

Mikrobiologische Ringversuche Chancen und Grenzen

Dr. Katrin Luden

Niedersächsisches Landesgesundheitsamt (NLGA)

Leitung Abt. 4 Wasserhygiene

Lüchtenburger Weg 24

26603 Aurich

Tel.: 04941 9171-32

E-mail: katrin.luden@nlga.niedersachsen.de

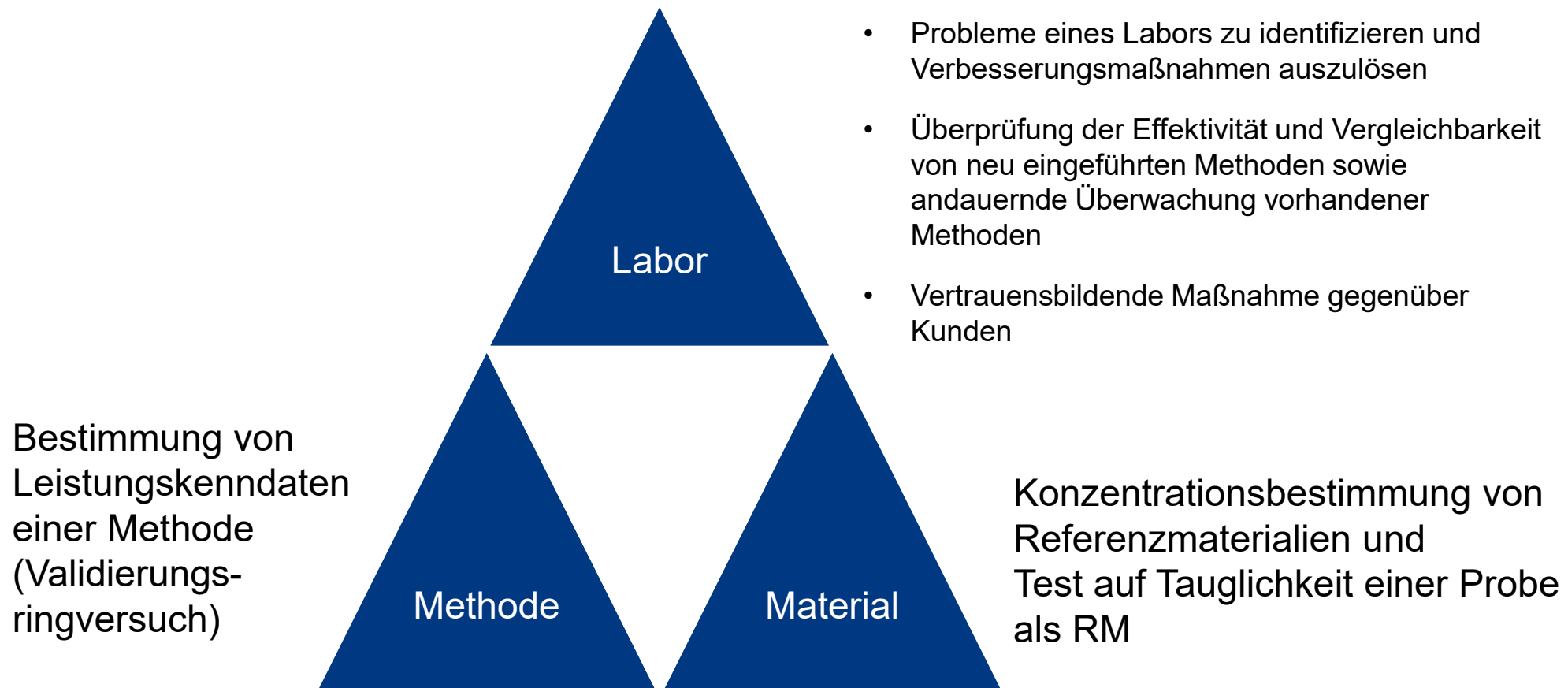
Internet: <http://www.nlga.niedersachsen.de>

Vorstellung mikrobiologische Ringversuche

- Standort Aurich seit etwa 30 Jahren Trinkwasser-Ringversuche
- Seit 2014 akkreditiert nach DIN EN ISO 17043
(Konformitätsbewertung - Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Anbietern von Eignungsprüfungen)
- 25 Mitarbeitende davon 2 ausschließlich für die Ringversuche und fast alle anderen zeitweise
- 4 Ringversuche pro Jahr mit bis zu 700 Paketen je Versuch
- Ausgangspunkt waren die Methoden der damaligen Trinkwasserverordnung
- Qualitative Methoden (p/a-Teste) wurden zu quantitativen Methoden (Membranfiltrationen/MPN)
- alternative Verfahren kamen dazu

