

Vorkommen und Bewertung von Legionellen in Abwasser-, Oberflächenwasser- und Kühlwasser-Proben aus Nordrhein-Westfalen

Zwischenbericht zum Projekt „Risikoorientierte Gewässerbewirtschaftung im Hinblick auf wasserbürtige Krankheitserreger, insbesondere Legionellen“ mit Ergebnisdarstellung der LANUV-Messprogramme im Zeitraum April 2015 bis März 2016

Landesamt für Natur,
Umwelt und Verbraucherschutz
Nordrhein-Westfalen



Im Juli 2016

Berichtersteller: Dr. Barbara Dericks

Inhalt

1	Legionellen – Vorkommen, Wachstumsbedingungen, Erkrankung des Menschen	1
2	Hintergrund der Untersuchungen	3
2.1	Legionellen in Abwasser – Stand des Wissens	4
2.1.1	Erkrankungsfälle durch Aerosole unmittelbar aus Abwasser	4
2.1.2	Erkrankungsfälle im Kontext mit Legionellen-belasteten Abwässern	5
2.1.3	Legionellen-Screening Abwasserbehandlungsanlagen Norwegen	8
2.2	Legionellen-Untersuchungen des LANUV	10
3	Bewertungssysteme für Legionellen-Befunde.....	12
4	Kultureller Nachweis von Legionellen und Bewertung Serotypisierung.....	18
5	Ergebnisse der LANUV Messprogramme	21
5.1	Kommunale Kläranlagen	21
5.1.1	Kläranlagen mit erhöhten Legionellen-Befunden – Quellensuche bzw. Überprüfung der Legionellen-Konzentration im Gewässer.....	22
5.2	Industrielle Direkteinleiter	26
5.2.1	Industrielle Betriebe mit erhöhten Legionellen-Befunden – Quellensuche bzw. Überprüfung der Legionellen-Konzentration im Gewässer.....	27
5.3	Weitere Legionellenuntersuchungen Abwasser/Kühlwasser.....	29
5.3.1	Abwasser	30
5.3.2	Kühlwasser	31
6	Zusammenfassung und weiteres Vorgehen.....	33
7	Literatur.....	38
8	Gesetze, Verordnungen und technische Regeln	41

1 Legionellen – Vorkommen, Wachstumsbedingungen, Erkrankung des Menschen

Bei Legionellen handelt es sich um Bakterien, die in der **aquatischen Umwelt ubiquitär** vorkommen. Sie sind dort in der Regel nur in geringer Konzentration vertreten und stellen lediglich einen untergeordneten Teil der Bakterienpopulation¹ dar. Ebenso wurden sie in feuchter Erde und kompostiertem Pflanzenmaterial² nachgewiesen. Untersuchte Süßwasser-Habitate (u. a. Flüsse, Seen, Teiche), aus denen *L. pneumophila* isoliert wurde, zeigten eine weite Spanne physikalischer und chemischer Charakteristika³, wie Temperatur, 5,7-63 °C, pH-Wert, 5,5-8,1, gelöster Sauerstoff, 0,3-9,6 mg/l und Leitfähigkeit, 18-106 µS/cm .

Obgleich Legionellen natürlicher Bestandteil von Süßwasser-Habitaten sind und sie häufig aus natürlichen Gewässern isoliert werden, haben diese Vorkommen normalerweise keine direkte Übertragung von Legionellen auf den Menschen zur Folge (mögliche Ausnahme: natürliche Thermalquellen mit Aerosolbildung). Zur **Erkrankung des Menschen** durch Legionellen kommt es hauptsächlich durch **Inhalation Legionellen-haltiger Aerosole aus wasserführenden technischen Systemen**, wie Verdunstungskühlanlagen, Springbrunnen, Duschen, Whirlpools⁴, welche bei nicht hygienegerechtem Betrieb Legionellen günstige Wachstumsbedingungen bieten können. Zwei unterschiedliche Erkrankungen können dabei durch Legionellen hervorgerufen werden. Beim sog. Pontiac-Fieber handelt es sich um eine leichte, grippeähnliche Form der Erkrankung ohne Lungenentzündung, welche in der Regel ohne Behandlung ausheilt. Die Legionärskrankheit hingegen ist die schwer verlaufende Form der Legionellen-Infektion mit Lungenentzündung (Pneumonie); die Letalität (Verhältnis der Todesfälle zur Anzahl der Erkrankten) beträgt im europäischen Mittel 10 %⁵. Gegenwärtig besteht keine Einigkeit darüber weshalb eine Exposition gegenüber *L. pneumophila* zu einer oder anderen Form der Erkrankung führen mag⁶. Nach § 7 Infektionsschutzgesetz (IfSG) besteht in Deutschland seit 2001 für den Nachweis von Legionellen (*Legionella* sp.) eine Meldepflicht, soweit dieser auf eine akute Infektion hinweist. Jährlich werden dem Robert-Koch-Institut (RKI) etwa 600-900 Fälle gemeldet. Allerdings werden Legionellen als Krankheitsursache meist nicht diagnostiziert und somit nur unvollständig gemeldet. Legionellen-Pneumonien sind klinisch nicht von Pneumonien durch andere Erreger abzugrenzen. Dies erfordert eine spezifische mikrobiologische Erregerdiagnostik, welche zu selten durch den behandelnden Arzt veranlasst wird. Nach Schätzungen von CAPNETZ (Kompetenznetzwerk für ambulant erworbene Pneumonien) geht man von etwa 15.000-30.000 Fällen von Legionärskrankheit pro Jahr in Deutschland aus.

Sowohl in natürlichen als auch künstlichen aquatischen Systemen ist die Temperatur ein wichtiger Faktor für das **Wachstum von Legionellen**. In einem Temperaturbereich zwischen **23 °C und 50 °C** kann es zu einer **hygienisch relevanten Vermehrung** von Legionellen kommen (UBA 2014: Hygieneanforderungen an Bäder und deren Überwachung); wobei die

¹ z. B. BORELLA et al. 2005, WHO 2007

² BORELLA et al. 2005, CASATI et al. 2009, CASATI et al. 2010, HUGHES & STEELE 1994

³ FLIERMANS et al. 1981

⁴ z. B. MERCANTE & WINCHELL 2015

⁵ MAISA et al. 2015

⁶ WHILEY et al. 2014

Vermehrungsrate etwa zwischen 30 °C und 43 °C optimal ist. Wachstum konnte für *L. pneumophila* aber auch bei Temperaturen unterhalb von 20 °C belegt werden⁷.

Hinsichtlich der **Nährstoffversorgung** ist *L. pneumophila* auf Aminosäuren als Haupt-Energie- und Kohlenstoff-Quelle angewiesen⁸. Da verschiedene Aminosäuren von *L. pneumophila* nicht selbständig synthetisiert werden können, müssen diese aus der Umwelt aufgenommen werden. Wachstumsvoraussetzung ist somit das Vorhandensein bzw. die Verfügbarkeit dieser Aminosäuren. Sie liegen entweder in Form **proteinreicher Substrate vor oder** können aus **anderen Mikroorganismen** (insbesondere Amöben, aber auch Biofilme und andere Bakterien-Zellen), gewonnen werden. Eine intrazelluläre Vermehrung von *L. pneumophila* wurde für mindestens 14 Amöben-Arten, zwei Arten von Ciliaten und einen Schleimpilz beschrieben⁹. Des Weiteren ist ein Wachstum von *L. pneumophila* sowohl in einem aquatischen Biofilm in Abwesenheit von Amöben, als auch in Gegenwart (durch Hitze) abgetöteter mikrobieller Zellen, in der Literatur beschrieben¹⁰.

⁷ SÖDERBERG et al. 2004

⁸ PRICE et al. 2014

⁹ PRICE et al. 2014

¹⁰ ROGERS & KEEVIL 1992; TEMMERMAN et al. 2006

2 Hintergrund der Untersuchungen

Den Anlass der Untersuchung von Abwasser- und Oberflächenwasser-Proben auf Legionellen in NRW stellt der **Legionellose-Ausbruch in Warstein**, Kreis Soest, dar. Im Stadtgebiet von Warstein kam es im August / September 2013 zum Auftreten von insgesamt 159 Erkrankungen durch (Legionellen) mit zum Teil sehr schwer verlaufender Lungenentzündung; zahlreiche Personen mussten intensivmedizinisch betreut werden, zwei Personen verstarben.

Bei der Aufklärung des Ausbruchsgeschehens konnte der krankheitsverursachende Epidemiestamm in zwei, mehrere Kilometer voneinander entfernten, Verdunstungskühlanlagen unterschiedlicher Betreiber nachgewiesen werden. In Verdunstungskühlanlagen hat die Umgebungsluft direkten Kontakt mit dem Kühlwasser. Bei unzureichender Wartung liegen günstige Wachstumsbedingungen für Legionellen vor. Die Legionellen können sich massenhaft vermehren und in die Umgebungsluft verteilt werden. Durch vorbeugende Maßnahmen wie regelmäßige Reinigungen und Desinfektion von hoch belasteten Anlagen können Legionellen auf ein tolerierbares Maß reduziert werden.

Darüber hinaus wurde eine **ausgedehnte Kontamination von Abwässern und Fließgewässern** in der Region Warstein mit Legionellen, zum Teil des Epidemiestamms, festgestellt. Das so **belastete Flusswasser** war ohne Aufbereitung für den **Betrieb einer Verdunstungskühlanlage** verwendet worden. Das Rohwasser der Anlage enthielt somit bereits eine hohe Konzentration an Legionellen. Die Quelle für die Erkrankungen, konnte nicht eindeutig identifiziert werden. Eine ausführliche Analyse des Ausbruchsgeschehens aus hygienisch-medizinischer Sicht ist im Bericht von Prof. Martin Exner, Direktor des Instituts für Hygiene und Öffentliche Gesundheit Universität und Universitätsklinikum Bonn, nachzulesen¹¹.

Bei den im Rahmen der Aufklärung des Ausbruchsgeschehens erlangten Untersuchungsergebnissen handelte es sich um bis dahin weitestgehend unbekannte und wissenschaftlich noch nicht aufgearbeitete Erkenntnisse. In der Folge mussten daher **fachliche Bewertungen** zur Sicherung der öffentlichen Gesundheit vorgenommen und zahlreiche Fragestellungen erstmalig beantwortet werden. Zu diesem Zweck wurde unter anderem eine vom Ministerium für Klimaschutz, Umwelt, Landwirtschaft, Natur- und Verbraucherschutz des Landes Nordrhein-Westfalen (MKULNV) einberufene **Expertenkommission** eingerichtet¹² und **Sondermessprogramme** zur Überprüfung der **Legionellen-Belastung von Abwasserreinigungsanlagen** durchgeführt. Insbesondere die Relevanz Legionellen-belasteter Abwässer war für die Fachwelt in dieser Form neu.

¹¹ verfügbar unter <https://www.umwelt.nrw.de/umweltschutz-umweltwirtschaft/umwelt-und-wasser/legionellen/>

¹² April 2014 bis März 2015; Abschlussbericht verfügbar unter obigem Link

2.1 Legionellen in Abwasser – Stand des Wissens

Das **Vorkommen von Legionellen in Abwasser/ -behandlungsanlagen** als Reservoir oder potentieller Quelle wird laut Literatur-Recherche (Stand: 25.06.2013) von HEIJNSBERGEN et al. (2015) in 22 Publikationen beschrieben. Nur in wenigen Publikationen werden Abwasserbehandlungsanlagen mit Ausbrüchen oder sporadisch auftretenden Fällen von Legionärskrankheit oder Pontiac-Fieber assoziiert.

2.1.1 Erkrankungsfälle durch Aerosole unmittelbar aus Abwasser

Legionellen-Erkrankungen durch Aerosole unmittelbar aus dem Abwasser wurden bisher nur für wenige Fälle bei Arbeiten in der Nähe zu Dekantern zum Eindicken von Klärschlamm oder Belebungsbecken von Anlagen mit extrem hoher Legionellen-Belastung des Klärschlammes bzw. des Abwassers beschrieben.

GREGERSEN et al. (1999) berichten von 5 Fällen von **Pontiac Fieber bei Arbeitern** nach zehntägiger Arbeit in einem geschlossenem Raum mit einem Dekanter zur Aufkonzentration von Klärschlamm bei einer Abwasserbehandlungsanlage der **Nahrungsmittelindustrie in Dänemark**, welche ausschließlich organische, industrielle Abwässer behandelt. In einer Klärschlammprobe wurde eine Legionellen-Konzentration von 150 Mio. KBE/100 ml festgestellt. (KBE = koloniebildende Einheit; Ergebnis beim kulturellen Nachweis; Erläuterungen siehe Kapitel 4). Die Arbeiter trugen während der Arbeiten B2-Filtermasken, die jedoch nicht gegen Aerosole schützen.

Nach schwedischen Berichten über extrem hohe Legionellen-Konzentrationen (bis zu 100 Mio. KBE/100 ml) in biologischen Abwasserbehandlungsanlagen und einem Fall eines an **Legionärskrankheit erkrankten Arbeiters**, welcher in der Nähe einer Anlage gearbeitet hatte¹³, wurde in Finnland eine Studie mit Fokus auf Abwassersysteme der finnischen Papier- und Zellstoffindustrie initiiert¹⁴. In 73 % (11 von 15) der untersuchten Belebungsbecken wurden kultivierbare Legionellen mit einem Maximalwert von 190 Mio. KBE/100 ml nachgewiesen. Zwei Fälle von **Legionärskrankheit** wurden **bei Arbeitern** diagnostiziert, welche in der Nähe der Abwasserbehandlungsanlagen zweier verschiedener **Papier- und Zellstofffabriken** gearbeitet hatten. Der eine Erkrankte war durch spritzendes Wasser bei der Installation einer neuen Pumpe zum Nachklärbecken mit Abwasser-Aerosolen in Kontakt gekommen; der andere hatte in etwa 200 m Entfernung zum Belebungsbecken und den Kühltürmen der Abwasserbehandlungsanlage gearbeitet. Nachgewiesene Legionellen-Konzentrationen lagen für Proben aus dem Belebungsbecken der ersten Anlage im Bereich von 100.000 bis 2 Mio. KBE/100 ml, aus dem der zweiten Anlage im Bereich von 3 Mio. bis 800 Mio. KBE/100 ml; für eine Kühlwasserprobe der zweiten Anlage wurde eine Legionellen-Konzentration von 170 KBE/100 ml nachgewiesen. Für die Proben aus den **Belebungsbecken** wurden Temperaturen von **33 – 36 °C** bzw. **35 – 38 °C** angegeben.

¹³ ALLESTAM et al. 2006

¹⁴ KUSNETSOV et al. 2010

2.1.2 Erkrankungsfälle im Kontext mit Legionellen-belasteten Abwässern

Bei den in der Literatur im Kontext mit Legionellen-belasteten Abwässern beschriebenen **größeren Ausbrüchen** von Pontiac Fieber bzw. Legionärskrankheit stellten **industrielle Abwasserbehandlungsanlagen** zwar den Ort für die Vermehrung und Quelle für die Verbreitung der Legionellen dar, die (mehr oder weniger) **großräumige Ausbreitung** erfolgte jedoch durch **Aerosol-freisetzende technische Systeme**, wie Hochdruckreiniger, Verdunstungskühlanlagen oder Luftwäscher.

CASTOR et al. (2005) beschreiben einen **Ausbruch von Pontiac Fieber** bei einem **Zuckerrüben verarbeitenden Betrieb** in Minnesota (USA) im August 2000. Dabei waren **15 Arbeiter erkrankt** nachdem sie **Hochdruckreinigungsarbeiten** durchgeführt hatten; wobei es sich bei dem dazu verwendeten Wasser um **recyceltes Wasser aus dem Betrieb** handelte. Das Abwasser des Betriebs wurde in Teichen zwischengespeichert, anschließend erfolgte nach einer Abwasserbehandlung eine Wasseraufbereitung mittels Filtration und Umkehrosmose, bevor das Wasser in drei Tanks gespeichert wurde. Der letzte Tank diente als Warmwasserspeicher der Versorgung der Hochdruckreiniger. Eine Anlageninspektion ergab, dass bei Überlastung der Wasseraufbereitungsanlage diese entlastet wurde und der Ablauf der Abwasserbehandlungsanlage ohne weitere Aufbereitung direkt in den ersten Speichertank gelangte. Kulturen von Wasserproben aus den Hochdruckreinigern ergaben eine Kontamination mit Legionellen. Es wird angegeben, dass die Keimzahlen im Bereich um 10 Mio. Organismen/100 ml lagen und *Legionella pneumophila* und *L. londiniensis* enthielten; die angewandte Bestimmungsmethode wird nicht benannt. Die Hochdruckreinigungsarbeiten erfolgten ohne Verwendung von Atemschutz.

Ein **großer, weiträumiger Legionellose-Ausbruch**, der im Zusammenhang mit Legionellenkontaminiertem Abwasser steht, ereignete sich im Département Pas-de-Calais (Frankreich) im November 2003 – Januar 2004. Bei **86 Erkrankten** wurde Legionärskrankheit diagnostiziert; 18 Patienten verstarben. [Dabei handelt es sich um eine außergewöhnlich hohe Letalität (21 %), die u. a. auf Vorerkrankungen (Silikosen der Bergleute) aber auch auf einer besonderen Pathogenität des Epidemiestamms beruhen könnte.]

