



Roesebeckstr. 4-6  
30449 Hannover  
Fon 0511/4505-0  
Fax 0511/4505-140



Lüchtenburger Weg 24  
26603 Aurich  
Tel. 04941/9171-0  
Fax 04941/9171-10

# Mikrobiologische Ringversuche

## Tagung 2014

### DBU Osnabrück

**5. März 2014**

**Dr. Ernst-August Heinemeyer**

**Niedersächsisches Landesgesundheitsamt Standort Aurich**

## Was erwartet Sie

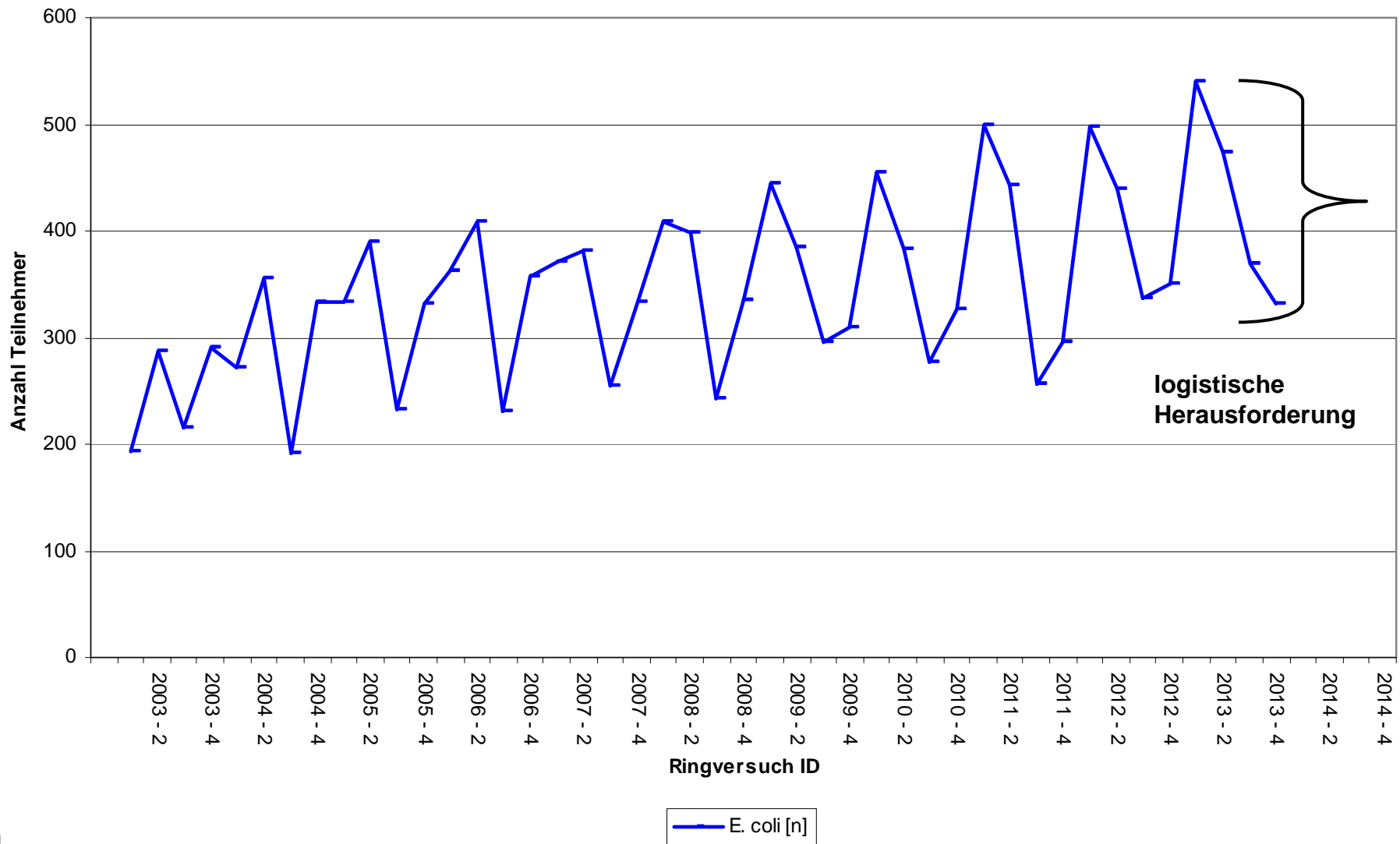
- **Mikrobiologische RV 2013**
- (Teilnehmerzahlen, Bewertungen, Stämme u.a.)
- **Fehlersuche / Kundenanfragen**
- **Koloniezahlen bei 22 °C**
- **Beachtung der Inkubationsbedingungen beim Enterolert**
- **Colilert und Matrix der RV Proben**
- **EU Badegewässer und Werteanforderungen**



## Verwendete Mikroorganismen/Stämme im Jahr 2013

Parameter	Spezies/Stämme	RV 2013	NLGA Nr.	Differenzierung	Herkunft
Escherichia coli	E. coli	1 - 4	A 23	API-E: 5144572	SCCRWA
coliforme Bakterien	Klebs. pneumoniae	1-4	B 2	API-E: 5215773	PHLS: Newcastle u.T.
Koloniezahlen	E. coli	1 – 4	A 23	API-E: 5144572	SCCRWA
	Klebs. pneumoniae	1 + 3	B 2	API-E: 5215773	PHLS: Newcastle u.T.
	Serratia spec.	2 + 4	C 42	MPA Bremen	Wildstamm
Pseudomonas aeruginosa	P. aeruginosa	1 + 4	C 23	API-NE: 1354575	ATCC 19582
Enterokokken	Enterococcus faecalis	1 – 4	D 1	API-Strep: 7143711	Wildstamm
	Enterococcus mundtii	1 + 3	D 11	API-Strep: 5157400	Wildstamm (neu)
				MPA Bremen	
Legionella spec.	L. pneumophila SG 1	1 + 3	C 33	TU Dresden / NRZ	Wildstamm
	L. pneumophila SG 6	3	C 34	TU Dresden / NRZ	Wildstamm
Clostridium perfringens	C. perfringens	2 + 3	C 28	API-A: 46165423	Bundeswehr Kronshagen
Badegewässer EU-Richtlinie	E. coli	2	A 23		SCCRWA
	Enterococcus hirae	2	D 8		CCM 2423
Bakteriophagen	E. coli (Wirt)	4	A 25	API-E: 1044552	DSMZ 13127
	Phage $\Phi$ X 174	4			DSMZ 4497

Teilnahme an Trinkwasserringversuchen 2003-2013  
E. coli [n]