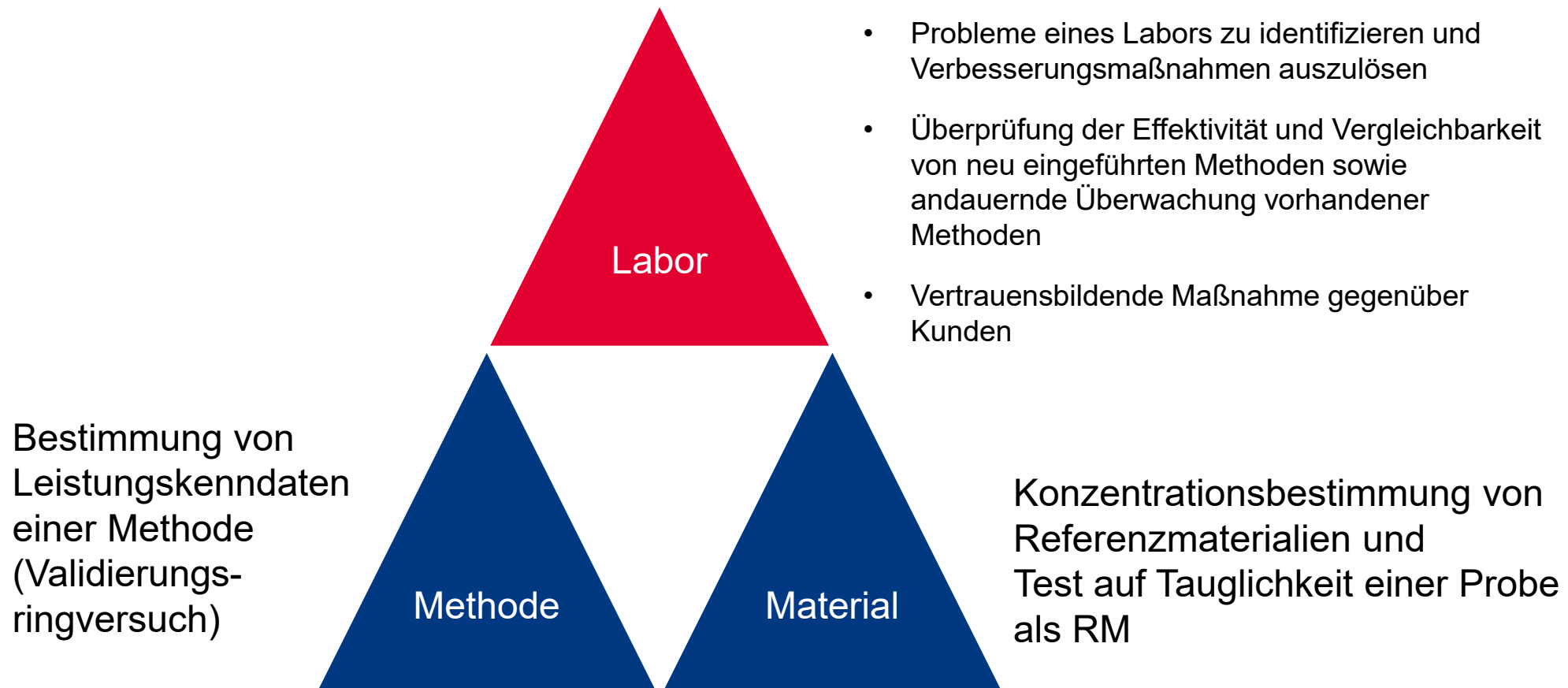
Ziele von Ringversuchen (ISO Guide 43-1:1997)

Leistungsfähigkeit von Laboren in Bezug auf spezifische Tests oder Messungen zu beurteilen sowie andauernde Überwachung



Ziele von Ringversuchen (ISO Guide 43-1:1997)

Leistungsfähigkeit von Laboren in Bezug auf spezifische Tests oder Messungen zu beurteilen sowie andauernde Überwachung



