

Empfehlung des Umweltbundesamtes zur Probenahme und zum Nachweis von Legionellen in Verdunstungskühlanlagen, Kühltürmen und Nassabscheidern

A Einleitung

Verdunstungskühlanlagen sind Anlagen bei denen durch Verdunstung von Wasser Wärme an die Umgebungsluft abgeführt wird. Sie enthalten u.a. eine Verrieselungs- oder Verregnungseinrichtung für Kühlwasser und einen Wärmeüberträger. In der 42. Bundesimmissionsschutzverordnung wurden Verdunstungskühlanlagen, bei denen der Luftzug zur Kühlung des Wassers im Wesentlichen durch den natürlichen Zug, der im Kaminbau der Anlage erzeugt wird, erfolgt und die eine Kühlleistung von mehr als 200 MW je Luftaustritt besitzen als Kühltürme definiert. Die Anforderungen an Verdunstungskühlanlagen sind in der VDI 2047 Blatt 2 und für Kühltürme in der VDI 2047 Blatt 3 beschrieben.

Nassabscheider sind Anlagen, in denen ein Gasstrom mit einem Flüssigkeitsstrom in Kontakt gebracht wird, um Bestandteile des Gasstroms in der Flüssigkeit aufzunehmen. Bei den übergehenden Bestandteilen des Gasstromes kann es sich um feste, flüssige oder gasförmige Stoffe handeln. Die Anforderungen an Anlagen zur Abscheidung partikelförmiger Verunreinigungen aus einem Gas beschreibt die VDI 3679-Blatt 1; an Anlagen zur Abscheidung gasförmiger Verunreinigungen die VDI 3679-Blatt 2.

Sowohl Verdunstungskühlanlagen als auch Kühltürme und Nassabscheider können eine Quelle für Legionellen-haltige Aerosole darstellen. Um das Risiko einer gesundheitlichen Beeinträchtigung durch solche Anlagen zu minimieren, wird durch die 42.

Bundesimmissionsschutzverordnung eine Melde- und Überwachungspflicht für solche Anlagen eingeführt.

Neben technischen Anforderungen an die Anlagen wird eine regelmäßige Untersuchung des Kühl- bzw. Waschwassers u.a. auf Legionellen gefordert. Bei Überschreitung bestimmter Legionellenkonzentrationen (Prüf- und Maßnahmewerte) werden vom Betreiber der Anlagen Maßnahmen gefordert. Daher ist es besonders wichtig, dass die Probenahme und die Untersuchung auf Legionellen nach einheitlichen Vorgaben ablaufen, um eine

Vergleichbarkeit der Ergebnisse zwischen unterschiedlichen Laboren zu gewährleisten. Die Vorgaben dieser Empfehlung dienen dem Ziel einer einheitlichen Probenahme, Analytik, Auswertung und Ergebnisangabe.

B Anforderungen an das Untersuchungslabor

Für den Nachweis von Legionellen in Kühlwässern von Verdunstungskühlanlagen und Kühltürmen sowie in Waschwässern von Nasswäschern kann nur ein Labor beauftragt werden, das für den Nachweis von Legionellen in Wässern nach ISO 11731 (1998) und DIN EN ISO 11731-2 (2008)¹ sowie für die Probenahme nach DIN EN ISO 19458 gemäß DIN EN ISO/IEC 17025 akkreditiert ist². D.h. das Labor ist dafür verantwortlich, dass von der Probenahme bis zum Prüfbericht alle rechtlichen und normativen Anforderungen erfüllt sind. Da bei den Wasserproben aus Verdunstungskühlanlagen, Kühltürmen oder Nasswäschern oft eine hohe Begleitflora auftritt, muss das Labor Erfahrung mit Wässern mit hoher Begleitflora nachweisen können. Im Labor muss eine Standardarbeitsanweisung vorliegen, die den Nachweis von Legionellen in Wässern mit hoher Begleitflora abdeckt.

Spätestens ein Jahr nach Inkrafttreten der Verordnung müssen die Laboratorien eine Akkreditierung speziell für die in der Verordnung genannten Wässer besitzen. Die Probenehmer müssen in das Qualitätsmanagementsystem nach DIN EN ISO/IEC 17025 des Labors eingebunden sein. Sie müssen Kenntnisse sowohl hinsichtlich der mikrobiologischen Probenahme generell als auch hinsichtlich der spezifischen Anforderungen bei der Probenahme in Verdunstungskühlanlagen, Kühltürmen und Nassabscheidern verfügen. Von dieser Qualifikation kann ausgegangen werden, wenn sie erfolgreich an einer Probenehmerschulung für Trinkwasser teilgenommen haben sowie eine Qualifikation gemäß der Schulung nach VDI 2047 Blatt 2 besitzen. Spezielle Probenehmerschulungen für Verdunstungskühlanlagen, Kühltürmen und Nassabscheidern sind in Vorbereitung, die eine noch bessere Qualifikation erwarten lassen.

C Anforderungen an die Probenahme

Bei der Probenahme sind die Vorgaben der DIN EN ISO 19458 einzuhalten. Generell muss darauf geachtet werden, dass der Zeitpunkt der Probenahme den Normalbetrieb der Anlagen widerspiegelt. Es müssen Proben von mindestens 100 ml Probevolumen genommen werden.

¹ Die ISO 11731 (1998) und die DIN EN ISO 11731-2 (2008) wurden überarbeitet und in einer ISO Norm zusammengefasst. Die neue gemeinsame Norm ISO 11731 mit Vorgaben zur Untersuchung unterschiedlicher Wasserqualitäten wurde im Mai 2017 veröffentlicht.

² Der Akkreditierungsbereich des Labors kann unter www.dakks.de eingesehen werden

C. 1 Probenahmeplanung

Bei Anlagen mit Biozidzugabe sollte die Probenahme zeitlich vor einer Biozidzugabe erfolgen. Bei regelmäßiger Biozidzugabe sollte das Zeitfenster zwischen Zugabe und Probenahme so groß wie möglich gehalten werden. Es ist insbesondere zu vermeiden, eine Probe kurz nach einer erfolgten Bioziddosierung zu entnehmen.

Bei Proben, die Biozide enthalten, muss das Biozid bei der Probenahme soweit möglich inaktiviert werden. Dies muss bereits bei der Planung der Probenahme berücksichtigt werden. Gemäß der Verordnung muss der Betreiber dem Labor und dem Probenehmer den Zeitpunkt einer erfolgten Biozidzugabe sowie die Menge und Art des Biozids mitteilen.

Oxidative Biozide wie Chlor/Hypochlorit, Chlordioxid oder Ozon können durch Natriumthiosulfat inaktiviert werden. Wasserstoffperoxid kann durch Katalase inaktiviert werden.

Für nicht oxidative Biozide geben die DIN EN 13623 im Anhang B und die VDI 2047/2 im Anhang A Hinweise zu empfohlenen Inaktivierungsmitteln. Zu anwendbaren Konzentrationen der Inaktivierungsmittel für Proben aus Verdunstungskühlanlagen, Kühltürmen und Nasswäschern gibt es bisher nur wenig Erfahrung aus der Praxis. Hier besteht noch Forschungsbedarf. Proben, die nicht oxidative Biozide enthalten und bei denen keine Inaktivierung durchgeführt wird, müssen am Tag der Probenahme möglichst zeitnah untersucht werden, um eine weitere Inaktivierung der Legionellen zu vermeiden. Auf das Problem der fehlenden Inaktivierung ist im Prüfbericht hinzuweisen (siehe C.3).

