

Handreichung zur Probennahme von Rohabwasser für das SARS-CoV-2-Monitoring in ESI-CorA auf Kläranlagen

Diese Anleitung legt das Vorgehen bei der Probennahme von Rohabwasser auf Kläranlagen für die Detektion von SARS-CoV-2-Biomarkern einschließlich der Bestimmung spezifischer Humanmarker fest, die für die Normierung der Messergebnisse von SARS-CoV-2-Virenrückständen erforderlich sind. Sie beinhaltet nicht die Analyse oder Dokumentation weitergehender Begleitparameter (siehe hierzu Dokument „Begleitparameter“). Insbesondere notwendige Wetterdaten werden separat erfasst. Ziel der hier beschriebenen Vorgehensweise ist eine kläranlagenspezifische Probennahme, die die Repräsentativität in Bezug auf die zu ermittelnde Fracht an SARS-CoV-2-Virenrückständen ermöglichen soll.

Bei der Übersendung der ersten Probe ist ein Stammdatenblatt der Kläranlage (Anlage 1) zu übersenden. Jede Probe ist mit einem Probenbegleitschein (Anlage 2) zu versehen. Eine erneute Übersendung des Stammdatenblatts ist notwendig, wenn sich Daten gegenüber den ersten Angaben ändern.

Allgemeines

Bei den Probennahmen innerhalb des Projektes ESI-CorA sind die gleichen Grundsätze zu berücksichtigen, wie diese auch in der geltenden Abwasserverordnung, Anlage 1, vorgesehen sind. Dazu zählen insbesondere:

- Probennahme von Abwasser DIN 38402-11 (A11) (Ausgabe Februar 2009)
- Vorbehandlung, Homogenisierung und Teilung heterogener Wasserproben DIN 38402-30 (A30) (Ausgabe Juli 1998)
- Konservierung und Handhabung von Wasserproben DIN EN ISO 5667-3 (A21) (Ausgabe Juli 2019)

Darüber hinaus gelten die Grundsätze der DIN EN 16479 zur Leistungsanforderung und Konformitätsprüfung von automatischen Probennehmern (Ausgabe September 2012) sowie die DIN EN ISO 5667-16 Probennahme für biologische Testverfahren (Ausgabe März 2016).

Alle relevanten Hygienemaßnahmen, die im Zuge der Probennahme von Rohabwasser auf der jeweiligen Kläranlage notwendig sind, sind zu beachten.

Es wird empfohlen ein Probentagebuch zu führen, in dem auch kläranlageninterne Informationen (z.B. Name des Probennehmers) verzeichnet werden können.

Probennahmestelle

Die Entnahme der Rohabwasserproben ist an einer geeigneten Stelle nach dem Sandfang der Kläranlage durchzuführen. Sollte dies nicht möglich sein, ist die Probennahmestelle unter Bemerkungen im Stammdatenblatt der Kläranlage (Anlage 1) zu beschreiben. Für die Generierung von belastbaren SARS-CoV-2 Monitoringdaten ist es sehr wichtig, die Probennahmestelle, den Zeitraum der Probennahme sowie die Probennahmeart über die gesamte Pilotphase beizubehalten.

Probennahmeverfahren, Umgang mit Proben und Versand

Das Probennahmeverfahren beträgt (maximal) zwei Mal einen Liter Rohabwasser, die jeweils in eine luftdicht verschließbare Ein-Liter-Polyethylenflasche mit geringem Totvolumen (< 10%) abgefüllt und bis zum Probentransfer kühl (5 ± 3 °C) gelagert werden. Ggf. sind geringere Probenvolumen mit den jeweiligen spezifischen Laboren abzustimmen. Die gefüllten Probenflaschen sind bruch- und frostsicher sowie wärme-



und lichtgeschützt zu verstauen und gekühlt ($5 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$) zu transportieren. Es muss gewährleistet werden, dass der Transport zwischen Kläranlage und Labor innerhalb von 24 h erfolgt. Eine der beiden Proben wird gekühlt an das Labor zur SARS-CoV-2-Bestimmung verschickt. Neben der SARS CoV-2-Bestimmung soll das beauftragte Labor auch eine Bestimmung eines Surrogatvirus (CrAssphage oder PMMoV) vornehmen (näheres dazu findet sich in der Handreichung zu den Detektionsverfahren). Die andere Probe wird gekühlt an das Umweltbundesamt zur Untersuchung weiterer Humanmarker verschickt. Die Versendung der Zweitprobe an das Umweltbundesamt ist nur für die 20 Pilotstandorte im Projekt ESI-CorA erforderlich!

