



Mikrobiologische Untersuchung von Trinkwasser

Dr. Gudrun Nagl und DI Erich Ziegelwanger

Gesetzliche Anforderungen



- z Die Anforderungen an die mikrobiologische Beschaffenheit von Trinkwasser sind im österr. Lebensmittelbuch Kapitel B 1 geregelt.
- z Genauere Angaben sind der **Trinkwasser-VO, BGBL II Nr. 304/2001 und Änderung der TWV, BGBL II Nr. 254/2006** zu entnehmen.
- z Die Untersuchungen gliedern sich in eine Routineanalyse und eine Vollanalyse

Zu untersuchende Parameter



Die **Routineanalyse** umfasst folgende Bestimmungen

- z KBE bei 22°C (KBE Kolonienbildende Einheiten)
- z KBE bei 37°C
- z Coliforme
- z *E. coli*
- z *Enterokokken*

bei der **Vollanalyse** werden noch **zusätzlich** bestimmt:

- z *Pseudomonas aeruginosa*
- z *Clostridium perfringens* (einschließlich Sporen)

Zu untersuchende Parameter für NICHT desinfiziertes Trinkwasser

Kriterien mit **Richt-** und Grenzwerten: Stand: TWV Juli 2006

- z **KBE bei 22°C** max **100/ml**
 - z **KBE bei 37°C** max **20/ml**
 - z Coliforme in 100 ml n.n.
 - z *Clostridium perfringens* in 100 ml n.n.
 - z **Parameter**
 - z *E. coli* in 100 ml n.n.
 - z *Enterokokken* in 100 ml n.n.
 - z *Pseudomonas aeruginosa* in 100 ml n.n.
- n.n. nicht nachweisbar

Zu untersuchende Parameter für desinfiziertes Trinkwasser

Kriterien mit **Richt-** und Grenzwerten: Stand: TWV Juli 2006

- z **KBE bei 22°C** max **10/ml**
 - z **KBE bei 37°C** max **10/ml**
 - z Coliforme in 250 ml n.n.
 - z *Clostridium perfringens* in 250 ml n.n.
 - z **Parameter**
 - z *E. coli* in 250 ml n.n.
 - z *Enterokokken* in 250 ml n.n.
 - z *Pseudomonas aeruginosa* in 250 ml n.n.
- n.n. nicht nachweisbar

Vorbereitung der Filtrationsanlage



- z Die Filtrationsanlage wird mit 96% Spiritus benetzt und abflambiert.
- z Nach Auskühlen erfolgt die Befüllung und Filtration.
- z Die Membranfiltration MF erfolgt durch einen Filter aus Cellulosenitrat mit $\text{Ø } 0,45\mu\text{m}$.

