

**Aus dem Universitätsklinikum Münster
Institut für Hygiene
- Direktor: Univ.-Prof. Dr. rer. nat. H. Karch**

**Untersuchung zur Besiedlung der
Warmwassersysteme von Ein- und
Zweifamilienhäusern mit Legionellen**

**Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung des doctor medicinae dentium**

**der Medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster**

vorgelegt von

**Stanke, Juliane
aus Berlin**

2005

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Westfälischen – Wilhelms - Universität Münster

Dekan: Prof. Dr. H. Jürgens

1. Berichterstatter: PD Dr. W. Mathys

2. Berichterstatter: Prof. Dr. W. Fegeler

Tag der mündlichen Prüfung: 11.11.2005

Aus dem Universitätsklinikum Münster

Institut für Hygiene

-Direktor: Univ.-Prof. Dr.rer.nat.H.Karch

Referent: Priv.-Doz. Dr. W. Mathys

Koreferent: Prof. Dr. W. Fegeler

Zusammenfassung

Untersuchung zur Besiedlung der Warmwassersysteme von

Ein- und Zweifamilienhäusern mit Legionellen

Stanke, Juliane

In dieser Arbeit wurden 198 Warmwassersysteme von Ein- und Zweifamilienhäusern auf Legionellen untersucht. Zusätzlich wurden die Proben auf Kupfer und Zink analysiert. Mittels Fragebogen wurden neun weitere Parameter zur Installationstechnik in den einzelnen Häusern erhoben, zu denen die Wassertemperatur, die Temperatursteuerung, das Alter des Hauses und des Wasserleitungssystems, sowie Informationen zur Zirkulation des Wassers und der Warmwasserspeicherung gehörten. Die Untersuchungen ergaben bei zehn Proben (5% aller Proben) positive Nachweise von *Legionella pneumophila* der Serogruppen 1,3 und 6.

Alle Proben stammten aus Häusern mit zentraler Wasseraufbereitung.

Es zeigte sich ein deutlicher Zusammenhang zwischen der Temperaturführung des Warmwassers und der Anzahl koloniebildender Einheiten von Legionellen. So wurden Legionellen ausschließlich aus Wasserproben mit einer Temperatur zwischen 30 °C und 50 °C isoliert. Die Größenordnungen entsprechen dabei den Zahlen, die in Großgebäuden regelmäßig auftreten (zwischen 4 und 1000000 KBE). Es wird deutlich, dass Ein- und Zweifamilienhäuser sich in Bezug auf eine Besiedlung mit Legionellen nicht grundsätzlich von Großgebäuden unterscheiden und entsprechend mit in die technischen Regelungen zur Verminderung des Legionellenwachstums aufgenommen werden sollten.

Tag der mündlichen Prüfung: 11.11.2005

Index

1	Einleitung.....	1
1.1	Ökologie der Legionellen	1
1.2	Legionelleninfektion	2
1.3	Wassersysteme.....	4
1.4	Prävention.....	4
1.4.1	Physikalische Maßnahmen.....	5
1.4.2	Chemische Maßnahmen.....	6
1.4.3	Technische Maßnahmen.....	7
2	Material und Methode.....	8
2.1	Material.....	8
2.1.1	Wasserentnahme	8
2.1.2	Wasserverarbeitung	8
	Untersuchung der Proben / Isolierung verdächtiger Kolonien	9
2.1.4	Identifizierung von Legionellen / Latextest	10
2.1.5	Serogruppenbestimmung	12
2.1.6	Legionellen PFGE (Puls–Feld–Gel–Elektrophorese)	13
	Enzym möglichst nur einmal auftauen!!!.....	15
2.1.7	AAS-Untersuchung.....	15
2.2	Methode.....	16
2.2.1	Wasserentnahme	16
2.2.2	Wasserverarbeitung	16
2.2.3	Untersuchung der Proben / Isolierung verdächtiger Kolonien	17
2.2.4	Identifizierung von Legionellen / Latextest	18
2.2.5	Serogruppenbestimmung	18
2.2.6	Legionellen–PFGE (Puls–Feld–Gel–Elektrophorese)	19
2.2.7	AAS-Untersuchung.....	23
3	Ergebnisse.....	24
3.1	Tabelle 1; Zustandsbeschreibung der Entnahmeorte	25
3.2	Auswertung.....	39
3.3	Tabelle 2; Mikrobiologische Auswertung der Warmwasserproben	41
3.4	Beschreibung der Ergebnisse	46
3.5	Analyse der Proben mit positiven Legionellennachweisen	48
3.6	PFGE-Ergebnisse.....	48
3.6.1	Lauf A.....	49
3.6.2	Lauf B.....	51
3.6.3	Lauf C.....	53
3.7	Ergebnisse der Kontrollbeprobung.....	56
3.8	Fallbeispiel.....	58
3.9	Ergebnisse der Schwermetalluntersuchungen	59
4	Diskussion.....	60
4.1	Bewertung der Ergebnisse	60
4.2	Vergleich der Ergebnisse	63
5	Literaturverzeichnis	66
6	Danksagung	73
7	Tabellarischer Lebenslauf	74

1 Einleitung

1.1 Ökologie der Legionellen

Legionellen sind obligat aerobe, gram-negative, begeißelte Stäbchen, die eine Länge von 2 – 20 µm und eine Breite von 0,3 – 0,9 µm haben. Sie sind reich an verzweigt-kettigen Fettsäuren (70 – 80 %) und können sowohl Endotoxine, als auch extrazelluläre Enzyme bilden (z. B. Laktamasen, Proteasen, Phosphatasen, Lipasen) [55].

Sie sind ein natürlicher Bestandteil des Süßwassers, vermehren sich vornehmlich in warmem Wasser, kommen gelegentlich jedoch auch in Kaltwasser vor.

Liegen günstige Verhältnisse vor, können recht schnell Konzentrationen erreicht werden, die Anlass zu sporadischen oder epidemischen Legionelleninfektionen geben.

Legionellen haben ein Wachstumsoptimum bei pH 6,9, einer Temperatur von 35 °C – 42 °C und einem ausreichenden Sauerstoffgehalt mit 2,5 % CO₂. Außerdem brauchen sie obligat L-Cystein, Methionin und Eisenphosphat [55]. Da sie Zucker, Harnstoff und Nitrat nicht verwerten können, wachsen sie nicht auf Blut- oder Endoagar-Platten. Deswegen sind die optimalen Nährböden MWY- (modifizierte Wadowsky Yee) und BCYE- (Charcoal Yeast Extraktet) Medien. Diese enthalten Aktivkohle und Hefeextrakte sowie Cystein und Eisen [3, 10, 46].

Da Legionellen schwer zu kultivieren sind, konnten sie erstmals 1977 im CDC Atlanta isoliert werden. Vorangegangen war eine epidemisch auftretende, schwere Pneumonie, die 149 ehemalige „Legionäre“ während eines Kongresses 1976 in Philadelphia befallen hatte [55].

Eine wissenschaftliche Beschreibung der Legionellen erfolgte erstmals durch Brenner 1979 [34].

Heute zählen zur Familie der Legionellaceae 32 Spezies mit 51 Serogruppen, 16 davon wurden bisher als Krankheitserreger diagnostiziert [26].

Die verschiedenen Spezies weisen eine unterschiedliche Virulenz auf, häufigster Krankheitserreger ist *Legionella pneumophila* mit der Serogruppe 1 [24, 27].

Der natürliche Lebensraum der Legionellen befindet sich im Oberflächenwasser, teilweise auch im Erdboden. Im Umfeld des Menschen konnten sie bisher aus Klimaanlageanlagen, „Kühltürmen“, Flüssen, Seen, Duschköpfen, Wasserhähnen, Wasserleitungen und anderen Wasserbehältern isoliert werden [55]. Vor allem sind sie in Warmwasseranlagen von Großgebäuden zu finden.

Legionellen leben in enger Verbindung mit anderen Wasserbakterien, so zum Beispiel Protozoen, Amöben und Ziliaten.

Rowbotham[17] beschreibt 1984 eine Vermehrung der Legionellen in Amöben, welche somit als Wirtszellen dienen. Ein satellitenartiges Wachstum um andere Wasserbakterien beschreibt Wadowsky [31] 1985.

Durch einen Biofilm wird ihre Vermehrung begünstigt. Biofilm ist ein idealer Ansiedlungsort, da er eine größere Oberfläche und Schutz vor Umwelteinflüssen bietet. Desinfektionsmittel können in einen Biofilm nur bedingt eindringen, was zu einer erhöhten Überlebensrate der dort beherbergten Bakterien führt. Die Vermehrung in Wirtszellen schützt zusätzlich vor hohen Konzentrationen an Desinfektionsmitteln [27].

1.2 Legionelleninfektion

Eine durch Legionellen ausgelöste Erkrankung weist zwei verschiedene Verlaufsmöglichkeiten auf. Zum einen kann es zu einer Atemwegserkrankung mit grippeähnlichen Symptomen kommen, bei der keine Antibiotikagabe nötig ist und zum anderen kann sich daraus eine schwere Pneumonie mit einer Letalitätsrate von 15 – 20 % entwickeln.

Ersteres ist unter dem Namen Pontiac-Fieber und letzteres unter Legionärskrankheit bzw. Legionellose bekannt [2, 8, 44, 54,].

Mehr als 80 % aller beschriebenen Legionelleninfektionen werden durch die Spezies *Legionella pneumophila* und zu über 50 % von der Serogruppe 1 verursacht.

Die Erkrankung kann sporadisch oder epidemisch auftreten. Die Pneumonien sind seltener manifestiert als Pontiac-Fieber [4, 9, 27].

Allgemein ist die Erkrankungsrate, verglichen mit dem Vorkommen an Legionellen in Wassersystemen, mit 6000–10000 Pneumonien pro Jahr in Deutschland, relativ gering. Dafür ist die unterschiedliche Virulenz der verschiedenen Legionella-Serogruppen verantwortlich [27].

Die Übertragung von Legionellen geschieht mittels Aerosol. Partikel der Größe $<5 \mu\text{m}$ sind lungengängig und gelten als Transporter für Legionellen [4, 9, 27].

Man unterscheidet zusätzlich die Infektionsformen nach der Art und Weise des Infektionsweges. Geschah die Infektion in einem Krankenhaus, spricht man von einer nosokomialen Infektion, im Gegensatz zu einer ambulant erworbenen. Die endgültige Diagnose kann nur mittels mikrobiologischer Methoden erfolgen [8, 44, 54].

Legionellosen benötigen eine antibiotische Therapie. Die Antibiotika müssen vor allem eine gute intrazelluläre Aufnahme vorweisen. Das klassische Antibiotikum war Erythromycin. Heute wird vornehmlich während der ersten Zeit mit Makroliden (u.a. Azithromycin, Clarithromycin, Erythromycin, Spiramycin) behandelt. Clarithromycin weist im Vergleich zum Erythromycin eine bessere bakterizide Wirkung und eine bessere Verträglichkeit auf.

Eine Alternative zu den Makroliden sind Fluorochinolone/Gyrase-Hemmer (Ciprofloxacin, Ofloxacin, Levofloxacin etc.) Diese Substanzen zeigen keine Interaktion mit Cyclosporin und sind deshalb für die Behandlung von Transplantatempfängern von großer Bedeutung [2].

1.3 Wassersysteme

Es gibt verschiedene Warmwassersysteme, die sich durch die Art der Wassererwärmung unterscheiden. Man spricht von zentraler und dezentraler Wassererwärmung [14].

Im ersten Fall wird Wasser in einem Speicher, z.B. im Keller eines Hauses, erwärmt und über das Leitungssystem im Haus verteilt. Zusätzlich kann ein Zirkulationssystem angeschlossen sein, welches nicht gebrauchtes Warmwasser wieder in den Speicher zurückführt.

Bei der dezentralen Erwärmung wird kaltes Wasser über die Leitungen verteilt und erst kurz vor der Entnahmestelle mittels Durchlauferhitzer auf die gewünschte Temperatur gebracht. Es wird also nur das Wasser erhitzt, welches verbraucht wird [14].

1.4 Prävention

In der Literatur werden verschiedene Präventionsmaßnahmen zur Eliminierung von Legionellen in Warmwassersystemen beschrieben. Sie können unterteilt werden in physikalische, biologisch-chemische und technische Maßnahmen.

Sie beziehen sich vor allem auf die Warmwassersysteme von Großanlagen, wie Hotels, Krankenhäuser oder Pflegeheime. Im Wesentlichen sind sie jedoch auch auf Ein- und Zweifamilienhäuser anzuwenden.

1.4.1 Physikalische Maßnahmen

Thermische Desinfektion

Das Vermehrungsoptimum der Legionellen liegt im Temperaturbereich zwischen 35 °C und 42 °C. Darunter oder darüber ist ihre Vermehrung eingeschränkt. In verschiedenen Studien wurde nachgewiesen, dass Temperaturen über 50 °C zu einer Abtötung der Legionellen führen [15, 24, 43].

Aus Sicherheitsgründen sollten Temperaturen zwischen 55 °C und 60 °C in allen warmwasserführenden Bereichen erreicht werden [15, 24, 43]. Das heißt, dass überall im System, sowohl im Warmwasseraufbereiter als auch in den Leitungen bis zur Zapfstelle, diese Temperatur erreicht sein muss [56].

Eine dauerhafte Erhöhung der peripheren Auslasstemperatur über 60 °C ist nicht ratsam, da diese Maßnahme zu hohen Heiz- und Energiekosten führt, eine Verbrühungsgefahr beinhaltet und die Wasserrohre stark beansprucht [53].

Eine Temperaturhaltung von Temperaturen größer 55 °C am Speicherausgang reicht als alleinige Maßnahme nicht aus [53, 30].

Denn durch Temperaturschwankungen im System, die nie ganz vermieden werden können und durch sog. „Schlupfwinkel“, wie z.B. Biofilme oder Totstränge kommt es sehr schnell zu einer Rebesiedelung des Systems mit Legionellen [43, 47, 53]. Eine Kombination von chemischen und technischen Maßnahmen wird daher empfohlen [16, 40].

UV-Licht

Die abtötende Wirkung des UV-Lichtes, mit der Wellenlänge zwischen 220 - 320 nm, besteht in der Zerstörung der DNA der Legionellen [13].

Bakterien, die sich in entlegenen Winkeln des Wassersystems oder in Biofilmen befinden, die nicht bestrahlt werden können, werden nicht abgetötet. Daher muss das gesamte Wassersystem vor der Installation

einer UV-Quelle mit einer anderen Methode vollständig von Legionellen befreit werden, um eine Rebesiedelung zu vermeiden [40, 41].

1.4.2 Chemische Maßnahmen

In verschiedenen Studien wurde eine bakterizide Wirkung des Chlors nachgewiesen. Legionellen weisen jedoch eine höhere Chlorresistenz auf als andere Wasserkeime [7, 11, 28, 39, 45, 52].

Eine kontinuierliche Konzentration von 4-6 mg/l über 6 Stunden ist notwendig, um eine Abnahme von 5-6 log an *L. pneumophila* zu erreichen. Die größte Abnahme von *L. pneumophila* ist bei der Konzentration von 6 mg/l zu beobachten [39].

