

# **Trinkwasserringversuch 3-2012 - Abschlussbericht -**

**E. coli, coliforme Bakterien  
Koloniezahlen bei 22 °C und 36 °C  
Enterokokken, Clostridium perfringens  
und Legionellen**

**Gemäß den Empfehlungen des Umweltbundesamtes bzw. DIN:**

**Mikrobiologie: Bundesgesundheitsblatt 2002, Bd. 45, S. 905**

**Chemie: Bundesgesundheitsblatt 2003, Bd. 46, S. 1094**

**und unter Berücksichtigung der DIN 38402-45**



Organisiert und durchgeführt durch:  
Niedersächsisches Landesgesundheitsamt  
Standort Aurich  
Lüchtenburger Weg 24  
26603 Aurich



**Im Auftrage des Niedersächsischen Ministeriums für  
Soziales, Frauen, Familie, Gesundheit und Integration**

**Postfach 141, 30001 Hannover**

## **Verantwortlich:**

### **Programmkoordinator und wissenschaftlicher Leiter:**

Dr. rer. nat. Dipl. Biol. Ernst-August Heinemeyer

Stellvertreter:

Dr. rer. nat. Dipl. Umweltwiss. Sven Gebhardt (Chemie)

Unter Mitarbeit von:

Dipl. Ing. Usha Hafermann, Biotechnologie

MTA Grete Höfes

Niedersächsisches Landesgesundheitsamt

- Standort Aurich -

Lüchtenburger Weg 24

26603 Aurich

Tel.: 04941 – 9171-0

FAX: 04941 – 9171-10

**E-Mail:** [ringversuch.aurich@nlga.niedersachsen.de](mailto:ringversuch.aurich@nlga.niedersachsen.de)

### **Unteraufträge:**

Unteraufträge wurden nicht vergeben!

Der Transport erfolgte durch Firma TNT.

**Ausgabedatum: 16. Juli 2012 (Endbericht)**

**Freigegeben: Dr. E.A. Heinemeyer**

**Hinweis: Dieser Abschlussbericht enthält auch Angaben zum chemischen RV der nicht Gegenstand des RV 3-2012 war.**

## Inhaltsverzeichnis:

<b>1</b>	<b>ALLGEMEINE HINWEISE .....</b>	<b>4</b>
1.1	Auswerteverfahren (Mikrobiologie und Chemie) .....	5
<b>2</b>	<b>PROBENLAUFZEITEN UND TEILNEHMERANZAHL.....</b>	<b>6</b>
<b>3</b>	<b>MIKROBIOLOGISCHER TEIL .....</b>	<b>8</b>
3.1	Zusammensetzung der mikrobiologischen Proben und Untersuchungsverfahren....	8
3.2	Übersicht über Messungen außerhalb der Sollbereiche .....	10
3.3	Qualitätssicherung im RV Labor .....	10
<b>4</b>	<b>ERGEBNISTABELLEN.....</b>	<b>11</b>

## 1 Allgemeine Hinweise

Gemäß TrinkwV 2001 §15 (4) müssen sich Untersuchungsstellen mindestens einmal pro Jahr erfolgreich an Qualitätssicherungsprogrammen beteiligen. Diese Anforderungen wurden durch Empfehlungen des Umweltbundesamtes konkretisiert:

**Mikrobiologische Ringversuche: Bundesgesundheitsblatt 2002, Bd. 45, S. 905**

**Chemische Ringversuche: Bundesgesundheitsblatt 2003, Bd. 46, S. 1094**

Die Art und Weise der Durchführung des chemischen Teils richtet nach DIN 38402-45. Der mikrobiologische Ringversuch orientiert sich ebenfalls an dieser Norm, wobei ggf. eine Abweichung von den Auswertemethoden vorbehalten bleibt, da bei den mikrobiologischen Proben nicht immer sicher angenommen werden kann, dass diese stetig messbar sind.

