

Mikrobiologische Ringversuche

Tagung 2014

AQS – Baden-Württemberg

MPI für Festkörperforschung Stuttgart

13. März 2014

Dr. Ernst-August Heinemeyer
Dr. Katrin Luden

Niedersächsisches Landesgesundheitsamt Standort Aurich



Niedersächsisches
Landesgesundheitsamt



Roesebeckstr. 4-6
30449 Hannover
Fon 0511/4505-0
Fax 0511/4505-140



Lüchtenburger Weg 24
26603 Aurich
Tel. 04941/9171-0
Fax 04941/9171-10

www.nlga.niedersachsen.de



Mikrobiologische Trinkwasserringversuche Jahrestagung 2014

Niedersächsisches Landesgesundheitsamt

Startseite | Info | Kontakt | **Niedersächsisches Trinkwasser**

Arbeitsbereich | Wir über uns | ZUS | Infektionen & Hygiene | Umwelt & Gesundheit | Gesundheitsdienste & LMS

Navigation: Umwelt & Gesundheit > Wasser > Ringversuche

Umwelt & Gesundheit

Wasser

- Trinkwasser
- Umwelttrinkwasser
- Trinkwasser / Leitplanken
- Trinkwasser / PI
- Umweltwasserqualität
- Ringversuche**
- Auswertung Ringversuche
- Jahrestagungen
- Luft
- Baum
- Umweltmikrobiologie
- Wasserrecht
- Seminare
- Weitere Themenblöcke

Der Standort Aurich ist Ausrichter für Ringversuche

und bietet den für Trinkwasseruntersuchungen zugelassenen Laboren optimale Durchführungsbedingungen.

Wichtig ist die Auswertung der Trinkwasseruntersuchung, die Einweisung der Ergebnisse an die zuständige Behörde und die Qualität der Ergebnisse. Die Qualität der Ergebnisse ist ein Maß für die Qualität der Wasseruntersuchung. Die Ergebnisse sind in Deutschland neu zu erheben und zu harmonisieren.

Nach Zulassung der Trinkwasseruntersuchung durch das Niedersächsische Landesgesundheitsamt (NLGA) sind die Ergebnisse der Untersuchungen an den Laboren zu übermitteln. Die Ergebnisse sind in Deutschland neu zu erheben und zu harmonisieren.

Nach Zulassung der Trinkwasseruntersuchung durch das Niedersächsische Landesgesundheitsamt (NLGA) sind die Ergebnisse der Untersuchungen an den Laboren zu übermitteln. Die Ergebnisse sind in Deutschland neu zu erheben und zu harmonisieren.

Nach Zulassung der Trinkwasseruntersuchung durch das Niedersächsische Landesgesundheitsamt (NLGA) sind die Ergebnisse der Untersuchungen an den Laboren zu übermitteln. Die Ergebnisse sind in Deutschland neu zu erheben und zu harmonisieren.

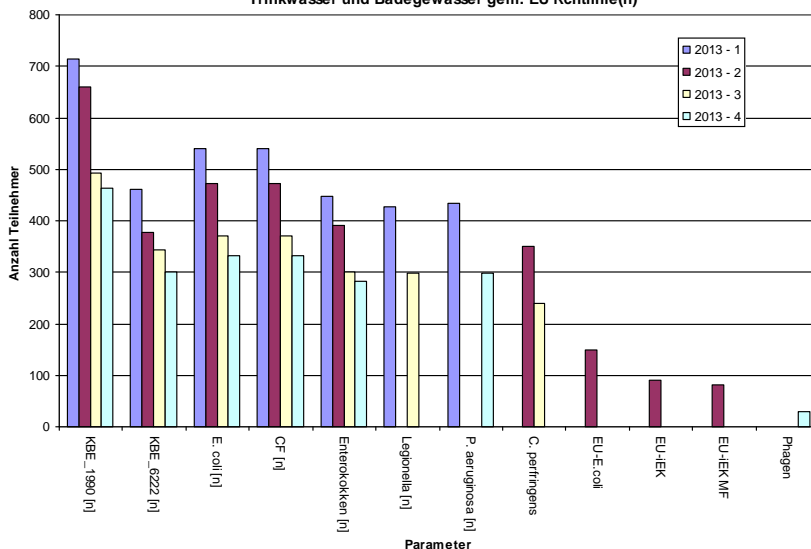


Können von Wasseruntersuchung...
...mit dem Ergebnis...
...für die...
...für die...

Informationen und Formulare zu den Ringversuchen

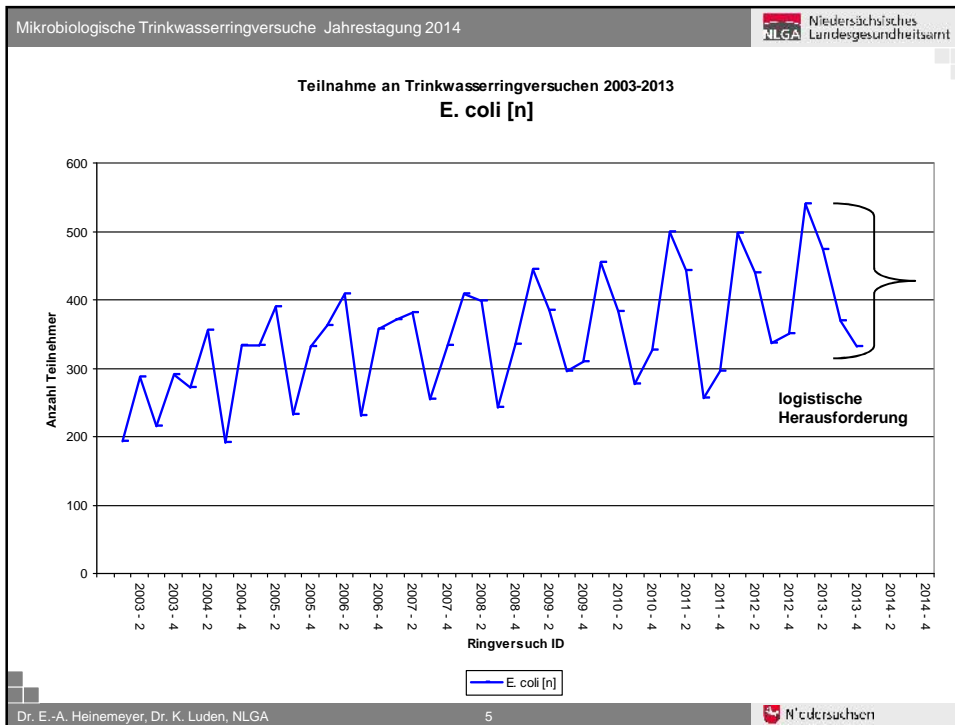
- Kriterien für die Teilnahme**
- Anmeldung und Teilnahme**

Mikrobiologische Ringversuche 2013 Trinkwasser und Badegewässer gem. EU Richtlinie(n)



Verwendete Mikroorganismen/Stämme im Jahr 2013

Parameter	Spezies/Stämme	RV 2013	NLGA Nr.	Differenzierung	Herkunft
Escherichia coli	E. coli	1 - 4	A 23	API-E: 5144572	SCCRWA
coliforme Bakterien	Klebs. pneumoniae	1-4	B 2	API-E: 5215773	PHLS: Newcastle u.T.
Koloniezahlen	E. coli	1 - 4	A 23	API-E: 5144572	SCCRWA
	Klebs. pneumoniae	1 + 3	B 2	API-E: 5215773	PHLS: Newcastle u.T.
	Serratia spec.	2 + 4	C 42	MPA Bremen	Wildstamm
Pseudomonas aeruginosa	P. aeruginosa	1 + 4	C 23	API-NE: 1354575	ATCC 19582
Enterokokken	Enterococcus faecalis	1 - 4	D 1	API-Strep: 7143711	Wildstamm
	Enterococcus mundtii	1 + 3	D 11	API-Strep: 5157400 MPA Bremen	Wildstamm (neu)
Legionella spec.	L. pneumophila SG 1	1 + 3	C 33	TU Dresden / NRZ	Wildstamm
	L. pneumophila SG 6	3	C 34	TU Dresden / NRZ	Wildstamm
Clostridium perfringens	C. perfringens	2 + 3	C 28	API-A: 46165423	Bundeswehr Kronshagen
Badegewässer EU-Richtlinie	E. coli	2	A 23		SCCRWA
	Enterococcus hirae	2	D 8		CCM 2423
Bakteriophagen	E. coli (Wirt)	4	A 25	API-E: 1044552	DSMZ 13127
	Phage X 174	4			DSMZ 4497



