatur der Verbraucher, d.h. es kann Veränderungen durch die Hausinstallation geben. Durch die Anwendung von Zweck c wird das Wasser so untersucht, wie es verbraucht wird und es kann herausgefunden werden, ob die Entnahmeapparatur eventuell verschmutzt ist (DIN EN ISO 19458, 2006, S. 11).

Bei der Durchführung der Wasserentnahme nach Zweck b zur Untersuchung auf Legionellen werden angebrachte Vorrichtungen und Einsätze, wie Perlatoren, mit speziellem Werkzeug entfernt und die Entnahmearmatur desinfiziert, um den Einfluss von z.B. Schmutz, Kalkablagerungen zu minimieren. Nach der Desinfektion mittels Abflammen oder Einsatz von Alkohol wird nach der Empfehlung des Umweltbundesamtes mit einem Liter Wasser gespült, um die thermischen und desinfizierenden Auswirkungen auf die Entnahmearmatur zu neutralisieren. Beachtet werden sollten die Vermeidung von Zugluft und Spritzern, sowie das Berühren des Deckels auf der Innenseite. Die Flasche sollte nicht bis zum Rand vollgefüllt werden, damit ein Schütteln und somit eine weitestgehend homogene Verteilung der Legionellen in der Probe im Labor möglich gemacht werden kann. Nach dem Befüllen muss die Flasche unverzüglich geschlossen werden und darf nicht zu anderen Zwecken, wie dem Temperaturmessen benutzt werden (DIN EN ISO 19458, 2006, S. 11).

Die befüllten Flaschen müssen eindeutig gekennzeichnet, etikettiert und beschriftet werden. Das dazugehörige Probenahmeprotokoll sollte vorher oder kurz nach der Entnahme des Wassers ausgefüllt werden.

Das Protokoll muss mindestens folgende Punkte beinhalten:

- Name und Adresse des Auftraggebers
- Die Liste der zu analysierenden Parameter
- Datum, Zeit
- Beschreibung der Probenahmestelle
- Ursprung der Probe
- Analysezweck
- Name der Person, die die Proben entnimmt

- Temperaturen
- Besonderheiten, wie auffällige Färbungen oder Trübungen
- Transportbedingungen

(DIN EN ISO 19458, 2006, S. 17)

### 2.3.3 Probentransport

Generell sollte die Zeit zwischen der Entnahme und der Analyse der Probe so gering wie möglich gehalten werden. Laut der DIN EN ISO 19458:2008 sollen Proben, die auf *Legionella species* analysiert werden, eine empfohlene maximale Lagerzeit einschließlich Transport von 24 Stunden haben. Die annehmbare Lagerzeit beträgt 48 Stunden. Verzögerungen müssen im Laborbericht festgehalten werden. (DIN EN ISO 19458, 2006, S. 18)

Es wird eine Transporttemperatur für Proben mit *Legionella species* von 5 °C +/- 3 °C empfohlen und die Umgebungstemperatur wird als annehmbar beschrieben. Dem Sonnenlicht sollte die Probe möglichst nicht ausgesetzt sein. (DIN EN ISO 19458, 2006, S. 18)

Bei Erreichen des Labors Dr. Graner & Partner, werden die Proben mit einer Probennummer versehen und anhand der Daten des Probenahmeprotokolls in das interne Datenmanagementsystem eingegeben.

### 2.3.4 Analyse der Proben

In der DIN EN ISO 11731 und der DIN EN ISO 11731-2 geht es um den Nachweis und die Zählung von Legionellen im Wasser für den menschlichen Gebrauch.

Die Analyse ist an einer üblichen Arbeitsfläche in einem Labor der Sicherheitsstufe 2 möglich. Alle Kulturmedien und Reagenzien zum Einsatz der Analyse auf *Legionella species* müssen den Reinheitsgrad „zur Analyse“ besitzen, d.h. sie müssen steril sein (DIN EN ISO 11731-2, 2008, S. 3).

Die Analyse findet in Form einer Anzucht des Bakteriums auf gepuffertem Aktivkohle-Hefeextrakt-Agar mit L-Cystein und Eisen(III) statt, da L-Cystein essentiell für das Wachstum von *Legionella species* ist. Der Agar, welcher von dem Labor Dr. Graner & Partner benutzt wird, hat eine Konformität zu der DIN EN ISO 11731-2008.



Die folgenden Inhaltstoffe sind im GVPC-Agar enthalten:

- 2,0 g/L Aktivkohle
- 10,0 g/L Hefe-Extrakt
- 10,0 g/L ACES-Puffer (N-2-Acetamido-2-Aminoethan-Sulfonsäure)
- 2,1 g/L Kaliumhydroxid
- 0,25 g/L Eisen(III)-Pyrophosphat
- 0,4 g/L L-Cystein-Hydrochlorid
- 1,0 g/L Alpha-Ketoglutarat
- 3,0 g/L Glycine
- 80.000 UE Polymixin B
- 0,001 g/L Vancomycin
- 0,08 g/L Cycloheximid
- 13,0 g/L Agar

(OXOID GmbH, 2007, S. 1)

Dieses Fertig-Nährmedium kann direkt für die Analyse angewendet werden. Es gibt jedoch auch die Möglichkeit, das Nährmedium erst im Labor herzustellen. Dies erfordert jedoch einen höheren Zeitaufwand.

Die Funktion von Polymixin B ist die Kontrolle des Wachstums der gramnegativen Bakterien. Das Wachstum von grampositiven Bakterien wird durch den Inhalt von Vancomycin gehemmt. Zusätzlich wird das Wachstum von Pilzen durch Cycloheximid verhindert (Bopp et al., 1981, S. 714).

Glycine ist in diesem Selektivmedium enthalten, um das Wachstum anderer gramnegativer Bakterien zu verhindern (Wadowsky, Yee, 1981, S. 768).

Die Analyse erfolgt mittels Membranfiltrationsverfahren von 100 mL der Trinkwasserprobe, welche mit einem Säurepuffer behandelt wird (Analyse mit Säurebehandlung) (DIN EN ISO 11731-2, 2008, S. 4). Des Weiteren werden zweimal je 0,5 mL der Probe mittels Direktausstrich untersucht (native Analyse) (DIN EN ISO 11731, 1998, S. 2).

Zur Analyse mit Säurebehandlung der Legionellen wird ein Säurepuffer benötigt. Die Reagenz besteht aus einer Lösung A und einer Lösung B. Lösung A ist ein Gemisch aus destilliertem Wasser und Salzsäure. Sie hat eine Stoffmengenkonzentration von 0,2 mol/L. Lösung B besteht aus destilliertem Wasser und Kaliumchlorid. Auch diese hat eine Stoffmengenkonzentration von 0,2 mol/L. 3,9 mL der Lösung A und 25 mL der Lösung B

ergeben nach Zugabe von 1 mol/L Kaliumhydroxid-Lösung einen pH-Wert von 2,2 (DIN EN ISO 11731-2, 2008, S. 10).

Nach der DIN EN ISO 11731-2 liegt das zu filtrierende Wasservolumen zwischen zehn und 1000 Milliliter, abhängig vom Partikelgehalt des Wassers. Das eingesetzte Volumen ist zu notieren. Im Labor Dr. Graner & Partner wird bei unauffälligem Wasser 100 mL pro Probe filtriert.

Um Bakterien abzutöten, die nicht zur *Legionella species* gehören, die sogenannte Begleitflora, werden direkt nach der Filtration 25 mL Säurepuffer auf den Filter gegeben. Dieser wirkt fünf Minuten ein, ehe der Filter mit 20 mL destilliertem Wasser gewaschen wird. Anschließend wird der Filter vorsichtig mit einer sterilen Pinzette direkt und ohne Lufteinschluss mit der oberen Seite nach oben zeigend auf den GVPC-Agar gelegt. Die Inkubation der Platten, welche mit der Oberseite nach unten zeigen, dauert 10 Tage in einem Brutschrank mit 36 °C +/- 1 °C (DIN EN ISO 11731-2, 2008, S. 10).

### 2.3.5 Auswertung der Analyse

Nach zwei bis drei Tagen werden die Agar-Platten mit den ausplattierten Trinkwässern kontrolliert und das Wachstum notiert. Mit dem Blick auf die Platten soll vor allem das Wachstum der Begleitflora entdeckt werden, welche das Wachstum von *Legionella species* hemmen oder maskieren könnten. Falls dieses eintritt, sollte das Trinkwasser erneut mit geringerem Volumen ausplattiert.

Die Kolonien der *Legionella species* brauchen relativ lange zum Wachsen. Erst nach circa zehn Tagen sind die Kolonien ausgewachsen (DIN EN ISO 11731-2, 2008, S. 10).

„Kolonien von Legionellen auf schwarzen Medien oder schwarzen Membranen sind häufig weiß-grau-blau-purpurn gefärbt, können aber auch braun, pink (rosa), limettengrün oder dunkelrot sein. Sie sind glatt mit ganzem Rand und haben ein charakteristisches milchglas-ähnliches Aussehen“ (DIN EN ISO 11731-2, 2008, S. 10)

Zu beachten ist, dass Legionellen-Kolonien auf schwarzem Agar anders aussehen, als Kolonien auf weißen Membranfiltern. (DIN EN ISO 11731-2, 2008, S. 10)

Wurden verdächtige Kolonien entdeckt, muss eine Überprüfung auf *Legionella species* stattfinden. Dazu werden von den verdächtigen Kolonien mindestens fünf erneut auf GVPC-Agar und die gleichen fünf auf Blutagar ausgestrichen. Falls verschiedene Typen verdächtiger Legionellen gewachsen sind, müssen von jedem Typ mindestens zwei Kolonien überprüft werden. (DIN EN ISO 11731-2, 2008, S. 11)

Da zur Anzucht von Legionellen Cystein und Eisen(III)-Verbindungen essentiell sind, wachsen bei der Überprüfung Kolonien auf GVPC-Agar, jedoch nicht auf Blut-Agar, denn darin sind diese Nährstoffe nicht enthalten (Bugert, 2012, S. 482).

Für die Auswertung müssen die verschiedenen Typen der Kolonien gezählt oder abgeschätzt und notiert werden. Kann das Wachstum von *Legionella species* bei der Überprüfung bestätigt werden, wird das Ergebnis dokumentiert. Die Einheit, in der die Summe der Legionellen-Kolonien angegeben wird, nennt man koloniebildende Einheiten pro 100 Milliliter der Trinkwasserprobe, kurz KbE/100 mL. Sind keine Legionellen anwesend, wird das Ergebnis mit „nicht nachweisbar“, kurz „n.n.“, dokumentiert. (DIN EN ISO 11731-2, 2008, S. 11)

Letztlich ist ein Analysebericht zu erstellen. Darin muss darauf verwiesen werden, dass die Analyse nach der DIN EN ISO 11731-2008 durchgeführt wurde. Weiter muss die Probe vollständig identifiziert werden können. Dazu sind laut DIN EN ISO 17025 Angaben von dem Ort der Probenahme, von dem Probenahmetyp, von der Art des Wasserversorgungssystems bzw. der -anlage und die genaue Probenahmestelle, notwendig. Außerdem muss das untersuchte Wasservolumen und die Wassertemperatur während der Probenahme dokumentiert werden. (DIN EN ISO 17025: Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien, Beuth-Verlag, Berlin) Auch das Datum und die Uhrzeit der Probenahme, der Annahme im Labor und der Beginn der Untersuchung im Labor sind im Analysebericht festzuhalten. Die Ergebnisse müssen in der Einheit KbE/100 mL angegeben werden. Wichtig ist auch die Dokumentation von Besonderheiten, vor allem solche die Einfluss auf das Ergebnis haben könnten (DIN EN ISO 11731-2, 2008, S. 11).

### 3 Vorkommen von Legionellen in Trinkwasser

Im Folgenden werden die Daten der letzten drei Jahre des Labors Dr. Graner & Partner hinsichtlich des Vorkommens von *Legionella species* unter dem Einfluss von Analysemethoden und Umweltfaktoren statistisch ausgewertet.

#### 3.1 Ziel der Untersuchung

In dieser Untersuchung sollen verschiedene Fragen bezüglich des Vorkommens von Legionellen beantwortet werden. Zum einen soll herausgefunden werden, wie viele der untersuchten Trinkwasserproben mit Legionellen kontaminiert sind und ob zwischen der nativen Analyse und der Analyse mit Säurebehandlung unterschiedliche Ergebnisse erzielt werden. Zum anderen wird dargestellt, wie viele der untersuchten Immobilien mit *Legionella species* belastet sind. Letztlich soll der Zusammenhang zwischen der Maximaltemperatur und dem Vorkommen, sowie zwischen der Temperatur der Probenahme und dem Vorkommen von *Legionella species* beschrieben werden.