Parallel zur Probennahme für das ESI-CorA Projekt soll auch die reguläre Bestimmung der Begleitparameter durch die Kläranlage zeitgleich erfolgen.

Anzuwendende Probennahmetechniken und Messung einfacher Begleitparameter

Innerhalb dieses Projektes ist eine 24 h Mischprobe grundsätzlich zu bevorzugen. Sollte dies im Einzelfall nicht möglich sein, kann das Probennahmefenster auch auf eine 6 – 8 h Mischprobe verkürzt werden. Falls dies ebenfalls nicht möglich ist, kann je nach Ausstattung der Kläranlage eine Stichprobe (Schöpfprobe) genommen werden. Sollten diese Probennahmearten betriebsbedingt nicht möglich sein, ist dies an das Helpdesk zur Klärung mit den Expertinnen und Experten zu melden (Kontakt am Ende der Handreichung).

Es soll bei der Probennahme die Temperatur des Rohabwassers gemessen werden sowie der pH-Wert und die elektrische Leitfähigkeit. Die Daten sind entsprechend im Probenbegleitschein einzutragen (Anlage 2).

- Stichproben (Schöpfproben)

Für die Entnahme von Stichproben von Rohabwasser kann ein Eimer, ein Schöpfer oder eine Weithals-Standardflasche an einem Stil verwendet werden. Es sind mehrere Schöpfvorgänge (mindestens fünf) hintereinander durchzuführen und das Rohabwasser in ein von der Größe her geeignetes Gefäß zu überführen. Die jeweiligen Einzelentnahmen sollen ein Volumen von 500 mL nicht unterschreiten. Das zu entnehmende Gesamtsamtvolumen soll 3 – 5 Liter betragen.

Bei einer qualifizierten Stichprobe sind fünf Probenentnahmen mit immer dem gleichen Abstand von zwei Minuten zu entnehmen. Das zu entnehmende Gesamtvolumen von 5 Liter wird dazu auf 5 x 1 Liter Stichproben aufgeteilt und in einem geeigneten Gefäß gesammelt.

Die Mischprobe wird im Sammelgefäß homogenisiert und in die zwei bereitstehenden Probenflaschen (2 x 1 Liter) so überführt, dass keine Außen-Kontamination des Gefäßes erfolgt und die Probenflasche vollständig gefüllt ist. Dazu eignet sich ein großer Trichter. Sollte es dennoch zu einer Außen-Kontamination kommen, ist die Probenflasche nach Verschließen zu reinigen und zu desinfizieren. Die Befüllung erfolgt schrittweise (je 100 – 200 mL) abwechselnd in die beiden Flaschen.

Bei einer qualifizierten Stichprobe sind fünf Probenentnahmen mit immer dem gleichen Abstand von zwei Minuten zu entnehmen. Das zu entnehmende Gesamtvolumen von 5 Liter wird dazu auf 5 x 1 Liter Stichproben aufgeteilt und in einem geeigneten Gefäß gesammelt.

Die Probenflaschen werden mittels Aufkleber mit folgenden Angaben versehen:

- Name der Kläranlage
- Probenidentifikationsnummer der Kläranlage
- Datum und Uhrzeit der Probenabfüllung
- Art der Probennahme (Stichprobe/ qualifizierte Stichprobe)
- Adressat: (SARS-CoV-2-Labor/ Zweitprobe der 20 Pilotstandorte an Umweltbundesamt¹)

¹ Alexander Kerndorff, Umweltbundesamt, Corrensplatz 1, 14195 Berlin



Zu jeder Probe wird zusätzlich ein Probenbegleitschein (siehe Anlage 2) ausgefüllt und der Probenflasche beigelegt.

Es erfolgen zwei Probennahmen pro Woche. Die Versendung der Proben soll jeweils am Dienstag und Donnerstag stattfinden. Die Probennahme soll im Tagesverlauf so erfolgen, dass mit der höchsten Fäkalfracht (Morgentoilette) bei Trockenwetterlagen gerechnet werden kann. Zu diesem Zeitpunkt wird dann auch bei allen anderen Wetterbedingungen (Niederschlagswetter) beprobt.

