

## Originalarbeit

## Korrespondierender Autor:

Dr. Florian H.H. Brill  
Dr. Brill und Partner GmbH  
Institut für Hygiene und  
Mikrobiologie  
Stiegstück 34  
22339 Hamburg

E-Mail: florian.b@  
brillhygiene.com

## Interessenkonflikt:

Die Autoren erklären, dass kein Interessenkonflikt im Sinne der Richtlinien des International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) besteht.

## Zitierweise:

Kummerfeld M, Gabriel H, Pahl S, Steinmann E, Todt D, Janine Kunzmann J, Kunzmann M, Steinmann J, Brill FHH. Nachweis von Legionellen in Routineuntersuchungen zwischen 2012 und 2016 nach den Novellierungen der Trinkwasserverordnung. HygMed 2020; 45(11): D134–D137

## Manuskriptdaten:

Eingereicht: 27.01.2020  
Überarbeitetes Manuskript  
angenommen: 01.09.2020

# Nachweis von Legionellen in Routineuntersuchungen zwischen 2012 und 2016 nach den Novellierungen der Trinkwasserverordnung

Maren Kummerfeld<sup>1</sup>, Henrik Gabriel<sup>1</sup>, Steffen Pahl<sup>1</sup>, Eike Steinmann<sup>2</sup>, Daniel Todt<sup>2</sup>, Janine Kunzmann<sup>3</sup>, Mathias Kunzmann<sup>3</sup>, Jörg Steinmann<sup>3,4</sup>, Florian H. H. Brill<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dr. Brill + Partner GmbH Institut für Hygiene und Mikrobiologie, Stiegstück 34, 22339 Hamburg

<sup>2</sup> Abteilung für Molekulare und Medizinische Virologie, Ruhr-Universität Bochum, Universitätsstr. 150, 44801 Bochum

<sup>3</sup> Institut für Klinikhygiene, Medizinische Mikrobiologie und Klinische Infektiologie, Universitätsinstitut der Paracelsus Medizinischen Privatuniversität, Klinikum Nürnberg, Prof.-Ernst-Nathan-Str. 1, 90419 Nürnberg

<sup>4</sup> Institut für Medizinische Mikrobiologie, Universitätsklinik Essen, Hufelandstr. 55, 45122 Essen

## ■ Zusammenfassung

**Hintergrund:** Legionellen sind eine weltweit verbreitete im Wasser lebende Bakteriengattung. Seitdem die gezielte Suche nach Legionellen 2011 in der Trinkwasserverordnung (TrinkwV) aufgenommen wurden, gab es bisher mehrere Änderungsverordnungen. Seit der Änderungsverordnung 2018 sind erstmals Trinkwasserlabore verpflichtet, eine Überschreitung des technischen Maßnahmenwertes für Legionellen (> 100 KBE/100 ml) an das örtliche Gesundheitsamt zu melden.

In dieser Arbeit wurden Untersuchungsergebnisse nach TrinkwV auf Legionellen einer norddeutschen Trinkwasseruntersuchungsstelle von 2012 und 2016 retrospektiv ausgewertet. Ziel der Studie war es, zu untersuchen, inwiefern die Novellierung der Trinkwasserverordnung dazu beigetragen hat, die Anzahl an Überschreitungen des Technischen Maßnahmenwertes (TMW) zu verringern.

**Methodik:** Die Trinkwasserprobenentnahmen erfolgten nach den allgemein anerkannten Regeln der Technik. Die Bestimmung der Legionellen erfolgte nach DIN EN ISO 11731-2:2008. Der Direktansatz (1 ml) und 100 ml Filtrat der entnommenen Probe wurden auf GVPC-Agar bei 36 °C für 10 Tage bebrütet und ausgewertet.

**Ergebnisse:** Im Untersuchungszeitraum von 2012 bis 2016 wurden 10.087

Einzelproben aus mehr als 500 Gebäuden untersucht. Davon überschritten 6–8% den TMW in 14–16% der Gebäude. Es konnten keine relevanten Unterschiede in der Anzahl positiver Legionellennachweise in Relation zur Jahreszeit festgestellt werden.

