

Thermische Desinfektion - werden alle Legionellen erfasst?

Untersuchung der Absterbekinetik intraamöbozytärer Legionellen bei thermischer Behandlung

Prof. Dr. med. Axel Kramer, Direktor
 PD Dr. med. Frank-Albert Pitten
 Dr. Peter Rudolph, Servicezentrum
 Dipl. oec. troph. (FH) Ulrike Weber, Geschäftsführerin

Die Gesundheitsgefährdung durch eine Legionelleninfektion ist nach wie vor ein hochaktuelles Thema, wobei insbesondere bei den Fragen Prävention und Sanierungsmöglichkeiten in wasserführenden Systemen erheblicher Diskussionsbedarf besteht. Zunehmend wird in diesem Zusammenhang auch der Einfluss von Amöben im Trinkwassersystem auf die erhöhte Resistenz der Legionellen angesprochen (z.B. DVGW Arbeitsblatt W 551). In einem vom Land Mecklenburg-Vorpommern geförderten Forschungsprojekt wurde unter Laborbedingungen die Frage nach einer möglicherweise höheren Temperaturresistenz von *Legionella* (*L. pneumophila*) innerhalb von Amöben untersucht. Die Praxisstudie wurde in einer Anlage mit der Zielsetzung durchgeführt, herauszufin-

den, ob diese sowohl planktonische (also freilebende) als auch intraamöbozytäre (in Amöben lebende) *L. pneumophila* abgetötet wird und welche Temperatur dazu nötig sind, da für intraamöbozytäre Legionellen eine erhöhte Toleranz gegenüber chemischen Wirkstoffen bekannt ist. Fragen der Temperaturtoleranz planktonischer und intraamöbozytärer *Legionella* spp. wurden im Vergleich dazu bisher nicht ausreichend untersucht. Damit ist die Frage der erforderlichen Desinfektionstemperatur von Trinkwasser, das mit intraamöbozytären *L. pneumophila* kontaminiert ist, derzeit offen. Im Mittelpunkt stand daher der Nachweis, ob die von der DVGW empfohlenen Temperaturen von mind. 60 bzw. 70° C ausreichen, um sämtliche *L. pneumophila* sicher zu inaktivieren.

Problemstellung

Sprunghaftes und massenhaftes Auftreten von Legionellen im Trinkwasser kann nach Tiefenbrunner (2002) möglicherweise auf das Vorhandensein von Amöben im Trinkwasser-Leitungssystem zurückgeführt werden, welche u. a. auf Rohrwandungen leben und sich von Biofilmen ernähren. Die Untersuchungen von Tiefenbrunner ergaben, dass 73 % der Wasserproben aus 120 europäischen Großhotels amöbenpositiv waren. Carlson (2002) konnte bei 6 systemischen Legionellenkontaminationen in Krankenhäusern den Nachweis erbringen, dass bei Temperaturen von 55° C bis 60° C noch Amöben nachweisbar waren. Das stützt die Hypothese, dass die Anwesenheit von Amöben das Legionellenwachstum und das Überleben in Warmwassersystemen fördert [Carlson, 2002]. Die Amöben nehmen pathogene Mikroorganis-