Im Rahmen der Untersuchung des Ausbruchsgeschehens wurde der Epidemiestamm sowohl in **Verdunstungskühlanlagen**, als auch im **Abwasser** eines **petrochemischen Industrieunternehmens** nachgewiesen¹⁵. Die Modellierung der atmosphärischen Ausbreitung der Aerosole, emittiert von den zwei Verdunstungskühlanlagen des Unternehmens, zeigte eine Verbreitung in einem Umkreis von mindestens 6 km und eine gute Übereinstimmung mit den Kommunen, in denen die Patienten lebten.

Das Auftreten der Erkrankungsfälle war assoziiert mit dem Betrieb der Verdunstungskühlanlagen, deren Behandlung mittels Hochdruckreinigung und der anschließenden Wiederinbetriebnahme der Anlagen. Interessanterweise endete der Ausbruch aber erst nach Abschalten der Oberflächenbelüfter des Abwasserbeckens, etwa zwei Wochen nachdem bereits die

¹⁵ NGUYEN et al. 2006

Verdunstungskühlanlagen außer Betrieb genommen wurden. Diese Ergebnisse legen nahe, dass auch die **Hochdruckreinigungsarbeiten in den Verdunstungskühlanlagen** und die **Oberflächenbelüftung des Abwasserbeckens** direkte Quellen der Krankheitsübertragung darstellten.

Das Produktionsabwasser des Unternehmens wurde in einem Becken mit einer Höhe von 2 – 3 m und einer Fläche von 4.200 m² behandelt, welches Belebtschlamm enthielt und mittels Oberflächenbelüfter belüftet wurde. Es wurden hohe Kontaminationen mit Legionellen, im Bereich von 100.000 – 1 Mrd. KBE/100 ml (einschließlich des Epidemiestamms), sowohl im Abwasser und im Belebtschlamm des petrochemischen Betriebs nachgewiesen, als auch bei einem weiteren Betrieb, der diesen mit Belebtschlamm belieferte.

Auch in **Luftproben**, welche nach der endgültigen Stilllegung der Verdunstungskühlanlagen in einer Entfernung von **bis zu ca. 300 m vom Abwasserbecken** gesammelt wurden, wurde der Epidemiestamm in lungengängigen Wassertröpfchen ($\leq 5 \mu\text{m}$) nachgewiesen. Da die Verdunstungskühlanlagen des Betriebs sich ebenfalls in einer Entfernung von ca. 300 m vom Abwasserbecken befanden, könnte ein **Eintrag von Legionellen-haltigen Aerosolen** aus dem Abwasser zur **Kontamination der Verdunstungskühlanlagen** beigetragen haben.

Basierend auf den Untersuchungen während des Ausbruchs in Pas-de-Calais wurden weitere Bioaerosoluntersuchungen u. a. an einem Belebungsbecken einer industriellen Abwasserbehandlungsanlage mit und ohne Belüftung durchgeführt¹⁶. Auch hier zeigte sich, dass bei Betrieb der Belüftung auch in 270 m Entfernung vom Belebungsbecken (in Windrichtung) kultivierbare Legionellen (330 KBE/m³) nachweisbar waren. Die Art der Belüftung wurde nicht weiter beschrieben.

Ebenfalls in Verbindung mit Legionellen-kontaminiertem Abwasser stehen **drei weitere Ausbrüche von Legionärskrankheit** in Norwegen (Fredrikstad/Sarpsborg) 2005 und 2008. Der erste und größte der Ausbrüche ereignete sich im Mai 2005. Bei diesem wurden **56 Fälle** von Legionärskrankheit diagnostiziert; 10 Patienten verstarben. Im November/Dezember 2005 traten **3 weitere Fälle** in der gleichen Region auf; verursacht durch den gleichen *L. pneumophila* Stamm wie bei dem Ausbruch im Mai 2005. Der Stamm war identisch mit dem Epidemiestamm beim Ausbruch in Pas-de-Calais 2003/2004¹⁷. **Fünf weitere Fälle** von Legionärskrankheit in Sarpsborg/Fredrikstad wurden im Juni/Juli 2008 gemeldet; zwei Patienten verstarben¹⁸.

Im Rahmen der Quellensuche zur **Aufklärung des Ausbruchsgeschehens im Mai 2005** wurden 23 Betriebe mit 41 Aerosol-freisetzenden Installationen beurteilt (31 Verdunstungskühlanlagen, 6 Luftwäscher, 3 Kühler mit Sprayeinrichtungen, 1 industrielle biologische Abwasserbehandlungsanlage), wobei 8 potentielle Quellen genauer evaluiert wurden; 76 Umweltproben wurden genommen¹⁹. Proben aus dem **Luftwäscher** eines **Betriebs zur Herstellung von Chemikalien auf der Basis von Holz, Hefeprodukten, Bioethanol und Vanillin**

¹⁶ MATHIEU et al. 2006

¹⁷ OLSEN et al. 2010

¹⁸ BORGES et al. 2008

¹⁹ NYGÅRD et al. 2008

und aus einer Wasserprobe aus dem **Fluss unterhalb** der Firma enthielten genetisch identische *L. pneumophila* Serogruppe 1 Isolate wie das Probenmaterial von Patienten. Anhand der epidemiologischen und mikrobiologischen Untersuchungen, der Modellierung der Aerosolausbreitung und der Beurteilung der Wachstumsbedingungen für Legionellen im Luftwäscher wurde dieser als Quelle für den Ausbruch angesehen.

In einer Entfernung von **ca. 200 m zur Luftansaugung des Luftwäschers** wurde eine biologische **Abwasserbehandlung des Produktionsabwassers** des Betriebs mit offenen, belüfteten Becken betrieben. Bei früheren Studien wurde gezeigt, dass diese Becken hohe Konzentrationen an Legionellen enthielten. Die Abwasserbecken könnten somit die mikrobiologische Kontamination des Luftwäschers beeinflusst haben.

In einer späteren Studie, im Jahr 2006, wurden daher neben Proben aus den Belebungsbecken des Betriebs auch die Luft über den Becken und in deren Umgebung auf Legionellen untersucht²⁰. Bei der biologischen Abwasserbehandlung des Betriebes handelt es sich um zwei **große, belüftete Belebungsbecken** mit einer Gesamtgröße von 30.000 m³. Die Temperatur in den Becken wurde bei etwa **37 °C** gehalten. Die Zirkulation von etwa 30.000 Nm³ Luft durch jedes der Becken pro Stunde führt zu einer umfangreichen Oberflächen-Evaporation und Aerosolbildung.

In den Belebungsbecken wurden Legionellen in Konzentrationen von 10 Mio. bis 1 Mrd. KBE/100 ml nachgewiesen. ***L. pneumophila* wurde in Windrichtung in bis zu 200 m** Entfernung von den Becken in **Luftproben** identifiziert; nicht jedoch entgegen der Windrichtung. Die höchste Legionellen-Konzentration konnte über dem Belebungsbecken festgestellt werden (3.300 KBE/m³).

Die **Untersuchung des Ausbruchs 2008**²¹ kam zu dem Fazit, dass zwischen dem Auftreten der Erkrankungsfälle und der Detektion von Legionellen bei dem Industriebetrieb, der schon mit dem Ausbruch im Jahr 2005 in Verbindung gebracht wurde, ein Zusammenhang bestand. Wobei der Weg der Verbreitung der Legionellen vom Betrieb zu den Patienten nicht ersichtlich war. Die **Belebungsbecken des Betriebs** spielten höchstwahrscheinlich eine wichtige Rolle bei der **Bakterienvermehrung und -ausbreitung**, entweder direkt durch die Luft, oder indirekt durch Kontamination von Luftwäschern (auch im Luftwäscher einer anderen Anlage wurden Legionellen nachgewiesen) oder des Vorfluters (Fluss Glomma; hohe Konzentrationen von *L. pneumophila* Sg 1 an der Einleitungsstelle und mehr als 10 km unterhalb; oberhalb der Einleitung wurden kulturell keine Legionellen nachgewiesen).

Eine **retrospektive Untersuchung der Ausbrüche** legt nahe, dass es sich bei den **Belebungsbecken** der industriellen Abwasserbehandlungsanlage um den maßgeblichen Ort der Vermehrung und **Quelle für die Verbreitung der Epidemiestämme** handelte²². Eine Kontamination des Luftwäschers mit Legionellen-haltigen Aerosolen aus den Belebungsbecken wird nicht ausgeschlossen. Mit Hinblick auf die **Ausbreitung** der Legionellen wird jedoch angeführt, dass die Epidemiestämme auch im Fluss Glomma detektiert wurden und darauf hingewiesen, dass etliche Industriebetriebe entlang des Flusses angesiedelt sind, wovon

²⁰ BLATNY et al. 2008

²¹ BORGEN et al. 2008

²² OLSEN et al. 2010

einige **unbehandeltes Flusswasser** für industrielle Prozesse verwenden, so dass auch andere Quellen (wie Luftwäscher, Verdunstungskühlanlagen, bzw. der Fluss selbst) möglicherweise an der Verbreitung von *L. pneumophila* beteiligt waren.

Auf Basis der Studienergebnisse betonen die Autoren abschließend die Notwendigkeit **präventiver Maßnahmen zur Kontrolle der Freisetzung von Erreger-haltigen Abwässern** in die Umwelt und regen zu gründlichen Untersuchungen zur Aufdeckung von Umweltreservoirs für Legionellen im Kontext mit epidemiologischen Studien an.

Auch beim **Legionellose-Ausbruch in Warstein 2013** konnte der **Epidemiestamm im Abwasser** (kommunale Kläranlage; ≥ 5 Mio. KBE/100 ml) und im Flusswasser unterhalb der Einleitungsstelle der Kläranlage (≤ 30.000 KBE/100 ml) nachgewiesen werden; ebenso wie in den Verdunstungskühlanlagen zweier Industriebetriebe²³. Die Untersuchung des Ausbruchsgeschehens ergab, dass der Ausbruch höchstwahrscheinlich durch mehrere Quellen verursacht wurde, wobei industrielle Verdunstungskühlanlagen involviert waren. Der Nachweis des Epidemiestamms in mehreren Quellen führte zu der Hypothese, dass die kommunale Kläranlage durch **teil-behandeltes Industrieabwasser** kontaminiert wurde, woraufhin diese **Legionellen-belastetes Abwasser in den Fluss** einleitete; das so belastete Flusswasser wurde unbehandelt für den **Betrieb einer Verdunstungskühlanlage** verwendet. Das nährstoffreiche Industrieabwasser und das Belebungsbecken der Vorbehandlungsanlage des Industriebetriebes boten ein optimales Milieu für bakterielles Wachstum.

Insgesamt wurden in der Literatur Erkrankungsfälle durch Legionellen im Zusammenhang mit folgenden industriellen Abwasserbehandlungsanlagen beschrieben: Petrochemie, Holzverarbeitung, Lebensmittelverarbeitung, Papier- und Zellstoffindustrie in Frankreich, Skandinavien und USA sowie bei der chemischen bzw. Leder-Industrie in Finnland bzw. Schweden²⁴.

2.1.3 Legionellen-Screening Abwasserbehandlungsanlagen Norwegen

Aufgrund der bisherigen, beschriebenen Erkrankungsfälle durch Legionellen im Zusammenhang mit industriellen Abwasserbehandlungsanlagen, wurde in **Norwegen** ein **qualitatives und quantitatives Legionellen-Screening** bei 33 **Abwasserbehandlungsanlagen** durchgeführt²⁵. Untersucht wurden 8 kommunale Kläranlagen, 8 Abwasserbehandlungsanlagen milchverarbeitender Betriebe, 9 der petrochemischen Industrie, 4 der holzverarbeitenden Industrie und 4 anderer Industrien (Chemikalienproduktion für die Holzverarbeitung und die Ölindustrie, Siliziumwaferherstellung, Marine Omega-3-Pharmaproduktion, Pommes-frites-Herstellung). Jede Anlage wurde 4 x beprobt (Jun, Aug/Sep, Nov 2009; Apr 2010); Proben wurden aus den belüfteten Belebungsbecken entnommen. Die Proben wurden auf Legionellen (*L. spp.*) bzw. *L. pneumophila* sowohl mittels Kultivierung (ISO 11731:1998, Säure- und

²³ MAISA et al. 2015

²⁴ LUND et al. 2014

²⁵ LUND et al. 2014

Hitzebehandlung, GVPC) als auch mittels einer kultivierungsunabhängigen Methode, der quantitativen Polymerase-Kettenreaktion (qPCR; (TaqMan® Quantification Kits, Labaqua, Spain), untersucht. Eine Übersicht einiger der Analyse-Ergebnisse bietet Tabelle 2.1.

Tabelle 2.1: Legionellen in Proben aus belüfteten Belebungsbecken von Abwasserbehandlungsanlagen in Norwegen (LUND et al. 2014). Nachweis mittels Kultivierung (ISO 11731:1998, Säure- und Hitzebehandlung, GVPC; Nachweisgrenze: 1.000-1 Mio. KBE/100 ml) bzw. quantitativer Polymerase-Kettenreaktion (qPCR; (TaqMan® Quantification Kits, Labaqua, Spain; Nachweisgrenze: 100-1.000 GU/100 ml). n, Anzahl der Anlagen; T, Abwassertemperatur; t, Durchflusszeit; +, positiver Nachweis; KBE, koloniebildende Einheit; GU, Genom-einheit.

Abwasser- behandlungs- anlage	n	T [°C]	pH	t [h]	Kultivierung (130 Analysen)		qPCR (437 Analysen)	
					Legionellen (L. spp.)		Legionellen (L. spp.)	
					+ [%]	[KBE/100 ml]	+ [%]	[GU/100 ml]
kom. KA	8	7-15	4,9-7,9	1-6	3	n.n.-10.000	98	n.n.-1 Mrd.
Milchverarbeitung	8	20-30	5,3-8,0	24-74	0	n.n.	100	1.000-100 Mio.
Petrochemie	9	25-35	6,5-9,1	11-72	36	n.n.-100 Mio.	99	n.n.-100 Bio.
Holzverarbeitung	4	35-40	7,0-7,8	20-68	44	n.n.-10 Mio.	100	100-10 Mio.
Andere Industrien	4	< 20; 20-35	-	-	0	n.n.	100	100-1 Mrd.

Insgesamt waren mittels Kultivierung 16 % der Untersuchungen positiv für Legionellen (L. spp. = Legionella Spezies) bzw. 9 % für *L. pneumophila*; mittels qPCR waren es 99 % für L. spp. bzw. 46 % für *L. pneumophila*. Wie zu erwarten, wurden also in deutlich mehr Proben Legionellen bei Anwendung der kultivierungsunabhängigen Methode (qPCR) detektiert verglichen mit der Kulturmethode. [Da die untersuchten Proben direkt aus den Belebungsbecken entnommen wurden, handelt es sich um Proben sehr komplexer Zusammensetzung, insbesondere mit großen Mengen anderer Mikroorganismen (Begleitflora), die die Untersuchung auf Legionellen mittels Kultivierung erheblich beeinträchtigen und eine starke Verdünnung der Proben erforderlich macht. Diese führt zu hohen Nachweisgrenzen bzw. zu mit Unsicherheit behaftete Ergebnissen (vgl. Kapitel 4 Kultureller Nachweis von Legionellen und Bewertung Serotypisierung). Bei der qPCR werden, im Gegensatz zur Kultivierung, keine vermehrungsfähigen, kultivierbaren Bakterien nachgewiesen, sondern spezifische Abschnitte des Erbgutes (der DNA; angegeben in Genom-Einheiten, genome units, GU). Die Methode erlaubt jedoch keinen Rückschluss darauf, ob diese DNA vitalen, potentiell infektiösen Bakterien entstammt, oder geschädigten, toten bzw. lysierten Zellen. Die hygienische Relevanz der Daten ist somit unklar.]

Wie ebenfalls zu erwarten, wurden hohe Legionellen-Befunde in Abwasserbehandlungsanlagen der Petrochemie und Holzverarbeitung festgestellt, die Legionellen aufgrund der hohen Abwassertemperaturen (25-35 °C bzw. 35-40 °C) und langen Durchflusszeiten (11-72 h bzw. 20-68 h) sehr gute Wachstumsbedingungen bieten.

In Proben aus Anlagen der Milchverarbeitung konnten kulturell keine Legionellen nachgewiesen werden, was möglicherweise mit großen Mengen an Laktobazillen und anderen verwandten Bakterien in diesen Abwässern zusammenhängt.

Mittels qPCR konnten Legionellen auch in den untersuchten kommunalen Kläranlagen nachgewiesen werden. Unerwartet war aus Sicht der Autoren, dass auch sehr hohe Konzentrationen von bis zu 1 Mrd. GU/100 ml detektiert wurden, obwohl für das Legionellen-Wachstum ungünstige Abwassertemperaturen (7-15 °C) vorlagen.