C.2 Probenahmestellen und Art der Probenahme

Die Auswahl der Probenahmestellen bei Verdunstungskühlanlagen, Kühltürmen und Nasswäschern ist unter anderem abhängig von den bau- und betriebstechnischen Gegebenheiten.

Die Probenahme erfolgt immer an derselben Probenahmestelle oder denselben Probenahmestellen. Die Probenahmestellen müssen vor Ort oder auf einem Anlagenplan dauerhaft und eindeutig gekennzeichnet sein und müssen im Probenahmeprotokoll sowie im Prüfbericht exakt bezeichnet werden. Eine eindeutige Zuordnung einer Probe zur jeweiligen Probenahmestelle muss gegeben sein. Auch die Art der Probenahme ist im Probenahmeprotokoll zu dokumentieren (siehe C. 3)

C.2.1 Verdunstungskühlanlagen und Kühltürme

Die Probe wird vorzugsweise aus dem Kühlwasser zwischen Pumpe und Versprühung/ Verrieselung entnommen. An dieser Stelle ist daher eine Probenahmemöglichkeit (desinfizierbare, vorzugsweise abflammbare Entnahmemarmatur) vorzusehen. Die Probenahmestelle muss in Strömungsrichtung vor der Bioziddosierstelle liegen, damit die Probe nicht durch die Bioziddosierung verfälscht wird. Ferner ist darauf zu achten, dass an der Probenahmestelle repräsentativ Kühlwasser beprobt wird. Die Probenahmestelle sollte daher nicht in der Nähe des Eintritts des Zusatzwassers liegen. Die Durchführung der Probenahme erfolgt wie eine Probenahme aus Entnahmemarmaturen nach DIN EN ISO 19458 Zweck a. Es ist auch eine Probenahme an Dauerläufern möglich.

Sollte die Probenahme nicht über eine Entnahmemarmatur erfolgen können, kann alternativ verrieseltes Kreislaufwasser oder eine Schöpfprobe aus der Kühlturmwanne entnommen werden. Zur Probenahme aus der Kühlturmwanne werden Behälter oder Schöpfbecher verwendet, die innen und außen steril sind. Bei der Probenahme ist darauf zu achten, dass keine Ablagerungen oder Biofilme in die Wasserprobe gelangen. Daher sollte die Probenahme mit einer Probenahmestange (d.h. nicht direkt am Rand der Wanne) 10 cm – 30 cm unterhalb der Wasseroberfläche erfolgen (siehe DIN EN ISO 19458 Befüllung von Probebehältern). Enthält der Probenahmebehälter Inaktivierungsmittel für Biozide muss darauf geachtet werden, dass dieses bei der Probenahme nicht ausgespült wird.

C.2.2 Nassabscheider

Bei Nassabscheidern ist eine große Anzahl an Varianten und Bauformen anzutreffen, auch Kombinationen von Nassabscheidern zur Partikelentfernung (Entstaubung) und zur Abscheidung von Schadgasen (z.B. Ammoniak) sind vorzufinden. Die Waschflüssigkeit kann Wasser sein, es können je nach verfahrenstechnischer Anforderung auch saure oder alkalische Lösungen oder Lösungsmittel zum Einsatz kommen. In der Regel sind den Anlagen Tropfenabscheider nachgeschaltet. Die hygienische Relevanz der Anlage, d.h. inwieweit bei den jeweiligen Betriebsbedingungen eine Vermehrung von Legionellen möglich ist (siehe u.a. Ausschlusskriterien in der 42. BImSchV) und die Fortluft Bioaerosole enthalten kann, muss vor der Probenahme bekannt sein.

Im Vorfeld der Probenahme ist abzuklären an welcher Stelle eine Waschwasserprobe mit welcher Probenahmetechnik entnommen werden kann, um eine repräsentative Probe zu erhalten.

Die Probe im laufenden Betrieb des Abscheiders über einen Entnahmehahn zu entnehmen ist nur bei einigen Abscheidertypen möglich. Es empfiehlt sich deshalb die Probe, bei unmittelbar zuvor abgeschalteter Anlage, über die Inspektionsöffnung zu entnehmen.

Nach dem Öffnen wird ein Probenahmebehälter in den Wasserkörper getaucht und nach DIN EN ISO 19458 befüllt. Zur Probenahme werden Behälter oder Schöpfbecher verwendet, die innen und außen steril sind.

C.3 Probenahmeprotokoll

Das Probenahmeprotokoll muss mindestens folgende Punkte enthalten:

- Name und Adresse des Auftraggebers
- Standort der Anlage mit vollständiger Anschrift und Anlagenbezeichnung
- Exakte Bezeichnung der Probenahmestellen
- Datum und Zeitpunkt der Probenahme
- Name und Unterschrift des Probenehmers
- Art der Probe (z.B. Kühlwasser, Waschwasser, Zusatzwasser)
- Probennahmetechnik
(z.B. an Armatur oder Schöpfprobe, Art der Desinfektion)
- Temperatur des Wassers bei Probenahme
- Auffälligkeiten bei der Probenahme, die das Ergebnis beeinflussen könnten

Um eine einwandfreie Inaktivierung der eingesetzten Biozide nachvollziehen zu können, müssen auch folgende Angaben aufgenommen werden:

- Art des/der eingesetzten Biozidprodukte mit Angabe des Wirkstoffs bzw. der Wirkstoffe
- Dosierkonzentration bzw. Dosiertechnik (z.B. manuell, automatische Dosiereinrichtung, nach Zeitintervallen, ereignisgesteuert) der in der Anlage eingesetzten Biozide
- Zeitpunkt der letzten Bioziddosierung
- ggf. Art und Konzentration des verwendeten Inaktivierungsmittels

Die Angaben im Probenahmeprotokoll müssen in den Prüfbericht übernommen werden.

Falls eine der vorstehenden Informationen nicht vorliegt, ist dies im Probenahmeprotokoll und im Prüfbericht auszuweisen.

Bei fehlender Inaktivierung der eingesetzten Biozide ist folgende Anmerkung aufzunehmen:

„Das Ergebnis steht unter dem Vorbehalt, dass eine Inaktivierung der eingesetzten Biozide nicht möglich war. Nicht inaktivierte Biozide können zu einem Minderbefund führen“

D Transport und Lagerung der Proben

Die Zeit zwischen der Probenahme und der Analyse im Labor ist so kurz wie möglich zu halten. Die Proben sollten vorzugsweise innerhalb von 24 h nach Probenahme im Labor angesetzt werden; jedoch nicht später als 48 h nach Probenahme.

Bei kurzen Transportzeiten (< 8 h) können die Proben bei Umgebungstemperatur transportiert werden. Die Proben sind aber geschützt vor Licht und starken Temperatureinwirkungen zu transportieren (z.B. in Kühlboxen).

Bei längeren Transportzeiten (> 8 h) sind die Proben gekühlt - idealerweise auf $(5 \pm 3) \text{ }^\circ\text{C}$ - und lichtgeschützt zu transportieren (z. B. Kühlboxen mit Kühlakkus). Es ist darauf zu achten, dass die Proben nicht gefroren werden. Die Temperatur muss überwacht und aufgezeichnet werden.