Filter- anlage

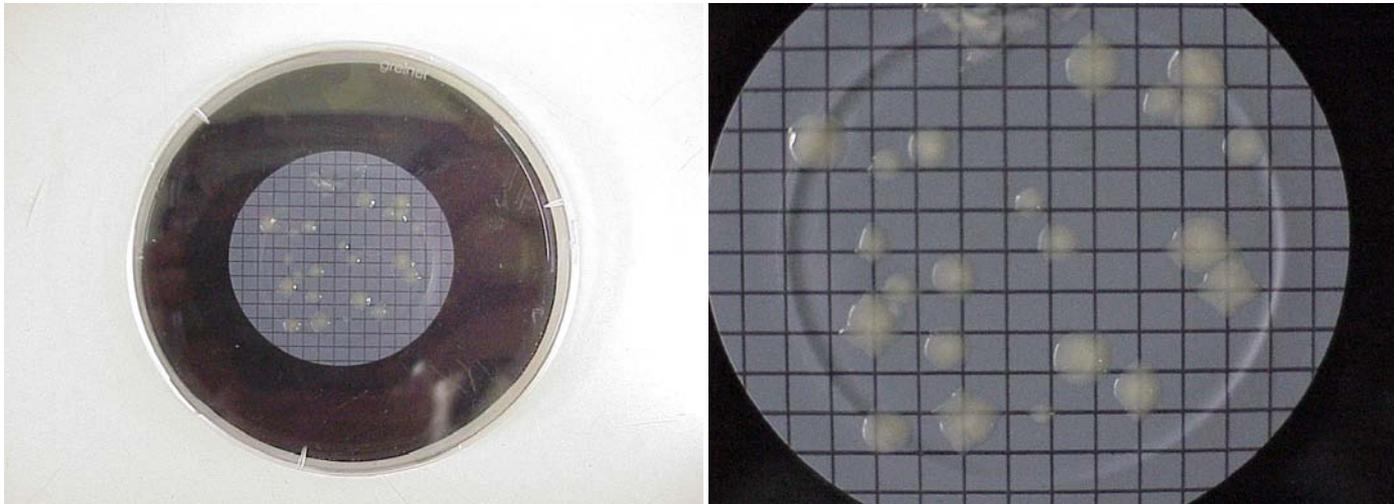


Vorbereiten der Platten



Membranfiltration

Filter werden mit der Gitterseite nach oben auf den verfestigten Nährboden gelegt.



Auflistung der Methoden

Aufgaben - Parameter	Verfahren	Medium / Medien	Bebrütung	Verdünnung	Auswertung
1. KBE 22°C	Koch ÖNORM EN ISO 6222	Hefeextrakt- Agar	22±2°C, 68±4h aerob	V 0 Dreifachbe- stimmung	10-300/Platte alle Kolonien
2. KBE 37°C	Koch ÖNORM EN ISO 6222	Hefeextrakt- Agar	36±2°C, 44±4h aerob	V 0 Dreifachbe- stimmung	10-300/Platte alle Kolonien
3. Coliforme <i>E.coli</i>	MF ÖNORM ISO 9308-1	Lactose TTC- Agar mit Tergitol® 7	36±2°C, 21±3h aerob		30-200/Platte gelb-orange gefärbten Kolonien
4. Coliforme <i>E.coli</i> <i>alternativ</i>	MF alternativ	Chromocult Coliformen Agar	37°C, 22±2h aerob		30-200/Platte Rote und blaue Kolonien = Coliforme; Blaue K. = <i>E. coli</i>
5. Enterokokken	MF ÖNORM ISO 7899-2	Slanetz- Bartley-Agar (SB) (Natriumazid- TTC-Agar	44±4h, 36±2°C aerob		30-200/Platte Rotbraune Kolonien bei SB; Gelbbraune Kolonien mit schwarzer Umgebung - TTC

Weitere Untersuchungen

z Coliforme und *E. coli*: : (ÖNORM ISO 9308-1)

Membranfiltration (Filter mit $\text{\O} 0,45\mu\text{m}$ Cellulosenitrat), auflegen der Filter auf Lactose TTC-Agar mit Tergitol® 7, $36 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ bei $21 \pm 3\text{h}$ bebrüten; ausgezählt werden die gelb-orange gefärbten Kolonien (30-200K/Platte); ev. Bestätigung auf CASO Agar ($21\pm 3\text{h}$, $36\pm 2^\circ\text{C}$) zur Oxidaseprüfung (neg.) und Tryptophan Bouillon ($21\pm 3\text{h}$, $44\pm 0,5^\circ\text{C}$) zur Indolprüfung (bei *E. coli* positiv),

z *Pseudomonas aeruginosa*: ÖNORM EN ISO 12780

Membranfiltration (Filter mit $\text{\O} 0,45\mu\text{m}$), auflegen der Filter auf CN-Agar (Cetrimid-Agar) $44 \pm 4\text{h}$ bei $36 \pm 3^\circ\text{C}$ vor Austrocknung geschützt bebrüten,

gezählt werden die blaugrünen (graue) Kolonien, Bestätigung: UV-Fluoreszenz pos., Oxidase-positiv

Weitere Untersuchungen

Z *Clostridium perfringens* einschließlich Sporen: aktuell nach TWV2006 (ISO CD 6461-2,2003)