#### 3.2 Ausgewähltes Datenmaterial

Die Rohdaten dieser Untersuchung stammen vom Labor Dr. Graner & Partner. Um die Aktualität zu gewährleisten, werden die Daten und Ergebnisse der Aufträge von Kunden der Jahre 2012 bis 2014 untersucht. Die Proben wurden, im Gegensatz zu anderen Untersuchungen dieser Art, in erster Linie nicht für eine statistische Auswertung untersucht, sondern aufgrund von Aufträgen der Immobilienbesitzer, die der Pflicht zur Einhaltung der Trinkwasserverordnung nachgegangen sind.

Alle Proben, die in die Statistik einfließen, wurden nach den in Kapitel 2.4 beschriebenen Methoden entnommen, analysiert und dokumentiert. Probennummer, Datum der Probenahme, die untersuchten Parameter mit Ergebnis und Maßeinheit liegen zur Auswertung vor. Das Untersuchungsgebiet umfasst die Metropolregion München.

#### 3.3 Auswertung und Diskussion der Ergebnisse von 2012 bis 2014

Die Rohdaten der Ergebnisse der mikrobiologischen Analysen auf *Legionella species* wurden vor der folgenden statistischen Untersuchung selektiert. Es wurden nur Daten von Trinkwasserproben verwendet, bei denen jedes der folgenden Kriterien dokumentiert wurde:

- Probennummer
- Datum der Probenahme
- Temperatur bei Probenahme
- Maximaltemperatur
- Ergebnisse der nativen Analyse auf *Legionella species* mit Maßeinheit
- Ergebnisse der Analyse mit Säurebehandlung auf *Legionella species* mit Maßeinheit

### 3.3.1 Vorkommenshäufigkeit von *Legionella species* und Vergleich zweier Analysemethoden

In Tabelle 1 werden die absoluten Häufigkeiten der Untersuchungen und Ergebnisse dargestellt. Dabei werden jeweils die Ergebnisse der beiden angewandten und in Kapitel 2.3.4 beschriebenen Methoden gegenübergestellt.

*Tabelle 1 Absolute Häufigkeiten der Untersuchungsergebnisse auf Legionella species der Jahre 2012, 2013 und 2014*

	2012		2013		2014	
Anzahl der untersuchten Proben	3.938		19.388		21.012	
	Nativ	Säure-behandelt	Nativ	Säure-behandelt	Nativ	Säure-behandelt
n.n.	3.555	2.929	17.132	12.428	18.714	15.643
1-100 KbE/100 mL	109	776	682	5.479	705	4.749
>100 KbE/100 mL	274	133	1.574	1.481	1.593	620

Insgesamt hat das Labor Dr. Graner & Partner in den letzten drei Jahren 44.338 Proben, welche auf *Legionella species* untersucht worden sind und den Selektionskriterien entsprechen, dokumentiert. Aus dem Jahr 2012 fließen 3.938 untersuchte Proben in die Statistik ein, aus dem Jahr 2013 fließen 19.388 Proben ein und aus dem Jahr 2014 21.012 Proben. Jede Probe wurde jeweils nativ und säurebehandelt untersucht und ausgewertet, wodurch es zu einer Gesamtanzahl von 88.676 Analysen kommt.

In Tabelle 1 werden die Ergebnisse der Analysen nach den Anzahlen von koloniebildenden Einheiten pro 100 Milliliter Trinkwasser in drei Gruppen geclustert. Zum einen in die Gruppe der Proben, bei denen keine *Legionella species* nachgewiesen wurde (n.n.) und zum anderen

die Gruppe der Proben, bei denen der technische Maßnahmenwert der Trinkwasserverordnung 2001 von 100 KbE/100 mL überschritten wurde. Zusätzlich gibt es die Gruppe der Proben, deren Analyse auf *Legionella species* positiv war, jedoch der Maßnahmenwert nicht überschritten wurde und somit 1 - 100 KbE/100 mL gefunden werden konnten. Bei insgesamt 70.401 Analysen konnten keine Legionellen festgestellt werden. 12.500 Analysen ergaben ein Ergebnis mit bis zu 100 KbE/100 mL und 5.675 Analysen ergaben eine Legionellen-Konzentration die über dem technischen Maßnahmenwert der Trinkwasserverordnung liegt.

Zusammenfassend werden in Abbildung 1 die relativen Häufigkeiten von den Analyseergebnissen der letzten drei Jahre des Labors Dr. Graner & Partner dargestellt. In rund 80 % der Analysen konnten keine Legionellen nachgewiesen werden. Eine Legionellen-Konzentration von 1-100 KbE/100 mL konnte bei rund 13 % der Analysen nachgewiesen werden und bei ca. 6 % der Analysen wurde eine Überschreitung des technischen Maßnahmenwertes ermittelt.

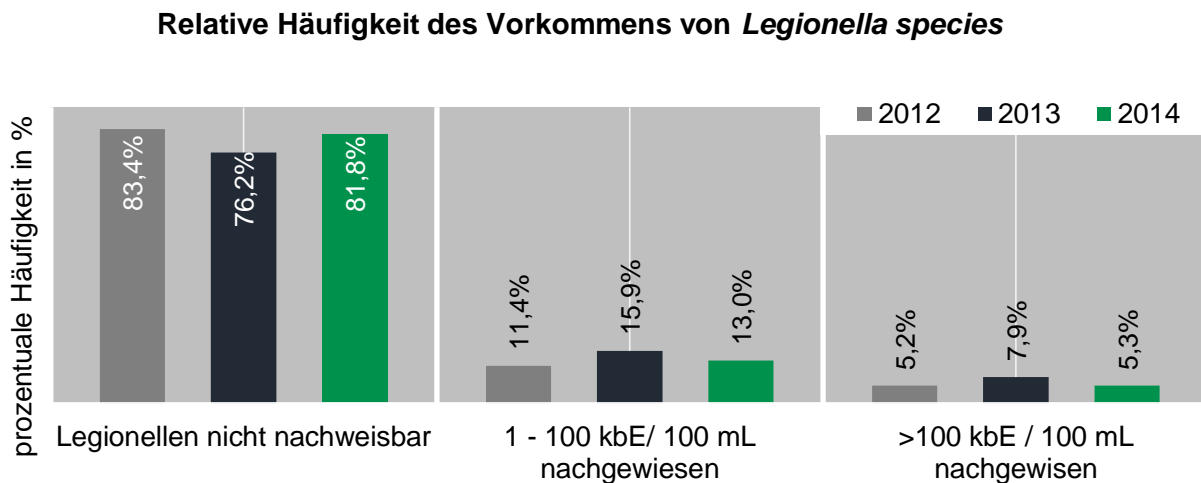


Abbildung 1 relative Häufigkeiten der Untersuchungsergebnisse auf *Legionella species* der Jahre 2012, 2013 und 2014, Angaben in %

In den letzten drei Jahren gab es somit 5.675 Überschreitungen des technischen Maßnahmenwertes.

Der Jahresvergleich der relativen Häufigkeiten zeigt Abweichungen von bis zu 7,2 %. Ob eine Zunahme oder eine Abnahme des Vorkommens von Legionellen innerhalb der letzten drei Jahre stattgefunden hat, kann aus Abbildung 1 nicht abgelesen werden. Dazu zeigt Abbildung 2 eine Aufteilung der Häufigkeiten von Überschreitungen des technischen

Maßnahmenwertes in Monate und bildet eine Trendlinie ab. Da die Trendlinie des Probenanteils mit Überschreitungen des technischen Maßnahmenwertes eine negative Steigung hat, kann eine Abnahme des Vorkommens von *Legionella species* innerhalb der letzten drei Jahre vermutet werden. Es muss dabei allerdings beachtet werden, dass die Anzahl der untersuchten Proben in 2014 fünf mal höher ist, als im Jahr 2012. Daher ist die Wahrscheinlichkeit eines statistischen Fehlers beim Zeitraum 2012 höher, was Ausschläge nach oben erklären kann.

### Trend zur Häufigkeit des Vorkommens von Legionellen

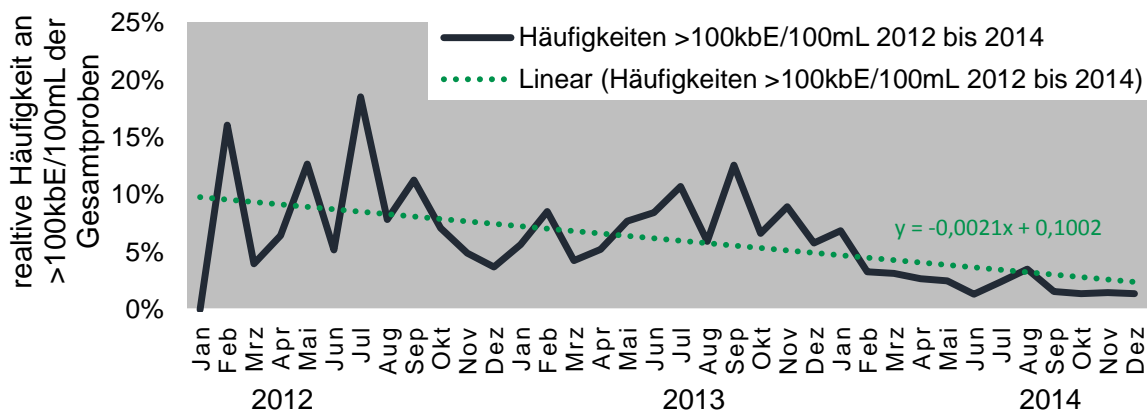


Abbildung 2 Trend zur Häufigkeit des Vorkommens von Legionellen

Dieser Trend zum Vorkommen von *Legionella species* kann den Trend zum Vorkommen von Legionellose nicht unterstreichen. Die Daten des Infektionsepidemiologischen Jahrbuchs meldepflichtiger Krankheiten für 2013 des Robert-Koch-Instituts zeigen einen steigenden Trend. Innerhalb des Jahres 2013 gibt es eine deutliche Zunahme von Erkrankungsfällen an Legionellose (Robert Koch-Institut, 2014, S. 131). Bereits seit der Einführung der Meldepflicht für Legionellose im Jahr 2001 ist ein kontinuierlicher Anstieg an Legionellose zu verzeichnen. Vor allem die steigende Anzahl an Erkrankungen in den Sommer- und Herbstmonaten sei auffallend. Erklärt werden die erhöhten Infektionszahlen in dieser Zeitspanne anhand der vermehrten Reisebereitschaft und das damit erhöhte Infektionsrisiko, z.B. während Hotelaufenthalten. Auch könnten Wettereinflüsse eine Rolle spielen (Robert Koch-Institut, 2013, S. 505).

Aufgrund der Tatsache, dass jede Trinkwasserprobe mit zwei verschiedenen Analysemethoden untersucht wird, kann ein Vergleich der beiden Methoden durchgeführt werden. Dazu werden die prozentualen Häufigkeiten der drei Gruppen von Legionellenkonzentrationen gegenübergestellt. Bei dem Vergleich soll herausgefunden werden, ob die beiden Methoden vergleichbare Ergebnisse liefern.

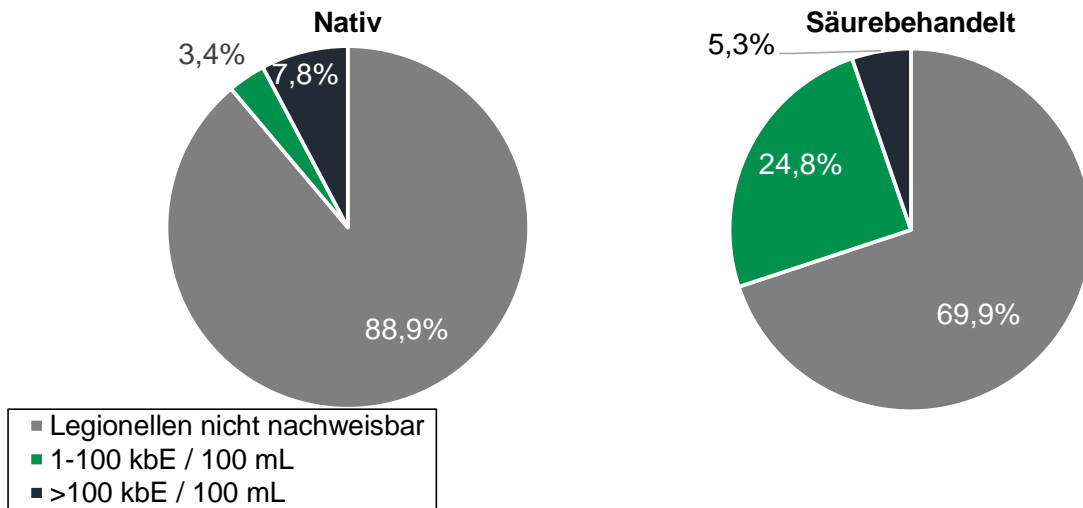


Abbildung 3 Vergleich von nativer Analysemethode und der Analysemethode mit Säurebehandlung, Angaben in %

Der Vergleich zeigt einen Unterschied der beiden Methoden. Bei der Analyse mit Säurebehandlung werden 3 % weniger Überschreitungen des technischen Maßnahmenwertes festgestellt. Die Häufigkeit der Proben, bei denen keine *Legionella species* nachgewiesen werden konnte, unterscheidet sich um 19 %.