- Mikrobiologische Trinkwasserringversuche Jahrestagung 2014
- Niedersächsisches Landesgesundheitsamt
- ## Prüfungen der mikrobiologischen Präparationen
- Prüfung der Teilnehmerergebnisse auf „Abfüllhomogenität“
 - Rückstellteste und Homogenität (...)
 - Stabilität der Versandproben
- Dr. E.-A. Heinemeyer, Dr. K. Luden, NLGA
- 6
- Niedersachsen

Vorsichtsmaßnahmen

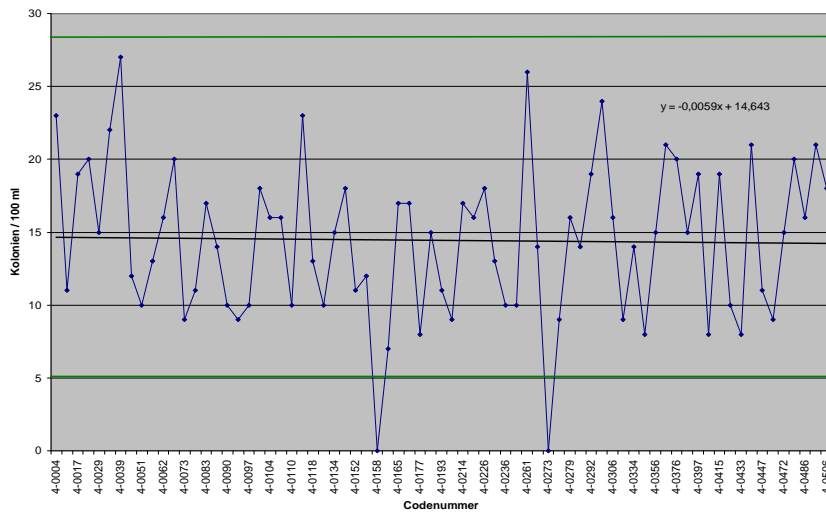


Verteilung der Bakterien in den 20 Liter Gebinden ???



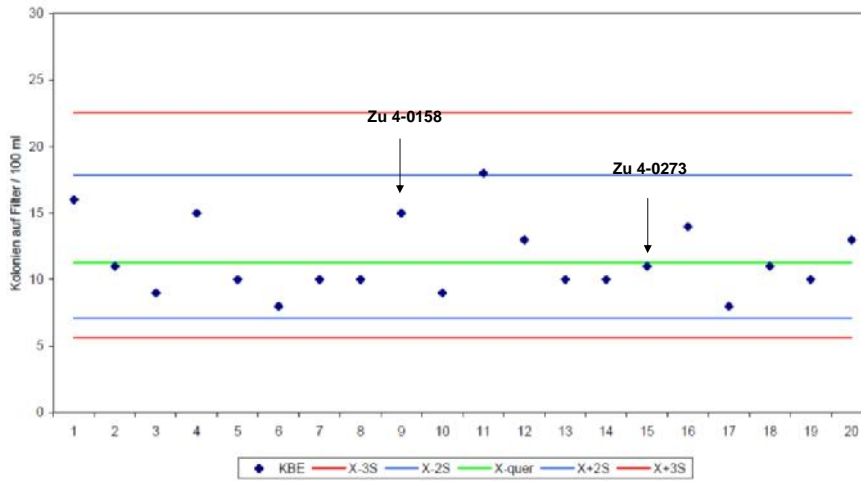
Qualitätskontrollen - Abfüllhomogenität

RV 4-2013 E. coli Grp.A (DIN EN ISO 9308-1)



Qualitätskontrolle – 20 Rückstellproben (Abfüllhomogenität)

Qualitätskontrolle Ringversuch 4-2013 E. coli (TTC-Agar) Gr. A 20 Rückstellproben im RV Labor



Überlegungen zur – Homogenität

Parameter Gruppe	Steigung der Regressionsgeraden (20er Teste)	1% des Mittelwertes (20er Teste)	Mittelwert (20er Teste)
E. coli Gr. A	0,069 *)	0,129	12,9
E. coli Gr. B	0,001	0,230	22,95
E. coli Gr. C	0,002	0,109	10,85
E. coli Gr. D	0,202	0,194	19,35
CF Gr. A	0,0248	0,262	26,15
CF Gr. D	0,303	0,299	29,95
KBE 36 ° C Gr. A	0,0278	0,349	34,85
KBE 36 ° C Gr. B	0,52	0,821	82,05
iEK Gr. A	0,537	0,381	38,05
iEK Gr. B	0,236	0,709	70,85
Legionella Gr. A	0,05	0,15	14,9
Legionella Gr. B	0,087	0,199	19,9
Legionella Gr. C	0,076	0,138	13,75
Legionella Gr. D	0,039	0,084	8,4
P. aeruginosa Gr. A	0,134	0,172	17,2
P. aeruginosa Gr. B	0,194	0,212	21,2
P. aeruginosa Gr. C	0,168	0,268	26,8
P. aeruginosa Gr. D	0,07	0,339	33,9

*) grün: vorgesehene Anforderung erfüllt

Überlegungen zur Stabilität

Parameter Grp	Medianwert 20er	Wertebereich Median(20) - 1s	Wertebereich Median(20) + 1s	Medianwert Teilnehmer
E. coli Gr. A	13	10,1	15,9	14*
E. coli Gr. B	22,5	18,88	26,12	26
E. coli Gr. C	10,5	8,47	12,53	11
E. coli Gr. D	19,5	17,5	23,5	21
CF Gr. A	26	22,38	29,62	27,5
CF Gr. D	35	26,74	37,26	33
KBE 36 ° C Gr. A	33,5	28,11	38,89	38
KBE 36 ° C Gr. B	81,5	74,16	88,84	88
IEK Gr. A	35	27,23	42,77	33
IEK Gr. B	70	62,7	77,3	72
Legionella Gr. A	15	9,79	20,21	12
Legionella Gr. B	21	15,54	26,46	20
Legionella Gr. C	13	9,54	16,46	15
Legionella Gr. D	8	4,18	11,82	8
P. aeruginosa Gr. A	18,5	14,36	22,64	14
P. aeruginosa Gr. B	21,5	17,88	25,12	18
P. aeruginosa Gr. C	26,5	21,91	31,09	23
P. aeruginosa Gr. D	33	28,83	37,17	33

*) grün: vorgesehene Anforderung erfüllt

Kommentierung Zertifikate und Anlagen

- RV ist als Trinkwasserringversuch konzipiert.
- Untersuchungsverfahren (insbes. in der Mikrobiologie) können großen Einfluss auf das Ergebnis haben.
- Da die zugewiesenen Werte und Sollbereiche aus den Teilnehmerergebnissen berechnet werden, dürfen in diese Berechnung auch nur Ergebnisse eingehen, die mit der selben oder mit einer „als gleichwertig“ anerkannten Methode ermittelt wurden.
- Nutzung des Ringversuchs durch Teilnehmer für besondere Fragestellungen, wie:
 - Testung eigener / fremder Verfahren
 - Nutzung z. B. für Mineral- und Tafelwasser – VO
 - Nutzung bei der DIN 19643
 - Wasser in Kosmetik-, Arzneimittel-, Lebensmittel-Laboren

Kommentierung Zertifikate und Anlagen

Prüfung der mikrobiologischen Ergebnisse:

- Ergebnis keine Zahl
- Ergebnisse mit Nachkommastellen
- Verwendung sonstiger (unzulässiger) Verfahren
- Ergebnis E. coli > Coliforme Bakterien
- falsch positive Ergebnisse
- Verfahren geändert
- kein Ergebnis (Chemie und Mikrobiologie)

- Anwendung vorgeschriebener Verfahren
- Sonderfälle: komplexe Anforderungen (besonders) bei Legionellen

Wo kann man die Anforderungen finden?

- Homepage: www.nlga.niedersachsen.de
- Ringversuchsportal <http://www.apps.nlga.niedersachsen.de/rv>
(Stammdatenpflege, Anmeldung, Ergebnisabgabe ...)
 - [Hinweise zur Ergebnisabgabe](#)
- Rahmenbedingungen
- **allgemeine Beschreibung des Ringversuchs**
z.B. Auswertungsstrategie, Anforderungen an Methoden, an die Ergebnisabgabe, Zeitfenster, Beschwerderegulung
- Ankündigungen
- Paketbegleitschreiben

Beispiele: E. coli / Coliforme Bakterien: DIN EN ISO 9308-1

Parameter	Verfahren	Gruppe	Code-Nr.	Einheit	Laborwert	Mittelwert Hampel	Ausschlussgrenze unten	Ausschlussgrenze oben	Z(u)-Score	
Coliforme Bakterien	DIN EN ISO 9308-1	A	4-0036	n / 100 ml	15	24,05	10	43		teilgenommen
E. coli	DIN EN ISO 9308-1	A	4-0036	n / 100 ml	16	13,53	4	27		teilgenommen
Enterokokken	DIN EN ISO 9398-2	C	4-0036	n / 100 ml	15	14,99	7	25	-0,2774	mit Erfolg teilgenommen
Koloniezahl bei 22°C	Trinkw/ 2001 Anl. 5 (1) b)h)	A	4-0036	n / ml	70	72,92	41	113	0,1667	mit Erfolg teilgenommen
Koloniezahl bei 30°C	Trinkw/ 2001 Anl. 5 (1) b)h)	A	4-0036	n / ml	10	19,41	12	29	-0,3970	mit Erfolg teilgenommen
Pseudomonas aeruginosa	DIN EN ISO 16266	A	4-0036	n / 100 ml	30	24,27	11	43	0,6148	mit Erfolg teilgenommen

Der angegebene Laborwert für E. coli ist größer als der Wert für coliforme Bakterien. Diese Angabe ist formal falsch, da E. coli als eine Teilmenge der coliformen Bakterien definiert ist. Da der Untersuchungsgang für coliforme Bakterien incl. E. coli ein Untersuchungsgang ist, wurden beide Parameter damit als nicht erfolgreich bewertet.

