



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

Bedeutung von coliformen Bakterien im Trinkwasser

Dr. Katharina Kohls
Lüchtenburger Weg 34
26603 Aurich
04941-917112

katharina.kohls@nlga.Niedersachsen.de

Gliederung

- Einleitung coliforme Bakterien
- Nachweismethoden (TrinkWV) coliforme Bakterien/E.coli
- Bedeutung/Beurteilung coliforme Bakterien
- Differenzierung von coliformen Bakterien + Praxisbeispiel
- Zusammenfassung

Coliforme Bakterien

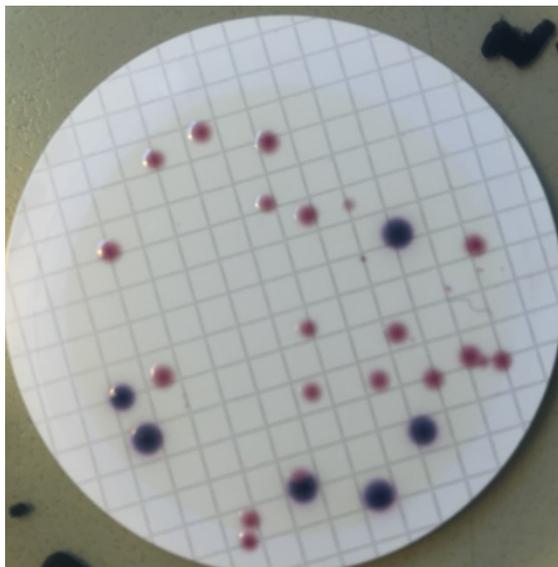
- Indikatorparameter nach TrinkwV
- Coliforme Bakterien gehören zur Familie der Enterobacteriaceae
- gram-negative, nicht sporenbildende, cytochromoxidasenegative Stäbchen
- Arten fäkalen Ursprungs sowie Umweltcoliforme
- neue Methoden erfassen mehr Umweltcoliforme → nicht unbedingt hygienische Relevanz und oft kein Indikator für fäkale Verunreinigung

Vergleich Methoden TTC -CCA

ISO 9308-1: 2001	ISO 9308-1: 2017
Membranfiltration	Membranfiltration
Lactose-TTC Agar Gelbfärbung des Agars	Chromogenic Coliform Agar (CCA) Kolonien pink, rot, blau, violett
Tergitol-7	Tergitol® 15-S-7
Säurebildung aus Laktose	β -Galaktosidase (Colif.) β -Glucuronidase (E. coli)
36 ± 2 °C	36 ± 2 °C
21 ± 3 Stunden	21 ± 3 Stunden
Oxidase negativ Indoltest β -Glucuronidase	Oxidase
Gesamtdauer: 1-3 Tage	Gesamtdauer 1-2 Tag

Aktuelle Nachweismethoden coliforme Bakterien (TrinkwV)

ISO 9308-1(2014) (CCA)



ISO 9308-3 (Colilert)



Nachweisprinzip:

- β -Galactosidase (Colif.): rosa/rot-pink (CCA); gelb (Colilert)
- β -Glucuronidase (E.coli):blau/violett (CCA); fluoreszierend (Colilert)



Quelle: Idexx

Methoden zum Nachweis coliformer Bakterien

Tab. 1 Einteilung coliformer Bakterien (Gattungen) in Abhängigkeit von Nachweisverfahren und -prinzip

Methode nach TrinkwV 1990 Laktose zu Säure und Gas	Methode nach DIN EN ISO 9308-1, TrinkwV 2001 Laktose zu Säure	Alternativverfahren nach TrinkwV 2001, „Colilert®-18/Quanti-Tray®“ β-O-Galaktosidase
Escherichia	Escherichia	Escherichia
Klebsiella	Klebsiella	Klebsiella
Enterobacter	Enterobacter	Enterobacter
Citrobacter	Citrobacter	Citrobacter
	Yersinia	Yersinia
	Serratia	Serratia
	Hafnia	Hafnia
	Pantoea	Pantoea
	Kluyvera	Kluyvera
		<i>Cedecea</i>
		<i>Ewingella</i>
		<i>Moellerella</i>
		<i>Leclercia</i>
		<i>Rahnella</i>
		<i>Yokenella</i>

Fett: coliforme Bakterien, die in der Umwelt und in menschlichen Faeces vorkommen können;

Fett und kursiv: coliforme Bakterien, die als primäre Umweltmikroorganismen angesehen werden.

