

Ursachenfindung

bei mikrobiologischen Befunden im Trinkwasser

Bei der **Gewinnung und Aufbereitung** von Trinkwasser kann es auch im Routinebetrieb unerwartet zu Befunden mit hygienisch relevanten Bakterien kommen. Das Forschungsgebiet der mikrobiologischen Ursachenfindung oder auch „Microbial Source Tracking“ (MST) nähert sich dieser Problematik unter anderem mit Hilfe **moderner molekularbiologischer Methoden** und kann Bakterien beispielsweise über ihre DNA identifizieren.

von: Oliver Thronicker (Blue Biolabs GmbH)



Abb. 1: Mögliche Verursacher von coliformen Befunden

Erst vor wenigen Jahren wurde die hervorragende Qualität des deutschen Trinkwassers erneut vom Umweltbundesamt bestätigt [1]. Verfolgte man jedoch die Berichterstattung in den Medien, so könnte man meinen, dass sich gerade in den letzten Jahren Befunde mit coliformen Bakterien in Trinkwassernetzen wieder verstärkt häufen [2, 3, 4]. Ob es sich hierbei um einen subjektiven Eindruck handelt, lässt sich mit den hierzu bisher vom Bundesministerium für Gesundheit veröffentlichten Daten (bis 2010) noch nicht eindeutig klären. Sicher ist jedoch, dass die Hochwasserereignisse der vergangenen drei Jahre in einigen Regionen Deutschlands ihren Teil zur Verschärfung der Problematik beigetragen haben. Neben den ganz offensichtlichen Überschwemmungsassoziierten direkten Einträgen können die Ursachen für Befundereignisse jedoch durchaus vielschichtig sein und in vielen Fällen

langwierige Untersuchungen mit ungewissem Ausgang nach sich ziehen. Seit Mitte der 1990er-Jahre erscheinen stetig mehr Publikationen, die sich dem Thema der Ursachenfindung mikrobiologischer Trinkwasserkontaminationen ausführlich widmen. Auch werden jährlich neue Methoden vorgestellt, die unterschiedlichen Quellen von mikrobiologischen Verunreinigungen zu differenzieren. Die Wahl des optimalen Indikatorparameters spielt hierbei eine entscheidende Rolle und entscheidet oftmals über Erfolg oder Misserfolg der Untersuchungen.

Da es bisher schwer möglich war, jeden erdenklichen Krankheitserreger im Wasser direkt nachzuweisen, basiert das in der Trinkwasseranalyse seit Jahrzehnten bewährte Indikatorprinzip auf dem Nachweis ganz spezifischer repräsentativer Mikroorganismen, die als Indikator für eine fäkale Verunreinigung des Wasser dienen können. Klassischerweise wählte man Indikatororganismen für die hygienisch-mikrobiologische Trinkwasserbewertung aus, die besonders geeignet und robust sind (TrinkwV 2001). Sie sollten:

- Teil der normalen Darmflora von gesunden Menschen sein,
- nur anwesend sein, wenn auch Krankheitserreger fäkalen Ursprungs anwesend sind,
- in größerer Anzahl zu finden sein als die Krankheitserreger,
- nicht außerhalb des Verdauungstraktes vermehrungsfähig, aber in der Natur widerstandsfähiger sein als pathogene Mikroorganismen,
- auch nach Wasseraufbereitung resistenter als Krankheitserreger sein,

- einfach isolierbar, identifizierbar und zählbar sein
- selbst nicht pathogen sein,
- in ihrer Anzahl in Relation zur Menge der pathogenen Mikroorganismen stehen.

Natürlich muss man bei der praktischen Umsetzung Kompromisse eingehen, da bisher kein Mikroorganismus bekannt ist, der all diese Bedingungen perfekt erfüllt. Dennoch beruhen die heute eingesetzten, sehr effektiven und verlässlichen Nachweisuntersuchungen auf *E.coli* und coliforme Bakterien auf eben diesen postulierten Eigenschaften. Unter dem Gesichtspunkt moderner molekularbiologischer Untersuchungsmethoden kann sich der Indikatorbegriff jedoch zukünftig verändern oder erweitern.

Was ist Microbial Source Tracking (MST)?

Statt wie bisher lediglich die Anwesenheit von vermehrungsfähigen Indikatorbakterien mit Hilfe von spezifischen Nährmedien nachzuweisen, geht man beim MST einen anderen Weg. Die im Wasser enthaltenen Bakterien können beispielsweise direkt über ihre DNA identifiziert und klassifiziert werden. Da die DNA eines Organismus wie ein Barcode hoch spezifisch ist, wird neben der bloßen Quantifizierung auch eine wesentlich genauere Identifizierung der Indikatororganismen möglich. Am Beispiel des Hygieneparameters der coliformen Bakterien wird das Potenzial dieser Methodik bei der Ursachenfindung schnell deutlich. Mit Einführung der neuen Referenzmethoden in der Trinkwasseranalytik vor einigen Jahren stieg auch die Anzahl der erfassten coliformen Bakteriengattungen (Tab. 1) [5].

Tabelle 1: Einteilung coliformer Bakterien (Gattungen) in Abhängigkeit vom Nachweisprinzip

Methode nach TrinkwV 1990 Laktose zu Säure und Gas	Methode nach DIN EN ISO 9308-1, TrinkwV 2001. Laktose zu Säure	Alternativverfahren nach TrinkwV 2001, „Colilert®-18/Quanti-Tray®“ β-O-Galaktosidase
Escherichia	Escherichia	Escherichia
Klebsiella	Klebsiella	Klebsiella
Enterobacter	Enterobacter	Enterobacter
Citrobacter	Citrobacter	Citrobacter
	Yersinia	Yersinia
	Serratia	Serratia
	Hafnia	Hafnia
	Pantoea	Pantoea
	Kluyvera	Kluyvera
		Cedecea
		Ewingella
		Moellerella
		Leclercia
		Rahnella
		Yokenella

Fett: coliforme Bakterien, die in Umwelt und menschlicher Faeces vorkommen können.
Fett und kursiv: coliforme Bakterien, die primär als Umweltorganismus angesehen werden.

Quelle: Umweltbundesamt 2009

Marktübliche Testverfahren ermöglichen bisher lediglich die Unterscheidung zwischen *E.coli* und sonstigen coliformen Bakterien. Erst mit Hilfe der Methodiken des MST wird eine genaue Spezifikation auf Gattungsebene möglich. So können zusätzlich wertvolle Informationen über die Ursache und das Gefährdungspotenzial eines Befundes ermittelt werden (z. B. ob die Kontamination wirklich fäkalen Ursprungs oder auf Einträge aus dem Boden oder durch Insekten zurückzuführen ist).

Dies ist jedoch erst der Anfang einer ganzen Reihe von neuen Möglichkeiten. Inzwischen existiert eine Vielzahl von neuen Indikatorpa-

Für eine sichere Trinkwasserversorgung Innovative Werkstoffe für die Trinkwasserinstallation

Keramische Absperrentechnik:

- besonders verschleiß-, korrosionsbeständig und dadurch langlebig
- durch die glatte Oberflächenstruktur wird hohe Dichtigkeit und gute Gleitfähigkeit erreicht
- besonders hygienisch, keine Ablagerungen durch die glatte Oberflächenstruktur



Bleifreies Silicium-Messing:

- erfüllt die Vorgaben der **TrinkwV 2001**, insbesondere des **Minimierungsgebotes**
- **UBA**-gelisteter, trinkwasserhygienisch geeigneter Werkstoff
- hohe Entzinkungs- und Korrosionsbeständigkeit
- schont knappe Rohstoffressourcen



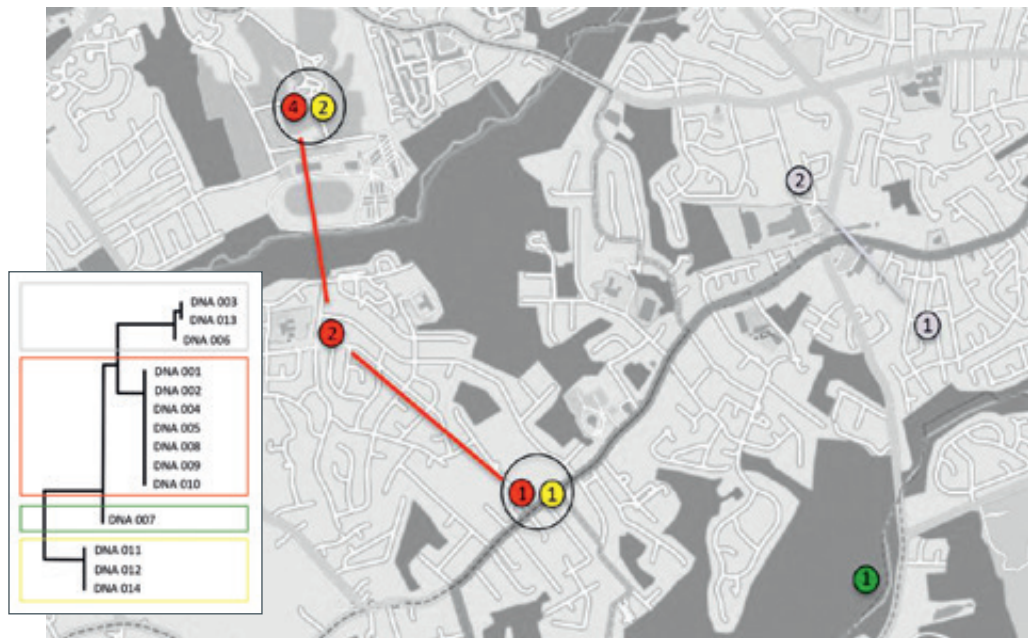
EWE-ARMATUREN
Telefon: +49 531 37005-0 · www.ewe-armaturen.de

Abb. 2 a: Nach Beprobungen an unterschiedlichen Standorten werden undifferenzierte Befunde mit coliformen Bakterien festgestellt.



Quelle: Blue Biolabs GmbH, Kartenmaterial: Open Street Map und Mitwirkende, CC-BY-JA

Abb. 2 b: Ergebnis der Ähnlichkeitsanalyse



Quelle: Blue Biolabs GmbH, Kartenmaterial: Open Street Map und Mitwirkende, CC-BY-JA

rametern (z. B. Bacteroides, [6]) und DNA-Datenbanken, die zukünftig eine genaue Zuordnung der möglichen Ausgangsquelle zulassen werden [7].

Abhängig vom Umfeld der Wassergewinnung und Verteilung kann eine Vielzahl von möglichen Quellen für eine Kontamination in Frage kommen. Neben landwirtschaftlichen Nutztieren (z. B. über Gülleausbringung) können auch Wildtiere, Insekten oder Mollusken ganz direkt über Belüftungseinrichtungen in Behälter eindringen oder während Bauarbeiten ihren Weg in ansonsten unzugängliche Netzbereiche finden. Auch könnten durch Grab-

bauten von Kleintieren Kurzschlüsse geschaffen werden, die im Zusammenhang mit Starkregenereignissen einen Eintrag von Tierkot, z. B. in Brunnen, möglich machen. Diese Einträge genau zu differenzieren, um bei der Ursachenfindung nicht schlimmstenfalls monatelang im Dunkeln zu tappen, ist eine der vielversprechenden neuen Möglichkeiten des MST (Abb. 1).

Spezialisierte Analytiklabore können hier von der Tatsache profitieren, dass seit mehreren Jahrzehnten ein ganzes Forschungsgebiet existiert, das sich mit der detaillierten Erforschung der Darmflora verschiedenster Spezies beschäftigt. Diese sogenannte „Mi-

krobiomforschung“ liefert fast monatlich neue Daten über die bakterielle Zusammensetzung der Darmflora unterschiedlichster Säugetier- und Insektenspezies. In verschiedenen Studien konnte zudem bereits gezeigt werden, dass diese Darmflora sehr wirtsspezifisch ist und eine Zuordnung zu spezifischen Quellorganismen bei ausreichender Datenlage möglich ist [8].

Oftmals möchte man jedoch zunächst lediglich verschiedene mögliche Ursachen und Eintragspfade gegeneinander abgleichen, um so Interventions- oder Sanierungsmaßnahmen zielgerichtet einleiten zu können. Hierzu wurde eine auf ein Geoinformationssystem gestützte Analytiksoftware entwickelt, die in Kombination mit einem speziellen angebotenen Laborservice eine genaue Ursachenforschung wesentlich erleichtert und bisher nicht sichtbare Zusammenhänge deutlich macht. Zum Beispiel werden an unterschiedlichen Orten innerhalb eines bestimmten Untersuchungszeitraums Befunde mit coliformen Bakterien ermittelt (Abb. 2 a). Erst mit Hilfe der genetischen Ähnlichkeitsanalyse werden eindeutige Muster erkennbar, die Rückschlüsse auf die Ursache der Kontamination ermöglichen (Abb. 2 b).