Beispiele: E. coli / Coliforme Bakterien: DIN EN ISO 9308-1

Parameter	Verfahren	Gruppe	Code-Nr.	Einheit	Laborwert	Mittelwert Hampel	Ausschlussgrenze unten	Ausschlussgrenze oben	Z(u)-Score	
Coliforme Bakterien	DIN EN ISO 9308-1	A	4-0036	n / 100 ml	15	24,05	10	43		teilgenommen
E. coli	DIN EN ISO 9308-1	A	4-0036	n / 100 ml	16	13,53	4	27		teilgenommen
Enterokokken	DIN EN ISO 9398-2	C	4-0036	n / 100 ml	15	14,99	7	25	-0,2774	mit Erfolg teilgenommen
Koloniezahl bei 22°C	Trinkw/ 2001 Anl. 5 (1) b)h)	A	4-0036	n / ml	70	72,92	41	113	0,1667	mit Erfolg teilgenommen
Koloniezahl bei 30°C	Trinkw/ 2001 Anl. 5 (1) b)h)	A	4-0036	n / ml	10	19,41	12	29	-0,3970	mit Erfolg teilgenommen
Pseudomonas aeruginosa	DIN EN ISO 16266	A	4-0036	n / 100 ml	30	24,27	11	43	0,6148	mit Erfolg teilgenommen

Der angegebene Laborwert für E. coli ist größer als der Wert für coliforme Bakterien. Diese Angabe ist formal falsch, da E. coli als eine Teilmenge der coliformen Bakterien definiert ist. Da der Untersuchungsgang für coliforme Bakterien incl. E. coli ein Untersuchungsgang ist, wurden beide Parameter damit als nicht erfolgreich bewertet.

Der angegebene Laborwert für E. coli ist größer als der Wert für coliforme Bakterien. Diese Angabe ist formal falsch, da E. coli (in der DIN EN ISO 9308-1) als eine Teilmenge der coliformen Bakterien definiert ist. Da der Untersuchungsgang für coliforme Bakterien einschließlich E. coli ein Untersuchungsgang ist, wurden beide Parameter als nicht erfolgreich bewertet.

Legionellen im Ringversuch (Laboranalytik)

- TrinkwV 2001 (UBA-Empfehlung)
 - ISO 11731 Direktansatz (1 ml) **und**
 - DIN EN ISO 11731-2 Membranfiltration (100 ml)
 - *Ergebnisangabe auf Befund: höherer Wert (hygienische Vorsorge) Bezugsgröße 100 ml*

Im Ringversuch ist diese Ergebnisangabe nicht sinnvoll!
Es werden die Ergebnisse beider Ansätze abgefragt.

Im Ringversuch Beurteilung der Labormethode gewünscht
keine Rechenmodelle!!

Direktansatz: 1 ml 100 – 20.000 KBE / 100 ml
Membranfiltration: 100 ml 1 – 200 KBE / 100 ml

Beispiele:

E. coli: gemäß TrinkwV-2003 nicht korrekt aber: mit Erfolg teilgenommen

Legionella: nur ein Messwert zudem fehlerhaft

Parameter	Verfahren	Gruppe	Code-Nr.	Einheit	Laborwert	Mittelwert n. Hauptort	Ausschutzzgrenze unten	Ausschutzzgrenze oben	Z(u)-Score	
Coliformen periformes	TrinkwV 2001 Anl. 5 (1) (a)	B	3-0231	m / 100 ml	31	17,23	5	35	1,5798	mit Erfolg teilgenommen
Coliforme Bakterien	Sonstiges Verfahren	A	3-0231	m / 100 ml	42	41,84	27	50		mit Erfolg teilgenommen
E. coli	Sonstiges Verfahren	A	3-0231	m / 100 ml	42	41,82	27	50		mit Erfolg teilgenommen
Intestinale Enterokokken	DIN EN ISO 7899-2	C	3-0231	m / 100 ml	57	58,43	40	80	-0,2533	mit Erfolg teilgenommen
Koloniezahl bei 22°C	TrinkwV 2001 Anl. 5 (1) (b)	B	3-0231	m / ml	48	36,87	26	47	0,4334	mit Erfolg teilgenommen
Koloniezahl bei 36°C	TrinkwV 2001 Anl. 5 (1) (b)	B	3-0231	m / ml	42	37,72	26	45	0,8506	mit Erfolg teilgenommen
Legionella spec.	ISO 11731	D	3-0231	m / ml	1					teilgenommen
Legionella spec.	DIN EN ISO 11731-2	B	3-0231	m / 100 ml		16,87	5	40		

*"Sonstige Verfahren" sind keine zulässigen Verfahren innerhalb Deutschlands im Rahmen der TrinkwV 2001.

Ihre Messwerte für den Parameter E. coli / coliforme Bakterien konnten daher nicht in der mathematischen Auswertung berücksichtigt werden. Es wurden keine z(u)-scores ermittelt.

Ihre Ergebnisse für den Parameter E. coli / coliforme Bakterien liegen jedoch innerhalb der Sollbereiche, die aus dem übrigen Teilnehmerkollektiv ermittelt wurden. Daher konnte eine erfolgreiche Teilnahme bestätigt werden.

Der Parameter Legionella spec. ist gem. TrinkwV 2001 (Stand 2012) mit zwei Verfahren zu messen. Im Ringversuch müssen Ergebnisse zu beiden Verfahren angegeben werden. In die mathematische Auswertung kommt nur das zur Dotierung passende Verfahren.

Die Zusammensetzung der Probe für Legionellen der Gruppe B betrug im Mittel 16,87 / 100 ml (als Filtrationsergebnis). Für die Filtration wurde von Ihnen jedoch kein Ergebnis abgegeben.

Der von Ihnen angegebene Messwert von 1 / ml für den Direktansatz liegt zudem ausserhalb des aus allen Teilnehmerergebnissen ermittelten Sollbereichs.

Bei Abgabe nur eines Ergebnisses beim Parameter Legionella spec. können wir ab 2014 keine erfolgreiche Teilnahme für beide Verfahren auf dem Zertifikat bestätigen.

Beispiele:

E. coli: gemäß TrinkwV-2003 nicht korrekt aber: mit Erfolg teilgenommen

Legionella: nur ein Messwert zudem fehlerhaft

Parameter	Verfahren	Gruppe	Code-Nr.	Einheit	Labo-wert	Mittelwert n. Ringpo-l	Ausschlußgrenze unten	Ausschlußgrenze oben	Z(u)-Score	
Coliformen periformens	TrinkwV 2001 Anl. 5	B	3-0231	m / 100 ml	31	17,23	5	35	1,5796	mit Erfolg teilgenommen
Coliforme Bakterien	Sonstiges Verfahren	A	3-0231	m / 100 ml	42	41,84	27	60		mit Erfolg teilgenommen
E. coli	Sonstiges Verfahren	A	3-0231	m / 100 ml	42	41,82	27	60		mit Erfolg teilgenommen
Intestinale Enterokokken	DIN EN ISO 7399-2	C	3-0231	m / 100 ml	57	58,43	40	80	-0,2533	mit Erfolg teilgenommen
Koloniezahl bei 22°C	TrinkwV 2001 Anl. 5 (a) (a)	B	3-0231	m / ml	48	36,87	26	47	0,6334	mit Erfolg teilgenommen
Koloniezahl bei 36°C	TrinkwV 2001 Anl. 5 (1) (b)	B	3-0231	m / ml	42	37,72	28	48	0,8506	mit Erfolg teilgenommen
Legionella spec.	ISO 11731	B	3-0231	m / ml	1					teilgenommen
Legionella spec.	DIN EN ISO 11731-2	B	3-0231	m / 100 ml		16,87	5	40		

„Sonstige Verfahren“ sind keine zulässigen Verfahren innerhalb Deutschlands im Rahmen der TrinkwV 2001.