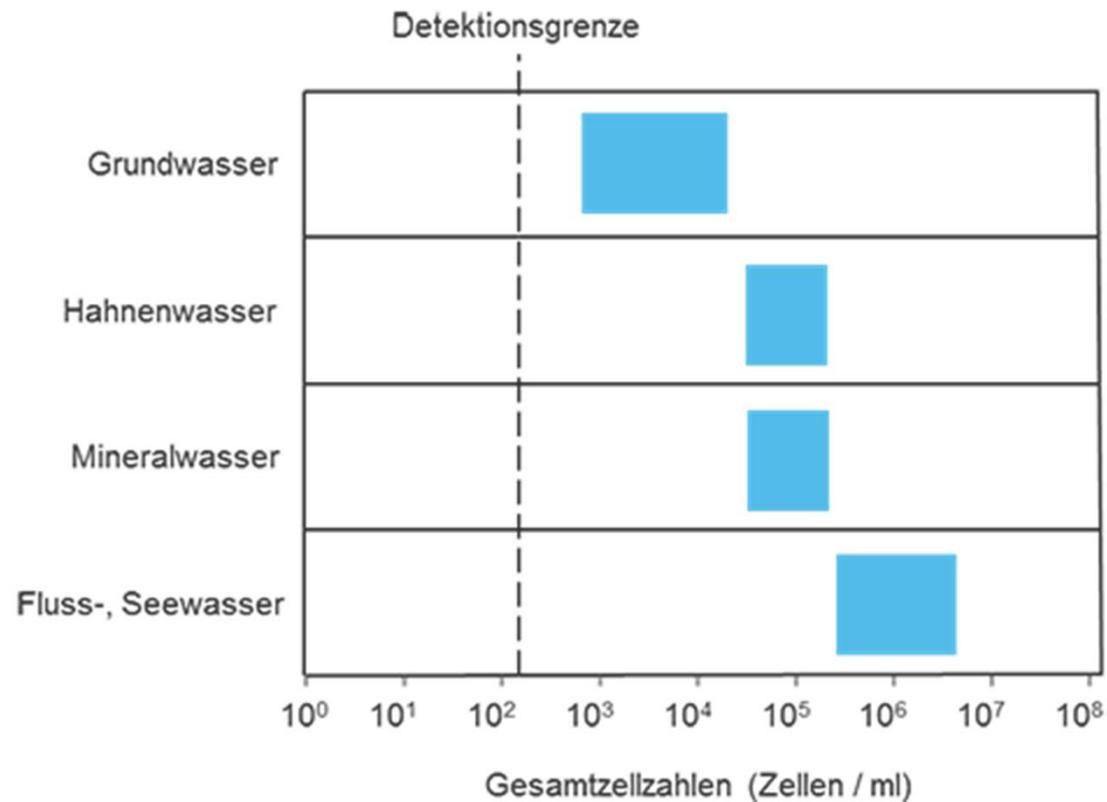
Empfehlung des Umweltbundesamtes: Coliforme Bakterien im Trinkwasser

Bundesgesundheitsbl 2009; 52:474–482 DOI10.1007/s00103-009-0823-7

Online publiziert: 28. März 2009 © Springer Medizin Verlag 2009

Natürliche Biozonose im Trinkwasser

- Trinkwasser ist nicht keimfrei



Quelle: GWA 4/2010, Neue Methoden für die Trinkwasseranalytik; Durchflusszytometrie

Wo liegt das Problem?