Die Transportbedingungen müssen dokumentiert werden.

Die Lagerung der Proben im Labor muss bei $(5 \pm 3) \text{ }^\circ\text{C}$ erfolgen.

E Nachweis von Legionellen durch Kultivierung

Für die routinemäßige Überwachung von Verdunstungskühlanlagen, Kühltürmen und Nasswäschern erfolgt der Nachweis der Legionellen durch Kultivierung auf GVPC Nährmedium.

Der Nachweis von Legionellen (*Legionella* spp.) erfolgt gemäß den Vorgaben der ISO 11731 (2017). Für die Auswahl des geeigneten Nachweisverfahrens müssen dabei sowohl das Ausmaß der Begleitflora als auch die gewünschte Nachweisgrenze berücksichtigt werden.

Bei Proben aus Verdunstungskühlanlagen, Kühltürmen und Nasswäschern ist nicht auszuschließen, dass eine hohe Begleitflora vorliegt (nach ISO 11731, 2017) „Wasser mit hoher Begleitflora“. Daher muss der Nachweis der Legionellen zur Reduktion der Begleitflora auf einem selektiven Nährmedium erfolgen und bei den Analysen sowohl eine Säure- als auch eine Hitzebehandlung mit einbezogen werden.

Da für die Überprüfung der Anlagen ein weiter Konzentrationsbereich von 10 KBE/100 ml bis zu > 10.000 KBE/100 ml bzw. > 50.000 KBE/100 ml (bei Naturzugkühltürmen mit > 200 MW Leistung) abgedeckt werden muss, müssen sowohl Verfahren mit niedriger Nachweisgrenze (Membranfiltration, siehe E.2) als auch Verfahren mit höherer Nachweisgrenze (Direktplattieren siehe E.3) parallel angewendet werden. Mit den in E.2 und E.3 vorgegebenen Ansätzen kann erfahrungsgemäß in ca. 80 % der Proben ein quantitatives, statistisch abgesichertes Ergebnis erhalten werden (siehe auch E.6 und Anhang 1). Werden andere normkonforme Anreicherungsverfahren verwendet (z.B. Filtration mit Abwaschen der Membran entsprechend den Ansätzen 8-10 für Matrix B nach ISO 11731(2017) muss mit einer großen Probenzahl (mindestens 1.000 Proben) nachgewiesen werden, dass vergleichbar zuverlässige Ergebnisse in belasteten Kühlwässern erhalten werden. Für die Berechnung der Ergebnisse und die Angaben im Prüfbericht müssen aber in jedem Fall die Vorgaben in E.6 und E.7 beachtet werden.

E.1 Probenvorbereitung und –behandlung

Die Probe wird durch kräftiges Schütteln gut homogenisiert. Unmittelbar vor jedem Ansatz muss die Probe erneut aufgeschüttelt werden.

Für die Hitzebehandlung wird ein Teilvolumen der Probe (z.B. 25 ml) in einen sterilen Behälter abgefüllt und dieser im Wasserbad bei $(50 \pm 1) ^\circ\text{C}$ über (30 ± 2) Minuten behandelt.

Die Einwirkzeit startet erst dann, wenn die genannte Temperatur in der Probe erreicht ist. Dies muss durch Messungen in einem Referenzgefäß sichergestellt werden. Das Teilvolumen wird unmittelbar anschließend sowohl für die Membranfiltration als auch für das Oberflächenverfahren verwendet.

Für die Säurebehandlung beim Oberflächenverfahren wird ein Teilvolumen der Probe 1:10 mit einfach konzentrierter Säurelösung (d.h. 1 Teil Probe und 9 Teile Säurelösung) gemischt und $(5 \pm 0,5)$ Minuten inkubiert (siehe ISO 11731, 2017).

Für die Membranfiltration wird die Säurebehandlung direkt nach dem Filtrieren der Probe im Filtrationsbehälter gemäß ISO 11731 (2017) durchgeführt. Dazu erfolgt die Säurebehandlung für $(5 \pm 0,5)$ Minuten mit nachfolgendem Waschen des Membranfilters mit einer in der ISO 11731 (2017), Anhang C genannten Verdünnungslösung.

E.2 Membranfiltration mit Auflegen des Membranfilters

Um Legionellenkonzentrationen im Bereich von ca. 100 KBE/ 100 ml mit einer akzeptablen Messunsicherheit nachweisen zu können und gleichzeitig die Gefahr von durch Begleitflora nicht auswertbaren Proben zu reduzieren, werden 20 ml Probe filtriert (siehe Tabelle im Anhang 1). Zur Reduktion der Begleitflora wird in einem Ansatz eine Säure- und in einem Ansatz eine Hitzebehandlung durchgeführt.

Damit ergeben sich folgende Ansätze für die Membranfiltration:

E.2.1 Nach Hitzebehandlung (entspricht Ansatz 6 für Matrix B nach ISO 11731, 2017)

Membranfiltration von 20 ml hitzebehandelter Probe mit anschließendem Auflegen auf GVPC

E.2.2 Mit Säurebehandlung (entspricht Ansatz 7 für Matrix B nach ISO 11731, 2017)

Membranfiltration von 20 ml unbehandelter Probe mit nachfolgender Säurebehandlung auf dem Filter und anschließendem Auflegen auf GVPC

Bei Anlagen mit nachweislich geringer Begleitflora können an Stelle der Ansätze mit 20 ml Probe Ansätze mit 100 ml Probe sinnvoll sein, um bei geringen Legionellenkonzentrationen die analytische Sicherheit zu erhöhen (siehe Tabelle im Anhang 1).

E.3 Direktes Ausplattieren/Oberflächenverfahren

Bei Anwendung des Oberflächenverfahrens werden 0,1 ml und 0,5 ml Probenvolumina ausplattiert. Da erfahrungsgemäß bei der Originalprobe viele Proben überwachsen und daher nicht auswertbar sind, werden bei der Originalprobe nur 1 x 0,1 ml ausplattiert. Zur Reduktion der Begleitflora werden parallele Ansätze mit Säure- und mit Hitzebehandlung durchgeführt. Durch die Säurebehandlung ist die Probe bereits 1:10 verdünnt. Daher werden bei diesem Ansatz zwei Platten mit 0,5 ml (entspricht insgesamt 0,1 ml Originalprobe) angesetzt. Bei der Hitzebehandlung, die oft auswertbare Ergebnisse liefert, werden

2 x 0,5 ml und 1 x 0,1 ml eingesetzt, um bei diesem Ansatz die Wahrscheinlichkeit statistisch abgesicherter Ergebnisse zu erhöhen.