Da die native Analyse nur mit einem Milliliter der Trinkwasserprobe durchgeführt wird und das Ergebnis pro 100 Milliliter angegeben wird, muss die Anzahl der gewachsenen koloniebildenden Einheiten mit 100 multipliziert werden. Daher führt schon eine einzige koloniebildende Einheit bei der nativen Analyse zum Erreichen des technischen Maßnahmenwertes. Die Differenz der Überschreitungen des technischen Maßnahmenwertes der beiden Methoden von 3 % wird in Abbildung 2 dargestellt. Die Darstellung zeigt somit, dass bei der nativen Analyse innerhalb der letzten drei Jahre 2.570 Überschreitungen mehr gefunden wurden, als bei der Analyse mit Säurebehandlung. Daraus lässt sich schließen, dass die native Analyse ein falsch positives Ergebnis oder die Analyse mit Säurebehandlung ein falsch negatives Ergebnis liefert.



Die native Analyse findet, wie schon beschrieben, mit nur einem Milliliter der Trinkwasserprobe statt. Zusätzlich liegen Legionellen auch nach dem Schütteln der Probe nicht homogen im Wasser verteilt vor. Daher kann es sein, dass bei geringen Konzentrationen keine Legionellen nachgewiesen werden können, aufgrund der zu geringen Konzentration oder auch aufgrund einer zu starken Begleitflora, welche das Wachstum der Legionellen unterdrücken kann. Daher kommt die zweite Methode zum Einsatz. Durch das Aufkonzentrieren von 100 mL der Probe ist die Wahrscheinlichkeit höher, auch bei geringen Konzentrationen der Legionellen, diese nachweisen zu können. Da bei höherem Volumen auch die Begleitflora vermehrt auf dem Filter wachsen würde, wird hier eine Säurebehandlung durchgeführt. Bei der Säurebehandlung kommt es jedoch auch zu einer Hemmung des Wachstums der Legionellen auf dem Selektivagar.

Nach der Literatur kann davon ausgegangen werden, dass die Analyse mit Säurebehandlung ein falsch negatives Ergebnis zum Vorkommen der *Legionella species* liefert und der Unterschied von 2.570 Überschreitungen damit erklärt werden kann (Schaefer, 2007, S. 294).

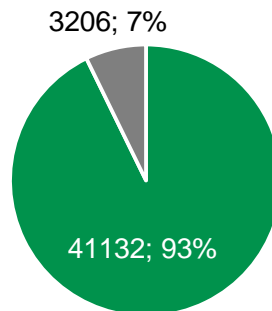
Es kann vorkommen, dass beide Analysen einer Trinkwasserprobe unterschiedliche Ergebnisse liefern. Beispielsweise ergab die native Analyse der Probe „1435130-007“ vom 29.12.2014 eine Konzentration von 1.700 KbE/100 mL, die säurebehandelte Analyse konnte hingegen keine Legionellen nachweisen.

Wie häufig es also Übereinstimmungen bzw. Unterschiede im Ergebnis der beiden Analyseverfahren, bezogen auf eine Trinkwasserprobe gibt, wird in Abbildung 3 dargestellt.

Übereinstimmungen werden in diesem Kontext so definiert, dass sie das gleiche Ergebnis für den Kunden haben. Somit übereinstimmen Analysen, wenn durch beide Methoden keine Legionellen nachgewiesen wurden, sowie wenn durch beide Methoden 1 - 100 KbE/100 mL nachgewiesen wurden oder wenn der technische Maßnahmenwert überschritten wurde.

Von insgesamt 44.338 untersuchten Trinkwasserproben ergaben die native Analytik und die Analytik mit Säurebehandlung bei 93 % der Proben Übereinstimmungen im Ergebnis.

#### Übereinstimmung der Ergebnisse der Analysemethoden zur Untersuchung auf *Legionella species*



■ Übereinstimmungen ■ Abweichungen

Abbildung 4 Übereinstimmung der Ergebnisse von zwei Analysemethoden zur Untersuchung auf *Legionella species*, Angaben in absoluten, sowie relativen Werten

Wie in Abbildung 4 zu sehen ist, gibt es bei 93 % der Proben Übereinstimmungen im Ergebnis der beiden Analysemethoden. Bei 7 % der untersuchten Trinkwasserproben kam es in den Jahren 2012 bis 2014 zu Abweichungen zwischen den Analysemethoden. Liegt eine solche Abweichung vor, wird von der höheren Konzentration der nachgewiesenen Legionellen ausgegangen und diese im Analysebericht dokumentiert. Somit sagt dieses Ergebnis zwar etwas zur Wahrscheinlichkeit über das Auftreten eines Fehlers von einer dieser Methoden aus, hat jedoch keinen negativen Einfluss auf das Ergebnis des Kunden. Wie hoch die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten von Fehlern bei beiden Methoden gleichzeitig ist, kann aus den vorliegenden Daten nicht entnommen werden.

### 3.3.2 Häufigkeit der kontaminierten Immobilien

Bisher wurde etwas zu der Anzahl der untersuchten Proben gesagt, jedoch nicht zu der Anzahl der untersuchten Immobilien, bzw. Warmwassersysteme. Dazu wird zunächst eine Anzahl von 12.824 untersuchten Immobilien ermittelt. Daraus kann die Angabe zur Häufigkeit der kontaminierten Immobilien berechnet werden.

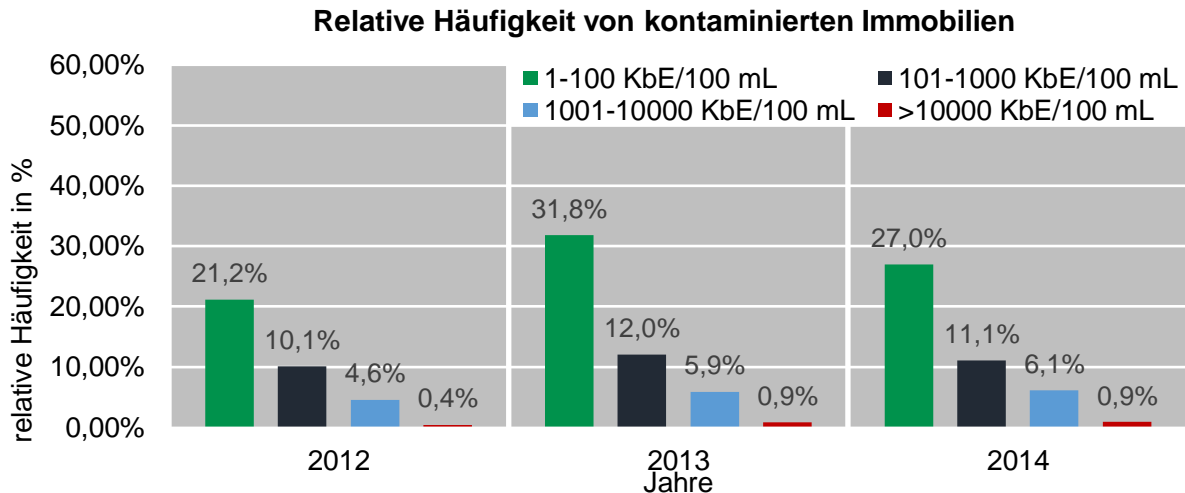


Abbildung 5 Relative Häufigkeiten von kontaminierten Immobilien, Angaben in %

Abbildung 5 zeigt die relative Häufigkeit von Immobilien dessen Warmwasserinstallation eine Legionellenkonzentration von 1-100 KbE/100 mL aufweist oder den technischen Maßnahmenwert von 100 KbE/100 mL überschreitet, wobei diese Unterscheidungen weiter nach den Bewertungen des DVGW Arbeitsblattes unterteilt sind. Dabei gilt gemäß DVGW-Arbeitsblatt eine Warmwasserinstallation als kontaminiert, wenn nur in einer einzigen Probe der Immobilie Legionellen nachgewiesen werden konnten.

Einen Überblick über die Anzahl der mit *Legionella species* kontaminierten Immobilien der Jahre 2012 bis 2014 wird in Abbildung 6 dargestellt. Bei knapp einem Viertel der Immobilien wird laut dieser Statistik der technische Maßnahmenwert überschritten. In rund einem Fünftel der Immobilien ist eine geringe Konzentration *Legionella species* nachgewiesen worden. Als legionellenfrei gelten 52 % aller Immobilien, die im Raum München vom Labor Dr. Graner & Partner untersucht worden sind.

## Überblick des Vorkommens von *Legionella species* in Immobilien

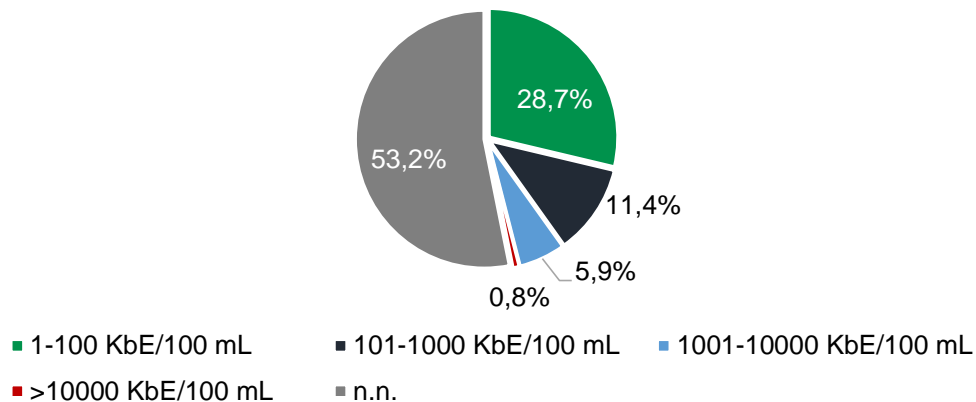


Abbildung 6 Überblick des Vorkommens von *Legionella species* in Immobilien, Angaben in %

Aus den Grafiken 5 und 6 geht hervor, dass 18,1 % der untersuchten Immobilien mindestens an einer Trinkwasser-Entnahmestelle eine Konzentration von *Legionella species* aufweisen, welche über dem technischen Maßnahmenwert von 100 KbE/100 mL liegt. Insgesamt sind in 44 % aller untersuchten Immobilien Legionellen nachgewiesen worden. Nach der Bewertung des DVGW Arbeitsblattes weisen rund 11 % aller untersuchten Immobilien eine mittlere Kontamination auf (101-1000 KbE/100 mL). Innerhalb von vier Wochen muss hier eine weitergehende Untersuchung durchgeführt werden. Eine hohe Kontamination mit bis zu 10.000 KbE/100 mL ist bei circa 6 % der Immobilien zu finden, bei welchen umgehend eine weitergehende Untersuchung notwendig wird. Bei 0,8 % der untersuchten Immobilien wurde eine extrem hohe Kontamination mit mehr als 10.000 KbE/100 mL nachgewiesen, was zu einem sofortigen Duschverbot und direkter Gefahrenabwehr führen muss. In absoluten Zahlen ausgedrückt, waren 52 der 5.754 untersuchten Immobilien im Jahr 2014 betroffen.

Allein im Jahr 2013 erkrankten 922 Menschen an Legionellose, davon haben es 48 Menschen nicht überlebt, was einer Letalität von 5,2 % entspricht. Die bundesweite Inzidenz (Anzahl der Neuerkrankungen) lag damit 2013 bei 1,1 Erkrankungen pro 100.000 Einwohner, wobei der Altersmedian bei 63 Jahren lag. Laut einer Umfrage mit mehreren Antwortmöglichkeiten gehen 79 % der Befragten von einer Infektionsquelle im privaten, bzw. beruflichen Umfeld aus (Robert Koch-Institut, 2014, S. 134). Trotz der Meldepflicht für Legionellosen ist von einer hohen Dunkelziffer weiterer Legionellen-Infektionen auszugehen. Dies liegt an dem klinischen Bild, welches keine Rückschlüsse über den Erreger gibt. Nur eine spezielle Erregerdiagnostik kann dies klären, jedoch wird diese bei dem klinischen Bild einer Pneumonie nur sehr selten durchgeführt. Nach Schätzungen geht man von 15.000 bis

30.000 Fällen der Legionärskrankheit pro Jahr aus (Baum et al., 2008, S. 1360).

Falls diese Schätzungen der Wahrheit entsprechen und rund 79 % der Erkrankungen dem privaten oder beruflichen Umfeld geschuldet sind, kann dem Anteil der kontaminierten Warmwassersysteme eine hohe Wichtigkeit zugesprochen werden. Sollten die kontaminierten 44 % der vom Labor Dr. Graner & Partner untersuchten Immobilien repräsentativ für Deutschland sein, so ist die Verpflichtung zur Untersuchung des Trinkwassers auf Legionellen laut aktueller Trinkwasserverordnung sinnvoll und kann bei der Durchführung wirkungsvoller Desinfektionsmaßnahmen vielen Menschen eine Pneumonie ersparen.

