

# Modul 18 Isolierung und quantitativer Nachweis von Legionellen in Umweltproben

Dieses Modul beinhaltet einige Punkte, die bei der Entnahme von mikrobiologischen Umweltproben berücksichtigt werden müssen. Für die Analysemethode ist ein vollständiges und validiertes Vorgehen in der ISO-Norm 11731 beschrieben. Das Nationale Referenzzentrum für Legionellen kann mit der Probenanalyse beauftragt werden und steht dem Laborpersonal auch für zusätzliche praktische Informationen zur Verfügung.

## 1. Probenauswahl

Die technischen Details der Probenauswahl sind kontrovers. Deshalb werden verschiedene Methoden vorgeschlagen. Damit die Wirksamkeit der vorgenommenen Massnahmen kontrolliert werden kann, ist es wichtig, ein genaues Protokoll zu erstellen und immer dieselbe Technik für die Kontrollanalysen zu verwenden (Reproduzierbarkeit der Resultate).

### Orte der Probenentnahme

**1.1. Warmes Leitungswasser.** Die Orte mit dem grössten Bakterienwachstum sind die Auslaufarmaturen, Duschen und der untere Teil der Wassererwärmer. Die Entnahmestellen sollten repräsentativ für das ganze System sein. Die Anzahl Proben hängt von der Situation ab. Normalerweise werden die repräsentativen und kritischen Stellen von jemandem bestimmt, der die Installation gründlich kennt. Zum Beispiel wird es im Spital das Hygieneteam zusammen mit dem technischen Dienst sein, welches Anzahl, Art (quantitativ und/oder qualitativ) und Stelle der Entnahme bestimmt. Allgemein, und wenn dies technisch möglich ist, soll je eine Probe entnommen werden von

- Kaltwasser bei seinem Eintritt ins Gebäude
- Warmwasser beim Austritt aus dem Wassererwärmer
- Warmwasser beim Wiedereintritt in den Wassererwärmer, nachdem es im Gebäude zirkuliert ist
- Wasser aus dem Entleerungshahnen des Wassererwärmers
- Wasser von der weitesten vom Wassererwärmer entfernten Wasserentnahmestelle.

Falls die Untersuchung im Zusammenhang mit einem Fall von Legionellose durchgeführt wird, sollen ebenfalls Proben aus den Installationen entnommen werden, welche die erkrankte Person benützt hat (Dusche, Sprudelbad etc.).

**1.2. Luftaufbereitungsanlagen.** - Abstriche oder Wasserproben werden bevorzugt aus folgenden Stellen entnommen: Kondenswasser, Berieselungswasser, Befeuchtungsbecken, Sedimente, Siphons, feuchte Nischen.

Die Suche nach Legionellen in der Luft ist schwierig durchzuführen. Wenn Bakterien und Schimmelpilze in der Luft aus einem Aufbereitungssystem festgestellt werden, ist dies jedoch ein Alarmzeichen und zeigt ein schlechtes Funktionieren an.

## 2. Methode der Probenentnahme

Die Proben müssen so entnommen werden, dass die Resultate mit denjenigen früherer oder späterer Untersuchungen verglichen werden können. Wenn die Besiedlung bei normalen Verbrauchsbedingungen kontrolliert werden soll, wird man den ersten Wasserstrahl bei Verbrauchstemperatur entnehmen, eventuell nach einem Stillstand während einer Nacht. Wenn auf eine zentrale Besiedlung untersucht wird, soll die Probe entnommen werden, nachdem das Wasser einige Minuten gelaufen ist und eine konstante Temperatur erreicht hat. Die Analyse kann quantitativ sein (Wasserproben) und/oder qualitativ (Abstrich). Auf dem Auftragsformular müssen angegeben sein: Datum und Zeit, Ort und Bedingungen der Entnahme, Art des Wassers (Heiss- oder Kaltwasser) und Temperatur.