Prägende Aspekte mikrobiologischer Ringversuche

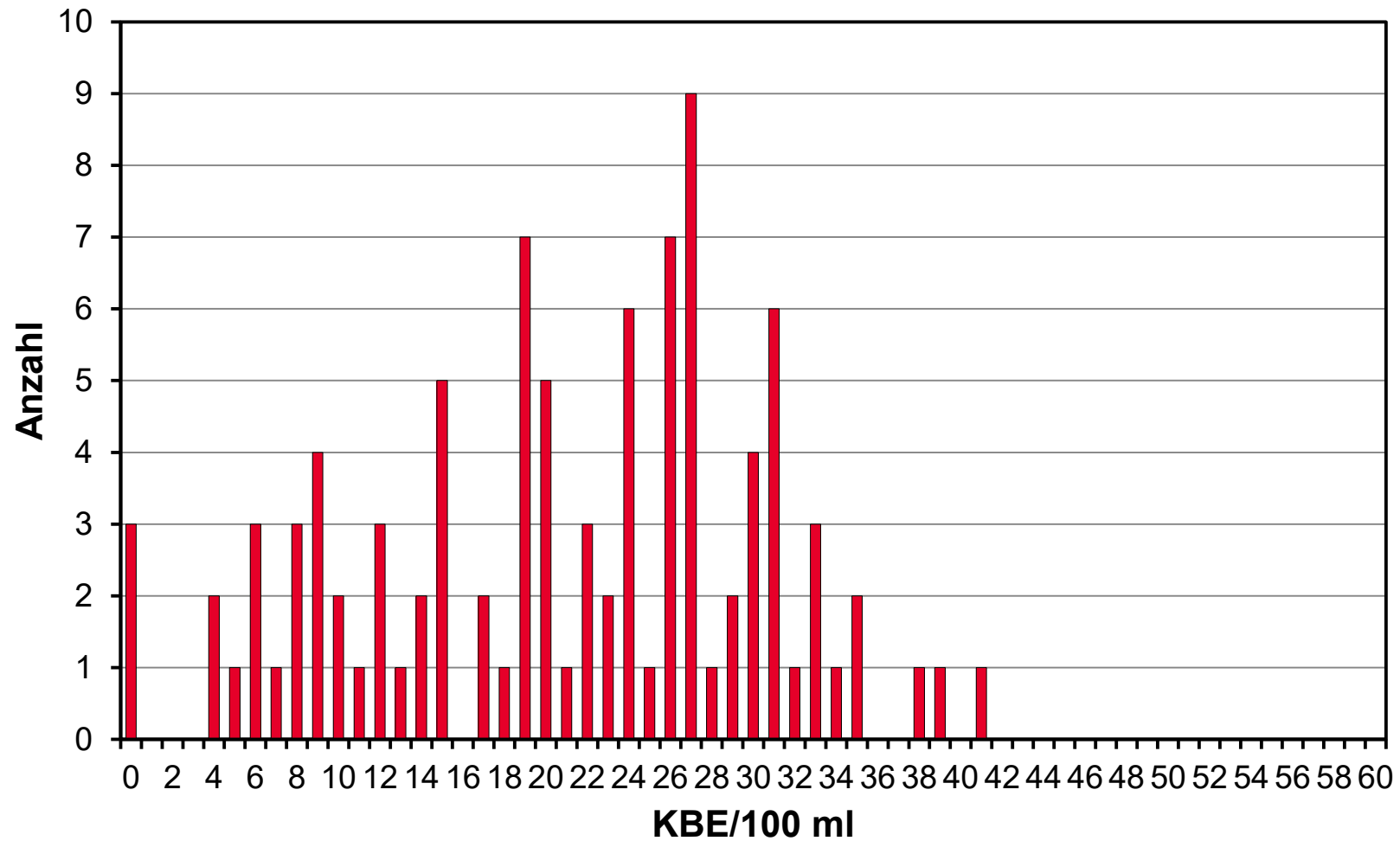
- **Lebende Mikroorganismen**
- Suspensionen von Bakterien (Partikel)
 - Aggregate sind möglich/wahrscheinlich
 - Partikel sind nicht gleich verteilt (gelöst)
- Robuste Stämme, aber gestresst
- Begrenzte Stabilität (einige Tage)
- Konsenswert aus den Laborergebnissen als zugewiesener Wert

- Sehr gute Überprüfung der Anwendung von Einzelverfahren innerhalb eines Labors

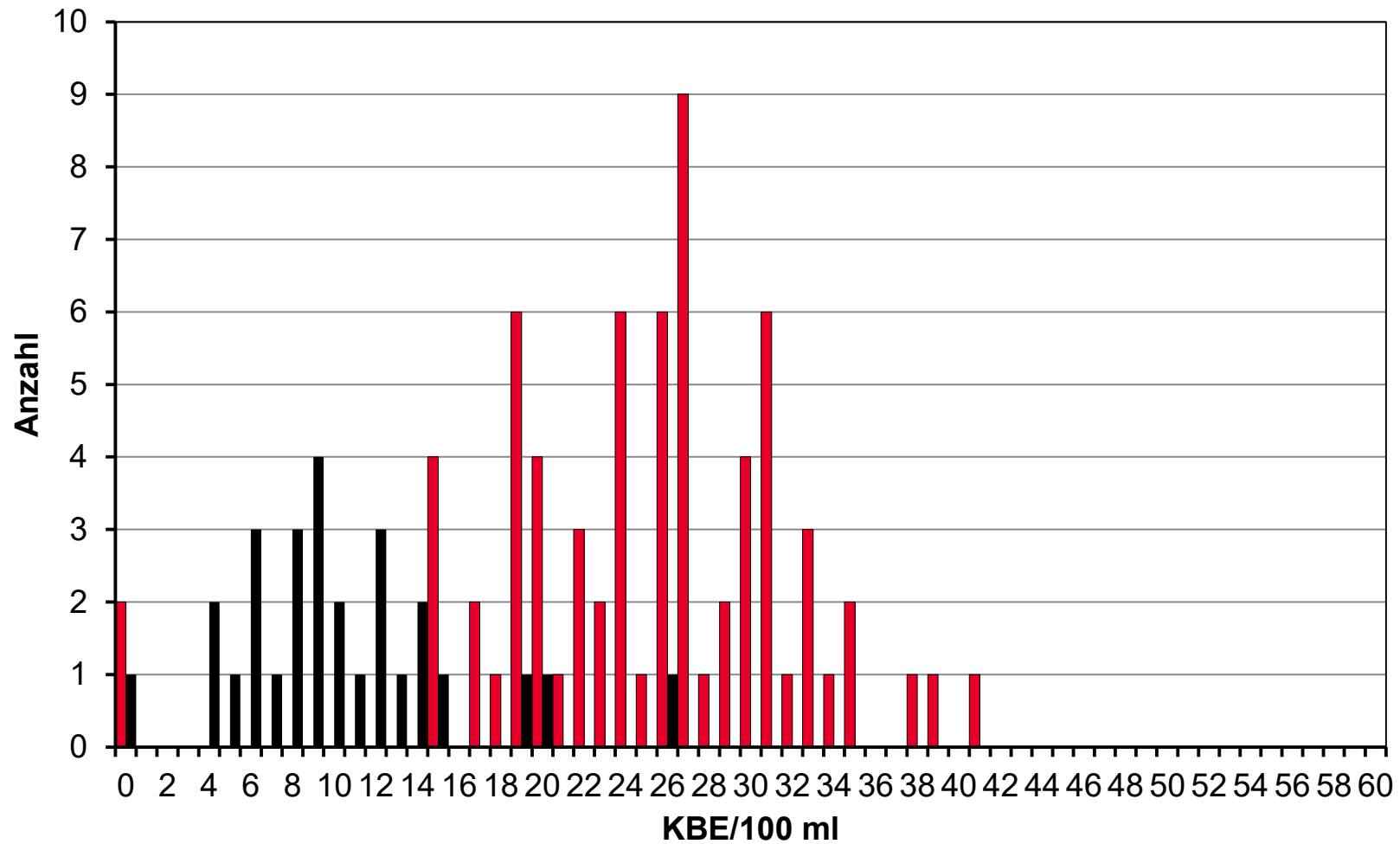
Alternative Verfahren gemäß Trinkwasserverordnung