Damit ergeben sich folgende Ansätze für das direkte Ausplattieren:

E.3.1 Originalprobe (entspricht Ansatz 1 für Matrix B nach ISO 11731:2017)

1 x 0,1 ml unbehandelte Originalprobe auf GVPC

E.3.2 Nach Hitzebehandlung (entspricht Ansatz 2 für Matrix B nach ISO 11731, 2017)

1 x 0,1 ml hitzebehandelte Probe auf GVPC

2 x 0,5 ml hitzebehandelte Probe auf GVPC

E.3.3 Mit Säurebehandlung (entspricht Ansatz 3 für Matrix B nach ISO 11731, 2017)

2 x 0,5 ml säurebehandelte Probe auf GVPC

E.4 Bestätigung verdächtiger Legionellenkolonien

Um den Arbeitsaufwand bei der Bestätigung verdächtiger Legionellenkolonien zu reduzieren wird zunächst diejenige Nährmedienplatte (oder ggf. diejenigen Nährmedienplatten mit gleicher Behandlung) für die Bestätigung ausgewählt, die – unter Berücksichtigung des eingesetzten Volumens der Probe – die höchste Legionellenkonzentration (KBE/100 ml) bei akzeptabler analytischer Sicherheit ergeben würde. D.h. es werden gegenüber Ansätzen mit 1-3 Kolonien Ansätze bevorzugt, die mindestens 4 Kolonien pro Nährmedienplatte und möglichst wenig Begleitflora (siehe E.5) aufweisen gegebenenfalls auch dann, wenn auf diese Weise ein niedrigeres Ergebnis errechnet wird (siehe Anhang 2, Beispiel 12).

Von dieser Platte werden bei Vorliegen eines verdächtigen Kolonietyps drei verdächtige Kolonien und bei Vorliegen mehrerer verdächtiger Kolonietypen jeweils mindestens eine verdächtige Kolonie wie in ISO 11731 (2017) beschrieben bestätigt. Bei Ergebnissen von > 10.000 KBE/100 ml bzw. > 50.000 KBE/100 ml siehe E.8. Ergeben sich dabei keine bestätigten Legionellen, müssen in entsprechender Weise verdächtige Kolonien auf anderen Ansätzen überprüft werden.

E.5 Berücksichtigung der Begleitflora

Die Vermehrung von Legionellen auf dem GVPC-Nährmedium kann durch Begleitflora beeinträchtigt oder sogar vollständig gehemmt werden. Daher ist es wichtig, für die Auswertung solche Nährmedienplatten heranzuziehen, die keine oder möglichst wenig Begleitflora aufweisen. Die Messunsicherheit des Ergebnisses und das Risiko von Minderbefunden steigen mit der Konzentration der Begleitflora.

Gemäß DIN EN ISO 8199 führen hohe Koloniezahlen (Legionellen und Begleitflora) pro Platte von > 200 zu nicht quantitativ auswertbaren Ergebnissen. Insbesondere Schimmelpilze, schwärmende Bakterien und verdächtige *Pseudomonas aeruginosa* können bereits bei wenigen Kolonien pro Platte den Nachweis von Legionellen stark beeinträchtigen. Die erhöhte Messunsicherheit beim Vorkommen solcher Kolonien oder hoher Begleitflora muss bei der Ergebnisangabe im Prüfbericht folgendermaßen vermerkt werden:

„Bei dem Ergebnis liegt wegen hoher Begleitflora/ dem Auftreten von Schimmelpilzen /schwärmenden Bakterien/ verdächtigen *Pseudomonas aeruginosa* eine erhöhte Messunsicherheit mit dem Risiko von Minderbefunden vor.“ (siehe Anhang 2, Bsp. 10)

E.6 Berechnung des Ergebnisses

Das Ergebnis wird ausgehend von der/den in E.4 ausgewählten auswertbaren Platte/n berechnet. Beispiele für die Berechnung der Ergebnisse finden sich in Anhang 2.

Das berechnete Endergebnis wird auf zwei signifikante Stellen gerundet (siehe Anhang 2, Bsp. 1 und 2).

Sind bei dem Ansatz E.3.2 Platten beider Volumina (0,5 ml und 0,1 ml) auswertbar wird das Ergebnis als gewichtetes Mittel nach DIN EN ISO 8199 berechnet (siehe Anhang 2, Bsp. 2).

Quantitative Ergebnisse können nur für solche Ansätze angegeben werden, bei denen 10 oder mehr Kolonien pro Platte/n einer Verdünnungsstufe vorhanden sind. Ab vier Kolonien pro Verdünnungsstufe können semiquantitative Ergebnisse bzw. Ergebnisse mit erhöhter Messunsicherheit angegeben werden. Die erhöhte Messunsicherheit muss bei solchen Ergebnissen im Bericht vermerkt werden (siehe Anhang 2, Bsp. 3). Unter vier Kolonien pro Ansatz sind quantitative Aussagen nicht möglich (siehe Anhang 2, Bsp. 4). Bei Berechnung des Ergebnisses nach dem gewichteten Mittel gelten diese Vorgaben für den Ansatz mit der geringsten Verdünnung.

Die obere Auszählgrenze nach DIN EN ISO 8199 von 100 Legionellenkolonien pro Membranfilter bzw. 150 Legionellenkolonien pro 90 mm-Platte im Direktansatz ist zu beachten. Bei Vorliegen auszählbarer Ansätze werden Ansätze über der Auszählgrenze nicht berücksichtigt. Wenn nur Ergebnisse über der Auszählgrenze vorliegen, ist das Endergebnis als „größer als“ anzugeben (siehe Anhang 2, Bsp. 5).

Falls das Vorhandensein von Legionellen bei den Membranfiltrationsansätzen ausgeschlossen werden kann, ist der Messwert „nicht nachweisbar“ oder „0“ oder < 1 KBE in 20 ml. Daraus erfolgt eine Abschätzung für 100 ml Originalprobe als Ergebnisangabe (siehe Anhang 2, Bsp. 6). Werden in 100 ml Probe keine Legionellen

nachgewiesen, erfolgt die Ergebnisangabe als „nicht nachweisbar in 100 ml“ oder „n.n./ 100 ml oder „0 KBE/ 100 ml“ oder „< 1 KBE/ 100 ml“ (gleichwertige Angaben). Werden auf den Ansätzen mit 0,5 ml und/oder 0,1 ml keine Legionellenkolonien nachgewiesen, ist der Messwert ebenfalls „nicht nachweisbar“ oder „n.n.“ oder < 1 KBE oder „0“ KBE pro Untersuchungsvolumen. Daraus kann nur eine Abschätzung des Ergebnisbereichs für 100 ml Originalprobe (Bereich < 10² KBE/100 ml oder Bereich < 10³ KBE/100 ml) erfolgen (siehe Anhang 2, Bsp. 8 und 9). Bei einzelnen (1-3) Legionellenkolonien wird das Ergebnis als „Bereich 10² KBE/100 ml“ oder „Bereich 10³ KBE/100 ml“ angegeben (siehe Anhang 2, Bsp. 7). Da in diesen Fällen nicht entschieden werden kann, ob der jeweilige Prüfwert gemäß Anlage 1 der 42. BImSchV überschritten ist, müssen vom Betreiber nicht die bei Überschreitung des jeweiligen Prüfwertes geforderten Maßnahmen ergriffen werden. Nicht auswertbare Platten dürfen nicht in die Berechnung einbezogen werden.

