



Mikrobiologie

Franziska Zibuschka

Institut für Siedlungswasserbau, Industrierewasserwirtschaft und Gewässerschutz

VIZ-Seminare: Wasserführende Systeme in der Haustechnik

Hotel Paradies, Graz

7. November 2006

Universität für Bodenkultur Wien
Department für Wasser-Atmosphäre-Umwelt

... Wasser jeglicher Art ist Lebensraum für eine unterschiedlich große Anzahl von unterschiedlichen Mikroorganismen



Nutzungsorientierte Betrachtungsweise

Organismen: Faktoren → beeinflussen die Wassergüte in erwünschter oder unerwünschter Weise → begünstigen oder erschweren die Nutzung

2

Der Begriff „Mikroorganismen“ ist nicht standardisiert und umfasst unterschiedliche Arten

Gemeinsames Merkmal der Mikroorganismen → geringe Abmessung → Vielzahl von Nachweismethoden

Zu den Mikroorganismen zählen

- Viren, Phagen
- Mikroorganismen ohne echten Zellkern (Prokaryonten)
 - * Bakterien
 - * Blaualgen
- Mikroorganismen mit echtem Zellkern
 - * niedere Pilze
 - * tierische Einzeller (Protozoen)
 - * tierische Mehr- und Vielzeller (Metazoen)



3

Gütezustand von Trinkwasser aus mikrobiologischer Sicht



4



Mikrobiologische Parameter und Indikatorparameter für Trinkwasser

Parameter	Wert für nicht desinfiziertes Trinkwasser	Wert für desinfiziertes Trinkwasser
<i>E. coli</i>	0/100 ml	0/250 ml
Enterokokken	0/100 ml	0/250 ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0/100 ml	0/250 ml
<i>Clostridium perfringens</i>	0/100 ml	0/250 ml

Indikatorparameter	Wert für nicht desinfiziertes Trinkwasser	Wert für desinfiziertes Trinkwasser
KBE bei 22° C	100/ml	10/ml
KBE bei 37° C	20/ml	10/ml
Coliforme Bakterien	0/100 ml	0/250 ml

Kurze Beschreibung der mikrobiologischen Parameter und Indikatorparameter für Trinkwasser

Mikrobiologische Parameter

1. E. coli - coliforme Bakterien

Escherichia coli und Coliforme Bakterien sind Stäbchenbakterien → gehören zur Familie der **Enterobacteriaceae**



Chromocult-Agar:
E. coli: blaue Kolonien
 Coliforme: rosarote Kolonien

Abb.: *E. coli* und Coliforme, Chromocult

Was im Sinne des Gesetzgebers unter coliformen Bakterien zu verstehen ist wird durch keine Definition exakt festgelegt, sondern ergibt sich aus der angewandten Untersuchungstechnik → z.B. Flüssigansatz (Gasbildung, Säurebildung) oder Membranfiltertechnik

Weitere Begriffe im Zusammenhang mit *E. coli* und coliformen Bakterien

Faecalcoliforme, Totalcoliforme, thermotolerante Coliforme, Enterohaemorrhagische *E. coli* (EHEC)



Tergitol-Agar:
E. coli und Coliforme bilden gelbe Kolonien, das Medium verfärbt sich unter den Kolonien gelb
 Eine Differenzierung zwischen *E. coli* und coliformen Bakterien ist nicht möglich

Abb. Totalcoliforme, Tergitol

Indikativer Wert der coliformen Bakterien

die betreffenden Bakterien können fäkalen Ursprungs sein (Oberflächenwasser, Abwasser)

jedoch nur ein **positiver *Escherichia coli*-Nachweis** (Bestätigung durch einen Test) ist ein **“echter” Hinweis auf eine fäkale Belastung**



Abb. API-Strifen, Testverfahren zur Bestätigung eines positiven *E. coli*-Befundes

9

2. Enterokokken

synonym = Fäkalstreptokokken

positiver Nachweis von Enterokokken → **hohe Wahrscheinlichkeit einer fäkalen Verunreinigung**