- Mikrobiologische Verfahren sind Konventionsverfahren: Wahrer Wert unbekannt
- Erfüllen die Anforderungen an “Gleichwertigkeit” im Sinne der ISO 17994
- beruhen nicht zwingend auf dem selben biochemischen Nachweisprinzip

Beispiel Enterokokken



Beispiel Enterokokken



- Zwei nach Trinkwasserverordnung zugelassene (gleichwertige) Verfahren kommen bei der Anwendung an einer (geteilten) Probe nicht zwingend zu einem sehr ähnlichen Ergebnis

Gleichwertigkeit ISO 17994 - Ringversuche

- Zwei nach Trinkwasserverordnung zugelassene (gleichwertige) Verfahren kommen bei der Anwendung an einer (geteilten) Probe nicht zwingend zu einem sehr ähnlichen Ergebnis

ISO 17994	Ringversuche (NLGA)
hohe Anzahl unterschiedlicher natürlicher Proben	Reinkulturen/Mischkulturen in einer Probe
unterschiedliche Matrices (z.B. Oberflächenwasser, Trinkwasser, Abwässer)	definiertes Medium
im Mittel gleiche Anzahl der Proben positiv	
im Mittel gleiche Anzahl der nachgewiesenen Organismen	vergleichbar mit anderen Teilnehmern (Konsenswert)
Vergleich zweier Verfahren mit unabhängiger Bestätigung	ein oder mehrere zugelassene Verfahren aber methodenspezifische Auswertung
viele natürliche Variationen	sehr definierte Bedingungen

- Methodenspezifische Auswertung ist im Ringversuch notwendig und sinnvoll, da alle Labore Teile **einer** Probe analysieren
- Mikrobiologische Ringversuche sind in der Regel idealisierte Proben (homogenisiert und halbwegs stabil) um eine Vergleichbarkeit zu gewährleisten.
- Ein Blick auf die andere Methode (sofern vorhanden) lohnt sich also immer, um die Unterschiede wahrzunehmen und für die Bewertung von natürlichen Proben im Hinterkopf zu behalten