Die Durchführung und Auswertung der Ringversuche ist auch Gegenstand regelmäßiger Konsultationen in einem gemeinsamen **Lenkungsgremium** mit Nordrhein-Westfalen bestehend aus Vertretern zuständiger Behörden, Teilnehmer-Laboren und Ringversuchsausrichtern und ggf. weiterer Berater.

**Bitte beachten Sie unsere *Rahmenbedingungen*, die Sie unter folgender Internet-Adresse finden können:**

**<http://www.nlga.niedersachsen.de>**

**Pfad: Umwelt und Gesundheit → Wasser → Ringversuche**

Auf dieser Seite finden Sie auch eine aktualisierte Beschreibung des Ringversuchssystems des Niedersächsischen Landesgesundheitsamtes:

**„Allgemeine Hinweise zu Ringversuchen und Preise“**, die als pdf-Datei heruntergeladen, bzw. auch direkt gelesen werden kann.

**Diese Überarbeitung der Hinweise erfolgte besonders zu den Themen:**

- **Legionellen, Auswertung und Angabe der Ergebnisse**
- **Den Eingabemöglichkeiten zur Koloniezahl**
- **Die Verwendung von < und > - Zeichen, bzw. deren Auswirkung auf die Auswertung**
- **Hinweise zu sogenannten p/a Testen**
- **Ausschluss von Teilnehmern aufgrund formaler Fehler u.a.**

**Beachten Sie bitte auch den Hinweis zum Enterolert®-IDEXX Verfahren unter der Tabelle 1 (Seite 11) in der Datei „Allgemeine Hinweise zu Ringversuchen und Preise“.**

## 1.1 Auswerteverfahren (Mikrobiologie und Chemie)

Die Auswertung der mikrobiologischen und chemischen Ergebnisse erfolgte nach DIN 38402-45 „Ringversuche zur externen Qualitätskontrolle von Laboratorien“.

Zur Ermittlung der Vorgabewerte (Sollwerte) und der Standardabweichung werden ausschließlich die Ergebnisse der Teilnehmer herangezogen. Eine Berücksichtigung etwaiger Einwaagen findet nicht statt.

Als Verfahren der robusten Statistik wurden das Schätzverfahren nach Hampel und die Q-Methode verwendet. Als Sollwert  $\bar{X}$  dient der nach dem Hampel-Schätzverfahren ermittelte Mittelwert. Die mit der Q-Methode berechneten Vergleichsstandardabweichungen  $s_R$  werden in den Fällen, in denen keine Limitierung der Standardabweichung vorgenommen wird, als Sollstandardabweichungen  $s_{soll}$  festgelegt. Anhand der Sollstandardabweichung werden die Ausschlussgrenzen festgelegt, die zur Bewertung der Einzelwerte herangezogen werden. Die Berechnung der z-Scores für jeden Messwert erfolgte aus Sollwert und Sollstandardabweichung entsprechend folgender Formel:

$$z - score = \frac{x - \bar{X}}{s_{soll}}$$

$x$  ... Ergebnis Teilnehmer

$\bar{X}$  ... Sollwert (Mittelwert nach Hampel)

$s_{soll}$  ... Sollstandardabweichung

Für die Festlegung der Ausschlussgrenzen wurden entsprechend der Empfehlung des Umweltbundesamtes die z(u)-Scores herangezogen. Die z-Scores wurden mit einem Faktor  $k$  zu z(u)-Scores modifiziert, um eine Schiefe der statistischen Verteilung zu berücksichtigen.

Als Toleranzbereich wurde  $|z(u)\text{-Score}| \leq 2$  festgelegt.

### 1.1.1 Hinweis zu den z- bzw. z(u)-Scores bei den mikrobiologischen Proben

Die vorgenannte Berechnungsmethodik der Sollwerte und Toleranzen kommt aus der Chemie (A-45) und gilt zunächst für Inhaltsstoffe, die stetig messbar sind. Diese Berechnungsarten sind von uns in den Jahren 2004/5 auf ihre Anwendbarkeit auch für die mikrobiologischen Ringversuche geprüft worden.