Keime vermehren sich kaum im Wasser

sind ± Indiz für eine länger zurückliegende Kontamination

Überlebensdauer: kann größer sein als die von *E. coli* und Coliformen

Chlorresistenz: ± doppelt so hoch als bei *E. coli*

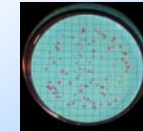


Abb. Enterokokken, Slanetz & Bartley

10

3. *Pseudomonas aeruginosa*

ubiquitäre, feuchtigkeitsliebende und widerstandsfähige Bakterienart mit geringen Nährstoffansprüchen

Vorkommen:

- im Darmkanal bei Mensch und Tier
- im Boden, an Pflanzen, im Abwasser
- im kontaminierten Trinkwasser (Leitungssystem)
- im Krankenhausbereich (generalisierte Infektion)
- im Badewasser (Infektion von Ohr und Haut)

Problem: Vorkommen von *Pseudomonas aeruginosa* in Geräten zur Trinkwasseraufbereitung (z.B. Ionenaustauscher)

11

4. Clostridien

Sulfitreduzierende Clostridien = sulfitreduzierende sporenbildende Anaerobier

nach der charakteristischen Art dieser uneinheitlichen Gruppe auch als ***Clostridium perfringens*** (Gasbranderreger) bezeichnet

Positiver Nachweis von Clostridien-Sporen:

- zeigt Verunreinigungen an, welche fäkaler Natur sein können diese Verunreinigungen können sehr lange zurückliegen (Sporenresistenz!)
- Sporen können Desinfektionsmaßnahmen widerstehen
- ubiquitärer, feuchtigkeitsliebender, widerstandsfähiger Mikroorganismus

12

Mikrobiologische Indikatorparameter

1. Koloniezahl pro Milliliter

Koloniezahl - koloniebildende Einheiten (KBE)

Bestimmung der Koloniezahl (KBE/ml) = gesetzlich vorgeschriebene konventionelle Nachweismethode auf Basis einer Kultivierung (ISO 6222) → „Gold Standard“ → Wachstum von Kolonien unterschiedlicher Größe → festgelegte Bebrütungszeit und -temperatur

Wirkungsgrad: 0,1 bis 10 % der tatsächlich vorhandenen Mikroorganismen werden mit dieser Untersuchungstechnik erfasst



Abb. Bakterienkolonien auf bzw. in einem Nährmedium 13

In der Praxis der Gütekontrolle von Trinkwasser wird unter Koloniezahl die Populationsdichte jener durch Kultivierung erfassbaren Keime verstanden, die unter hygienisch oder technisch kritischen Bedingungen in größerer Zahl auftreten (BGBl. II/304, 2001; ÖLMB, Kapitel B1, 2002)

In einer Wasserprobe können Bakterien einzeln, in Verbänden oder an Partikel adsorbiert vorkommen. Aus diesem Grund muss die Zahl der Kolonien nicht mit der tatsächlichen Zahl der entwicklungsfähigen und kultivierbaren Keime übereinstimmen. Kultivierbare Keime können in einen VBNC (viable but not culturable) - Zustand übergehen. Eine große Anzahl der im Wasser lebenden Bakterien sind nicht kultivierbar.

14

Im Zusammenhang mit **Trinkwasseruntersuchungen** informiert die ermittelte **Koloniezahl** über:

- Grad der Verunreinigung mit organischen, biologisch verwertbaren Stoffen
- Wirksamkeit der Wasseraufbereitung
- Wirksamkeit der Desinfektion
- Fremdwassereinbrüche in Wasserversorgungssystemen
- zeit- und materialabhängige Einflüsse bei der Verteilung des Wassers im Leitungsnetz (Wiederverkeimung, Biofilmbildung)

weitere Anwendungsbereiche: Kontrolle von Brauch- und Badewasser, Gütebestimmung von Grund- und Oberflächenwasser