Cunliffe [7] beschreibt 1990 in seiner Studie eine Abtötung von 99 % von *L. pneumophila* innerhalb von 15 Minuten mit 1,0 mg/l Monochloramin. Dies stimmt mit den Angaben von Kuchta [52] 1983 überein.

Ein Problem stellt die Instabilität der gebräuchlichen Chlorverbindungen dar. Eine Konzentrationsabnahme von Monochloramin von anfangs 1,3 mg/l auf 0,35 mg/l in 50 h bei einer Temperatur von 55 °C zeigt Cunliffe [7] in seiner Studie von 1990 auf.

Die Stabilität nimmt ab, je höher die Temperatur und je niedriger der pH-Wert sind. Gleichzeitig steigert sich zwar die bakterizide Wirkung des Chlors, aber durch den schnelleren Zerfall sinkt die Einwirkzeit [39, 52]. Im Endeffekt wird so quantitativ mehr Chlor gebraucht, um die benötigte Konzentration an Chlor über einen gewissen Zeitraum aufrecht zu erhalten [39, 52].

Auf die Chlorung von Trinkwasser sollte weitgehend verzichtet werden, da es zu Geschmacks- und Geruchsveränderungen des Wassers kommen kann. Dies ist bedingt durch die relativ hohen Konzentrationen von mindestens 1-2 mg/l freiem Chlor, um das Wasser legionellenfrei zu machen.

1.4.3 Technische Maßnahmen

Technische Probleme in den Wassersystemen können zu einer Besiedelung mit Legionellen führen. Die Beseitigung der Selben ist die erste und wirksamste Maßnahme zur Prävention.

So kann einer Kontamination u.a. durch die Dezentralisierung der Wassererwärmung entgegengewirkt werden. Weiterhin ist eine gute Isolation der Warm- gegen die Kaltwasserleitungen zur Verhinderung von Mischtemperaturen nötig. Die Isolierung sollte bis kurz vor die Zapfstelle geführt werden. Es sollten möglichst wenige Zapfstellen vorhanden sein. Dadurch wird einer Wasserstagnation entgegen gewirkt [14, 16].

Bei Warmwasserspeichern besteht die Möglichkeit der Sedimentablagerung, welche aufgrund ihrer vergrößerten Oberfläche als Adhäsionspunkt für Bakterien dient [6, 12]. Neuere Warmwasserspeicher besitzen Vorrichtungen, um diese Sedimente ablaufen zu lassen.

Die Frischwasserzufuhr befindet sich meistens einige Zentimeter oberhalb des Warmwasserspeicherbodens, so dass im Speicher unterschiedliche Temperaturschichtungen auftreten können.

Wesentlich besser sind Systeme, bei denen die Temperatur im gesamten Warmwasserspeicher gleich hoch ist und möglichst bei 60 °C liegt. Günstig wirkt sich ggf. die Staffelung mehrerer kleiner Erwärmer gegenüber einem großen aus, weil die Wärmeaustauschfläche in Relation zum Volumen begrenzt ist. Das Wasser sollte auch in den Warmwasserleitungen und bis zur Entnahmestelle eine Mindesttemperatur von 55 °C haben [12].

2 Material und Methode

Die Entnahme und Untersuchung der Warmwasserproben wurde nach ISO 11731(5/1998) durchgeführt [57].

2.1 Material

2.1.1 Wasserentnahme

Einliterglasflaschen
Elektro-Digital-Thermometer

2.1.2 Wasserverarbeitung

sterile Werkbank
MWY- Platten
Pipetten und Pipettenspitzen , 1000 µl
sterile Spatel und Pinzetten
Wasserstrahlpumpe
Vakuumfiltrationsgerät
Cellulose-Nitrat-Filter , Porengröße 0,45 µm
Säurepuffer, pH 1,9 – 2,2
Stoppuhr
Gaspaktöpfe
Brutschrank , 36 °C

Herstellung des Säurepuffers:

Lösung. A: 0,2 mol /L HCL- Lsg. (17,4 ml HCL konz. +1000 ml Aqua dest.)

Lösung. B: 0,2 mol /L KCL – Lsg. (14,9 g KCL +1000 ml Aqua dest.)

Lösung. C: 1 mol /L KOH (zum Einstellen des pH- Wertes von 1,9 – 2,2)

Untersuchung der Proben / Isolierung verdächtiger Kolonien

Aufsichtmikroskop

sterile Kunststoffösen

Legionella MWY(modifizierte Wadowsky Yee)-Selektivagar-Platten

Legionella BCYE- α (Buffered Charcoal Yeast Extract)-Agar-Platten

Platten, ohne Cystein und Antibiotika

Columbia Blutagar-Platten

Agarzusammensetzung der verschiedenen Platten :

1) Legionella MWY-Selektivagar

Zusammensetzung pro Liter

Aktivkohle	2,0 g
Hefeextrakt	10,0 g
Aces–Puffer	10,0 g
Eise(III)pyrophosphat	0,25 g
L –Cystein	0,4 g
α -Ketoglutar	1,0 g
Glycin	3,0 g
Polymyxin B	50000 IE
Vancomycin	1 mg
Anisomycin	80 mg
Brommethylblau	10 mg
Bromkresolpurpur	10 mg
Agar	16,0 g

2) Legionella BCYE- α -Agar

Zusammensetzung pro l

Aktivkohle	2,0 g
Hefeextrakt	10,0 g
Aces-Puffer	10,0 g
Eisen(III)pyrophosphat	0,25 g
L -Cystein	0,4 g
α -Ketoglutarat	1,0 g
Agar	17,0 g

3) Agarplatte ohne Cystein und Antibiotika

4) Columbia-Blutagar

Zusammensetzung pro l

Spezialpepton	23,0 g
Stärke	1,0 g
Natriumchlorid	5,0 g
Agar	14,0 g
Schafblut	50 ml

2.1.4 Identifizierung von Legionellen / Latextest

Oxoid Legionella Latextest von Oxoid Limited, Basingstoke,
Hampshire, England

Reaktionskarte
Sterile Kunststoffösen

Bestandteile und Anwendung des Latextests

Serogruppe 1 Testreagenz :

Blaue Latexpartikel, die mit spezifischen Kaninchen-Antikörpern gegen *Legionella pneumophila* Serogruppe 1 beladen sind.

Serogruppe 2-14 Testreagenz :

Blaue Latexpartikel, die mit spezifischen Antikörpern gegen *Legionella pneumophila* Serogruppe 2-14 beladen sind.

Legionella spp. Testreagenz :

Blaue Latexpartikel, die mit spezifischen Kaninchen – Antikörpern gegen folgende Legionellenarten und deren Serogruppe beladen sind :

L. longbeachae 1+2

L. bozemanii 1+2

L.dumoffii

L.gormanii

L. jordanis

L. micdadei

L. anisa

Positive Kontrollsuspension

Eine Legionella – Zellsuspension in Puffer

Negative Kontrollsuspension

Eine *Legionella spiritensis* Zellsuspension in Puffer, die nicht mit dem Testreagenz reagiert.

Kontroll – Latex

Blaue Latexpartikel, die mit nicht-reaktivem Kaninchen–Globulin beladen sind.

Suspensionspuffer

Phosphatgepufferte Kochsalzlösung pH 3,7

Einweg-Reaktionskarten

2.1.5 Serogruppenbestimmung

Zentrifuge

Pipetten und Pipettenspitzen

Wärmeplatte

Objektträgerplatten

Deckgläser

Brutschrank 40 °C

Fluoreszenz-Mikroskop

physiologische Kochsalzlösung

1 %tiges , neutrales Formalin

Aqua dest.

2.1.6 Legionellen PFGE (Puls–Feld–Gel–Elektrophorese)

Zentrifuge
Zentrifugenröhrchen
Pipetten und Pipettenspitzen
Eppendorfggefäße
Glasplatte
Skalpelle
Glashaken
Slotformer
Alkohol 70 %tig
Wärmeblock
Schüttler
Gießstand
Elektrophoresegerät „Chef 3“
elektronische Waage
Dunkelkammer
Polaroidkamera
EDTA- Lösung mit pH 8
SE-Puffer
EC-Puffer
TE-Puffer
Restriktionspuffer
Lysepuffer II
Proteinase K
RNAase
Lysozym
Agarose InCert 2 %tig , Gold 1 %tig
Ethidiumbromid

Lösungen

SE-Puffer : (Herstellung von 1000 ml)

1,2 g Tribase (= 10 ml Tribase Stammlösung)

2,03 g MgCl₂

0,1 mM EDTA (=200 µl EDTA–Stammlösung 0,5 M)

EC – Puffer : (Herstellung von 500 ml)

29,225 g NaCl

2,5 g Na- desoxicholat

5,0 g Lauroylsarcosine

100 ml EDTA- Stammlösung (0,5 M)

3 ml Tribase–Stammlösung

mit Aqua bidest. auf 500 ml auffüllen

TE-Puffer : (Herstellung von 500 ml)

10 mM Tribase (= 5 ml Tribase – Stammlösung)

0,1 mM EDTA (= 1 ml EDTA – Stammlösung)

mit Aqua bidest. auf 500 ml auffüllen

mit 30 %iger HCL auf pH 7,5 einstellen

Lysepuffer II :

100 ml 0,5 EDTA

1 g N- Lauroylsarcosine

Proteinase K :

Konz.: 20 mg/ml

Enzym mit Reaktionspuffer ansetzen

Reaktionspuffer : (für 50 ml)

50 mM Tribase (pH 8,0) = 2,5 ml

mit 47,5 ml Aqua bidest. auffüllen

mit 30 %iger HCL auf pH 7,5 einstellen

RNAase :

Stammlösung herstellen: 10 mg/ml mit sterilem Aqua bidest. Ansetzen.

Lösung für 15 min kochen und anschließend langsam abkühlen lassen.

Lysozym :

Stammlösung herstellen :20 mg/ml mit sterilem Aqua bidest ansetzen

Enzym möglichst nur einmal auftauen!!!

2.1.7 AAS-Untersuchung

Atomabsorbtionsspektrometer

2.2 Methode

2.2.1 Wasserentnahme

Jeweils mindestens 1l Warmwasser wird aus der Trinkwasseranlage in Ein- und Zweifamilienhäusern entnommen und in dafür vorgesehene sterilisierte Einliterglasflaschen gefüllt. Um eine Verunreinigung der Probe mit Begleitflora möglichst gering zu halten, wird der Perlator vom Wasserhahn abgeschraubt. Während des Füllprozesses wird die Wassertemperatur mittels eines elektronischen Thermometers bestimmt. Die Wasserproben werden entweder sofort oder nach Zwischenlagerung im Kühlschrank am nächsten Tag im Labor weiterverarbeitet.

2.2.2 Wasserverarbeitung

1 ml jeder Probe wird unter sterilen Bedingungen auf einer vorgetrockneten MWY-Platte verspatelt und unter der sterilen Werkbank zum Trocknen ausgelegt.

Anschließend werden die präparierten Platten in einen Gaspaktopf (erhält den Flüssigkeitsgehalt) verpackt und für 10 Tage in einem 36 °C warmen Brutschrank deponiert. Im Abstand von zwei Tagen werden die Platten unter dem Stereomikroskop auf Legionellenbewuchs untersucht.

100 ml – 1000 ml der Wasserprobe wird ebenfalls unter sterilen Bedingungen mit Hilfe eines Vakuumfiltrationsgerätes und einer Wasserstrahlpumpe durch ein Membranfilter filtriert. Die Filter werden auf Legionella-MWY-Selektivagar-Platten aufgebracht.

Man kann zur Verbesserung der Ergebnisse den Filter ansäuern und so einen übermäßigen Bewuchs mit Begleitflora vermeiden. Dazu gibt man ca. 10 ml Säurepuffer auf den Filter und lässt diesen 5 Minuten einwirken.

2.2.3 Untersuchung der Proben / Isolierung verdächtiger Kolonien

Die bebrüteten Platten werden alle zwei Tage makroskopisch und auflichtmikroskopisch untersucht. Sind bis zum 10. Tag keine Legionellen gewachsen, gilt die Probe als „Legionellen-negativ“. Finden sich jedoch legionellentypische Kolonien (Größe, Form, Färbung, Struktur) werden sie auf drei verschiedenen Plattentypen isoliert.

- 1) auf einer Columbia-Blutagar-Platte ,
- 2) auf einer Agarplatte ohne Cystein und Antibiotika und
- 3) auf einer Legionella-BCYE- α -Platte .

Legionellen benötigen für ihr Wachstum Cystein, welches auf den MWY- und BCYE- α -Platten vorhanden ist. Daher verhärtet sich der Verdacht auf Legionellen, wenn die BCYE-Platte von der isolierten Kolonie bewachsen ist, nicht aber die Agarplatte ohne Cystein und die Blutplatte.

Ist die Blutplatte bewachsen, kann es sich nicht um Legionellen handeln, da diese nicht auf Blut wachsen.

Die Keimzahlbestimmung erfolgt durch die Auszählung der Kolonien und Umrechnung in KBE/ml — koloniebildende Einheiten pro ml.

2.2.4 Identifizierung von Legionellen / Latextest

Zur Überprüfung auf *Legionella pneumophila* wird ein Latextest durchgeführt. Verwendet wird der OXOID Legionella-Latex-Test der Firma Oxoid Limited, Basingstoke, Hampshire, England. Das Prinzip dieses Tests beruht auf Agglutination von Antikörperbeladenen, blauen Latexpartikeln mit spezifischen Legionellenzellwand-Antigenen. Dadurch wird ein schnelles und einfaches Screening der häufigsten pathogenen Legionellatypen möglich.

Ein Tropfen des Reagenzes Serogruppe 1 wird auf ein Feld der Reaktionskarte gegeben. Auf das nächste Feld ein Tropfen für die Serogruppe 2-14 und auf das letzte Feld ein Tropfen der Negativkontrolle. Auf jedes dieser Felder wird zusätzlich ein Tropfen Puffersuspension aufgetragen, ohne dass sich die Flüssigkeiten der einzelnen Felder berühren.

Mit einer sterilen Öse wird aus einer Kolonie Material aufgenommen und auf der Karte erst mit der Suspension und dann beides mit dem Reagenz vermischt. Anschließend wird die Reaktionskarte vorsichtig kreisförmig bewegt und auf Agglutination überprüft.

2.2.5 Serogruppenbestimmung

Eine große oder mehrere kleine Kolonien werden in 1 ml physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Davon werden 100 µl in 5 ml 1%iges (neutrales) Formalin gegeben, gut vermischt und dann 10 Minuten zentrifugiert. Der Überstand wird abpipettiert und das Sediment in 1 ml physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt.

Der Objektträger hat 12 Felder, die in zwei untereinander angeordneten Reihen aufgeteilt sind. Auf die 6 oberen Felder sowie auf das erste und zweite untere Feld von rechts wird die Suspension aufgetragen, luftgetrocknet und hitzefixiert. Danach wird der Objektträger mit destilliertem Wasser überschichtet, welches 5 Minuten einwirken muss, um dann abgegossen zu werden. Anschließend lässt man ihn lufttrocknen. Auf die trockenen Felder 1-6 werden die markierten Antikörper der jeweiligen Serogruppe gegeben.

Das Feld unten rechts dient der Negativkontrolle. Das Feld links daneben dient der Positivkontrolle.