Auf Beschluss der Lenkungsgruppe Niedersachsen - Nordrhein-Westfalen und in Abstimmung mit dem Umweltbundesamt werden seit Beginn des Jahres 2005 zum Bestehen des Ringversuchs für die Parameter: Koloniezahlen, *E. coli*, coliforme Bakterien, *Pseudomonas aeruginosa* und Enterokokken ebenfalls die  $|z(u)\text{-Scores}| \leq 2$  für die untere Grenze und für die obere Grenze des Sollbereichs herangezogen. Mittlerweile werden alle mikrobiologischen Parameter entsprechend bewertet. Die Verwendbarkeit dieser Berechnung wird

von uns weiterhin geprüft und wir müssen uns Abweichungen von diesem Verfahren vorbehalten.

Geringfügige Abweichungen bei den mikrobiologischen Sollbereichen auf dem Anlageblatt zum Zertifikat gegenüber den Sollbereichen in den Tabellen resultieren aus der Tatsache, dass Bruchteile von Bakterien zu Gunsten der Teilnehmer gerundet werden.

Bei der Bewertung werden die nach TrinkwV zulässigen und gleichwertigen Verfahren gemeinsam und getrennt ausgewertet. **Die gemeinsame Auswertung bei 1.) E. coli / Coliforme Bakterien (DIN 9308-1/Colilert®) und 2.) Enterokokken (DIN 7899-2 /Chromokult®) wird für das Zertifikat herangezogen.** In seltenen Fällen kommt es hierbei zu Konflikten, wo ein Labor nach der gemeinsamen Auswertung nicht besteht, nach der methodenspezifischen Auswertung möglicherweise noch bestanden hat **und** umgekehrt. Zweifellos wäre es wünschenswert getrennt nach dem jeweils angewendeten Verfahren auszuwerten. Allerdings sind die Gruppen dann teilweise für Auswertungen zu klein. Die Werte für die getrennte Auswertung finden Sie mit in der Datei: *Tabellen-Mikrobiologie*. Wenn in Ihrem speziellen Fall einmal ein solcher Konflikt auftritt, so erhalten Sie mit diesen Zusatzangaben im Bedarfsfall gute Argumente gegenüber der Akkreditierung für den Nachweis, die Methode ggf. doch zu beherrschen.

**Sonstige Verfahren** (Hausmethoden, p/a-Teste) und fehlerhafte Ergebnisse (z.B. Anzahl E. coli > Anzahl coliforme Bakterien) werden in der Berechnung nicht berücksichtigt, können aber teilweise (Hausmethoden, p/a-Teste) anschließend im Zertifikat und Anlage 1 (ohne Angabe eines z(u)-Scores) berücksichtigt werden. Die Zertifikate werden ggf. mit einem Zusatz versehen, dass die verwendete Methode keine zulässige Methode nach TrinkwV 2001 (Deutschland) ist. **Es kann auch sein, dass Angaben mit „>“ oder „<“ Zeichen erforderlich sind. Das war auch in der Vergangenheit so. Solche Ergebnisse können zwar mathematisch nicht ausgewertet werden, können aber durchaus korrekt sein und werden dann auch entsprechend bewertet.**

## 2 Probenlaufzeiten und Teilnehmeranzahl

Die Proben wurden in Aurich am Montag, dem 18.06.2012 mit einem Paketlieferdienst (TNT) versendet. An diesem Ringversuch haben sich 361 Labore beteiligt (**Tab. 1**). Die Ergebnisse waren bis zum 04.07.2012 abzugeben. Alle Teilnehmer gaben ihre Ergebnisse fristgerecht ab.