**Entnahme eines Liters Wasser in einer sterilen Flasche.**- Dies ist die geeignetste Methode, denn sie erlaubt es, die Resultate zu standardisieren (quantitative Analyse mit Angabe der Resultate in Anzahl KBE/l). Eine Probe von 100 ml ist leichter zu transportieren, aber weniger geeignet, denn sie bedeutet einen Verlust an Sensitivität und Repräsentativität.

**Abstriche aus dem Sanitärsystem.**- Nachdem das Auslaufarmaturende oder der Duschkopf abgeschraubt wurde, werden die Wattestäbchen tief in die Öffnung eingeführt. Das Wattestäbchen soll vier Mal gedreht werden und wenn möglich soll Biofilm entnommen werden. Der Wattestab kann direkt auf ein Selektivmedium ausgestrichen oder in ein Reagenzglas mit 10 ml sterilem Wasser oder

ein übliches feuchtes Transportmilieu (verschiedene Typen) gegeben werden. Dieses Vorgehen ist nicht explizit erwähnt in der ISO-Norm 11371.

**Abstrich und Wasser.**- Das Wattestäbchen mit dem so entnommenen Abstrich wird unter sterilen Bedingungen abgeschnitten und in dieselbe Flasche gegeben wie die Wasserprobe. Zuerst soll der Abstrich entnommen werden und erst danach die Wasserprobe.

Sedimente, Schlamm etc.: Die Menge und die Art der Entnahme (Flüssigkeit oder Abstrich) hängen von der Dichte und der Lokalisation ab.

**Sedimente, Schlamm etc.**- Die Menge und die Art der Entnahme (flüssig oder Abstrich) hängt von der Dichte des Materials und der Lokalisation ab.

### 3. Behälter für die Proben

Die Wasserproben (in der Regel 1 Liter) werden in sterilen Flaschen aus Plastik oder Glas gesammelt. Wenn sie schon einmal gebraucht wurden, müssen sie mit destilliertem und sterilem Wasser gespült werden. Für Materialien wie Sedimente, Biofilme und Ablagerungen werden kleinere Behälter mit Schraubverschluss empfohlen. Details zur Entnahmestelle und zum Volumen der Entnahme sowie zum eventuellen Vorhandensein von bioziden Substanzen müssen dem Labor mitgeteilt werden, da sie für den Ablauf der Untersuchung nützlich sind.

### 4. Probenentnahme bei Vorhandensein von bioziden Substanzen

Wenn eine Wasserprobe ein Biozid (z.B. Desinfektionsmittel) enthält oder ein Verdacht darauf besteht, muss vor oder während der Probenentnahme eine Substanz zu seiner Neutralisierung im Überschuss dem Behälter zugegeben werden. Chlor und andere Oxydationsmittel werden durch die Zugabe von Kalium- oder Natriumthiosulfat inaktiviert. Zur Inaktivierung anderer chemischer Substanzen muss der Hersteller befragt werden, da es noch kein universelles Neutralisationsmittel gibt.

### 5. Transport

Vor dem Probenversand soll das Labor kontaktiert werden, damit der Zeitpunkt und die Modalitäten des Transports abgesprochen werden können. Falls die Analyse verschoben wird, müssen die Proben vor Licht geschützt und zwischen 4 und 8 °C aufbewahrt werden. Sie dürfen nicht eingefroren werden. Die Proben sollen dem Labor bevorzugt innerhalb 24 Stunden und bei 6 bis 18 °C zukommen. Die Zeit zwischen Probenentnahme und Ausstrich darf höchstens 48 Stunden betragen.

Für den Versand von Membranen sollen genug grosse und absolut dichte Röhrchen von 20-50 ml Volumen verwendet werden, idealerweise mit 2-3 cm Durchmesser.

## Referenzen

International Organization for Standardization. Water quality - Detection and enumeration of Legionella. ISO [11731]. 1998.