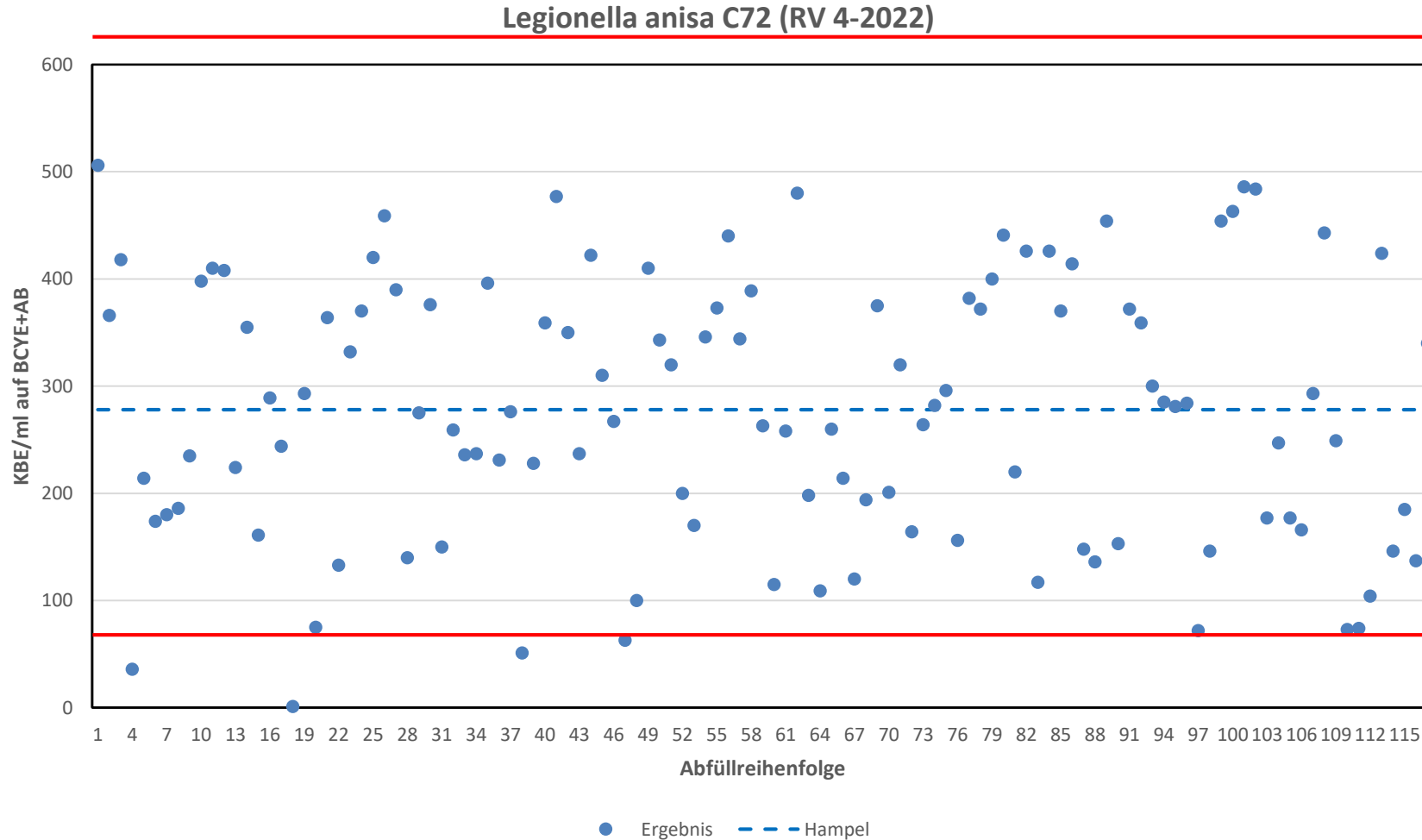
Legionella Direktansatz

Ringversuch	DIN EN ISO 11731:2019-03 Verf. 1	Gruppe	HAMPEL-Schätzer [KBE/ml]	Rel. Sollstandard- abweichung [%]	Stamm 1	Stamm 2
4-2020	GVPC	A	70,6	14,9	<i>L. pneumophila</i> SG1	<i>F. bozemanii</i>
2-2021	BCYE+AB	A	49,9	18	<i>L. pneumophila</i> SG6	
4-2022	BCYE+AB	B	41,8	20,9	<i>L. pneumophila</i> SG1	<i>L. pneumophila</i> SG6
4-2022	GVPC	B	35,1	21,8	<i>L. pneumophila</i> SG1	<i>L. pneumophila</i> SG6
2-2022	GVPC	A	20,7	24,2	<i>L. pneumophila</i> SG1	
2-2021	GVPC	A	39,2	24,5	<i>L. pneumophila</i> SG6	
4-2020	BCYE+AB	A	74,9	26,6	<i>L. pneumophila</i> SG1	<i>F. bozemanii</i>
2-2022	BCYE+AB	A	24,4	30,3	<i>L. pneumophila</i> SG1	
2-2021	BCYE+AB	B	27,6	32,9	<i>L. pneumophila</i> SG1	<i>L. anisa</i>
2-2020	BCYE+AB	A	39,7	33,1	<i>L. pneumophila</i> SG1	<i>F. bozemanii</i>
4-2021	BCYE+AB	A	52,3	33,6	<i>L. pneumophila</i> SG1	<i>F. bozemanii</i>
4-2021	GVPC	A	56,1	35,1	<i>L. pneumophila</i> SG1	<i>F. bozemanii</i>
2-2020	GVPC	A	38,1	39,3	<i>L. pneumophila</i> SG1	<i>F. bozemanii</i>
4-2022	BCYE+AB	A	277,9	46,9	<i>L. anisa</i>	
4-2020	BCYE+AB	B	62,4	47,9	<i>L. anisa</i>	
2-2020	BCYE+AB	B	29,4	48,1	<i>F. bozemanii</i>	
2-2022	BCYE+AB	B	81,5	49	<i>F. bozemanii</i>	
4-2021	BCYE+AB	B	40,3	49,8	<i>L. anisa</i>	