- **24 h Mischprobe**

24 h Mischproben werden mit automatisierten Probennehmern durchgeführt. Der Probennehmer soll eine Isolierung haben oder gekühlt werden können ($5 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$). Es erfolgen mindestens zwei Probennahmen pro Woche mit einer Entnahme von Mischproben jeweils von Montag auf Dienstag und von Mittwoch auf Donnerstag. Die Beprobung kann zeit- oder volumenproportional erfolgen, was entsprechend vermerkt werden sollte. Nach Ende der Probennahme erfolgt die Herstellung einer Mischprobe (jeweils Dienstag und Donnerstag) entweder aus den Einzelgefäßen des Probensammlers, die in ein von der Größe her geeignetes Gefäß überführt werden oder direkt in dem Probensammler (Sammlung in einem Gefäß). Das Probenvolumen der 24 h-Mischprobe soll mindestens 3 – 5 Liter betragen.

Die Mischprobe wird homogenisiert und in die zwei bereitstehenden Probenflaschen (2 x 1 Liter) so überführt, dass keine Außen-Kontamination des Gefäßes erfolgt. Dazu eignet sich ein großer Trichter. Sollte es dennoch zu einer Außen-Kontamination kommen, ist die Probenflasche nach Verschließen zu reinigen und zu desinfizieren. Die Befüllung erfolgt schrittweise (100 – 200 mL) abwechselnd in die beiden Flaschen.

Die Probenflaschen werden mittels Aufkleber mit folgenden Angaben versehen:

- Name der Kläranlage
- Probenidentifikationsnummer der Kläranlage
- Datum und Uhrzeit der Probenabfüllung
- Art der Probennahme (zeit-/ volumenproportional)
- Adressat (SARS-CoV-2-Labor/ Zweitprobe der 20 Pilotstandorte an Umweltbundesamt¹)

Zu jeder Probe wird außerdem ein Probenbegleitschein (Anlage 2) ausgefüllt und der Probenflasche beigelegt.

Kontakt zum Helpdesk ESI-CorA
am Karlsruher Institut für Technologie (KIT)

Telefon: 0721 608 23130

E-Mail: helpdesk-esicora@ptka.kit.edu

Die Handreichung wurde erstellt durch die Mitglieder des Begleitkreises von ESI-CorA:

Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Robert Koch-Institut (RKI),
Technische Universität Darmstadt (TU Da), Umweltbundesamt (UBA),
Projekte des Bundesministeriums für Bildung und Forschung (BMBF):

Biomarker – www.cee.ed.tum.de/sw/forschung/mikrobielle-systeme/biomarker/

CoroMoni – <https://de.dwa.de/de/coromoni.html>

CovidReady – www.covidready.de

Sars-GenASeq – www.iwar.tu-darmstadt.de/abwasser

Der Inhalt dieser Handreichung gibt nur die Meinung der Autoren wieder. Die Europäische Kommission ist nicht verantwortlich für die Verwendung der in dieser Handreichung enthaltenen Informationen.

Stand: Februar 2023



Stammdatenblatt

SARS-CoV-2 – Probennahme - kommunales Rohabwasser

Stammdaten (bitte einmalig ausfüllen und mit der ersten Probe übersenden oder wenn sich Daten ändern)

Kläranlage/ Adresse:.....

.....

.....

Kontaktperson Name:.....

Telefon:.....

E-Mail:.....

Angeschlossene Einwohner:

Ausbaugröße:.....

Trockenwetterabfluss:.....

Mischwasseranteil:.....

Fremdwasseranteil:.....

Wasservolumen Indirekteinleiter (kontinuierlich/ diskontinuierlich):

.....

Probennahmestelle (Zulauf, nach Sandfang):.....

Schöpfgerät (Typ):.....

Automatischer Probennehmer (Typ):.....

.....(z.B. Firma, Serie)

Mischproben Typ:.....(volumen-/ zeitproportional)

Volumen/ Intervall Teilproben:.....(z.B. 30 mL/1000 m³ oder 15 mL/5min)

Bemerkungen:.....

.....



Anlage 2: Probenbegleitschein für jede Einzelprobe

(bitte für jede Probe ausfüllen)

Name der Kläranlage:.....
Probennahme Datum (tt/mm/jj):.....
Kläranlagenspezifische Probenidentifikationsnummer:.....
Probennahme (Anfangs- und End-)Zeitpunkt (hh:mm):.....
Gesamt-Volumen (Liter) der Mischprobe vor Abfüllung (geschätzt):.....
Temperatur des Rohabwassers (Grad Celsius):.....
Leitfähigkeit des Rohabwassers ($\mu\text{S}/\text{cm}$):.....
pH-Wert des Rohabwassers:.....
Volumenstrom für den Zeitraum der Probennahme (m^3/d):.....
Probenversand Datum/ Uhrzeit:.....(z.B. Kurierdienst)
Adresse des Empfängers:.....
.....
.....
.....