Eine mögliche Schutz- und Desinfektionsmaßnahme stellt die Anpassung der Maximaltemperatur des kompletten Warmwassersystems der Hausinstallation auf mindestens 60 °C dar (DVGW, 2004, S. 8).

### 3.3.3 Zusammenhang zwischen dem Vorkommen von *Legionella species* und der Temperatur

Das Vorkommen von *Legionella species* ist, wie in Kapitel 2.1 beschrieben, von verschiedenen Faktoren abhängig. Anhand der Daten des Labors Dr. Graner & Partner soll untersucht werden, ob es einen Zusammenhang zwischen dem Vorkommen von Legionellen und der Maximaltemperatur an der Probenahmestelle, bzw. der Temperatur bei der Probenahme an der Probenahmestelle des Trinkwassers gibt.

In Abbildung 7 sind die relativen Anteile der Konzentrationen von Legionellen in Abhängigkeit zur Maximaltemperatur von Trinkwasser an der Probenahmestelle dargestellt. Im betrachteten Zeitraum ist das Vorkommen von *Legionella species* bei Maximaltemperaturen zwischen 20 und 50°C am häufigsten. Speziell die Überschreitungen des technischen Maßnahmenwerts in diesem Bereich sind auffällig.

### Abhängigkeit des Legionellen-Vorkommens von der Maximaltemperatur 2012 bis 2014

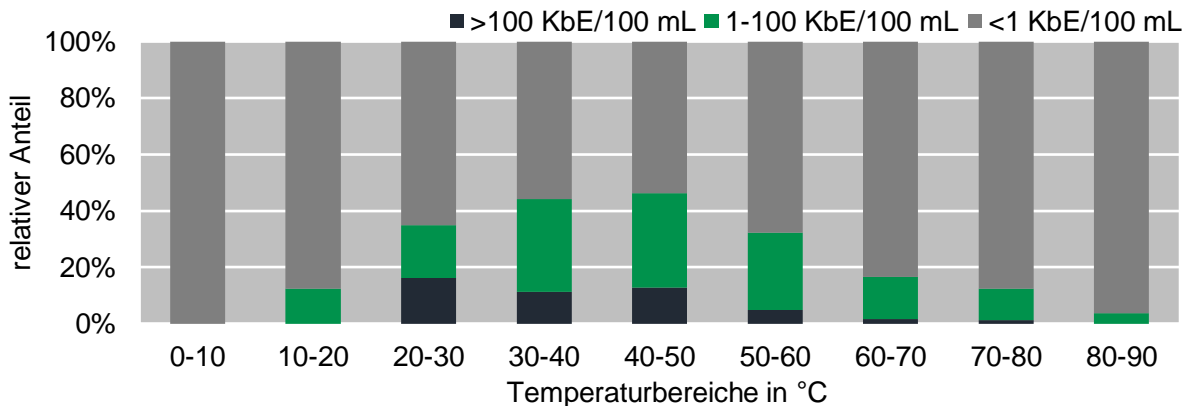


Abbildung 7 Abhängigkeit des Legionellen-Vorkommens von der Maximaltemperatur 2012 bis 2014, Angaben in %

Anhand der Daten des Labors Dr. Graner & Partner kann ein Zusammenhang zwischen der Maximaltemperatur und dem Vorkommen von Legionellen in Warmwassersystemen der Immobilien festgestellt werden. Dazu werden zunächst die gemessenen Temperaturen analysiert und diskutiert.

Das arithmetische Mittel der gemessenen Maximaltemperaturen liegt bei 55,8 °C, der Median bei 56,1 °C und die häufigste gemessene Temperatur, der Modalwert, liegt bei 60 °C. Der höchste gemessene Wert der Maximaltemperatur liegt bei 91 °C und der kleinste gemessene Wert liegt bei 6,9 °C. Daraus ergibt sich eine Spannweite von 84,1 °C. Diese Spannweite ist für eine Maximaltemperatur sehr groß und der niedrigste Wert befindet sich nicht im Bereich der Warmwasserdefinition. Daraus ist zu schließen, dass auch Proben aus Kaltwassersystemen entnommen wurden oder es bei einigen Warmwassersystemen Defekte während der Probenahme gab.

Durch die Berechnung der Standardabweichung wird eine durchschnittliche Abweichung zum Mittelwert von 6,2 °C herausgefunden.

Durch die Berechnung des Korrelationskoeffizienten nach Pearson soll herausgefunden werden, ob es einen linearen Zusammenhang zwischen der Maximaltemperatur und dem Vorkommen von Legionellen gibt. Da die Korrelationsanalyse zwischen der Maximaltemperatur und den Ergebnissen der Analysen mit Säurebehandlung einen Wert von -0,08 ergibt, kann nicht von einem linearen Zusammenhang gesprochen werden. Die anhand der Abbildung zu erwartende Normalverteilung wird dadurch nicht ausgeschlossen.

Ein Zusammenhang der beiden Merkmale ist in Abbildung 7 deutlich erkennbar. Dies wurde auch schon 1985 in der Literatur vertreten und hält sich bis heute (Groothuis et al., 1985, S. 531)

In dem Temperaturbereich von 30 bis 50 °C können Legionellen am Häufigsten nachgewiesen werden. Damit bestätigt sich die Annahme, dass Legionellen sich am besten in einem Temperaturbereich von 30 bis 45 °C vermehren (Roeske, 2007, S. 26).

Der Abfall des Vorkommens von *Legionella species* ab einer Temperatur von circa 60 °C, kann durch die bakterizide Wirkung der hohen Temperatur begründet werden. Die geringen Konzentrationen von Legionellen im Warmwasser, welche bei einer Temperatur von über 60 °C nachgewiesen werden konnten, sind auf das Vorhandensein von Biofilmen zurückzuführen. (Netuschil, 2006, S. 129)

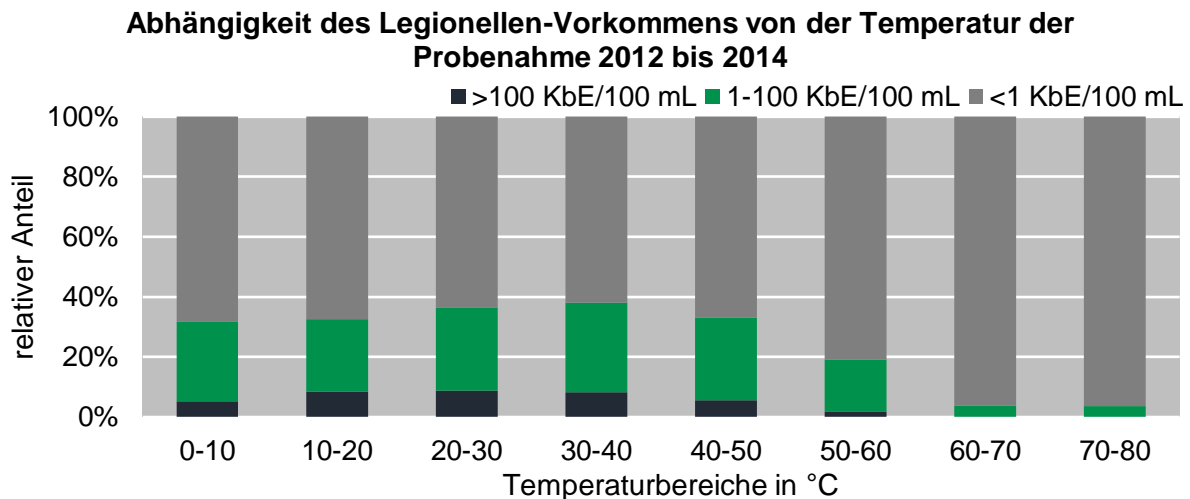


Abbildung 8 Abhängigkeit des Legionellen-Vorkommens von der Temperatur der Probenahme 2012 bis 2014, Angaben in %

Das Vorkommen von *Legionella species* in Abhängigkeit zur Temperatur bei der Probenahme zeigt bis 60 °C keine auffälligen Häufungen.

Hier wird ein arithmetisches Mittel von 43,8 °C, ein Median von 45,3 °C und ein Modalwert von 48,8 °C berechnet. Die höchste gemessene Temperatur liegt bei 84 °C, die niedrigste bei 4 °C. Daraus ergibt sich eine Spannweite von 80 °C. Hier ist die Spannweite der Temperaturen auch sehr hoch. Ein möglicher Grund dafür ist, dass an der Probenahmestelle möglicherweise kurz vor der Entnahme schon Wasser lief, wodurch sich die Temperatur bei der Probenahme der Maximaltemperatur annähert. Dies wurde schon in Abbildung 8

anschaulich dargestellt. Je höher die Temperatur bei der Probenahme, desto geringer ist die Differenz zur Maximaltemperatur. Die mittlere Abweichung zum Mittelwert beträgt hier 9,7 °C

Bei Temperaturen von 0 °C bis zu 50 °C scheint das Vorkommen der Legionellen konstant zu sein. Daraus kann geschlossen werden, dass dieser Temperaturbereich keinen Einfluss auf das Vorkommen hat. Erst ab einer Temperatur von 60 °C gibt es einen Abfall der Häufigkeit des Vorkommens. Allerdings ist die Differenz zwischen der Temperatur bei der Probenahme und der Maximaltemperatur ab 60 °C sehr gering ist. Daher zeigt das Vorkommen hier eine ähnliche Verteilung wie bei der Maximaltemperatur. Die Temperatur bei Probenahme scheint damit nicht von dem Vorkommen der Legionellen abhängig zu sein. Daraus resultiert die Tatsache, dass die Dokumentation der Temperatur während der Probenahme keine Rückschlüsse auf das Vorkommen geben kann, weshalb diese Dokumentation in Bezug auf das Vorkommen von Legionellen nicht notwendig ist. Aus den Angaben dieser Temperatur kann lediglich festgestellt werden, wie hoch sie nach dem Abfließen von einem Liter Wasser ist. Es kommt hier darauf an, wann die Entnahmestelle das letzte Mal benutzt wurde, denn bei häufigem Benutzen ist das Wasser schon in der Leitung warm, da es wenig stagnierendes Wasser gibt. Bei Entnahmestellen die selten benutzt werden, kann es daher länger dauern, bis die Entnahmetemperatur erreicht ist. Außerdem ist es abhängig von der Länge des Leitungssystems.

In Abbildung 9 wird die Verteilung der Temperaturen grafisch zusammengefasst. Hier ist deutlich zu erkennen, dass die Standardabweichung und die Streuung um den Mittelwert der Temperaturen bei Probenahme größer sind, als bei den Maximaltemperaturen. Die Spannweiten von 80 °C und 84 °C sind dabei jedoch ähnlich.

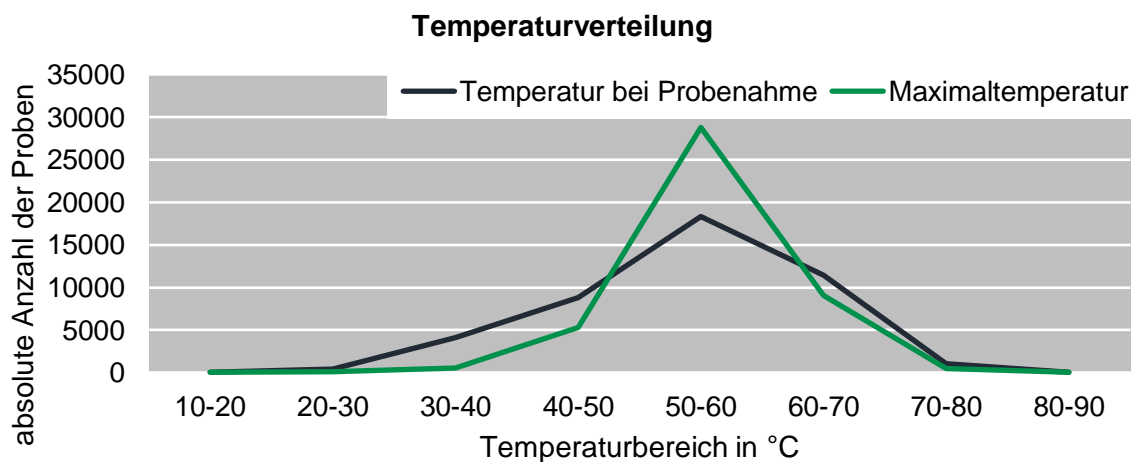


Abbildung 9 Temperaturverteilung von Maximaltemperatur und Temperatur bei Probenahme



### 3.4 Fazit der statistischen Untersuchung

Von allen untersuchten Proben in den Jahren 2012 bis 2014 wurden in rund 19 % Legionellen festgestellt. Wird dieses Ergebnis jedoch auf die kontaminierten Immobilien bezogen, muss eine Kontamination von 47 % festgestellt werden. Das ist ein großer Unterschied, wobei der Angabe der kontaminierten Immobilien eine höhere Wichtigkeit zugesprochen werden kann, denn diese Immobilien, können eine Gefahr für alle Bewohner darstellen, egal ob in einer Probe oder in mehreren Proben Legionellen gefunden wurden, denn die Bakterien können sich über die gesamten Hausinstallation verteilen.

