

Legionellen in Wassersystemen – quantitative Analyse nach ISO 11731

Legionellen sind Bakterien, die bei Menschen die «Legionärskrankheit» hervorrufen können. Diese Krankheit ist durch eine Lungenentzündung (Pneumonie) gekennzeichnet und kann einen lebensgefährlichen Verlauf annehmen.

Die Übertragung geschieht dabei nicht von Mensch zu Mensch, sondern durch Einatmung lebender Legionellen. Da sich die Legionellen bevorzugt in warmem Wasser vermehren (25-45°C), können insbesondere Duschen, Whirlpools, Schwimmbekken und Wasser von Klimaanlageanlagen ein erhöhtes Infektionsrisiko bergen.

Für die Beurteilung eines Risikos durch Infektionen mit Legionellen wird für die Analyse die Kultivierungsmethode nach ISO 11731 angewandt. Damit werden nur die vermehrungsfähigen (also sicher lebenden) Legionellen erfasst.

Das Schweizerische Bundesamt für Gesundheit (BAG) publiziert und aktualisiert laufend Informationsbroschüren mit für relevante Situationen angepassten Höchstwerten für Legionellen, bei deren Überschreitung von einem erhöhten Risiko für Legionellose ausgegangen werden muss¹. Diese Richtwerte basieren auf der Analyse mit der international genormten Methode ISO 11731, bei der lebende Legionellenbakterien auf Nährmedien kultiviert werden. Für den Vergleich mit den Richtwerten ist dies essentiell, da nur vermehrungsfähige Legionellenzellen erfasst und für die Risikobeurteilung einbezogen werden.

Quantitative Analyse nach ISO 11731-1:

Fünf verschiedene, selektive Ansätze

Im Wasser technischer Systeme mit für Legionellen guten Bedingungen für die Vermehrung sind normalerweise auch andere Bakterienarten in hohen Konzentrationen vertreten. Um die Legionellen aus diesem «bunten» Gemisch aus verschiedenen Mikroorganismen aufzuspüren, ist es entscheidend, eine Methode zu verwenden, welche die gesuchten Bakterien selektioniert. Die Methode ISO 11731-1 sieht dafür verschiedene Selektionsverfahren vor, die für andere Nicht-Legionellenbakterien abtötend oder mindestens wachstumshemmend wirken.

Eine Wasserprobe, die auf Legionellen untersucht wird, wird also 5-mal parallel ange-

setzt mit verschiedenen Kombinationen von Selektionsverfahren:

- Selektion durch Beigabe von Antibiotikastoffen im Nährmedium,
- Selektion durch Säurebehandlung der Probe vor dem Kultivierungsschritt,
- kombinierte Selektion durch Antibiotikastoffen und Säurebehandlung,
- Selektion durch Hitzebehandlung der Probe vor dem Kultivierungsschritt,
- kombinierte Selektion durch Antibiotikastoffen und Hitzebehandlung.

Je nach Zustand der Originalprobe können die einen oder anderen Selektionsbedingungen zu einem besseren, d.h. wahrheitsgetreueren Resultat führen. Insbesondere bei Proben, die von Entnahmestellen stammen, die noch nie untersucht worden sind, oder deren Zustand nicht eingeschätzt werden kann, sollte die Zahl der Ansätze nicht reduziert werden, da man sonst allfälligerweise vorhandene Legionellen «verpassen» könnte. Die so angesetzten Agarplatten werden während 10 Tagen im Brutschrank bei 37°C inkubiert.

Bessere Wiederfindung durch Zentrifugation

In der Methode ISO 11731-1 sind zur Aufkonzentrierung der Bakterienzellen die Filtration oder alternativ die Zentrifugation aufgeführt. Verschiedene Parallelmessungen auch im Rahmen von Ringversuchen haben gezeigt, dass mit der Zentrifugation eine reproduzierbar bessere Wiederfindung erreicht wird als mit der Filtration.

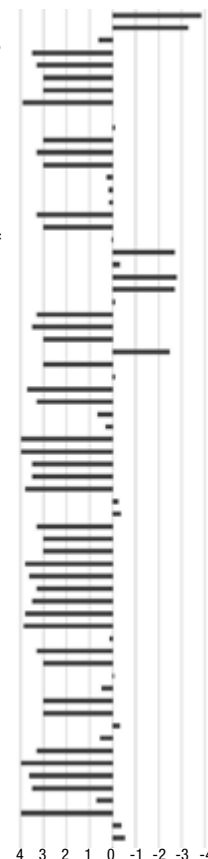
Um einen möglichst wahrheitsgetreuen Wert von vermehrungsfähigen Legionellen in einer Wasserprobe zu ermitteln, konzentrieren wir die Probe nur so stark wie nötig auf. Eine hohe Aufkonzentrierung, z.B. durch die Filtration oder grösseren Volumina, wie 10, 100 mL oder sogar 1 L, gehen immer auf Kosten der Wiederfindung. Es wird zwar eine tiefere Empfindlichkeit erzielt, dafür gehen beim Aufkonzentrieren Zellen verloren, was dazu führt, dass der «wahre Wert» stark unterschätzt und die Bestimmungsunsicherheit erhöht wird.

In einer Messreihe mit 67 Proben haben wir parallel jede Probe mittels Zentrifugation und Membranfiltration aufkonzentriert. In den meisten Fällen haben wir mit der Zentrifugation höhere Konzentrationen in KBE/L erhalten

als mit Filtration. Dies ist in folgender Abbildung dargestellt, worin wir für jede Probe die Differenz der Resultate mit der Zentrifugationsmethode minus der Membranfiltrationsmethode bilden.

Abbildung: Differenz der logarithmierten Resultate der Ansätze mit Zentrifugation und Filtration.

Ein Balken auf der linken Seite bedeutet mehr Ausbeute mit Zentrifugation; ein Balken auf der rechten Seite bedeutet mehr Ausbeute mit Filtration



Tendenz nach 5 Tagen

Während der Inkubationszeit von 10 Tagen zeichnet sich oft nach 5 Tagen eine Tendenz ab, die sich gut mit dem Endresultat vereinbaren lässt. Für das definitive Resultat muss die ganze Inkubationszeit abgewartet werden, insbesondere bei negativem Wachstum. In dringenden Fällen kann die Bachema AG nach 5 Tagen eine Einschätzung über die Tendenz abgeben.

Literatur:

- (1) www.bag.admin.ch, Stichwort Legionellose; Im neuen Lebensmittelrecht, das am 1. Mai 2017 in Kraft treten wird, werden die Höchstwerte voraussichtlich in ähnlicher Aufstellung in der Verordnung des EDI über Trinkwasser sowie Wasser in öffentlich zugänglichen Bädern und Duschanlagen (TBDV) aufgeführt werden.