E.7 Angabe des Ergebnisses

Das Endergebnis wird pro 100 ml Originalprobe angegeben. Der für das Endergebnis ausgewählte Ansatz wird im Prüfbericht angegeben. Liegen aufgrund geringer Koloniezahlen erhöhte Messunsicherheiten (siehe Tabelle in Anhang 1 und Beispiele in Anhang 2) oder erhöhte Begleitflora vor (siehe D.5) muss dies bei der Angabe des Ergebnisses vermerkt werden. Sind alle Ansätze nicht auswertbar ist in dem Prüfbericht das Endergebnis als „nicht auswertbar“ anzugeben (siehe Bsp. 11). Ergebnisangaben wie „nicht nachweisbar“ oder „0“ sind in diesem Fall falsch. Bei Routineuntersuchungen zur Überwachung von Verdunstungskühlanlagen, Kühltürmen und Nasswäscher ist bei Unterschreitung der Maßnahmenwerte der 42. BImSchV eine Differenzierung nachgewiesener Legionellen hinsichtlich der Spezies und der Serogruppe nicht notwendig. Die Angabe der Ergebnisse erfolgt in diesen Fällen als „*Legionella* spp./100 ml“³.

E.8 Serotypisierung der nachgewiesenen Legionellenisolate

Bei Überschreitung der Maßnahmenwerte nach 42. BImSchV d.h. bei Legionellenkonzentrationen > 10.000 KBE/100 ml bei Verdunstungskühlanlagen und Nasswäschern oder > 50.000 KBE/100 ml bei Kühltürmen muss eine weitere Differenzierung und ggf. Serotypisierung der Legionellen erfolgen. Dazu müssen von dem dominierenden Kolonietyp mindestens fünf oder von den dominierenden Kolonietypen jeweils mindestens drei Kolonien getestet werden.

³ Das Kürzel "spp"= species pluralis ist eine Bezeichnung für mehrere, nicht im Einzelnen zu nennende Spezies; hier der Gattung *Legionella*

Die Angabe der Ergebnisse erfolgt dann wie folgt:

- *Legionella pneumophila* Serogruppe 1 (*L. pneumophila* Sg 1);
- *Legionella pneumophila* Serogruppen 2 - 14 (*L. pneumophila* Sg 2 - 14)
- *Legionella non-pneumophila* (*L. non-pneumophila*)

F Nachproben bei nicht auswertbaren Ansätzen

Ist bei dem in Abschnitt E beschriebenen Verfahren keiner der Ansätze auswertbar, muss zeitnah eine Nachprobe genommen werden. Um die Wahrscheinlichkeit eines auswertbaren Ergebnisses bei der Nachprobe zu erhöhen, können bei der Nachprobe diejenigen Ansätze einbezogen und erweitert werden, die aus der Erfahrung mit der Erstprobe am ehesten ein Ergebnis erwarten lassen. War z.B. bei den Ansätzen mit der Hitzebehandlung die geringste Begleitflora beobachtet worden, sollten bei der Nachprobe statt der Ansätze ohne Behandlung oder mit Säurebehandlung unterschiedliche Ansätze mit Hitzebehandlung oder ggf. kombinierte Hitze- und Säurebehandlung durchgeführt werden. Auch die Einbeziehung von höheren Verdünnungen der Originalprobe oder von anderen Nährmedien (z.B. MWY-Agar) kann dann sinnvoll sein.

Nachproben können auch dazu dienen eine höhere analytische Sicherheit von statistisch unsicheren Ergebnissen zu erreichen, indem von den auswertbaren Ansätzen höhere Gesamtvolumina z.B. durch die Verwendung mehrerer Platten (z.B. 4 x 0,5 ml) angesetzt werden. In diesem Fall sind im Prüfbericht detaillierte Angaben zu den gewählten Ansätzen anzugeben.

G Legionellenuntersuchungen im Ausbruchsfall

Im Ausbruchsfall ist es wichtig, alle im Wasser einer Anlage vorkommenden Legionellenarten und -serotypen zu erfassen. Daher kann es in diesem Fall sinnvoll sein, weitere Nährmedien, Behandlungen zur Reduktion der Begleitflora oder Verdünnungen einzubeziehen. Außerdem sollten möglichst viele Legionellenisolate identifiziert, serotypisiert und ggf. weiter charakterisiert (z.B. Subtypisierung von *L. pneumophila* Serogruppe 1 mit MAb 3-1) werden.

Bei der Kultivierung kann es aufgrund des Zeitdrucks sinnvoll sein, den Zeitpunkt der ersten Ablesung auf den dritten Tag nach Probenahme zu legen, um ggf. früher Hinweise auf hohe Legionellenkonzentrationen, insbesondere von *Legionella pneumophila*, zu bekommen.

Außerdem sind im Ausbruchsfall zum schnellen Screening von Anlagen auf das Vorhandensein von Legionellen auch zusätzlich zur Kultivierung andere, schnellere Nachweisverfahren (z.B. qPCR) sinnvoll.

Bereiche der Messunsicherheit bei unterschiedlichen Koloniezahlen pro Platte und Auswirkungen auf die Ergebnisangabe

Tabelle 1: Übersicht über die Bereiche der Messunsicherheit (grün-rot)*** bei unterschiedlichen Koloniezahlen. Angegeben ist das Endergebnis [KBE/100 ml] in Abhängigkeit vom untersuchten Volumen und der Anzahl gezählter Kolonien.

Volumen der Originalprobe im Ansatz	Anzahl typischer oder bestätigter Kolonien pro Platte				
	0	1 - 3	4 - 9	10 - 100 (Membran) 10 - 150 (Direkt)	> 100** (Membran) > 150** (Direkt)
100 ml*	< 1/ 0 / n.n	1 - 3	4 - 9	10 - 100	> 100**
20 ml	< 5	5 - 15	20 - 45	50 - 500	> 500**
10 ml*	< 10	10 - 30	40 - 90	100 - 1.000	> 1.000**
1 (2 x 0,5) ml	< 100	100 - 300	400 - 900	1.000 - 15.000	> 15.000**
0,5 ml	< 200	200 - 600	800 - 1.800	2.000-30.000	> 30.000**
0,1 (2 x 0,05) ml	< 1.000	1.000 - 3.000	4.000 - 9.000	10.000 - 150.000	> 150.000**
0,05 ml	< 2.000	2.000 - 6.000	8.000 - 18.000	20.000 - 300.000	> 300.000**

* = Volumina sind nur informativ und gehören nicht zu den primär vorgegebenen Untersuchungsansätzen

** = nur Angabe einer Mindestkonzentration möglich

***Die Messunsicherheit nimmt zu von grün über blau, gelb, orange nach rot

Tabelle 2: Ergebnisangabe bei unterschiedlichen Koloniezahlen pro Platte unter Berücksichtigung der Messunsicherheit- Filtrationsansätze