Bei rund 17 % der untersuchten Immobilien wird die technische Maßnahmengrenze überschritten, sodass Maßnahmen je nach Stärke der Kontamination, wie weitergehende Untersuchungen oder Desinfektionen, durchgeführt werden müssen. Es ist kein steigender Trend bezüglich der Häufigkeit des Vorkommens von Legionellen vorhanden, was jedoch auf die unterschiedliche Anzahl der Daten innerhalb der Jahre 2012 bis 2014 zurückzuführen sein kann. Der Fortlauf des Trends sollte durch die richtige Einstellung der Maximaltemperatur weiter in diese Richtung gelenkt werden.

Die Schlussfolgerung aus der Abweichung von 7 % der Ergebnisse zwischen den beiden angewandten Analysemethoden lautet nur, dass ein Unterschied möglich ist, dieser jedoch keinen Einfluss auf das Ergebnis für den Kunden hat. Durch die Anwendung beider Methoden ist die Wahrscheinlichkeit für falsch negative Ergebnisse sogar geringer.

Zu der Untersuchung der Maximaltemperatur kann gesagt werden, dass der von der DVGW empfohlene Wert von 60 °C im Durchschnitt um 4,2 °C unterschritten wird, da das arithmetische Mittel bei 55,8 °C liegt. Da ein Zusammenhang zwischen der Maximaltemperatur und dem Vorkommen von Legionellen festgestellt werden konnte und das Vorkommen von Legionellen ab 60 °C deutlich abnimmt, sollte an der durchschnittlichen Unterschreitung von 4,2 °C unbedingt gearbeitet werden. Bei Einhaltung dieser Maximaltemperatur kann somit von einer Senkung des Vorkommens von Legionellen ausgegangen werden. Für die Temperatur bei der Probenahme gibt es keine empfohlene Temperatur, somit gibt es für den durchschnittlichen Wert von 43,8 °C keine Konsequenzen. Auch konnte kein Zusammenhang zwischen der Temperatur bei Probenahme mit dem Vorkommen von Legionellen festgestellt werden, wodurch die Messung dieser Temperatur bezüglich des Vorkommens nicht notwendig ist.

Das Vorkommen von Legionellen ist durch viele Faktoren bedingt. Wie zuletzt in dieser statistischen Untersuchung festgestellt werden konnte, ist die Temperatur ein Faktor der im

Zusammenhang zum Vorkommen stehen kann. Nach der Entnahme der Probe in eine sterile Polyethylen-Flasche entspricht das Umfeld nicht mehr den optimalen Lebensbedingungen von Legionellen. Faktoren wie Temperatur und Lichtverhältnisse ändern sich zu diesem Zeitpunkt. Interessant ist im Folgenden, wie sich die Tenazität der Legionellen in den Flaschen verhält.

## 4 Tenazität von Legionellen

Tenazität beschreibt die Widerstandsfähigkeit gegenüber Umwelteinflüssen. Die vorgeschriebene maximale Dauer der Probenlagerung von der Entnahme des Warmwassers bis zur Analyse auf *Legionella species* beträgt 48 Stunden (DIN EN ISO 19458, 2006, S. 26). Dies verringert die Flexibilität der Labore im hohen Maße, da die Wässer direkt nach der Lieferung analysiert werden müssen. Um zu prüfen, ob diese Vorschrift hinsichtlich der Tenazität angemessen ist, soll im folgenden Teil der Arbeit herausgefunden werden, wie lange die Konzentration von Legionellen in Wasser stabil bleibt. Dazu wird eine Methode zur Überprüfung der Tenazität entwickelt, durchgeführt, ausgewertet und diskutiert.

### 4.1 Ziel der Untersuchung

Ziel der Untersuchung ist es herauszufinden, ob die Anzahl der Legionellen im Wasser bei verschiedenen Temperaturen über fünf Tage konstant bleibt.

Dazu wird zunächst eine mit Legionellen beimpfte Wasserprobe hergestellt. An dieser Wasserprobe soll die Veränderung der Konzentration über sieben Tage analysiert und ausgewertet werden.

### 4.2 Material und Methoden

Die Materialien zur Durchführung dieses Versuchs wurden vom Labor Dr. Graner & Partner zur Verfügung gestellt.

Um eine Stammlösung anzusetzen, werden Legionellen der Stammkultur von *Legionella pneumophila* (genaue Bezeichnung des Stamms: ATCC33152) repräsentativ für *Legionella species*, mit Hilfe eines sterilen Wattestäbchens von der GVPC-Agarplatte entnommen und in ein Medium überführt bis es zu einer deutlichen Trübung kommt. Das Medium ist in diesem Versuch eine Kochsalz-Pepton-Lösung (Maximale-Wiederbelebungs-Lösung) mit folgender Zusammensetzung:

- Pepton 1,0 g/L
- Natriumchlorid 8,5 g/L

Aus der Stammlösung wird eine dezimale Verdünnungsreihe hergestellt. Um die Legionellen-Konzentration der einzelnen Verdünnungen bestimmen zu können, werden 100 µL der Verdünnungen auf GVPC-Agarplatten ausplattiert und circa sieben Tage bebrütet bis ein Auszählen der gewachsenen koloniebildenden Einheiten möglich ist. Die Verdünnungen werden innerhalb dieser Zeit bei 6 °C im Kühlschrank aufbewahrt.

Von einer Verdünnung wird dann 1 mL in 99 mL steriles und entionisiertes Wasser gegeben. Die Probe wird in sterilen Polyethylen-Flaschen mit Natriumthiosulfat aufbewahrt, um die Bedingungen an die der Kundenproben anzupassen.

Dieser Vorgang zur Versuchsvorbereitung wird mehrmals durchgeführt. Es sollen die Ergebnisse bei Aufbewahrung unter dem Einfluss von Temperaturen bei 6 °C, bei Raumtemperatur, sowie bei 30 und 42 °C miteinander verglichen werden. Zusätzlich wird getestet, ob es dabei einen Unterschied zwischen dem Einsatz von sterilem, entionisiertem Wasser und unbehandeltem Trinkwasser gibt. Des Weiteren werden Wässer direkt nach der Herstellung der Verdünnungsreihe mit Legionellen kontaminiert, um herauszufinden, ob die Lagerung der Verdünnungsreihe einen Einfluss auf die Tenazität hat.

Die angesetzten Proben werden täglich auf GVPC-Agarplatten aufgebracht und für sieben bis zehn Tage bei 36 °C bebrütet. Die aufzubringende Menge der Probe beträgt einen Milliliter, verteilt auf zwei Platten (500 µL je Platte). Dieses Verfahren entspricht der DIN EN ISO 11731:1998 und somit der nativen Analyse der Proben auf *Legionella species* im Routinebetrieb des Labors Dr. Graner & Partner.

Letztlich wird die Konzentration von Kundenproben analysiert, nachdem bei der Routineanalyse eine relativ hohe Konzentration an Legionellen gefunden wurde. Da die Auswertung der ersten Analyse erst nach sieben bis zehn Tagen erfolgen kann, wird nach diesem Zeitraum eine zweite Analyse durchgeführt, wodurch der Abstand der Analysen sehr groß ist.

#### 4.3 Ergebnisse und Diskussionen zur Tenazität von Legionellen

Zunächst wird festgelegt, wie hoch die maximal zulässige Änderung der Konzentration von Legionellen sein darf. Eine akzeptable Abweichung wird mit maximal 10% angenommen. Dieser Wert wird aus der DIN EN ISO 17994:2014 für den Vergleich der relativen Wiederfindung von Mikroorganismen durch zwei quantitative Verfahren abgeleitet. Laut Norm ist das Vergleichbarkeitskriterium erfüllt, wenn die mittlere relative Abweichung zwischen zwei Methoden signifikant unter 10 % liegt (DIN EN ISO 17994-06, 2014).

In Abbildung 10 werden die Ergebnisse der Versuchsreihe mit sterilem, entionisiertem Wasser dargestellt.

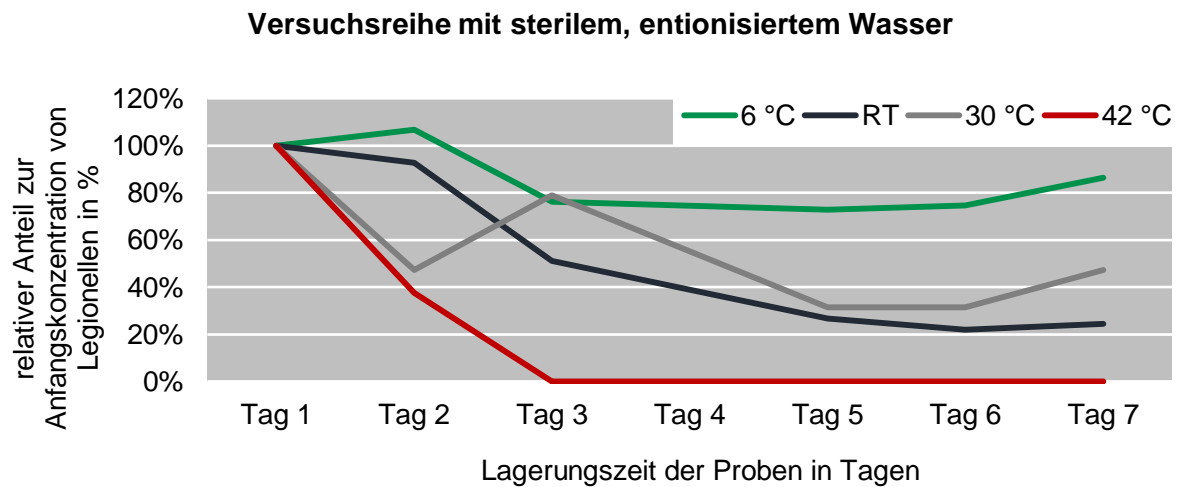


Abbildung 10 Vergleich von relativen Abweichungen der Anfangskonzentrationen von der Versuchsreihe mit sterilem, entionisiertem Wasser bei 6 °C, Raumtemperatur(RT), 30 °C und 42 °C, Angaben in %

Es ist zu beachten, dass die Angaben der Abbildung 10 die relativen Veränderungen zur Anfangskonzentration an Tag 1 darstellen. Da die absoluten Anfangskonzentrationen unterschiedlich hoch sind, kann ein Vergleich nur über die Ermittlung der relativen Abweichung stattfinden.

Bei einer geringen absoluten Anzahl an Legionellen in der Probe, können schon kleine Konzentrationsänderungen zu einem starken Abfall der Kurve oder zur Entstehung von Peaks führen. Ein Beispiel dafür ist der Peak bei der Aufbewahrungstemperatur von 30 °C am dritten Tag.

Insgesamt wird aus der Abbildung deutlich, dass ein Abfall der Konzentrationen bei allen Aufbewahrungstemperaturen spätestens nach dem zweiten Tag zu verzeichnen ist. Schon am dritten Tag liegt die Abweichung zur Anfangskonzentration bei allen Proben über 10 %. In der Literatur werden die Temperaturen zwischen 30 und 45 °C als optimale Lebensbedingung beschrieben (Roeske, 2007, S. 26). In diesem Versuch hingegen kommt es zum Absterben der Bakterien. Bei 42 °C ist, entgegen der Erwartung, ein besonders starker Konzentrationsabfall zu beobachten. Daher wird nach dieser ersten Versuchsreihe davon ausgegangen, dass noch andere Faktoren bei der Tenazität von Legionellen eine entscheidende Rolle spielen müssen.

In einer Wiederholung der Versuchsreihe wurde ein ähnlicher Verlauf der Konzentrationsänderung festgestellt.

Durch eine weitere Versuchsreihe konnte außerdem ausgeschlossen werden, dass die Aufbewahrung der Legionellen, während der Konzentrationsbestimmung der Verdünnungsreihe, eine Auswirkung auf die Tenazität hat. Daher wird an dieser Stelle nicht weiter darauf eingegangen.

Es sollte beachtet werden, dass eine ideale homogene Verteilung der Konzentration von lebenden Bakterien in Wasser nicht möglich ist. Daher können die Ergebnisse leicht falsch positiv oder falsch negativ ausfallen. Jedoch ist die Verfälschung des Trends einer Konzentrationszunahme, bzw. –Abnahme über mehrere Tage unwahrscheinlich.

