

**Gefördert durch:**





## Mikrobiologische Trinkwasserqualität in der Wasserverteilung bei veränderten Temperaturen aufgrund des Klimawandels

**Susanne Grobe<sup>1</sup> und Jost Wingender<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>IWW Zentrum Wasser, Bereich Angewandte Mikrobiologie, Moritzstrasse 26, 45476 Mülheim a. d. Ruhr, Deutschland, [s.grobe@iww-online.de](mailto:s.grobe@iww-online.de); <sup>2</sup>Biofilm Centre, Aquatische Mikrobiologie, Fakultät für Chemie, Universität Duisburg-Essen, Universitätsstrasse 5, 45141 Essen Deutschland, [jost.wingender@uni-due.de](mailto:jost.wingender@uni-due.de)

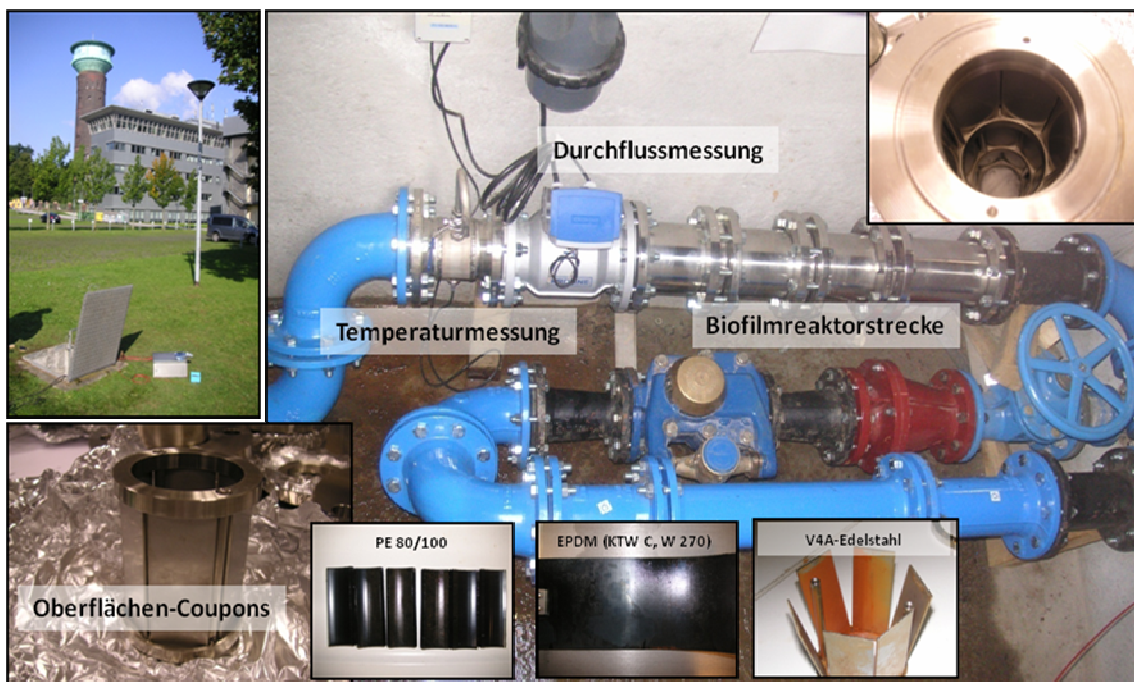
**Aufgrund des Klimawandels kann es zu einer Erwärmung der oberen Bodenzonen und indirekt dadurch auch zu einer Beeinflussung der Trinkwassertemperatur im Verteilungsnetz kommen. Es ist bekannt, dass dies unter Umständen zu mikrobiologischen Veränderungen in Form einer Aufkeimung (Erhöhung der Koloniezahlen) führen kann. Ob dies jedoch auch auf ein erhöhtes Risiko der Einistung, des Verbleibs oder sogar der Vermehrung hygienisch relevanter Bakterien zutrifft, wird im Rahmen des vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) geförderten Projekts *dynaklim* ([www.dynaklim.de](http://www.dynaklim.de)) am IWW in Kooperation mit der Universität Duisburg-Essen in Feld- und Laborversuchen untersucht.**

Trinkwasser ist nicht steril und enthält immer Bakterien. In Trinkwassersystemen sind etwa 95 % der gesamten Biomasse an den Innenoberflächen von Rohrleitungen in Form von Biofilmen lokalisiert und nur 5 % befinden sich in der Wasserphase. Trinkwasserbiofilme enthalten hauptsächlich natürliche Mikroorganismen aus der Umwelt ohne gesundheitliche Bedeutung für den Menschen (Band 36 IWW Schriftenreihe, 2002). Allerdings können Biofilme vorübergehend oder auch längerfristig hygienisch relevante Mikroorganismen beherbergen, darunter coliforme Bakterien fäkaler Herkunft und fakultativ pathogene Umweltbakterien wie z. B. *Pseudomonas aeruginosa* (Grobe et al., 2010; Wingender, 2011). Diese Organismen können aus den Biofilmen in die Wasserphase frei gesetzt werden und dann eine Kontaminationsquelle im Trinkwassernetz darstellen.

In aquatischen Systemen ist die Wassertemperatur ein wichtiger Umweltfaktor, der das Überleben und das Wachstum von Bakterien bestimmt. Unter Kaltwasserbedingungen bei geringen Nährstoffgehalten, wie sie üblicherweise in Trinkwasserverteilungssystemen vorherrschen, werden die mikrobiologisch-hygienischen Anforderungen der Trinkwasserverordnung (TrinkwV) in der Regel eingehalten.

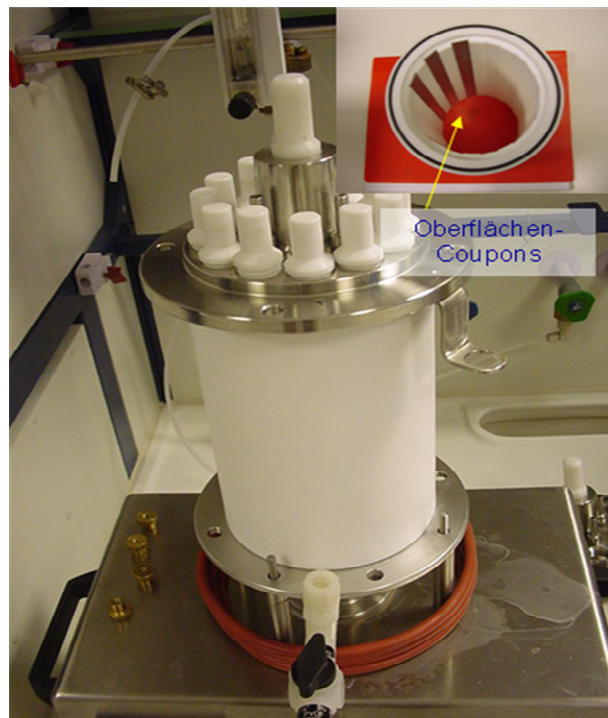
Es gibt aber einige Hinweise, dass erhöhte Trinkwassertemperaturen zum Vorkommen hygienisch relevanter Bakterien beitragen können. In den USA, Kanada, und Frankreich wurden in Trinkwasserverteilungssystemen erhöhte Befundhäufigkeiten von coliformen Bakterien ab einer Temperatur von 15 °C festgestellt. Die temperaturbedingten Vorgänge, die zur Persistenz und Vermehrung von hygienisch relevanten Bakterien unter Bedingungen realer Trinkwasserverteilungssysteme führen, sind jedoch noch unbekannt und sollen im Projekt *dynaklim* näher beleuchtet werden.

Ziel ist es, die trinkwasserhygienischen Auswirkungen einer stärkeren Erwärmung der oberen Bodenzone und der damit verbundenen Erwärmung von Trinkwasser-verteilungsnetzen zu untersuchen. Ob damit eine verstärkte Aufkeimung (Erhöhung der Koloniezahlen) bis hin zu einer Vermehrung von hygienisch relevanten Mikroorganismen sowohl in der Wasserphase als auch in Biofilmen zu beobachten ist, wird in Feldversuchen (Abbildung 1) in einem realen Trinkwasserverteilungssystem sowie begleitend auch in Laborversuchen untersucht.



**Abbildung 1: Mikrobiologisch-hygienisches Monitoring im Feldversuch (Quelle: IWW)**

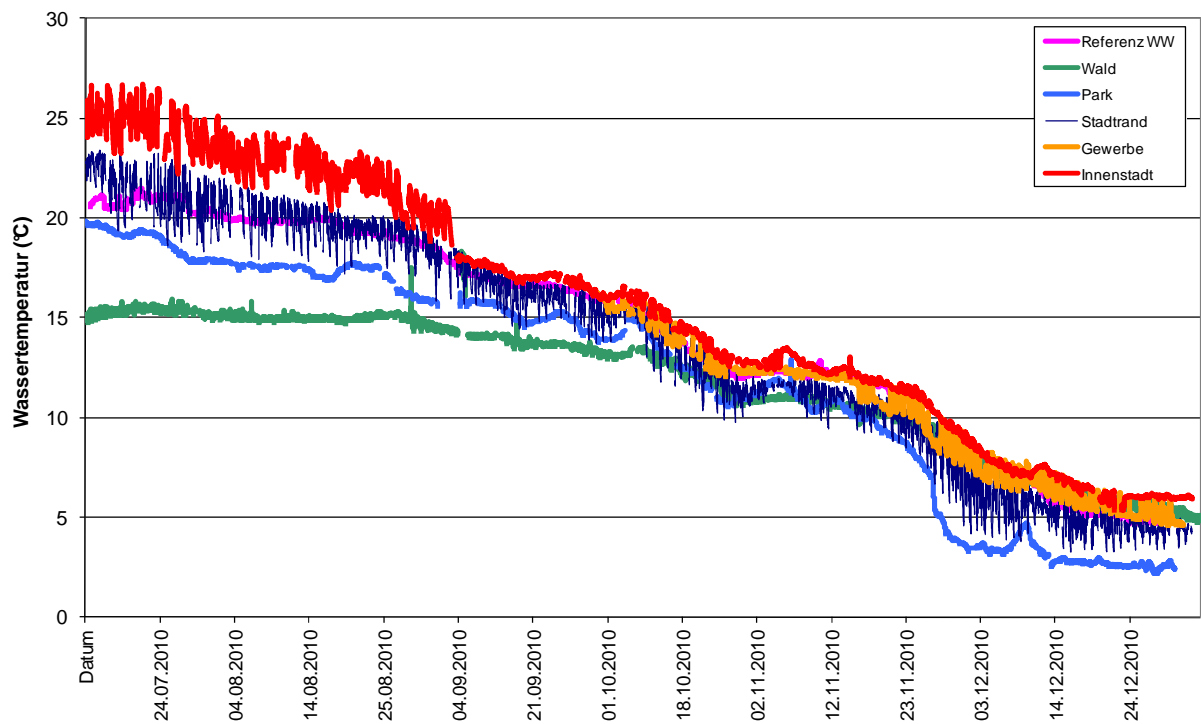
Die Versuche erfolgen an Biofilmreaktorstrecken im Rohrnetz bzw. in temperierten Durchflussreaktoren im Labor (Abbildung 2) unter Verwendung der Werkstoffe Ethylen-Propylen-Dien-Monomer (EPDM), Polyethylen (PE) und Edelstahl als Aufwuchsoberflächen.



**Abbildung 2: Laboruntersuchung zur Einnistung, Persistenz und Vermehrung hygienisch relevanter Mikroorganismen mit Hilfe eines temperierbaren Biofilmreaktors (Quelle: IWW)**

Sowohl in den Feld- als auch in den Laborversuchen werden zusätzlich zu den konventionellen Kulturverfahren weitergehende Untersuchungen des Wassers und der Biofilme mit kultivierungsunabhängigen molekularbiologischen Methoden wie der Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) durchgeführt. Damit lassen sich unter Umständen auch solche Bakterien erkennen, die mit den üblichen Kulturmethode nicht nachweisbar sind, aber noch leben. Der Nachweis von Bakterien in diesem so genannten „viable but nonculturable“ (VBNC)-Zustand ist von hygienischer Bedeutung, da die Bakterien unter geeigneten Umweltbedingungen wie z. B. günstiger Wassertemperatur wieder kultivierbar und im Fall von Pathogenen infektiös werden können.

In Zusammenarbeit mit der Angewandten Klimatologie und Landschaftsökologie der Universität Duisburg-Essen und dem Kooperationspartner RWW (Rheinisch-Westfälische Wasserwerksgesellschaft mbH) wurden acht Standorte in einem Trinkwassernetz ausgewählt und an allen Standorten ein bodenklimatisches und trinkwasserhygienisches Messnetz installiert. Tatsächlich wurde eindeutig ein Einfluss der Bodentemperatur sowie der Durchflussmenge auf die Temperatur des Trinkwassers im Netz festgestellt. Der jahreszeitliche Temperaturverlauf im Trinkwassernetz ist in Abbildung 3 dargestellt. Die Schwankungen im Trinkwassernetz betragen hier bis zu 10°C.



**Abbildung 3: Temperaturentwicklung im Trinkwasser an ausgewählten Standorten in einem Trinkwasserverteilungssystem im Zeitraum Juli 2010 bis Januar 2011**

Die im Zeitraum Juli 2010 bis September 2011 jeweils in den Jahreszeiten Sommer, Herbst und Winter gewonnenen mikrobiologischen Daten des Trinkwassers zeigten bezüglich der nach TrinkwV festgelegten Parameter keine temperaturabhängige Verschlechterung der mikrobiologischen Befunde (Tabelle 1). Die Koloniezahlen nach TrinkwV lagen durchweg im einstelligen und niedrigen zweistelligen Bereich. Zwar wurden in Einzelfällen hygienisch relevante Mikroorganismen in geringer Konzentration im Trinkwasser detektiert, doch durchgeführte Nachproben wiesen immer negative Befunde auf. Ein gehäuftes Auftreten hygienisch relevanter Mikroorganismen durch Temperaturerhöhung im Trinkwasser war nicht vorhanden. Stattdessen wurde Temperaturunabhängig ein mikrobiologisch stabiles Trinkwasser nachgewiesen. Die Situation im Trinkwasserbiofilm stellte sich wie folgt dar.

Die Belegung der Oberflächen nahm leicht mit zunehmender Trinkwassertemperatur zu. Die Belegung war zudem Materialabhängig. Zusätzlich wurden in einigen Fällen hygienisch relevante Mikroorganismen in geringer Konzentration detektiert, wobei die Befundhäufigkeit Speziesunabhängig in Abhängigkeit vom eingesetzten Prüfmaterial war (EPDM > PE > Edelstahl).

Auffallend war eine leichte Zunahme der Befundhäufigkeit von coliformen Bakterien bei erhöhten Temperaturen (Sommer > Herbst > Winter; Tabelle 1).

**Tabelle 1: Auswirkung einer Temperaturerhöhung auf die mikrobiologisch-hygienische Qualität des Trinkwassers bzw. Biofilms in einem Trinkwasserverteilungssystem**

	Auswirkung einer Temperaturerhöhung	
	Trinkwasser	Biofilm
Koloniezahl 20°C nach TrinkwV	→	↗
Koloniezahl 36°C nach TrinkwV	→	↗
Gesamtzellzahl	→	↗
<i>E. coli</i>	→	→
Coliforme Bakterien	→	↗
<i>P. aeruginosa</i>	→	→
<i>Legionella spec.</i>	→	→

kein Einfluss →  
geringfügiger Einfluss ↗

Zusätzlich werden parallel die Resultate der Feldversuche durch Laborversuche mittels eines temperierbaren Reaktorsystems untersucht. Dabei werden Temperaturbereiche von 6 °C bis 29 °C berücksichtigt. Bei den Testorganismen handelt es sich um den Fäkalindikator *Escherichia coli*, das coliforme Bakterium *Klebsiella pneumoniae* und die fakultativ pathogenen Umweltbakterien *P. aeruginosa* und *Legionella pneumophila*. Diese Organismen werden in etablierte Trinkwasserbiofilme eingestrichelt und ihr Verbleib im Biofilm sowie die Kontamination der Wasserphase danach über mehrere Wochen verfolgt.

Erste Ergebnisse weisen dabei auf die Möglichkeit der Persistenz solcher Mikroorganismen hin. Zusätzlich scheint eine Vermehrung bei extrem für sie ungünstigen Situationen (Temperatur, Nährstoffgehalt) dabei nicht vollständig ausgeschlossen zu sein. Beispielhaft wurde für *K. pneumoniae* gezeigt, dass sich das Bakterium sowohl unter nährstoffarmen als auch –reichen Bedingungen Temperatur-unabhängig in den Trinkwasserbiofilm einnisten konnte. Unter Verwendung der üblichen kulturabhängigen Verfahren war eine dauerhafte Persistenz nur bei Nährstoffzugabe bis zum Ende des Versuches erkennbar. Unter nährstoffarmen Bedingungen ließ sich das coliforme Bakterium nur bis maximal zwei Wochen nach Animpfen nachweisen.

Eine Vermehrung von *K. pneumoniae* fand nur in Anwesenheit von Nährstoffen und Temperaturen über 27°C statt. Dabei wurden mittels FISH (siehe Informationsblock Fluoreszenz- in situ-Hybridisierung) Nährstoff- und Temperatur-unabhängig nicht nur länger hygienisch relevante Bakterien nachgewiesen, sondern auch im Vergleich zu den Kulturverfahren in deutlich höheren Konzentrationen, teilweise um mehrere Zehnerpotenzen. Eine hygienische Beurteilung dieser molekularbiologischen Ergebnisse ist zurzeit noch nicht möglich. Weitere Untersuchungen zur hygienischen Relevanz sind hier noch notwendig.

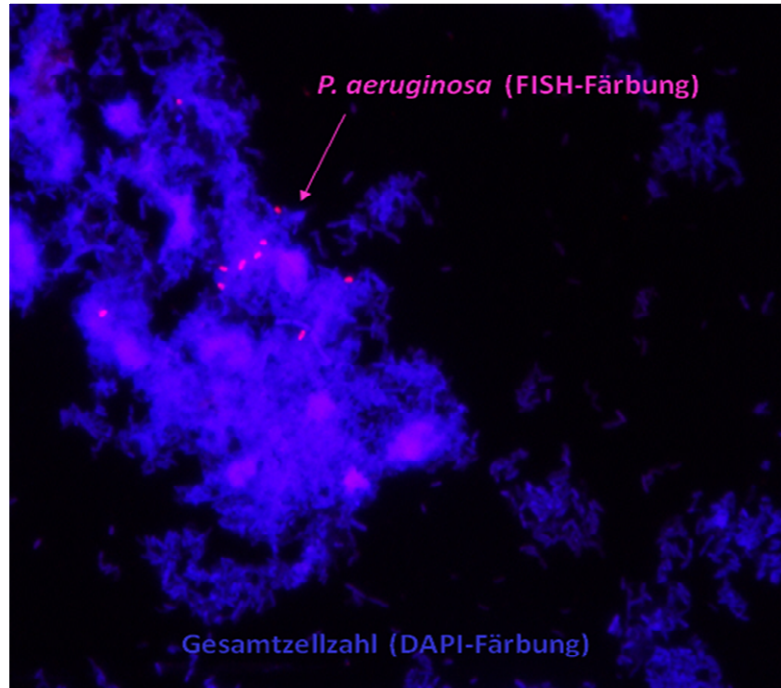
Die hier beschriebenen Untersuchungen sind noch nicht vollständig abgeschlossen, so dass die endgültige Auswertung und Bewertung der Befunde im Laufe des Jahres 2012 erfolgen wird. Unser ganz besonderer Dank gilt den fleißigen Händen unseres Dynaklim-Laborteams Janine Wagner (Doktorandin Biofilm Centre, Universität Duisburg/Essen), Danja Moschnitschka und Florian Metzelder. Das Projektteam möchte sich beim RWW für die sehr gute und kooperative Zusammenarbeit sowie bei den zuständigen Stellen im fördernden Ministerium BMBF und beim Projektträger DLR für die sachkundige Begleitung des Projekts bedanken.

## **Informationsblock**

### **Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH)**

Der kulturelle Nachweis von Indikatororganismen wie z. B. coliformen Bakterien oder von fakultativ Pathogenen wie *Pseudomonas aeruginosa* oder Legionellen im Trinkwasser ist ein wichtiges und zentrales Mittel, um die hygienisch-mikrobiologische Qualität zu überprüfen. Es ist jedoch bekannt, dass unter ungünstigen Umgebungsbedingungen solche hygienisch relevanten Bakterien in einen Zustand übergehen können, in dem sie vorübergehend ihre Kultivierbarkeit verlieren, aber noch lebensfähig sind. Es handelt sich um den sogenannten „viable but nonculturable“ (VBNC)-Zustand, in dem die Bakterien auf den konventionellen Nährmedien unter den üblichen Bebrütungsbedingungen nicht mehr wachsen. Sie weisen noch einen Erhaltungsstoffwechsel auf und können unter günstigen Umweltbedingungen ihre Kultivierbarkeit und im Fall Pathogener ihre Infektiosität wieder erlangen. Wenn Bakterien ihre Kultivierbarkeit vorübergehend verlieren, werden Nachweismethoden benötigt, die auf kulturunabhängigen, oft molekularbiologischen, Verfahren beruhen. Die Fluoreszenz- in-situ-Hybridisierung (FISH) ist als spezifische und verlässliche Methode in der Umweltmikrobiologie bereits fest etabliert (Abbildung 4).





**Abbildung 4: Nachweis von *P. aeruginosa* in einem Trinkwasserbiofilm aus einem Laborreaktorversuch mittels der Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH); (Quelle: IWW)**

Sie ermöglicht den spezifischen Nachweis von Bakterien innerhalb von wenigen Stunden, ohne eine Kultivierung zu benötigen. Im Gegensatz zu Kulturverfahren kann die FISH außerdem auch nicht mehr wachstumsfähige Bakterien nachweisen, die sich z. B. im VBNC-Zustand befinden. Der Nachweis von Bakterienarten erfolgt bei der FISH durch Bindung einer artspezifischen fluoreszenzmarkierten Gensonde an einen für ein bestimmtes Bakterium charakteristischen Abschnitt der ribosomalen RNA (rRNA) in der Zelle. Diese rRNA-Moleküle sind bei allen stoffwechselphysiologisch aktiven Bakterien in großer Zahl in jeder einzelnen Zelle vorhanden und können ohne Kultivierung der Bakterien nachgewiesen werden. Durch Fluoreszenz-Markierung der Sonden kann dabei eine unmittelbare Untersuchung der Wasser- oder Biofilmprobe im herkömmlichen Fluoreszenzmikroskop erfolgen, wobei die Bakterien als fluoreszierende Partikel gezählt werden und somit ihre Konzentration in Wasser und Biofilmen bestimmt werden kann. Die Nachweisbarkeit eines Bakteriums hängt dabei von der Anzahl der Ribosomen in der Zelle ab und in begrenztem Rahmen lassen sich durch die Fluoreszenzintensität Aussagen über die Aktivität des Organismus treffen.

### Zitate

Grobe, S. Schaule, G. Wingender, J., Flemming, H.-C. (2010). Mikrobiologische Kontaminationen im Trinkwasser - Ursachenermittlung. Energie Wasser-Praxis 61 (4), 18-21  
 Wingender, J. (2011). Hygienically relevant microorganisms in biofilms of man-made water systems. In: Biofilm Highlights. Springer Series on Biofilms. Volume 5. Flemming, H.-C., Wingender, J., Szewzyk, U. (eds.), Springer-Verlag, Berlin, pp. 189-238



**Autor/in**

**Projektbüro *dynaklim***

Birgit Wienert  
Kronprinzenstraße 9  
45128 Essen

Tel.: +49 (0)201 104-33 39  
wienert@fiw.rwth-aachen.de

***www.dynaklim.de***