Die Studie macht deutlich, dass **Abwasserbehandlungsanlagen mit belüfteten Belebungsbecken große Konzentrationen an Legionellen erzeugen können**. Die Autoren empfehlen daher den Betreibern eine **Risikobewertung** der Exposition der Arbeiter und der Bevölkerung durchzuführen, welche auch eine Untersuchung auf Legionellen im Zufluss und Abfluss der Anlage sowie in Luftproben umfassen sollte. Als allgemeine **Vorsichtsmaßnahme** wird für Arbeiten in der Nähe von biologischen Abwasserbehandlungsanlagen das Tragen geeigneten Atemschutzes (z. B. partikelfiltrierende Halbmasken (FFP3) mit Ausatemventil als Mindestanforderung²⁶) empfohlen, es sei denn ein geringes Expositionsrisiko kann belegt werden.

2.2 Legionellen-Untersuchungen des LANUV

In Folge des Legionellose-Ausbruchs in Warstein war zur Klärung der Frage, ob auch bei weiteren Kläranlagen ein besonderes Risiko für das Auftreten hoher Legionellen-Belastungen besteht, eine erste landesweite Sonderüberprüfung bautechnisch gleicher oder ähnlicher Kläranlagen wie in Warstein bzw. solcher mit Abwassertemperaturen um 25-30 °C veranlasst worden. Neben diesen amtlichen Untersuchungen wurden auch Ergebnisse aus der Selbstüberwachung der Kläranlagenbetreiber ausgewertet. Es zeigte sich zum einen, dass in Nordrhein-Westfalen kein generelles Legionellenproblem in kommunalen Kläranlagen besteht und zum anderen, dass scheinbar die Abwasserzusammensetzung und -temperatur von entscheidender Bedeutung für die Vermehrung von Legionellen ist. Die Kläranlage, welche bei dieser Sonderüberprüfung die höchsten Legionellen-Befunde aufwies, behandelt, ebenso wie die Kläranlage Warstein, nährstoffreiches, warmes Brauereiabwasser (Indirekteinleiter). Auf Basis dieser neuen Erkenntnisse wurde eine zweite landesweite Sonderprüfung kommunaler Kläranlagen und Anlagen industrieller Direkt- und Indirekteinleiter mit einem mutmaßlichen Potential für eine starke Vermehrung von Legionellen veranlasst. Als Risikoanlagen wurden solche ausgewählt, die Legionellen wachstumsbegünstigende Bedingungen aufgrund nährstoffreicher Substrate (u. a. hohe Proteingehalte) sowie erhöhter Temperaturen (≥ 23 °C) bieten.

Basierend auf den Untersuchungen dieser zweiten landesweiten Sonderprüfung, bei welcher die ausgewählten Risikoanlagen stichprobenartig untersucht wurden, wurde vom LANUV das nachfolgend dargestellte Messprogramm geplant und durchgeführt. Ziel des Programms war es durch Messreihen Erkenntnisse zum Vorkommen von Legionellen im Ablauf der untersuchten Anlagen über längere Zeiträume zu generieren.

Ausgewählt wurden 21 kommunale Kläranlagen und 12 Anlagen von industriellen Direkteinleitern, bei denen nährstoffreiches Abwasser (aus Brauereien, der Milchverarbeitung,

²⁶ Technische Regeln für Biologische Arbeitsstoffe TRBA 220, Dezember 2010

Fleischwirtschaft und Nahrungsmittelverarbeitung, Ölsaatenaufbereitung, Gelatine-, Zucker- bzw. Papier-Herstellung) aus Indirekteinleitungen bzw. aus eigener Produktion behandelt wird. Ein weiteres Auswahlkriterium war bei einigen Anlagen eine erhöhte Abwassertemperatur im Bereich von ca. 25-30 °C. Eine Liste der Anlagen mit Auswahlkriterium sowie eine größenordnungsmäßige Darstellung nachgewiesener Legionellen-Befunde, findet sich für die ausgewählten kommunale Kläranlagen in der **Tabelle A1** und für die industriellen Direkteinleiter in **Tabelle A2** im Anhang.

In Anlehnung an den Bericht der Expertenkommission Legionellen wurden im Rahmen des Messprogramms Ablauf-Proben ins Gewässer auf Legionellen untersucht. Um Messreihen zu generieren, fanden in der Regel an zehn Terminen Beprobungen statt. Bei einer Kläranlage sowie einem industriellen Direkteinleiter konnte aufgrund des Chargenbetriebs jedoch jeweils nur eine Probenahme (PN) durchgeführt werden. Diese beiden Anlagen werden daher bei der Betrachtung der Ergebnisse ausgeklammert.

Bei erhöhten Legionellen-Befunden in Ablauf-Proben fanden weitere Probenahmen zur Quellsuche bzw. zur Überprüfung der Legionellen-Konzentration im Oberflächenwasser statt.

Um weitere Informationen zur Verbreitung von Legionellen zu erhalten, wurden ergänzend Legionellenuntersuchungen von Kühl- und Abwässern anderer Messprogramme des LANUV miteinbezogen. Hierbei handelt es sich einerseits um ausgewählte Abwasserbehandlungsanlagen bzw. Verdunstungskühlanlagen/ Naturzugkühltürme, welche unter Einbezug folgender Kriterien von der zuständigen Behörde für eine Untersuchung auf Legionellen vorgeschlagen wurden:

- Auffälligkeiten bei bereits durchgeführten Untersuchungen
- Erhöhte Abwassertemperaturen
- Zulauf von hohen organischen Abwasserfrachten auch aus den Bereichen Nahrungsmittel-Herstellung und -Verarbeitung, Brauereien, Papierindustrie, Zuckerfabriken etc.
- Umsetzung technischer Hygieneanforderungen

Andererseits wurden auch einige Proben aus einem Sondermessprogramm des LANUV zur Ökotoxizität von Abwässern der Papierindustrie auf Legionellen untersucht.

Da bei der Mehrzahl der Anlagen jedoch jeweils nur eine Probenahme erfolgte, handelt es sich nur um Momentaufnahmen, um erste Informationen zu erhalten (s. Kapitel 5.3).

3 Bewertungssysteme für Legionellen-Befunde

Wie im Kapitel 1 ausgeführt, kommen Legionellen natürlich in der aquatischen Umwelt in geringen, in der Regel hygienisch nicht relevanten Konzentrationen vor. Auch im Trinkwasser können Legionellen enthalten sein. Mit einem Eintrag von Legionellen in wasserführende technische Anlagen muss daher gerechnet werden. Bieten solche Anlagen Legionellen günstige Wachstumsbedingungen, kann es zu einer starken Vermehrung der Legionellen kommen. Findet eine Freisetzung und Verbreitung Legionellen-haltiger Aerosole aus solchen kontaminierten Anlagen statt, stellt dies ein potentiellies Legionellose-Infektionsrisiko dar.

Mit der Beurteilung des Risikos für die öffentliche Gesundheit durch Legionellen sind jedoch zahlreiche Unsicherheiten verbunden²⁷. Eine der Unsicherheiten liegt in der begrenzten Datenlage zur Dosis-Wirkungs-Beziehung beim Menschen begründet und darin, dass die Legionellen-Konzentration, welche zu einem Ausbruch führt unbekannt ist²⁸.

Erschwerend kommt bei der Abschätzung der infektiösen Dosis hinzu, dass es sich bei Legionellen um intrazelluläre Parasiten von u. a. Amöben handelt; wobei es innerhalb dieser Wirtszellen zu einer starken Vermehrung der Legionellen kommt. Lungengängige Amöbenpartikel können daher einige hundert Legionellen enthalten und als infektiöse Dosis ausreichend sein²⁹. Eine Korrelation zwischen der Anzahl koloniebildender Einheiten (KBE) der Legionellen im Wasser oder in der Luft und dem Infektionsrisiko kann derzeit allerdings nicht angegeben werden.

Wenngleich ein gesundheitlich begründeter Grenzwert nicht festgelegt werden kann, weil dazu derzeit die wissenschaftlichen Grundlagen nicht ausreichen³⁰, ist aber in jedem Fall davon auszugehen, dass mit zunehmender Legionellen-Konzentration im Wasser das Risiko einer aerogenen Infektion ansteigt³¹.

Für **Wasser für den menschlichen Gebrauch (Trinkwasser) sowie für Schwimm- und Badebeckenwasser** wurden daher auch bereits auf Basis des Infektionsschutzgesetzes § 37 rechtliche Regelungen zur Vermeidung/Minimierung eines Infektionsrisikos durch u. a. Legionellen getroffen.

Hierzu wurde in der **Trinkwasserverordnung** für *Legionella spec.*, als spezieller Indikatorparameter für (bestimmte) Anlagen der Trinkwasser-Installation (u. a. mit einer Großanlage zur Trinkwassererwärmung und Duschen oder anderen Einrichtungen, in denen es zu einer Vernebelung des Trinkwassers kommt³²), ein sog. **technischer Maßnahmenwert von 100 (KBE)/100 ml** eingeführt. Dabei ist, „im Sinne dieser Verordnung, „technischer Maßnahmenwert“ ein Wert, bei dessen Überschreitung eine von der Trinkwasser-Installation ausgehende **vermeidbare Gesundheitsgefährdung** zu besorgen ist und **Maßnahmen zur hygienisch-technischen Überprüfung** der Trinkwasser-Installation im Sinne einer Gefährdungsanalyse eingeleitet werden“. Dieser Wert ist nicht als „Grenzwert“ zu verstehen, der eine ungefährliche Situation abgrenzt von einer, in der eine Gesundheitsgefährdung erwartet

²⁷ Übersicht z. B. in WHILEY et al. 2014

²⁸ WHILEY et al. 2014

²⁹ VDI 4250 Blatt 2:2015-11

³⁰ vgl. Deutscher Bundestag Drucksache 18/4572, Legionellen in Industrieanlagen

³¹ VDI 4250 Blatt 2:2015-11

³² s. § 14 Untersuchungspflichten, Abs. 3, TrinkwV 2001

wird. Vielmehr basiert der Wert auf vielfacher Erfahrung dahingehend, dass bei höheren Werten technische Mängel vorliegen, die einen massiven, möglicherweise gefährlichen Befall wahrscheinlicher machen³³.

Bei **Überschreitung des technischen Maßnahmenwertes** für Legionellen im Trinkwasser ist diese dem Gesundheitsamt unverzüglich anzuzeigen und auch unterhalb der Schwelle der sofortigen Gefahrenabwehr (**DVGW W 551: Gefahrenabwehr bei Messwerten > 10.000 KBE Legionellen/100 ml**) sind zeitnah Maßnahmen zu ergreifen, um die Besorgnis einer Gesundheitsgefährdung gemäß § 5 TrinkwV 2001 auszuräumen³⁴.

Im Bereich **Hygieneanforderungen an Bäder** muss in Becken, die eine **Wassertemperatur von über 23°C** aufweisen und in denen **Aerosole** entstehen können, insbesondere Warmsprudelbecken, auf *Legionella species* untersucht werden³⁵. Da es keine Schwimm- und Badewasserbeckenverordnung gibt, orientieren sich die Gesundheitsämter bei ihrem amtlichen Überwachungsauftrag an den in der DIN 19643 „Aufbereitung von Schwimm- und Badebeckenwasser“ und in der genannten UBA-Empfehlung festgelegten Anforderungen an die Schwimm- und Badebeckenwasserqualität. Für *Legionella spp.* ist ein Maßnahmenwert von **1 KBE/100 ml** festgelegt. Bei Überschreitung werden gestaffelte Maßnahmen empfohlen; wobei für Legionellen-Konzentrationen > 10.000 KBE/100 ml und Legionellen-Nachweis im Filtrat eine sofortige Nutzungsuntersagung empfohlen wird.

Neben diesen gesetzlichen Regelungen existieren außerdem **technische Regeln**, wie die Richtlinien VDI 2047 Blatt 2 (Sicherstellung des hygienegerechten Betriebs von Verdunstungskühlanlagen) bzw. VDI 3679 Blatt 1 (Nassabscheider) mit **Maßnahmenwerten für Legionellen-Befunde im Kühlwasser bzw. Waschwasser**. Für Legionellen-Konzentrationen von ≥ 100 KBE/100 ml werden gestaffelte Maßnahmen beschrieben.

Eine Bewertung von Legionellen-Befunden in **Gewässer- bzw. Abwasserproben** hingegen wurde erst aufgrund der Erkenntnisse aus der Analyse des Ausbruchsgeschehens in Warstein erforderlich. Die Relevanz ergab sich hierbei daraus, dass eine ausgedehnte Kontamination von Abwässern und Fließgewässern mit Legionellen festgestellt wurde; wobei das so belastete Flusswasser ohne Aufbereitung für den Betrieb einer Verdunstungskühlanlage verwendet wurde.

Die vom Ministerium für Klimaschutz, Umwelt, Landwirtschaft, Natur- und Verbraucherschutz des Landes Nordrhein-Westfalen (MKULNV) einberufene Expertenkommission (April 2014 bis März 2015) hat in Analogie zu bereits bestehenden, oben dargelegten Bewertungen von Legionellen-Befunden in Trinkwasser, Schwimm- und Badebeckenwasser bzw. Kühlwasser, **Empfehlungen für Maßnahmenwerte für Gewässer bzw. Kläranlagenabläufe** erarbeitet. Wobei einer Gewässer- bzw. Abwasser-Belastung mit Legionellen, ebenso wie beim Trinkwasser und beim Schwimm- und Badebeckenwasser, **nur dann Bedeutung** zukommt, wenn

³³ UBA: Legionellen: Aktuelle Fragen zum Vollzug der geänderten Trinkwasserverordnung (TrinkwV). Januar 2011

³⁴ UBA: Empfehlungen für die Durchführung einer Gefährdungsanalyse gemäß Trinkwasserverordnung. 14. Dezember 2012

³⁵ UBA-Empfehlung: Hygieneanforderungen an Bäder und deren Überwachung. 2014

direkt oder indirekt, durch Entnahme für technische Systeme, **Legionellen-haltige Aerosole freigesetzt** werden.

Demnach werden im Bericht der Expertenkommission u. a. Maßnahmenwerte empfohlen

- für **Kläranlagenabläufe** als Vorsorgemaßnahme für den Fall, dass **Flusswasser** nach der Einleitung für Rückkühlzwecke oder andere **Zwecke mit Aerosolbildung verwendet wird** und
- für **Entnahmen aus dem Gewässer** für Verdunstungskühlanlagen und für andere **aerosolbildende technische Systeme**.

Maßnahmenwerte bzw. Bewertungsbereiche für Kläranlagenablaufproben

(als Vorsorgemaßnahme für den Fall, dass Flusswasser nach der Einleitung für Rückkühlzwecke oder andere Zwecke mit Aerosolbildung verwendet wird)

„grün“: < 1.000 KBE Legionellen/100 ml

⇒ Kein Handlungsbedarf

„gelb“: ≥ 1.000 bis < 10.000 KBE Legionellen/100 ml

⇒ Information der Betreiber und Nutzer sowie Bestimmung der Spezies und Serogruppe mittels Latex-Test; es muss eine weitergehende Untersuchung der einzelnen Aufbereitungsstufen innerhalb der Kläranlage sowie der Zuflüsse zur Kläranlage durchgeführt werden

„rot“: ≥ 10.000 KBE Legionellen/100 ml

⇒ Maßnahmen zur Minderung und Überprüfung der Konzentration im Gewässer, ggf. Entnahmeverbot

Maßnahmenwerten bzw. Bewertungsbereiche für Gewässerproben

(Gewässer mit Entnahmen für Verdunstungskühlanlagen und für andere aerosolbildende technische Systeme; ohne Nachweis Epidemiestamm; nicht im Kontext zu einem Ausbruch)

„grün“: < 100 KBE Legionellen/100 ml

⇒ Keine Maßnahmen

„gelb“: 100 bis < 1.000 KBE Legionellen/100 ml

⇒ Wiederholung der Untersuchung und bei Bestätigung des Ergebnisses Aufbereitung des Rohwassers ggf. unter Zugabe eines chemischen Desinfektionsmittels oder UV-Desinfektion

„orange“: 1.000 bis < 10.000 KBE Legionellen/100 ml

⇒ - Zwingende Desinfektion vor Befüllung
- Prüfung, inwieweit eine alternative Quelle verwendet werden kann
- Wiederholung der Untersuchung mit Bestimmung der Serogruppe
- Meldung an die zuständige Behörde
- Weitergehende Abklärung seitens der Behörde, ob Gewässer in anderen Bereichen kontaminiert sind (z. B. Badegewässer)
- Einholung einer hygienisch-medizinischen Bewertung
- Ursachenabklärung für erhöhte Konzentrationen

„rot“: ≥ 10.000 KBE Legionellen/100 ml

⇒ Sofortmaßnahmen nach Absprache zwischen MKULNV und den zuständigen Wasserbehörden

Diese Empfehlungen dienen der Einteilung der Legionellen-Befunde in die dargelegten Bewertungsbereiche (grün, gelb, rot bzw. grün, gelb, orange, rot) im vorliegenden Bericht.