Der so präparierte Objektträger wird zusammen mit einem feuchten Tuch (Erhalt der Luftfeuchtigkeit) in einem Behälter für 30 Minuten bei 40 °C bebrütet. Es wird dann ein Deckglas aufgebracht und unter einem Mikroskop mit Quecksilberdampflampe untersucht. Das Ergebnis ist „positiv“, wenn eindeutig fluoreszierende Strukturen zu erkennen sind. Zum Vergleich kann die Positivkontrolle herangezogen werden.

2.2.6 Legionellen–PFGE (Puls–Feld–Gel-Elektrophorese)

Die DNA der Legionellen wird von spezifischen Enzymen an bestimmten Stellen zerschnitten, so dass verschieden große DNA-Fragmente entstehen. Diese wandern im elektrischen Feld unterschiedlich schnell.

Herstellung der Blöckchen

Zuerst wird eine Bakteriensuspension hergestellt. Gegebenenfalls müssen dazu die Legionellenstämme auf BCYE-Platten überimpft und 48-72 Stunden bebrütet werden. Zwei oder drei Kolonien werden in 3 ml SE-Puffer eingerührt (Zentrifugenröhrchen von Greiner) und gut suspendiert.

Es sollte eine leicht trübe Suspension entstehen. Im Anschluss muss diese 10 Minuten bei 4000 U/min und Raumtemperatur zentrifugiert werden.

Als nächstes werden Gelblockchen hergestellt. Dazu wird der Überstand der Suspension abpipettiert, das Sediment in 1 ml SE-Puffer resuspendiert und in ein Eppendorfgefäß überführt. Dies wird für 5 min bei 11500 U/min zentrifugiert, der Überstand abpipettiert und das Sediment resuspendiert. Der Vorgang wird insgesamt zweimal wiederholt, danach wird das Sediment in 1 ml SE-Puffer resuspendiert. Nebenher wird eine 2 %ige Agarose hergestellt, wozu 1 g InCert – Agarose von Biozym und 50 ml SE-Puffer verwendet werden. Die Agarose muss bei 42 °C warm gestellt werden. Dann werden 600 ml Bakteriensuspension und Agarose in einem vorgewärmten Eppendorfgefäß gemischt und dieses Gemisch wird luftblasenfrei in den vorbereiteten nummerierten Slotformer überführt.

In den folgenden 15 Minuten lässt man das Gemisch bei Raumtemperatur polymerisieren, die Endhärte wird im Kühlschrank erreicht.

Die festen Blockchen werden auf einer alkoholgereinigten Glasplatte halbiert und in Lagerungspuffer gegeben, sie können bei 4 °C im Kühlschrank lagern. Zum Zerteilen der Blockchen müssen sterile Glashaken und Skalpelle verwendet werden.

Lyse I

1-2 Blockchen können direkt die Lyse I durchlaufen. Sie werden in ein Eppendorfgefäß mit 1 ml EC-Puffer gegeben und vorsichtig mit 50 µl Lysozym und 2 µl RNA-ase gemischt. Die Inkubation dauert bei 37 °C im Wärmeblock auf dem Schüttler 16-20 Stunden.

Lyse II

Beim nächsten Arbeitsschritt, der Lyse II, wird der Lysepuffer I abpipettiert, und die Blockchen werden in 1 ml 0,5 molarer EDTA-Lösung mit pH 8

gewaschen. Dann werden pro Eppendorfgesäß 1 ml Lysepuffer II und 50 µl Proteinase K pipettiert und vorsichtig gemischt. Die Inkubation dauert etwa 20 Stunden bei 55 °C im Wärmeblock. Nach der Lyse II müssen die Blöckchen für 30 Minuten im Kühltank gehärtet und anschließend gewaschen werden.

Waschung

Die Waschung erfolgt viermal für je 2 Stunden bei Raumtemperatur in TE-Puffer oder zweimal 2 Stunden bei Raumtemperatur, einmal über Nacht bei 4 °C im Kühltank und ein 4. Mal am nächsten Tag für 2 Stunden bei Raumtemperatur.

Restriktion

Während der Restriktion werden die Blöckchen für 2 Stunden mit jeweils 500 µl Restriktionspuffer gewaschen. Bis zu diesem Schritt können je zwei Blöckchen einer Probe verarbeitet werden, ab der Restriktion ist das nicht mehr möglich. Es befindet sich also nur ein Blöckchen pro Eppendorfgesäß.

Nach 2 Stunden wird der Restriktionspuffer abpipettiert und 200 µl frischer Puffer sowie die entsprechende Menge Enzym zugegeben und vorsichtig gemischt. Für *Legionella pneumophila* verwendet man das Enzym SFI I. Die Restriktion geschieht über Nacht.

Gellauf

Zur weiteren Verarbeitung wird eine Gelplatte hergestellt. Dazu verwendet man 100 ml 1 %ige Agarose, die unter Rühren aufgekocht und 30 Sekunden sprudelnd gekocht wird. Sie sollte anschließend auf Handtemperatur abkühlen. Dann wird die flüssige Agarose in den

vorbereiteten und gereinigten Gießstand mit eingestecktem Kamm vorsichtig eingefüllt. Luftblasen werden mit einer Öse entfernt.

Das Gel sollte 30 Minuten bei Raumtemperatur erhärten und dann noch 10 Minuten in den Kühlschrank gestellt werden. Wenn die Endhärte erreicht ist, kann der Kamm entfernt werden und in die entstehenden Taschen werden die zugeschnittenen Blöckchen gegeben. Die Gelplatte mit den Blöckchen wird sehr vorsichtig in das Elektrophoresegerät „Chef 3“ gelegt, wobei besonders darauf geachtet werden muss, dass die Blöckchen vom Laufpuffer nicht aus den Taschen gespült werden. Die PFGE wird dann gestartet und läuft für 20 Stunden. Die Einstellung des Gerätes ist folgende:

Initial / Final (sec) 7 / 74

Winkel : 120°

Volt / cm: 6

Temp.: 16°C

Laufzeit : 20 h

Färbung

In dem elektrischen Feld wandern die verschiedenen DNA-Fragmente unterschiedlich weit und können anschließend durch eine Färbung mit Ethidiumbromid (1 mg/l), in das die Gelplatte für 15 Minuten gelegt wird, fixiert und (unter UV-Licht) sichtbar gemacht werden. Eine zweimalige Wässerung der Platte für je 20 Minuten ist nötig, um das Ethidiumbromid vollständig von der Oberfläche zu entfernen.

Die Platte wird dann unter UV-Licht photographiert und das Bild ausgewertet.

2.2.7 AAS-Untersuchung

Cu- und Zn-Ionen wurden mittels Atomabsorptionsspektrophotometrie in der Flamme nach DIN38406 (E7) in der angesäuerten Probe bestimmt.

3. Ergebnisse

Es wurden 203 Proben aus 198 per Zufall ausgewählten Ein- und Zweifamilienhäusern in den Städten Münster und Greven (Verteilung etwa 3:1), sowie einige Proben aus Hürth(1), Frechen(1) und Kierdorf(5) (bei Köln), genommen.

Auf den folgenden Seiten werden die Ergebnisse ausgewertet und miteinander verglichen.

3.1 Tabelle 1; Zustandsbeschreibung der Entnahmeorte

Entnahme- datum	Bau- jahr	Alter d. Leitun- gs- sys- tems in Jahren	Material der Rohre	Zirkulations- leitung vorhanden	Unter- brechung der Zirkulation	Wasser- auf- bereitung	Speicher	Volumen / Liter	Temperatur.- Veränderung
25.04.2000	1951	49	Blei	Nein	nein	Dez.	Stiebel Eltron	80	
25.04.2000	1951	49	Blei	Nein	nein	Dez	Stiebel Eltron	80	
25.04.2000	1955	7		Nein	nein	Dez	Junker	10	nein
25.04.2000	1955	7		Nein	nein	Dez	Junker	10	nein
25.04.2000	1956	44	Blei	Nein		Dez		10	ja /manuell
25.04.2000	1956	44	Blei	Nein		Dez		10	ja /manuell
01.05.2000	1850	11	CU	Nein		Dez	Stiebel Eltron		nein
01.05.2000	1989	11	CU	Ja	nein	Zent			
01.05.2000	1980	15	CU	Nein		Dez	AEG	10	
01.05.2000	1980	20	CU	Nein		Dez			
01.05.2000	1996	4	CU	Ja		zent	Abig	300	nein
01.05.2000	2000	0		Ja	nein	Zent			
08.05.2000	1960	2	CU	Nein	ja	Zent		200	ja/manuell
08.05.2000	1960	5	CU	Nein		Zent	Schaefer	200	ja /autom.

Entnahmedatum	Baujahr	Alter d. Leitungssystems in Jahren	Material der Rohre	Zirkulationsleitung vorhanden	Unterbrechung der Zirkulation	Wasseraufbereitung	Speicher	Volumen / Liter	Temperatur.-Veränderung
08.05.2000	1960	2	CU	Ja		Zent		200	nein
08.05.2000	1960	2	CU	Ja	ja	Zent	Schaefer	200	
08.05.2000	1960	40	Blei	Nein		Dez	Stiebel Eltron	5	nein
08.05.2000	1960	4	Knst.	Ja		Zent	Vaillant	200	nein
15.05.2000	1956	44	Fe	Ja	nein	Zent	Combilux	300	nein
15.05.2000	1960	40	Blei	Ja	nein	Zent	Vaillant	300	ja/manuell
15.05.2000	1963	20	Knst.	Nein		Dez	AEG	5	ja/manuell
15.05.2000	1962	4	CU	Ja	nein	Zent	Vies-smann	160	ja/autom.
15.05.2000	1963	10	CU	Ja	nein	Zent	Vies-smann	160	nein
15.05.2000	1963	10	CU	Ja	nein	Zent	Vies-smann	160	nein
22.05.2000	1963	37	CU	Ja	nein	Zent	Vaillant	160	nein
22.05.2000	1963	37	CU	Ja	nein	Zent			
22.05.2000	1963	37	CU	Ja	nein	Zent	Junkers	160	nein
22.05.2000	1963	37	verz. Stahl	Ja	nein	Zent	Buderus		nein
22.05.2000	1963	37	verz. Stahl	Ja	nein	Zent	KGA 155	155	nein

Entnahmedatum	Baujahr	Alter d. Leitungssystems in Jahren	Material der Rohre	Zirkulationsleitung vorhanden	Unterbrechung der Zirkulation	Wasseraufbereitung	Speicher	Volumen / Liter	Temperatur.-Veränderung
22.05.2000	1963	37		Ja	nein	Zent	Viesmann	90	nein
29.05.2000	1971	29	CU	Ja		Zent	Buderus		nein
29.05.2000	1971	29	CU	Ja	nein	Zent	Vaillant	150	ja/manuell
29.05.2000	1971	29	CU	Ja	nein	Zent	Krupp		nein
29.05.2000	1970			Ja	nein	Zent			nein
29.05.2000	1972	21	verz. Stahl	Ja	nein	Zent	Buderus	160	nein
29.05.2000	1970	30	CU	Ja	nein	Zent	Buderus	150	nein
05.06.2000	1970	30	CU	Ja	nein	Zent	Klöckner	130	nein
05.06.2000	1970	30		Ja	nein	Zent			
05.06.2000	1964	36	verz. Stahl	Ja	nein	Zent	Wolff	51	nein
05.06.2000	1990	10	CU	Ja	nein	Zent	Combi-gas		nein
05.06.2000	1965	35		Ja	nein	Zent	Brötje	150	nein
05.06.2000	1994	6	CU	Ja	nein	Zent	Schaefer	130	nein
19.06.2000	1979	21	CU	Ja	nein	Zent	Vaillant	120	nein
19.06.2000	1963	0	CU	Ja	nein	Zent	Buderus	150	nein
19.06.2000	1933	11	CU	Ja	nein	Zent	Vaillant	120	nein
19.06.2000	1932	50	verz. Sta	Ja		Dez	Vaillant		

Entnahmedatum	Baujahr	Alter d. Leitungssystems in Jahren	Material der Rohre	Zirkulationsleitung vorhanden	Unterbrechung der Zirkulation	Wasseraufbereitung	Speicher	Volumen / Liter	Temperatur-Veränderung
19.06.2000	1933	4		Ja	nein	Zent	Junkers	200	nein
19.06.2000	1934	50	verz. Stahl	Ja	nein	Zent	Vaillant	130	nein
10.07.2000	1956	20	CU	Ja	nein	Zent	Viesmann	160	nein
10.07.2000	1932	20	Gem/Cu +verz. Stahl	Nein		Dez	Vaillant		nein
10.07.2000	1972	28	CU	Ja	nein	Zent	Buderus		ja/manuell
10.07.2000	1970	30	CU			Dez	Vaillant		nein
10.07.2000	1995	5	CU	Ja	nein	Zent	Vaillant	150	nein
10.07.2000	1995	20	Fe	Ja	nein	Zent	Brötje		nein
17.07.2000	1950		CU			Dez	Vaillant		ja/manuell
17.07.2000	1935	30	verz. Stahl	Nein	nein	Zent	Junkers		nein
17.07.2000	1960	15		Ja	nein	Zent	Junkers		
17.07.2000	1953	6	CU	Ja	nein	Zent			ja/autom.
17.07.2000	1954	46	verz. Stahl			Dez	Clage		
17.07.2000	1954	46	verz. Stahl	Ja	nein	Zent			

Entnahmedatum	Baujahr	Alter d. Leitungssystems in Jahren	Material der Rohre	Zirkulationsleitung vorhanden	Unterbrechung der Zirkulation	Wasseraufbereitung	Speicher	Volumen / Liter	Temperatur-Veränderung
17.07.2000						Dez	Vaillant		
17.07.2000	1951	10		Ja		Zent	Junkers	160	nein
17.07.2000	1950		Gem/Cu + Verz. Stahl	Ja	nein	Zent	Viesmann	150	nein
17.07.2000	1950	45	CU	Nein	nein	Dez	Vaillant		nein
17.07.2000	1956	10	CU	Ja	nein	Zent	Buderus	200	nein
17.07.2000	1950	50	verz. Stahl	Ja	nein	Zent	Buderus	200	nein
17.07.2000	1991	9	CU	Ja		Zent	Viesmann		
17.07.2000	1953	21		Ja	nein	Zent	Solarspeicher Novum	200	
17.07.2000	1954	46	verz. Stahl	Nein		Dez			nein
17.07.2000	1952	48		Nein		Dez	Junkers		
18.07.2000	1980	20	CU	Ja	nein	Zent	Stiebel Eltron	100	
18.07.2000	1976	24		Ja	nein	Zent	Viesmann		nein
18.07.2000	1966	34	verz. Sta	Ja	nein	Zent	Combiga	150	nein