- Empfindlicheres Nachweisprinzip für coliforme Bakterien, dadurch häufiger Grenzwertüberschreitungen (keine Änderung des Textes der zugrundeliegenden Verordnung)

UBA-Empfehlung - Coliforme Bakterien im Trinkwasser

„Die Trinkwasserkommission stellt fest, dass das Vorkommen coliformer Bakterien unabhängig vom Nachweisverfahren entsprechend der Trinkwasserverordnung (TrinkwV 2001) [8] immer eine unerwünschte Belastung des Trinkwassers darstellt, und nicht dauerhaft tolerierbar ist.“

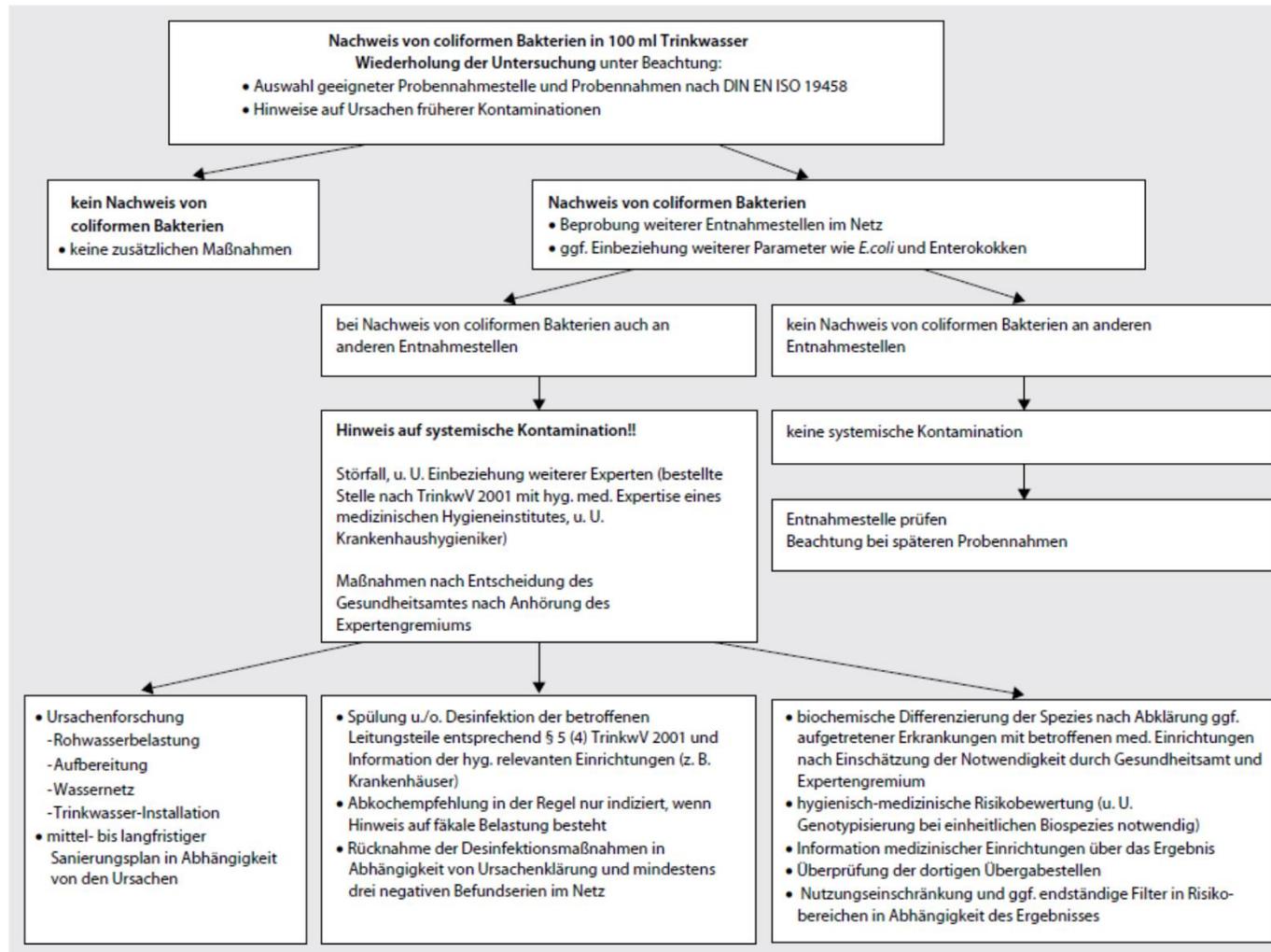
 **Qualitätsanforderungen an das Trinkwasser durch empfindlicheres Nachweisprinzip gestiegen**