Kühlwasser

Die Bewertung von Legionellen-Befunden in **Kühlwasser-Proben** erfolgt zurzeit noch nach dem Ampel-Bewertungssystem des LANUV für Kühlwasserproben, das sich an die VDI-Richtlinie 2047, Blatt 2 anlehnt. Die Bewertungskategorien sind dabei wie folgt:

„grün“: < 100 KBE Legionellen/100 ml

⇒ Wahrscheinlich unbedenklich, da ubiquitärer Umweltkeim

„gelb“: 100 bis < 1.000 KBE Legionellen/100 ml

⇒ erhöhte Befunde, weitere Untersuchungen

„rot“: ≥ 1.000 KBE Legionellen/100 ml

⇒ stark erhöhte Befunde, weitere Untersuchungen, direkte Maßnahmen zur Gefahrenabwehr notwendig

Zu beachten ist, dass der Referentenentwurf der „Verordnung über Verdunstungskühlanlagen und Nassabscheider (VerdunstKühlV) – 42. BImSchV“ (Stand 19.01.2016) andere Bewertungskategorien mit sog. Prüfwert I und Prüfwert II und zudem höherem Maßnahmenwert vorsieht, als das LANUV Bewertungssystem für Kühlwasserproben (vgl. Tab. 3.2).

Ein Prüfwert ist ein Signalwert, bei dessen Überschreitung weitere Untersuchungen bzw. Sachverhaltsermittlungen notwendig werden. Der Maßnahmenwert kennzeichnet eine Handlungsschwelle, bei deren Überschreitung ein Bedarf zur Abwehr von Gefahren durch entsprechende Maßnahmen besteht.³⁶

Vorgesehen sind nach o. g. Stand der Verordnung die in Tabelle 3.1 aufgeführten Werte. Erst bei (durch eine zusätzliche mikrobiologische Untersuchung) bestätigter Überschreitung des Prüfwert II hätten Anlagenbetreiber unverzüglich Untersuchungen zur Aufklärung der Ursachen durchzuführen, die erforderlichen Maßnahmen für einen ordnungsgemäßen Betrieb zu ergreifen und technische Maßnahmen nach dem Stand der Technik zu ergreifen, um die Legionellenzahl unter den Prüfwert II zu reduzieren. Unverzügliche zusätzliche Gefahrenabwehrmaßnahmen hätten Betreiber bei bestätigter Überschreitung des Maßnahmenwertes zu ergreifen.

³⁶ <http://www.umwelt.niedersachsen.de/boden/altlasten/schwerpunkte/massnahmenwerte/7459.html>

Zudem wird unterschieden zwischen Verdunstungskühlanlagen/ Nassabscheidern und Naturzugkühltürmen mit ≥ 200 MW thermischer Rückkühlleistung (welche von der VDI Richtlinie 2047 Blatt 2 explizit ausgenommen sind). Für letztere sind um den Faktor fünf höhere Werte geplant.

Tabelle 3.1: Prüfwerte und Maßnahmenwerte für die Konzentration von Legionellen im Kühlwasser oder Waschwasser. Nach Referentenentwurf Verordnung über Verdunstungskühlanlagen und Nassabscheider (VerdunstKühlV) – 42. BImSchV, BMUB, AG IG I 2, Stand:19.01.2016.

Art der Anlage	Legionellenkonzentration in KBE_{Leg} je 100 ml		
	Prüfwert I	Prüfwert II	Maßnahmenwert
Verdunstungskühlanlagen	100	1.000	10.000
Nassabscheider	100	1.000	10.000
Naturzugkühltürme ≥ 200 MW	500	5.000	50.000

Bis zum Inkrafttreten dieser gesetzlichen Regelung auf Bundesebene wird jedoch weiterhin das Ampel-Bewertungssystem LANUV für Kühlwasserproben angewendet.

Eine Gegenüberstellung von Bewertungssystemen für Legionellen-Befunde in Kühlwasser (bzw. Waschwasser bei Nassabscheidern), Oberflächenwasser oder Abwasser ist in Tabelle 3.2 dargestellt.

Für die Bewertung von Legionellen-Befunden in Abwasser-Proben von Indirekteinleitern bzw. in Proben anderer Probenahmestellen als dem Ablauf ins Gewässer innerhalb von Kläranlagen wurden noch keine Bewertungsschemata entwickelt.

Tabelle 3.2: Gegenüberstellung von Bewertungssystemen für Legionellen-Befunde in Kühlwasser (bzw. Waschwasser; Nassabscheider), Oberflächenwasser oder Abwasser. Maßnahmenwerte nach technischen Regeln (VDI 2047 Blatt 2:2015-01 bzw. VDI 3679 Blatt 1:2014-07) bzw. dem Bericht der Expertenkommission Legionellen; LANUV Bewertungssystem für Kühlwasserproben und Prüf- bzw. Maßnahmenwerte nach Referentenentwurf der geplanten Verordnung über Verdunstungskühlanlagen und Nassabscheider (VerdunstKühlV) – 42. BImSchV; Stand 19.01.2016). Dabei sieht die Verordnung nach o. g. Stand für Naturzugkühltürme mit ≥ 200 MW thermischer Rückkühlleistung (die von der VDI Richtlinie 2047 Blatt 2 explizit ausgenommen sind) um den Faktor fünf höhere Werte vor als für andere Verdunstungskühlanlagen bzw. Nassabscheider.

Legionellen-Konzentration [KBE/100 ml]	Prüf- bzw. Maßnahmenwerte								
	< 100	100 > 100	500 > 500	1.000 < 1.000	1.000 > 1.000	5.000 < 50.000	10.000 > 10.000	50.000 ≤ 50.000	> 50.000
Bewertungssystem									
VDI 2047 Blatt 2 Rückkühlwerke	grün	gelb		orange		rot			
VDI 3679 Blatt 1 Nassabscheider	grün	gelb		orange		rot			
Bericht der Expertenkommission Legionellen									
Gewässer (ohne Epidemiestamm)	grün	gelb		orange		rot			
Kläranlagenablauf	grün			gelb		rot			
Ampel-Bewertungssystem* LANUV für Kühlwasserproben *in Anlehnung an VDI 2047	grün	gelb		rot					
Referentenentwurf VerdunstKühlV - 42. BImSchV, BMUB, AG IG I 2, Stand 19.01.2016									
Verdunstungskühlanlagen, Nassabscheider	grün	gelb		orange		rot			
Naturzugkühltürme ≥ 200 MW	grün		gelb		orange		rot		

Zusammenfassende Kurzdarstellung Bewertungsbereiche/ Maßnahmen (VDI-Richtlinien, Bericht Expertenkommission, VerdunstKühlV) :

- grün: keine Maßnahmen, kein Handlungsbedarf
- gelb: erneute/weitere Untersuchungen (Expertenbericht, Gewässer mit Entnahme: bei Bestätigung des Ergebnisses Rohwasseraufbereitung; KA-Ablauf: Information der Betreiber und Nutzer)
- orange: Maßnahmen für einen ordnungsgemäßen Betrieb/ zur Reduzierung der Legionellenzahl (z. B. Stoßdosierung Biozid, Ursachenermittlung, Mängelbeseitigung, Wasseraufbereitung ggf. Desinfektion; Meldung an zust. Behörde; hyg.-med. Bewertung)
- rot: unverzügliche Gefahrenabwehr notwendig (z. B. Entnahme- oder Nutzungsverbot); umfangreiche Maßnahmen (z. B. Sanierung nach Maßnahmenkatalog des Störfallmanagements wie Stoßdosierung Biozid, Entleerung, Reinigung, Desinfektion, bau-/betriebstechnische Maßnahmen, Außerbetriebnahme, Sanierung, Maßnahmen zum Schutz der Mitarbeiter und Dritter; Ursachenaufklärung; Gefährdungsanalyse: erneute Messungen); VerdunstKühlV: Information der zuständigen Behörde

4 Kultureller Nachweis von Legionellen und Bewertung Serotypisierung

Der **kulturelle Nachweis** von Legionellen erfolgt nach ISO 11731 und DIN EN ISO 11731 Teil 2. Es wird eine Vorbehandlung der Probe durchgeführt um die **Begleitflora** zu reduzieren. In Abhängigkeit der **Proben-Matrix**, also je nachdem ob es sich um Oberflächenwasser, Kühlwasser- oder Abwasser-Proben handelt, erfolgen eine Aufkonzentration durch Filtration und/oder ein Direktansatz und/oder eine Verdünnung der Probe. Zur **Kultivierung** wird ein Selektiv-Nährboden mit Zusätzen für Legionellenwachstum (GVPC-Agar) verwendet. Die Anzucht erfolgt bei 36 °C über 10 Tage, da Legionellen nur langsam wachsen. Die Platten werden in diesem Zeitraum zweimal auf Legionellen-verdächtige Kolonien untersucht. Zur **Bestätigung** Legionellen-verdächtigter Kolonien werden diese subkultiviert auf Nährböden mit Zusätzen und auf Nährböden ohne Zusätze über mindestens zwei Tage.

Bei Legionellen-Nachweis dient die **Serotypisierung**, mittels Latex-(Agglutinations)-Test anhand von Oberflächenstrukturen der Bakterien, der Unterscheidung der Legionellen in folgende vier Gruppen:

- *Legionella pneumophila* Serogruppe 1
- *Legionella pneumophila* Serogruppe 2-14
- *L. non-pneumophila* (Sammelparameter für *L. longbeachae* Serogruppe 1-2, *L. bozemanii* Serogruppe 1-2, *L. dumoffii*, *L. gormanii*, *L. jordanis*, *L. micdadei*, *L. anisa*)
- *Legionella* spp. (Keine Testreaktion); hierbei handelt es sich um andere als die zuvor genannten Legionellen.

Der kulturelle Nachweis gilt nach wie vor als Goldstandard. **Vorteile** der Methode sind u. a., dass es sich um ein ISO genormtes Verfahren handelt, welches eine Bewertung unter hygienischen Aspekten nach verschiedenen Bewertungsgrundlagen, wie z. B. den Empfehlungen der Expertenkommission Legionellen oder der VDI-Richtlinie 2047 Blatt 2 ermöglicht. Des Weiteren stellt es die Grundlage für den direkten molekularbiologischen Vergleich verschiedener Isolate dar, welcher z. B. im Ausbruchsfall die Identifizierung der ursächlichen Infektionsquelle durch den Vergleich von Patienten- und Umweltilsolen ermöglicht.

Nachteile der Methode sind demgegenüber, dass es sich aufgrund des langsamen Wachstums der Legionellen um eine zeitaufwendige Methode handelt, welche nur kultivierbare Legionellen erfasst und störanfällig ist gegenüber anderen in der Probe enthaltenen Mikroorganismen, die auch auf den Kulturplatten wachsen (Begleitflora). Wie oben beschrieben, wird zur Reduzierung der **Begleitflora** eine Vorbehandlung der Probe durchgeführt und Proben, welche große Mengen anderer Mikroorganismen enthalten, werden für die Kultivierung verdünnt. Durch diese erforderliche **Verdünnung** mikrobiell hochbelasteter Proben kann es zu **hohen Nachweisgrenzen** kommen, wenn die Originalansätze aufgrund zu massivem mikrobiellen Bewuchses der Platten nicht ausgewertet werden können und in den Verdünnungen kein Nachweis von Legionellen erbracht wird.

Die **Nachweisgrenze** (NG) ergibt sich dabei aus dem untersuchten Proben-Volumen, der Verdünnung der Probe und der Hochrechnung des Befundes auf ein Probenvolumen von

100 ml. Erbringt z. B. die Kultivierung von 0,2 ml einer 1:100 Verdünnung einer Probe keine Legionellen-Kolonie, ergibt sich daraus ein Legionellen-Befund von < 50.000 KBE/100 ml (KBE = koloniebildende Einheit). Für solche Befunde mit hohen Nachweisgrenzen ist somit festzuhalten, dass in den Proben zwar keine Legionellen nachgewiesen wurden, aber nicht auszuschließend ist, dass Legionellen entsprechend der Höhe der Nachweisgrenze in den Proben enthalten sein könnten.

Hinsichtlich der **Bewertung der Ergebnisse der Serotypisierung** wird auf folgende in der Fachliteratur beschriebenen Nachweise der verschiedenen Legionellen-Arten bei Erkrankungen des Menschen, die Einschätzungen zur Pathogenität von Legionellen und die Einstufung der verschiedenen Legionellen-Arten in die Risikogruppen nach Biostoffverordnung hingewiesen:

Legionella pneumophila, und hierbei besonders die Serogruppe 1, stellt bei den klinischen Isolaten den mit Abstand größten Anteil. Es wurde aber etwa die Hälfte aller beschriebenen (~ 56) Legionellen-Arten bzw. (min. 70) Serogruppen in klinischen Proben nachgewiesen.

Bei der Untersuchung von Legionärskrankheit mittels Labor-Diagnostik wird in der Mehrheit der Fälle *L. pneumophila* Serogruppe 1 nachgewiesen; die am häufigsten eingesetzte Diagnosemethode (Urin-Antigennachweis) entdeckt jedoch nur diese Serogruppe zuverlässig.

Im Kontext mit Verdunstungskühlanlagen assoziierten Legionellose-Ausbrüchen sind bislang nur *L. pneumophila* und hier insbesondere die Serogruppe 1 beschrieben worden. Es kann aber nicht ausgeschlossen werden, dass auch andere Legionellenarten und Serovarietäten von Bedeutung sind. Alle Legionellen-Spezies werden als potentiell humanpathogen angesehen.

Neben *L. pneumophila* werden nach TRBA 466 (Technische Regeln für Biologische Arbeitsstoffe; TRBA 466: „Einstufung von Prokaryonten (Bacteria und Archaea) in Risikogruppen“) noch 19 andere Legionellen-Arten in Risikogruppe 2 nach Biostoffverordnung eingestuft, unter anderem die Legionellen-Arten, welche bei der Serotypisierung mittels Latex-(Agglutinations-)Test zur Gruppe *L. non-pneumophila* zählen (siehe **Tabelle A3**).

Die weiteren 36 in der TRBA 466 aufgeführten Legionellen-Arten werden in die Risikogruppe 1 eingestuft; manche mit der Bemerkung „in Einzelfällen als Krankheitserreger nachgewiesen oder vermutet, überwiegend bei erheblich abwehrgeminderten Menschen; Identifizierung der Art oft nicht zuverlässig.“

Dabei sind die genannten Risikogruppen der Biostoffverordnung wie folgt definiert:

„Risikogruppe 1: Biostoffe, bei denen es unwahrscheinlich ist, dass sie beim Menschen eine Krankheit hervorrufen,“







„Risikogruppe 2: Biostoffe, die eine Krankheit beim Menschen hervorrufen können und eine Gefahr für Beschäftigte darstellen könnten; eine Verbreitung in der Bevölkerung ist unwahrscheinlich; eine wirksame Vorbeugung oder Behandlung ist normalerweise möglich,“

Der Nachweis von *L. pneumophila*, insbesondere der Serogruppe 1, scheint demnach ein höheres Risiko anzuzeigen; jedoch sind auch die unter dem Sammelparameter *L. non-pneumophila* zusammengefassten Arten als Krankheitserreger beschrieben und werden in die gleiche Risikogruppe nach Biostoffverordnung wie *L. pneumophila* eingestuft. Des Weiteren muss man grundsätzlich davon ausgehen, dass alle *Legionella*-Arten zumindest bei immunkompromittierten Menschen Infektionen hervorrufen können.

5 Ergebnisse der LANUV Messprogramme

Nachfolgend aufgeführte Tabelle 5.1 gibt einen Überblick über die Anzahl der Anlagen und Ablauf-Proben, welche im Rahmen des Messprogramms „Kommunale Kläranlagen und industrielle Direkteinleiter ab April 2015“ auf Legionellen untersucht wurden. Ferner ist die Größenordnung der erhaltenen Legionellen-Befunde dargestellt.

Tabelle 5.1: Anzahl (n) Anlagen und (Ablauf-)Proben des Messprogramms „Kommunale Kläranlagen und industrielle Direkteinleiter ab April 2015“ und Größenordnung erhaltener Legionellen-Befunde. Einbezogen wurden die Proben der Anlagen, bei welchen mehrfach (7- bis 18-mal) Probenahmen erfolgten. Die Legionellen-Befunde der Anlagen bzw. Proben sind eingeteilt in kleiner Nachweisgrenze (< NG) und in Bewertungskategorien nach Bericht der Expertenkommission Legionellen (grün, gelb, rot entsprechend < 1.000, ≥ 1.000 bis < 10.000, ≥ 10.000 KBE Legionellen/100 ml). In Bezug auf die Anlagen handelt es sich bei den Angaben jeweils um die maximal festgestellten Befunde bei der jeweiligen Anlage.