Das sterile, entionisierte Wasser wurde für diesen Versuch ausgewählt, da das Wachstum einer Begleitflora dadurch ausgeschlossen.

In dem verwendeten sterilen, entionisierten Wasser sind jedoch keinerlei Nährstoffe vorhanden. Die essentiellen Nährstoffe für Legionellen sind Cystein und Eisen(III)-Verbindungen. Ohne diese essentiellen Nährstoffe können sich Legionellen weder vermehren, noch über längere Zeit mit konstanter Konzentration im Wasser verbleiben (Bugert, 2012, S. 482). Laut Münchner Trinkwasser-Analysewerte vom Januar 2014 ist im Trinkwasser ein sehr geringer Anteil Gesamteisen enthalten (Stadtwerke München GmbH, 2014). Eisen(III)-Verbindungen können zusätzlich durch Korrosion von Wasserleitungen in das Trinkwasser gelangen. Cystein ist eine Aminosäure und kommt somit in Biofilmen und Amöben vor, in welchen sich Legionellen auch intrazellulär vermehren können (Lück, 2006, S. 1).

Da unbehandeltes Trinkwasser nicht steril und der Inhalt von Cystein und Eisen(III)-Verbindungen nicht auszuschließen ist, wird im Folgenden die Versuchsreihe mit der Verwendung von unbehandeltem Trinkwasser betrachtet. Dadurch soll herausgefunden werden, ob es einen Unterschied zwischen den verwendeten Wässern bezüglich der Tenazität von Legionellen gibt.

In Abbildung 11 werden die Ergebnisse der Versuchsreihe mit unbehandeltem Trinkwasser bei verschiedenen Aufbewahrungstemperaturen dargestellt.

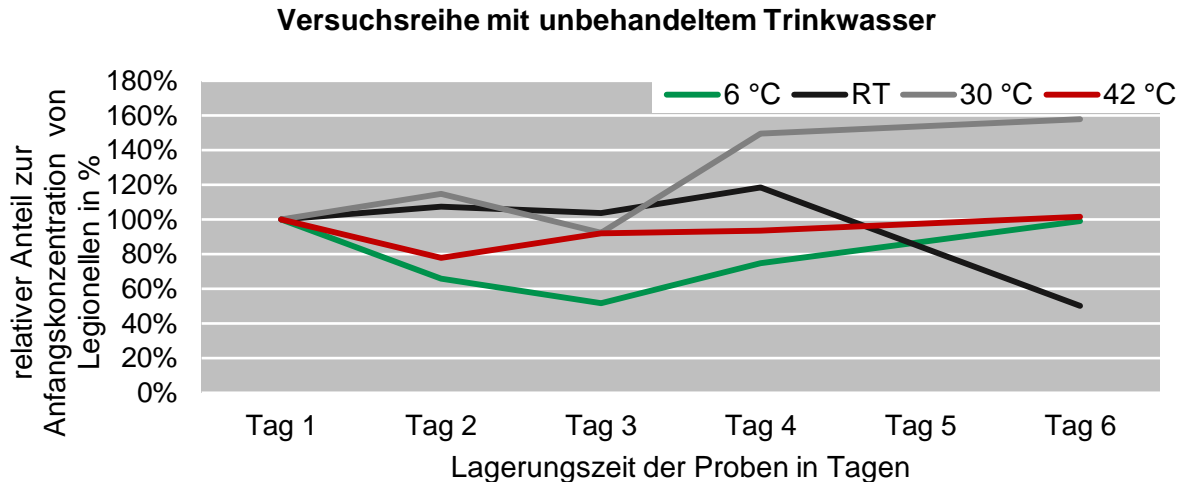


Abbildung 11 Vergleich von relativen Abweichungen der Anfangskonzentrationen von der Versuchsreihe mit unbehandeltem Trinkwasser bei 6 °C, Raumtemperatur(RT), 30 °C und 42 °C, Angaben in %

Die Abbildung zeigt, dass die Konzentration bei Raumtemperatur und bei 30 °C schon am zweiten Tag zunimmt. Eine besonders hohe Konzentration ist ab Tag vier bei 30 °C zu beobachten. Hier beträgt die Abweichung zur Anfangskonzentration +50 %. Dieses Wachstum kann eine zufällige Ursache haben oder durch Nährstoffe im Wasser bedingt sein. Bei 6 °C hingegen ist eine Konzentrationsänderung von -50 % erkennbar. Allerdings ändert sich diese Abnahme am dritten Tag, denn ab dem vierten Tag ist auch hier eine Zunahme zu erkennen. Ähnlich sieht die Kurve bei 42 °C aus. Auch hier erfolgt zunächst eine leichte Konzentrationsabnahme bevor die Konzentration dann langsam, aber kontinuierlich ansteigt.

Bei der Wiederholung der Testreihe konnte bei einer höheren Legionellenkonzentration beobachtet werden, dass die Legionellen insgesamt früher sterben. Vermutet wird, dass das Nährstoffangebot schneller verbraucht wird, die Legionellen sterben und die Konzentration sinkt.

Aufgrund der Darstellung von relativen Werten sind auch hier die Fehler möglich, die schon im Zusammenhang mit Abbildung 10 erwähnt wurden.

Um den Unterschied zwischen sterilem, entionisiertem Wasser und unbehandeltem Trinkwasser näher betrachten zu können werden die Konzentrationsänderungen in Abbildung 12 bei 6 °C und bei 42 °C miteinander verglichen.

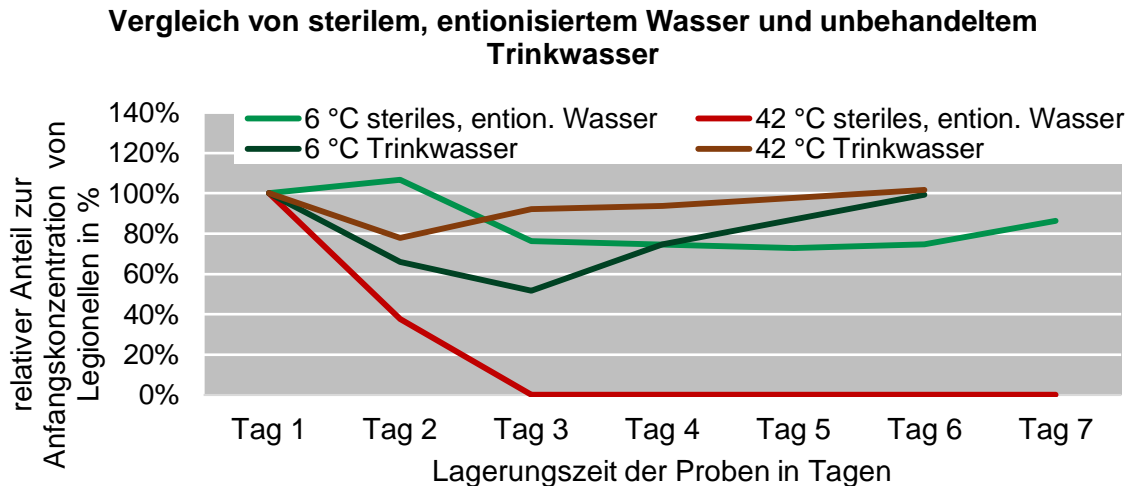


Abbildung 12 Vergleich von sterilem, entionisiertem Wasser und unbehandeltem Trinkwasser bei 6 °C und 42 °C, Angaben in %

Zum einen wird ersichtlich, dass die Abweichung der Konzentration bei 6 °C generell nicht über 50 % hinausgeht. Bei einer Aufbewahrungstemperatur von 42 °C ist ein komplettes Absterben der Legionellen nach drei Tagen möglich.

Werden die Wässer miteinander verglichen, fällt auf, dass die Konzentration bei dem sterilen, entionisiertem Wasser einen Trend zur Abnahme verzeichnet. In dem Trinkwasser kommt es zwar zunächst auch zu einem Abfall der Konzentration, jedoch steigt diese spätestens nach drei Tagen an und behält eine kontinuierliche Zunahme bei.

Da die negative Konzentrationsänderung bei 42 °C mit Trinkwasser geringer ist als mit sterilem, entionisiertem Wasser, kann daraus geschlossen werden, dass die Zusammensetzung des Wassers einen Einfluss auf das Wachstum hat. Außerdem wird deutlich, dass die Konzentration der Legionellen bei einer Aufbewahrungstemperatur von 42 °C weder in dem sterilen, entionisiertem Wasser, noch in dem unbehandelten Trinkwasser nennenswert über die Anfangskonzentration hinaussteigt, wodurch nicht von einem Wachstum gesprochen werden kann. Dies bedeutet, dass Trinkwasser nicht den optimalen Lebensbedingungen von *Legionella species* entspricht. Weitere Faktoren müssen somit an der Vermehrung von Legionellen beteiligt sein.



Da die genaue Zusammensetzung des Trinkwassers nicht bekannt ist und somit Unterschiede zu dem Wasser der Kundenproben vorliegen können, wird eine Versuchsreihe mit Kundenproben durchgeführt. Diese Proben werden bei Raumtemperatur aufbewahrt und erst nach acht Tagen kommt es zu einer Vergleichsanalyse.

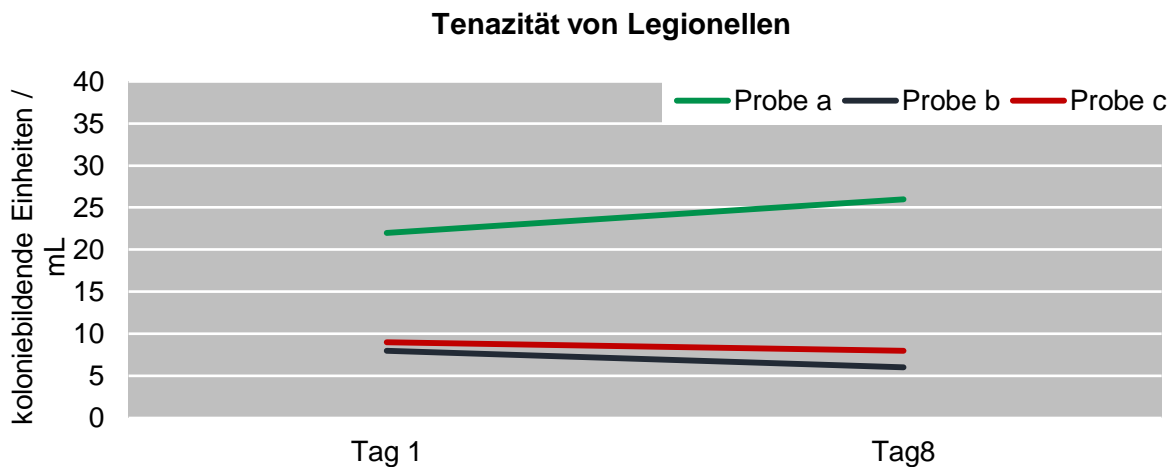


Abbildung 13: Tenazität von Legionellen in Kundenproben; Angaben in KbE/ mL

Die Grafik zeigt bei Probe a eine leichte Zunahme der Konzentration von Legionellen, die Proben b und c hingegen zeigen leichte Abnahmen.

Die Tatsache, dass die Konzentration der Legionellen bei zwei Kundenproben leicht gesunken und bei einer Kundenprobe leicht gestiegen ist, lässt nicht auf eine eindeutige Tendenz über die Konzentrationsveränderung und damit über die Tenazität von Legionellen schließen. Dieses Ergebnis zeigt nur, dass es auch hier zu Konzentrationsänderungen von mehr als 10 % kommt. Allerdings ist hier nur die Erfassung einer Änderung der Anfangskonzentration zur Konzentration nach Aufbewahrung über acht Tage bei Raumtemperatur möglich. Eine Ausweitung dieses Versuchs gestaltet sich schwierig, da vor der Auswertung der ersten Analyse nicht gesagt werden kann, ob Legionellen in den Kundenproben sind. Da die Auswertung sieben bis zehn Tage dauert, müsste die tägliche Konzentrationsüberprüfung durchgeführt werden, ohne zu wissen ob Legionellen in dem Wasser sind.

Die Zusammensetzung des Wassers von Kundenproben mit positivem Legionellenbefund ist nicht bekannt. Somit können keine Rückschlüsse über den Inhalt der essentiellen Nährstoffe getroffen werden. Neben dem Inhalt ist für die Überlebensdauer von Bakterien auch die Konzentration der Nährstoffe entscheidend. Wenn Nährstoffe aufgebraucht sind, kommt es laut Wachstumskurve zur Absterbephase der Bakterien. Dadurch sinkt die Konzentration (Schink, 2007, S. 175). Dies kann auch der Grund für die Konzentrationsunterschiede der beiden Testreihen sein, denn auch hier ist die Konzentration der Nährstoffe unbekannt.