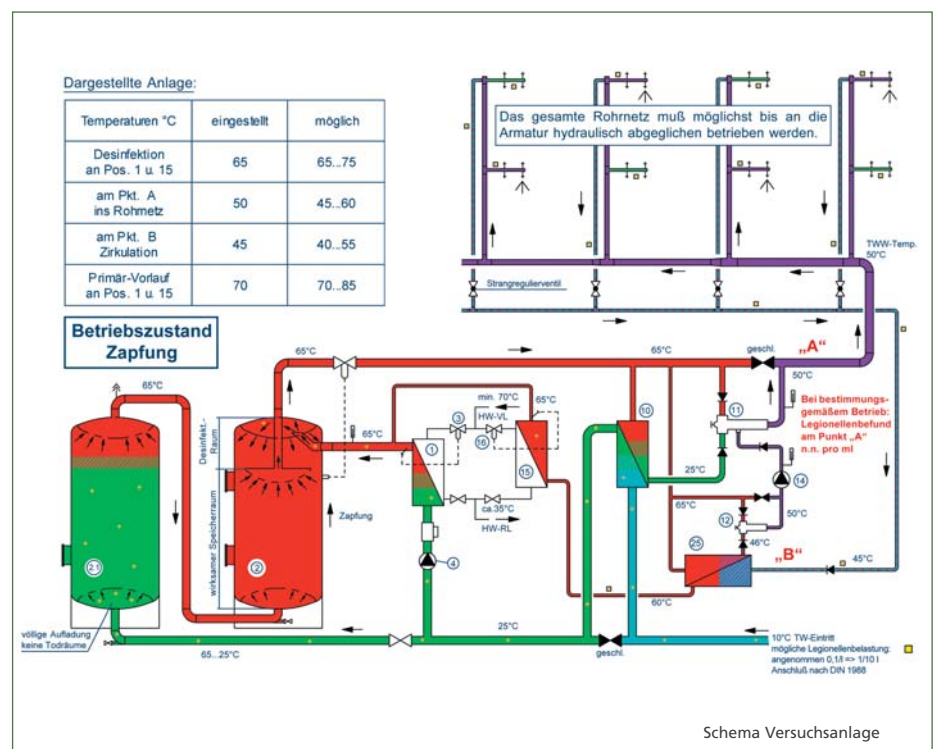


Abb.1 Betriebszustand Zapfung



Der Eine für Alle: Mepla-Mapress-Adapter

Mit dem neuen Mepla-Mapress-Adapter von Geberit können Planer die gesamte Trinkwasserversorgung mit dem Presssystem aus-schreiben und dabei Geberit Mepla beliebig in Geberit Mapress Edelstahl, Mapress C-Stahl und Mapress Kupfer integrieren. Der Installateur kann sämtliche Systemkomponenten aus einer Hand beziehen und seine Arbeit noch rationeller ausführen. Was auch für den Kunden nur Vorteile hat: Das Geberit Presssystem ist universell, schnell installiert, kostengünstig und sicher. Zudem bietet Geberit eine umfassende Gewährleistung für das gesamte Presssystem. Das ist Know-How Installed.

Rufen Sie uns an 07552 934-1011 oder besuchen Sie uns im Internet unter www.geberit.de

 **GEBERIT**

men wie z.B. Legionella spp. auf. Diese wiederum können sich in den Amöben vermehren und bei der Lyse (dem Platzen) der Amöben in großer Anzahl freigesetzt werden. Aus diesen Gründen empfiehlt die WHO für Krankenhäuser, Einrichtungen der Altenpflege und andere Risikobereiche die Erarbeitung eines so genannten *water safety plan* (Wassersicherungsplan), der die kontinuierliche Überwachung des Trinkwassers und die Einleitung von Sofortmaßnahmen bei festgestellter Kontamination beinhaltet. Für Trinkwassererwärmungs- und -Leitungsanlagen gibt das DVGW Arbeitsblatt W 551 (2004) derzeit folgende Temperaturführung an: Thermische Desinfektion > 70° C für