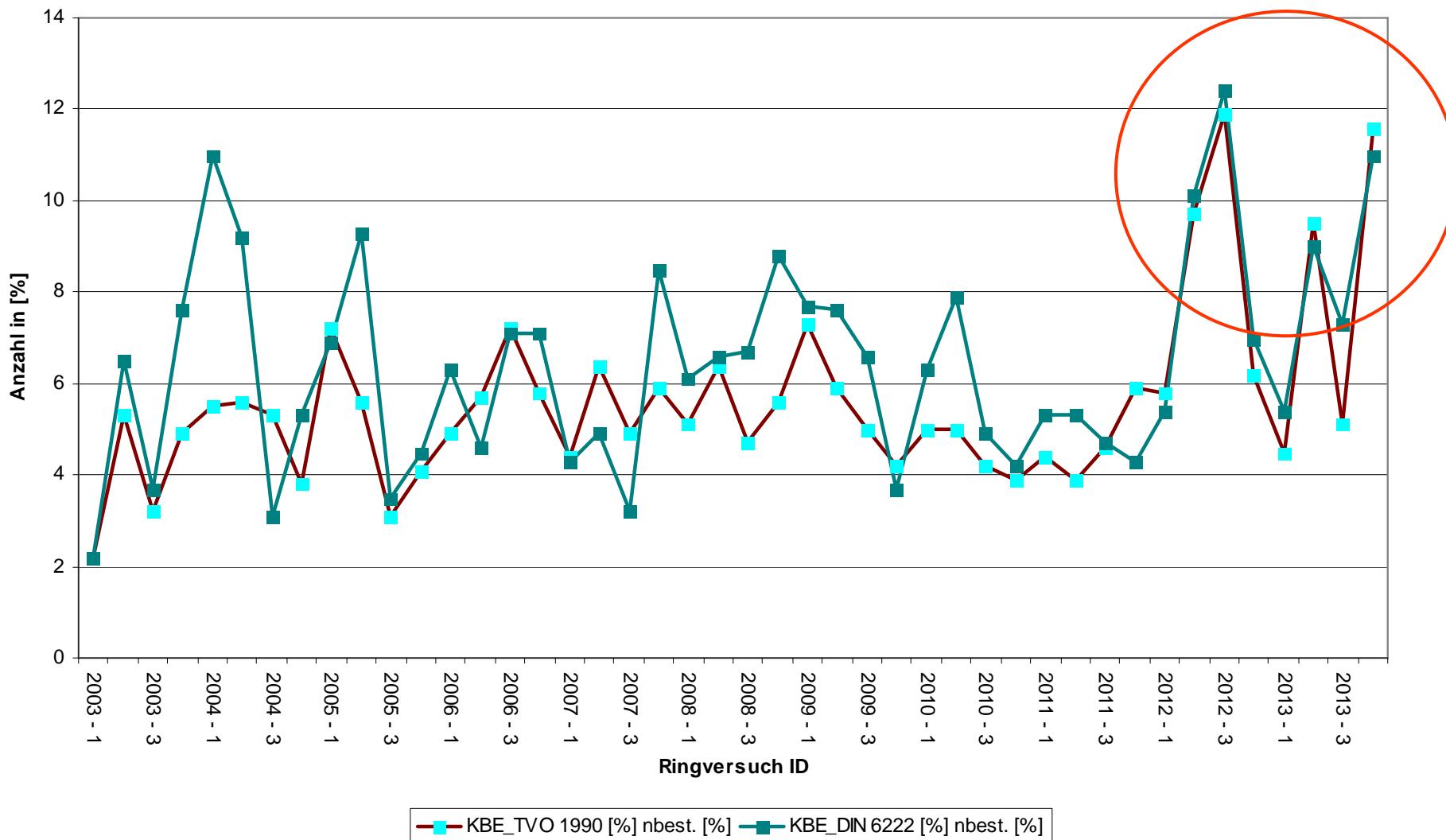


## Ursachenforschung bei fehlerhaften Nachweisraten

- Zu geringe Nachweisraten bei Koloniezahlen insbesondere bei 22 °C (Norm - und TVO-Verfahren)
- Stark schwankende Nachweisraten beim Enterolert®-Verfahren
- Von Teilnehmern geäußerte Kritik am Matrixmedium für Colilert® - Verfahren.