Membranfiltration (Filter mit $\text{\O} 0,45\mu\text{m}$), auflegen der Filter **mit Gitterseite nach unten** auf mCP-Agar (TSC-Agar),

21 ± 3 h bei $44 \pm 1^\circ\text{C}$ anaerob bebrüten;

beurteilt werden die dunkelgelben Kolonien, die nach einer Bedampfung mit NH_3OH über 20-30 sec rosa – rot erscheinen;

alternativ dazu sulfitreduzierende Clostridien:

ÖNORM EN ISO 26461-2 MF-Methode

Probenvorbereitung für Sporennachweis: $75 \pm 5^\circ\text{C}$ für 15 min im Wasserbad erhitzen

Membranfiltration (Filter mit $\text{\O} 0,2\mu\text{m}$), auflegen der Filter **mit Gitterseite nach unten** auf DRCM-Agar, 20 ± 4 bzw. 44 ± 4 h bei $37 \pm 2^\circ\text{C}$ anaerob bebrüten (Anaerobiertopf oder Overlay); beurteilt werden die schwarz gefärbten Kolonien

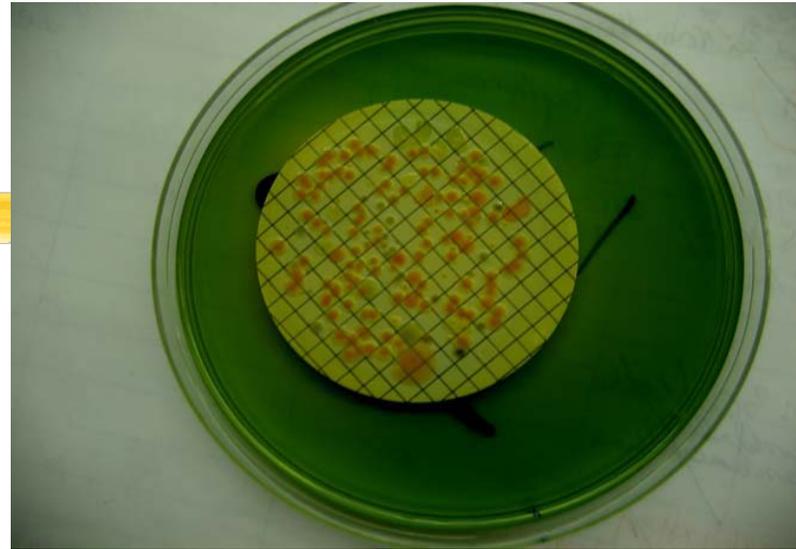
Auswertung - Beispiel

	Ermittelte Werte	Grenz- Richtwerte	bzw. Anmerkung
Gesamtkeimzahl bei 22°C	1800 K/ml	100 K/ml	Sehr erhöht
Gesamtkeimzahl bei 37°C	4 K/ml	20 K/ml	o.k.
Coliforme	22 K/100ml	0 / 100ml	erhöht
<i>E.coli</i>	5 K/100ml.	0 / 100ml	grenzwertig
Enterokokken	0 K/100ml	0 / 100ml	o.k.
Sulfitreduzierende Clostridien	2 K/100ml	0 / 100ml	erhöht