	Kom. Kläranlagen		Ind. Direkteinleiter		Summe	
n Anlagen	20		11		31	
n Proben	207		128		335	
Legionellen-Befunde						
Anlagen	n	[%]	n	[%]	n	[%]
< NG	6	30	2	18	8	26
 grün	10	50	3	27	13	42
 gelb	2	10	3	27	5	16
 rot	2	10	3	27	5	16
Proben	n	[%]	n	[%]	n	[%]
< NG	152	73	80	63	232	69
 grün	40	19	16	13	56	17
 gelb	10	5	28	22	38	11
 rot	5	2	4	3	9	3

5.1 Kommunale Kläranlagen

Die Untersuchung der **Ablauf-Proben** der ausgewählten kommunalen Kläranlagen auf Legionellen ergab bei vier (20 %) der 20 Anlagen (bei welchen 7- bis 18-mal Probenahmen erfolgten) erhöhte Legionellen-Befunde (siehe **Tabelle 5.1** bzw. **Tabelle A1**). Bei zwei Anlagen (KA Nr. 5 und Nr. 21) wurde jeweils nur **ein erhöhter Befund im gelben Bewertungsbereich** festgestellt. In Ablauf-Proben zweier anderer Kläranlagen (Nr. 6 und Nr. 13) wurden hingegen sowohl mehrfach **Legionellen-Konzentrationen im gelben Bewertungsbereich**, als auch **Befunde im roten Bewertungsbereich** nachgewiesen. Bei letzteren werden Maßnahmen zur Minderung der Legionellen-Konzentration und eine Überprüfung der Konzentration im Gewässer empfohlen.

Die Ablauf-Proben der übrigen untersuchten kommunalen Kläranlagen ergaben hingegen Befunde im grünen Bewertungsbereich oder kleiner Nachweisgrenze (< NG), wobei die jeweilige Nachweisgrenze nur in seltenen Ausnahmefällen höher als 1.000 KBE/100 ml lag.

Da nur in einem geringen Anteil der KA-Ablauf-Proben erhöhte Legionellen-Konzentrationen nachgewiesen wurden (siehe **Tabelle 5.1**), erscheint es sinnvoll, folgende Einflussfaktoren

zu betrachten, um das Risikopotential einer möglichen starken Legionellen-Belastung bei kommunalen Kläranlagen einschätzen zu können:

- Volumenströme (Art und Menge) möglicher relevanter Indirekteinleiter mit Abwasser, welches Legionellenwachstum begünstigen könnte,
- Abwasser-Temperaturen sowie Standzeit in den Anlagen der Indirekteinleiter,
- Abwasser-Temperaturen im Zulauf und der Belebung der jeweiligen behandelnden KA
- und Ausbaugröße bzw. Anlagentechnik der behandelnden KA.

Die festgestellten Schwankungen der nachgewiesenen Legionellen-Konzentration bestätigen die Einschätzung, dass zur Beurteilung der Legionellen-Belastungssituation einer Anlage umfangreiche Messreihen erforderlich sind. Die Serotypisierung bei Legionellen-Befunden kann einen Hinweis auf eine mögliche Legionellen-Quelle geben, wenn in Proben von Indirekteinleitern Legionellen der gleichen Gruppe auftreten wie in der behandelnden, kommunalen Kläranlage. Um jedoch nachzuweisen, dass der gleiche Legionellen-Stamm vorhanden ist, wäre eine genauere Feintypisierung erforderlich. Treten in Ablauf-Proben von kommunalen Kläranlagen regelmäßig Legionellen der gleichen Gruppe der Serotypisierung auf, kann das sowohl ein Hinweis für eine fortwährende „Beaufschlagung“ der Anlage mit derlei Legionellen aus einer Indirekteinleitung als auch für deren Persistenz in der Kläranlage sein.

Bei den Anlagen mit stark erhöhten Legionellen-Befunden zeigte sich die Notwendigkeit, neben einem langfristigen Konzept zur Verminderung der Legionellen-Kontamination, kurzfristig Maßnahmen zur Reduktion der Einträge in Luft oder Wasser vorzunehmen.

5.1.1 Kläranlagen mit erhöhten Legionellen-Befunden – Quellensuche bzw. Überprüfung der Legionellen-Konzentration im Gewässer

KA Nr. 5

Nachdem in der Ablauf-Probe (PN-Datum 18.08.2015) der KA Nr. 5 eine Legionellen-Konzentration von 9.900 KBE/100 ml nachgewiesen wurde, erfolgte zur Legionellen-Quellensuche eine Untersuchung der Abläufe relevanter Indirekteinleiter auf Legionellen. Ausgewählt wurden sieben Indirekteinleiter hinsichtlich möglicher günstiger Nährstoffbedingungen im Abwasser bzw. der Menge des anfallenden Abwasservolumens. Nur in den Abwasserproben eines Indirekteinleiters der Lebensmittelverarbeitung konnten Legionellen nachgewiesen werden; alle anderen Proben ergaben Befunde < NG. Die Nachweisgrenzen waren jedoch aufgrund der komplexen Abwasser-Matrix mit großen Mengen anderer Mikroorganismen, welche den kulturellen Nachweis von Legionellen stark erschweren, stören oder sogar nicht möglich machen, zum Teil hoch bis sehr hoch (4.500 – 5.000.000 KBE/100 ml), so dass ein Vorhandensein von Legionellen in entsprechend hohen Konzentrationen nicht ausgeschlossen werden kann. Nachgewiesen wurden Legionellen in Konzentrationen von 98.000.000, 7.000.000, 45.000 bzw. 4.500 KBE/100 ml; wobei die erste der vier Probenahme nicht von Probenehmern des LANUV durchgeführt wurde. Die Firma leitet vorwiegend nachts zeitlich begrenzt ein, weshalb zunächst das Zeitfenster der Probenahme abzustimmen war. Bei der letzten Probenahme wurde, neben dem Ablauf der KA Nr. 5, auch der Zulauf, abgestimmt zum Einleitverhalten des Indirekteinleiters, beprobt. In beiden Proben wurden keine

Legionellen nachgewiesen; wobei die Nachweisgrenze für die Zulauf-Probe aufgrund der mikrobiellen Belastung bei 4.500 KBE/100 ml lag.

Die Ergebnisse zeigen, dass zur Legionellen-Quellensuche im Abwasserpfad bei Indirekteinleitern der kulturelle Nachweis von Legionellen, aufgrund der Problematik hoher Nachweisgrenzen bei mikrobiell hochbelasteten Proben, nur bedingt geeignet ist. Aufgrund der hohen Legionellen-Befunde in den Abwasserproben der Anlage des Indirekteinleiters der Lebensmittelverarbeitung ist von Seiten der Firma eine Überprüfung der Abluft des Abwassertanks (Aerobreaktor zur Reduzierung der organischen Abwasserinhaltsstoffe aus der Lebensmittelverarbeitung) auf legionellenhaltige Aerosole vorgesehen; parallel wird kurzfristig geprüft, ob und ggf. wie eine Anpassung der Anlagentechnik zur Vermeidung der Legionellen-Problematik möglich ist.

KA Nr. 21

Aufgrund des Legionellen-Befundes in Höhe von 2.800 KBE/100 ml in der Ablauf-Probe der Kläranlage Nr. 21 vom 21.09.2015 erfolgte am 11.11.2015 eine Probenahme bei einem Indirekteinleiter (Brauerei) am Übergabeschacht, am Vorlagebehälter und im Gewässer unterhalb der Einleitung der Kläranlage. In den Proben des Indirekteinleiters konnten Legionellen der gleichen Serogruppen wie in Proben vorheriger Probenahmen am Ablauf der KA nachgewiesen werden, jedoch in relativ geringen Konzentrationen (1.800 bzw. 280 KBE/100 ml). In den parallelen Probenahmen des Ablaufs der KA und der Gewässerprobe unterhalb der Einleitung vom 11.11.2015 wurden keine Legionellen nachgewiesen (NG 89 bzw. 83 KBE/100 ml).

Da es sich bei der festgestellten, erhöhten Legionellen-Konzentration um einen Einzelbefund bei den im Rahmen des Messprogramms untersuchten Ablauf-Proben der KA Nr. 21 handelt, scheint (zumindest am Ablauf der Anlage) keine ständige Legionellen-Problematik gegeben zu sein. Jedoch lässt ein früherer erhöhter Befund (14.000 KBE/100 ml, *L. pneumophila* Sg 2-14) in einer Ablauf-Probe vom 17.09.2014 vermuten, dass die Anlage durchaus als „potentielle Risikoanlage“ hinsichtlich eines möglichen Auftretens einer starken Legionellen-Belastung einzustufen ist.

Der Nachweis von *L. pneumophila* Sg 2-14 in mehreren Proben der KA könnte für eine Persistenz dieser Legionellen innerhalb der KA sprechen, aber auch ein Hinweis für eine regelmäßige Beaufschlagung der KA mit Legionellen dieser Serogruppen sein.

KA Nr. 6

In vier von zehn Ablauf-Proben der KA Nr. 6 wurden erhöhte Legionellen-Konzentrationen nachgewiesen; jeweils zweimal im gelben (PN-Datum 12.10.15 und 18.11.2015) bzw. roten (PN-Datum 27.10.2015 und 02.12.2015) Bewertungsbereich. Aufgrund dieser Befunde wurden Probenahmen auf einem Werksgelände durchgeführt, auf dem Indirekteinleiter der Milchverarbeitung und der Getränkeherstellung ansässig sind. An sechs Probenahmestellen auf dem Gelände und im Ablauf der KA Nr. 6 wurden am 18.01.2016 Proben durch das

LANUV entnommen. In einer Probe aus einem Tank vom Gelände der Indirekteinleiter wurden Legionellen in einer Konzentration von 1.100.000 KBE/100 ml nachgewiesen. Die Serotypisierung ergab, wie auch in den Ablauf-Proben der KA Nr. 6, *L. pneumophila* Sg2-14, wobei in den KA-Ablauf-Proben zum Teil noch andere Legionellen nachgewiesen wurden. Die Untersuchung der übrigen Probenahmestellen auf dem Werksgelände auf Legionellen ergab Befunde kleiner Nachweisgrenze, allerdings lag die Nachweisgrenze für zwei Proben bei 4.500 KBE/100 ml. Die im Ablauf der KA Nr. 6 (PN-Datum 18.01.2016) nachgewiesene Legionellen-Konzentration lag mit 330 KBE/100 ml im grünen Bewertungsbereich.

Bereits im Rahmen der zweiten landesweiten Sonderprüfung kommunaler Kläranlagen war in einer Ablauf-Probe der KA Nr. 6 (PN-Datum 13.11.2014) eine erhöhte Legionellen-Konzentration von 7.000 KBE/100 ml mit der Serotypisierung *L. pneumophila* Sg2-14 festgestellt worden. Der wiederholte Nachweis von *L. pneumophila* Sg2-14 könnte entweder bedeuten, dass Legionellen dieser Serogruppen innerhalb der KA überdauern können oder dass eine regelmäßige Beaufschlagung der KA mit Legionellen dieser Serogruppen stattgefunden hat.

Wie die wiederholte Überschreitung von empfohlenen technischen Maßnahmewerten zeigt, scheint bei der Anlage bzw. deren Indirekteinleitern durchaus eine signifikante Legionellen-Belastung gegeben zu sein, welche weiter zu überwachen und möglichst zu reduzierten ist, auch wenn unterhalb der Einleitung der KA Nr. 6 keine relevanten Wasserentnahmen festgestellt wurden.

KA Nr. 13

Da bereits im Rahmen früherer Untersuchungen Proben der KA Nr. 13 erhöhte Legionellen-Befunde aufwiesen, wurde nicht nur der Ablauf der KA Nr. 13 regelmäßig auf Legionellen untersucht, sondern auch der Ablauf eines Indirekteinleiters (Brauerei, Ablauf der Abwasserbehandlung), der entsprechende Zulauf zur KA Nr. 13 (Zulauf Brauerei), sowie Proben aus der Belebung (Belebbecke) und aus dem Gewässer unterhalb der Einleitung der KA Nr. 13 und im weiteren Gewässerverlauf.

Der kulturelle Nachweis von Legionellen stellt sich in den mikrobiell stark belasteten Proben aus dem Ablauf des Indirekteinleiters, dem entsprechenden Zulauf zur kommunalen Kläranlage Nr. 13 und aus dem Belebbecke der KA Nr. 13 allerdings sehr schwierig dar (siehe dazu die Erläuterungen im Kapitel 4). Nur in einer von 20 Proben der **Anlage der Brauerei, Messstelle „Ablauf der Abwasserbehandlung“** konnten Legionellen nachgewiesen werden (PN-Datum 11.08.2015, 900.000 KBE/100 ml, Serotypisierung: *L. non-pneumophila*); die restlichen Proben ergaben Befunde < NG, jedoch mit Nachweisgrenzen in Höhe von 8.200 bis 450.000 KBE/100 ml. Ähnlich verhielt es sich mit den Proben der **KA Nr. 13, Messstelle „Zulauf Brauerei“**, wobei für diese in sieben von 21 Proben ein Legionellen-Nachweis erbracht wurde (mit Konzentrationen von 4.500 bis 990.000 KBE/100 ml). Die restlichen Befunde waren < NG, mit Nachweisgrenzen in Höhe von 4.500 bis 450.000 KBE/100 ml. Proben der **Messstelle „Belebbecke“** ergaben zwar mehrheitlich (in 15 von 21 Proben) einen Nachweis von Legionellen mit Konzentrationen in Höhe von 18.000 bis 1.900.000 KBE/100 ml (die restlichen Befunde waren < NG mit Nachweisgrenzen von 4.500 bis 45.000 KBE/100 ml), aber es wird darauf hingewiesen, dass aufgrund der heterogenen Verteilung

der Mikroorganismen im Belebungsbecken eine repräsentative Probenahme mit einer Einzelprobe als nicht möglich angesehen wird und mit den gewonnenen Untersuchungsergebnissen nur Orientierungswerte erhalten werden (vgl. hierzu Anhang I und II des Berichts der Expertenkommission Legionellen Probenahme von Belebtschlamm und D: „Proben aus dem Belebungsbecken“).

Die genannten Schwierigkeiten hinsichtlich der Probenahme bei heterogenen Proben und beim kulturellen Nachweis von Legionellen in Proben mit erheblicher Begleitflora erschweren somit auch die Bewertung der Befunde; Bewertungsschemata wurden bislang nicht festgelegt.

Die Untersuchung der KA-Ablauf-Proben ins Gewässer und die der Oberflächenwasser-Proben hingegen ergaben mehrheitlich Nachweise von Legionellen und bei Befunden < NG waren die Nachweisgrenzen meist niedrig (mehrheitlich unter 100 KBE/100 ml).

Die Legionellen-Befunde in den **KA-Ablauf-Proben** zeigten zunächst einen abnehmenden Trend (Mai-Jul 2015), dann eine stark erhöhte Legionellen-Konzentration im roten Bewertungsbereich (180.000 KBE/100 ml, PN-Datum 11.08.2015; Maximalbefund innerhalb der Messreihe seit Mai 2015), gefolgt von einer Zeitspanne mit wechselnd niedrigeren und dann wieder höheren Befunden (im roten Bewertungsbereich: 13.000 bzw. 12.000 KBE/100 ml, PN-Datum 08.09.2015 bzw. 06.10.2015); seit Nov 2015 liegen die Befunde im grünen Bewertungsbereich oder < NG (1 bis 140 KBE/100 ml; Stand: 18.03.2016).

Auffällig ist, dass am PN-Datum mit dem höchsten Legionellen-Befund im Ablauf der KA (11.08.2015) ebenso sehr hohe Befunde sowohl in der Ablauf-Probe des Indirekteinleiters, in den Proben aus dem Zulauf Brauerei und der Belebung der KA als auch in den Oberflächenwasser-Proben unterhalb der Einleitung der KA nachgewiesen wurden. Die Serotypisierung erbrachte bei allen diesen Legionellen-Nachweisen den Befund *L. non-pneumophila*. Es handelt es sich dabei jeweils um die Maximalbefunde für die Proben Ablauf Indirekteinleiter, Belebungsbecken KA Nr. 13 und die Oberflächenwasser-Proben unterhalb der Einleitung der KA Nr. 13 und im Gewässerverlauf. Die nachgewiesenen Legionellen-Konzentrationen in den Proben aus dem Gewässer lagen dabei, ebenso wie die der KA-Ablauf-Probe, im roten Bewertungsbereich.

Eine weitere Auffälligkeit ist der Nachweis von *L. pneumophila* Sg1 bei erhöhten Legionellen-Befunden sowohl in KA-Ablauf-Proben als auch in Oberflächenwasser-Proben an zwei PN-Daten (25.08.2015 und 08.09.2015).

Insgesamt ergab die Untersuchung auf Legionellen von **Oberflächenwasser-Proben** aus dem Gewässer unterhalb der Einleitung der KA Nr. 13 und im weiteren Gewässerverlauf im Zeitraum Mai-Okt 2015 mehrheitlich Befunde im gelben Bewertungsbereich. Seit Nov 2015 liegen die Befunde (ähnlich wie die der KA-Ablauf-Proben) meist im grünen Bereich oder kleiner Nachweisgrenze (von 10 bis 140 KBE/100 ml; Stand: 18.03.2016). Dabei spielen sicherlich sowohl die niedrigen Konzentrationen in den Ablauf-Proben als auch die niedrigeren Wasser-Temperaturen eine Rolle.