Legionellen können in einem vergleichsweise breiten Temperaturbereich existieren. Ihr Vermehrungsoptimum liegt zwischen 30° C und 50° C - der Temperaturbereich, in dem laut Hentschel und Waider (2004) viele Warmwasserversorgungsanlagen betrieben werden. Ausgehend von natürlichen Gewässern wie Flüssen, Seen und Teichen, gelangen *L. pneumophila* in das oberflächennahe Grund- und auch in das Kaltwasser der Hausinstallationen (meist nur in ganz geringen Mengen). Im (Warm)wassersystem finden sie dann unter Umständen optimale Vermehrungsvoraussetzungen, so dass abhängig von der Legionellenkonzentration ein hohes Infektionsrisiko, insbesondere durch Warmwasserduschen, raumlufttechnische Anlagen mit Umlaufsprühbefuchtung, Sprudelbecken, Dentaleinheiten und Rückkühlwerke gegeben sein kann. Günstig auf das Legionellenwachstum wirken sich ältere und schlecht gewartete oder nur zeitweilig genutzte Warmwasserleitungen und -behältnisse (Stagnationen), eine optimale Vermehrungstemperatur (etwa 36° C), Inkrustationen, Toträume, Biofilme und die Anwesenheit von Amöben aus. Durch Aufwirbelung und Aerosolbildung des Wassers (z.B. Duschen, Sprudelbäder, Beatmungsgeräte...) kann es nach Inhalieren der lungengängigen Legionellen zur lebensbedrohenden Lungeninfektion kommen.

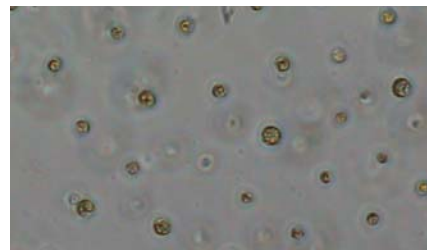


Abb.2 Amöbe mit intrazellulären Legionellen nach "Fütterung"

Acanthamoeba castellanii, Vahlkampfia avara und Hartmannella vermiformis

Bei den drei Test-Amöben handelt es sich um frei lebende Arten, die in Wasser (Leitungswasser, Süßwasser, Schwimmbäder), Kompost, Boden und Abwasser zu finden sind [Walker, 1996]. Sie sind verantwortlich für einige Krankheiten, z.B. Enzephalitis und Keratitis. Die Organismen haben einen Lebenszyklus, der 2 Stadien umfasst: das vegetative Stadium (Trophoziten - fließende amöboide Bewegung und Nahrungsaufnahme) und das Zystenstadium (unbewegliches Dauerstadium mit widerstandsfähiger Hülle). Während des Zystenstadiums weisen die Amöben eine höhere Resistenz gegenüber Chlorung, anderen Desinfektionsmitteln und hohen Temperaturen auf.

Protozoen ernähren sich im Trophozitenstadium von Bakterien (aus den Biofilmen). Legionellen können sich als Parasiten massiv in den Protozoen vermehren, so dass bei der Lyse (Zersetzung) großer Amöben (z.B. *A. castellanii*) bis zu 800 Legionellen freigesetzt werden können. Parasitieren auch nur wenige dieser Legionellen erneut in Amöben, tritt eine Vermehrungskaskade ein, die hohe Legionellenbefunde auch bei ungünstigen Umgebungsbedingungen (z.B. niedrigen Temperaturen)

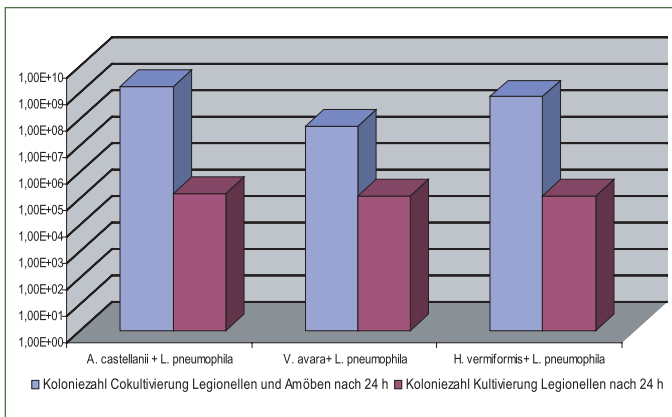


Abb.4 Ausgangskoloniezahl *L. pneumophila* nach alleiniger Kultivierung und nach Kokultivierung mit Amöben

mindestens 3 min am Wasserauslass; Betriebstemperatur im Zirkulationssystem 60° C mit einem maximalen Verlust von 5 K. Von diesen Parametern kann abgewichen werden. Es ergibt sich die Frage, ob diese Temperaturbereiche eine ausreichende Sicherheit gewährleisten. Um diese Frage zu klären, wurden gezielte Untersuchungen in einer Experimentalanlage zur Simulation der Bedingungen im Trinkwassernetz durchgeführt.