Die Temperaturen der Proben bei der Ankunft in ihrem Labor finden Sie in der Grafikdatei: *Diagramme-Qualitätskontrolle*. Die Kühlakkus, die mit den Paketen mitgeschickt werden, werden unmittelbar vor dem Verschließen in die Pakete gegeben. Die Temperaturen variierten in einem relativ engen Bereich von ca. ~ 2°C bis ~10°C bei der Probenankunft, wobei der überwiegende Anteil der Proben Temperaturen unter 6 °C aufwies. Einzelne Temperaturmessungen weichen hiervon ab, einige im Bereich um 18 °C. Bitte messen Sie die Temperaturen für diese Kontrolle **unmittelbar** nach dem Öffnen der Pakete in der hierfür vorgesehenen beigefügten Wasserprobe. Bei den Ergebnissen sind negative Einflüsse durch die Eingangs-Temperaturen nicht erkennbar.

**Tabelle 1: Teilnehmer an den Ringversuchen 1 – 4 2012**

	RV 1	RV 2	RV 3	RV 4
<b>Chemische Parameter</b>	189	190	---	
<b><i>E. coli</i> &amp; coliforme Bakterien</b>	502	446	340	
<b>Enterokokken</b>	427	374	280	
<b>Koloniezahlen</b>	472	421	323	
<b><i>Clostridium perfringens</i></b>	---	333	215	---
<b><i>Legionella (pneumophila)</i></b>	399	----	279	
<b><i>Pseudomonas aeruginosa</i></b>	422	----	---	
<b>Badegewässer-RV: E. coli</b>	---	151	---	---
<b>Badegewässer-RV: Enterokokken</b>	---	154	---	
<b>Gesamtanzahl-Labore</b>	504	480	361	

**Tabelle 2: Probenlaufzeiten**

<b>Versanddauer</b>	<b>24 Stunden</b>	<b>48 Stunden</b>	<b>&gt; 48 Stunden</b>	<b>ohne Angabe</b>
Anzahl Pakete	399	11	1	1

## 3 Mikrobiologischer Teil

### 3.1 Zusammensetzung der mikrobiologischen Proben und Untersuchungsverfahren

Bei den mikrobiologischen Ringversuchen sind grundsätzlich die Verfahren nach TrinkwV-2001 Anlage 5, bzw. die vom Umweltbundesamt zugelassenen alternativen Verfahren (bisher: Colilert® für *E. coli* und coliforme Bakterien (IDEXX) und Chromocult® für Enterokokken (MERCK) zu verwenden. Nur wenn diese Verfahren korrekt angewendet werden ist eine statistische Berechnung der Sollwerte möglich.

#### Koloniezahlen bei 22 °C und 36 °C (DIN EN ISO 6222, TrinkwV-2001/2011)

Unabhängig von der Bezeichnung der Parameterwerte in der TrinkwV 2001 müssen die in den jeweiligen Nachweisverfahren (TrinkwV, DIN EN ISO 6222) angegebenen Inkubationstemperaturen und -zeiten unbedingt eingehalten werden.

In diesem Ringversuch wurde zur Koloniezahlbestimmung *E. coli* + *Serratia sp.* in Gruppe A und in Gruppe B eingesetzt. Die Proben waren folgendermaßen zusammengesetzt (Messung an je 20 Rückstellproben im Ringversuchslabor). Die aus den Teilnehmerwerten ermittelten Sollwerte finden Sie in der pdf - Datei Soll- und Toleranzwerte:

Gruppe A) 22°C etwa 37 KBE/ml und 36°C etwa 25 KBE/ml

Gruppe B) 22°C etwa 23 KBE/ml und 36°C etwa 18 KBE/ml

#### *E. coli* / coliforme Bakterien in 100 ml (DIN EN ISO 9308-1)

Die Proben für den Nachweis von *E. coli* / coliformen Bakterien (*Klebsiella pneumoniae*) in 100 ml waren folgendermaßen zusammengesetzt (Messung an je 20 Rückstellproben im Ringversuchslabor):

Gruppe A) Coliforme Bakterien ca. 40 KBE, davon 18 KBE *E. coli*.  
Gruppe A erhielt somit als coliforme Bakterien *E. coli* + *K. pneumoniae*

Gruppe B) Coliforme Bakterien ca. 38 KBE, davon 12 KBE *E. coli*.  
Gruppe B erhielt somit als coliforme Bakterien *E. coli*. + *K. pneumoniae*

Gruppe C) Coliforme Bakterien ca. 38 KBE, davon 21 KBE *E. coli*.  
Gruppe C erhielt somit als coliforme Bakterien *E. coli* + *K. pneumoniae*.