Eine eindeutige Korrelation zwischen dem Auftreten der Maximal- bzw. Minimal-Legionellen-Befunde und der Temperatur ist jedoch nicht ersichtlich. Allerdings lässt sich das anhand der gewonnenen Daten auch nur bedingt beurteilen. Die zahlreichen Befunde ohne Nachweis von

Legionellen, aber mit hohen Nachweisgrenzen, für die Indirekteinleiter-Ablauf-Proben und die entsprechenden Zulauf-Proben zur kommunalen KA, sowie die Problematik der Heterogenität der Proben aus der Belebung, erlauben weder eine eindeutige Aussage zum Vermehrungsort der Legionellen, noch eine Korrelation zur Temperatur.

Hinsichtlich der Vermehrung von Legionellen ist allerdings die über den Untersuchungszeitraum recht einheitlich hohe Abwasser-Temperatur von 25-32 °C (Mittelwert, Ø, 29 °C) an der Messstelle „Ablauf Abwasserbehandlung“ der Anlage der Brauerei hervorzuheben. Bei Probenahmen auf der KA Nr. 13 lagen die Abwasser-Temperaturen hingegen im Bereich von 14-25 °C (Ø 20 °C; Zulauf Brauerei), 12-23 °C (Ø 18 °C; Belebbeck) bzw. 10-22 °C (Ø 18 °C; Ablauf der KA). Die Temperatur des Fließgewässers unterhalb der Einleitung sowie im Gewässerverlauf lag mit 2-23 °C (Ø 14 °C) noch niedriger.

Festzuhalten ist, dass bei stark erhöhten Legionellen-Konzentrationen in Ablauf-Proben der KA Nr. 13 auch erhöhte Legionellen-Befunde in Proben aus dem Gewässer unterhalb der Einleitung der KA nachgewiesen wurden. Seit Nov 2015 sind jedoch sowohl die Befunde der Ablauf-Proben als auch der Oberflächenwasser-Proben mehrheitlich im grünen Bewertungsbereich oder < NG (mit Nachweisgrenzen von 1 bis 140 KBE/100 ml; Stand: 18.03.2016) und somit hinsichtlich der Legionellen-Konzentration hygienisch nicht zu beanstanden.

Das wiederholte Auftreten erhöhter Legionellen-Konzentrationen in Ablauf-Proben der KA Nr. 13, auch bereits im Rahmen früherer Untersuchungen, zeigt allerdings, dass es sich bei der KA bzw. der Anlage des Indirekteinleiters um Anlagen mit einer signifikanten Legionellen-Belastung handelt, welche zukünftig weiter untersucht und möglichst reduziert werden sollte.

5.2 Industrielle Direkteinleiter

Die im Rahmen dieses Messprogramms untersuchten Ablauf-Proben der Anlagen industrieller Direkteinleiter ergaben für 6 (55 %) von 11 Anlagen (bei welchen 9- bis 14-mal Probenahmen erfolgten) erhöhte Legionellen-Befunde (siehe **Tabelle 5.1** bzw. **Tabelle A2**). Bei drei der Anlagen lagen die Befunde im **gelben Bewertungsbereich**. Bei den Anlagen Nr. 11 und Nr. 12 handelte es sich jeweils um Einzelbefunde innerhalb der Messreihen. Für die Anlage Nr. 10 hingegen ergaben die Ablauf-Proben in 12 von 14 Fällen erhöhte Legionellen-Befunde mit Konzentrationen von 1.100 bis zu 5.000 KBE/100 ml und dem Nachweis von u. a. *L. pneumophila* (sowohl Sg1 als auch Sg2-14).

Bei den drei anderen Anlagen mit erhöhten Legionellen-Befunden (Nr. 3, 5 und 6) sind neben Befunden im **gelben Bewertungsbereich** auch mindestens ein bzw. zwei Befunde im **roten Bewertungsbereich** festgestellt worden.

Im Rahmen früherer Untersuchungen (zweite landesweite Sonderprüfung) sind in Ablauf-Proben von vier der oben aufgeführten sechs Anlagen (Nr. 3, 6, 10 und 12) bereits erhöhte Legionellen-Befunde festgestellt worden.

Bei den Anlagen mit wiederholten Überschreitungen der empfohlenen technischen Maßnahmenwerte handelt es sich, wie angenommen, um solche mit einem Potential für eine starke Vermehrung von Legionellen. Bei fünf der mehrfach untersuchten Anlagen scheint diese Einschätzung jedoch nicht zuzutreffen, da hier ausschließlich Legionellen-Befunde im

grünen Bewertungsbereich oder < NG (mit Nachweisgrenzen von mehrheitlich < 1.000 KBE/100 ml) festgestellt wurden. Auffällig ist, dass eine von drei Brauereien keine Legionellen-Problematik aufweist. Bereits vor der UV-Behandlung wurden ausschließlich Legionellen-Befunde im grünen Bewertungsbereich bzw. < NG (mit einer NG von 82 KBE/100 ml) festgestellt.

Für eine Entwicklung von Maßnahmen zur Minderung von Legionellen-Belastungen wäre ein Vergleich der Anlagentechnik von Betrieben gleicher Branche bzw. mit ähnlicher Abwasserbeschaffenheit mit und ohne Legionellen-Belastung hilfreich.

5.2.1 Industrielle Betriebe mit erhöhten Legionellen-Befunden – Quellensuche bzw. Überprüfung der Legionellen-Konzentration im Gewässer

Anlage Nr. 11

Nachdem in der Ablauf-Probe der Anlage Nr. 11 (Papierhersteller) vom 26.08.2015 eine erhöhte Legionellen-Konzentration (7.200 KBE/100 ml; *L. pneumophila* Sg1) nachgewiesen wurde, erfolgten am 21.09.2015 zusätzliche amtliche Probenahmen von Abwasser an neun weiteren Messstellen auf dem Gelände der Firma sowie an drei Messstellen im Gewässer ober- und unterhalb der Abwasser-Einleitung der Firma. In keiner der Abwasser-Proben wurden Legionellen nachgewiesen, allerdings bei hohen Nachweisgrenzen von 4.500 bis 450.000 KBE/100 ml (bedingt durch die hohe mikrobielle Begleitkontamination) für die Proben aus dem Bereich des Zulaufs der Anlage, des Tropfkörpers, der Zwischenklärung und der Belebung, so dass ein Vorhandensein von Legionellen in diesen Proben in entsprechender Konzentration nicht ausgeschlossen werden kann (siehe dazu die Erläuterungen Kapitel 4).

Die Untersuchung der Oberflächenwasser-Proben ergaben Legionellen-Befunde im grünen Bewertungsbereich (30 KBE/100 ml) bzw. < NG (mit Nachweisgrenzen von 83 bzw. 1 KBE/100 ml).

Die erhöhte Legionellen-Konzentration der Ablauf-Probe vom 26.08.2015 wurde mit keiner Probe der nachfolgenden sechs Probenahmen am Ablauf der Anlage bestätigt und stellt somit, wie bereits oben erwähnt, einen Einzelbefund dar. Die Ablauf-Proben der anderen Probenahmen ergaben Legionellen-Befunde im grünen Bewertungsbereich oder < NG (mit Nachweisgrenzen von 82 bis 470 KBE/100 ml).

Anlage Nr. 10

Aufgrund der Diskrepanz von Legionellen-Befunde der amtlichen Untersuchung und der Selbstüberwachung steht das LANUV, auf Anfrage der zuständigen Behörde, im Kontakt mit der Firma (Papierhersteller) zum Abgleich der Untersuchungsmethodik. Die Firma ist sehr interessiert an der Lösung des analytischen Problems. Hierzu hat im März 2016 eine gemeinsame Probenahme des LANUV und des von der Firma beauftragten Labors mit anschließender Vergleichsuntersuchung auf Legionellen stattgefunden. Die Analyseergebnisse des von der Firma beauftragten Labors liegen dem LANUV bisher nicht vor.

Anlage Nr. 3

Das Gewässer, in welches die Einleitung des Abwassers der Anlage Nr. 3 (Betrieb der Fleischwirtschaft) erfolgt, mündet in einen Schmutzwasserlauf, der in einer kommunalen Kläranlage behandelt wird. Aufgrund des Legionellen-Befunds von 75.000 KBE/100 ml in der Ablauf-Probe der Anlage Nr. 3 vom 29.07.2015 und der beschriebenen Abwasserableitungssituation wurde am 19.08.2015 eine zusätzliche Probenahme am Ablauf der kom. KA durchgeführt. In der Probe wurden keine Legionellen nachgewiesen (Befund < 450 KBE/100 ml).

Für die 12 Ablauf-Proben der Anlage Nr. 3 ergab die Untersuchung auf Legionellen vier erhöhte Befunde, zwei im gelben Bewertungsbereich (PN-Datum 22.07.2015 und 21.10.2015) und zwei im roten (PN-Datum 29.07.2015 und 23.09.2015), die restlichen Proben ergaben Befunde < NG (mit Nachweisgrenzen von 82 bis 830 KBE/100 ml) bzw. einen im grünen Bewertungsbereich. Ein Trend über die Messreihe (Zeitraum 22.07.-16.12.2015) war nicht erkennbar.

Der zuständigen Behörde wurden, auf Nachfrage, allgemeine Informationen zu Vorkommen und Vermehrung von Legionellen, zur Untersuchungsmethodik und zur Bewertung von Legionellen-Befunden vermittelt, sowie Anregungen zur Lokalisation von möglichen Legionellen-Vermehrungsorten innerhalb der Anlage gegeben.

Anlage Nr. 5

Die Untersuchung der Ablauf-Proben der Anlage Nr. 5 (Brauerei) auf Legionellen ergab insgesamt in sechs von neun Proben erhöhte Befunde, jedoch mit einem abnehmenden Trend über den Zeitraum der Messreihe. Nach einem Befund im roten Bewertungsbereich (28.000 KBE/100 ml) zu Beginn der Messreihe (PN-Datum 30.09.2015) ergaben die folgenden fünf Probenahme (PN-Daten 14., 19., 21., 22. und 28.10.2015) Befunde im gelben Bewertungsbereich (alle um 1.000 KBE/100 ml). Weitere drei Probenahmen im Nov-Dez 2015 erbrachten dann Legionellen-Befunde < NG (mit einer Nachweisgrenze von 450 KBE/100 ml) bzw. im grünen Bewertungsbereich.

Wegen des stark erhöhten Legionellen-Befundes zu Beginn der Messreihe hat die zuständige Behörde Probenahmestellen auf dem Gelände der Firma benannt, die amtlich beprobt werden sollen. Am 29.03.2016 wurden, zusätzlich zur Probe am Ablauf der Kläranlage, auch Proben aus dem Wasserspeicher der CIP-Anlage, zwei Kühlwasserreservoir, dem SBR, der Nachflotation und dem Einlauf und der Mitte des Schönungsteichs genommen. In der Ablauf-Probe sowie den Proben aus dem Becken der CIP-Anlage und den Kühlwasserreservoir wurden keine Legionellen nachgewiesen (Nachweisgrenze: 82 KBE/100 ml bzw. 10 KBE/100 ml bei der Probe aus einem der Kühlwasserreservoir). Die bei weitem höchste Legionellen-Konzentration wurde für die Probe aus dem SBR ermittelt (140.000 KBE/100 ml; *Legionella* spp. (keine Testreaktion); hohe Begleitkontamination, Nachweis aus Verdünnung). Die Probe aus dem Becken der Nachflotation erbrachte den zweithöchsten Befund (3.900 KBE/100 ml; *Legionella* spp. (keine Testreaktion) und *L. pneumophila* Sg2-14). Auch in den Proben aus dem Schönungsteich wurden Legionellen nachgewiesen (Teich Einlauf: 980 KBE/100 ml; Teich Mitte: 820 KBE/100 ml; jeweils *Legionella* spp. (keine Testreaktion)). Aufgrund der ermittelten Befunde wurden den zuständigen Behörden weitergehende Informationen hinsichtlich deren Bewertung, insbesondere in Bezug auf eine etwaige Aersolbe-

lastung für Arbeiter im Umfeld des SBR, übermittelt (vgl. Kapitel 2.1 und TRBA 220). Das Dezernat für betrieblichen Arbeitsschutz der zuständigen Bezirksregierung hat die Anlage besichtigt. In einigen Bereichen muss jetzt Atemschutz getragen werden.

Anlage Nr. 6

Von den 13 Ablauf-Proben der Anlage Nr. 6 (Brauerei), welche im Rahmen des Messprogramms auf Legionellen untersucht wurden, ergaben acht erhöhte Befunde. Nachdem Probenahmen im Mai und Aug 2015 Befunde von < 10 bzw. < 830 KBE Legionellen/100 ml erbracht hatten, wurde in der Probe vom 28.09.2015 eine Legionellen-Konzentration von 12.000 KBE/100 ml nachgewiesen (roter Bewertungsbereich). Die nachfolgenden acht Probenahmen im Oktober ergaben fünf Legionellen-Befunde im gelben Bewertungsbereich und drei Befunde < NG (mit Nachweisgrenzen von 82 bzw. 450 KBE/100 ml), wobei sich ein eher abnehmender Trend der Legionellen-Belastung des Abwassers andeutete. Die beiden Proben, welche im November und Dezember genommen wurden, ergaben erneut höhere Legionellen-Befunde im gelben Bewertungsbereich.

Hinsichtlich einer Überprüfung der Legionellen-Konzentration im Gewässer wurden an drei Terminen Oberflächenwasser-Proben oberhalb und unterhalb der Einleitung der Anlage Nr. 6 entnommen. Die Probenahmen im Mai und Aug 2015 erbrachten, wie die Ablauf-Proben der gleichen Probenahme-Daten (20.05.2015, 26.08.2015), keinen Legionellen-Nachweis (mit Nachweisgrenzen von 1, 10 bzw. 83 KBE/100 ml). Im Dezember (PN-Datum: 02.12.2015) wurden oberhalb der Einleitung keine Legionellen nachgewiesen (< 83 KBE/100 ml), unterhalb hingegen eine Konzentration von 580 KBE/100 ml (gelber Bewertungsbereich für Gewässerproben, siehe Kapitel 3).

5.3 Weitere Legionellenuntersuchungen Abwasser/Kühlwasser

Zusätzlich zu den etwa 500 Proben (Ablauf-, Indirekteinleiter- und Gewässer-Proben) des beschriebenen Messprogramms, flossen etwa 170 Proben (hauptsächlich Abwasser- und Kühlwasser-Proben) in die Auswertungen mit ein, die im Rahmen anderer Messprogramme untersucht wurden. Es handelt sich hierbei um Proben von 27 Anlagen, welche vorwiegend im Bereich der Papierindustrie anzusiedeln sind. Bei den untersuchten kommunalen Kläranlagen fanden Auswahlkriterien wie z. B. Indirekteinleiter aus den Branchen Lederherstellung, Lebensmittelindustrie, Brauereien bzw. die Anlagentechnik (Tropfkörperanlage) Berücksichtigung. Zum anderen handelt es sich teilweise auch um Anlagen/ Betriebe, die bereits zuvor auffällige Legionellen-Befunde gezeigt haben.

Bei 18 der 27 Anlagen erfolgte jeweils nur eine Probenahme. Bei den Ergebnissen handelt es sich daher nur um Momentaufnahmen, um erste Informationen zu erhalten. Eine aussagekräftige Beurteilung einer möglichen Legionellen-Belastung anhand dieser Ergebnisse ist daher nicht möglich.

5.3.1 Abwasser

Die untersuchten Ablauf-Proben (43 Proben von 19 Anlagen) ergaben für zwei Anlagen erhöhte Legionellen-Befunde. Hierbei handelt es sich um eine kommunale Kläranlage (KA Nr. I) und eine Anlage eines industriellen Direktleiters (Anlage Nr. I). Die übrigen Proben ergaben Legionellen-Befunde im grünen Bewertungsbereich oder lagen unterhalb der Nachweisgrenze, wobei die Nachweisgrenzen bei 82 bis 45.000 KBE/100 ml lagen.

KA Nr. I

In einer Ablauf-Probe der KA Nr. I wurde eine leicht erhöhte Legionellen-Konzentration im gelben Bewertungsbereich nachgewiesen (1.600 KBE/100 ml; PN-Datum 14.09.2015). Drei darauffolgende PN am Ablauf der KA (26.10. und 01.12.2015, 11.01.2016) ergaben einen Befund im grünen Bewertungsbereich bzw. zwei < NG (NG: 82 KBE/100 ml).

Beim letztgenannten PN-Termin wurden auch drei Proben aus dem Gewässer unterhalb der Einleitung der KA Nr. I entnommen. Die Untersuchung auf Legionellen erbrachte einen Befund im grünen Bewertungsbereich und zwei < NG (mit einer Nachweisgrenze von 10 KBE/100 ml).

Grund für die Auswahl der Anlage für die Legionellen-Untersuchungen war die hohe Abwasser-Temperatur und eine hohe organische Fracht (z. T. aus der Lebensmittel- und der Papier-Industrie). Bereits bei früheren Untersuchungen war in einer Ablauf-Probe der KA Nr. I ein erhöhter Legionellen-Befund festgestellt worden (1.700 KBE/100 ml, PN-Datum 25.09.2013). Somit scheint die Anlage zuweilen im Ablauf leicht erhöhte Legionellen-Konzentrationen aufzuweisen; eine andauernde starke Legionellen-Belastung scheint jedoch nicht vorzuliegen.