Testorganismen Legionella pneumophila

Die Studie wurde mit *L. pneumophila*, dem Hauptvertreter der Legionellen durchgeführt. Die häufigste und nach heutigem Erkenntnisstand pathogenste Art ist *L. pneumophila* Serogruppe 1.

	Koloniezahl Kokultivierung Legionellen und Amöben nach 24 h	Koloniezahl Kultivierung Legionellen nach 24 h
<i>A. castellanii</i> + <i>L. pneumophila</i>	1,65*10 ⁹ KbE/ ml	1,55*10 ⁵ KbE/ ml
<i>V. avara</i> + <i>L. pneumophila</i>	5,35*10 ⁷ KbE/ ml	1,25*10 ⁵ KbE/ ml
<i>H. vermiformis</i> + <i>L. pneumophila</i>	7,05*10 ⁸ KbE/ml	1,25*10 ⁵ KbE/ ml

Abb.3 Ausgangskoloniezahl nach alleiniger Kultivierung und nach Kokultivierung

verursachen kann [Tiefenbrunner, 2002]. Zudem können auch positive Legionellen-Befunde in heißem und/oder gechlortem Wasser mit dem Vorhandensein von Amöben erklärt werden. Diese bilden bei ungünstigen Umweltbedingungen Zysten (= Dauerformen). Diese werden mit dem Trinkwasser transportiert, bei Wasserentnahme teilweise ausgespült und sedimentieren bei Stagnation im jeweiligen Leitungsabschnitt. Wenn die Zystenformen

Methodik - praktische Versuche

Um festzustellen, ob die Temperaturführungen und Systemkreise der Versuchsanlage sowohl frei lebende als auch in Amöben eingeschlossene *L. pneumophila* abtöten können, wurde eine komplett autark betriebene Anlage aufgebaut, die mit den Routinefunktionen und Standardzuständen betrieben wurde. Der Betriebszustand für die Zapfung ist in Abb.1 dargestellt. Die Anlagenfü-

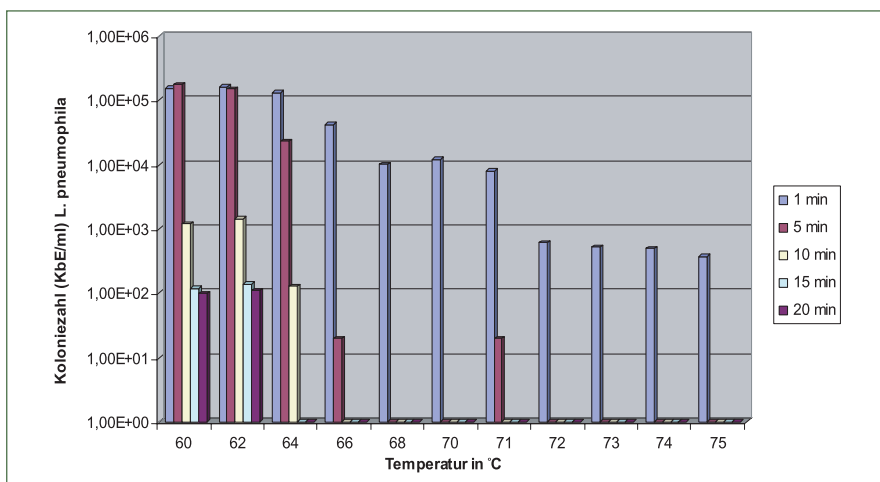


Abb.5 Absterbekinetik intraamöbozytärer *L. pneumophila* (*A. castellanii*)

dort ausreichend Nahrungsgrundlage („Futterbakterien“ aus den Biofilmen) vorfinden und günstige Temperaturen herrschen, erfolgt eine Umwandlung in die aktive Trophozitenform. Im Zystenstadium können die Amöben Temperaturen von 50° C über mehr als 24 h tolerieren, Temperaturen von 60° C bis zu einer Stunde.