Entnahmedatum	Baujahr	Alter d. Leitungssystems in Jahren	Material der Rohre	Zirkulationsleitung vorhanden	Unterbrechung der Zirkulation	Wasseraufbereitung	Speicher	Volumen / Liter	Temperatur-Veränderung
18.07.2000	1966	34		Ja		Zent			
18.07.2000	1966	34	CU	Ja	nein	Zent	Viesmann		nein
18.07.2000	1964	36	verz. Stahl	Ja	nein	Zent	Rowestat		
18.07.2000	1994	6		Ja	nein	Zent	Vaillant		
18.07.2000	1980	2	CU	Ja	nein	Zent	Buderus	120	nein
18.07.2000	1950	50	CU	Ja	nein	Zent	Viesmann	200	ja/autom.
18.07.2000	1950								
18.07.2000	1950	4	CU	Ja	nein	Zent	Viesmann	200	nein
18.07.2000	1970	30	verz. Stahl	Ja	nein	Zent	Buderus	130	nein
18.07.2000	1950	4		Ja	nein	Zent	Junkers		nein
19.07.2000	1953	5	CU	Ja	nein	Zent	Buderus	150	nein
19.07.2000	1954	3	CU	Ja	nein	Zent	Schaefer	150	nein
19.07.2000	1954	12	CU	Ja	nein	Zent	Viesmann	200	nein
19.07.2000	1956	13	CU	Ja	nein	Zent	Buderus	150	nein
19.07.2000	1956	23	CU	Ja	nein	Zent	Vaillant	150	nein

Entnahmedatum	Baujahr	Alter d. Leitungssystems in Jahren	Material der Rohre	Zirkulationsleitung vorhanden	Unterbrechung der Zirkulation	Wasseraufbereitung	Speicher	Volumen / Liter	Temperatur-Veränderung
19.07.2000	1954	28	Gem./Cu+ verz. Stahl	Ja	nein	Zent	Viesmann	200	nein
19.07.2000	1956	44	CU	Ja	nein	Zent	Viesmann	200	nein
19.07.2000	1951	10	CU	Nein	nein	dez	Vaillant	250	nein
19.07.2000	1959	41	verz. Stahl	Ja	nein	Zent			
19.07.2000	1960	40	verz. Stahl	Ja	nein	Zent	Buderus	200	nein
19.07.2000	1956	2	CU	Ja	nein	Zent	Buderus		nein
19.07.2000	1958	16	CU	Ja	nein	Zent			
19.07.2000	1959	41		Ja	nein	Zent			
19.07.2000	1949		CU	Ja	nein	Zent	Buderus	200	
19.07.2000	1958	0	verz. Stahl	Ja	nein	Zent	Wolff	100	nein
19.07.2000	1962	37	verz. Stahl	Ja	nein	Zent	Viesmann	150	nein
19.07.2000	1965	10	verz. Stahl	Ja	nein	Zent	Viesmann	150	nein
20.07.2000	1938	20	CU	Ja	nein	Zent	Buderus		nein

Entnahmedatum	Baujahr	Alter d. Leitungssystems in Jahren	Material der Rohre	Zirkulationsleitung vorhanden	Unterbrechung der Zirkulation	Wasseraufbereitung	Speicher	Volumen / Liter	Temperatur.-Veränderung
20.07.2000	1948	3	Gem/Cu + verz. Stahl	Ja	nein	Zent	Viesmann	80	nein
20.07.2000	1976	24	CU	Ja	nein	Zent	Viesmann	200	nein
20.07.2000	1954	46	verz. Stahl	Ja	nein	Dez	Vaillant		nein
20.07.2000	1954	46		Ja	nein	Zent			
20.07.2000	1954	10		Ja	nein	Zent	Buderus		nein
20.07.2000	1960	5	CU	Ja	nein	Zent	Sieger	600	nein
20.07.2000	1988	12		Ja	nein	Zent	Junkers	200	ja/manuell
20.07.2000	1970	20	CU	Ja	nein	dez	Vaillant		nein
20.07.2000	1957	43	verz. Stahl	Ja	nein	Zent	Viesmann	160	nein
22.07.2000				Ja	nein	Dez	Stiebel Eltron		ja/manuell
24.07.2000	1951	49	Blei	Ja	nein	Dez	Stiebel Eltron		
24.07.2000	1955	45		Ja	nein	Zent	Junkers	155	
24.07.2000	1954	1	CU	Ja	nein	Zent	Buderus		nein
24.07.2000	1953		CU	Ja	nein	Zent	Viessma	120	nein

Entnahmedatum	Baujahr	Alter d. Leitungssystems in Jahren	Material der Rohre	Zirkulationsleitung vorhanden	Unterbrechung der Zirkulation	Wasseraufbereitung	Speicher	Volumen / Liter	Temperatur-Veränderung
24.07.2000	1959	41	Verz Stahl	Ja	nein	Zent	Interdomo	125	nein
24.07.2000	1950								
24.07.2000	1951	49	verz.Stahl	Nein		Dez	Vaillant		nein
24.07.2000	1951	1		Nein		Dez	Vaillant		nein
24.07.2000	1951	49	CU	Ja	nein	Zent	Buderus		nein
24.07.2000	1950	27	Knst.	Ja	nein	Zent	Junkers	100	nein
24.07.2000	1954	49	verz.Stahl	Ja	nein	Zent	Buderus	150	nein
25.07.2000	1983	17		Ja	nein	Zent	Monopol		
25.07.2000	1955			Ja	nein	Zent			
25.07.2000	1960	40	CU	Ja	nein	Zent	Brötje		nein
25.07.2000		5	Knst.	Nein	nein	Dez	Stiebel Eltron		nein
25.07.2000	1950	5	CU	Ja	nein	Zent	Buderus	150	nein
25.07.2000	1989	11	Knst.	Nein	nein	Dez	Vaillant		nein
25.07.2000	1985	5	CU	Nein	nein	Dez	Vaillant		
25.07.2000	1989	11	CU	Nein	nein	Dez	Junkers		
25.07.2000	1988	12		Ja	nein	Zent	PreussAG		

Entnahmedatum	Baujahr	Alter d. Leitungssystems in Jahren	Material der Rohre	Zirkulationsleitung vorhanden	Unterbrechung der Zirkulation	Wasseraufbereitung	Speicher	Volumen / Liter	Temperatur-Veränderung
25.07.2000	1987	13	CU	Ja	nein	Zent	Vaillant	120	nein
25.07.2000	1987	13		Nein	nein	Dez	Vaillant		nein
25.07.2000	1987	13	CU	Ja	nein	Zent	Vaillant	400	nein
25.07.2000	1988	12	CU	Ja	nein	Zent	Mich.+Greten		nein
25.07.2000	1989	11	CU	Ja	nein	Zent	Junkers	150	nein
31.07.2000	1861	2	Cu+Kunst	Ja	nein	Zent	Junkers	200	nein
26.07.2000	1954	25	CU	Ja	nein	Zent	Viesmann	120	nein
26.07.2000	1954	14	CU	Ja	nein	Zent	Buderus	150	nein
26.07.2000	1946	44	CU	Ja	nein	Zent	Viesmann	350	nein
26.07.2000	1938	19	CU	Ja	nein	Zent	Buderus	120	ja/manuell
26.07.2000	1937	27	CU	Ja	nein	Zent	Dietrich	150	
26.07.2000	1940	40		Ja	nein	Zent	Buderus		
26.07.2000	1970	25	verz. Stahl	Ja	nein	Zent	Vaillant	150	nein
26.07.2000	1935	31	CU	Ja	nein	Zent	Buderus	150	
26.07.2000	1933	0		Ja	nein	Zent	Vaillant		
26.07.2000	1932	27	CU	Ja	nein	Zent	Buderus	160	wahrscheinlich

Entnahmedatum	Baujahr	Alter d. Leitungssystems in Jahren	Material der Rohre	Zirkulationsleitung vorhanden	Unterbrechung der Zirkulation	Wasseraufbereitung	Speicher	Volumen / Liter	Temperatur.-Veränderung
26.07.2000	1935	2	CU	Ja	nein	Zent	Buderus	160	
26.07.2000	1960			Ja	nein	Zent	Buderus	200	nein
31.07.2000	1996	4	CU	Ja	nein	Zent	Vies-smann	150	nein
31.07.2000	1923		CU	Nein	nein	Dez	Vaillant		ja/manuell
31.07.2000	1880	40		Nein	nein	Dez	Junkers		nein
31.07.2000	1986	14	CU	Ja	nein	Zent	Schaefer	150	nein
31.07.2000	1850		CU	Ja	nein	Zent	Vies-smann		
31.07.2000	1902	30		Ja	nein	Zent	Vaillant	150	nein
31.07.2000	1950		CU	Ja	nein	Zent			
31.07.2000	1968	32	verz. Stahl	Ja	nein	Zent	Buderus	200	nein
31.07.2000	1900			Ja	nein	Zent			
31.07.2000	1950	14	verz. Stahl	Nein	nein	Dez	Stiebel Eltron		nein
31.07.2000	1898	0	CU	Ja	nein	Zent	Buderus	160	nein
31.07.2000	1910	45	CU	Ja	nein	Zent	Junkers	150	nein
31.07.2000	1926	37	CU	Ja	nein	Zent	Wolff	200	ja/autom.
31.07.2000	1962	20	CU	Ja	nein	Zent	Buderus	150	nein
31.07.2000	1830	5		Nein	nein	Dez	Junkers		nein

Entnahmedatum	Baujahr	Alter d. Leitungssystems in Jahren	Material der Rohre	Zirkulationsleitung vorhanden	Unterbrechung der Zirkulation	Wasseraufbereitung	Speicher	Volumen / Liter	Temperatur-Veränderung
02.08.2000	1988	12	CU	Ja	nein	Zent	Vaillant	200	nein
02.08.2000	1988	18	CU	Ja	nein	Zent	Buderus	200	nein
02.08.2000	1985	15	CU	Ja	nein	Zent	Vaillant	150	nein
02.08.2000	1983	17	CU	Ja	nein	Zent	Buderus	160	
02.08.2000	1982	18	CU	Ja	nein	Zent	Vaillant	160	nein
02.08.2000	1988	12	CU	Ja	nein	Zent	Vaillant	150	nein
02.08.2000	1989	11	CU	Ja	nein	Zent	Vaillant	300	nein
02.08.2000	1983	17	CU	Ja	nein	Zent	Buderus	160	nein
02.08.2000	1984	16	CU	Nein	nein	Dez	Vaillant		nein
02.08.2000	1987	13	Knst.	Ja	nein	Zent	Wolff	150	nein
02.08.2000	1981	19	CU	Ja	nein	Zent	Buderus	150	nein
02.08.2000	1991	9	CU	Ja	nein	Zent	Buderus	160	nein
02.08.2000	1951		CU	Ja	nein	Zent	Vaillant	160	nein
02.08.2000	1950	15	CU	Ja	nein	Zent	EWFE Micromat	200	nein
02.08.2000	1952	13		Nein	nein	Dez	Vaillant		
02.08.2000	1950	0	CU	Ja	nein	Zent	Vaillant	160	nein
02.08.2000	1951	0	Knst.	Ja	nein	Zent			nein
02.08.2000	1950	10	CU	Ja	nein	Zent	Vies- smann	180	nein
02.08.2000	1950	0	CU	Ja	nein	Zent	Junkers	120	nein

Entnahmedatum	Baujahr	Alter d. Leitungssystems in Jahren	Material der Rohre	Zirkulationsleitung vorhanden	Unterbrechung der Zirkulation	Wasseraufbereitung	Speicher	Volumen / Liter	Temperatur.-Veränderung
02.08.2000	1951	7	CU	Ja	nein	Zent	Buderus	150	nein
03.08.2000	1998	2	CU	Ja	nein	Zent	Wikora	120	nein
03.08.2000	1997	3		Nein	nein	Zent			
03.08.2000	1998	2	CU	Ja	nein	Zent	Wolf	100	nein
03.08.2000	1998	2	CU	Ja	nein	Zent	Wolf	120	nein
03.08.2000	1998	2	CU	Nein	nein	Dez	Junkers		nein
03.08.2000	1997	3	CU	Ja	nein	Zent	Wolf	120	nein
03.08.2000	1994	6	Knst.	Ja	nein	Zent	Junkers	150	nein
03.08.2000	1994	6		Ja	nein	Zent	Junkers	150	
03.08.2000	1995	5	CU	Ja	nein	Zent	Vaillant	160	nein
03.08.2000	1912	15	Knst.						nein
03.08.2000	1997	3	CU	Ja	nein	Zent	Viesmann	85	nein
03.08.2000	1996	4	CU	Nein	nein	Dez	Junkers		nein
03.08.2000	1997	3	CU	Ja	nein	Zent	Viesmann	500	nein
03.08.2000	1969	10		Ja	nein	Zent	Buderus	160	
03.08.2000	1936	28	CU			Zent	Siemens		nein
03.08.2000	1994	6	CU	Nein	nein	Dez	Junkers	100	nein
05.08.2000	1990	10	CU	Ja	ja	Zent	SBS	210	ja/manuell
07.08.2000	1980	20	CU	Nein		Zent	Vaillant	160	nein

Entnahmedatum	Baujahr	Alter d. Leitungssystems in Jahren	Material der Rohre	Zirkulationsleitung vorhanden	Unterbrechung der Zirkulation	Wasseraufbereitung	Speicher	Volumen / Liter	Temperaturveränderung
07.08.2000	1980	20	CU	nein		Zent	Vaillant	160	nein

3.2 Auswertung

Insgesamt wurden 9 Parameter zu jeder Probe erhoben, die ausgewertet und miteinander in Verbindung gebracht wurden. Zu diesen Parametern gehörten unter anderem das Alter des Hauses und des Warmwasserleitungssystems, das Material der Rohrleitungen, Informationen zur Zirkulation des Warmwassers und die Temperatursteuerung.

Die Häuser in Münster wurden zwischen 1930 und 1996, die in Greven zwischen 1850 und 1998 gebaut.

Die Wassersysteme hatten in Münster ein Alter zwischen einigen Monaten und 50 Jahren, in Greven zwischen einigen Monaten und 45 Jahren. Das Durchschnittsalter betrug insgesamt 20,17 Jahre.

53,08 % der Rohrleitungen bestanden aus Kupfer, 13,6 % aus verzinktem Stahl, 13,63 % aus andern Materialien (Kunststoff, Stahl, Blei). In 19,27 % waren sich die Bewohner der beprobten Häuser nicht sicher, woraus die Leitungen bestanden.

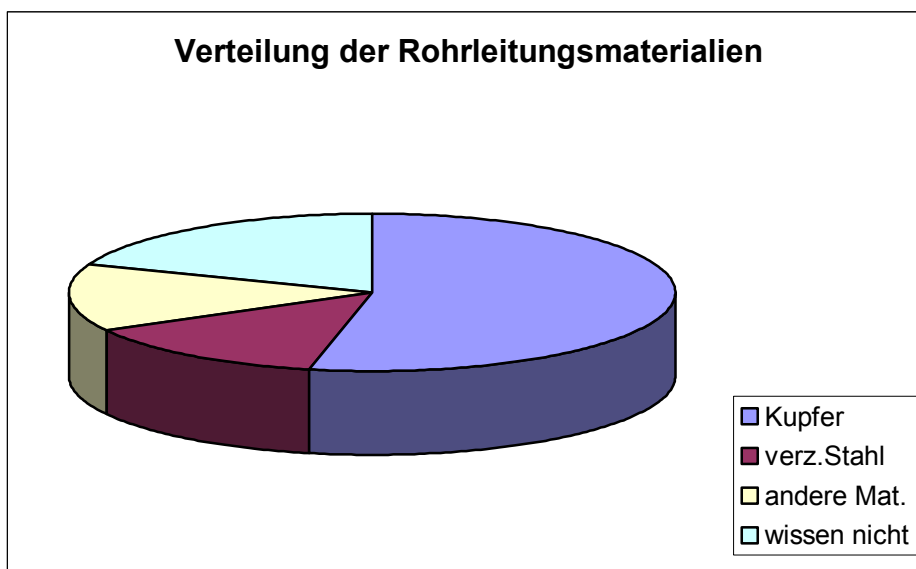


Abbildung 1

Die Frage nach einer Zirkulation des Warmwassers wurde in den meisten Fällen nicht oder nicht korrekt beantwortet. Oft waren die Bewohner nicht richtig informiert. Falls vorhanden, wurde die Zirkulation in 3 Fällen nachts unterbrochen, in 31 waren sich die Bewohner nicht sicher und in 169 Haushalten gab es keine Unterbrechung der Zirkulation.