#### 4.4 Fazit der Versuche

Anhand der Durchführung dieser Versuche kann keine allgemein gültige Aussage über die Tenazität von Legionellen während der Lagerung gemacht werden.

Es wurde herausgefunden, dass die Konzentration von Legionellen in sterilem, entionisiertem Wasser grundsätzlich abnimmt, wobei die Stärke der Abnahme durch die Temperatur beeinflusst wird. Bei hohen Temperaturen (42 °C) ist die Abnahme deutlich stärker als bei niedrigen Temperaturen (6 °C).

Die Dauer der Aufbewahrung von Legionellen in einer Maximal-Wiederbelebungs-Lösung scheint keine Rolle zu spielen, da es auch hier zu einer Abnahme der Konzentration der Legionellen kommt.

Bei dem Einsatz von unbehandeltem Trinkwasser statt des sterilen, entionisierten Wassers ist bei dem Einfluss bestimmter Temperaturen ein anderes Verhalten der Tenazität erkennbar. Bei Raumtemperatur, 30 °C und 42 °C kommt es vereinzelt zum Anstieg der Konzentrationen. Daraus wird geschlossen, dass die Tenazität nicht allein von der Temperatur, sondern auch von der Zusammensetzung des Trinkwassers abhängig sein muss. Weiter können Unterschiede der Tenazität aufgrund verschiedener Konzentrationen von Legionellen im Wasser festgestellt werden, wodurch auch dieser Faktor im Zusammenhang mit der Tenazität stehen muss.

Aus diesem Versuch geht somit hervor, dass weiterhin eine Lagerung der Proben bei 6 °C erfolgen sollte, da bei dieser Temperatur die geringsten Abweichungen zu erwarten sind. Es ist allerdings zu betonen, dass alle Testreihen eine Abweichung von mehr als 10 % zur Anfangskonzentration aufweisen. Da die Abweichung mit fortschreitender Zeit zunimmt, sollten die Proben weiterhin so schnell wie möglich untersucht werden und die vorgeschriebene Lagerungsdauer von 48 Stunden nicht überschreiten.

Dies ist jedoch nur ein einzelner Versuch, dessen Aussagekraft damit sehr unsicher ist und unbedingt durch Wiederholungen überprüft werden sollte.

Auch die Arbeitsgruppe um Herrn Prof. Dr. Hilbi am Max-von-Pettenkofer-Institut an der Ludwig-Maximilians-Universität in München beschäftigen sich aktuell mit der Frage wie Legionellen untereinander und mit anderen Mikroorganismen kommunizieren um unter anderem das Wachstum und die Adhäsion zu regulieren (Max von Pettenkofer-Institut für Hygiene und Medizinische Mikrobiologie der Ludwig-Maximilians-Universität München., o.J.)

## 5 Zusammenhang zwischen Vorkommen und Tenazität

In diesem Kapitel soll abschließend der Zusammenhang zwischen dem Vorkommen von Legionellen und der Tenazität dieser Bakterien, auf der Grundlage der Erkenntnisse die durch die vorliegende Arbeit gewonnen wurden, dargestellt werden.

Zwischen 20 °C und 60 °C ist das Vorkommen von Proben mit hohen Legionellen-Konzentrationen besonders häufig. Laut der Literatur wirken Temperaturen ab 60 °C bakterizid (Schink, 2007, S. 183). Trotzdem können sogar bei 70-80 °C geringe Konzentrationen an Legionellen im Wasser festgestellt werden. Hier kommt die Tenazität, also die Widerstandsfähigkeit, ins Spiel. Es ist bewiesen, dass die Tenazität steigt, wenn Legionellen sich in Biofilmen oder Amöben befinden (Netuschil, 2006, S. 129). Dadurch ändern sich die Umgebungsbedingungen für die Legionellen.

Das Vorkommen hängt somit von der Tenazität ab. Wenn Legionellen in einer bestimmten Umgebung keine oder nur eine geringe Widerstandsfähigkeit aufweisen, sterben sie, sind im Labor nicht nachweisbar und können keine Gefahr für den Menschen darstellen.

Wie genau die Faktoren zur Beeinflussung der Tenazität aussehen, geht aus dieser Arbeit nicht hervor. Sicher ist nur, dass die Temperatur eine Rolle spielt, jedoch nicht die alleinige.

Durch diese Tatsache ist es neben der Desinfektion der Legionellen auch wichtig, ihren optimalen Lebensbedingungen entgegenzuwirken, damit es nach erfolgreicher Beseitigung nicht zu einer erneuten Kontamination kommen kann.

## 6 Abschlussbetrachtung

Die vorliegende Arbeit stellt hier eine Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse und eine kritische Betrachtung über die Schwächen dar. Letztlich folgt ein Ausblick auf weitere Untersuchungen und Forschungen.

### 6.1 Zusammenfassung der wichtigsten Erkenntnisse

Insgesamt zeigt die Untersuchung, dass Legionellen in unserer Gesellschaft ein Problem darstellen. Bei 47 % der Immobilien konnten in den Jahren 2012 bis 2014 Legionellen festgestellt werden. Bei rund 17 % wird sogar die technische Maßnahmengrenze überschritten, sodass Maßnahmen je nach Stärke der Kontamination, wie weitergehende Untersuchungen oder Desinfektionen, durchgeführt werden müssen. Die Anteile an kontaminierten Immobilien sind als hoch einzustufen, wenn beachtet wird, dass von diesem Bakterium tödliche Gefahren ausgehen können. Des Weiteren wurde herausgefunden, dass es einen Unterschied bezüglich der Ergebnisse zwischen den zwei parallel durchzuführenden Analysen auf Legionellen gibt. In der Diskussion wird jedoch beschrieben, dass die Unterschiede keine Nachteile für das Ergebnis und somit für die Kunden darstellen. Ein weiteres Ergebnis ist die Bestätigung der These zur Abhängigkeit der Maximaltemperatur und dem Vorkommen von *Legionella species* in Warmwasseranlagen von Hausinstallationen. Außerdem wurde eine Zunahme der kontaminierten Immobilien innerhalb der untersuchten drei Jahre festgestellt. Daraus folgt, dass das Bewusstsein über die Bedeutung zur Einhaltung von empfohlenen Maximaltemperaturen der Warmwassersysteme in der Bevölkerung verankert werden sollte, da dadurch weitere Kontaminationen und somit auch Legionellose vermieden werden können.

Im zweiten Teil der Untersuchung wurde herausgefunden, dass die Tenazität nicht nur im Zusammenhang mit der Temperatur steht. Es wurde diskutiert, ob weitere Faktoren, wie beispielsweise die Nährstoffkonzentration und die Konzentration der Legionellen, eine Funktion bei der Tenazität darstellen.

### 6.2 Kritische Betrachtung der Arbeit

Die statistische Untersuchung zum Vorkommen von Legionellen, zeigt einige Schwächen hinsichtlich der Rohdatenverarbeitung. Vor der durchgeführten Untersuchung kam es zu einer Selektion, sodass nur Daten verwendet wurden, bei denen alle benötigten Merkmale im System eingetragen wurden. Daher konnten 42 % der 2012 bis 2014 untersuchten Trinkwasserproben nicht mit in diese statistische Auswertung einbezogen werden. Diese hohe

Zahl resultiert zum größten Teil daraus, dass die Probenahmetemperatur am Ablauf der Erwärmungseinheit und am Rücklauf der Zirkulation häufig der Maximaltemperatur entspricht. Da ein Vergleich des Zusammenhangs von Maximaltemperatur und Vorkommen von Legionellen mit dem Zusammenhang zwischen der Temperatur bei Probenahme und Vorkommen von Legionellen nicht möglich gewesen wäre, wurden diese Proben nicht in die statistische Auswertung einbezogen. Des Weiteren wurden Daten entfernt, wenn diese nicht logisch nachvollziehbar sind. Dies ist beispielsweise der Fall, wenn die Temperatur bei Probenahme höher ist, als die Maximaltemperatur der Entnahmestelle.

Weiter hätte eine Unterscheidung des Vorkommens an den einzelnen Probenahmestellen vorgenommen werden können. Dann würde eine Aussage darüber vorliegen, ob es einen Unterschied des Vorkommens von Legionellen zwischen dem Ablauf der Erwärmungseinheit, dem Rücklauf der Zirkulation und an den Enden der Steigstränge gibt. Da diese drei Entnahmestellen nicht eindeutig, bzw. nicht regelmäßig einer bestimmten Kategorie des Datenmanagementsystems zugeordnet sind und eine manuelle Sortierung aufgrund der großen Datenmenge sehr aufwendig ist, wird diese Frage nicht beantwortet.

Außerdem ist zu beachten, dass das Labor Dr. Graner & Partner nur eines von acht Laboren ist, welche für die Trinkwasseruntersuchung in München zugelassen sind. Zusätzlich beziehen sich die Daten nicht nur auf die Stadt München, sondern auf die gesamte Metropolregion München. Ob diese Untersuchung repräsentativ für München oder sogar ganz Deutschland ist, kann nicht eindeutig gesagt werden. Zwar ist der Stichprobenumfang sehr groß, doch es liegen keine Daten dafür vor, ob alle Merkmalsträger der Grundgesamtheit die gleiche Chance besessen haben, ein Teil dieser Untersuchung zu werden. Das bedeutet, dass nicht bekannt ist wie viele Ein-, Zwei- oder Mehrfamilienhäuser, sowie öffentliche Gebäude wie Kindergärten, Schulen oder Krankenhäuser in der Untersuchung berücksichtigt werden. Wie hoch der Anteil der Untersuchungen von den in München bestehenden Warmwasserinstallationen ist, kann ebenfalls nicht gesagt werden, da diese nicht registriert werden müssen und der Stadt München somit keine Daten darüber vorliegen.

Auch bei dem Versuch zur Tenazität von Legionellen liegen einige Schwächen vor. Im Laufe des Versuchs hat sich herauskristallisiert, dass viele verschiedene Faktoren zur Tenazität beitragen. Da die Zusammensetzung des Trinkwassers dabei eine entscheidende Rolle zu spielen scheint, kann keine eindeutige und für alle Trinkwässer geltende Aussage zur Tenazität gemacht werden, weil der Versuch sich hauptsächlich auf die Tenazität in Bezug auf die Temperaturen beschränkt.

Außerdem können Fehler, z.B. beim Zählen der koloniebildenden Einheiten auf den Agarplatten, aufgetreten sein. Grundsätzlich ist nochmals hervorzuheben, dass das Schütteln der Probe für eine homogene Verteilung von Legionellen im Wasser sorgt (DIN EN ISO 19458, S. 12). Somit kann auch eine Ungleichverteilung der Konzentration von Legionellen innerhalb einer Probe vorliegen, was zu falschen Ergebnissen führen kann.

### 6.3 Ausblick

Die vorliegende statistische Auswertung kann in den nächsten Jahren fortgesetzt werden. Dadurch kann festgestellt werden, ob sich der aktuelle Trend weiter bestätigt und ob es durch großflächige, vorsorgende Maßnahmen bei den Warmwasserinstallationen, z.B. in Form einer konsequenten Einhaltung der Maximaltemperatur von 60 °C, eine Trendverstärkung geben wird.

Des Weiteren ist eine Erweiterung der Untersuchung möglich. Es können Untersuchungen bezüglich der Immobiliengröße, der Größe der Warmwasserinstallation und Häufungen an bestimmten Entnahmestellen gemacht werden. Weiter kann zwischen öffentlichen und privaten Immobilien unterschieden werden.

Im zweiten Teil der Untersuchung konnte herausgefunden werden, dass die Tenazität nicht nur im Zusammenhang mit der Temperatur steht. Es wurde diskutiert, ob weitere Faktoren, wie beispielsweise die Nährstoffkonzentration und die Konzentration der Legionellen, eine Bedeutung für der Tenazität darstellen.

Denkbar wäre somit eine großangelegte Untersuchung von Kundenproben, bei denen die Konzentrationsänderung der Legionellen täglich überprüft wird. Dadurch kann herausgefunden werden, ob die Legionellen sich in den Kundenproben gleich verhalten, oder ob es auf Grund von verschiedenen Zusammensetzungen der Trinkwässer deutliche Unterschiede gibt und eine allgemein gültige Aussage zur Lagerung der Trinkwässer überhaupt gemacht werden kann. Diese Untersuchung ist jedoch mit einem hohen Aufwand verbunden, da das Vorhandensein der Legionellen erst nach einigen Tagen erkennbar ist. Es wird viele Untersuchungen ohne Ergebnis geben, denn wie in dieser Auswertung herausgefunden wurde, sind in rund 80 % der untersuchten Proben keine Legionellen enthalten. Bevor ein solcher Versuch an Kundenproben durchgeführt wird, sollte eine Abschätzung über die Wichtigkeit des Ergebnisses gemacht werden.

## Literaturverzeichnis

Bartram, J., Chartier, Y., Lee, J., Pond, K., Surman-Lee, S. (2007). Legionella and the prevention of legionellosis. Genf: World Health Organization Press.