#### Enterokokken (DIN EN ISO 7899-2)

Die Proben für Enterokokken waren folgendermaßen zusammengesetzt (Messung an je 20 Rückstellproben im Ringversuchslabor):



Gruppe A)	Enterokokken ca.	25 KBE / 100 ml
Gruppe B)	Enterokokken ca.	46 KBE / 100 ml
Gruppe C)	Enterokokken ca.	55 KBE / 100 ml

Siehe den Hinweis zum Enterolert®-Verfahren auf Seite 4

***P. aeruginosa* (DIN EN ISO 16266):**

*P. aeruginosa* war kein Parameter im Ringversuch 3-2012

**Legionellen (ISO 11731 und ISO 11731 Teil 2 und Literaturstelle: BundesgesundhBl.11-2000, S.911ff) :**

**Hinweis: Im Trinkwasserringversuch werden die beiden Verfahren: Direktansatz und Membranfiltration getrennt geprüft. Eine Ergebnisangabe, in der beide Messungen rechnerisch vereinigt werden, wie ggf. bei Routineuntersuchungen nach Empfehlung des UBA, ist hier – wie auch schon in der Vergangenheit - nicht vorzunehmen. Siehe auch Hinweise auf Seite 4 dieses Abschlussberichts.**

Die Proben für Legionella waren folgendermaßen zusammengesetzt (Messung an je 20 Rückstellproben im Ringversuchslabor):

Gruppe A)	<i>Legionella pneumophila</i> Sero Gr. 1 ca.	12 KBE / 100 ml
Gruppe B)	<i>Legionella pneumophila</i> Sero Gr. 1 ca.	23 KBE / 100 ml

**Achtung: für diese Proben wurde nur die Membranfiltration ausgewertet !**

Gruppe C)	<i>Legionella pneumophila</i> Sero Gr. 6 ca.	20 KBE / 1 ml
-----------	--	---------------

**Achtung: für diese Proben wurde nur der Direktansatz ausgewertet !**

***Clostridium perfringens* (Anl.5 Nr.1TrinkwV):**

Die Proben für *C. perfringens* waren folgendermaßen zusammengesetzt (Messung an je 20 Rückstellproben im Ringversuchslabor):

Gruppe A)	<i>C. perfringens</i> ca.	20 KBE / 100 ml
Gruppe B)	<i>C. perfringens</i> ca.	29 KBE / 100 ml

### 3.2 Übersicht über Messungen außerhalb der Sollbereiche

Tab. 4: Messungen außerhalb der Sollbereiche bei mikrob. Parametern im Jahr 2012

Parameter	Fehlbestimmungen											
	RV 1			RV 2			RV 3			RV 4		
	Ergebnisse[n]	Fehler [n]	Fehler [%]	Ergebnisse [n]	Fehler [n]	Fehler [%]	Ergebnisse [n]	Fehler [n]	Fehler [%]	Ergebnisse [n]	Fehler [n]	Fehler [%]
Koloniezahlen alte Fassung	676	39	5,8	618	60	9,7	451	54	11,9			
Koloniezahlen ISO 6222	407	22	5,4	346	35	10,1	299	37	12,4			
<i>E. coli</i>	497	33	6,6	440	19	4,3	337	24	7,1			
Coliforme Bakterien	495	32	6,5	439	21	4,8	335	20	6,0			
Enterokokken	422	25	5,9	371	34	9,3	278	18	6,5			
Legionellen	396	26	6,6	---	---	---	273	30	11,0			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	415	16	3,9	---	---	---	---	---	---			
<i>Clostridium perfringens</i>	---	---	---	332	23	6,9	206	18	8,7			
EU-Badegewässer <i>E. coli</i>	---	---	---	149	13	8,7	---	---	---			
EU-Badegewässer Enterokokken ISO 7899-1	---	---	---	87	9	10,3	---	---	---			
EU-Badegewässer Enterokokken ISO 7899-2	---	---	---	84	9	10,7	---	---	---			