Nach den Angaben der Bewohner wiesen 158 Haushalte eine zentrale Warmwasserversorgung auf, 42 Häuser verfügten über eine dezentrale Warmwasserversorgung (Durchlauferhitzer, Therme), 3 Haushalte wussten nicht, wie die Aufbereitung abläuft.

Das Speichervolumen der Wasserspeicher lag in Münster zwischen 50 – 600 l, in Greven zwischen 50 – 500 l.

Die Durchschnittstemperatur lag bei 50,7 °C. Das Maximum bei 70 °C und das Minimum bei 13 °C.

Eine gezielte regelmäßige Temperaturerhöhung zur Legionellenprävention wurde nur in insgesamt 19 Häusern durchgeführt, in 14 Fällen manuell und in 5 Fällen automatisch. Damit führen nur 9,4 % aller untersuchten Haushalte eine Prävention durch.

3.3 Tabelle 2; Mikrobiologische Auswertung der Warmwasserproben

Entnahme- datum	Wasser -Temp. in °C	Legionella KBE/l	Legionella SG	mg/l Cu	mg/l Zn
25.04.2000	50,0	0	neg		
25.04.2000	13,0	0	neg		
25.04.2000	45,3	0	neg		
25.04.2000	14,0	0	neg		
25.04.2000	48,3	0	neg		
25.04.2000	13,6	0	neg		
01.05.2000	67,0	0	neg	0,216	0,022
01.05.2000	62,9	0	neg	0,017	>0,01
01.05.2000	39,9	0	neg	>0,01	0,024
01.05.2000	51,9	0	neg	>0,01	>0,01
01.05.2000	62,7	0	neg	0,106	0,069
01.05.2000	60,4	0	neg	0,405	0,017
08.05.2000	58,5	0	neg	0,99	0,066
08.05.2000	52,5	0	neg	1,06	0,128
08.05.2000	54,0	0	neg	>0,01	>0,01
08.05.2000	43,5	0	neg	1,222	0,061
08.05.2000	48,0	0	neg	1,294	0,166
08.05.2000	57,0	0	neg	>0,01	>0,01
15.05.2000	58,9	0	neg	0,13	0,013
15.05.2000	46,9	0	neg	1,376	0,055
15.05.2000	67,0	0	neg	>0,01	>0,01
15.05.2000	55,6	0	neg	1,41	0,056
15.05.2000	57,0	0	neg	1,578	0,078
15.05.2000	59,0	0	neg	0,348	0,035
22.05.2000	42,8	0	neg	0,179	0,072
22.05.2000	42,0	0	neg	1,363	0,109
22.05.2000	68,0	0	neg	1,24	0,092
22.05.2000	43,0	0	neg	1,716	0,093
22.05.2000	41,9	0	neg	1,108	0,118
22.05.2000	26,9	0	neg	0,487	0,074
29.05.2000	53,4	0	neg	0,204	0,015
29.05.2000	53,0	0	neg	0,133	0,021
29.05.2000	61,9	0	neg	0,301	0,017
29.05.2000	30,9	0	neg	0,535	0,055
29.05.2000	43,0	0	neg	0,219	0,122
29.05.2000	56,2	0	neg	0,278	0,083
05.06.2000	53,0	0	neg	0,112	0,021
05.06.2000	56,5	0	neg	0,122	0,097
05.06.2000	47,5	0	neg	0,263	0,075

Entnahme- datum	Wasser -Temp. in °C	Legionella KBE/l	Legionella SG	mg/l Cu	mg/l Zn
05.06.2000	56,5	0	neg	0,202	0,01
05.06.2000	50,1	0	neg	0,1	0,071
05.06.2000	57,3	0	neg	0,097	0,017
19.06.2000	45,6	0	neg	>0,01	>0,01
19.06.2000	50,8	0	neg	0,437	0,044
19.06.2000	54,0	0	neg	0,053	0,012
19.06.2000	48,8	0	neg	0,062	0,065
19.06.2000	67,3	0	neg	0,11	0,011
19.06.2000	54,8	0	neg	>0,01	>0,01
10.07.2000	57,2	0	neg	0,274	0,176
10.07.2000	49,4	0	neg	0,092	0,034
10.07.2000	58,0	0	neg	0,208	0,12
10.07.2000	56,7	0	neg	0,164	0,092
10.07.2000	58,9	0	neg	0,096	0,184
10.07.2000	44,4	0	neg	0,152	0,065
17.07.2000	34,5	0	neg	0,049	0,119
17.07.2000	47,0	0	neg	0,162	0,114
17.07.2000	52,0	0	neg	0,208	0,026
17.07.2000	55,4	0	neg	0,247	0,037
17.07.2000	44,5	0	neg	0,067	1,136
17.07.2000	56,0	0	neg	0,079	0,099
17.07.2000	51,2	0	neg	0,114	0,346
17.07.2000	51,8	0	neg	0,251	0,074
17.07.2000	55,4	0	neg	0,297	0,084
17.07.2000	56,0	0	neg	0,133	0,097
17.07.2000	58,1	0	neg	0,443	0,038
17.07.2000	65,4	0	neg	0,073	0,054
17.07.2000	54,4	0	neg	0,357	0,067
17.07.2000	45,9	0	neg	0,305	0,166
17.07.2000	61,7	0	neg	0,079	0,206
17.07.2000	43,4	0	neg	0,09	0,04
18.07.2000	61,6	0	neg	1,149	0,069
18.07.2000	49,1	0	neg	1,331	0,149
18.07.2000	45,0	0	neg	0,467	0,107
18.07.2000	54,0	0	neg	0,603	0,277
18.07.2000	48,0	0	neg	0,838	0,055
18.07.2000	51,6	0	neg	0,556	0,143
18.07.2000	66,8	0	neg	0,554	0,061
18.07.2000	53,0	12	SG 6	0,806	0,097
18.07.2000	56,4	0	neg	0,665	0,097
18.07.2000	48,7	0	neg	1,437	0,077
18.07.2000	61,4	0	neg	0,366	0,045
18.07.2000	50,0	4.000	SG 6	0,117	0,496

Entnahme- datum	Wasser -Temp. in °C	Legionella KBE/l	Legionella SG	mg/l Cu	mg/l Zn
18.07.2000	48,8	11.000	SG 6	0,839	0,302
19.07.2000	58,1	0	neg	0,212	0,106
19.07.2000	67,0	0	neg	0,242	0,133
19.07.2000	53,3	0	neg	0,425	0,06
19.07.2000	45,4	0	neg	0,201	0,042
19.07.2000	56,6	0	neg	0,151	0,063
19.07.2000	67,2	0	neg	0,33	0,098
19.07.2000	41,8	0	neg	0,085	0,171
19.07.2000	54,7	0	neg	0,092	0,175
19.07.2000	51,5	0	neg	0,11	0,07
19.07.2000	56,9	0	neg	0,313	0,162
19.07.2000	46,1	0	neg	0,243	0,112
19.07.2000	56,2	0	neg	0,244	0,091
19.07.2000	49,4	0	neg	0,26	0,081
19.07.2000	55,2	0	neg	0,201	0,135
19.07.2000	56,7	0	neg	0,159	0,15
19.07.2000	44,3	0	neg	0,159	0,248
19.07.2000	69,4	0	neg	0,25	0,097
20.07.2000	48,3	0	neg	0,25	0,108
20.07.2000	59,4	0	neg	0,625	0,109
20.07.2000	51,3	0	neg	0,784	0,189
20.07.2000	41,5	0	neg	0,083	0,062
20.07.2000	48,9	0	neg	0,133	0,067
20.07.2000	40,7	0	neg	0,292	0,148
20.07.2000	55,8	0	neg	0,158	0,223
20.07.2000	45,0	0	neg	0,415	0,125
20.07.2000	45,0	0	neg	0,201	0,193
20.07.2000	53,3	0	neg	0,392	0,204
22.07.2000	45,1	0	neg	0,05	0,137
24.07.2000	48,0	0	neg	0,068	0,159
24.07.2000	51,8	0	neg	0,099	0,028
24.07.2000	56,6	0	neg	0,336	0,036
24.07.2000	54,1	0	neg	0,222	0,048
24.07.2000	46,6	0	neg	0,31	0,114
24.07.2000	42,7	0	neg	0,262	0,012
24.07.2000	60,1	0	neg	0,142	0,062
24.07.2000	44,0	0	neg	0,065	0,064
24.07.2000	70,0	0	neg	0,283	0,032
24.07.2000	46,1	0	neg	0,132	0,052
24.07.2000	54,7	0	neg	0,133	0,125
25.07.2000	46,3	0	neg	0,176	>0,01
25.07.2000	55,7	0	neg	0,108	0,016
25.07.2000	44,2	0	neg	0,139	>0,01

Entnahme- datum	Wasser -Temp. in °C	Legionella KBE/l	Legionella SG	mg/l Cu	mg/l Zn
25.07.2000	51,5	0	neg	0,13	0,044
25.07.2000	61,5	0	neg	0,137	>0,01
25.07.2000	35,8	0	neg	0,149	>0,01
25.07.2000	48,1	0	neg	0,183	0,06
25.07.2000	46,8	0	neg	0,118	0,016
25.07.2000	44,4	0	neg	0,369	0,012
25.07.2000	45,4	0	neg	0,256	0,019
25.07.2000	34,5	0	neg	0,144	0,015
25.07.2000	43,4	0	neg	0,234	0,013
25.07.2000	53,0	0	neg	0,165	0,02
25.07.2000	66,1	0	neg	0,34	0,06
31.07.2000	56,7	12.000	SG3	0,143	0,015
26.07.2000	46,0	13.000	SG1	0,63	0,147
26.07.2000	56,7	0	neg	0,692	0,045
26.07.2000	37,6	1.000	SG1	0,704	0,08
26.07.2000	43,0	0	neg	0,453	0,058
26.07.2000	52,0	0	neg	0,41	0,11
26.07.2000	48,0	0	neg	0,22	0,104
26.07.2000	61,6	0	neg	0,55	0,875
26.07.2000	47,3	0	neg	0,744	0,043
26.07.2000	28,2	0	neg	0,045	0,299
26.07.2000	37,1	1.000.000	SG6	0,985	0,461
26.07.2000	50,0	0	neg	0,369	0,198
26.07.2000	34,6	26.000	SG1	0,776	0,279
31.07.2000	55,0	0	neg	0,266	0,012
31.07.2000	48,4	0	neg	0,113	0,024
31.07.2000	50,9	0	neg	0,07	0,017
31.07.2000	54,5	0	neg	0,299	0,015
31.07.2000	56,4	0	neg	0,374	0,273
31.07.2000	53,7	0	neg	0,128	>0,01
31.07.2000	48,8	0	neg	0,439	0,05
31.07.2000	44,6	0	neg	0,363	0,011
31.07.2000	52,2	0	neg	0,176	0,086
31.07.2000	20,3	0	neg	0,081	0,294
31.07.2000	51,9	0	neg	0,486	0,051
31.07.2000	50,6	0	neg	0,368	0,014
31.07.2000	58,0	0	neg	0,378	>0,01
31.07.2000	61,2	0	neg	0,464	0,089
31.07.2000	38,8	0	neg	0,076	0,061
02.08.2000	68,7	0	neg	0,237	0,024
02.08.2000	51,3	0	neg	0,327	0,032
02.08.2000	55,0	0	neg	0,443	0,052
02.08.2000	54	0	neg	0,309	0,017

Entnahme- datum	Wasser -Temp. in °C	Legionella KBE/l	Legionella SG	mg/l Cu	mg/l Zn
02.08.2000	46,1	0	neg	0,462	0,011
02.08.2000	43,9	0	neg	0,342	0,011
02.08.2000	56,8	0	neg	2,252	0,066
02.08.2000	61,2	0	neg	0,454	0,025
02.08.2000	45,0	0	neg	0,609	0,033
02.08.2000	43,1	0	neg	0,082	0,037
02.08.2000	45,6	0	neg	0,556	0,029
02.08.2000	42,1	0	neg	0,347	0,017
02.08.2000	48,0	0	neg	0,222	0,018
02.08.2000	57,0	0	neg	0,688	0,022
02.08.2000	47,7	0	neg	0,205	0,09
02.08.2000	46,3	0	neg	0,228	0,027
02.08.2000	60,3	0	neg	0,583	0,025
02.08.2000	54,3	0	neg	0,48	0,008
02.08.2000	59,4	0	neg	0,257	0,048
02.08.2000	64,8	0	neg	0,176	0,011
03.08.2000	50,0	0	neg	0,116	0,021
03.08.2000	51,1	0	neg	0,64	0,02
03.08.2000	37,7	0	neg	0,563	0,083
03.08.2000	51,7	3.000	SG4	0,693	0,034
03.08.2000	55,0	0	neg	0,118	0,023
03.08.2000	57,8	0	neg	0,406	0,02
03.08.2000	50,0	0	neg	0,515	0,062
03.08.2000	50,5	0	neg	0,291	0,019
03.08.2000	53,0	0	neg	0,391	0,028
03.08.2000	55,1	0	neg	0,652	0,041
03.08.2000	51,8	4	SG1	0,354	0,015
03.08.2000	40,3	0	neg	0,663	0,03
03.08.2000	49,3	0	neg	0,536	0,06
03.08.2000	45,0	0	neg	0,48	0,163
03.08.2000	63,0	0	neg	0,353	0,341
03.08.2000	45,1	0	neg	0,339	0,015
05.08.2000	41,5	0	neg	0,285	0,022
07.08.2000	47,0	0	neg	0,497	0,07
07.08.2000	44,4	0	neg	0,556	0,116

3.4 Beschreibung der Ergebnisse

Von 203 Proben konnten 10 positive Legionellennachweise mit Hilfe der vorgenannten Methoden geführt werden. Alle isolierten Legionellen wurden als *Legionella pneumophila* identifiziert.

Weiterhin konnten die isolierten Legionellen folgenden Serogruppen zugeordnet werden:

Proben 149, 138, 140, 195 der Serogruppe 1; Probe 137 der Serogruppe 3; Probe 188 der Serogruppe 4; Proben 78, 82, 83 und 147 der Serogruppe 6.

Die Warmwassertemperatur aller Proben mit positiven Legionellenbefunden lag unter 55 °C, mit Ausnahme der Probe 137, deren Temperatur 56,7 °C betrug.

Die niedrigste Temperatur der vorgenannten Proben hatte Probe 149 mit 34,6 °C.

Alle Proben mit positiven Legionellennachweisen stammen aus Häusern mit einer zentralen Wasseraufbereitung.