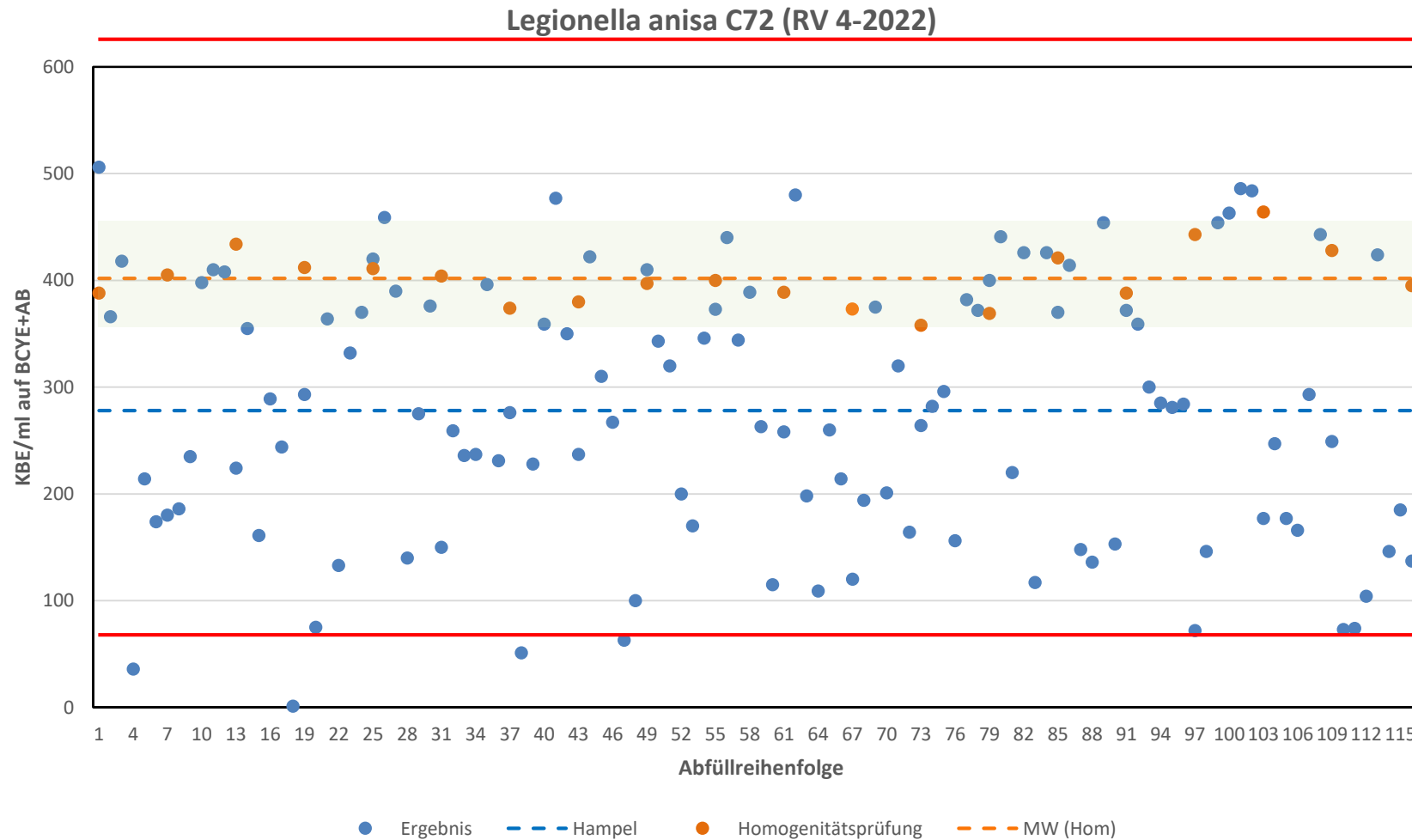
Legionella

- Streuung für non-pneumophila Stämme besonders hoch
- Ursache? - möglicherweise:
 - Nährmedien auf L. pneumophila optimiert
 - Adhäsion der Stämme an die Flaschen (Transport)
 - Stämme empfindlich auf mechanische Schädigung beim Ausplattieren

TN-Ergebnisse in Abfüllreihenfolge (Vergleichsbedingungen)



Ergebnisse Rückstellproben (Wiederholbedingungen)



Legionella

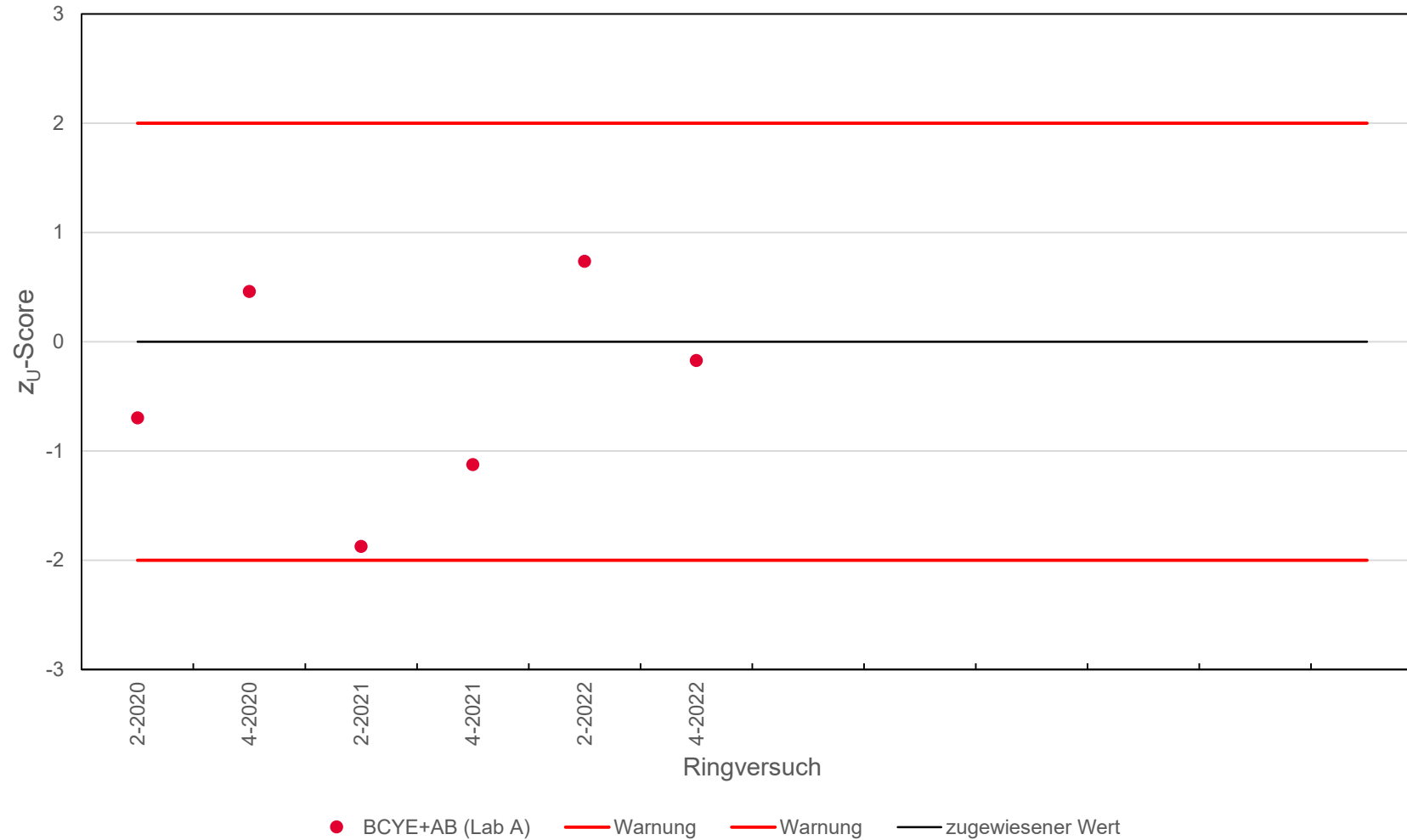
- Streuung für non-pneumophila Stämme besonders hoch