15

Aussagekraft von mikrobiologischen Standarduntersuchungen (TVO)

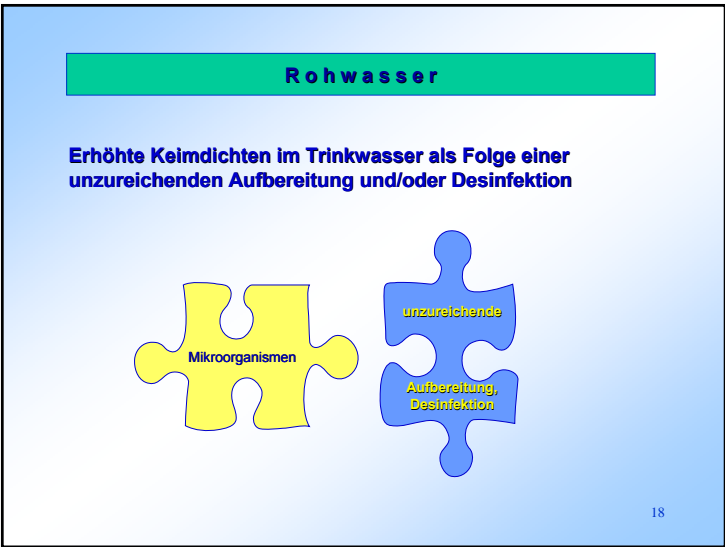
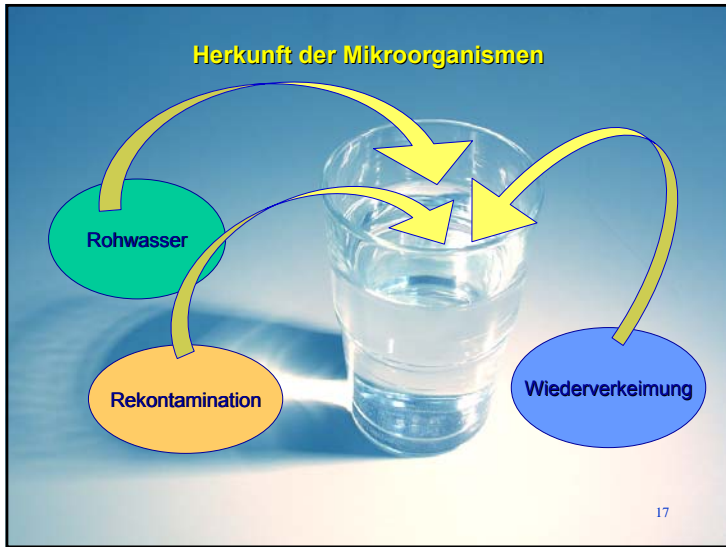
Unverzichtbare zweckdienliche Untersuchungstechnik zur Qualitätsbestimmung von Trinkwasser („Golden Standard“)

Die Methode geht auf Robert Koch (1883) zurück

Kritikpunkte:

- Lange Analysedauer
- Aussagekraft um Probleme lösen zu können oft zu gering

16



Beispiel für ein zur Wiederverkeimung neigendes Trinkwasser

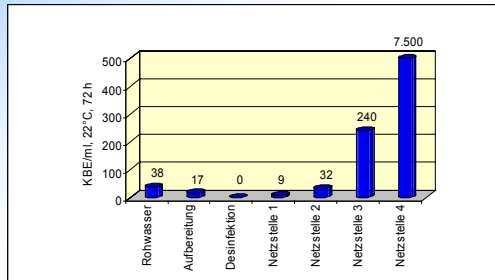


Abb.: Koloniezahlen ausgewählter Wasserproben

21

weitere Begriffe

Nachverkeimung, Aufkeimung ≠ Rekontamination

operationaler Gütebegriff

biologisch stabiles Wasser

Zur Abschätzung des Gefährdungspotentials stehen eine Reihe von **Untersuchungsmethoden** zur Verfügung.