Volumen der Originalprobe im Ansatz	Anzahl typischer Kolonien pro Platte	Endergebnis [KBE/100 ml]	Bemerkung im Prüfbericht
100 ml (informativ, gehört nicht zu den primär vorgegebenen Ansätzen)	0	< 1/ 0/ n.n.	keine
	1 - 3	1 - 3	Es wurden nur vereinzelte Legionellenkolonien in 100 ml nachgewiesen. Daher liegt bei dem Endergebnis eine stark erhöhte Messunsicherheit vor.
	4 - 9	4 - 9	Es wurde nur eine geringe Anzahl von Legionellenkolonien in 100 ml nachgewiesen. Daher liegt bei dem Endergebnis eine erhöhte Messunsicherheit vor.
	10 - 100	10 - 100	keine
	> 100	> 100	Es wurde eine zu hohe Anzahl an Legionellenkolonien auf der Platte nachgewiesen. Daher ist nur die Angabe einer Mindestkonzentration pro 100 ml möglich.
20 ml	0	< 5	Es wurden keine Legionellenkolonien in 20 ml nachgewiesen. Daher liegt bei dem berechneten Endergebnis eine stark erhöhte Messunsicherheit vor. Die Legionellenkonzentration liegt mit hoher Wahrscheinlichkeit unter 100 KBE/ 100 ml.
	1 - 3	5 - 15	Es wurden nur vereinzelte Legionellenkolonien in 20 ml nachgewiesen. Daher liegt bei dem berechneten Endergebnis eine stark erhöhte Messunsicherheit vor. Die Legionellenkonzentration liegt mit hoher Wahrscheinlichkeit unter 100 KBE/ 100 ml.
	4 - 9	20 - 45	Es wurde nur eine geringe Anzahl von Legionellenkolonien in 20 ml nachgewiesen. Daher liegt bei dem berechneten Endergebnis eine erhöhte Messunsicherheit vor.
	10 - 100	50 - 500	keine
	> 100	> 500	Es wurde eine zu hohe Anzahl an Legionellenkolonien auf der Platte nachgewiesen. Daher ist nur die Angabe einer Mindestkonzentration pro 100 ml möglich.
10 ml (informativ, gehört nicht zu den primär vorgegebenen Ansätzen)	0	< 10	Es wurden keine Legionellenkolonien in 10 ml nachgewiesen. Daher liegt bei dem berechneten Endergebnis eine stark erhöhte Messunsicherheit vor. Die Legionellenkonzentration liegt mit hoher Wahrscheinlichkeit unter 100 KBE/ 100 ml.
	1 - 3	10 - 30	Es wurden nur vereinzelte Legionellenkolonien in 10 ml nachgewiesen. Daher liegt bei dem berechneten Endergebnis eine stark erhöhte Messunsicherheit vor. Die Legionellenkonzentration liegt mit hoher Wahrscheinlichkeit unter 100 KBE/ 100 ml.
	4 - 9	40 - 90	Es wurde nur eine geringe Anzahl von Legionellenkolonien in 10 ml nachgewiesen. Daher liegt bei dem berechneten Endergebnis eine erhöhte Messunsicherheit vor.
	10 - 100	100 - 1.000	keine
	> 100	> 1.000	Es wurde eine zu hohe Anzahl an Legionellenkolonien auf der Platte nachgewiesen. Daher ist nur die Angabe einer Mindestkonzentration pro 100 ml möglich.

Tabelle 3: Ergebnisangabe bei unterschiedlichen Koloniezahlen pro Platte unter Berücksichtigung der Messunsicherheit - Direktansätze

Volumen der Originalprobe im Ansatz	Anzahl typischer Kolonien pro Platte	Endergebnis [KBE/100 ml]	Bemerkung im Prüfbericht
1 ml	0	(< 100) ^a	Es war nur ein Ansatz mit geringem Volumen der Originalprobe auswertbar und in diesem Ansatz wurden keine Legionellenkolonien nachgewiesen. Daher ist die Angabe eines exakten quantitativen Endergebnisses pro 100 ml nicht möglich. Die Legionellenkonzentration liegt im Bereich von < 10 ² KBE/100 ml.
	1 - 3	(100 - 300) ^a	Es war nur ein Ansatz mit geringem Volumen der Originalprobe auswertbar und in diesem Ansatz wurden nur vereinzelte Legionellenkolonien nachgewiesen. Daher ist die Angabe eines exakten quantitativen Endergebnisses pro 100 ml nicht möglich. Die Legionellenkonzentration liegt im Bereich von 10 ² KBE/100 ml.
	4 - 9	400-900	Es wurde nur eine geringe Anzahl von Legionellenkolonien in 1 ml nachgewiesen. Daher liegt bei dem berechneten Endergebnis eine erhöhte Messunsicherheit vor.
	10 - 150	1.000 - 15.000	keine
	> 150	> 15.000	Es wurde eine zu hohe Anzahl an Legionellenkolonien auf der Platte nachgewiesen. Daher ist nur die Angabe einer Mindestkonzentration pro 100 ml möglich.
0,5 ml	0	(< 200) ^a	Es war nur ein Ansatz mit geringem Volumen der Originalprobe auswertbar und in diesem Ansatz wurden keine Legionellenkolonien nachgewiesen. Daher ist die Angabe eines exakten quantitativen Endergebnisses pro 100 ml nicht möglich. Die Legionellenkonzentration liegt im Bereich von < 10 ² KBE/100 ml.
	1 - 3	(200 - 600) ^a	Es war nur ein Ansatz mit geringem Volumen der Originalprobe auswertbar und in diesem Ansatz wurden nur vereinzelte Legionellenkolonien nachgewiesen. Daher ist die Angabe eines exakten quantitativen Endergebnisses pro 100 ml nicht möglich. Die Legionellenkonzentration liegt im Bereich von 10 ² KBE/100 ml bis 10 ³ KBE/100 ml.
	4 - 9	800 - 1.800	Es wurde nur eine geringe Anzahl von Legionellenkolonien in 0,5 ml nachgewiesen. Daher liegt bei dem berechneten Endergebnis eine erhöhte Messunsicherheit vor.
	10 - 150	2.000 - 30.000	keine
	> 150	> 30.000	Es wurde eine zu hohe Anzahl an Legionellenkolonien auf der Platte nachgewiesen. Daher ist nur die Angabe einer Mindestkonzentration pro 100 ml möglich.

Tabelle 3 ff: Ergebnisangabe bei unterschiedlichen Koloniezahlen pro Platte unter Berücksichtigung der Messunsicherheit - Direktansätze

Volumen der Originalprobe im Ansatz	Anzahl typischer Kolonien pro Platte	Endergebnis [KBE/100 ml]	Bemerkung im Prüfbericht
0,1 ml	0	(< 1.000) ^a	Es war nur ein Ansatz mit geringem Volumen der Originalprobe auswertbar und in diesem Ansatz wurden keine Legionellenkolonien nachgewiesen. Daher ist die Angabe eines exakten quantitativen Endergebnisses pro 100 ml nicht möglich. Die Legionellenkonzentration liegt im Bereich von < 10 ³ KBE/100 ml.
	1 - 3	(1.000 - 3.000) ^a	Es war nur ein Ansatz mit geringem Volumen der Originalprobe auswertbar und in diesem Ansatz wurden nur vereinzelte Legionellenkolonien nachgewiesen. Daher ist die Angabe eines exakten quantitativen Endergebnisses pro 100 ml nicht möglich. Die Legionellenkonzentration liegt im Bereich von 10 ³ KBE/100 ml.
	4 - 9	4.000 - 9.000	Es wurde nur eine geringe Anzahl von Legionellenkolonien in 0,1 ml nachgewiesen. Daher liegt bei dem berechneten Endergebnis eine erhöhte Messunsicherheit vor.
	10 - 150	10.000 - 150.000	keine
	> 150	> 150.000	Es wurde eine zu hohe Anzahl an Legionellenkolonien auf der Platte nachgewiesen. Daher ist nur die Angabe einer Mindestkonzentration pro 100 ml möglich.
0,05 ml	0	(< 2.000) ^a	Es war nur ein Ansatz mit geringem Volumen der Originalprobe auswertbar und in diesem Ansatz wurden keine Legionellenkolonien nachgewiesen. Daher ist die Angabe eines exakten quantitativen Endergebnisses pro 100 ml nicht möglich. Die Legionellenkonzentration liegt im Bereich von < 10 ³ KBE/100 ml.
	1 - 3	(2.000 - 6.000) ^a	Die Legionellenkonzentration liegt im Bereich von 10 ³ KBE/100 ml bis 10 ⁴ KBE/100 ml Es war nur ein Ansatz mit geringem Volumen der Originalprobe auswertbar und in diesem Ansatz wurden nur vereinzelte Legionellenkolonien nachgewiesen. Daher ist die Angabe eines exakten quantitativen Endergebnisses pro 100 ml nicht möglich.
	4 - 9	8.000 - 18.000	Es wurde nur eine geringe Anzahl von Legionellenkolonien in 0,05 ml nachgewiesen. Daher liegt bei dem berechneten Endergebnis eine erhöhte Messunsicherheit vor.
	10 - 150	20.000 - 300.000	keine
	> 150	> 300.000	Es wurde eine zu hohe Anzahl an Legionellenkolonien auf der Platte nachgewiesen. Daher ist nur die Angabe einer Mindestkonzentration pro 100 ml möglich.