Anlage Nr. I

Nachdem in der Ablauf-Probe der Anlage Nr. I (Papierfabrik; Messstelle „Ablaufkontrollschacht“) vom 31.08.2015 eine Legionellen-Konzentration im gelben Bewertungsbereich nachgewiesen wurde, erfolgten mehrmals zusätzliche amtliche Probenahmen an bis zu 15 Probenahmestellen auf dem Firmengelände bzw. im Gewässer. Von den 39 zusätzlich zu den Ablauf-Proben auf dem Firmengelände genommenen Proben ergaben 30 Legionellen-Befunde < NG. Die Nachweisgrenzen waren jedoch in der Mehrheit der Fälle sehr hoch (bei 23 Proben > 10.000 KBE/100 ml; 45.000-5.000.000 KBE/100 ml), so dass ein Vorhandensein von Legionellen in entsprechend hohen Konzentrationen zwar nicht ausgeschlossen werden kann, aber eine Aussage über die tatsächliche Legionellen-Belastung anhand der Daten nicht möglich ist. Nachgewiesen wurden Legionellen lediglich in einer Probe der Messstelle „Zulauf Belebungsbecken“, zwei Proben der Messstelle „Ablauf Nachklärbecken“, einer Probe der Messstelle „Ablauf Schönungsteich“ und fünf Proben der Messstelle „Ablauf Belebungsbecken“. Eine Bewertung der Befunde nach Bericht der Expertenkommission Legionellen erfolgte jedoch nur für die Messstelle „Ablauf Schönungsteich“, da die nach dem Bericht empfohlenen technischen Maßnahmenwerte sich nur auf Ablauf-Proben ins Gewässer beziehen. Der Befund der Probe vom 09.11.2015 lag mit 36.000 KBE/100 ml im roten Bewertungsbereich. Die sechs Probenahmen (im Zeitraum 15.09.2015 bis 01.03.2016) an

der Messstelle „Ablaufkontrollschacht“ ergaben hingegen nur noch einen weiteren, leicht erhöhten Befund im gelben Bewertungsbereich. Die Untersuchung der Proben aus dem Gewässer oberhalb und unterhalb der Einleitung der Firma auf Legionellen ergab, bis auf einen leicht erhöhten Befund im gelben Bewertungsbereich in der Probe unterhalb der Einleitung vom 09.11.2015, keine hohen Befunde.

Die nachgewiesenen Legionellen-Konzentrationen in Proben vom Firmengelände zeigen eine hohe Belastung im Bereich „Belebungsbecken“ an; allerdings handelt es dabei um aus Verdünnungen hochgerechnete Befunde und bei Proben aus dem Belebungsbecken muss mit einer möglichen heterogenen Verteilung der Mikroorganismen gerechnet werden. Eine genaue Beurteilung der Legionellen-Belastungssituation der einzelnen Anlagen-Bereiche ist aufgrund der zahlreichen Befunde ohne Nachweis von Legionellen, aber mit hohen Nachweisgrenzen, allerdings nicht möglich. Eine weitere Überprüfung der Legionellen-Konzentration in Ablauf-Proben der Anlage, sowie Maßnahmen zur Minderung der Legionellen-Belastung innerhalb der Anlage scheinen jedoch angezeigt.

5.3.2 Kühlwasser

Neben Abwasser- und Oberflächenwasser-Proben wurden im Rahmen der weiteren Messprogramme auch Kühlwasserproben auf Legionellen untersucht (57 Proben von sieben Anlagen). **Erhöhte Legionellen-Konzentrationen** im roten Bewertungsbereich nach Ampel-Bewertungssystem* LANUV für Kühlwasserproben (*in Anlehnung an VDI 2047 Blatt 2; siehe Kapitel 3) wurden in Proben aus drei Anlagen nachgewiesen.

Bei dem erhöhten Legionellen-Befund in einer Probe der Anlage A (aus einer Verdunstungskühlanlage) handelte es sich um einen Einzelbefund in Höhe von 1.250 KBE/100 ml, der bei zwei darauffolgenden Probenahmen nicht mehr bestätigt wurde.

Bei der Anlage B wurden in allen untersuchten Proben (jeweils 8-10 Probenahmen) dreier Messstellen (Kühlturm-tassen von Naturzugkühltürme > 200 MW Rückkühlleistung) erhöhte Legionellen-Konzentrationen im Bereich von 1.800 bis 7.000, 1.300 bis 26.000 bzw. 570 bis 6.300 KBE/100 ml nachgewiesen. Bei einem Kühlwasserkreislauf wurden im Rahmen von Revisionsarbeiten Maßnahmen zur Reduzierung der Legionellen-Konzentration durchgeführt. Für den Fall eines Biozideinsatzes wird ein mögliches, bedarfsgerechtes Verfahren geprüft.

Bei der Anlage C wurden in sechs von zehn Proben (aus einer Verdunstungskühlanlage) erhöhte Legionellen-Konzentrationen nachgewiesen; zwei im gelben und vier im roten Bewertungsbereich. Der Maximalbefund in Höhe von 16.000 KBE Legionellen/100 ml wurde in der Probe vom 17.11.2015 nachgewiesen; danach war eine Reduzierung bis auf 560 KBE Legionellen/100 ml (PN-Datum 16.12.2015) zu verzeichnen.

Neben den genannten weiteren Kühlwasseruntersuchungen wurden die Kühlwasserkreisläufe eines stahlverarbeitenden Betriebs im Auftrag der zuständigen Bezirksregierung auf Legionellen untersucht. In einem Kühlwasserkreislauf wurde eine stark erhöhte Legionellen-Konzentration nachgewiesen (160.000 KBE/100 ml). Nach Ausführung der getroffenen Sofortmaßnahmen (Abschalten der Lüftung, Absperrung, Entleerung/ Biozidbehandlung/ Reini-

gung der Anlage, wöchentliche Überprüfung) war die amtliche Kontrolluntersuchung unauffällig.

Untersuchungen von Kühlwasser- und Abwasser-Proben auf Legionellen bei einem weiteren Kraftwerk lieferten unauffällige Befunde; nur in einer Probe wurde eine Legionellen-Konzentration von 4.500 KBE/100 ml nachgewiesen. Bei der betreffenden Abwasser-Probe handelte es sich jedoch nicht um einen Ablauf ins Gewässer, so dass die nach dem Bericht der Expertenkommission empfohlenen Maßnahmenwerte für diesen Befund nicht gelten. Bei Kontrolluntersuchungen im Gewässer, oberhalb und unterhalb der Kraftwerkseinleitung, konnten keine erhöhte Legionellen-Konzentration festgestellt werden.

6 Zusammenfassung und weiteres Vorgehen

Legionellen sind Bakterien, die **ubiquitär in der aquatischen Umwelt** vorkommen, wobei sie jedoch nur in geringer Konzentration vorliegen und nur einen untergeordneten Teil der Bakterienpopulation darstellen. Auch im Grundwasser und Trinkwasser sowie im Abwasser können Legionellen nachgewiesen werden. Bisher sind mehr als 50 Legionellen-Arten (Spezies) mit mindestens 70 Serogruppen (Unterscheidung basierend auf Oberflächenstrukturen der Bakterien) beschrieben. In ihrer natürlichen Lebensweise in der Umwelt sind Legionellen intrazelluläre Parasiten von Einzellern, insbesondere Amöben. Sie nutzen diese Wirtszellen zu ihrer Vermehrung. In den Wirtszellen sind Legionellen vor schädlichen Umwelteinflüssen geschützt – insbesondere in den Dauerstadien der Amöben, den sogenannten Zysten.

Unter bestimmten Umständen **können** Legionellen jedoch auch **Menschen infizieren**. Menschen mit einem geschwächten Immunsystem tragen dabei insgesamt ein höheres Erkrankungsrisiko. Hierzu zählen vor allem ältere Menschen, bei denen oft spezifische Grunderkrankungen (wie z. B. Diabetes) vorliegen, aber auch Patienten, die unter immunsuppressiver Therapie stehen. Weitere Risikofaktoren stellen auch Dauermedikation mit Kortikoiden oder exzessiver Nikotin- und Alkoholmissbrauch dar. Bei Legionellen handelt es sich somit um fakultative bzw. opportunistische Krankheitserreger, die nicht in jedem Fall krankmachend (pathogen) wirken, sondern sich die geschwächte Verfassung des Körpers, vor allem des Immunsystems, zunutze machen.

Zu **Erkrankungen des Menschen durch Legionellen (Legionellose)** kommt es hauptsächlich durch **Inhalation Legionellen-haltiger Aerosole aus wasserführenden technischen Systemen**, wie Verdunstungskühlanlagen, Springbrunnen, Duschen, Whirlpools. In solche technischen Anlagen werden Legionellen, meist in geringen Konzentrationen, mit dem Wasser eingetragen und können sich dort bei nicht hygienegerechtem Betrieb stark vermehren. Legionellose gelten somit grundsätzlich als verhütbar, durch Sicherstellung des hygienegerechten Betriebs vorgenannter technischer Systeme.

Das Vorkommen von Legionellen in **Abwasser/ -behandlungsanlagen** als Reservoir oder potentieller Quelle ist in der Literatur beschrieben. Von Legionellose durch Aerosole unmittelbar aus dem Abwasser wurde bisher nur für **wenige Fälle** bei Arbeiten in der Nähe zu Dekantern zum Eindicken von Klärschlamm oder Belebungsbecken von Anlagen mit extrem hoher Legionellen-Belastung des Klärschlammes bzw. des Abwassers berichtet. Bei den im Kontext mit Legionellen-belasteten Abwässern beschriebenen größeren Legionellose-Ausbrüchen stellten industrielle Abwasserbehandlungsanlagen zwar den Ort für die Vermehrung und Quelle für die Verbreitung der Legionellen dar, die (mehr oder weniger) großräumige Ausbreitung erfolgte jedoch durch Aerosol-freisetzende technische Systeme, wie Hochdruckreiniger, Verdunstungskühlanlagen oder Luftwäscher. Insgesamt wurden in der Literatur Erkrankungsfälle durch Legionellen im Zusammenhang mit folgenden **industriellen Abwasserbehandlungsanlagen** beschrieben: Petrochemie, Holzverarbeitung, Lebensmittelverarbeitung, Papier- und Zellstoffindustrie in Frankreich, Skandinavien und USA sowie bei der chemischen bzw. Leder-Industrie in Finnland bzw. Schweden.

Den **Anlass der Untersuchung** von Abwasser- und Oberflächenwasser-Proben auf Legionellen durch das LANUV stellt der Legionellose-Ausbruch in Warstein, Kreis Soest, dar. Im Stadtgebiet von Warstein kam es im August / September 2013 zum Auftreten von insgesamt 159 Erkrankungsfällen durch Legionellen; zahlreiche Personen mussten intensivmedizinisch betreut werden, zwei Personen verstarben. Bei der Aufklärung des Ausbruchsgeschehens konnte der krankheitsverursachende Epidemiestamm in zwei, mehrere Kilometer voneinander entfernten, Verdunstungskühlanlagen unterschiedlicher Betreiber nachgewiesen werden. Darüber hinaus wurde eine ausgedehnte **Kontamination von Abwässern und Fließgewässern** in der Region Warstein mit Legionellen, zum Teil des Epidemiestamms, festgestellt. Das so belastete Flusswasser war ohne Aufbereitung für den Betrieb einer Verdunstungskühlanlage verwendet worden. Das Rohwasser der Anlage enthielt somit bereits eine hohe Konzentration an Legionellen. Die Quelle für die Erkrankungen, konnte nicht eindeutig identifiziert werden.

Zur Klärung der Frage, ob auch bei weiteren Kläranlagen ein besonderes Risiko für das Auftreten hoher Legionellen-Belastungen besteht, war eine erste landesweite Sonderüberprüfung bautechnisch gleicher oder ähnlicher Kläranlagen wie in Warstein bzw. solcher mit Abwassertemperaturen um 25-30 °C veranlasst worden. Neben diesen amtlichen Untersuchungen wurden auch Ergebnisse aus der Selbstüberwachung der Kläranlagenbetreiber ausgewertet. Es zeigte sich zum einen, dass in Nordrhein-Westfalen **kein generelles Legionellenproblem in kommunalen Kläranlagen** besteht und zum anderen, dass scheinbar die Abwasserzusammensetzung und -temperatur von entscheidender Bedeutung für die Vermehrung von Legionellen ist. Die Kläranlage, welche bei dieser Sonderüberprüfung die höchsten Legionellen-Befunde aufwies, behandelt, ebenso wie die Kläranlage Warstein, nährstoffreiches, warmes Brauereiabwasser (Indirekteinleiter). Auf Basis dieser neuen Erkenntnisse wurde eine zweite landesweite Sonderprüfung kommunaler Kläranlagen und Anlagen industrieller Direkt- und Indirekteinleiter mit einem mutmaßlichen Potential für eine starke Vermehrung von Legionellen veranlasst. Als **Risikoplanlagen** wurden solche ausgewählt, die Legionellen wachstumsbegünstigende Bedingungen aufgrund nährstoffreicher Substrate (u. a. hohe Proteingehalte) sowie erhöhter Temperaturen (≥ 23 °C) bieten.

Basierend auf den Untersuchungen dieser zweiten landesweiten Sonderprüfung, bei welcher die ausgewählten Risikoanlagen stichprobenartig untersucht wurden, wurde vom LANUV ein umfangreiches **Messprogramm** geplant und durchgeführt. Ziel des Programms war es durch Messreihen Erkenntnisse zum Vorkommen von Legionellen im Ablauf der untersuchten Anlagen über längere Zeiträume zu generieren. Bei erhöhten Legionellen-Befunden in Ablauf-Proben fanden weitere Probenahmen zur Quellensuche bzw. zur Überprüfung der Legionellen-Konzentration im Gewässer unterhalb der Einleitung statt. (Die Untersuchung von Oberflächenwasser-Proben auf Legionellen stand somit immer im Zusammenhang mit erhöhten Legionellen-Befunden in Ablauf-Proben der untersuchten Anlagen; es wurde nicht flächendeckend in NRW Oberflächengewässer auf Legionellen untersucht.)

Das Messprogramm erbrachte u. a. folgende **Ergebnisse/ Erkenntnisse**:

- Bei 20 % der untersuchten kommunalen KA (4 von 20; 7-18 PN) wurden erhöhte Legionellen-Konzentrationen (≥ 1.000 KBE/100 ml) in Ablauf-Proben festgestellt.
- Nur bei 7 % der KA-Ablauf-Proben wurden erhöhte Legionellen-Konzentrationen nachgewiesen, obwohl die ausgewählten Anlagen als „potentielle Risikoanlagen“ hinsichtlich einer möglichen starken Legionellen-Vermehrung eingeschätzt wurden (proteinhaltiges Abwasser, erhöhte Abwasser-Temperatur). Um das Risikopotential für eine erhöhte Legionellen-Belastung bei kommunalen Kläranlagen besser einschätzen zu können, scheint es sinnvoll die jeweils gegebene Situation genauer zu betrachten, wie
 - Volumenströme (Art und Menge) relevanter Indirekteinleiter,
 - Abwasser-Temperaturen sowie Standzeit in den Anlagen der Indirekteinleiter,
 - Abwasser-Temperaturen im Zulauf und der Belegung der behandelnden KA und
 - Ausbaugröße bzw. Anlagentechnik der behandelnden KA.
- Die zur Quellensuche durchgeführten Untersuchungen von Abwasserproben von Indirekteinleitern ergaben zum Teil hohe bis sehr hohe Legionellen-Befunde (bis zu 98 Mio. KBE/100 ml). Der kulturelle Nachweis von Legionellen ist jedoch, aufgrund der Störanfälligkeit gegenüber anderen in der Probe enthaltenen Mikroorganismen und der damit verbundenen Problematik hoher Nachweisgrenzen bei stark mikrobiell belasteten Proben, zur Quellensuche im Abwasserpfad bei Indirekteinleitern bzw. im Zulauf von kommunalen Kläranlagen nur bedingt geeignet.
- 55 % der untersuchten Anlagen industrieller Direkteinleiter (6 von 11; 9-14 PN) ergaben erhöhte Legionellen-Konzentrationen (≥ 1.000 KBE/100 ml) in Ablauf-Proben.
- Für eine Entwicklung von Maßnahmen zur Minderung von Legionellen-Belastungen wäre ein Vergleich der Anlagentechnik von Betrieben gleicher Branche bzw. mit ähnlicher Abwasserbeschaffenheit mit und ohne Legionellen-Belastung hilfreich.

Für das **weitere Vorgehen** ist eine Fortführung der Überwachung der Anlagen mit erhöhten Legionellen-Befunden geplant. An neun der Anlagen, drei kommunale KA (Nr. 5, 6 und 21) und sechs industrielle Direkteinleiter (Nr. 3, 5, 6, 10, 11, 12), sollen dazu jeweils sechsmal Proben am Ablauf der Anlage in der warmen Jahreszeit genommen werden. Bei der KA Nr. 13 sollen zunächst weiterhin im 14-tägigen Turnus sowohl Ablauf-Proben, als auch Proben an vier weiteren Messstellen (Ablauf Abwasserbehandlung Anlage Indirekteinleiter [Brauerei] und der entsprechende Zulauf zur KA Nr. 13; Gewässer unterhalb der Einleitung der KA Nr. 13 und im weiteren Gewässerverlauf) genommen werden. Der Probenumfang für die Fortführung der Überwachung der bisher auffälligen Anlagen beträgt für 2016 (2. bis einschließlich 4. Quartal) somit etwa 130 Proben.