**Schlussfolgerung:** In Jahresübergreifenden Routine-Untersuchungen zum Nachweis von Legionellen wurden trotz der Novellierungen der Trinkwasserverordnung keine Reduzierungen von positiven Befunden über die Jahre erreicht. Ursächliche Faktoren (mangelnde Sanierung oder Betriebsweise etc.) für den gleichbleibenden Anteil positiver Proben über die Zeit wurden in dieser Studie nicht untersucht.

## Schlüsselwörter

- Legionellen
- Trinkwasserverordnung
- Novellierungen
- Infektionsrisiko

## ■ Summary

**Determination of legionella in routine examinations between 2012 and 2016 after amendments of the drinking water ordinance**

**Background:** *Legionella* are a globally distributed aquatic bacterial genus. Since *Legionella* was first included in

the Drinking Water Ordinance in 2011, there have been several amendments to date. In this study, test results according to Drinking Water Ordinance (TrinkwV) on *Legionella* of a North German drinking water test center from 2012 and 2016 were evaluated and presented anonymously. The aim of the study was to investigate to what extent the amendment to the Drinking Water Ordinance has contributed to reducing the risk of contamination by *Legionella*.

**Methods:** The determination of the number of *Legionella* took place according to ISO 11731-2:2008. Direct batch (1 ml) and a filtrate of the sample (100 ml) taken were incubated on GVPC agar at 36 °C and evaluated.

**Results:** In the study period over the years 2012 to 2016, in 6–8% of the samples *Legionella* with more than 100 CFU/100 ml could be determined. This corresponded to 14–16% of the affected buildings. Over the years there was no reduction of the positive samples. Furthermore, no relevant differences in the number of positive *Legionella* records in relation to the yearly season could be found.

**Conclusion:** In annual multi-year investigations for the detection of *Legionella* according to the amendments of the Drinking Water Ordinance no reductions of positive findings could be shown. Causal factors (lacking renovation or operating mode) for the constant proportion of positive samples over time were not analyzed in this study.

**Keywords:** *Legionella* · drinking water regulations · amendments · risk of contamination

## ■ Einleitung

Legionellen sind eine weltweit vornehmlich im Wasser vorkommende Bakteriengattung. Ihre Vermehrung wird durch Wassertemperaturen von 25 °C bis 45 °C und Bereiche mit langer Stagnation oder geringer, unregelmäßiger Wasserentnahme aus Wasserleitungssystemen begünstigt. Die Bakterien wurden zum ersten Mal 1976 bei einem Ausbruch in den USA nachgewiesen, bei dem der 200. Jahrestag der Unabhängigkeitserklärung von Mitgliedern der „American Legion“ gefeiert wurde [1]. Eine Infektion mit Legionellen kann sowohl zu erkältungs- oder grippeähnlichen Symptomen führen (Pontiac-Fieber), als auch schwere Lun-

genentzündungen auslösen (die sogenannte Legionärskrankheit) [2]. Als Hauptinfektionsweg gilt das Einatmen von legionellenhaltigen Aerosolen. Bis zu einer Temperatur von etwa 20 °C vermehren sich Legionellen nur sehr langsam und das Erkrankungsrisiko ist bei der zu erwartenden geringen Konzentration als gering einzuschätzen. *In-vitro*-Untersuchungen konnten zeigen, dass mutierte Legionellen-Stämme unter besonderen Bedingungen sogar unter 20 °C eine Vermehrung zeigten [3]. Bei Temperaturen über 50 °C vermehren sich Legionellen auch nur noch wenig und ab einer Temperatur von 55 °C reduziert sich ihre Zahl. Eine sichere Abtötung ist bei mindestens 70 °C mit einer Einwirkdauer von mindestens drei Minuten zu erwarten. Wenn Legionellen von Amöben aufgenommen werden oder in Zysten vorkommen, ist die Umweltstabilität der Bakterien erhöht. In Deutschland erkranken jährlich bis zu 30.000 Personen daran, wobei 2.000 bis 3.000 Fälle tödlich enden [4]. Die Erkrankungszahlen in Europa zeigen jährlich einen saisonalen Rhythmus mit einem Maximum in den Sommer- und Herbstmonaten auf [5]. Besonders gefährdet sind immunsupprimierte und ältere Menschen. Hauptsächlich Erwachsene sind betroffen, Kinder erkranken seltener.

Aufgrund dieser Zahlen hat der Gesetzgeber reagiert, mit dem Ziel die Infektionsraten zu reduzieren. Die 2001 veröffentlichte TrinkwV wurde mehrfach geändert (Änderungsverordnungen 2011, 2012, 2015, 2018 und 2019) [6]. Eine Untersuchungspflicht auf Legionellen gilt für Trinkwasser-Installationen, die Wasser für gewerbliche oder öffentliche Zwecke zur Verfügung stellen, eine Großanlage zur Erwärmung des Trinkwassers nutzen und Vernebelungsanlagen (z.B. Duschen) beinhalten. Als Großanlage werden entweder Speicher- oder Durchfluss-/Trinkwassererwärmer von mehr als 400 Liter Speichervolumen gezählt oder Anlagen mit mehr als drei Litern Inhalt in einer Rohrleitung zwischen dem Trinkwassererwärmer und der Entnahmestelle. Dabei zählen Ein- und Zweifamilienhäuser nicht als Großanlage. Für den Unternehmer oder sonstigen Inhaber der Wasserversorgungsanlage wurde 2011 ein technischer Maßnahmenwert (TMW) für den Parameter Legionellen (100 KBE/100 ml) eingeführt, die-

ser Wert gibt einen technischen Hinweis darauf, dass die Trinkwasseranlage in ihrer Struktur eine Verkeimung bzw. Legionellenwachstum begünstigt. Seit der Neuordnung, die seit Januar 2018 in Kraft ist, ist die Meldepflicht bei einer Überschreitung des TMW dabei vom Untersuchungspflichtigen auf die Trinkwasseruntersuchungsstelle übergegangen. Der Betreiber hat die Pflicht, unverzüglich vorbeugende Maßnahmen einzuleiten, um die Gefährdung durch Legionellen zu verringern und die Gesundheit der Bevölkerung zu schützen. Die Untersuchungsintervalle für gewerbliche Trinkwassernutzung wurden im Rahmen der Novelle 2012 von einem auf drei Jahre verlängert.

Ziel dieser Studie war es, herauszufinden, ob die gezielte Suche nach Legionellen durch die TrinkwV Auswirkungen auf das Legionellenwachstum in der Trinkwasserinstallation hat. Wenn dies so wäre, müsste sich die Prozentzahl positiver Befunde, speziell der extrem hohen Kontaminationen, über die Zeit reduzieren. Aus diesem Grund wurde der erste Untersuchungszeitraum nach den Novellen 2011/12 zwischen 2012 und 2014 mit dem zweiten Untersuchungszeitraum 2015 bis 2016 verglichen.

## ■ Methoden

Es wurden in den Jahren 2012/2013, 2013/2014 sowie 2015/2016 Untersuchungen zum Nachweis von Legionellen nach §15 TrinkwV von einer zugelassenen Trinkwasseruntersuchungsstelle mit Sitz in Hamburg anonym durchgeführt. Die Wasserprobenentnahme erfolgte durch acht akkreditierte Probennehmer. Die Anzahl und Beschreibung der Probe-Entnahmestellen erfolgte nach den allgemeinen anerkannten Regeln der Technik. Die Bestimmung von Legionellen in Warmwasser erfolgte nach ISO 11731-2:2008 [7]. Ein 1 ml Direktansatz und 100 ml Filtrat der entnommenen Warmwasserproben wurden auf GVPC-Agar bei 36 °C bebrütet und nach einem, fünf und zehn Tagen ausgewertet. Von den gewachsenen Kolonietypen wurden anschließend fünf Ausstriche auf BCYE-Agar sowie auf Blutagar überimpft und mindestens zwei Tage bei 36 °C bebrütet. Nur Kolonien, die auf dem BCYE-Agar gewachsen sind, wurden als Legionellen gezählt und zwischen *Legionella species* sowie *Legionella pneumophila dif-*

ferenziert und gezählt. Die Auswertung der Stichproben ergab 2.357 Einzelproben in 427 Gebäuden in den Jahren 2012/2013. In den folgenden Jahren 2013/2014 waren es 2.358 Einzelproben in der gleichen Anzahl der Gebäude und 5.372 Einzelproben in 581 Gebäuden in 2015/2016.

### ■ Ergebnisse der Untersuchungen

In dem Untersuchungsabschnitt 2012/2013 wurden 2.357 Wasseruntersuchungen auf Legionellen durchgeführt, wovon 6,2% den TMW von 100 KBE/100 ml überstiegen (Tabelle 1). Dies entsprach 16,2% der untersuchten Gebäude. Im darauffolgenden Untersuchungszeitraum (2013/2014) wurden 6,2% der Proben in 67 Gebäuden (15,7%) positiv gemessen. Ein ähnliches Ergebnis erbrachte die Probennahme mit 5.372 Messungen in den Jahren 2015/16, bei der in 7,8% der Proben mehr als 100 KBE/100 ml Legionellen bestimmt wurden (Tabelle 1). Dies entsprach 86 betroffenen Gebäuden (14,8%). Der Anteil der Gebäude mit mehr als 10.000 KBE/100 ml

Legionellen blieb in den Untersuchungszeiträumen nahezu identisch mit fünf (0,21%) in 2012/2013, sechs (0,25%) in 2013/2014 und 15 (0,28%) in 2015/2016 (Tabelle 1). Parallel wurden die Wassertemperaturen aller Proben an der Entnahmestelle gemessen. Es konnte keine relevante Temperaturveränderung von den Mittelwerten der Gesamtprobenmessung in dem Untersuchungszeitraum festgestellt werden (Tabelle 2). Im jahreszeitlichen Verlauf der Probenmessung zwischen Februar 2015 und Dezember 2016 wurden zudem keine relevanten Unterschiede im Nachweis von Legionellen-belastetem Wasser aufgezeigt werden (Abbildung 1).

### ■ Diskussion

Die jahresübergreifenden anonymen Routine-Untersuchungen zum Nachweis von Legionellen zwischen 2012 und 2016 nach den Novellierungen der Trinkwasserverordnung konnten keine Reduzierung von positiven Befunden aufzeigen. Der prozentuale Anteil von

betroffenen Gebäuden blieb ebenfalls gleich. Weiterhin wurde über das Jahr 2015/2016 kein signifikanter Unterschied in den Sommermonaten im Vergleich zum Frühjahr oder Winter festgestellt.

Die Gründe für die unveränderte Situation sind vielfältig: Einerseits ist davon auszugehen, dass dies an der wissenschaftlich schwer zu begründenden Einschränkung des Untersuchungsgebietes liegt. Eine Einschränkung auf besonders große Trinkwassererwärmer, nur gewerblich genutzte Wohngebäude ab drei Einheiten sowie eine Frequenz von drei Jahren führt eher zu Zufallsbefunden und wenn überhaupt zu einer langsamen Verbesserung der mikrobiologischen Situation in der Trinkwasserinstallation. Im Gegenteil müssten insbesondere kleine Einheiten, die nicht regelmäßig genutzt werden, wie z.B. ein Doppelhaus oder ein Einfamilienhaus besonders gefährdet sein, da es hier z.B. im Urlaub der Bewohner oder bei Leerständen bei Bewohnerwech-

**Tabelle 1: Gesamtuntersuchungsergebnisse zum Legionellennachweis in den Jahren 2012/2013, 2013/2014 und 2015/2016**

	2012/2013		2013/2014		2015/2016	
	Absolut	[%]	Absolut	[%]	Absolut	[%]
Gesamtzahl Proben	2.357	100,00	2.358	100,00	5.372	100,00
< 100 KBE/100 ml	2.212	93,85	2.212	93,81	4.952	92,18
100 ≤ x < 1.000 KBE/100 ml	103	4,37	108	4,58	310	5,77
1.000 ≤ x < 10.000 KBE/100 ml	37	1,57	32	1,36	95	1,77
≥ 10.000 KBE/100 ml	5	0,21	6	0,25	15	0,28
Gesamtzahl untersuchter Gebäude	427	100,00	427	100,00	581	100,00
Anzahl positiv beprobter Gebäude	69	16,16	67	15,69	86	14,80

**Tabelle 2: Gesamtuntersuchungsergebnisse zum Legionellennachweis in den Jahren 2012/2013, 2013/2014 und 2015/2016**

	2012/2013			2013/2014			2015/2016		
	MW*	SD**	Median	MW*	SD**	Median	MW*	SD**	Median
Temp. aller Proben [°C]	56,67	10,37	56	56,64	10,37	56	56,89	5,04	57
Temp. Proben ≥ 100 KBE/100 ml [°C]	53,22	4,67	54	52,99	5,86	54	54,35	4,84	55

\* Mittelwert \*\* Standardabweichung

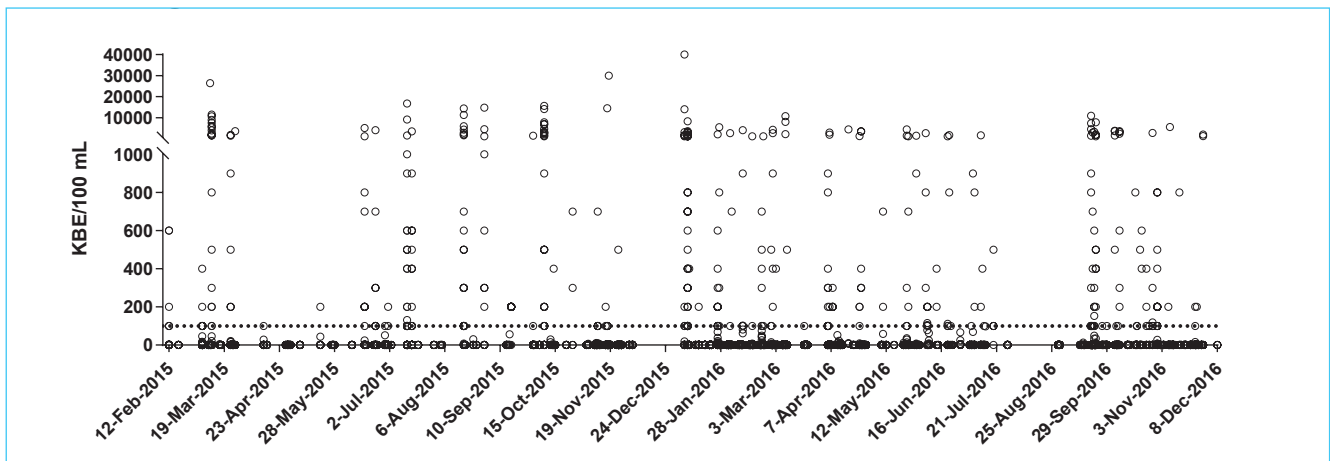


Abbildung 1: Dargestellt ist die Legionellenbelastung in KBE / 100 ml in dem Zeitraum Februar 2015 bis Dezember 2016.

sel zu stagnierendem Wasser kommt, welches ein besonders hohes Risiko für eine hohe mikrobielle Kontamination aufweist [8]. In einer deutschen Studie konnte keine Assoziation zwischen der Anzahl der Wohneinheiten und der Höhe der Legionellenkonzentration festgestellt werden [9].

Für den Zeitraum 2012/2013 erwies sich eine niedrigere Warmwassertemperatur als Risikofaktor für eine höhere Legionellenkonzentration. Die Proben mit mehr als 100 KBE/100 ml wiesen im Mittel mit 53,22 °C eine deutlich geringere Temperatur auf als die Gesamtzahl der Proben (56,67 °C) in dem Beobachtungszeitraum. In einer Studie aus der Kölner Metropolregion wiesen 148 von 712 Gebäuden (20,7%) erhöhte Legionellenkonzentrationen auf [10]. Sowohl der Grad der Kontaminationen, als auch der Anteil an positiven Proben korrelierte signifikant mit der Wassertemperatur. Übereinstimmend mit unseren Ergebnissen fanden die Kölner Kollegen auch keinen Zusammenhang zur Jahreszeit der Probennahme und der Legionellen-Belastung [10]. Es wurde gezeigt, dass die überwiegende Anzahl der Legionellenerkrankungen in Deutschland zwischen Juli und Oktober auftreten [11].

Des Weiteren sind unsere Daten mit den Ergebnissen einer großen retrospektiven Analyse von deutschen Routine-Datensätzen aus dem Arbeitskreis „Trinkwasseranalytik“ vergleichbar [12]. Von rund 1.020.000 untersuchten Trinkwasserproben (2012–2015)

aus Warmwasser überschritten 6,5% den TMV, was 16,5% der Gebäude entsprach. Auch der Anteil der Häuser mit sehr hohen Legionellenkonzentrationen (> 10.000 KBE/ml) war mit 0,3% unseren Ergebnissen sehr ähnlich. Das Risiko einer Legionellenvermehrung war im Temperaturbereich von unter 55 °C dreimal höher als im Temperaturbereich von über 55 °C [12].

Aufgrund dieser Daten kann die ubiquitäre Anwesenheit von Legionellen in Warmwassersystemen angenommen werden. Hinsichtlich der wasserführenden Systeme erfolgt die Beherrschung des Risikos (primäre Prävention) durch die Einhaltung und Umsetzung der technischen Maßnahmen. Die sekundäre Prävention sollte auf die nosokomiale Legionellen-Pneumonie ausgerichtet sein.

#### ■ Literatur

1. Fraser DW, Tsai TR, Orenstein W, et al. Legionnaires' disease: description of an epidemic of pneumonia. *N Engl J Med* 1977; 297:1189–1197.
2. Soderberg MA, Rossier O, Cianciotto NP. The type II protein secretion system of *Legionella pneumophila* promotes growth at low temperatures. *J Bacteriol* 2004; 186:3712–3720.
3. Dennis PJ, Green D, Jones BP. A note on the temperature tolerance of *Legionella*. *J Appl Bacteriol* 1984; 56:349–50.
4. Von Baum H, Lück C. Ambulant erworbene Legionellenpneumonie. Aktuelle Daten aus dem CAPNETZ. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung*

Gesundheitsschutz 2011; 54 (6): 688–692.

5. RKI: Legionärskrankheit in Deutschland (2001 bis 2013). *Epid. Bull.* 2015; 13:97
6. <https://www.bundesgesundheitsministerium.de/service/begriffe-von-a-z/t/trinkwasser.html>. Accessed Januar 16, 2020.
7. DIN EN ISO 11731-2:2008-06; Wasserbeschaffenheit—Nachweis und Zahlung von Legionellen—Teil 2: Direktes Membranfiltrationsverfahren mit niedriger Bakterienzahl, 2008, Beuth-Verlag, Berlin.
8. Ciesielski CA, Blaser MJ, Wang WL. Role of stagnation and obstruction of water flow in isolation of *Legionella pneumophila* from hospital plumbing. *Appl Environ Microbiol.* 1984 Nov; 48(5): 984–987.
9. Rabova V, Föll M, Winterer H. Studie zu eingeleiteten Schritten und dem finanziellen Aufwand bei Überschreitung des TMV für Legionellen in der Hausinstallation von Mehrfamilienhäusern. *Epi Bulletin* 2016; 41.
10. Kruse EB, Wehner A, Wisplinghoff H. Prevalence and distribution of *Legionella* spp in potable water systems in Germany, risk factors associated with contamination, and effectiveness of thermal disinfection. *Am J Infect Control.* 2016 Apr 1;44(4):470–474.
11. Meyer E: Legionellen-Infektionsprävention: extrem teuer und wenig effektiv. *Krankenhhyg up2date* 2017;12(02):159–175.
12. Becker-Kaiser R, Pikarek M. Wie viele Legionellen leben in Wohngebäuden mit zentraler Warmwasserbereitung? *energie | wasser-praxis* 05/2016.