^a Die berechneten Konzentrationen können wegen der hohen bzw. sehr hohen Messunsicherheit nur zur Orientierung dienen und sollten nicht angegeben werden.

Legende:

	Geringe Messunsicherheit		Stark erhöhte Messunsicherheit		Hohe Messunsicherheit, keine quantitative Ergebnisangabe möglich.
	Erhöhte Messunsicherheit				Sehr hohe Messunsicherheit, keine quantitative Ergebnisangabe möglich.

Beispiele für die Auswertung der Ansätze und die Ergebnisangabe

Fett markiert sind die Ansätze, der für die Bestätigung nach E.4 ausgewählt wird (alternativ kann bei der Ergebnisangabe der verwendete Ansatz angegeben werden).

Beispiel 1:

Ansatz	Kolonien pro Platte
Membranfiltration 20 ml Hitze	25
Membranfiltration 20 ml Säure	16
Originalprobe 1 x 0,1 ml	keine Legionellenkolonien
Originalprobe 1 x 0,5 ml Hitze	keine Legionellenkolonien
Originalprobe 2 x 0,1 ml Hitze	keine Legionellenkolonien
Originalprobe 2 x 0,5 ml Säure (entspricht insgesamt 0,1 ml Originalprobe)	keine Legionellenkolonien

Ergebnis: $x = 25 \text{ KBE}/20 \text{ ml}$

Ergebnis berechnet: $x = 125 \text{ KBE}/100 \text{ ml}$

Endergebnis gerundet: $x = 130 \text{ KBE}/100 \text{ ml}$

Beispiel 2:

Ansatz	Kolonien pro Platte
Membranfiltration 20 ml Hitze	78
Membranfiltration 20 ml Säure	66
Originalprobe 1 x 0,1 ml	nicht auswertbar – überwachsen
Originalprobe 2 x 0,5 ml Hitze	20 + 15 = 35
Originalprobe 1 x 0,1 ml Hitze	7
Originalprobe 2 x 0,5 ml Säure (entspricht insgesamt 0,1 ml Originalprobe)	3

Ergebnis: $x = \frac{35+7}{1,1} = 38,18 \text{ KBE}/\text{ml}$ (gewichtetes Mittel)

Ergebnis berechnet: $x = 3.818 \text{ KBE}/100 \text{ ml}$

Endergebnis gerundet: $x = 3.800 \text{ KBE}/100 \text{ ml} = 3,8 \times 10^3 \text{ KBE}/100 \text{ ml}$

Beispiel 3:

Ansatz	Kolonien pro Platte
Membranfiltration 20 ml Hitze	nicht auswertbar – überwachsen
Membranfiltration 20 ml Säure	4
Originalprobe 1 x 0,1 ml	keine Legionellenkolonien
Originalprobe 2 x 0,5 ml Hitze	keine Legionellenkolonien
Originalprobe 1 x 0,1 ml Hitze	keine Legionellenkolonien
Originalprobe 2 x 0,5 ml Säure (entspricht insgesamt 0,1 ml Originalprobe)	keine Legionellenkolonien

Ergebnis: $x = 4 \text{ KBE}/20 \text{ ml}$

Endergebnis: $x = 20 \text{ KBE}/100 \text{ ml}$

Anmerkung:

Es wurde nur eine geringe Anzahl von Legionellenkolonien in 20 ml nachgewiesen. Daher liegt bei dem berechneten Endergebnis eine erhöhte Messunsicherheit vor.

Beispiel 4:

Ansatz	Kolonien pro Platte
Membranfiltration 20 ml Hitze	keine Legionellenkolonien
Membranfiltration 20 ml Säure	3
Originalprobe 1 x 0,1 ml	keine Legionellenkolonien
Originalprobe 2 x 0,5 ml Hitze	keine Legionellenkolonien
Originalprobe 1 x 0,1 ml Hitze	keine Legionellenkolonien
Originalprobe 2 x 0,5 ml Säure (entspricht insgesamt 0,1 ml Originalprobe)	keine Legionellenkolonien

Ergebnis: $x = 3 \text{ KBE}/20 \text{ ml}$

Endergebnis: $x = 15 \text{ KBE}/100 \text{ ml}$

Anmerkung:

Es wurden nur vereinzelte Legionellenkolonien in 20 ml nachgewiesen. Daher liegt bei dem berechneten Endergebnis eine stark erhöhte Messunsicherheit vor. Die Legionellenkonzentration liegt mit hoher Wahrscheinlichkeit unter 100 KBE/ 100 ml.

Beispiel 5:

Ansatz	Kolonien pro Platte
Membranfiltration 20 ml Hitze	> 100
Membranfiltration 20 ml Säure	> 100
Originalprobe 1 x 0,1 ml	nicht auswertbar – überwachsen
Originalprobe 2 x 0,5 ml Hitze	jeweils > 150
Originalprobe 1 x 0,1 ml Hitze	> 150
Originalprobe 2 x 0,5 ml Säure (entspricht insgesamt 0,1 ml Originalprobe)	jeweils > 150

Ergebnis: $x = > 150 \text{ KBE} / 0,5 \text{ ml säurebehandelte Probe}$, entspricht $> 150 \text{ KBE} / 0,05 \text{ ml Originalprobe}$, entspricht $> 300 \text{ KBE} / 0,1 \text{ ml Originalprobe}$

Endergebnis: $x = > 300.000 \text{ KBE} / 100 \text{ ml}$

Anmerkung:

Es wurde eine zu hohe Anzahl an Legionellenkolonien auf der Platte nachgewiesen. Daher ist nur die Angabe einer Mindestkonzentration pro 100 ml möglich.