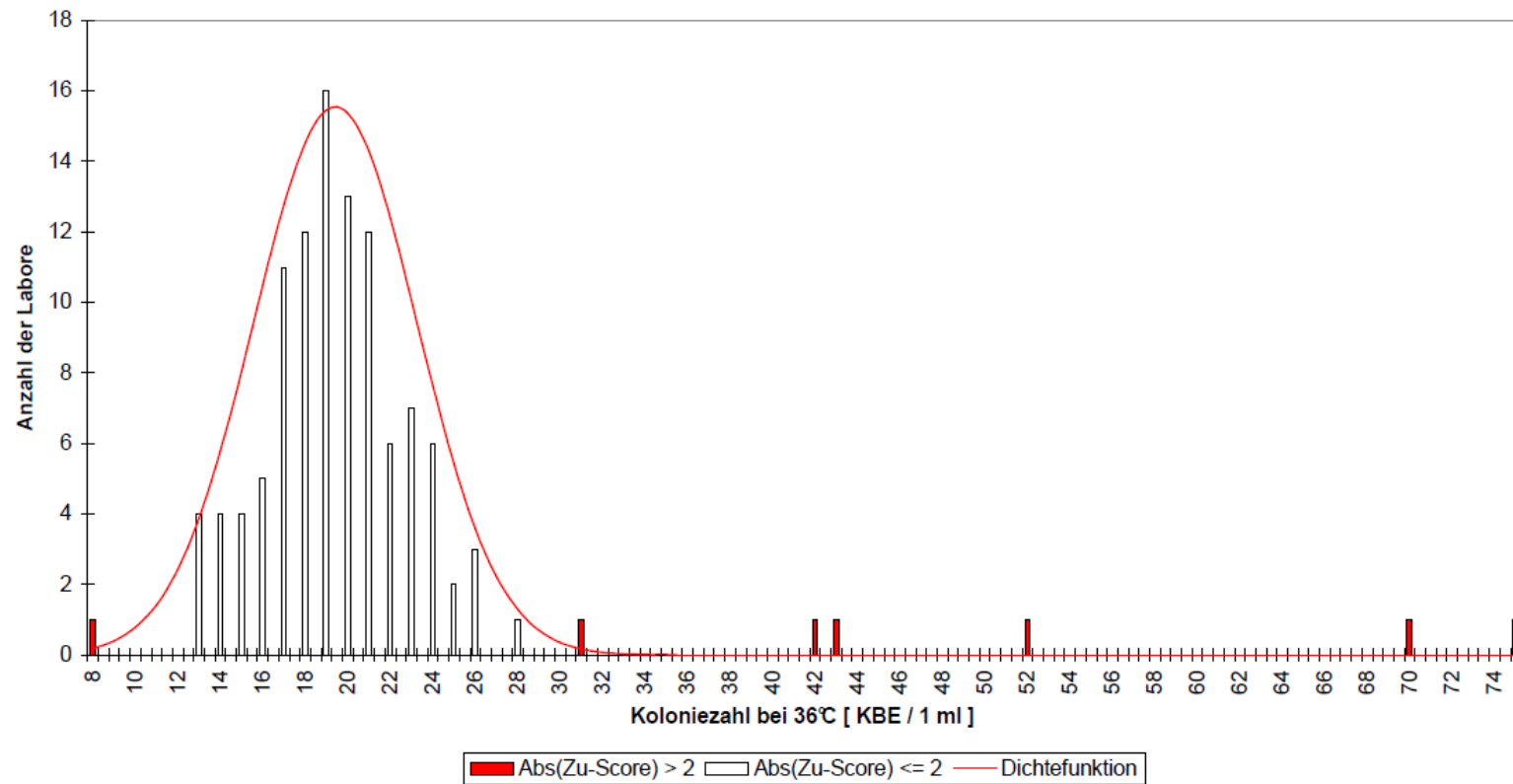


### Koloniezahlen 2003-2013 nicht erfolgreiche Teilnahme



## Koloniezahl bei 36 °C mit E. coli & Serratia spec.

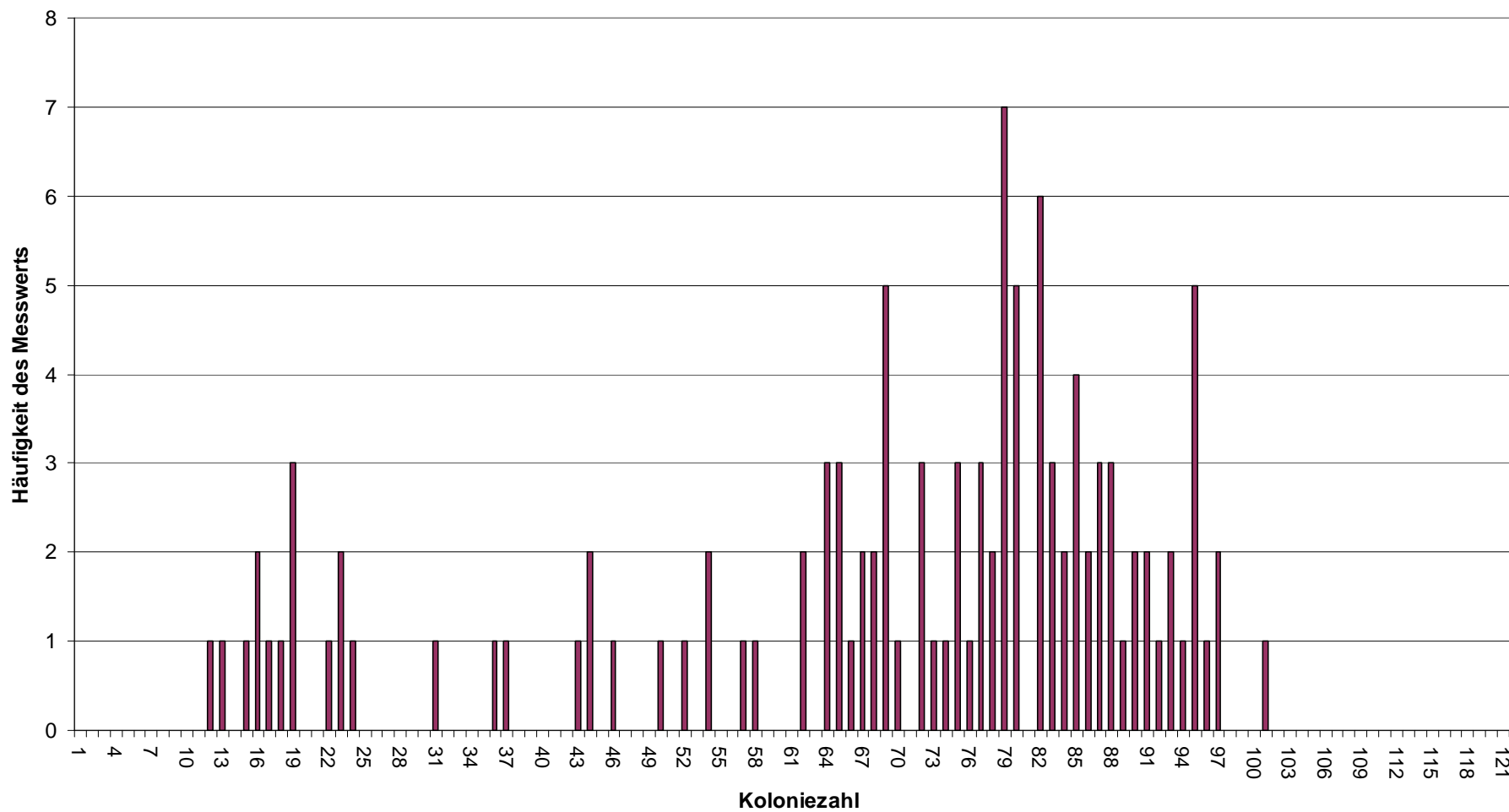
Koloniezahl bei 36°C  
RV 4-2013 - Niveaugruppe A  
TrinkwV 2001 Anl.5 I d)bb)



## Koloniezahlen bei 22 °C mit *E. coli* und *Serratia* sp ec.

Niveau-Gruppe A TrinkwV 2001 Anl.5 I d)bb)

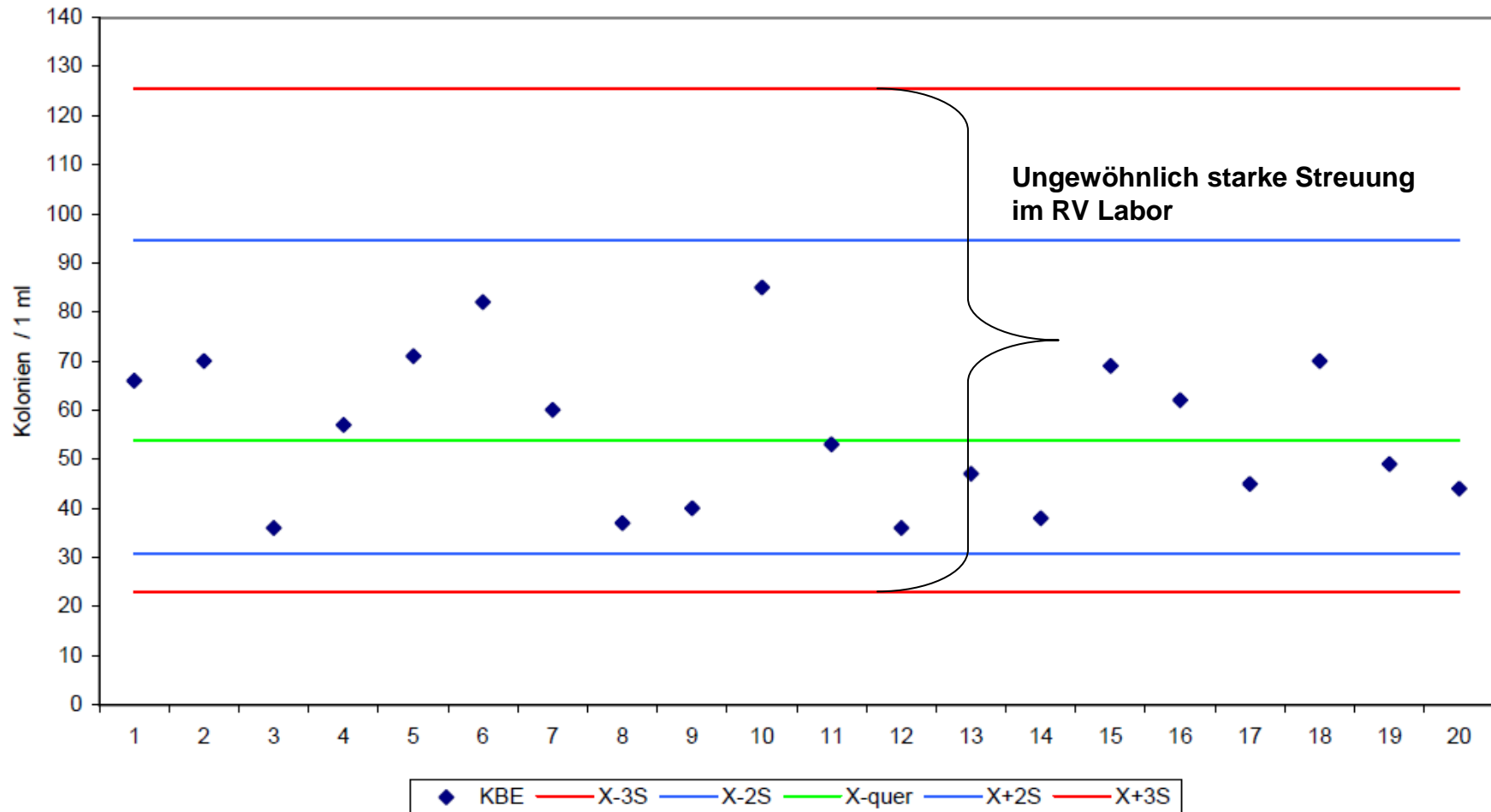
RV 4-2013



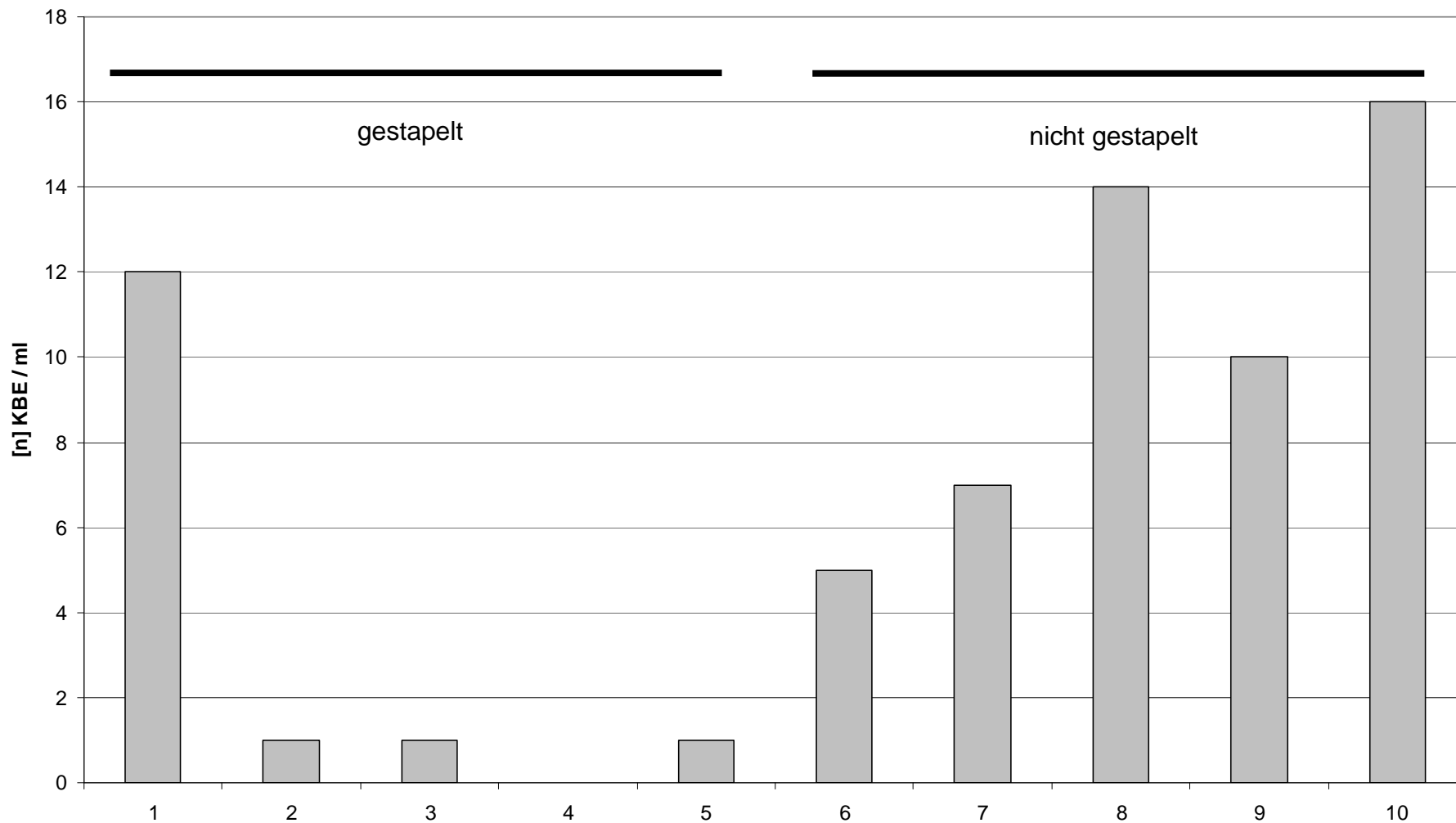


## Koloniezahl bei 22 °C mit E. coli & Serratia spec. 20er Test

Qualitätskontrolle Ringversuch 4-2013 KBE (AF) 22° Gr B 20 Rückstellproben im RV Labor



### Serratia spec. KBE 22 °C Einfluss der Plattenaufstellung



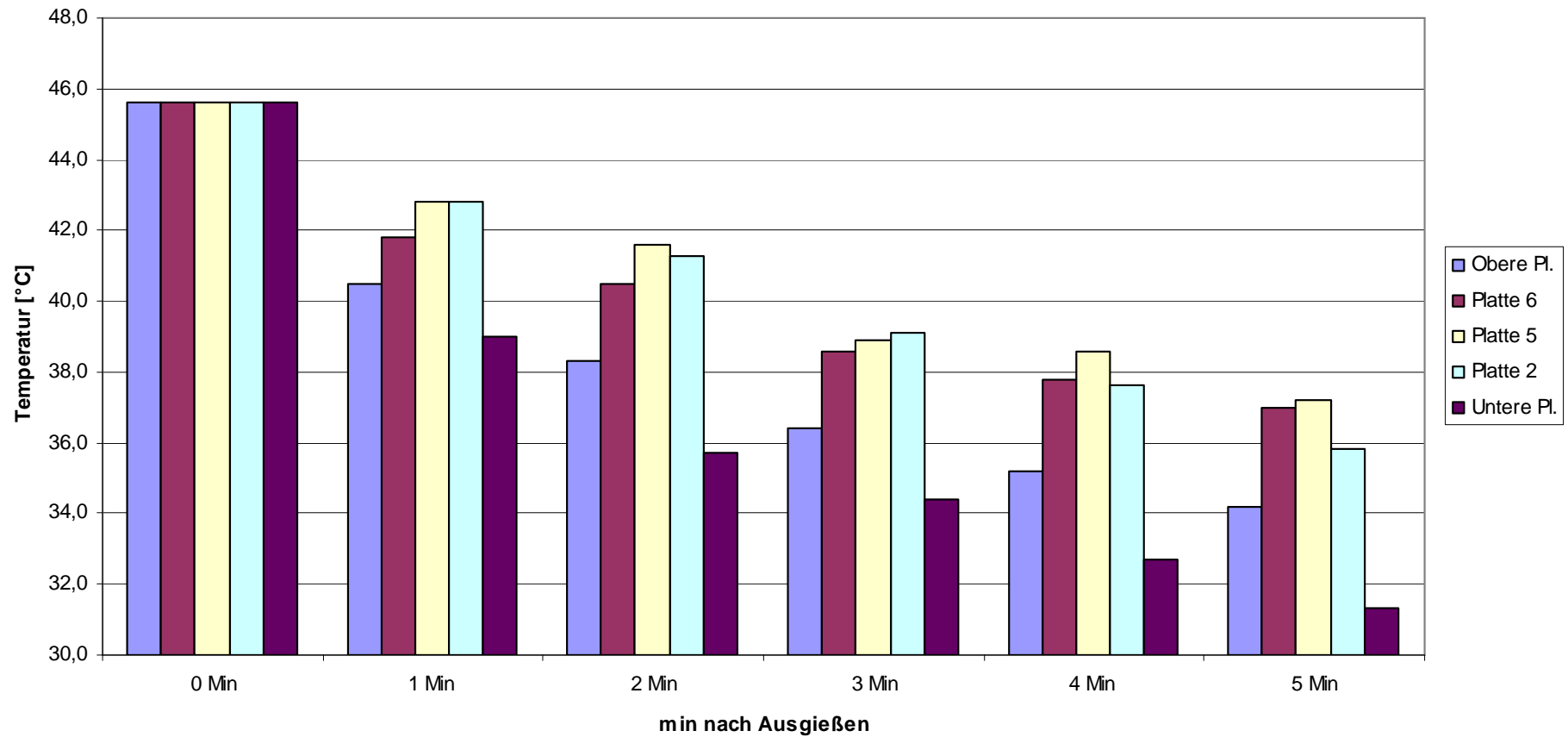
so

oder

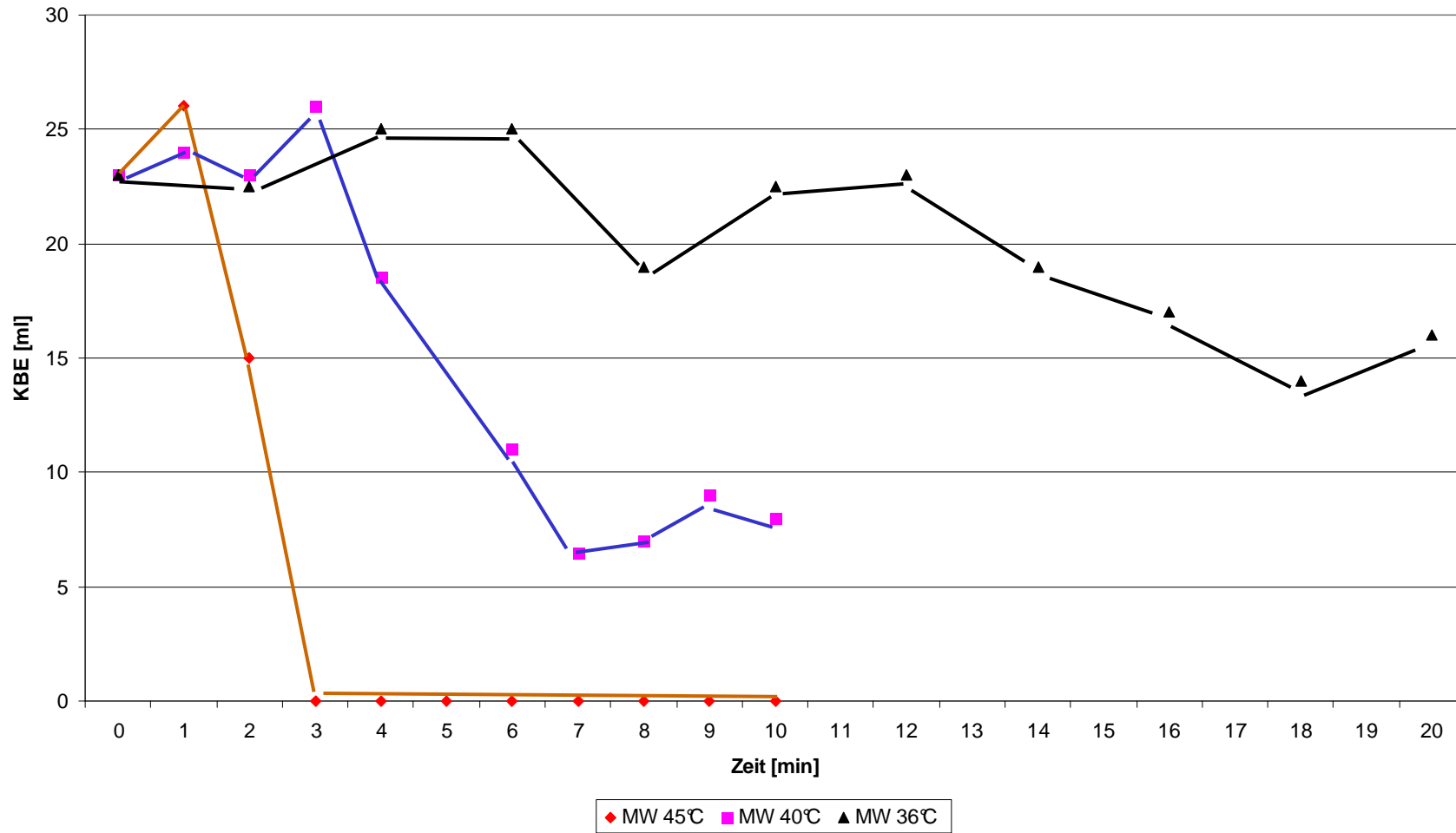
so ?



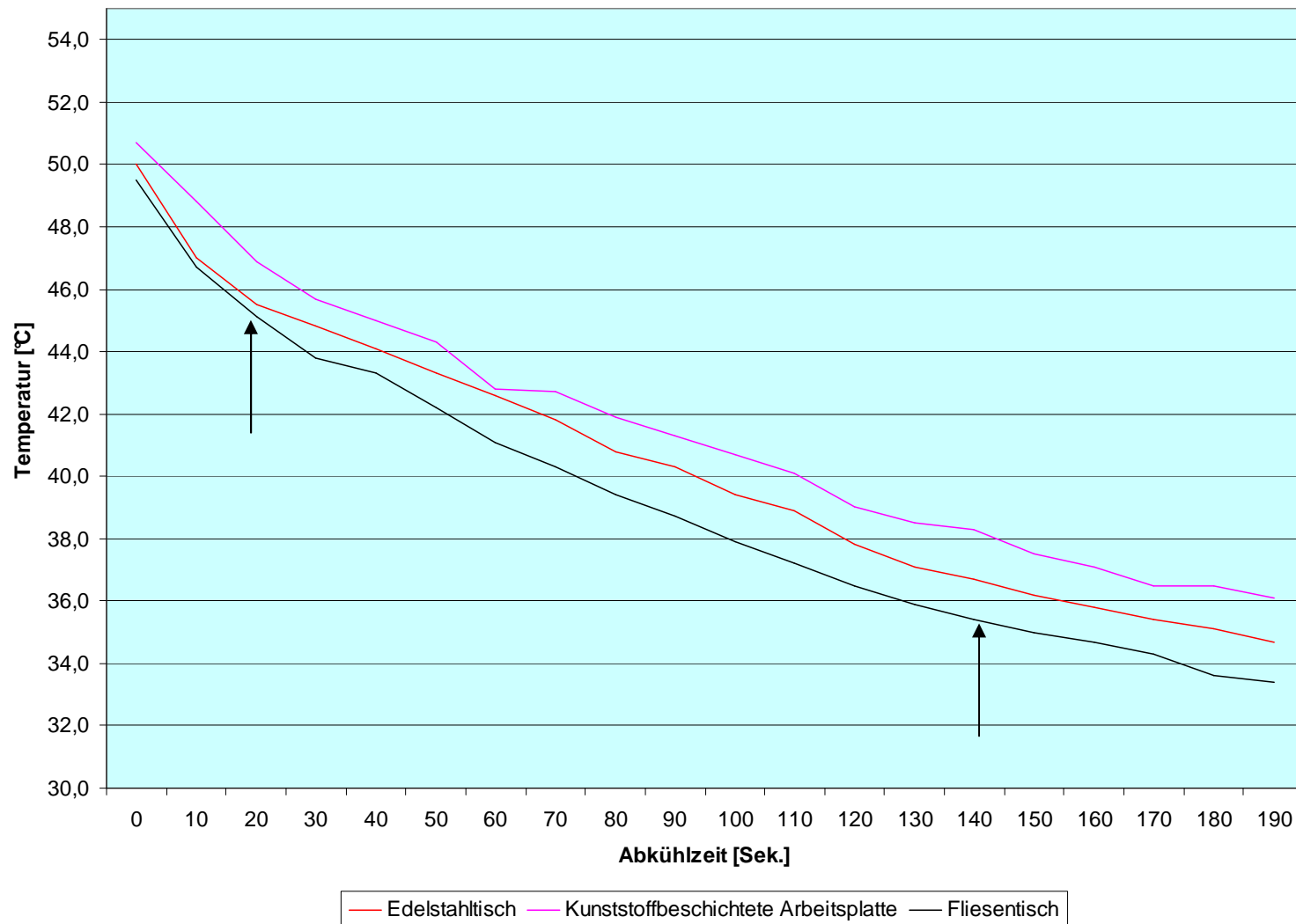
### Temperatur von Gussagarplatten im Stapel von 10 Petrischalen



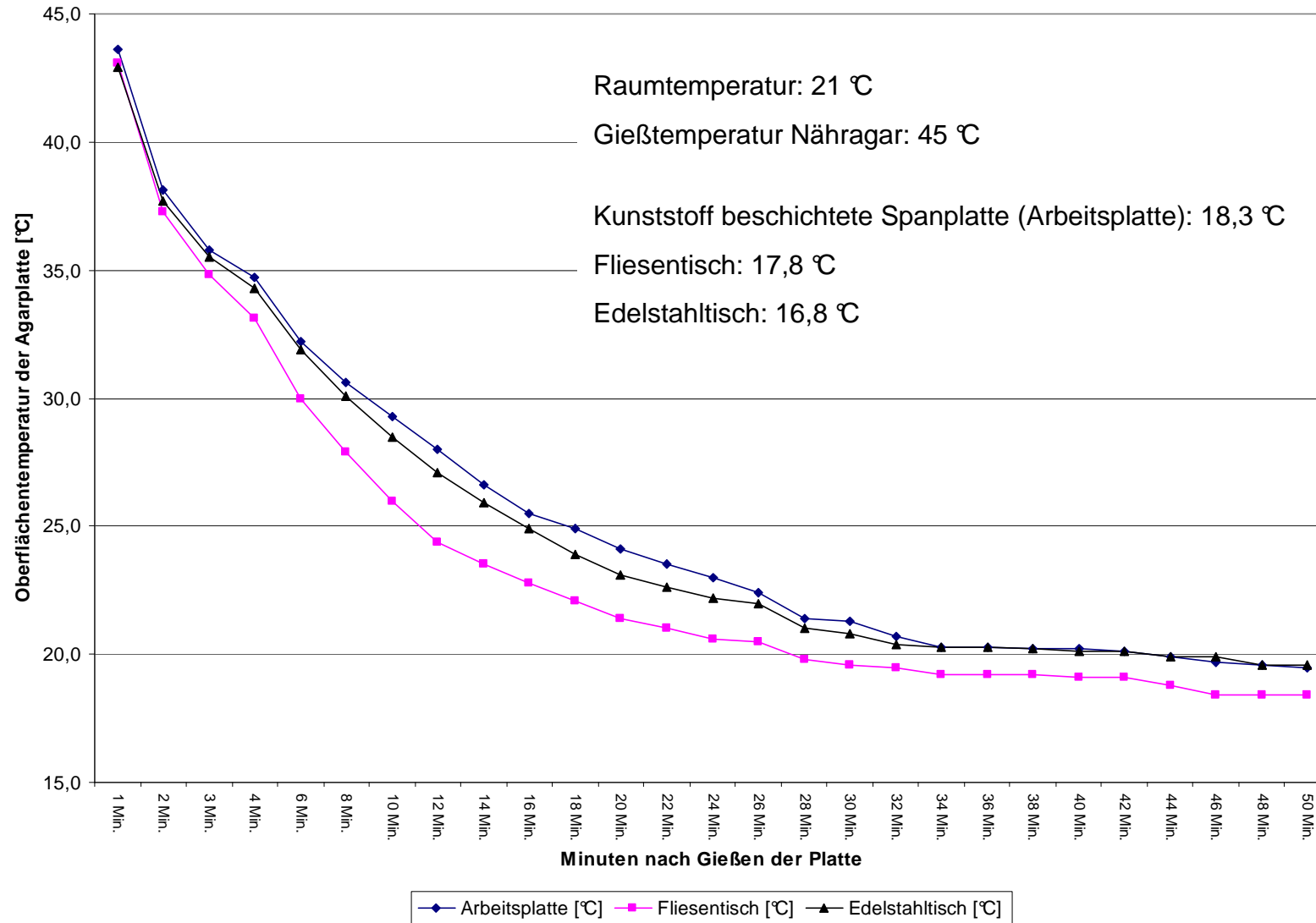
**Serratia spec.**  
 Temperaturempfindlichkeit (Stamm Nr. NLGA C42)



### Oberflächentemperatur von Koloniezahlagar auf verschiedenen Arbeitsflächen



### Abkühlung einer Gussagarplatte auf verschiedenen Unterlagen



**Schon auf der Jahrestagung 2004 bei der AQS in Stuttgart...**

## **KBE – Fehlerquellen**

- das Ablesen der KBE erfolgt ohne (korrekte) Lupe
- die Gießtemperatur des Agars ist zu hoch
- die Gießtemperatur des Agars ist zu gering (Klumpenbildung)
- Die Nährbodenqualität ist ungleichmäßig
- falsche Zusammensetzung des Nährbodens (Eigenrezepturen)
- keine Verwendung kalibrierter Pipetten
- ungenügendes Schütteln der Probenflasche vor dem Pipettieren
- falsche Bebrütungstemperaturen
- Stapelhöhe der Agarplatten





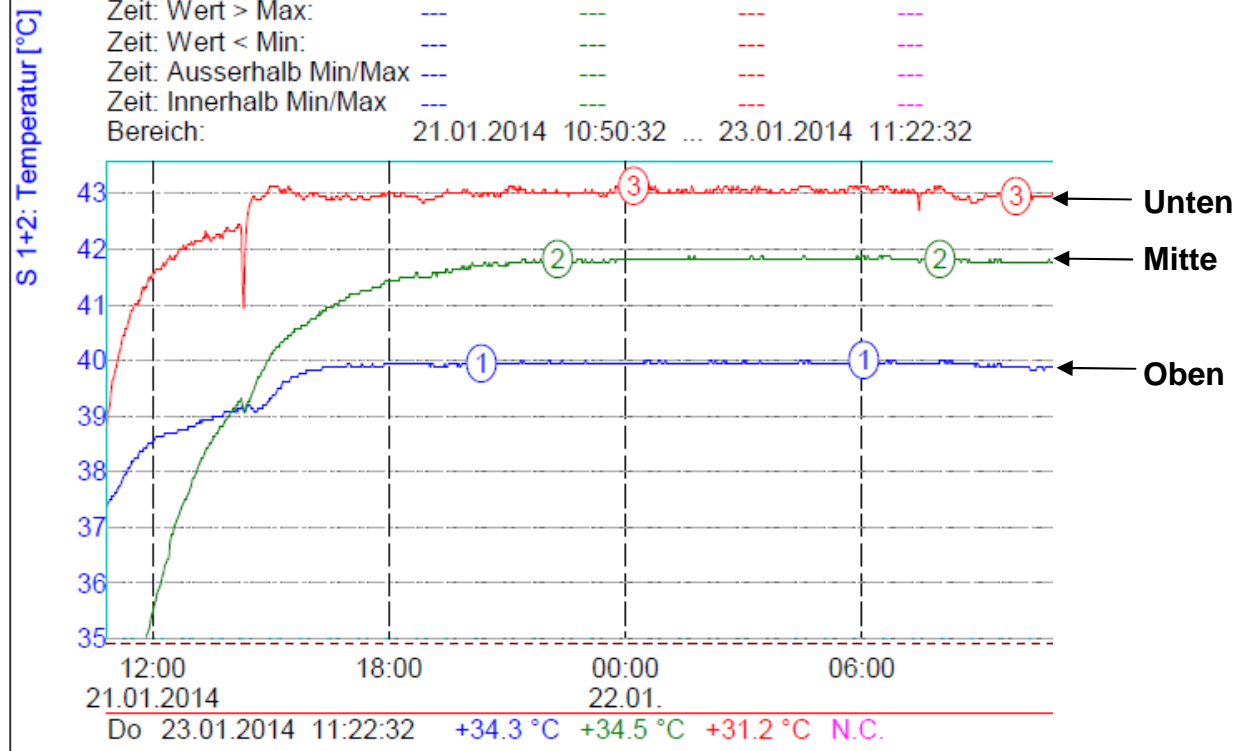
**Temperaturschichtungen  
im Brutschrank**

Aufzeichnungsintervall: 2 Min  
 Modulbeschreibung: 41°C Brutschrank OG 112 Ringversuch  
 Datenbeschreibung:  
 C:\Dokumente und Einstellungen\admin\Eigene Dateien\Dokumentation\058000\_41°C

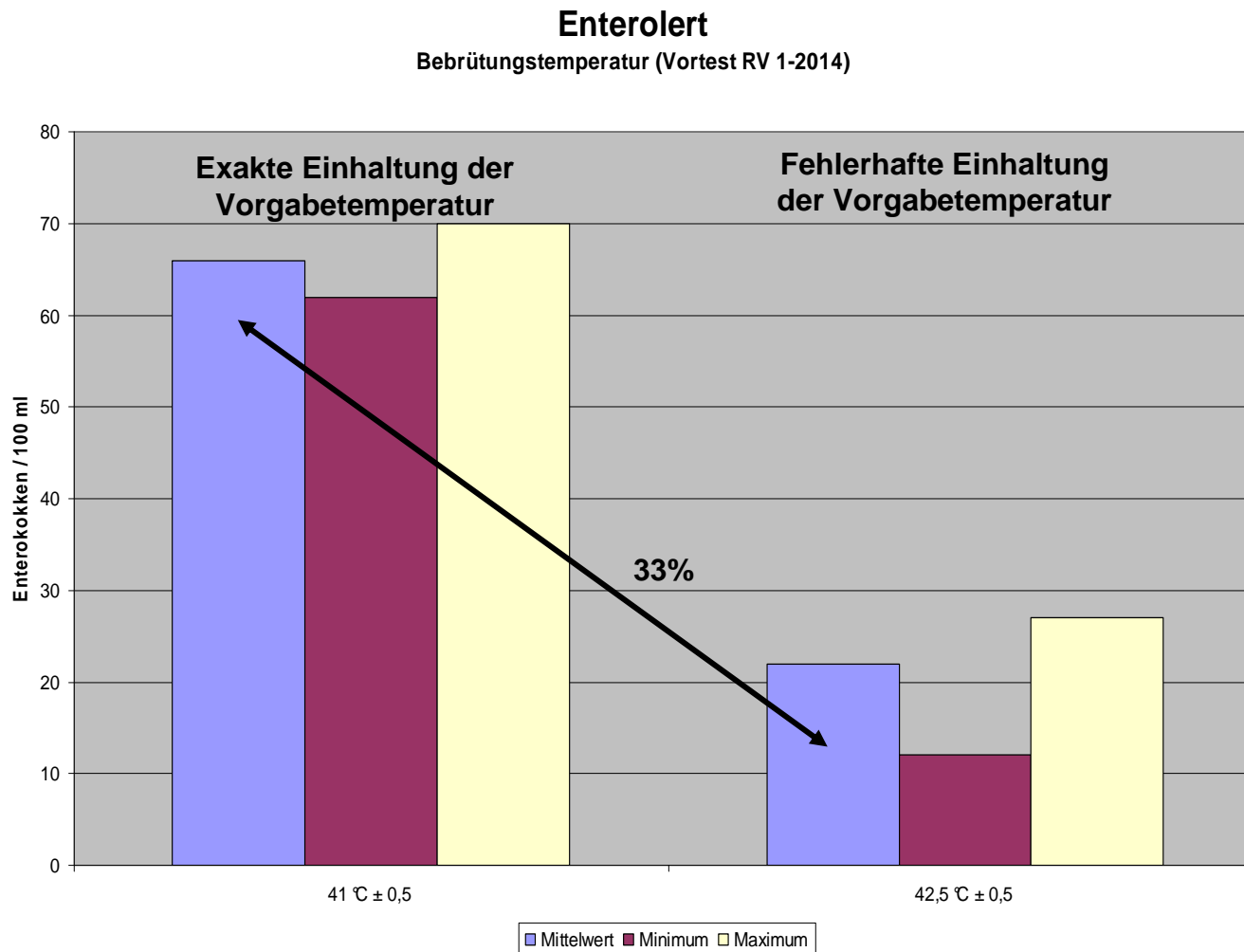
**Ein Brutschrank  
 mindestens 3 Temperaturen**

Fühler 1: oben  
 Fühler 2: mitte  
 Fühler 3: unten

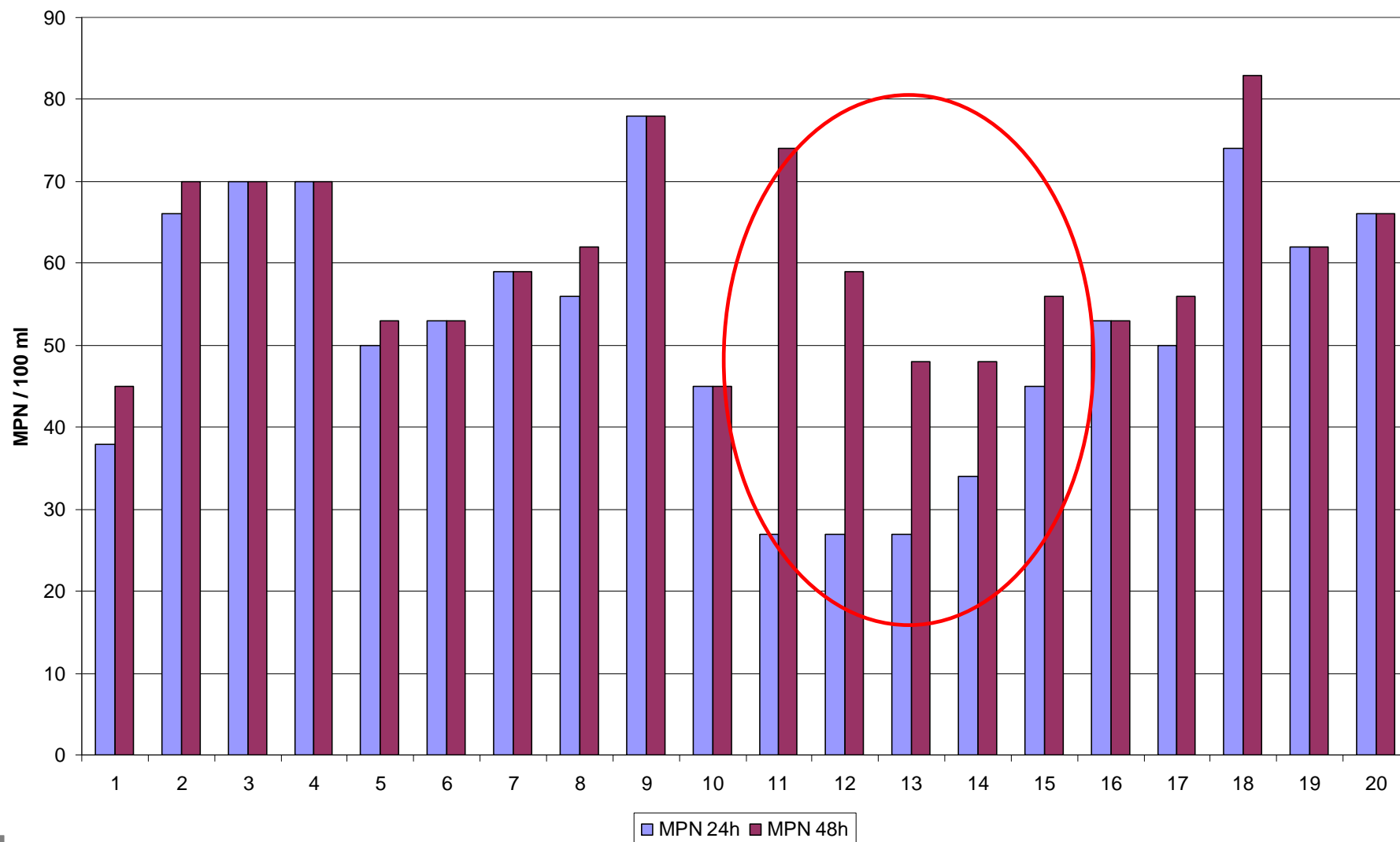
	S1:	S2:	S3:	S4:
Mittelwert:	40.1°C	41.4°C	42.8°C	---
Varianz:	0.423	2.994	0.406	---
Std. Abweichung:	0.651	1.730	0.637	---
Kleinster/Grösster Wert:	34.3 / 40.9°C	30.6 / 42.6°C	31.2 / 43.3°C	---
Zeit: Wert > Max:	---	---	---	---
Zeit: Wert < Min:	---	---	---	---
Zeit: Ausserhalb Min/Max	---	---	---	---
Zeit: Innerhalb Min/Max	---	---	---	---
Bereich:	21.01.2014 10:50:32 ... 23.01.2014 11:22:32			



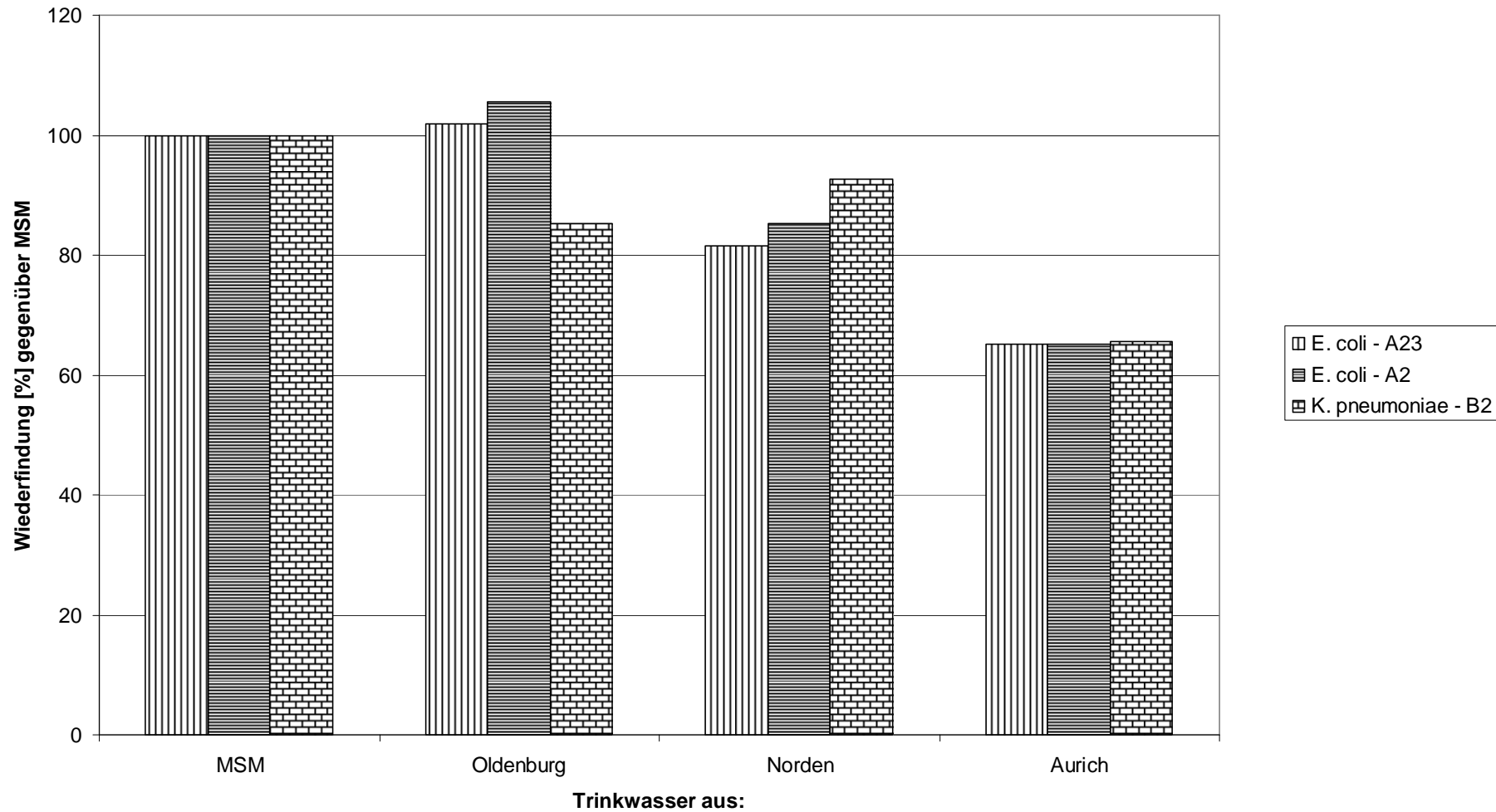
# Enterolert: Einfluss minimaler Abweichung bei der Bebrütungstemperatur



## Enterolert nach 24h und 48h (20er Test RV 1-2014)



### Matrixvergleich - Auswirkungen auf Colilert 3 E. coli / coliformen Stämme Mittelwerte aus jeweils 10 parallelen Ansätzen



<b>Ringversuch:</b>	4-2013	<b>Sollwert (Mittelwert nach Hampel):</b>	30,05
<b>Parameter:</b>	E. coli	<b>Soll-Standardabweichung:</b>	6,385
<b>Einheit:</b>	n / 100 ml	<b>rel. Soll-Standardabw. [%]:</b>	21,24
<b>Gruppe:</b>	C	<b>Ausschlussgrenze unten:</b>	18
<b>Verfahren:</b>	Colilert-18	<b>Ausschlussgrenze oben:</b>	45
<b>Anzahl Werte:</b>	29		

Code-Nr.	Laborwert	Z(u)-Score
4-0176	15	-2,5775
4-0032	19	-1,8927
4-0088	22	-1,3791
4-0144	23	-1,2078
4-0112	25	-0,8654
4-0050	27	-0,5230
4-0103	27	-0,5230
4-0185	27	-0,5230
4-0260	27	-0,5230
4-0275	27	-0,5230
4-0399	27	-0,5230
4-0425	27	-0,5230
4-0054	29	-0,1806
4-0199	29	-0,1806
4-0085	31	0,1309
4-0278	31	0,1309
4-0475	31	0,1309
4-0480	31	0,1309
4-0220	32	0,2694
4-0441	32	0,2694
4-0006	34	0,5464
4-0128	34	0,5464
4-0267	34	0,5464
4-0136	36	0,8233
4-0164	36	0,8233
4-0171	36	0,8233
4-0003	38	1,1003
4-0038	38	1,1003
4-0023	48	2,4852

Code-Nr.	Laborwert	Z(u)-Score
----------	-----------	------------

Aus 100 ml Testansatz = 27 E. coli / 100 ml  
 Entspr. 21 positiven Vertiefungen

Aus 10 ml (RV Probe ) + 90 ml (Trinkwasser)  
 3 pos. Näpfchen = 3,1 (\*10) = 31 E. coli / 100 ml (15%)  
 4 pos. Näpfchen = 4,2 (\*10) = 42 E. coli / 100 ml (55%)

## Badegewässer - Information zur Dotierung der Proben

- Anforderungswerte nach EU Richtlinien sind:
- **E. coli: < 10 – nach oben offene Scala**                      ISO 9308-3, MPN > 4564 bei einer 1:2 Verdünnung  
Ländergrenzwert 1.800 / 100 ml
- **Enterokokken: < 10 - nach oben offene Scala**                      ISO 7899-1, MPN > 4564 bei einer 1:2 Verdünnung
- **Enterokokken: 0 – 200 / 100 ml (!)**                                      ISO 7899-2, Membranfiltration  
**Aber: Ländergrenzwert 700 / 100 ml**  
Das muss sich in den Messergebnissen widerspiegeln lassen
- **Ergebnisangabe:**  
Nach ISO 8199 eine zwar korrekte Angabe wie z.B.:  
EK > 200 / 100 ml reicht dann nicht (ISO 7899-2 Membranfiltration, Verdünnungen einplanen)
- **Wir haben eine Begrenzung der Dotierungen vorgesehen**  
Enterokokken:     0 (<10) bis ~ 2000 / 100 ml  
E. coli             0 (<10) bis ~ 4564 / 100 ml

Damit sind beim Parameter:

- Enterokokken: mit ISO 7899-2 und ISO 7899-1 sowie
- E. coli: mit ISO 9308-3

alle Proben, die im Ringversuch verschickt werden, auswertbar.

**Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit !**