Ihre Messwerte für den Parameter E. coli / coliforme Bakterien konnten daher nicht in der mathematischen Auswertung berücksichtigt werden. Es wurden keine z(u)-scores ermittelt.

Ihre Ergebnisse für den Parameter „Sonstige Verfahren“ sind keine zulässigen Verfahren innerhalb Deutschlands im Rahmen der TrinkwV 2001.

Der Parameter E. coli / coliforme Bakterien liegen jedoch innerhalb der Sollbereiche, die aus dem übrigen Teilnehmerkollektiv ermittelt wurden. Daher konnte eine erfolgreiche Teilnahme bestätigt werden.

Bei der Abgabe nur eines Ergebnisses beim Parameter Legionella spec. können wir ab 2014 keine erfolgreiche Teilnahme für beide Verfahren auf dem Zertifikat bestätigen.

Beispiele:

E. coli: gemäß TrinkwV-2003 nicht korrekt aber: mit Erfolg teilgenommen

Legionella: nur ein Messwert zudem fehlerhaft

Parameter	Verfahren	Gruppe	Code-Nr.	Einheit	Labo-wert	Mittelwert n. Ringpo-l	Ausschlußgrenze unten	Ausschlußgrenze oben	Z(u)-Score	
Coliformen periformens	TrinkwV 2001 Anl. 5	B	3-0231	m / 100 ml	31	17,23	5	35	1,5796	mit Erfolg teilgenommen
Coliforme Bakterien	Sonstiges Verfahren	A	3-0231	m / 100 ml	42	41,84	27	60		mit Erfolg teilgenommen
E. coli	Sonstiges Verfahren	A	3-0231	m / 100 ml	42	41,82	27	60		mit Erfolg teilgenommen
Intestinale Enterokokken	DIN EN ISO 7399-2	C	3-0231	m / 100 ml	57	58,43	40	80	-0,2533	mit Erfolg teilgenommen
Koloniezahl bei 22°C	TrinkwV 2001 Anl. 5 (a) (a)	B	3-0231	m / ml	48	36,87	26	47	0,6334	mit Erfolg teilgenommen
Koloniezahl bei 36°C	TrinkwV 2001 Anl. 5 (1) (b)	B	3-0231	m / ml	42	37,72	28	48	0,8506	mit Erfolg teilgenommen
Legionella spec.	ISO 11731	B	3-0231	m / ml	1					teilgenommen
Legionella spec.	DIN EN ISO 11731-2	B	3-0231	m / 100 ml		16,87	5	40		

„Sonstige Verfahren“ sind keine zulässigen Verfahren innerhalb Deutschlands im Rahmen der TrinkwV 2001.

Ihre Messwerte für den Parameter Legionella spec. ist gem. TrinkwV 2001 (Stand 2012) mit zwei Verfahren zu messen. Im Ringversuch müssen Ergebnisse zu beiden Verfahren angegeben werden. In die mathematische Auswertung kommt nur das zur Dotierung passende Verfahren.

Der Parameter Legionella spec. liegt innerhalb der Sollbereiche, die aus dem übrigen Teilnehmerkollektiv ermittelt wurden. Daher konnte eine erfolgreiche Teilnahme bestätigt werden.

Bei der Abgabe nur eines Ergebnisses beim Parameter Legionella spec. können wir ab 2014 keine erfolgreiche Teilnahme für beide Verfahren auf dem Zertifikat bestätigen.

Beispiele: Legionella: korrekte Angaben

Parameter	Verfahren	Gruppe	Code-Nr.	Einheit	Laborwert	Mittelwert n. Hauptwert	Ausschlussgrenze unten	Ausschlussgrenze oben	Z(u)-Score
Coliforme Bakterien	DIN EN ISO 9308-1	D	3-0261	n / 100 ml	40	32,75	10	50	0,8448 mit Erfolg teilgenommen
E. coli	DIN EN ISO 9308-1	D	3-0281	n / 100 ml	28	24,72	12	42	0,5082 mit Erfolg teilgenommen
Intestinale Enterokokken	DIN EN ISO 7899-2	A	3-0201	n / 100 ml	30	23,12	10	40	0,0209 mit Erfolg teilgenommen
Koloniezahl bei 22°C	DIN EN ISO 6222	A	3-0291	n / ml	80	76,23	60	91	0,1343 mit Erfolg teilgenommen
Koloniezahl bei 36°C	DIN EN ISO 6222	A	3-0291	n / ml	79	75,68	58	90	0,3354 mit Erfolg teilgenommen
Legionella spec.	ISO 11731	C	3-0281	B / ml	6	13,00	2	34	-1,3316 mit Erfolg teilgenommen
Legionella spec.	DIN EN ISO 11731-2	C	3-0281	n / 100 ml	200				

Der Parameter Legionella spec. ist gem. TrinkwV 2001 (Stand 2012) mit zwei Verfahren zu messen. Im Ringversuch müssen Ergebnisse zu beiden Verfahren angegeben werden. In die mathematische Auswertung kommt nur das zur Dotierung passende Verfahren.

Mathematische Auswertung: ja

Mathematische Auswertung: nein

Mit > 200 kann nicht gerechnet werden! Die Angabe ist aber korrekt und erforderlich!

Beispiele: Legionella: nur ein Messwert zur nicht geeigneten Gruppe mit einer Sonderkommentierung

Parameter	Verfahren	Gruppe	Code-Nr.	Einheit	Laborwert	Mittelwert n. Hauptwert	Ausschlussgrenze unten	Ausschlussgrenze oben	Z(u)-Score
Coliforme perfringens	TrinkwV 2001 Art. 5	A	3-0253	n / 100 ml	14	32,15	9	50	-1,5810 mit Erfolg teilgenommen
Coliforme Bakterien	DIN EN ISO 9308-1	C	3-0253	n / 100 ml	48	35,35	16	68	1,0216 mit Erfolg teilgenommen
E. coli	DIN EN ISO 9308-1	C	3-0253	n / 100 ml	0	0,00	0	0	0,0000 mit Erfolg teilgenommen
Intestinale Enterokokken	DIN EN ISO 7899-2	B	3-0253	n / 100 ml	91	101,73	71	138	-0,7923 mit Erfolg teilgenommen
Koloniezahl bei 22°C	TrinkwV 2001 Art. 5 I d) (6)	B	3-0253	n / ml	35	36,87	28	47	-0,4290 mit Erfolg teilgenommen
Koloniezahl bei 36°C	TrinkwV 2001 Art. 5 I d) (6)	B	3-0253	n / ml	36	37,72	28	48	-0,3965 mit Erfolg teilgenommen
Legionella spec.	ISO 11731	C	3-0253	n / ml	710	13,00	2	34	
Legionella spec.	DIN EN ISO 11731-2	C	3-0253	n / 100 ml	710				

Der Parameter Legionella spec. ist gem. TrinkwV 2001 (Stand 2012) mit zwei Verfahren zu messen. Im Ringversuch müssen Ergebnisse zu beiden Verfahren angegeben werden. In die mathematische Auswertung kommt nur das zur Dotierung passende Verfahren.

Die Probenzusammensetzung für Legionella spec. betrug im Mittel 13,00 Legionellen / ml. Die Probe war nur über den Direktansatz sinnvoll auswertbar. Der Wert für 1 ml

Der Parameter Legionella spec. ist gem. TrinkwV 2001 (Stand 2012) mit zwei Verfahren zu messen. Im Ringversuch müssen Ergebnisse zu beiden Verfahren angegeben werden. In die mathematische Auswertung kommt nur das zur Dotierung passende Verfahren.

Die Probenzusammensetzung für Legionella spec. betrug im Mittel 13,00 / ml. Die Probe war nur über den Direktansatz sinnvoll auswertbar. Der Wert für 1 ml fehlt.

Ihr Messwert für die Membranfiltration läge jedoch innerhalb des aus dem übrigen Teilnehmerkollektiv ermittelten und hochgerechneten Sollbereichs.