Außerdem sollen weitere Abwasserbehandlungsanlagen mit einem möglichen Potential für eine starke Vermehrung von Legionellen, aufgrund ggf. günstiger Wachstumsbedingungen (höhere Abwassertemperaturen, nährstoffreiche u. a. proteinhaltige Substrate), zur Aufstellung eines neuen Messprogramms, ermittelt werden. Das Messprogramm soll weitere Erkenntnisse liefern, welche Branchen von einer Legionellen-Belastung des Abwassers betroffen sein könnten. Ausgewählte Anlagen sollen, wie im vorherigen Messprogramm, mittels Messreihen (jeweils 10 Probenahmen am Ablauf der Anlagen) auf eine mögliche Legionellen-Belastung untersucht werden. Ein Probenumfang von etwa 200-250 Ablauf-Proben ist geplant. Sollten stark erhöhte Legionellen-Befunde in Ablauf-Proben festgestellt werden, werden ggf. weitere Probenahmen zur Quellensuche bzw. Überprüfung der Legionellen-Konzentration im Gewässer erforderlich.

Für eine Entwicklung von Maßnahmen zur Minderung von Legionellen-Belastungen soll möglichst ein Vergleich der Verfahrenstechnik von Betrieben gleicher Branche bzw. mit ähnlicher Abwasserbeschaffenheit mit und ohne Legionellen-Belastung erfolgen. In Frage kämen hierfür die im Messprogramm 2015 untersuchten direkteinleitenden Brauereien, da bei zwei der Anlagen erhöhte Legionellen-Befunde festgestellt wurden, bei einer jedoch nicht. Sollte die Fortführung der Überwachung an den beiden Anlagen mit zuvor erhöhten Befunden eine andauernde Legionellen-Belastung ergeben, werden Untersuchungen zum Verfahrensvergleich entsprechend geplant und umgesetzt.

Ferner soll künftig das Methodenspektrum zum Nachweis von *Legionella* spp. erweitert werden, um insbesondere bei Proben mit umfangreicher mikrobieller Begleitflora belastbare Aussagen erzielen zu können. Folgende Methoden werden dazu näher betrachtet:

- Quantitative Polymerase-Kettenreaktion (qPCR)
- Viability PCR (vPCR)
- Fluoreszenz-Mikrokolonie-Hybridisierung (FMH)
- Immunoseparation mit nachfolgender Detektion mittels qPCR und/oder Flowcytometrie zur Differenzierung von „lebenden“ und „toten“ Bakterien

Die quantitative Polymerase-Kettenreaktion (qPCR) als kultivierungsunabhängige Untersuchungsmethode wird als erstes zeitnah eingeführt werden. Diese Methode bietet u. a. den Vorteil auch Proben mit umfangreicher mikrobieller Begleitflora, welche den Nachweis von Legionellen mittels Kultivierung erheblich beeinträchtigt, untersuchen zu können. Sie würde sich deshalb besonders zur Legionellen-Quellensuche im Abwasserpfad bei Indirekteinleitern bzw. im Zulauf und den einzelnen Aufbereitungsstufen von Kläranlagen eignen. Allerdings mit der Einschränkung, dass die Ergebnisse keinen Rückschluss darauf erlauben, ob es sich um vitale, potentiell infektiöse Legionellen handelt (vgl. Kapitel 2.1.3). Wenn auch die Methode somit nicht dafür geeignet ist eine Beurteilung zur hygienischen Relevanz der Daten abzuleiten, so kann sie aber Aufschluss zum Vermehrungsort der Legionellen innerhalb einer Anlage bzw. entlang des Abwasserpfads geben. Ein weiterer Vorteil der Methode, ist die zeitnahe Generierung von Ergebnissen (innerhalb von etwa 24-48 h). Um dauerhaft die Vorteile der molekularbiologischen Methode qPCR zur besseren Beurteilung von Abwasser-, Gewässerbelastungen nutzen zu können, wird zukünftig auch eine Quantifizierung vitaler Legionellen mittels der Viability PCR (vPCR) angestrebt. Diese ermöglicht eine Differenzierung zwischen „toten“ und „lebendigen“ Legionellen. Des Weiteren werden die genannten

Methoden, FMH sowie Immunoseparation, die Aussagefähigkeit zur Thematik „vital, potentiell infektiös“ erweitern.

Zur Anzahl der Proben, die im Rahmen der anstehenden Untersuchungen mittels qPCR untersucht werden soll, kann noch keine Abschätzung angegeben werden, weil diese auch davon abhängig ist, bei wie vielen Anlagen eine Legionellen-Quellensuche aufgrund erhöhter Befunde in Ablauf-Proben der Anlagen erforderlich wird.

7 Literatur

ALLESTAM, G., DE JONG, B., LÅNGMARK, J. (2006): Biological treatment of industrial wastewater: a possible source of *Legionella* infection. In *Legionella State of the Art 30 years after its recognition*. Edited by: Cianciotto, N.P., Abu Kwaik, Y., Edelstein, P.H., Fields, B.S., Geary, D.F., Harrison, T.G., Joseph, C.A., Ratcliff, R.M., Stout, J.E., Swanson, M.S. Washington (DC): ASM Press, 493-496.

BLATNY, J.M., REIF, B.A.P., SKOGAN, G., ANDREASSEN, O., HØIBY, E.A., ASK, E., WAAGEN, V., AANONSEN, D., AABERGE, I.S., CAUGANT, D. (2008): Tracking Airborne *Legionella* and *Legionella pneumophila* at a Biological Treatment Plant. *Environmental Science & Technology* 42, 7360-7367.

BORELLA, P., GUERRIERI, E., MARCHESI, I., BONDI, M., MESSI, P. (2005): Water ecology of *Legionella* and protozoan: environmental and public health perspectives. *Biotechnology Annual Review* 11, 355-380.

BORGEN, K., AABERGE, I., WERNER-JOHANSEN, Ø., GJØSUND, K., STØRSRUD, B., HAUGSTEN, S., NYGARD, K., KROGH, T., HØIBY, E.A., CAUGANT, D.A., KANESTRØM, A., SIMONSEN, Ø., BLYSTAD, H.: A cluster of Legionnaires' disease linked to an industrial plant in southeast Norway, June-July 2008. *Eurosurveillance* Vol. 13, Issue 38, 18 September 2008.

CASATI, S., GIORIA-MARTINONI, A., GAIA, V. (2009): Commercial potting soil as an alternative infection source of *Legionella pneumophila* and other *Legionella* species in Switzerland. *Clinical Microbiology and Infection* 15, 571-575.

CASATI, S., CONZA, L., BRIUN, J., GAIA, V. (2010): Compost facilities as a reservoir of *Legionella pneumophila* and other *Legionella* species. *Clinical Microbiology and Infection* 16, 945-947.

CASTOR, M.L., WAGSTROM, E.A., DANILA, R.N., SMITH, K.E., NAIMI, T.S., BESSER, J.M., PEACOCK, K.A., JUNI, B.A., HUNT, J.M., BARTKUS, J.M., KIRKHORN, S.R., LYNFIELD, R. (2005): An Outbreak of Pontiac Fever with Respiratory Distress among Workers Performing High-Pressure Cleaning at a Sugar-Beet Processing Plant. *The Journal of Infectious Diseases* 191, 1530-1537.

FLIERMANS, C.B., CHERRY, W.B., ORRISON, L.H., SMITH, S.J., TISON, D.L., POPE, D.H. (1981): Ecological Distribution of *Legionella pneumophila*. *Applied and Environmental Microbiology* 41, 9-16.

GREGERSEN, P., GRUNNET, K., ULDUM, S.A., ANDERSEN, B.H., MADSEN, H. (1999): Pontiac fever at a sewage treatment plant in the food industry. *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health* 25 (3): 291-295.

HEIJNSBERGEN, E. VAN, SCHALK, J.A.C., EUSER, S.M., BRANDSEMA, P.S., DEN BOER, J.W., DE RODA HUSMAN, A.M. (2015): Confirmed and Potential Sources of *Legionella* Reviewed. *Environmental Science & Technology* 49 (8), pp. 4797-4815.

HUGHES, M.S., STEELE, T.W. (1994): Occurrence and Distribution of *Legionella* Species in Composted Plant Materials. *Applied and Environmental Microbiology* 60, 2003-2005.

- KUSNETSOV, J., NEUVONEN, L.-K., KORPIO, T., ULDM, S.A., MENTULA, S., PUTUS, T., MINH, N.N.T., MARTIMO, K-P. (2010):** Two Legionnaires' disease cases associated with industrial waste water treatment plants: a case report. *BMC Infectious Diseases* 10:343, pp. 1–8.
- LUND, V., FONAHN, W., PETTERSEN, J.E., CAUGANT, D.A., ASK, E., NYSAETER, Å. (2014):** Detection of *Legionella* by cultivation and quantitative real-time polymerase chain reaction in biological waste water treatment plants in Norway. *Journal of Water and Health* 12 (3) 543-554.
- MAISA, A., BROCKMANN, A., RENKEN, F., LÜCK, C., PLEISCHL, S., EXNER, M., DANIELS-HAARDT, I., JURKE, A. (2015):** Epidemiological investigation and case-control study: a Legionnaires' disease outbreak associated with cooling towers in Warstein, Germany, August-September 2013. *Eurosurveillance Vol. 20, Issue 46, 19 November 2015*.
- MATHIEU, L., ROBINE, E., DELOGE-ABARKAN, M., RITOUX, S., PAULY, D., HARTEMANN, P., ZMIROU-NAVIER, D. (2006):** Legionella Bacteria in Aerosols: Sampling and Analytical Approaches Used during the Legionnaires Disease Outbreak in Pas-de-Calais. *The Journal of Infectious Diseases* 193, 1333-1335.
- MERCANTE, J.W., WINCHELL, J.M. (2015):** Current and Emerging *Legionella* Diagnostics for Laboratory and Outbreak Investigations. *Clinical Microbiology Reviews* 28, 95-133.
- NGUYEN, T.M.N., ILEF, D., JARRAUD, S., ROUIL, L., CAMPESE, C., CHE, D., HAEGHEBAERT, S., GANIAYRE, F., MARCEL, F., ETIENNE, J., DESENCLOS, J.-C. (2006):** A Community-Wide Outbreak of Legionnaires Disease Linked to Industrial Cooling Towers – How Far Can Contaminated Aerosols Spread? *The Journal of Infectious Diseases* 193, 102-111.
- NYGÅRD, K., WERNER-JOHANSEN, Ø., RØNSEN, S., CAUGANT, D.A., SIMONSEN, Ø., KANESTRØM, A., ASK, E., RINGSTAD, J., ØDEGÅRD, R., JENSEN, T., KROGH, T., HØIBY, E.A., RAGNHILDSTVEIT, E., AABERGE, I.S., AAVITSLAND, P. (2008):** An Outbreak of Legionnaires Disease Caused by Long-Distance Spread from an Industrial Air Scubber in Sarpsbor, Norway. *Clinical Infectious Diseases* 46, 61-69.
- OLSEN, J.S., AARSKAUG, T., THRANE, I., POURCEL, C., ASK, E., JOHANSEN, G., WAAGEN, V., BLATNY, J.M. (2010):** Alternative Routes for Dissemination of *Legionella pneumophila* Causing Three Outbreaks in Norway. *Environmental Science & Technology* 44, 8712-8717.
- PRICE, C.T.D., RICHARDS, A.M., VON DWINGELO, J.E., SAMARA, H.A., KWAIK, Y.A. (2014):** Amoeba host-*Legionella* synchronization of amino acid auxotrophy and its role in bacterial adaptation and pathogenic evolution. *Environmental Microbiology* 16, 350-358.
- ROGERS, J., KEEVIL, C.W. (1992):** Immunogold and Fluorescein Immunolabelling of *Legionella pneumophila* within an Aquatic Biofilm Visualized by Using Episcopic Differential Interference Contrast Microscopy. *Applied and Environmental Microbiology* 58, 2326-2330.
- SÖDERBERG, M.A., ROSSIER, O., CIANCOTTO, N.P. (2004):** The Type II Protein Secretion System of *Legionella pneumophila* Promotes Growth at Low Temperatures. *Journal of Bacteriology* 186, 3712-3720.

TEMMERMAN, R., VERVAEREN, H., NOSEDA, B., BOON, N., VERSTRAETE, W. (2006): Necrotrophic Growth of *Legionella pneumophila*. *Applied and Environmental Microbiology* 72, 4323-4328.

WHILEY, H., KEEGAN, A., FALLOWFIELD, H., ROSS, K. (2014): Uncertainties associated with assessing the public health risk from *Legionella*. *Frontiers in Microbiology | Infectious Diseases* Vol. 5, Article 501, 1-8.

WHO (2007): Legionella and the prevention of legionellosis. Chapter 2 Ecology and environmental sources of Legionella. World Health Organization.

8 Gesetze, Verordnungen und technische Regeln

Gesetz zur Verhütung und Bekämpfung von Infektionskrankheiten beim Menschen (Infektionsschutzgesetz - IfSG). Vollzitat: "Infektionsschutzgesetz vom 20. Juli 2000 (BGBl. I S. 1045), das zuletzt durch Artikel 2 Absatz 36 u. Artikel 4 Absatz 21 des Gesetzes vom 7. August 2013 (BGBl. I S. 3154) geändert worden ist".

Verordnung über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch (Trinkwasserverordnung – TrinkwV 2001). Vollzitat: "Trinkwasserverordnung in der Fassung der Bekanntmachung vom 10. März 2016 (BGBl. I S. 459)".

Stellungnahme des Umweltbundesamtes: Legionellen: Aktuelle Fragen zum Vollzug der geänderten Trinkwasserverordnung (TrinkwV). Januar 2011. 5 Seiten.

Empfehlung des Umweltbundesamtes: Empfehlungen für die Durchführung einer Gefährdungsanalyse gemäß Trinkwasserverordnung; Maßnahmen bei Überschreitung des technischen Maßnahmenwertes für Legionellen. 14. Dezember 2012.

Empfehlung des Umweltbundesamtes: Hygieneanforderungen an Bäder und deren Überwachung. Bundesgesundheitsbl 2014 · 57:258–279.

Verordnung über Sicherheit und Gesundheitsschutz bei Tätigkeiten mit Biologischen Arbeitsstoffen (Biostoffverordnung - BioStoffV). Vollzitat: "Biostoffverordnung vom 15. Juli 2013 (BGBl. I S. 2514)".

DIN EN ISO 11731-2:2008-06 Wasserbeschaffenheit; Nachweis und Zählung von Legionellen; Teil 2: Direktes Membranfiltrationsverfahren mit niedriger Bakterienzahl (ISO 11731-2:2004); Deutsche Fassung EN ISO 11731-2:2008 (Water quality; Detection and enumeration of Legionella; Part 2: Direct membrane filtration method for waters with low bacterial counts (ISO 11731-2:2004); German version EN ISO 11731-2:2008). Berlin: Beuth Verlag.

ISO 11731:1998-05 Water quality; Detection and enumeration of *Legionella* (Wasserbeschaffenheit; Nachweis und Zählung von Legionellen). Genf: ISO

Technische Regel für Biologische Arbeitsstoffe 220: Sicherheit und Gesundheit bei Tätigkeiten mit biologischen Arbeitsstoffen in abwassertechnischen Anlagen (TRBA 220). Ausgabe: Dezember 2010; GMBI. Nr. 68-80 vom 6. Dezember 2010, S. 1405-1416.

Technische Regel für Biologische Arbeitsstoffe 466: Einstufung von Prokaryonten (Bacteria und Archaea) in Risikogruppen (TRBA 466). Ausgabe: August 2015; GMBI. Nr. 46-50 vom 25. August 2015, S. 910; 1. Änderung: GMBI. Nr. 23 vom 22.06.2016, S. 455.

VDI 2047 Blatt 2:2015-01 Rückkühlwerke; Sicherstellung des hygienegerechten Betriebs von Verdunstungskühlanlagen (VDI-Kühlturmregeln) (Open recoler systems; Securing hygienically sound operation of evaporative cooling systems (VDI Cooling Tower Code of Practice)). Berlin: Beuth Verlag.

VDI 3679 Blatt 1:2014-07 Nassabscheider; Grundlagen, Abgasreinigung von partikelförmigen Stoffen (Wet separators; Fundamentals, waste gas cleaning of particle collections). Berlin: Beuth Verlag.

VDI 4250 Blatt 2:2015-11 Bioaerosole und biologische Agenzien; Umweltmedizinische Bewertung von Bioaerosol-Immissionen; Risikobeurteilung von legionellenhaltigen Aerosolen (Bioaerosols and biological agents; Environmental health assessment of bioaerosols in ambient air; Risk assessment for aerosols containing *Legionella*). Berlin: Beuth Verlag.