Methodik der Laboruntersuchungen

Bei den Laborversuchen wurden die Amöben (*A. castellanii*, *V. avara* und *H. vermiformis*) gezielt mit *L. pneumophila* infiziert und verschiedenen Temperaturen von 60° C bis 75° C bei einer Einwirkzeit von jeweils 1, 5, 10, 15 und 20 min ausgesetzt. Damit sollte eine mögliche Hitzeresistenz im direkten Vergleich zu *L. pneumophila*, die sich nicht geschützt in Amöben befanden, festgestellt werden. In Abb.2 ist eine Amöbe mit intrazellulären Legionellen nach „Fütterung“ zu sehen.

lung erfolgte mit Trinkwasser (Fassungsvermögen 500 l) und wurde im Kreislaufverfahren betrieben, um ein mögliches Rückschlagen kontaminierten Wassers in das Trinkwassersystem bzw. unkontrolliertes Abfließen in die Kanalisation zu unterbinden. Das System wurde in separaten Untersuchungsgängen mit je 50 ml intra- bzw. extrazellulären *L. pneumophila* (Ausgangskoloniezahl ca. 109 KbE/ml) infiziert und anschließend für 1 h im Kreislaufverfahren bei 40° C in der gesamten Anlage verteilt. Durch Entnahme von Wasserproben im Desinfektionsspeicher (Eingang und Rücklauf Netzsystem) und Bestimmung der *L. pneumophila*-Konzentration konnte eine komplette Kontamination des Systems ermittelt werden. Anschließend wurde der Desinfektionsspeicher (Zirkulationspumpe ausgeschaltet) und dann das komplette Netz (Zirkulationspumpe eingeschaltet) mit 65° C beaufschlagt und so im Niedrigtemperaturbereich desinfiziert.

Hier fließt der Umsatz!

Starten Sie jetzt durch in einem stark wachsenden Markt und bieten Sie Ihren Kunden innovative Top-Produkte vom Marktführer im Bereich chemiefreier Wasserbehandlungssysteme.



Feinfiltration und Trinkwasservitalisierung mit dem Carbonblockfilter **permaster® sanus** und dem **permasolvent® aktiv**.

Die ideale Kombination für frisches vitales Trinkwasser in Reinform, die Ihre Kunden begeistern wird!



Wasserbehandlung mit Zukunft

perma-trade Wassertechnik GmbH
Röntgenstr. 2 · 71229 Leonberg
Tel. 0 71 52 / 9 39 19-0 · Fax 9 39 19-35
www.perma-trade.de

Ergebnisse der Laboruntersuchungen

Die Laborversuche ergaben, dass *L. pneumophila* in Gegenwart von Amöben bessere Wachstumsbedingungen im Vergleich zur Kultivierung ohne Amöben vorfanden, Abb.3. Trotz gleicher Umgebungsbedingungen konnten sich die Legionellen in Gegenwart von Amö-

dem Fall eliminierbar. Zu beachten ist allerdings, dass die Laboruntersuchungen nicht 1:1 in die Praxis übertragen werden können.

Ergebnisse des Praxistests

Zur Übertragung der Untersuchungen in die Praxis und um festzustellen, ob das untersuchte thermische Inaktivierungsverfahren* beide Vor-

gegebene thermische Inaktivierungsverfahren* sowohl planktonische als auch intraamöbozytäre *L. pneumophila* unter den vorliegenden Versuchsbedingungen vollständig inaktiviert.