E. coli und Coliforme

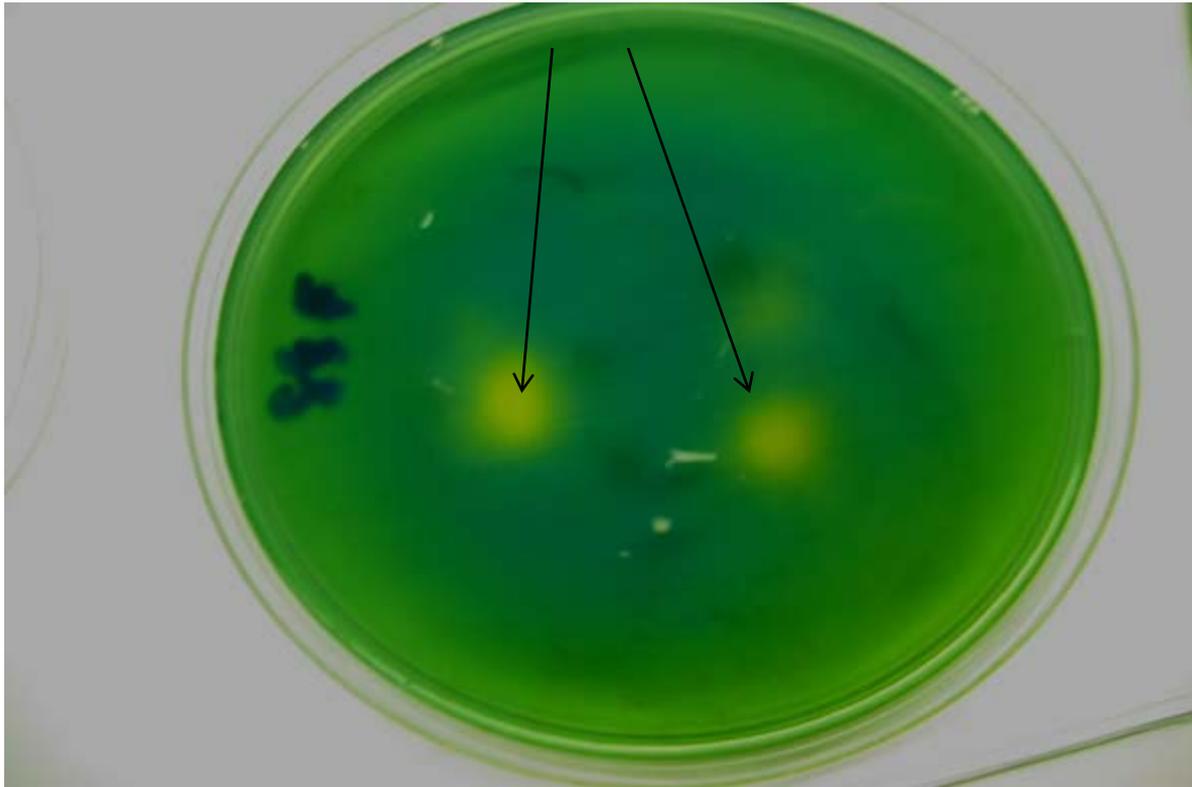
Membranplatte

TTC-Tergitol



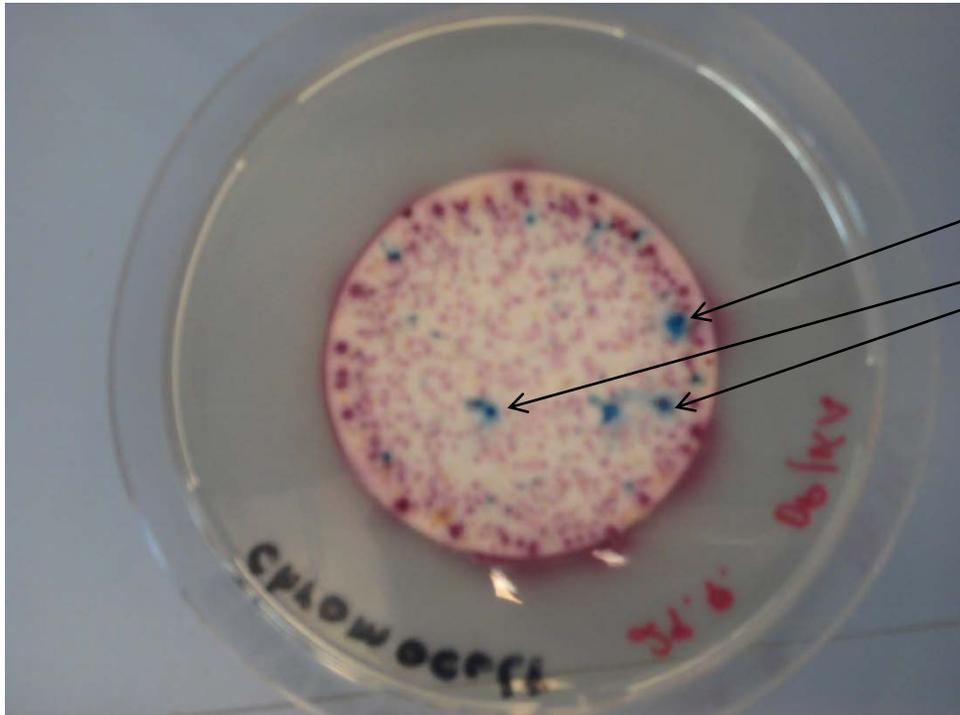
Lactose TTC Agar mit Säurebildung

Säurebildung



Coliforme und *E. coli* auf Chromocult Coliformen Agar