 **Daher wird der Parameter in Fachgremien kontrovers diskutiert**

Beurteilung von Coliformen

- Eine Gefährdung der menschlichen Gesundheit ist bei alleinigem Nachweis von coliformen Bakterien für die Normalbevölkerung in der Regel nicht zu besorgen.
- Ausnahme → sensible Einrichtungen, prädisponierten oder abwehrgeschwächten Patienten
- Abkochgebot nur wenn Hinweis auf fäkale Verunreinigung
- Bei systemischer Kontamination, E. coli/Enterokokken auch in größeren Volumen untersuchen um fäkalen Eintrag auszuschließen.
- Hygienische Risikobewertung von coliformen Bakterien immer Einzelfallentscheidung, u.a. abhängig von der/den Spezies, und der Gesamtsituation (sensible Bereiche, Konzentration, weitere Auffälligkeiten...)
- Handlungsempfehlungen:
 - Leitlinien zum Vollzug der §§ 9 und 10 der Trinkwasserverordnung
 - UBA-Empfehlung - Coliforme Bakterien im Trinkwasser

UBA-Empfehlung



Empfehlung des Umweltbundesamtes: Coliforme Bakterien im Trinkwasser; Bundesgesundheitsbl 2009; 52:474–482 DOI10.1007/s00103-009-0823-7
 Online publiziert: 28. März 2009 © Springer Medizin Verlag 2009

Beurteilung verschiedener Spezies (UBA-Empfehlung)

Tab. 2 Beispiele für coliforme Bakterien in Abhängigkeit von ihrer gesundheitlichen Bewertung (die Tabelle erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit und bedarf der hygienisch-medizinischen Bewertung)*

Coliforme Bakterien mit nachgewiesener fakultativ pathogener Bedeutung und mit häufigem Nachweis in klinischem Untersuchungsmaterial und im Zusammenhang mit Ausbrüchen		Coliforme Bakterien mit möglicher fakultativ pathogener bzw. opportunistischer Bedeutung und seltenem Nachweis in klinischem Untersuchungsmaterial bei sporadischen Infektionen		Coliforme Bakterien, die nach bisherigem Kenntnisstand von ungesicherter opportunistischer Bedeutung sind	
Genus	Spezies	Genus	Spezies (Beispiele)	Genus	Spezies (Beispiele)
Klebsiella	– pneumoniae – oxytoca				
Enterobacter	– cloacae – aerogenes	Enterobacter	amnigenus	Enterobacter	asburiae
Serratia	– marcescens – liquefaciens	Serratia	plymuthica	Serratia	fonticola
Citrobacter	– freundii	Citrobacter	koseri		
		Spezies weiterer Gattungen wie Edwardsiella, Erwinia, Hafnia, Leclercia, Kluyvera, Pantoea, Rahnella, Yersinia		Spezies weiterer Gattungen Buttiauxella, Budvicia, Leminorella, Moellerella, Raoultella, Yersinia, Yokenella	

*Im Literaturverzeichnis ist spezielle Literatur zur **Tab. 2** angegeben.

Empfehlung des Umweltbundesamtes: Coliforme Bakterien im Trinkwasser
 Bundesgesundheitsbl 2009 · 52:474–482 DOI10.1007/s00103-009-0823-7
 Online publiziert: 28. März 2009 © Springer Medizin Verlag 2009

Bei Nachweis coliformer Bakterien, die nach bisheriger Kenntnis von ungesicherter opportunistischer Bedeutung sind, werden diese Befunde wie das Auftreten einer Koloniezahlerhöhung ohne Hinweis für übrige Auffälligkeiten gewertet.