- Ursache? - möglicherweise:
 - Nährmedien auf L. pneumophila optimiert
 - Adhäsion der Stämme an die Flaschen (Transport)
 - Stämme empfindlich auf mechanische Schädigung beim Ausplattieren

- Maßnahmen als Labor
 - Wenn mehrfach negative z(u)-Scores für einen Parameter: Ursachensuche z.B. quantitative Überprüfung der Nährmedien mit Kontrollstämmen (z.B. ISO 11133)
 - Kontrollkarten

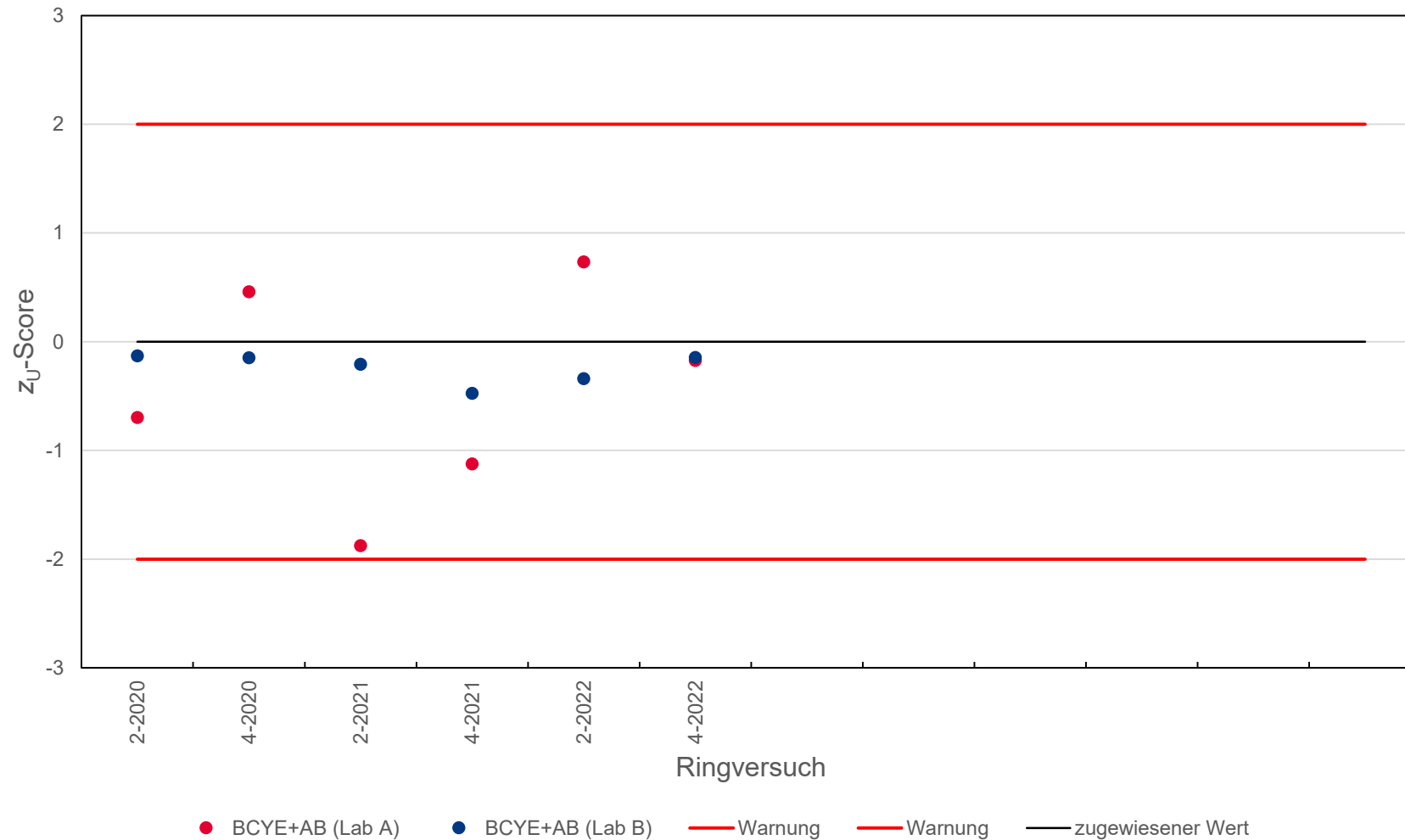
Kontrollkarte: Zielwertkarte Legionella ($|z_U\text{-Score}| < 2$)