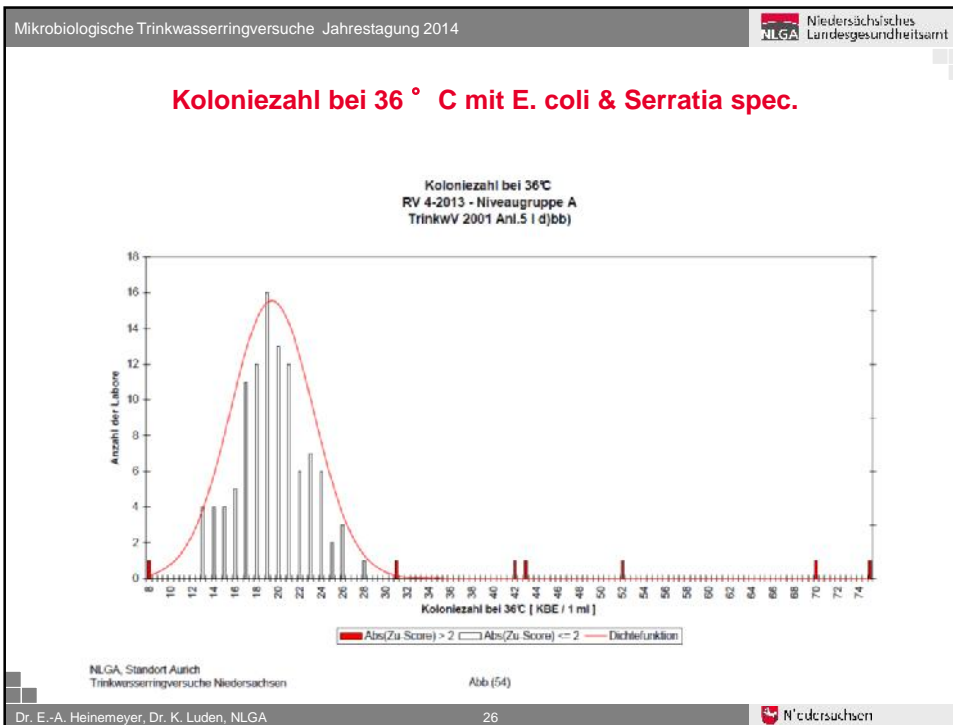
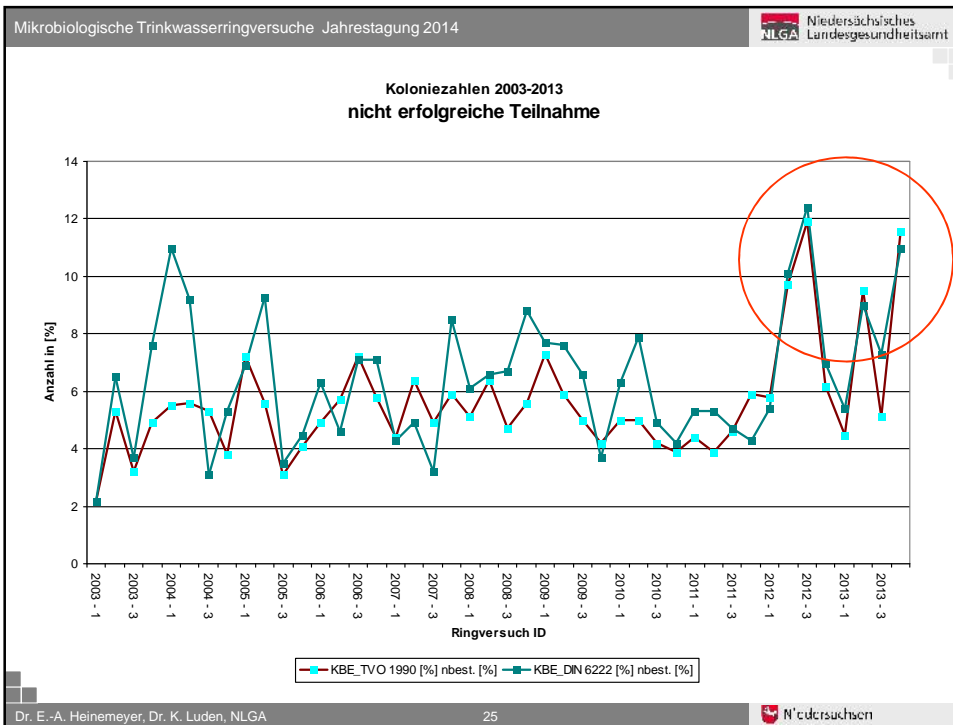
Bei der Abgabe nur eines Ergebnisses beim Parameter Legionella spec. können wir ab 2014 keine erfolgreiche Teilnahme für beide Verfahren auf dem Zertifikat bestätigen.

Was erwartet Sie

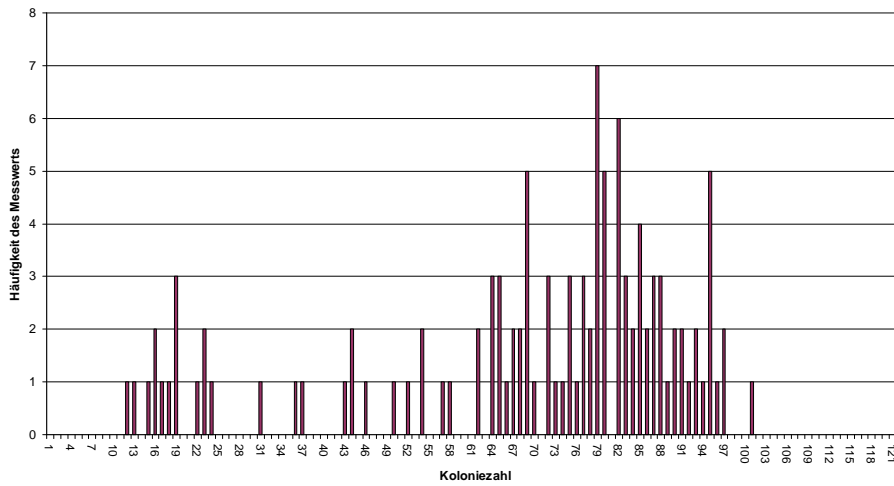
- **Mikrobiologische RV 2013**
- **Fehlersuche / Kundenanfragen**
- **Koloniezahlen bei 22 ° C**
- **Beachtung der Inkubationsbedingungen beim Enterolert**
- **Colilert und Matrix der RV Proben**
- **EU Badegewässer und Werteanforderungen**

Ursachenforschung bei fehlerhaften Nachweisraten

- Zu geringe Nachweisraten bei Koloniezahlen insbesondere bei 22 ° C (Norm- und TVO-Verfahren)
- Stark schwankende Nachweisraten beim Enterolert®-Verfahren
- Von Teilnehmern geäußerte Kritik am Matrixmedium für Colilert® - Verfahren.

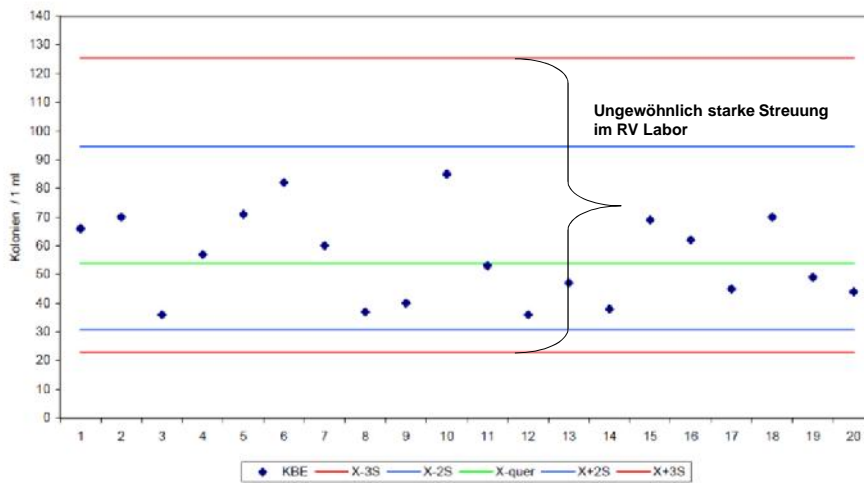


Koloniezahlen bei 22 °C mit E. coli und Serratia spec.
Niveau-Gruppe A TrinkwV 2001 Anl.5 I d)bb)
RV 4-2013

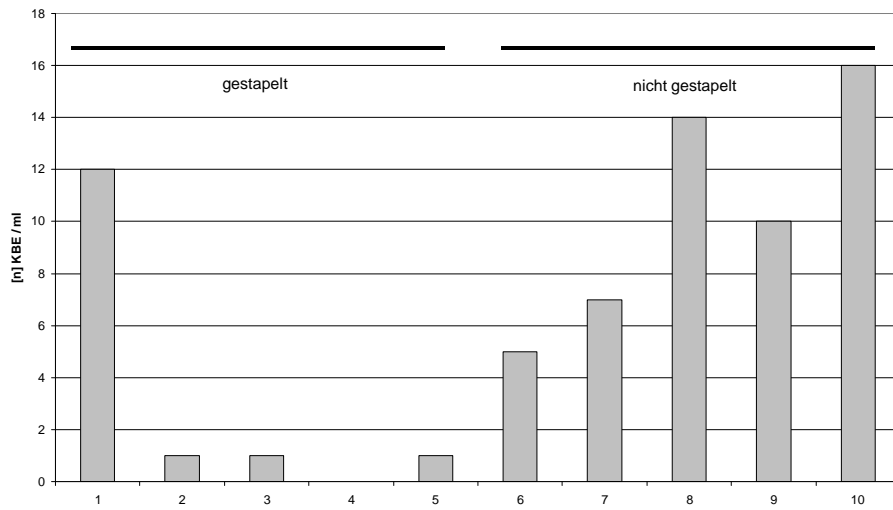


Koloniezahl bei 22 ° C mit E. coli & Serratia spec. 20er Test

Qualitätskontrolle Ringversuch 4-2013 KBE (AF) 22° Gr B 20 Rückstellproben im RV Labor