Tabelle 3: Zusammenfassende Auswertung

Auswertung aller Proben								
Häuser/ Proben	Temperatur in °C	Temperatur erhöhung	Mat./Rohre	Material- Anteil in %	Alter der Häuser	Alter des Warm- wasser- systems	Wasser- Erwärmung	Warmwasser- speicher Volumen in l
198	Mittelwert	ja	Cu	53,08	2-150 Jahre	0-50 Jahre	zentral 158 dezentral 42 unbekannt 3	50-600
	50,7	19						
	Maximum	manuell.	verz. Stahl	13,6				
	70,0	14						
Minimum	autom.	andere	13,63					
13,0	5							
			wissen nicht	19,27				
Auswertung der Proben mit positivem Legionellenbefund								
10	Mittelwert	ja	Cu	66,7	2-139	0-44	zentral 10 dezentral 0	85-350
	46,7	1						
	Maximum	manuell	verz. Stahl	11,1				
	56,7	0						
Minimum	autom.	Cu-Ksnt-G.	11,1					
34,6	1							
			unb.	11,1				

3.5 Analyse der Proben mit positiven Legionellennachweisen

Das Baujahr der Häuser, aus denen die Proben mit positiven Legionellenbefunden genommen wurden, lag zwischen 1861 und 1998. Die Wassersysteme hatten ein durchschnittliches Alter von 13,9 Jahren.

Die Rohrleitungen bestanden zu 66,7 % aus Kupfer, zu je 11,1 % aus verzinktem Stahl oder gemischten Installationssystemen (teilw. Kupferleitungen/teilw. Leitungen aus verz. Stahl). Bei ebenfalls 11,1 % ist die Zusammensetzung nicht bekannt. Den Angaben der Hausbewohner zufolge waren alle diese Häuser mit einer Zirkulationsleitung im Warmwasserleitungssystem ausgestattet. Diese war nachts nicht unterbrochen. Die Warmwasseraufbereitung war bei allen Häusern zentral.

Das Speichervolumen des Warmwasserspeichers lag zwischen 85 und 350 l. Der Mittelwert der Warmwassertemperatur bei den Proben mit positiven Legionellenbefunden während der Erstbeprobung lag bei 46,73 °C, das Minimum bei 34,6 °C und das Maximum bei 56,7 °C. Eine temporäre Erhöhung der Temperatur im Sinne einer Legionellenprävention wurde in keinem Haus durchgeführt.

3.6 PFGE-Ergebnisse

Um Verwandtschaftsgrade ausfindig zu machen und daraus ggf. auf den Besiedlungsursprung zurück zu schließen, wurden die gefundenen Legionellenstämme mittels Pulsfeldgelelektrophorese untersucht. Folgende Proben durchliefen die PFGE:

3.6.1 Lauf A

Bandennummer	Marker				
1	Marker				
2	ju 78	1 ml	SG 6	I	
3	ju 82	1 ml	SG 6	II	
4	ju 82 a	1 ml	SG 6	III	
5	ju 82 d	100 ml	SG 6	IV	
6	ju 83	1 ml	SG 6	V	
7	ju 83 c	1 ml	SG 6	VI	
8	ju 83 d	1 ml	SG 6	VII	
9	ju 83 e	1 ml	SG 6	VIII	
10	ju 78a	1 l	SG 6	X	
11	ju 78d	1 l	SG 6	XI	
12	ju 147a	1 ml	SG 6	XII	
13	ju 140b	100 ml	SG 6	XIII	
14	ju 188	1 l	SG 4	XXIV	
15	Marker				

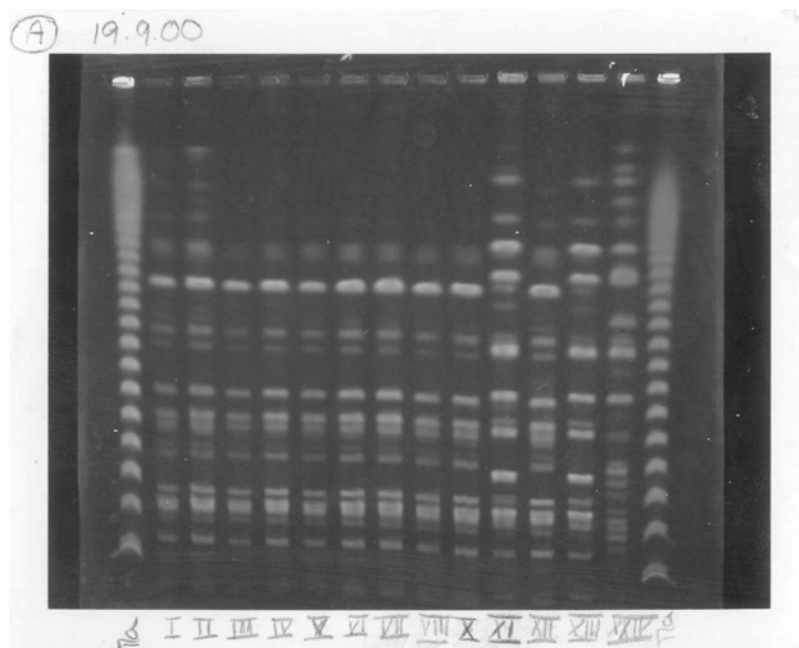


Abbildung 2 PFGE - Lauf A

Die Proben 78, 78a, 82, 82a, 82d, 83, 83c, 83d, 83e und 147a weisen ein übereinstimmendes Bandenmuster auf. Gleiches gilt für die Proben 78d und 140b.

Alle diese Proben haben die Serogruppe 6.

Es liegen zwei verschiedene Subtypen dieser Serogruppe vor. Beide Subtypen existieren nebeneinander in einem Haus.

Die DNA der Probe 188 stimmt mit keiner anderen überein.

3.6.2 Lauf B

Bandennummer					
1	Marker				
2	ju 137	1 ml	SG 3	XIV	
3	RT 67	1 ml	SG 3	XV	
4	ju 140a	1 l	SG 1	XVI	
5	ju 195	1 ml	SG 1	XVIII	
6	ju 149	1 ml	SG 1	XIX	
7	ju 149a	1 ml	SG 1	XX	
8	ju 149b	1 ml	SG 1	XXI	
9	ju 138a	1 ml	SG 1	XXIII	
10	ju 138b	1 ml	SG 1	XXV	
11	ju 147b	1 ml	SG 6	XXVI	
12	ju 147	1 ml	SG 6	IX	
13	ju 147c	1 ml	SG 6	XXVII	
14	ju 147d	1 ml	SG 6	XXVIII	
15	Marker				

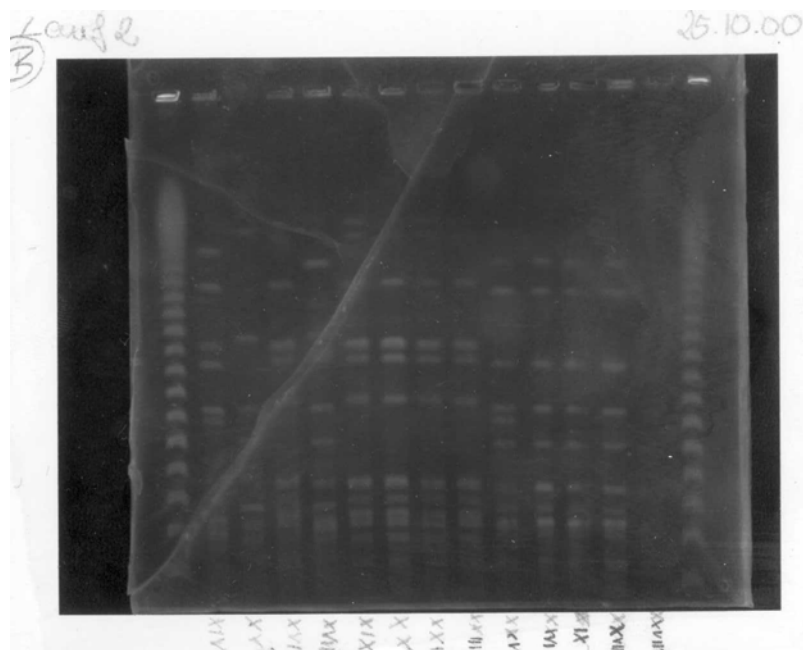


Abbildung 3 PFGE - Lauf B

Ein stark übereinstimmendes Bandenmuster haben die Proben 137, 140a, 149, 149a, 149b 195 und 138a.

Identisch sind auch 147 ,147b, 147c und 138b.

Die Probe RT 67 ist mit keiner Probe identisch.

Probe 147d kann nicht beurteilt werden, da das Bandenmuster durch die schwache Färbung nicht gut zu erkennen ist.

3.6.3 Lauf C

In diesem Durchlauf werden nur die Proben beobachtet,

- 1) bei denen die Aussagen bisher nicht klar getroffen werden konnten;
- 2) die miteinander verglichen werden sollen und vorher in verschiedenen Läufen waren.

Bandennummer					
1	Marker				
2	ju 78	1 ml	SG 6	I	
3	ju 78d	1 l	SG 6	XI	
4	ju 147	1 ml	SG 6	IX	
5	ju 147a	1 ml	SG 6	XII	
6	ju 147d	1 ml	SG 6	XXVIII	
7	ju 140b	100 ml	SG 6	XIII	
8	ju 140a	1 ml	SG 1	XVI	
9	ju 138				
10	ju 138a	1 ml	SG 1	XXIII	
11	ju 138b	1 ml	SG 1	XXV	
12	ju188	1 l	SG 4	XXIV	
13					
14					
15	Marker				

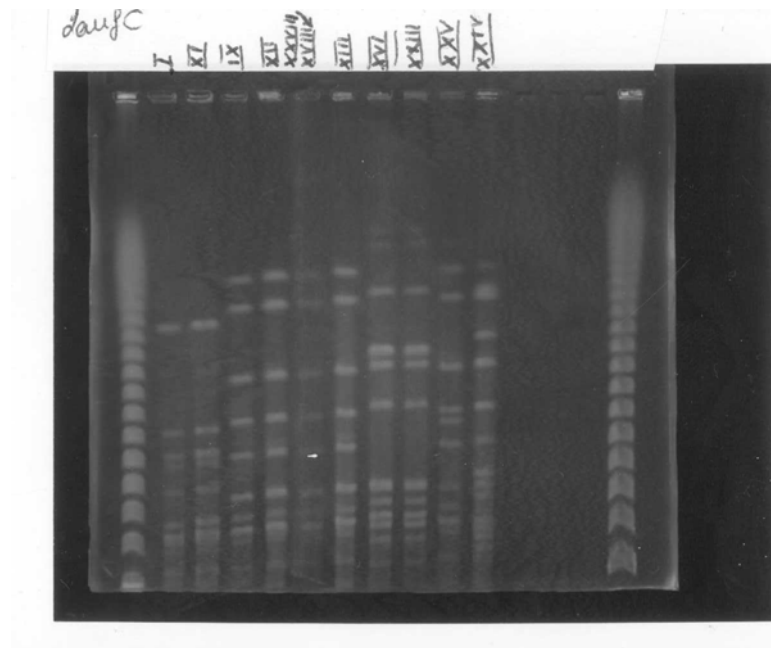


Abbildung 4 PFGE - Lauf C

Das Bandenmuster folgender Proben ist identisch: 78 und 78a; 147, 147a, 147d und 140b (alle Serogruppe 6); 140a mit 138a (beide Serogruppe 1). 138b (Serogruppe 1) und 188 (Serogruppe 4) sind jeweils mit keiner der anderen Proben identisch.

Überblick

In der Gesamtzusammenfassung erweisen sich die Stämme folgender Proben als identisch:

1)	78 , 78a , 78d (SG 6)	Handorf
	82 , 82a , 82d (SG 6)	Handorf
	83 , 83c , 83d , 83e (SG 6)	Handorf
2)	138b (SG 1)	St.Mauritz
	140b (SG 6)	St.Mauritz
	147 , 147a , 147b , 147c , 147d (SG 6)	St.Mauritz
3)	137 (SG 3)	Greven
	138a (SG 1)	St.Mauritz
	140a (SG 1)	St. Mauritz
	149 , 149a , 149b (SG 1)	St.Mauritz

Die geographische Verteilung zeigt eine Häufung der positiven Funde vor allem in MS-Handorf und MS-St.Mauritz, wobei in Handorf nur die Serogruppe 6, in St.Mauritz die Serogruppe 1 und 6 isoliert werden konnten.

3.7 Ergebnisse der Kontrollbeprobung

Etwa ein Jahr nach der Erstbeprobung wurden erneut Warmwasserproben aus den Häusern entnommen, in deren Proben vormals Legionellen nachgewiesen werden konnten

Von den 10 Häusern konnten nur 8 erneut beprobt werden.

In 5 der Übrigen konnten trotz Temperaturerhöhung im Warmwasserspeicher und dem Warmwasser führenden System erneut Legionellen nachgewiesen werden, wobei in einem Haus zwei Proben entnommen wurden, aber nur eine einen positiven Legionellenbefund aufzeigte.

Das heißt von den insgesamt 9 Proben hatten 5 (82f, 138c, 140c, 147e, 149f) einen positiven Legionellenbefund und 4 (82e, 83g, 137e, 195c) einen negativen.

Die Proben 82e und 82f stammen aus demselben Haus und wurden in der Küche (82e) und im Bad 1. Stock (82f) entnommen. Die Rohre zur und in der Küche waren zwischenzeitlich erneuert worden.

Der Einfluss der Temperaturerhöhung im Warmwasser führenden System ist in der Tabelle 4 dargestellt.

Tabelle 4: Koloniebildende Einheiten (Legionellen) vor und nach Temperaturerhöhung

Probenr.	Datum	Temp.in °C	KBE/l
ju 82	18.07.2000	50,0	4.000
ju 82 e	29.08.2001	62,0	0
Ju 82 f	29.08.2001	57,0	49
ju 83	18.07.2000	48,8	11.000
ju 83 f	09.08.2000	67,0	0
ju 83 g	29.08.2001	60,0	0
ju 137	31.07.2000	56,7	12.000
ju 137 e	29.08.2001	62,0	0
ju 138	26.07.2000	46,0	13.000
ju 138 c	29.08.2001	55,5	60
ju 140	26.07.2000	37,6	1.000
ju 140 c	29.08.2001	57,0	12.000
ju 147	26.07.2000	37,1	1.000.000
ju 147 c	31.08.2000	57,0	2.000
ju 147 e	29.08.2001	44,3	12.000
ju 149	26.07.2000	34,6	26.000
ju 149 a	09.08.2000	45,0	30.000
ju 149 c	25.09.2000	50,8	200
ju 149 f	29.08.2001	55	700
ju 195	03.08.2000	51,8	4
ju 195 c	29.08.2001	65,0	0

Von den 5 Proben mit positivem Legionellenbefund muss die Probe 138c gesondert beurteilt werden, da es durch die temporäre Temperaturerhöhung zu einer starken Reduktion der Legionellenbesiedlung kam. Diese bewegte sich in der Größenordnung von 13.000 KBE/l zu 60 KBE/l. Gleiches gilt für die Proben 147c und 149c und 149f. In diesen Häusern kam es zur Reduktion von 1.000.000 KBE/l auf 2.000 KBE/l bzw. 30.000 KBE/l auf 200 bzw. 700 KBE/l.

Eine Erhöhung der Temperatur hat somit in allen Fällen zu einer erheblichen Reduktion der Legionellenbesiedlung geführt.