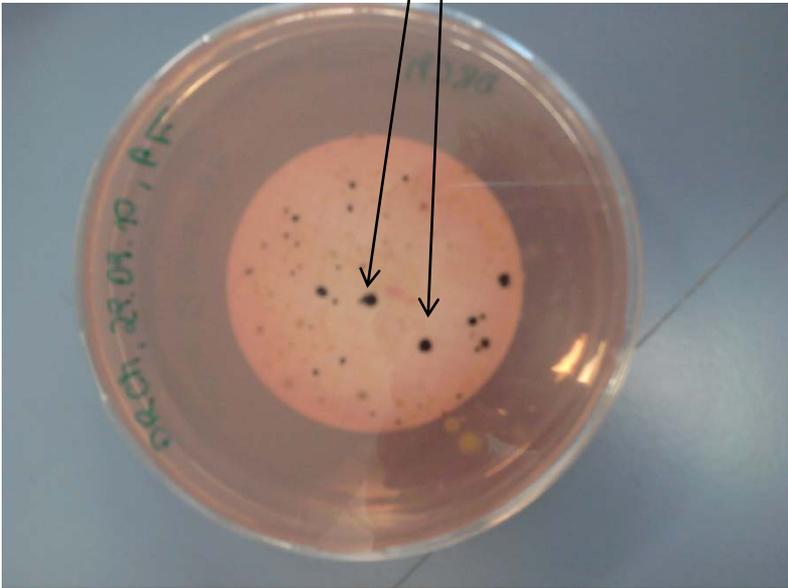
Coliforme: rosa und blaue Kolonien



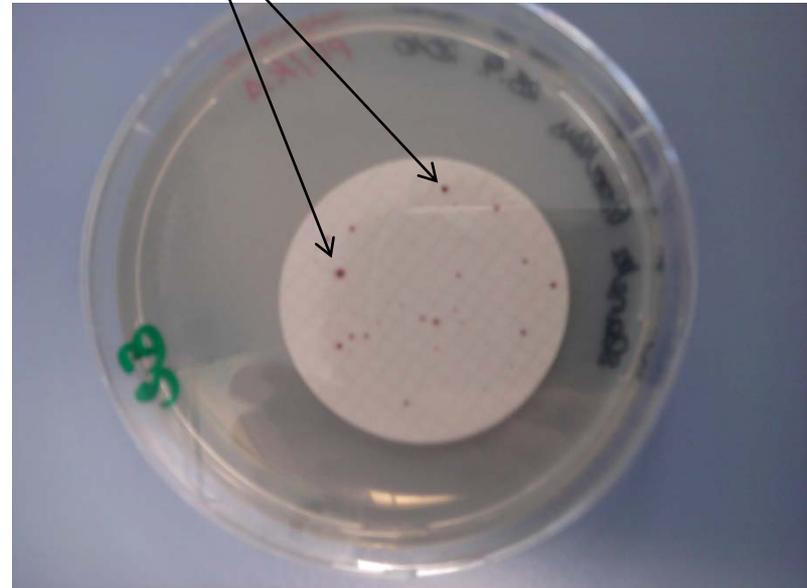
E. coli:

blaue Kolonien

Schwarze
Clostridien auf
DRCM-Agar



Rotbraune Enterokokken
auf Slanetz Bartley
Medieum



Kolonienbildende Einheiten bei 22°C