Serratia spec. KBE 22 °C
Einfluss der Plattenaufstellung



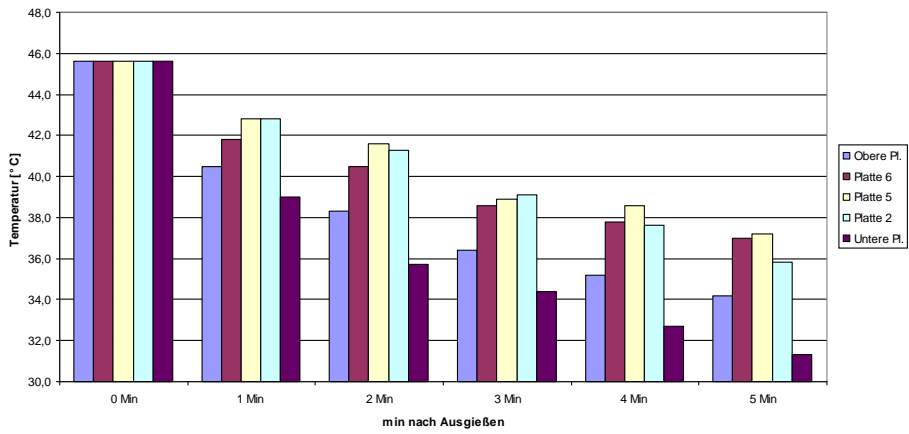
so

oder

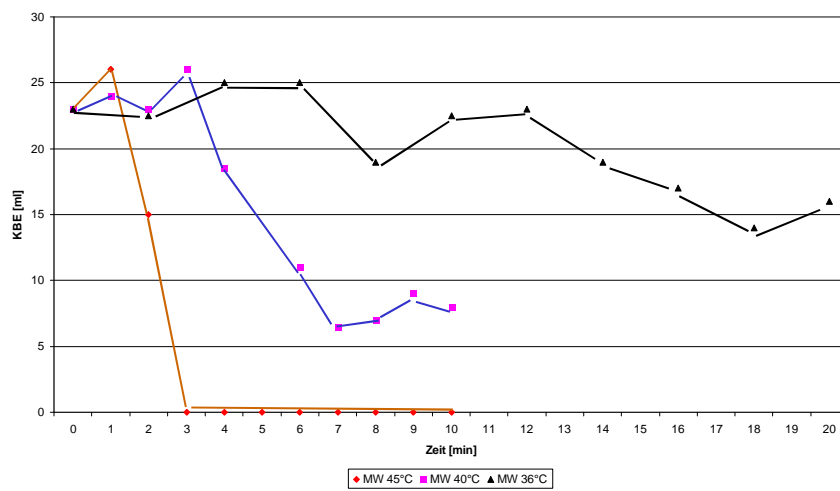
so ?



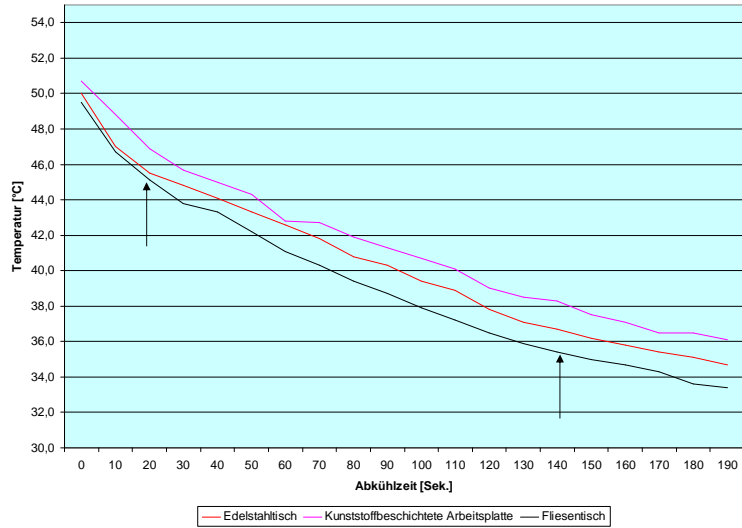
Temperatur von Gussagarplatten im Stapel von 10 Petrischalen



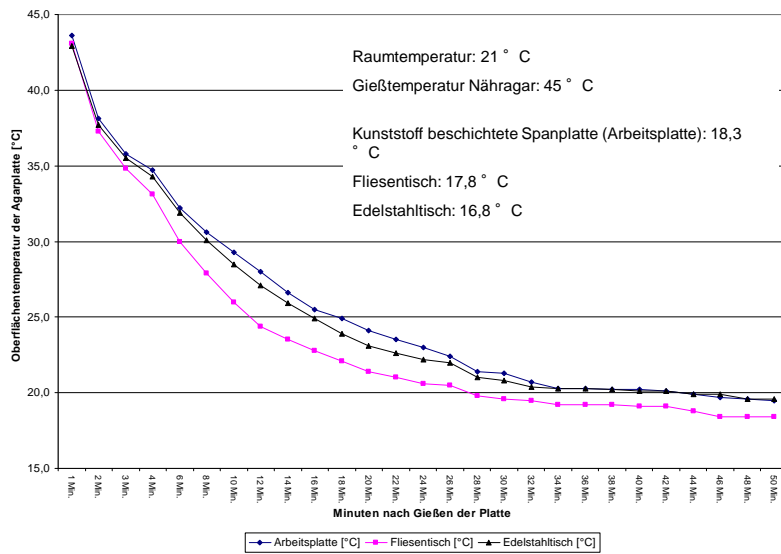
Serratia spec. Temperaturrempfindlichkeit (Stamm Nr. NLGA C42)



**Oberflächentemperatur von Koloniezahlagar
auf verschiedenen Arbeitsflächen**



**Abkühlung einer Gussagarplatte
auf verschiedenen Unterlagen**



Schon auf der Jahrestagung 2004 bei der AQS in Stuttgart...

KBE – Fehlerquellen

- das Ablesen der KBE erfolgt ohne (korrekte) Lupe
- die Gießtemperatur des Agars ist zu hoch
- die Gießtemperatur des Agars ist zu gering (Klumpenbildung)
- Die Nährbodenqualität ist ungleichmäßig
- falsche Zusammensetzung des Nährbodens (Eigenrezepturen)
- keine Verwendung kalibrierter Pipetten
- ungenügendes Schütteln der Probenflasche vor dem Pipettieren
- falsche Bebrütungstemperaturen
- Stapelhöhe der Agarplatten

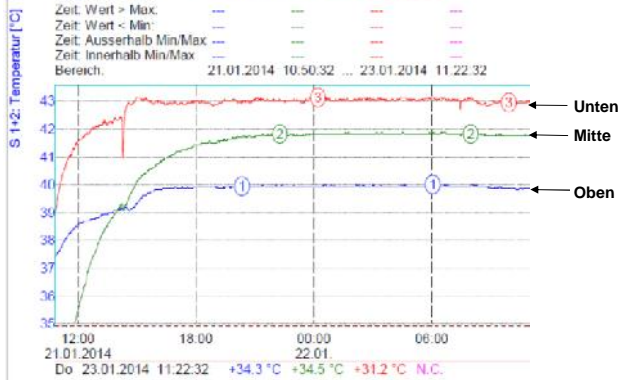


Autzeichnungsintervall: 2 Min
 Modulbeschreibung: 41°C Brutschrank OG 112 Ringversuch
 Datenbeschreibung: C:\Dokumente und Einstellungen\admin\Eigene Dateien\Dokumentation\058000_41°C

**Ein Brutschrank
 mindestens 3 Temperaturen**

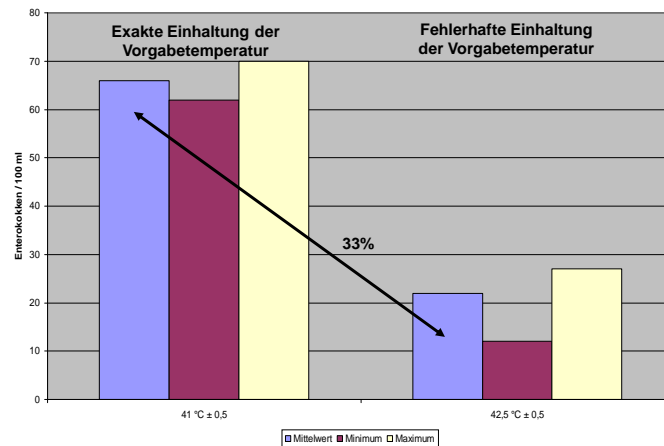
Fühler 1: oben
 Fühler 2: mitte
 Fühler 3: unten