3.8 Fallbeispiel

Eine der Beprobungen fand in Münster - St. Mauritz in einem sehr großen Einfamilienhaus statt. Die Erstbeprobung erfolgte im Sommer 2000: Bei einer Wassertemperatur von 37,1 °C konnte der Maximalwert von 1.000.000 KBE/l Legionellen ermittelt werden. Nach einer unzureichenden Erhöhung der Temperatur auf 41,3 °C stagnierte die Keimzahl.

Erst nach Temperaturerhöhung auf 57 °C verringerte sich die Besiedlung sehr deutlich auf 2.000 KBE/l.

Ein Jahr später wurde erneut eine Probe genommen. Die Wassertemperatur war zwischenzeitlich wieder gesenkt worden (44,3 °C) und es wurden wiederum 12.000 KBE/l Legionellen gefunden.

3.9 Ergebnisse der Schwermetalluntersuchungen

Die maximale Kupfer-Konzentration betrug 2,252 mg/l, die minimale lag unter 0,01 mg/l. Der Mittelwert war 0,37 mg/l. Nur 3 Wasserproben enthielten mehr als 1,5 mg/l.

Der Maximalwert an Zink war 1,136 mg/l, der Minimalwert <0,01 mg/l. Der Mittelwert betrug 0,09 mg/l.

Der Kupfergehalt der Proben mit positivem Legionellenbefund lag zwischen 0,35 und 0,985 mg/l, der Gehalt an Zink zwischen 0,08 und 0,467 mg/l.

4. Diskussion

Ziel dieser Arbeit war es zu untersuchen, ob auch in Warmwassersystemen von Ein- und Zweifamilienhäusern die Gefahr einer Besiedelung mit Legionellen, dem Erreger der Legionärskrankheit, besteht.

4.1 Bewertung der Ergebnisse

In 5 % aller untersuchten Häuser wurde eine Besiedelung der Warmwassersysteme mit Legionellen der Spezies *Legionella pneumophila* gefunden.

Sowohl das Alter der Häuser, als auch das des Wasserleitungssystems spielte im Zusammenhang mit der Legionellenbesiedelung keine Rolle. Darin stimmt die vorliegende Arbeit mit anderen überein [20, 23, 25].

Auch zum Leitungsmaterial zeigte sich keine Korrelation. Die Rohre der Häuser, aus denen die Proben mit den positiven Legionellenbefunden stammen, bestanden zu 66,7 % aus Kupfer. Allerdings ist dies auch das Material, das am häufigsten verwandt wurde (53,08 % aller Proben). Eine Übereinstimmung fand sich in der Studie von Walden [20], die ebenfalls keinen unmittelbaren Einfluss von Kupferrohren auf die Besiedelung oder das Wachstum von Legionellen feststellen konnte. States [48] wies dagegen eine positive Korrelation zwischen Kupfer und dem Wachstum von Legionellen nach, die aber nicht statistisch signifikant war. Der Kupfergehalt lag bei unseren Proben mit positivem Legionellenbefund zwischen 0,35 und 0,985 mg/l.

In dieser Studie kann keine prinzipielle Korrelation zwischen der Größe des Warmwasserspeichers und der Verkeimung festgestellt werden. Die Warmwasserspeicher, aus denen die Proben mit positiven Legionellennachweisen stammen, hatten ein Volumen, das zwischen 85 und 350 l lag.

Alle zehn Häuser, in denen Legionellen nachgewiesen werden konnten, verfügten über eine zentrale Warmwasserversorgung mit Zirkulation.

Es wird deutlich, dass Probleme mit einer Besiedlung von Legionellen nur bei Warmwassersystemen auftreten, die ein Zirkulationssystem aufweisen und somit die gleiche Technik verwenden, wie sie in Großgebäuden verwandt wird.

Arnow et al. [33] untersuchten im Juli 1985 95 Apartments und Häuser in Chicago. Dabei fanden sie eine Besiedlungsrate mit Legionellen von 32 %. In ihrer Arbeit zeigten sie auf, dass die Temperatur der entscheidende Grund für die Anwesenheit und Vermehrung von Legionellen ist. Sie zeigten deutlich, dass eine Temperatur unter 60 °C die Besiedlung und Vermehrung der Legionellen begünstigt. Dies entspricht auch den Ergebnissen der vorliegenden Studie.

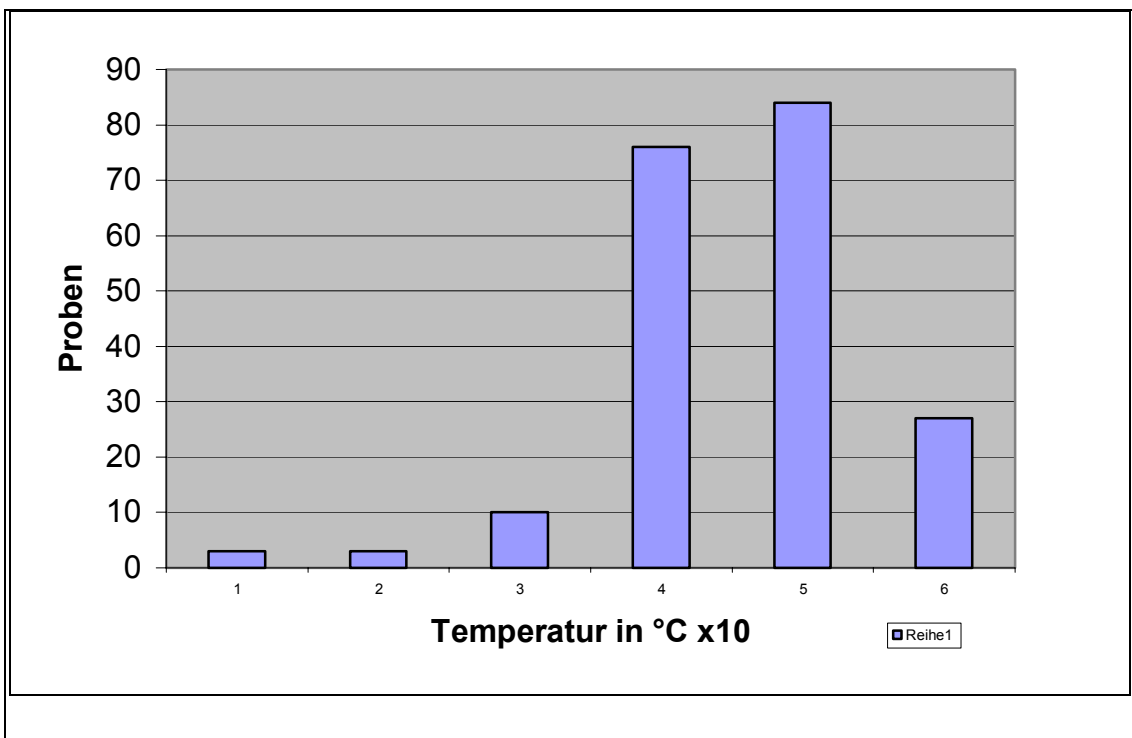


Abbildung 5: Gesamtprobenverteilung im Verhältnis zur gemessenen Warmwasser-Temperatur

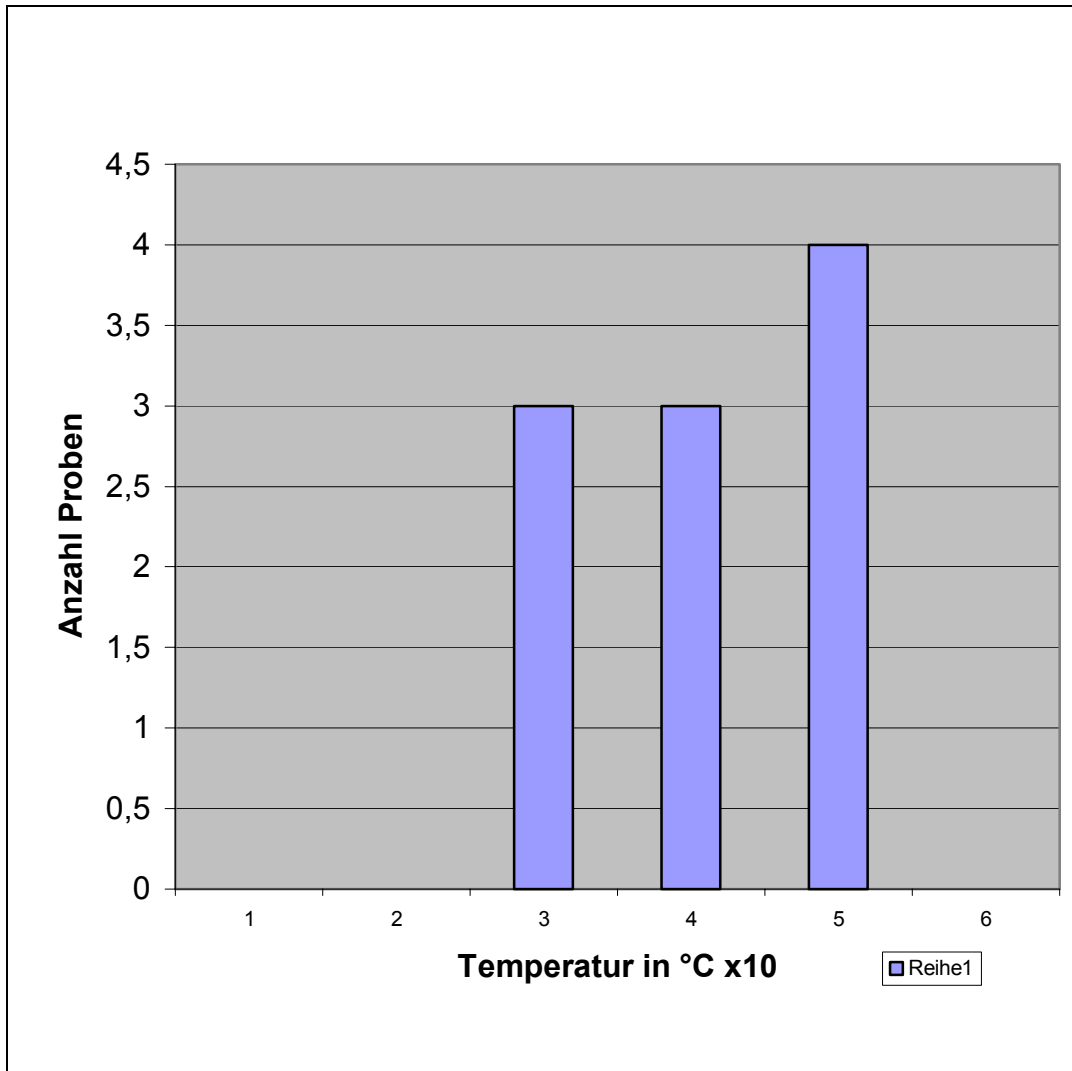


Abbildung 6: Probenverteilung im Verhältnis zur gemessenen Warmwasser-Temperatur bei Proben mit positivem Legionellennachweis

Nachweise von Legionellen konnten ausschließlich in Warmwasser mit Temperaturen zwischen 30 und 50 °C gemacht werden.

Eine Temperaturerhöhung hatte immer eine Reduktion von Legionellen zur Folge. Wurde diese auf über 60 °C angehoben, war ein Nachweis von Legionellen nicht mehr möglich.

Nur in sehr wenigen Häusern (19 von 198) wurde eine kurzfristige, regelmäßige temporäre Erhöhung der Temperatur zur Legionellenprävention durchgeführt. In der Literatur sind nur wenige Artikel zu diesem Thema zu finden [20, 33, 35, 37, 51].

Die Proben mit positiven Legionellennachweisen wurden in großer geographischer Nähe zueinander und größtenteils in zwei verschiedenen Stadtteilen gewonnen (MS-Handorf u. MS-St.-Mauritz). Sie wiesen sehr nahe Verwandtschaftsgrade auf. Die Besiedelung nah stehender Häuser mit identischen Legionellenstämmen muss aus ein- und derselben Quelle geschehen sein, u.U. aus dem kommunalen Versorgungsnetz.

4.2 Vergleich der Ergebnisse

Das Hauptaugenmerk bisheriger Legionellenuntersuchungen war auf große Komplexe wie Krankenhäuser oder Hotels ausgerichtet. Vergleicht man die Werte mit Arbeiten, in denen Krankenhäuser oder andere Großkomplexe untersucht wurden, liegt die hier nachgewiesene Besiedelungsrate weit unter den veröffentlichten Werten von 26 % [51], 30 % [32] und 32 % [22, 33].

Dies könnte damit zusammenhängen, dass in Ein- und Zweifamilienhäusern die Vorlauftemperaturen immer noch höher liegen als bei Großgebäuden. Die Untersuchungen zeigen jedoch, dass beim Unterschreiten einer Warmwassertemperatur von 50°C auch in kleineren Häusern mit dem Auftreten von Legionellen gerechnet werden muss.

Insgesamt liegen nur fünf Untersuchungen vor, in denen einen Vergleich zwischen großen und kleinen Häusern [20, 33, 35, 37, 51] vorgenommen wird. Dabei liegen allerdings keine eindeutigen Größenangaben vor, so dass nur ein unzureichender Vergleich mit den vorliegenden Ergebnissen möglich ist.

So beschreiben z.B. Zietz et al. [51] die Beprobung von 11 privaten Haushalten von insgesamt 70 Gebäuden in Göttingen. Nur in einem dieser Haushalte wurde eine Legionellenbesiedlung festgestellt, das macht knapp 6 % aus.

Arnow et al. [33] fanden 1985 eine Besiedlungsrate von 32 % und machten vor allem die Systemtemperatur als Ursache für die Verkeimung verantwortlich.

Sabine Walden [20] isolierte 1992 aus 15,15 % der untersuchten Ein- und Zweifamilienhäusern (insgesamt 33) Legionellen.

Mathys untersuchte in seiner Studie von 1990 [37] 180 Einfamilienhäuser, und somit kann diese als vergleichbare Arbeit zur aktuellen gewertet werden. Allerdings spricht er in der Arbeit von „einer geringen Besiedelung“ der Privathaushalte mit Legionellen, was durch den hohen Anteil an Durchlauferhitzern zu Warmwasserbereitung erklärt werden kann.

Anfälliger für die Besiedlung mit Legionellen sind bei weitem die Zirkulationssysteme bzw. allgemein die zentrale Wassererwärmung. Dies wird in der vorliegenden Arbeit ganz eindeutig dargestellt. Offensichtlich hat mit der Einführung der Großgebäudetechnik auch die Problematik dieser Komplexe in die Ein- und Zweifamilienhäuser Einzug gehalten. Da immer mehr der kleineren Gebäude durch eine zentrale Warmwasseraufbereitung versorgt werden, ist die Zahl der möglicherweise gefährdeten Systeme stark angestiegen. Unsere Untersuchungen zeigen, dass ein prinzipieller Unterschied zwischen Ein- bzw. Zweifamilienhäusern und Großgebäuden nicht vorhanden ist. Vielmehr treten in Kleinanlagen die gleichen Probleme auf wie in Großanlagen, wenn die Randbedingungen vergleichbar sind.