Seit Etablierung dieses Vorgehens im *water safety plan* des Greifswalder Universitätsklinikums ist im seltenen Fall einer beginnenden Legionellenkontamination ausnahmslos eine langfristig vollständige Elimination gelungen.

Autoren

Prof. Dr. med. Axel Kramer

Ernst-Moritz-Arndt-Universität, Greifswald

PD Dr. med. Frank-Albert Pitten, IKI

Dr. Peter Rudolph, Servicezentrum, Greifswald

Dipl. oec. troph. (FH) Ulrike Weber

Geschäftsführerin Hygiene Nord, Greifswald

www.hygiene-nord.de

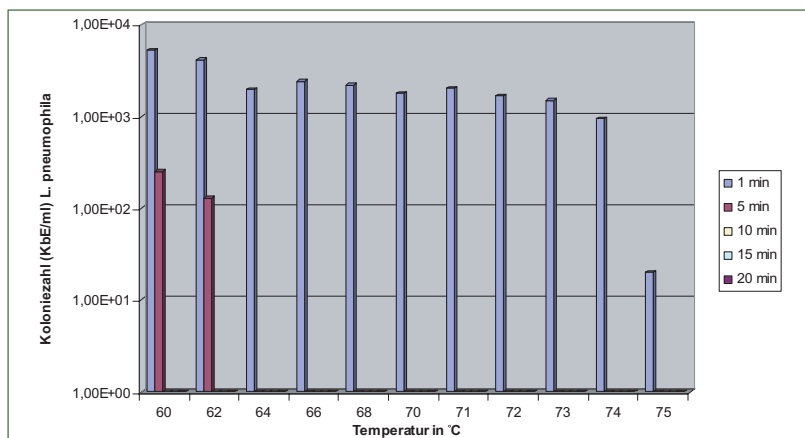


Abb.6 Absterbekinetik planktonischer (freilebender) *L. pneumophila*

ben zu einer höheren Ausgangskoloniezahl vermehren, Abb.4.

Abb.5 zeigt die Ergebnisse der nachweisbaren *L. pneumophila*, wenn diese intraamöbozytär (hier als Beispiel *A. castellanii*) dem Temperatureinfluss ausgesetzt waren.

Auffallend ist, dass bei 64° C / 10 min, bei 66° C / 5 min und sogar bei 71° C / 5 min der Nachweis an *L. pneumophila* positiv war. Im direkten Vergleich hierzu zeigt Abb.6, dass die planktonischen *L. pneumophila* bei diesen Temperatur-Zeit-Bereichen nicht mehr nachweisbar sind.

Es ist davon auszugehen, dass die vom DVGW Arbeitsblatt W 551 (2004) empfohlenen minimalen Desinfektionsparameter (70° C, 3 min) bei Kontamination eines Systems mit intraamöbozytären *L. pneumophila* nicht ausreichen. Für den Speicher-Trinkwassererwärmer sind 60° C über 20 min zu wenig. Da die Verweilzeit zulaufenden Wassers im Erwärmer vom Verbrauch abhängt, sind auch kurze Verweilzeiten möglich. Kontaminationen im Leitungssystem waren trotz kontinuierlichen Betriebes eines Speicher-Trinkwassererwärmers bei 60° C feststellbar, durch 73° C für 10 min aber in je-

kommen der *L. pneumophila* abtöten kann, wurden die Tests mit o.g. Versuchsanlage durchgeführt. Die Kontaminationshöhe des Systemwassers in der Anlage lag bei ca. 10² KbE/ml. Bei 65° C im Desinfektionsspeicher (Einwirkzeit ca. 45 min) wurden beide Arten *L. pneumophila* vollständig inaktiviert.