	S1	S2	S3	S4
Mittelwert:	40,1°C	41,4°C	42,8°C	---
Varianz:	0,423	2,994	0,406	---
Std. Abweichung:	0,651	1,730	0,637	---
Kleinst-/Grosster Wert:	34,3 / 40,9°C	30,6 / 42,6°C	31,2 / 43,3°C	---
Zeit: Wert > Max:	---	---	---	---
Zeit: Wert < Min:	---	---	---	---
Zeit: Ausserhalb Min/Max:	---	---	---	---
Zeit: Innerhalb Min/Max:	---	---	---	---
Bereich:	21.01.2014 10:50:32 ...		23.01.2014 11:22:32	

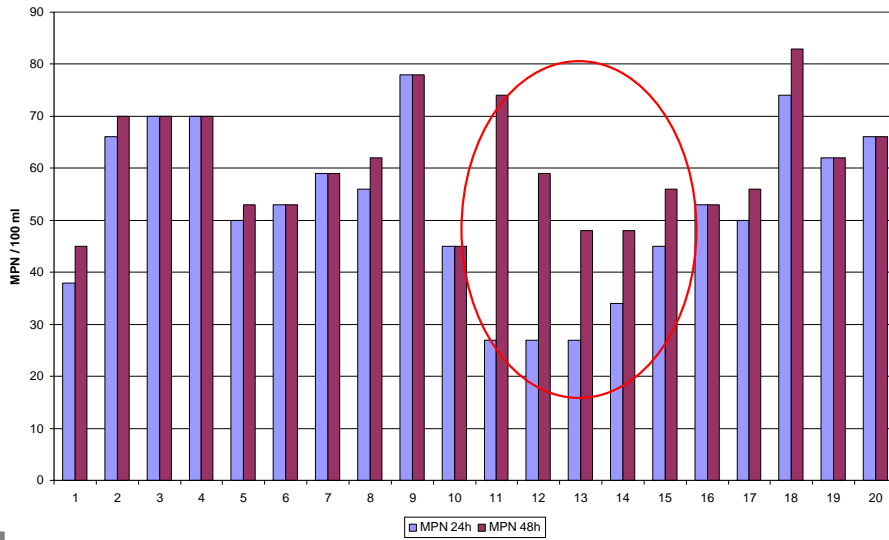


**Enterolert:
 Einfluss minimaler Abweichung bei der Bebrütungstemperatur**

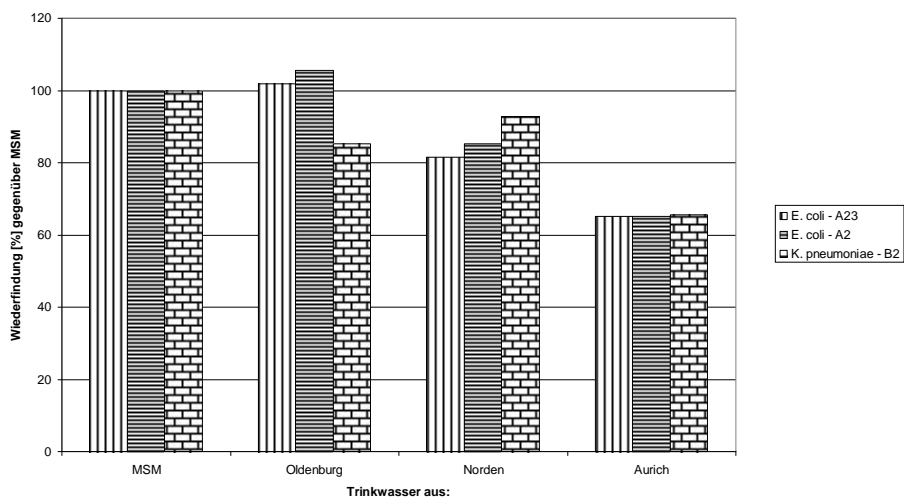
Enterolert
 Bebrütungstemperatur (Vortest RV 1-2014)

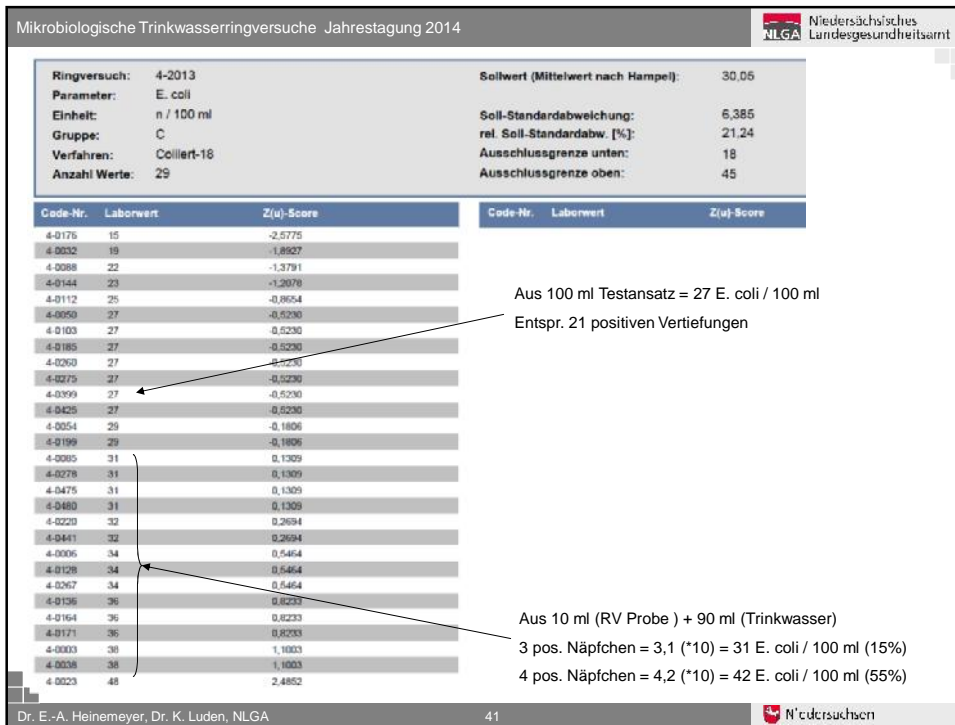


Enterolert
nach 24h und 48h (20er Test RV 1-2014)



Matrixvergleich - Auswirkungen auf Colilert
3 E. coli / coliformen Stämme
Mittelwerte aus jeweils 10 parallelen Ansätzen





Mikrobiologische Trinkwasserringversuche Jahrestagung 2014

Niedersächsisches Landesgesundheitsamt
NLGA

Badegewässer - Information zur Dotierung der Proben

- Anforderungswerte nach EU Richtlinien sind:
 - E. coli: < 10 – nach oben offene Scala ISO 9308-3, MPN > 4564 bei einer 1:2 Verdünnung
Ländergrenzwert 1.800 / 100 ml
 - Enterokokken: < 10 - nach oben offene Scala ISO 7899-1, MPN > 4564 bei einer 1:2 Verdünnung
 - Enterokokken: 0 – 200 / 100 ml (!) ISO 7899-2, Membranfiltration
Aber: Ländergrenzwert 700 / 100 ml
Das muss sich in den Messergebnissen widerspiegeln lassen
- Ergebnisangabe:
Nach ISO 8199 eine zwar korrekte Angabe wie z.B.:
EK > 200 / 100 ml reicht dann nicht (ISO 7899-2 Membranfiltration, Verdünnungen einplanen)
- Wir haben eine Begrenzung der Dotierungen vorgesehen
 - Enterokokken: 0 (<10) bis ~ 2000 / 100 ml
 - E. coli: 0 (<10) bis ~ 4564 / 100 ml

Damit sind beim Parameter:

 - Enterokokken: mit ISO 7899-2 und ISO 7899-1 sowie
 - E. coli: mit ISO 9308-3

alle Proben, die im Ringversuch verschickt werden, auswertbar.

Dr. E.-A. Heinemeyer, Dr. K. Luden, NLGA 42 N'edersachsen

Mikrobiologische Untersuchungsmethoden

- › ISO 14189 C. perfringens
- › ISO 9308-1 E. coli/Coliforme B.