Dieser molekularbiologische Ansatz war bis vor wenigen Jahren noch nicht für einen breiten Einsatz in der Routineanalytik geeignet. Aufgrund massiver technischer Fortschritte der letzten Jahre konnten die Kosten für derart genaue Analysen nun jedoch in einen Bereich gerückt werden, der es auch kleineren Wasserversorgern ermöglicht, ihre Befunde routinemäßig genau zu analysieren. Die so gewonnenen Daten können nicht nur bei der Aufklärung akuter Havarie-Ereignisse Abhilfe schaffen, sondern auch dazu beitragen, bisher unerkannte, wiederkehrende Muster zu erkennen, um so bestehende systemische Probleme zu identifizieren und frühzeitig zielgerichtete Gegenmaßnahmen einleiten zu können.

Danksagung

Der Autor dankt dem Fachgebiet Umweltmikrobiologie der TU Berlin, dem Kompetenzzentrum Wasser Berlin, der pigadi GmbH, Datalyze Solutions, der egeplast International GmbH sowie den Berliner Wasserbetrieben für die freundliche Unterstützung.

Die Blue Biolabs GmbH wird gefördert durch die Gründerwerkstatt der Beuth Hochschule für Technik und Wirtschaft in Berlin mit Mitteln des Europäischen Sozialfonds und der Senatsverwaltung für Wirtschaft, Technologie und Forschung.

Literatur:

- [1] Umweltbundesamt und Bundesministerium für Gesundheit 2011: Bericht des Bundesministeriums für Gesundheit und des Umweltbundesamtes an die Verbraucherinnen und Verbraucher über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch (Trinkwasser) in Deutschland
- [2] Neue Westfälische 24.08.2011: „Coli-Bakterien im Trinkwasser gefunden“
- [3] Spiegel Online 10.07.2012: „Trinkwasser in Erfurt mit E.-Coli-Bakterien verseucht“
- [4] Augsburg Allgemeine 26.10.2013: „Trinkwasser in Meitingen ist verkeimt: Jetzt muss es abgekocht werden“
- [5] Umweltbundesamt 2009: Coliforme Bakterien im Trinkwasser – Empfehlungen zur Risikoabschätzung und Maßnahmen bei systemischer Kontamination. Bundesgesundheitsblatt, Springer, 52:474-482
- [6] Ahmed, W. et al. (2008): Evaluation of Bacteroides markers for the detection of human faecal pollution. Lett. Appl. Microbiol. 46, 237-242.
- [7] Ahmed, W. et al. (2005): Faecal source tracking in surface waters: a brief review of faecal indicator microorganisms and current methods. Environ. Hlth. 5, 51-68.
- [8] Dombek, P. E., Johnson, L. K., Zimmerley, S. T. & Sadowsky, M. J. (2000). Use of repetitive DNA sequences and the PCR to differentiate Escherichia coli isolates from human and animal sources. Appl Environ Microbiol 66, 2572±2577.

Der Autor

Dipl.-Ing. Oliver Thronicker ist Geschäftsführer der Blue Biolabs GmbH und ein Experte auf dem Gebiet der mikro- und molekularbiologischen Analyse von Trinkwasser.

Kontakt:

Blue Biolabs GmbH
Ernst-Reuter-Platz 1
Raum: BH 6-1
10587 Berlin
Tel.: 030 31473-178
E-Mail: oliver.thronicker@bluebiolabs.de
Internet: www.bluebiolabs.de

FAST

AZ - radio Lecküberwachung



- Leckerkennung
- Leckortung
- GPRS-Übertragung
- bidirektionaler Funk

PipeMic 1 Präzise - Leckortung



- punktgenaue Ortung
- Bluetooth - Technologie
- Desinfektionsbehälter

www.fastgmbh.de
IFAT 2014
Halle A5 Stand 519