Mögliche Ursachen für das Vorkommen von coliformen Bakterien

- Das Vorkommen niedriger Konzentrationen deutet nicht zwingend auf einen Eintrag von außen hin (Mobilisierung Biofilme, hohe Fließgeschwindigkeit, Fließumkehr...)

- Ansiedlung in Aufbereitung
 - Undichte Behälter
 - Sedimentablagerungen in Behältern
 - Undichte Belüftung
 - Zusammenhang mit Invertebraten?
 - Eintrag durch das Rohwasser
 -

- Eine Vermehrung/Ansiedlung von coliformen Bakterien im Leitungssystem
 - ungeeignete Leitungsmaterialien
 - Wassertemperatur über 20 °C
 - anaerobe Bedingungen (Sedimente)

Heutige Bedeutung von coliformen Bakterien

- ➔ Der Nachweis coliformer Bakterien kann ein Hinweis auf einen nicht ordnungsgemäßen Zustand im Versorgungssystem sein → technische Relevanz (Mängel in Gewinnung, Aufbereitung, Verteilung)
- ➔ hilfreicher Parameter für die Prozessüberwachung
- ➔ Der Nachweis coliformer Bakterien hat oft keine hygienische Relevanz (in den meisten Fällen kein Fäkalindikator)

Differenzierung Coliforme

Wann/Warum differenzieren?

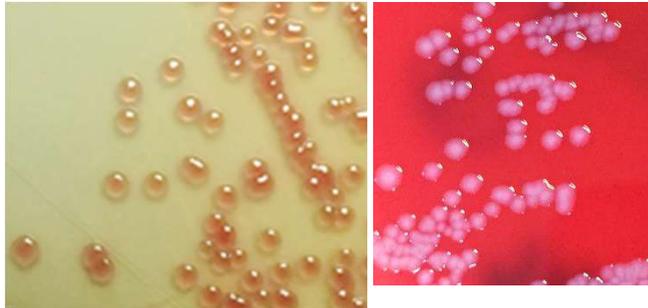
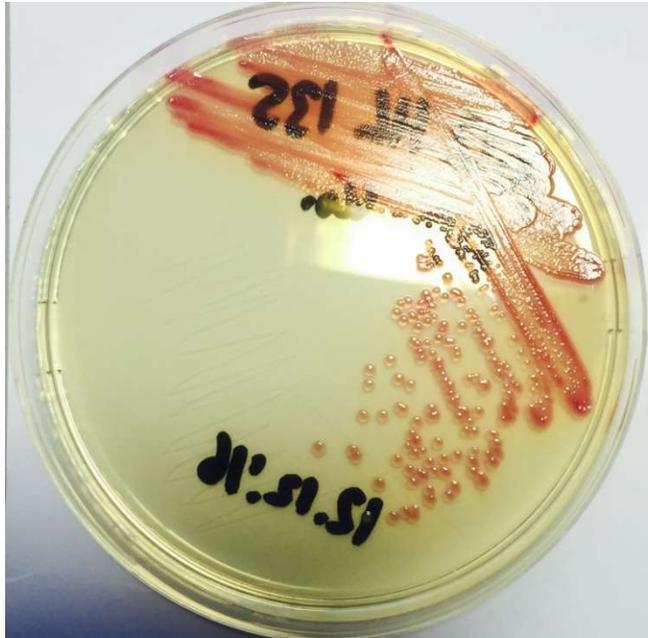
- Bei Hinweisen auf systemische Kontamination
- Für die hygienisch-medizinische Beurteilung → Immer Einzelfallentscheidungen
- Zur Ursachenforschung: Spezies/Diversität kann bei Quellensuche hilfreich sein

Gängige Differenzierungsmethoden:

- Biochemische (phänotypische) Differenzierung → z. B. API 20E, VITEK
- 16S rRNA Sequenzierung (genotypische Diff.)
- MALDI-TOF MS (**m**atrix-**a**ssisted **l**aser **d**esorption/**i**onization **t**ime-**o**f-**f**light mass spectrometry)

Differenzierung der Coliformen aus verschiedenen Entnahmestellen

Ausgang Wasserwerk



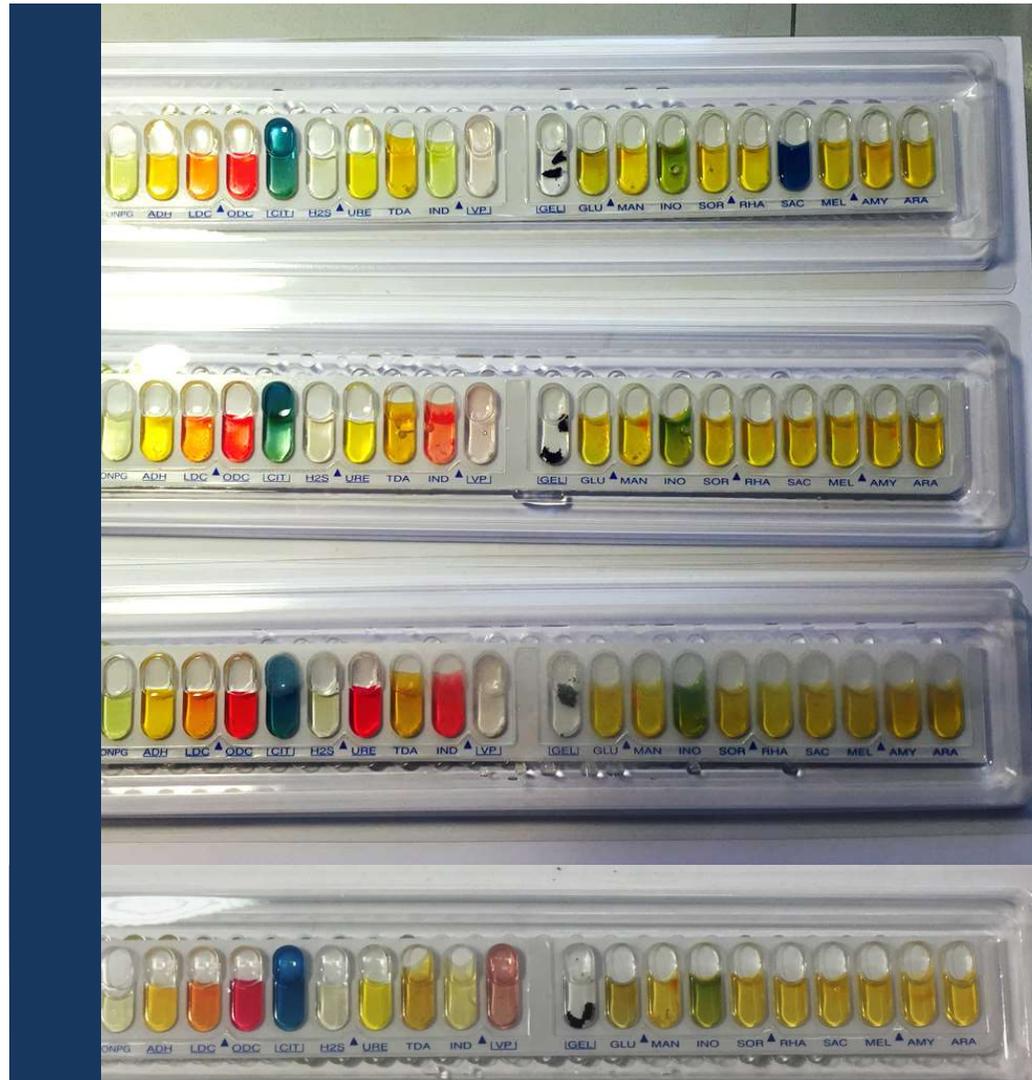
→ 99,9% *Raoultella ornitholytica*
(API 20E)