DIN EN ISO11731:2019-03 Verf. 1 BCYE+AB



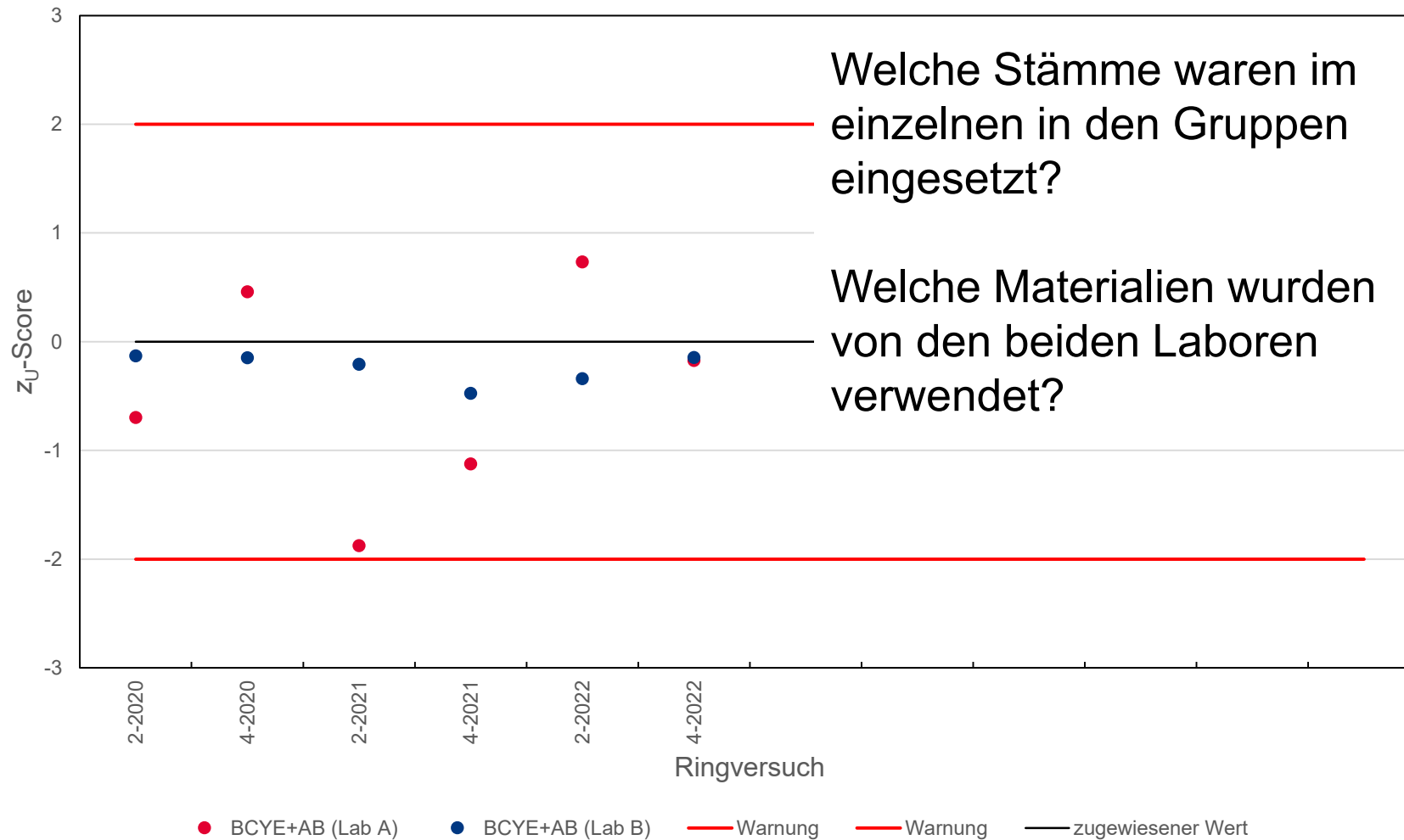
Kontrollkarte: Zielwertkarte Legionella ($|z_U\text{-Score}| < 2$)

DIN EN ISO11731:2019-03 Verf. 1 BCYE+AB



Kontrollkarte: Zielwertkarte Legionella ($|z_U\text{-Score}| < 2$)

DIN EN ISO11731:2019-03 Verf. 1 BCYE+AB



Fazit

- Es lohnt sich, auch auf die weiteren Informationen im Abschlussbericht zu schauen. Es lässt sich viel über Methoden lernen.
- Gleichwertigkeit \neq gleiches Ergebnis im RV oder bei Einzelproben
- Methode, die im RV geringere Ergebnisse zeigt nicht zwingend schlechter, da ja auch „nur“ eine Einzelprobe
- Auch bei bestandenen Ringversuchen lohnt sich ein genauerer Blick auf die eigenen Methoden für eine realistische Einschätzung der Grenzen und Schwierigkeiten.
- Das Führen von Kontrollkarten über die z_U -Scores der Einzelmethode der Ringversuche ist sinnvoll.

Vielen Dank an mein Team in Aurich!

Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit!