

Technischer Leitfaden Teil 1 zur SARS-CoV-2 Abwassersurveillance – Probenahme von Abwasser

Der vorliegende Technische Leitfaden ist ein Teil von vier Arbeitsdokumenten. Die Arbeitsdokumente stehen fachlich – technisch in engem Zusammenhang und sind gemeinsam zu betrachten:

- Technischer Leitfaden Teil 1 zur SARS-CoV-2 Abwassersurveillance
– Probenahme von Abwasser
- Technischer Leitfaden Teil 2 zur SARS-CoV-2 Abwassersurveillance
– Molekularbiologische Analytik
- Technischer Leitfaden Teil 3 zur SARS-CoV-2 Abwassersurveillance
– Probenlogistik und Datenübermittlung
- Technischer Leitfaden Teil 4 zur SARS-CoV-2 Abwassersurveillance
– Datenverarbeitung

Dieser Leitfaden vermittelt die Grundlagen für das Vorgehen bei der Probennahme von Rohabwasser auf Kläranlagen für die Analytik auf SARS-CoV-2-Gensequenzen. Mit der hier beschriebenen Vorgehensweise soll eine einheitlich-repräsentative Probennahme in Bezug auf die zu ermittelnden SARS-CoV-2-Genfragmente ermöglicht werden. Ebenso werden für die Normalisierung der SARS-CoV-2-Rohdaten notwendige Informationen aufgelistet, die kontinuierlich mit der jeweiligen Probe und für die jeweilige Kläranlage zu übermitteln sind. Der Prozess der Datenübermittlung ist im Detail im Technischen Leitfaden Teil 3 – Probenlogistik und Datenübermittlung beschrieben.

Der Leitfaden beschreibt folgende Bereiche:

- 1. Allgemeine Hinweise**
- 2. Probennahmestelle**
- 3. Probennahmetechniken**
- 4. Homogenisierung der Mischproben, Abfüllung und Probenvolumen**
- 5. Probenversand/ -transport**
- 6. Zu erfassende Parameter**

Generell müssen die verschiedenen Arbeitsschritte von geschultem und qualifiziertem Personal durchgeführt werden.

1. Allgemeine Hinweise

Abwasser ist in der Regel mit pathogenen Mikroorganismen und Viren kontaminiert. Es gelten die entsprechenden Arbeitsschutzbestimmungen und -richtlinien. Alle relevanten Hygienemaßnahmen, die im Zuge der Probennahme von Rohabwasser auf der jeweiligen Kläranlage notwendig sind, sind zu beachten.

Die Probenahmen im Zuge des SARS-CoV-2-Monitorings sind grundsätzlich in Analogie zu den geltenden Bestimmungen der Abwasserverordnung vorzunehmen. Dazu zählt insbesondere die Berücksichtigung folgender Normen:

- 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).

2. Probennahmestelle

Die Entnahme der Rohabwasserproben ist an einer geeigneten Stelle, möglichst nach dem Sandfang der Kläranlage durchzuführen. Die Proben sollte zudem bevorzugt an Stellen entnommen werden, die vor der Zugabe von Chemikalien, wie Fällmitteln, oder der Vermischung von weiteren Abfallströmen in der Kläranlage liegen. Sollte dies nicht möglich sein, ist die Probennahmestelle bei der Übermittlung der Stammdaten der Kläranlagen zu übermitteln (siehe Technischen Leitfaden Teil 3 – Probenlogistik und Datenübermittlung).

Für die Dauer der Teilnahme am SARS-CoV-2-Monitoring ist es wichtig, die Probennahmestelle und den Zeitraum der Probennahme nicht zu verändern.

3. Probennahmetechniken

Die Beprobung von Rohabwasser im Zulauf von Kläranlagen ist zweimal wöchentlich als 24h-Mischprobe mit einem automatischen Probenehmer durchzuführen. Anforderungen zum Gerät sind in Anlage „Leistungsbeschreibung Probenehmer“ erläutert.

Beprobung mit Mischprobenehmer

Mischproben werden mit automatisierten Probennehmern über einen Zeitraum von 24 h durchgeführt. Der Probenehmer soll gekühlt / temperiert werden können (5 ± 3 °C). Die Beprobung kann zeit- oder volumenproportional erfolgen. Dies ist bei der Übermittlung der Monitoringdaten zu vermerken (siehe Technischen Leitfaden Teil 3 – Probenlogistik und Datenübermittlung). Das Probenvolumen der 24 h-Mischprobe soll mindestens 3 – 5 Liter betragen. Am Ende des Probennahmezeitraumes erfolgt die Abfüllung der Feldprobe aus den Einzelproben des Probensammlers in ein geeignetes Gefäß (Sammlung in Einzelgefäßen) oder direkt aus dem Probensammler (Sammlung in einem Gefäß).

Probennahmezeiten

Es erfolgen mindestens zwei Probennahmen pro Woche. Diese sollen jeweils Montag und Mittwoch beginnen und dementsprechend Dienstag und Donnerstag dem Probenehmer entnommen werden. Die Zeiten der Probennahme sollen über den gesamten Untersuchungszeitraum nicht verändert und in den Monitoringdaten angegeben werden (siehe Technischen Leitfaden Teil 3 – Probenlogistik und Datenübermittlung).

4. Homogenisierung der Mischproben, Abfüllung und Probenvolumen

Das Volumen der für die SARS-CoV2-Analytik zu verschickender Probe umfasst 1 Liter Rohabwasser. Vor Abfüllung in das Transportgefäß wird die Mischprobe homogenisiert und in die bereitstehende Probenflasche (1 Liter) so überführt, dass keine Außenkontamination des Gefäßes erfolgt. Sollte es dennoch zu einer Außenkontamination kommen, ist die Probenflasche nach Verschließen zu reinigen und zu desinfizieren.

5. Probenversand/ -transport

Die Probenflaschen werden mittels Aufkleber mit folgenden Angaben an das jeweilige PCR Analysenlabor versehen:

- Name der Kläranlage
- Probenidentifikationsnummer der Kläranlage
- Datum und Uhrzeit der Probenabfüllung
(die meisten Labore bevorzugen die Angabe des Endes der Probenahme)



Die Daten werden parallel digital als Monitoringdaten übermittelt (siehe Technischen Leitfaden Teil 3 – Probenlogistik und Datenübermittlung).

6. Zu erfassende Parameter

Zur Normalisierung und Qualitätssicherung der SARS-CoV-2-Rohdaten ist es bei jeder Probenahme notwendig, kläranlagenspezifische Messwerte verschiedener Parameter zu erfassen. Für die entnommene Abwasserprobe sollen folgende Daten erfasst werden:

- Abfluss zum Zeitpunkt der Probenahme (mittlerer Abwasserdurchfluss, Volumenstrom)
- Leitfähigkeit
- Temperatur
- pH-Wert
- Optional: Abfiltrierbare Stoffe

Diese werden mit den Monitoringdaten übermittelt (siehe Technischen Leitfaden Teil 3 – Probenlogistik und Datenübermittlung).

Kontakt	Umweltbundesamt, sarscov2@uba.de Robert Koch-Institut, abwassersurveillance@rki.de	
Finanzierung	Das BMG fördert das Abwassermonitoring bis Ende 2024 im Rahmen des Vorhabens "Abwassermonitoring für die epidemiologische Lagebewertung (AMELAG)"	
	Der technische Leitfaden bezieht Informationen/Erkenntnisse ein, die im Rahmen des Projekts ESI-CorA erarbeitet wurden. ESI-CorA wurde von der Europäischen Kommission im Rahmen des Soforthilfeinstruments (Emergency Support Instrument – ESI) gefördert (No 060701/2021/864650/SUB/ENV.C2).	
Weitergehende Literatur	<ul style="list-style-type: none"> • Handreichung zur Probenahme, ESI-CorA Dokument • Anlage – Leistungsbeschreibung des Probenehmers • Norm ISO/WD 7014:2022 "SARS-CoV-2 in wastewater" 	