Niedersächsisches Landesgesundheitsamt
Bereich: Wasserhygiene
- Standort Aurich –
Dr. Katrin Luden

Einführung neuer Verfahrensnormen

Richtlinie 98/83/EG des Rates

„Die nachstehenden Verfahrensgrundsätze für mikrobiologische Parameter haben, sofern ein CEN/ISO-Verfahren angegeben ist, Referenzfunktion; andernfalls dienen sie - bis zur etwaigen künftigen Annahme weiterer internationaler CEN/ISO-Verfahren für diese Parameter nach dem Verfahren des Artikels 12 — als Orientierungshilfe.

TrinkwV 2001 Anlage 5 Teil I

„Die nachstehenden Verfahrensgrundsätze für mikrobiologische Analysen haben Referenzfunktion, sofern ein CEN/ISO-Verfahren angegeben ist; andernfalls dienen sie – bis zur etwaigen künftigen Annahme weiterer internationaler CEN/ISO-Verfahren für diese Parameter _____ - als Orientierungshilfe“

Das Dilemma

- Ab wann ist eine neue Norm bei der Untersuchung mikrobiologischer Parameter im Rahmen der TrinkwV 2001 anzuwenden?
- Gibt es eine Übergangsfrist?
- Erfordert die Einführung eines neuen mikrobiologischen Verfahrens die Vor-Ort-Begutachtung durch die DAkKS?

MITTEILUNG



03. Februar 2014

Mitteilung des UBA zu den mikrobiologischen Nachweisverfahren nach TrinkwV 2001 zur Bestimmung von *Clostridium perfringens* und *E. coli*/coliformen Bakterien

Clostridium perfringens:

Am 1.11.2013 wurde ISO 14189 (Nachweis von *C. perfringens* aus Wasserproben) veröffentlicht. Die ISO-Norm 14189 kann beim Beuth-Verlag in Berlin bezogen werden. Eine deutsche Übersetzung und Übernahme der Norm als EN und DIN ist vorgesehen.

Weiteres Vorgehen:

Da Anlage 5 Teil 1 TrinkwV 2001 das m-CP-Verfahren als Orientierungshilfe festlegt, andererseits aber auch bereits auf die Annahme weiterer internationaler CEN/ISO-Verfahren abstellt, wird vorgeschlagen, bis zu einer neuen Entscheidung des Verordnungsgebers sowohl das m-CP-Verfahren als auch das Verfahren nach ISO 14189 als zulässige mikrobiologische Analyseverfahren für *C. perfringens* (einschließlich Sporen) zu behandeln.

E. coli/coliforme Bakterien:

Voraussichtlich im Sommer diesen Jahres ändert sich die Norm für das Nachweisverfahren für *E. coli*/coliforme Bakterien ISO 9308-1 (Lactose TTC-Agar wird durch Chromokult-Coliformen-Agar ersetzt). Ob es für den Einsatz im Laborbereich hier eine Übergangsfrist geben wird, ist noch nicht absehbar.

Interpretation TrinkwV 2001 – Variante 1

- Neues ISO-Verfahren muss angewendet werden, sobald es veröffentlicht ist (auf englisch?)
- Voraussetzung für die gültige Anwendung im Rahmen der TrinkwV ist die Akkreditierung
- Aussetzen der Untersuchung bis Akkreditierung für das neue Verfahren vorliegt
 - flexible Akkreditierung abhängig vom Labor
 - Dokumentenprüfung abhängig von DAkkS kurz
 - Zwischenbegutachtung abhängig von DAkkS mittel
 - Reakkreditierung bis 5 Jahre

Interpretation TrinkwV 2001 – Variante 2

- Neues ISO-Verfahren muss angewendet werden, nach Aktualisierung der Anhänge der EU-Richtlinie
- Übergangsfristen für die Umsetzung in nationales Recht werden bei Aktualisierung festgelegt
- Frage der Akkreditierung des Verfahrens wie bei Variante 1

C. perfringens

ISO 14189: 2013-11	TrinkwV 2001
Membranfiltration	Membranfiltration
TSC-Agar (Tryptose Sulfite Agar) schwarze, graue, gelb-braun auch schwach gefärbte	mCP-Agar gelbliche Kolonien
44 ± 1 ° C	44 ± 1 ° C
21 ± 3 Stunden	21 ± 3 Stunden
anaerob	anaerob
D-Cycloserin	D-Cycloserin, PolymyxinB-Sulfat
Bestätigung: Subkultur saure Phosphatase	Bestätigung: Bedampfen (saure Phosphatase)
Gesamtdauer: 2 Tag	Gesamtdauer 1 Tage

mCP-Agar



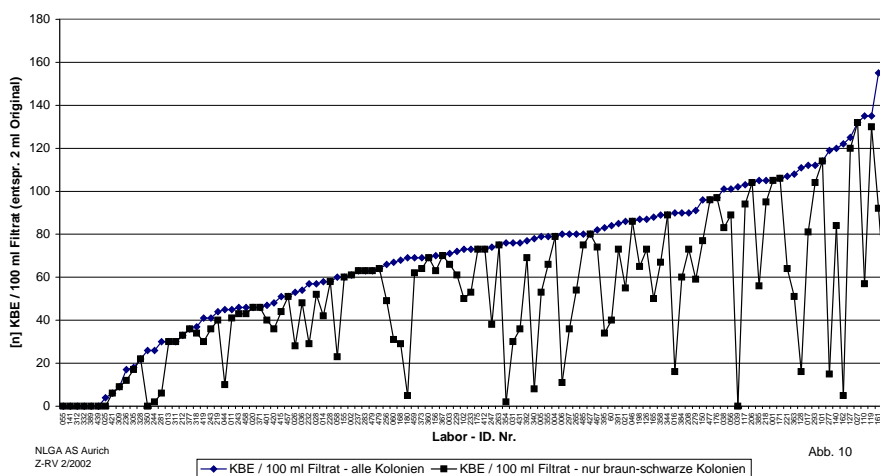
Reaktion		Farbumschlag	
Saccharose	Säure	Bromkresolpurpur:	purpur gelb bei pH 5,2
Phenolphthalein-diphosphat	Phenolphthalein		
Alkalisierung durch Ammoniakbedampfung		Phenolphthalein:	farblos rot bei pH 8,2

TSC-Agar



Reaktion			Farbumschlag
Sulfitreduktion	H ₂ S	FeS	Eisensulfid: schwarz Achtung: nicht stabil, kann schwach ausfallen
Subkultur auf nichtselektivem Nährmedium			
1-Naphtylphosphate disodium + FastBlue B			Purpur Achtung: Reagenz instabil

TSC im Zusatzringversuch 2-2002



neue ISO-Normen

- enthalten Validierungsdaten (falsch positiv/falsch negativ-Rate/linearer Messbereich...)
- geben Stämme vor zur Qualitätskontrolle

- *Hinweis: ISO 11133 erscheint ebenfalls 2014*

C. perfringens im Ringversuch

- Parameter wird 2014 2x angeboten (März und Juli)
- Anwendung beider Verfahren möglich
- Anmeldung 2x, wenn beide Verfahren im selben Ringversuch durchgeführt werden sollen (dann Vergabe von 2 Code-Nummern)
- Wechsel des Verfahrens nach Anmeldung führt zum Ausschluss aus der mathematischen Auswertung

- Anforderung UBA-Empfehlung: 1 bestandener Ringversuch/Jahr für den Parameter

E. coli/coliforme Bakterien

ISO 9308-1: 2001	ISO ISO 9308-1: 2014-?
Membranfiltration	Membranfiltration
Lactose-TTC Agar Gelbfärbung des Agars	Chromogenic Coliform Agar (CCA) Kolonien pink, rot, blau, violett
Tergitol-7	Tergitol® 15-S-7
Säurebildung aus Laktose	β -Galaktosidase (Colif.) β -Glucuronidase (E. coli)
$36 \pm 2^\circ \text{C}$	$36 \pm 2^\circ \text{C}$
21 ± 3 Stunden	21 ± 3 Stunden
Oxidase negativ Indoltest β -Glucuronidase	Oxidase
Gesamtdauer: 1-3 Tage	Gesamtdauer 1-2 Tag

E. coli/Coliforme B. im Ringversuch

- Parameter wird 4x angeboten
- Planung: Anwendung des neuen Verfahrens ab Veröffentlichung möglich
- Anmeldung 2x, wenn beide Verfahren im selben Ringversuch durchgeführt werden sollen (dann Vergabe von 2 Code-Nummern)
- Wechsel des Verfahrens nach Anmeldung kann zum Ausschluss aus der mathematischen Auswertung führen
- Anforderung UBA-Empfehlung: 2 bestandene Ringversuche/Jahr für den Parameter

Fazit

- rechtliche Lage unklar
- frühzeitig neue Methoden testen und etablieren
- NLGA strebt an: Anwendung im Ringversuch möglich, sobald veröffentlicht