Aus diesem Grund ist die in manchen technischen Regeln praktizierte Unterscheidung in Klein- und Großanlagen nicht mehr sinnvoll. Es ist deshalb zu begrüßen, dass in Arbeitsblatt W551 des Deutschen Vereins des Gas- und Wasserfaches zumindest empfohlen wird, Kleinanlagen entsprechend den Regeln für Großanlagen zu betreiben. Unsere Analysen

zeigen deutlich, dass eine Warmwassertemperatur von 55 °C im gesamten System nicht unterschritten werden sollte und bestätigen damit die Vorgaben des Arbeitsblattes W551.

5. Literaturverzeichnis

- (1) BGA. Empfehlungen des Bundesgesundheitsamtes zur Vermeidung einer Legionella-Infektion. In: Seidel K. Legionellen Beiträge zur Bewertung eines hygienischen Problems, Seidel K, Seeber E, Hässelbarth. Verein für Wasser-,Boden-und Lufthygiene Berlin: Fischer 1987;159-162
- (2) BGA. Legionellen und Legionellose. Bundesamt für Gesundheit 2002 www.bga.admin.ch/infekt/krank/legio/d/
- (3) Balows A. Microbiology of Legionella. In: Legionella - Proceedings of the 2nd International Symposium, American Society for Microbiology, Washington DC, 1984;109-112
- (4) Bakerville A. Pathology and pathophysiology. In: Legionella- Proceedings of the 2nd International Symposium, American Society for Microbiology, Washington DC 1984;136-140
- (5) Bösenberg A. Untersuchung zur Prävention aquatisch bedingter nosokomialer Infektionen, insbesondere durch Legionellen. Münster (Westf.), Westfälische-Wilhelmsuniversität: Diss. 1992
- (6) Burger H. Gerätetechnische Voraussetzungen für hygienische Trinkwassererwärmung. In: Seidel K. Legionellen II Neue Beiträge zur Bewertung eines hygienischen Problems, Bd 2. Leschber R, Lahmann E. Schriftenreihe des Vereins für Wasser-, Boden- und Lufthygiene Berlin: Fischer 1993;2:99-104
- (7) Cunliffe DA. Inactivation of Legionella pneumophila by monochloramine. IJ. Appl. Bact. 1990; 68:453-459
- (8) Finegold SM. Clinical features and laboratory diagnosis. In: Legionella-Proceedings of the 2nd International Symposium, American Society for Microbiology, Washington DC 1984; 49-52
- (9) Furth R. Van. Some views on the immune responses in Legionella-infections. In: Legionella-Proceedings of the 2nd International Symposium, American Society for Microbiology, Washington DC 1984;199-201

- (10) Graevenitz A. Von. Die Familie der Legionellaceae – Legionellosen. In: Lehrbuch der medizinischen Mikrobiologie, 6. Auflage Brandis H., Pulverer G. 1988; 391-92
- (11) Green PN. Efficacy of biocides on laboratory-generated Legionella biofilms. Letters in Applied Microbiology 1993; 17: 158-161
- (12) Groothuis DG. Niederländische Erfahrungen mit Legionellose-Ausbrüchen. In: Legionellen II Neue Beiträge zur Bewertung eines hygienischen Problems, Bd 2. Leschber R, Lahmann E. Schriftenreihe des Vereins für Wasser-, Boden- und Lufthygiene Berlin: Fischer 1993; 2: 59-68
- (13) Knudson GB. Photoreactivation of UV-Irradiated Legionella pneumophila and other Legionella species. Appl. Environ. Microbiol. Apr. 1985; 975-80
- (14) Kohnke HJ. Stand der Technik und neue Entwicklungen bei Warmwasserbereitern. In: Seidel K. Legionellen Beiträge zur Bewertung eines hygienischen Problems, Seidel K, Seeber E, Hässelbarth. Verein für Wasser-, Boden- und Lufthygiene Berlin: Fischer 1987; 77-81
- (15) Müller HE. Experimental studies of detection and processing of Legionella spp. in public drinking water supplies. Zentralbl-Bakteriol-Mikrobiol-Hyg-B. 1988; 186/1: 73-78
- (16) Müller HE. Das Legionella-Infektionsrisiko und seine Verhinderung durch hygienetechnische Maßnahmen. Dt. Med. Wschr. 1989; 114: 1754-59
- (17) Rowbotham TJ. Legionellae and Amoeba. In: Legionella- Proceedings of the 2nd International Symposium, American Society for Microbiology, Washington DC 1984; 325-327
- (18) Ruf B. Klinik und Therapie der Legionella-Infektion. In: Legionellen II Neue Beiträge zur Bewertung eines hygienischen Problems, Bd 2. Leschber R, Lahmann E. Schriftenreihe des

Vereins für Wasser-, Boden- und Lufthygiene Berlin: Fischer 1993;2:13-21

- (19) Schumacher W. Zur Frage der Anwendung des Bundes-Seuchengesetzes. In: Seidel K. Legionellen Beiträge zur Bewertung eines hygienischen Problems, Seidel K, Seeber E, Hässelbarth. Verein für Wasser-, Boden- und Lufthygiene Berlin: Fischer 1987;11-13
- (20) Walden S. Auftreten von Legionellen in häuslichen Installationssystemen unter Beachtung mikrobiologischer und chemischer Begleitparameter. Mainz, Johannes Gutenberg-Universität: Med Diss. 1992
- (21) WHO, regional Office for Europe. Environmental health aspects for control of Legionellosis. Recommendations of the WHO, Copenhagen 1986. In: Schriftenr. Ver. Wasser Boden Lufthyg., 1993; 91:249-251
- (22) Arnow PM, Weil D. Legionella pneumophila contamination of residential tap water. In: Legionella-Proceedings of the 2nd International Symposium, American Society for Microbiology, Washington DC 1984;240-241
- (23) Drumm I, Schweisfurth R. Untersuchungen von Wassererwärmern auf Legionellen. In: Vom Wasser 1990;74:177-183
- (24) Farrell ID, Holmes E. Überwachung und Kontrolle der Legionärskrankheit in England und Wales. In: Legionellen II Neue Beiträge zur Bewertung eines hygienischen Problems, Bd 2. Leschber R, Lahmann E. Schriftenreihe des Vereins für Wasser-, Boden- und Lufthygiene Berlin: Fischer 1993;2:69-81
- (25) Habicht W, Müller HE. Occurrence and parameters of frequency of Legionella in warm water systems of hospitals and hotels in Lower Saxony. Zentralbl-Bakteriol-Mikrobiol-Hyg-B. 1988;186/1:79-88

- (26) Horbach I, Fehrenbach FJ. Diagnostik der Legionellose-aktueller Stand In: Legionellen II Neue Beiträge zur Bewertung eines hygienischen Problems, Bd 2. Leschber R, Lahmann E. Schriftenreihe des Vereins für Wasser-, Boden- und Lufthygiene Berlin:Fischer 1993;2:23-39
- (27) Lück PCh, Helbig JH. Zur Epidemiologie der Legionellosen. In: Legionellen II Neue Beiträge zur Bewertung eines hygienischen Problems, Bd 2. Leschber R, Lahmann E. Schriftenreihe des Vereins für Wasser-, Boden- und Lufthygiene Berlin, Fischer 1993;2:41-58
- (28) Massanari RM, Helms C. Continuous hyperchlorination of a potable water system for control of nosocomial Legionella pneumophila infections. In. Legionella-Proceedings of the 2nd International Symposium, American Society for Microbiology, Washington DC 1984;334-336
- (29) Pietsch M, Werner HP. Bewertung positiver Legionellen-Befunde in Leitungswasser. Hyg-Med. 1991;16:353-356
- (30) Seidel K, Grohmann A. Zur Frage der Bekämpfung des Vorkommens von Legionellen in kontaminierten Warmwassersystemen. In: :Seidel K. Legionellen Beiträge zur Bewertung eines hygienischen Problems, Seidel K, Seeber E, Hässelbarth. Verein für Wasser-,Boden-und Lufthygiene Berlin: Fischer 1987;91-101
- (31) Wadowsky RM, Yee RB. Effect of non-Legionellaceae bacteria on the multiplication of Legionella pneumophila in potable water. Appl.Environ.Microbiol. 1985; 49/5:1206-1210
- (32) Zacheus OM, Martikainen PJ. Occurrence of legionellae in hot water distribution systems of Finnish apartment buildings. Can. J. Microbiol.1994;40:993-9
- (33) Arnow PM, Weil D, Para MF. Prevalence and Significance of Legionella pneumophila contamination of residential hot-tap water systems. J. Infect. Dis. 1985;152/1:145-151

- (34) Brenner DJ, Steigerwalt AG, McDade JE. Classification of the legionnaires`disease bacterium: *Legionella pneumophila*, genus novum, species nova of the family Legionellaceae, familia nova. *Ann.Intern.Med.* 1979;90:656-658
- (35) Groothuis DG, Veenendaal HR, Dijkstra HL. Influence of temperature on the number of *Legionella pneumophila* in hot water systems. *J. Appl. Bact.* 1985;59:529-36
- (36) Landeen LK, Yahya MT, Gebra CP. Efficacy of copper and silver ions and reduced levels of free chlorine in inactivation of *Legionella pneumophila*. *Appl. Environ. Microbiol.* 1989;55/12:3045-3050
- (37) Mathys W, Junge E, Langen M. Legionellen in Dusch-Wassersystemen privater Haushalte und von Hallenbädern. *Forum Städte-Hygiene Münster* 1990;41:282-285
- (38) Mead PB, Lawson JM, Patterson JW. Chlorination of water supplies to control *Legionella* may corrode the pipes. *J.Am.Med.Ass.* 1988;260/15:2216
- (39) Muraca P, Stout JE, Yu VL. Comparative assessment of chlorine, heat, ozone, and UV light for killing *Legionella pneumophila* within a model plumbing system. *Appl. Environ. Microbiol.* 1987;53/2:447-53
- (40) Muraca PW, Yu VL, Goetz A. Desinfection of water distribution systems for legionella: a review of application procedures and methodologies. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1990,11/2:79-88
- (41) Risse M, Krause H, Eikmann Th. Maßnahmen zur Verminderung eines *Legionella*- Infektionsrisikos im Krankenhaus. *Gesundheits-Ingenieur* 1990;6:257-63
- (42) Schoenen D, Schulze-Röbbecke R, Schirdewahn N. Mikrobielle Kontamination des Wassers durch Rohr - und Schlauchmaterialien. 2. Mitteilung: Wachstum von *Legionella*

pneumophila. Zentralbl-Bakteriol-Mikrobiol-Hyg-B.1988;186/4:326-332

- (43) Schulze-Röbbecke R, Rödder M, Exner M. Vermehrungs- und Abtötungstemperaturen natürlich vorkommender Legionellen. Zbl. Bakt. Hyg. 1987;B 184:495-500
- (44) Fehrenbach FJ, Müller HE, Ruf B, Seidel K. Die Legionärskrankheit. Dt.Ärztebl. 1989;86 Heft 16:830-33
- (45) Helms CM, Massanari RM, Wenzel RP, Pfaller MA. Legionnaires`disease associated with a hospital water system. J.Am.Med.Ass.1988;259/16:2423-2427
- (46) Kayser FH, Bienz KA, Eckert J, Lindemann J. Medizinische Mikrobiologie. Thieme-verlag 8. Auflage.1993;233-235
- (47) Schulze-Röbbecke R, Jung KD, Pullmann H, Hundgeburth J. Sanierung eines mit Legionella pneumophila kontaminierten Krankenhaus- Warmwassersystems. Zbl. Bakt. Hyg. Umweltmed. 1990;190:84-100
- (48) States SJ, Conley LF, Kuchta JM, Oleck BM u.a.. Survival and multiplication of Legionella pneumophila in municipal drinking watersystems. Appl.Environ.Microbiol. 1987;53/5:979-986
- (49) States Sj, Conley LF, Kuchta JM, Wolford RS u.a.. Chlorine, pH, and control of Legionella in hospital plumbing systems. J.Am.Med.Ass. 1989;261/13:1882-1883
- (50) Stout JE, Yu-Sen EL, Goetz AM, Muder RR. Controlling Legionella in hospital water systems: experience with the superheat-and- flush method and copper-silver ionization. Infection Control and Hospital Epidemiology 1998;19/129:11-14
- (51) Zietz B, Wiese J, Brengelmann F, Dunkelberg H. Presence of Legionellaceae in warm water supplies and typing of strains by polymerase chain reaction. Epidemiol. Infect 2001;126:147-52

- (52) Kuchta JM, States SJ, McNamara AM, Wadowsky, Yee RB. Susceptibility of Legionella pneumophila to chlorine in tab water. Appl. Environ. Microbiol. 1983;46/5:1134-39
- (53) Linde HJ, Hengerer A, Voggesberger E, Hecht J, Ehret W, Wolf H. Sanierung von Warmwassersystemen mit Legionellenbefall Dokumentation eigener Erfahrungen mit thermischer Desinfektion. Zbl. Hyg. 1995;197:441-451
- (54) Lode H, Grothe H, Schäfer H, Kemmerich B, Ruckdeschel G, Ehret H. Klinik und Prognose von Legionella-Infektionen. In: Seidel K. Legionellen Beiträge zur Bewertung eines hygienischen Problems, Seidel K, Seeber E, Hässelbarth. Verein für Wasser-, Boden- und Lufthygiene Berlin: Fischer 1987;15-25
- (55) Lode H, Grote R, Schäfer H, Ruckdeschel G, Höffken G, Kemmerich B, Müller HE, Fehrenbach H, Hartmann H. Bedeutung der Legionellen als Erreger nosokomialer und ambulant erworbener Pneumonien. In: Aktuelle Aspekte der bakteriellen und nichtbakteriellen Pneumonien. Lode H, Kemmerich B, Klatersky J. Internationales Symposium, Berlin: Thieme 1984;113-21
- (56) Zitierte Norm- und Regelwerke: Arbeitsblatt W551 des DVGW „Trinkwassererwärmungs- und Leitungsanlagen: Technische Maßnahmen zur Verminderung des Legionellenwachstums“; Planung, Errichtung, Betrieb und Sanierung von Trinkwasser-Installationen, DVGW-Regelwerk Technische Mitteilungen, Arbeitsblatt, Bonn 2003
- (57) Bundesgesundheitsbl.-gesundheitsforsch.-gesundheitschutz 2000, Springer-Verlag 2000;43:911-915

6. Danksagung

Hiermit möchte ich mich bei

Herrn Universitätsprofessor Dr. rer. nat. Karch,
Herrn PD Dr. B. Mathys,
dem Team der Hygiene der WWU Münster,
sowie meiner Familie

für die tatkräftige Unterstützung sehr herzlich bedanken.

7. Tabellarischer Lebenslauf

Name: Juliane Stanke
Adresse: Kley 28, 48308 Senden
Geburtsdatum: 11.06.1976
Geburtsort: Berlin

Schulischer Werdegang:

12.06.1996 Erlangen der Hochschulreife
12.03.1997 Immatrikulation zum Studium der Zahnmedizin an der
WWU Münster
19.12.2002 Erlangen des Staatsexamens im Studium der
Zahnmedizin

Beruflicher Werdegang:

01.07.1996 Eintritt in die Bundeswehr als Sanitätsoffizieranwärter
19.12.2002 Ernennung zum Sanitätsoffizier,
seitdem tätig in der Zahnarztgruppe Coesfeld

Senden, den 26.04.05