Beispiel 6:

Ansatz	Kolonien pro Platte
Membranfiltration 20 ml Hitze	keine Legionellenkolonien Begleitflora: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Membranfiltration 20 ml Säure	keine Legionellenkolonien
Originalprobe 1 x 0,1 ml	keine Legionellenkolonien
Originalprobe 2 x 0,5 ml Hitze	keine Legionellenkolonien
Originalprobe 1 x 0,1 ml Hitze	keine Legionellenkolonien
Originalprobe 2 x 0,5 ml Säure (entspricht insgesamt 0,1 ml Originalprobe)	keine Legionellenkolonien

Ergebnis: $x = < 1 \text{ KBE} / 20 \text{ ml}$

Endergebnis: $x = < 5 \text{ KBE} / 100 \text{ ml}$

Anmerkung:

Es wurden keine Legionellenkolonien in 20 ml nachgewiesen. Daher liegt bei dem berechneten Endergebnis eine stark erhöhte Messunsicherheit vor. Die Legionellenkonzentration liegt mit hoher Wahrscheinlichkeit unter $100 \text{ KBE} / 100 \text{ ml}$

Beispiel 7:

Ansatz	Kolonien pro Platte
Membranfiltration 20 ml Hitze	nicht auswertbar – überwachsen
Membranfiltration 20 ml Säure	nicht auswertbar – überwachsen
Originalprobe 1 x 0,1 ml	nicht auswertbar – überwachsen
Originalprobe 2 x 0,5 ml Hitze	nicht auswertbar – überwachsen
Originalprobe 1 x 0,1 ml Hitze	2
Originalprobe 2 x 0,5 ml Säure (entspricht insgesamt 0,1 ml Originalprobe)	keine Legionellenkolonien

Ergebnis: $x = 2 \text{ KBE}/0,1 \text{ ml}$

Endergebnis: Die Legionellenkonzentration liegt im Bereich von $10^3 \text{ KBE}/100 \text{ ml}$.

Anmerkung:

Es war nur ein Ansatz mit geringem Volumen der Originalprobe auswertbar ist und in diesem Ansatz wurden nur vereinzelt Legionellenkolonien nachgewiesen.

Daher ist die Angabe eines exakten quantitativen Endergebnisses pro 100 ml nicht möglich.

Beispiel 8:

Ansatz	Kolonien pro Platte
Membranfiltration 20 ml Hitze	nicht auswertbar – überwachsen
Membranfiltration 20 ml Säure	nicht auswertbar – überwachsen
Originalprobe 1 x 0,1 ml	nicht auswertbar – überwachsen
Originalprobe 2 x 0,5 ml Hitze	nicht auswertbar – überwachsen
Originalprobe 1 x 0,1 ml Hitze	keine Legionellenkolonien
Originalprobe 2 x 0,5 ml Säure (entspricht insgesamt 0,1 ml Originalprobe)	nicht auswertbar – überwachsen

Ergebnis: $x = < 1 \text{ KBE}/0,1 \text{ ml Originalprobe}$

Endergebnis: Die Legionellenkonzentration liegt im Bereich von $< 10^3 \text{ KBE}/100 \text{ ml}$.

Anmerkung:

Es war nur ein Ansatz mit geringem Volumen der Originalprobe auswertbar ist und in diesem Ansatz wurden keine Legionellenkolonien nachgewiesen.

Daher ist die Angabe eines exakten quantitativen Endergebnisses pro 100 ml nicht möglich.

Beispiel 9:

Ansatz	Kolonien pro Platte
Membranfiltration 20 ml Hitze	nicht auswertbar – überwachsen
Membranfiltration 20 ml Säure	nicht auswertbar – überwachsen
Originalprobe 1 x 0,1 ml	keine Legionellenkolonien
Originalprobe 2 x 0,5 ml Hitze	keine Legionellenkolonien
Originalprobe 1 x 0,1 ml Hitze	keine Legionellenkolonien
Originalprobe 2 x 0,5 ml Säure (entspricht insgesamt 0,1 ml Originalprobe)	keine Legionellenkolonien

Ergebnis: $x = < 1 \text{ KBE}/1,1 \text{ ml Originalprobe}$

Endergebnis: Die Legionellenkonzentration liegt im Bereich von $< 10^2 \text{ KBE}/100 \text{ ml}$.

Anmerkung:

Es war nur ein Ansatz mit geringem Volumen der Originalprobe auswertbar ist und in diesem Ansatz wurden keine Legionellenkolonien nachgewiesen.

Daher ist die Angabe eines exakten quantitativen Endergebnisses pro 100 ml nicht möglich.

Beispiel 10:

Ansatz	Kolonien pro Platte
Membranfiltration 20 ml Hitze	nicht auswertbar – überwachsen
Membranfiltration 20 ml Säure	nicht auswertbar – überwachsen
Originalprobe 1 x 0,5 ml	nicht auswertbar – überwachsen
Originalprobe 1 x 0,1 ml	keine Legionellenkolonien
Originalprobe 2 x 0,5 ml Hitze	16 + 22 = 38, jeweils hohe Begleitflora, > 200 Kolonien
Originalprobe 1 x 0,1 ml Hitze	keine Legionellenkolonien
Originalprobe 2 x 0,5 ml Säure (entspricht insgesamt 0,1 ml Originalprobe)	keine Legionellenkolonien

Ergebnis: $x = 38 \text{ KBE}/1,0 \text{ ml Originalprobe}$

Endergebnis: $x = 3.800 \text{ KBE}/100 \text{ ml} = 3,8 \times 10^3 \text{ KBE}/100 \text{ ml}$

Anmerkung:

Bei dem Ergebnis liegt wegen hoher Begleitflora eine erhöhte Messunsicherheit mit dem Risiko von Minderbefunden vor.

Beispiel 11:

Ansatz	Kolonien pro Platte
Membranfiltration 20 ml Hitze	nicht auswertbar – überwachsen
Membranfiltration 20 ml Säure	nicht auswertbar – überwachsen
Originalprobe 1 x 0,5 ml	nicht auswertbar – überwachsen
Originalprobe 1 x 0,1 ml	nicht auswertbar – überwachsen
Originalprobe 2 x 0,5 ml Hitze	nicht auswertbar – überwachsen
Originalprobe 1 x 0,1 ml Hitze	nicht auswertbar – überwachsen
Originalprobe 2 x 0,5 ml Säure (entspricht insgesamt 0,1 ml Originalprobe)	nicht auswertbar – überwachsen

Endergebnis: nicht auswertbar

Anmerkung:

Wegen hoher Begleitflora waren alle Ansätze nicht auswertbar. Daher kann keine Aussage zum Vorkommen von Legionellen getroffen werden.

Beispiel 12:

Ansatz	Kolonien pro Platte
Membranfiltration 20 ml Hitze	nicht auswertbar – überwachsen
Membranfiltration 20 ml Säure	nicht auswertbar – überwachsen
Originalprobe 1 x 0,1 ml	nicht auswertbar – überwachsen
Originalprobe 2 x 0,5 ml Hitze	3 + 7 = 10
Originalprobe 1 x 0,1 ml Hitze	1
Originalprobe 2 x 0,5 ml Säure (entspricht insgesamt 0,1 ml Originalprobe)	2

Ergebnis: $x = \frac{10+1}{1,1} = 10$ KBE/ml (gewichtetes Mittel)

Endergebnis: $x = 1.000$ KBE/100 ml

Anmerkung zur Auswahl der Ansätze für die Ergebnisberechnung (nicht für den Prüfbericht):

Die Berechnung des Ergebnisses über den Ansatz mit Säurebehandlung würde eine höhere Konzentration von 2.000 KBE/100 ml ergeben. Da die Anzahl der Kolonien in diesem Ansatz < 4 liegt, ist dieses Ergebnis aber statistisch unsicherer.