--- in diesem Ringversuch *nicht angeboten*

### 3.3 Qualitätssicherung im RV Labor

- 1) Zu jedem Parameter und jedem Niveau gibt es Rückstellproben. Nach Aussendung werden hiervon täglich während der gesamten ersten Woche Messungen durchgeführt. Am Tag nach der Aussendung, an dem bei Ihnen in der Regel die Versuche angesetzt werden, werden von jedem mikrobiologischen Parameter und Niveau 20 Parallelmessungen in unserem Ringversuchslabor durchgeführt und in Kontrollkarten dargestellt: *Diagramme Rückstellproben*. An diesen jeweils 20 Rückstellproben (Stichproben) wurde mittels Shapiro-Wilk-Test die Grundgesamtheit auf Normalverteilung geprüft. Der Test gab keine Hinweise auf nicht normal verteilte Bakterienpräparate.
- 2) Die Teilnehmerergebnisse werden untersucht, ob es durch den Transport zu ungewöhnlichen Temperaturen in den Proben kommt: *Diagramme-Qualitätskontrolle*.
- 3) Die Teilnehmerergebnisse werden darauf untersucht, ob Einflüsse in Folge der Eingangstemperaturen erkennbar sind. Solche Einflüsse wurden nicht gefunden: *Diagramme-Qualitätskontrolle*.

## 4 Ergebnistabellen

Ihre Ergebnisse, Angaben zu den Soll- und Toleranzbereichen, z(u)-Scores sowie Angaben zu Qualitätskontrollen finden Sie in den Auswertungs-Tabellen (\*.pdf-Dateien auf der Internet-Seite des NLGA bzw. CD, Tab. 3) sowie in den Grafiken und auf dem Ergebnisblatt (Anlage 1).

**Tabelle 3: Dateinamen und Inhalte zum Ringversuch RV 3-2012**

Datei ( *.pdf)	Inhalt in Stichworten
Abschlussbericht-RV3-2012	Erläuterungen zur Zusammensetzung der Proben u.a. (Diese geöffnete Datei)
Diagramme-Mikrobiologie-RV3-2012	Graphische Darstellung der Teilnehmerergebnisse
Tabellen-Mikrobiologie-RV3-2012	Tabellarische Darstellung der Teilnehmerergebnisse z(u)-Scores sortiert nach gefundener Bakterienanzahl
Diagramme-Qualitätskontrollen-RV3-2012	Enthält Probenlaufzeiten, mikrobiologische Daten in Abhängigkeit von der Eingangstemperatur etc.
Diagramme-20iger-Test-RV3-2012	Graphische Darstellung der Auswertung der Rückstellproben im Ringversuchslabor
Sollbereich-Mikrobiologie-RV3-2012	Zusammenfassung der Sollbereiche aller Gruppen und Parameter in der Mikrobiologie

**In den Z(u)-Score Tabellen finden Sie bei den Parametern, für die es mehrere Verfahren gibt, unter dem Parameternamen, gruppenbezogen z.B. Coliforme Bakterien a) eine Gesamtauswertung dann b) eine Auswertung bezogen nur auf das Kollektiv für das Referenz-Verfahren (DIN) und dann für das zugelassene alternative Verfahren (hier: Colilert®).**

Der Anlage 1, die Ihnen mit dem Zertifikat zugesendet wurde, können Sie die Zugehörigkeit zur jeweiligen Gruppe und Ihre 4-stellige Codenummer für diesen Ringversuch entnehmen. Darüber können Sie dann in der Tabellen-Datei bzw. Diagramm-Datei unter Benutzung der Suchfunktion im Acrobat-Reader Ihr Ergebnis sehr schnell finden (siehe Anschreiben).

Mit freundlichem Gruß



Dr. Heinemeyer (Dipl. Biol.)



Dr. Gebhardt