Baum, H., Ewig, S., Marre, R., Suttorp, N., Gonschior, S., Welte, T., Lück, P.C. (2008). Community Acquired Pneumonia: New Insights from the German Competence Network for Community Acquired Pneumonia, in: Clinical Infectious Diseases, 46. Jg., Nr.9, S. 1356-1364.

Bopp, C., Sumner, J., Morris, G., Wells, J. (1981). Isolation of Legionella spp. from Environmental Water Samples by Low-pH Treatment and Use of a Selective Medium, in: Journal of Clinical Microbiology, 13. Jg., Nr. 4, S. 714-719.

Bugert, J. (2012). Legionella, in: Darai, G. (Hrsg.), Handermann, M. (Hrsg.), Sonntag, H.-G. (Hrsg.), Zöller, L. (Hrsg.), Lexikon der Infektionskrankheiten des Menschen: Erreger, Symptome, Diagnose, Therapie und Prophylaxe, Berlin: Springer-Verlag, S.483-485.

Deutscher Verein des Gas- und Wasserfaches e.V. (2004). Arbeitsblatt W 551 Trinkwassererwärmungs- und Trinkwasserleitungsanlagen; Technische Maßnahmen zur Verminderung des Legionellenwachstums; Planung, Errichtung, Betrieb und Sanierung von Trinkwasser-Installationen. Bonn: DVGW

Groothuis, D. G., Veenendaal, H. R., Dijkstra, H. L. (1985). Influence of temperature on the number of Legionella pneumophila in hot water systems, in: Journal of Applied Bacteriology, 59. Jg., Nr. 6, S. 529-536.

Harmuth, M. (2006). Untersuchungen über das Vorkommen von Legionellen in Warmwassersystemen von Ein- und Zweifamilienhäusern. Westfälische Wilhelms-Universität Münster: Dissertation

Labor Dr. Graner & Partner (2010). Unser Labor und Sachverständigenbüro. Labor Dr. Graner & Partner. <http://www.labor-graner.de/labor.html>. Stand 02.12.2014

Lück, P. C., Helbig, J. H., Schuppler, M. (2002). Epidemiology and Laboratory Diagnosis of Legionella Infections, in: LaboratoriumsMedizin, 29. Jg., Nr. 3/4, S. 174-182.

Lück, P.C., Steinert, M. (2006). Pathogenese, Diagnostik und Therapie der Legionella-Infektion, in: Bundesgesundheitsblatt, 49. Jg., Nr. 5, S. 439-449.

Max von Pettenkofer-Institut für Hygiene und Medizinische Mikrobiologie der Ludwig-Maximilians-Universität München (o.J.). Legionella pneumophila. Max von Pettenkofer-Institut für Hygiene und Medizinische Mikrobiologie der Ludwig-Maximilians-Universität München. <http://www.mvp.uni-muenchen.de/forschung/bakteriologie/ag-hilbi/>. Stand 03.01.2015

Norm DIN EN ISO 11731:1998(E) (1998). Water quality – Detection and enumeration of *Legionella*. Berlin: Beuth.

Norm DIN EN ISO 11731:2008-2 (2008). Wasserbeschaffenheit - Nachweis und Zählung von Legionellen. Berlin: Beuth.

Norm DIN EN ISO 17994:2014-06 (2014). Wasserbeschaffenheit – Anforderungen für den Vergleich der relativen Wiederfindung von Mikroorganismen durch zwei quantitative Verfahren. Berlin: Beuth.

Norm DIN EN ISO 19458:2006-12 (2006). Wasserbeschaffenheit - Probenahme für mikrobiologische Untersuchungen. Berlin: Beuth.

Netuschil, L. (2006). Mikroorganismen der Mundhöhle, in: Reitemeier, B. (Hrsg.), Schwenzer, N. (Hrsg.), Ehrenfeld, M. (Hrsg.), Einführung in die Zahnmedizin, Stuttgart: Georg Thieme Verlag, S. 127-129.

OXOID GmbH (2007). Produkt Spezifikation: Legionella GVPC Selectivagar. OXOID GmbH. <http://www.mibius.de/out/oxbaseshop/html/0/images/wysiwigpro/PS-PO5074Adev07.pdf>. Stand 10.01.2015.

Pleischl, S. (2004). Zum Vorkommen von Legionellen in wasserführenden, technischen Systemen und der Wirksamkeit von Sanierungsmaßnahmen unter Praxisbedingungen. Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn: Dissertation.

Robert Koch-Institut (2013). Legionellose, in: Epidemiologisches Bulletin, 2013 Jg., Nr. 8, S. 61-70.

Robert Koch-Institut (2013). Legionellose- Ratgeber für Ärzte. Robert Koch-Institut. [http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber\\_Legionellose.html](http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Legionellose.html). Stand: 20.12.2014

Robert Koch-Institut (2014). Infektionsepidemiologisches Jahrbuch für 2013. Berlin: Robert Koch-Institut



Roeske, W. (2007). Trinkwasserdesinfektion, in: Ritter, K. (Hrsg.), Trinkwasserdesinfektion, München: Oldenbourg Industrieverlag.

Schaefer, B. (2007). Legionellenuntersuchung bei der Trinkwasseranalyse, in: Bundesgesundheitsblatt, 50. Jg., Nr. 3, S. 291-295.

Schaefer, B., Brodhun, B., Wischnewski, N., Chorus, L. (2011). Legionellen im Trinkwasserbereich, in: Bundesgesundheitsblatt, 54. Jg., Nr. 6, S. 671-679.

Schink, B. (2007). Wachstum und Ernährung der Mikroorganismen, in: Fuchs, G. (Hrsg.), Allgemeine Mikrobiologie. Stuttgart: Thieme Verlag, S. 155-192

Stadtwerke München GmbH (2014). Münchner Trinkwasser-Analysewerte. Stadtwerke München GmbH. <https://www.swm.de/dms/swm/dokumente/m-wasser/trinkwasser-analysewerte.pdf>. Stand: 15.01.2015.

Umweltbundesamt (2012). Systemische Untersuchungen von Trinkwasser-Installationen auf Legionellen nach Trinkwasserverordnung. Umweltbundesamt. <http://www.umweltbundesamt.de/sites/default/files/medien/419/dokumente/internet-legionellen-empfehlung.pdf>. Stand 22.11.2014.

Wadowsky, R., Yee, R. (1981). Glycine-Containing Selective Medium for Isolation of Legionellaceae from Environmental Specimens, in: Applied and Environmental Microbiology, 42. Jg., Nr. 5, S. 768-772.

## Rechtsquellenverzeichnis

Infektionsschutzgesetz vom 20. Juli 2000 (BGBl. I S. 1045), zuletzt geändert durch Artikel 2 Absatz 36 u. Artikel 4 Absatz 21 des Gesetzes vom 7. August 2013 (BGBl. I S. 3154)

Trinkwasserverordnung in der Fassung der Bekanntmachung vom 2. August 2013 (BGBl. I S. 2977), zuletzt geändert durch Artikel 4 Absatz 22 des Gesetzes vom 7. August 2013 (BGBl. I S. 3154)

## Zusammenfassung

Legionellen sind im Wasser lebende Bakterien, die eine Krankheit mit tödlichen Folgen auslösen können. Laut Robert-Koch-Institut nimmt die Zahl der Erkrankungen seit 2001 kontinuierlich zu und durch die Novellierung der Trinkwasserverordnung 2001 ist die Trinkwasseruntersuchung auf Legionellen seit 2013 zur Pflicht geworden.

In Zusammenarbeit mit dem Labor Dr. Graner & Partner wird eine statistische Auswertung der Daten von Trinkwasseruntersuchungen auf *Legionella species* der Jahre 2012 bis 2014 aus der Metropolregion München durchgeführt.

Diese Statistik befasst sich mit der Anzahl der kontaminierten Proben, sowie mit der prozentualen Häufigkeit von kontaminierten Immobilien. Des Weiteren wird durch diese Untersuchung ein Zusammenhang zwischen dem Vorkommen von *Legionella species* und den Temperaturen des Warmwassers an den Probenahmestellen festgestellt.

Im zweiten Teil der Arbeit soll herausgefunden werden, ob sich die Konzentration von Legionellen in der entnommenen Trinkwasserprobe über einen bestimmten Zeitraum bei verschiedenen Temperaturen konstant hält. Die Ergebnisse der Versuche zeigen, dass die Tenazität nicht ausschließlich mit der Lagerungstemperatur einhergeht, sondern auch andere Faktoren, eine entscheidende Rolle dazu beitragen.

## Abstract

Legionella are aquatic bacteria that can cause a disease with deadly consequences. According to the Robert-Koch-Institute, the number of cases increases since 2001 continuously. Through the amendment of the Drinking Water Regulations 2001, the drinking water testing for Legionella has become a duty since 2013. In collaboration with the laboratory Dr. Graner & Partner a statistical analysis of the data of drinking water tests for *Legionella species* of the years 2012 to 2014 is carried out within the region of Munich.

This statistic deals with the number of contaminated samples, as well as the percentage frequency of contaminated property. Furthermore, a correlation between the presence of *Legionella species* and the maximum temperatures of the hot water at the sampling points could be determined by this study.

In the second part of this thesis is to find out whether the concentration of Legionella in the water sample taken over a period of time at various temperatures constantly. The results of the experiments show that the tenacity is not associated only with the storage temperature, but also other factors such as the composition of the drinking water, contribute to a decisive role.

## Eidesstattliche Erklärung

Ich versichere hiermit, dass ich die vorliegende Bachelorarbeit mit dem Thema „Vorkommen und Tenazität von *Legionella species* in Trinkwasser“ ohne fremde Hilfe selbstständig verfasst und nur die angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet habe. Wörtlich oder dem Sinn nach aus anderen Werken entnommene Stellen sind unter Angabe der Quellen kenntlich gemacht.

Hamburg, 10.02.2015

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'M. Hüpsel', written in a cursive style.

Melanie Hüpsel

## Anhang

### Inhalt des Anhangs

Tabelle 2 Tenazität von <i>Legionella species</i> , Zeitraum: 25.08. bis 01.09.2014 .....	XV
Tabelle 3 Tenazität von <i>Legionella species</i> , Zeitraum: 30.10.-06.11.2014.....	XV
Tabelle 4 Tenazität von <i>Legionella species</i> , Zeitraum: 24.11.-01.12.2014.....	XV
Tabelle 5 Tenazität von <i>Legionella species</i> in sterilem, deionisiertem Wasser, Zeitraum:15.01.-22.01.2015.....	XVI
Tabelle 6 Tenazität von <i>Legionella species</i> in Trinkwasser, Zeitraum: 15.01.-22.01.2015...	XVI
Tabelle 7 Tenazität von <i>Legionella species</i> in Trinkwasser, Zeitraum: 19.01.-26.01.2015...	XVI
CD mit den Rohdaten der statistischen Auswertung zum Vorkommen von <i>Legionella species in Trinkwasser</i> .....	XVII

Tabelle 2 Tenazität von *Legionella species*, Zeitraum: 25.08. bis 01.09.2014, Angaben in KbE/ mL

	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 8
RT	182	74	68	87	127	117
6°C	182	102	101	71	117	118

Tabelle 3 Tenazität von *Legionella species*, Zeitraum: 30.10.-06.11.2014, Angaben in KbE/ mL

	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 8
6°C	59	63	45	43	44	51	39
RT	41	38	21	11	9	10	9
30°C	38	18	30	12	12	18	20
42°C	32	12	0	0	0	0	0

Tabelle 4 Tenazität von *Legionella species*, Zeitraum: 24.11.-01.12.2014, Angaben in KbE/ mL

	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 8
6°C	684	524	241	260	226
RT	498	223	133	122	69
30°C	434	118	81	96	72
42°C	336	78	65	43	1

Tabelle 5 Tenazität von *Legionella species* in sterilem, deionisiertem Wasser, Zeitraum: 15.01.-22.01.2015, Angaben in KbE/ mL

	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 8
6°C	484	443	302	175	138	24	7
RT	460	443	168	139	146	136	96
30°C	500	554	252	231	228	196	194
42°C	416	554	142	26	18	12	4

Tabelle 6 Tenazität von *Legionella species* in Trinkwasser, Zeitraum: 15.01.-22.01.2015, Angaben in KbE/ mL

	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 8
6°C	1720	1472	1504	1360	1616	1216	1472
RT	2264	1536	1632	1200	1480	1216	1264
30°C	2096	2256	2016	2256	1408	1824	1728
42°C	2184	2112	1984	1664	1872	1296	1040

Tabelle 7 Tenazität von *Legionella species* in Trinkwasser, Zeitraum: 19.01.-26.01.2015, Angaben in KbE/ mL

	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 6
6°C	1008	664	520	752	1000
RT	864	928	896	1024	432
30°C	628	720	580	940	992
42°C	1008	784	928	944	1024