Netzprobe



→ 99,3% *Serratia fonticola*
(API 20E)

Differenzierung der Coliformen aus verschiedenen Entnahmestellen



99,3% *Serratia fonticola*
Sehr gute Identifizierung

99,9% *Raoultella ornitholytica*
Sehr gute Identifizierung

86,9% *Raoultella ornitholytica*
Gute Identifizierung

52,5 % *Enterobacter aerogenes*
41,5 % *Enterobacter cloacae*
Gute Identifizierung auf Genusebene

81,3% *Serratia liquefaciens*

Einordnung dieser Coliformen nach UBA-Empfehlung

Tab. 2 Beispiele für coliforme Bakterien in Abhängigkeit von ihrer gesundheitlichen Bewertung (die Tabelle erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit und bedarf der hygienisch-medizinischen Bewertung)*

Coliforme Bakterien mit nachgewiesener fakultativ pathogener Bedeutung und mit häufigem Nachweis in klinischem Untersuchungsmaterial und im Zusammenhang mit Ausbrüchen		Coliforme Bakterien mit möglicher fakultativ pathogener bzw. opportunistischer Bedeutung und seltenem Nachweis in klinischem Untersuchungsmaterial bei sporadischen Infektionen		Coliforme Bakterien, die nach bisherigem Kenntnisstand von ungesicherter opportunistischer Bedeutung sind	
Genus	Spezies	Genus	Spezies (Beispiele)	Genus	Spezies (Beispiele)
Klebsiella	– pneumoniae – oxytoca				
Enterobacter	– cloacae – aerogenes	Enterobacter	amnigenus	Enterobacter	asburiae
Serratia	– marcescens – liquefaciens	Serratia	plymuthica	Serratia	fonticola
Citrobacter	– freundii	Citrobacter	koseri		
		Spezies weiterer Gattungen wie Edwardsiella, Erwinia, Hafnia, Leclercia, Kluyvera, Pantoea, Rahnella, Yersinia		Spezies weiterer Gattungen Buttiauxella, Budvicia, Leminorella, Moellerella, Raoultella, Yersinia, Yokenella	

*Im Literaturverzeichnis ist spezielle Literatur zur **Tab. 2** angegeben.

Vergleich der Differenzierung mit verschiedenen Methoden

Probenkennzeichnung	API 20E	16S RNA Sequenzierung (nächste Verwandte)	MALDI-TOF
1	Serratia fonticola 99.3%	Serratia fonticola	Serratia fonticola
2	Raoultella ornithinolytica 99.9%	Serratia fonticola	Serratia fonticola
3	Raoultella ornithinolytica 86.9%	Serratia fonticola	Serratia fonticola
4	Serratia liquefaciens 81,3 %	Serratia fonticola	
5	Enterobacter aerogenes 52,5% Enterobacter cloacae 41,5%	Serratia fonticola	

➔ Für die Differenzierung zur hygienisch-medizinischen Bewertung sind 16S rRNA Sequenzierung und/oder MALDI-TOF zu empfehlen

16S rRNA Sequenzierung



MALDI-TOF Analyse



Zusammenfassung

- erhöhte Qualitätsansprüche durch empfindlicheres Nachweisprinzip, dadurch vermehrt Grenzwertüberschreitungen
- Eine Gefährdung der menschlichen Gesundheit ist bei alleinigem Nachweis von coliformen Bakterien in der Regel für die Normalbevölkerung nicht zu besorgen
- Nachweis oft keine hygienische Relevanz aber häufig technische Relevanz

Zusammenfassung

- Bei Hinweisen auf eine systemische Kontamination Speziesdifferenzierung wichtig für hygienische Bewertung und Ursachenforschung
- Hygienisch-medizinische Bewertung von coliformen Bakterien immer Einzelfallentscheidungen
- Für die Differenzierung zur hygienischen Bewertung sind 16S rRNA Sequenzierung und/oder MALDI-TOF zu empfehlen

VIELEN DANK für Ihre Aufmerksamkeit!