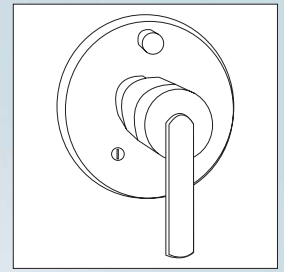
Zusammenfassung

Im Ergebnis der Labor- und Praxisuntersuchungen können folgende Schlussfolgerungen gezogen werden:

- *L. pneumophila* finden in Amöben (*A. castellanii*, *A. avara*, *H. vermiformis*) bessere Überlebens- und Vermehrungsbedingungen als ungeschützt im Trinkwasser.
- Intraamöbozytäre weisen im direkten Laborvergleich zu freilebenden *L. pneumophila* eine höhere Temperatur-Toleranz auf.
- Im Labortest ergaben sich 71° C in 10 min oder 72° C in 5 min als minimale Temperatur-Zeit-Relation zur Abtötung intraamöbozyterer *L. pneumophila*. Bei 60° C wurde in 20 min eine Reduktion um 7,9 log-Einheiten erreicht (verbleibende KbE: 2*10¹ pro ml).
- Der Praxistest ergab, dass das vor-

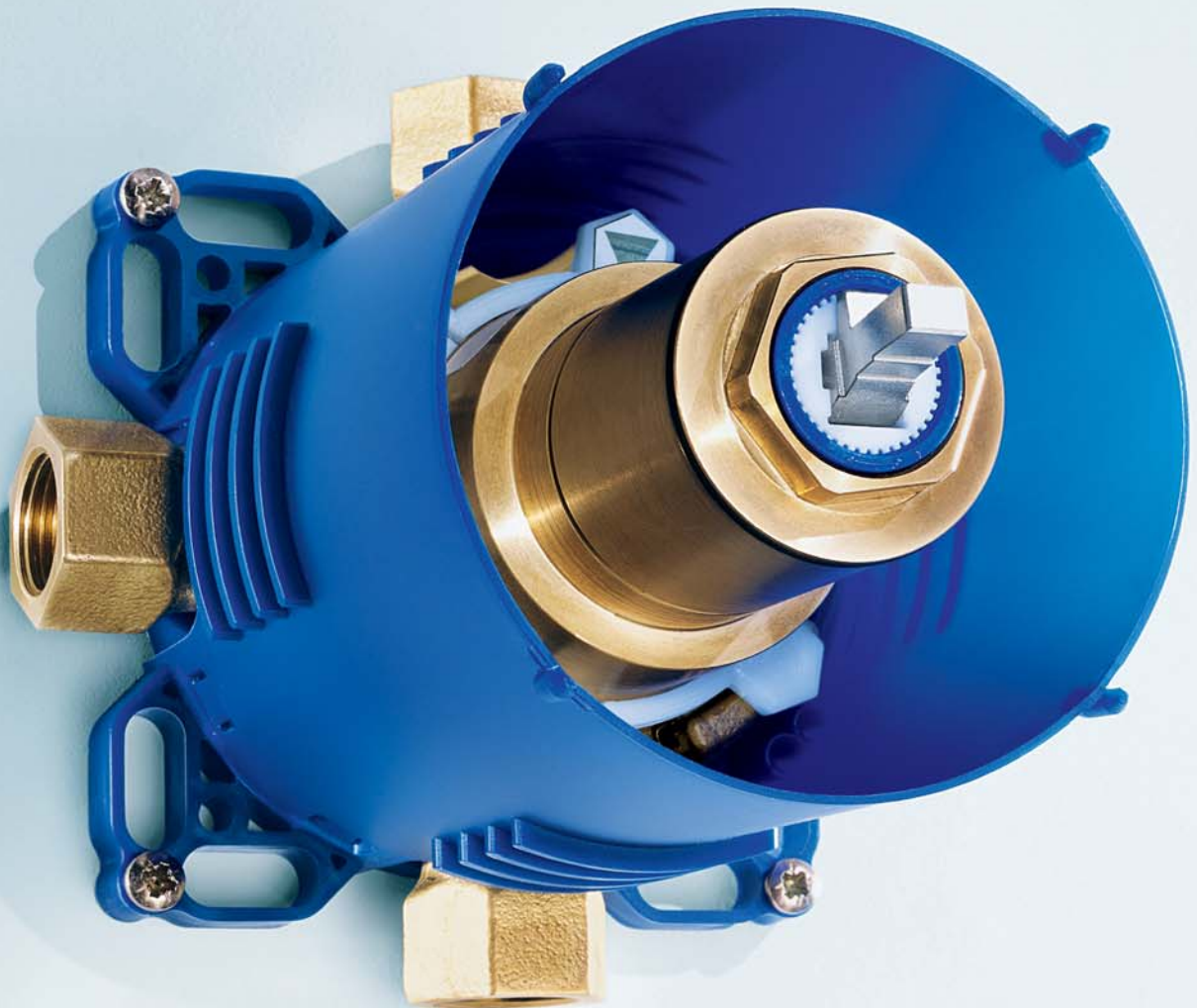
Literaturverzeichnis

- [1] Carlson S. (2002): Mikrobiologie des Wassers. In: Karl Höll, Wasser. Nutzung im Kreislauf. Hygiene, Analyse und Bewertung. Hrsg.: A. Grohmann. Walter de Gruyter. 8. Auflage. Berlin New York. S. 368-369
 - [2] Empfehlung des Umweltbundesamtes: Nachweis von Legionellen in Trinkwasser und Badebeckenwasser. Bundesgesundheitsbl- Gesundheitsforsch- Gesundheitsschutz. (2000) 43 911-915
 - [3] Hentschel und Waider (2004): Kommentar zum DVGW-Arbeitsblatt W 551. Technische Maßnahmen zur Verminderung des Legionellenwachstums in Trinkwasser-Installationen. Wirtschafts- und Verlagsgesellschaft Gas und Wasser mbH
 - [4] Schaefer B. (2002): Auftreten und Bekämpfung von Legionellen. In: Karl Höll, Wasser. Nutzung im Kreislauf. Hygiene, Analyse und Bewertung. Hrsg.: A. Grohmann. Walter de Gruyter. 8. Auflage. Berlin New York. S. 640
 - [5] Tiefenbrunner F. (2002): Mikroorganismen im Versorgungsnetz und das Phänomen der Biofilme. In: Karl Höll. Wasser. Nutzung im Kreislauf. Hygiene, Analyse und Bewertung. Hrsg.: A. Grohmann. Walter de Gruyter. 8. Auflage. Berlin New York. S. 618
 - [6] Walker CWB (1996): Acanthamoeba: ecology, pathogenicity and laboratory detection. In: British Journal of Biomedical Science. S. 53 146-151
- *DMS Wasser- und Wärmetechnik, Legio-kill®-System



HANSAVAROX. KOMMT IN DIE WAND.
STELLT ALLES ANDERE IN DIE ECKE.

NEU Mit Hansavarox setzen Sie den neuen Standard bei UP-Systemen. Kein System ist so schnell zu installieren und zu montieren. Kein System bietet ein größeres Maß an Flexibilität, Sicherheit, Wartung und Schallschutz. Zusammen mit der sprichwörtlichen Hansa Qualität stellt Hansavarox damit den neuen Maßstab bei UP-Systemen dar. www.hansa.de



Die Welt ist keine Scheibe - Ihre Anzeigen auch nicht [...]



innovatools

Werkzeuge für den Erfolg

Fach.**Journal**

Fachzeitschrift für Erneuerbare Energien & Technische Gebäudeausrüstung

[Hier mehr erfahren](#)



innovapress

*Innovationen publik machen
schnell, gezielt und weltweit*

Filmproduktion | Film & Platzierung | Interaktive Anzeige | Flankierende PR | Microsites/Landingpages | SEO/SEM | Flashbühne