22

Nachverkeimung Liste von bisher festgestellten Mikroorganismen

- * unterschiedliche Vertreter der saprophytischen Mikroflora
- * coliforme Bakterien
- * Pseudomonaden
- * Mycobakterien (emerging pathogens)
- * Flavobakterien
- * Legionellen (Wirtszellen, Trojan horses)
- *

Legionellen

- kommen in der aquatischen Umwelt in geringer Anzahl vor
- vermehren sich innerhalb von wasserführenden Systemen zu einer (noch nicht bekannten) infektiösen Konzentration (Infektionsdosis)
- werden aus dem Wasser via Aerosole auf den Menschen übertragen
- Krankheitsbilder (Legionellose)
 - Grippe-ähnliches Fieber („Pontiac-Fieber“)
 - schwere Lungenentzündung

Legionella pneumophila: 98% der Legionellosen

Trotz verbesserter Kenntnisse und Medikamente (Antibiotika) → vereinzelt Todesfälle

Durchschnittlich sterben in den USA täglich 11 Personen an einer Legionelleninfektion; 57 werden infiziert und überleben, jedoch z.T. mit lebenslanger Beeinträchtigung (Water 21, Dec. 2005)

24

Bewertung von Legionellenbefunden sowie erforderliche Maßnahmen

Quelle: W 551, 9.5

Legionellen [KBE/100 ml]	Bewertung der Kontamination	Maßnahmen
> 10.000	extrem hohe	unverzüglich; Nutzungseinschränkung
> 1.000	hohe	Sanierung kurzfristig
≥ 100	mittlere	Sanierung mittelfristig
< 100	keine / geringe	keine

Quelle: Legionellenreferenzzentrale Wien

KBE/100 ml	Maßnahmen	Überprüfungsintervall
Nicht nachweisbar	Keine	1 Jahr
1 -100 (Konzentration im Toleranzbereich)	Keine	1 Jahr
101-1.000 (Geringe bis mässige Konzentration)	Sanierung angebracht bei <i>Legionella pneumophila</i> Serogroup 1	Kontrolle nach 14 Tagen
1.001-10.000 (Hohe Konzentration)	Hohe Konzentration Sanierung sollte erfolgen	Periodisch
> 10.000 (Sehr hohe Konzentration)	Sanierung erforderlich, Duschverbot	Periodisch

25

Legionellen – vorbeugende Maßnahmen und Sanierungen

Auswahl

- **bautechische Maßnahmen**
 - keine Überdimensionierung von Behältern und Leitungsnetzen
 - Optimierung der Zirkulation im Leitungsnetz
- **betriebstechnische Maßnahmen**
 - geringe Temperaturunterschiede im Kaltwasser- und im Warmwassersystem (Mischbatterien erst kurz vor dem Verbraucher installieren)
 - gleichmäßige Nutzung aller Stränge und Zapfstellen
- **verfahrenstechnische Maßnahmen**
 - Installation von Desinfektionssystemen

26

Es gibt keine Patentlösung zur nachhaltigen Entfernung von Legionellen aus kontaminierten Installationssystemen

27



Biofilme als Reservoir für Mikroorganismen

Neben der **Wasserphase** bilden die **Biofilme** einen weiteren **Lebensraum** für Mikroorganismen.

Bestandteile von Biofilmen

- * Mikroorganismen
- * extrazelluläre polymere Substanzen (EPS)
- * eingelagertes partikuläres Material
- * gelöste Stoffe

Stärke von Biofilmen in Trinkwasserversorgungssystemen: ca. 100 µm

29

Biofilmentwicklung*

Sobald Materialoberflächen mit Trinkwasser in Kontakt kommen
→ dünne Schicht organischer Moleküle („preconditioning film“)



Anlagerung von Bakterien aus der Freiwasserphase



unterschiedliche Möglichkeiten der weiteren Biofilmentwicklung
abhängig von Einflussfaktoren (Nährstoffgehalt im Wasser;
betriebstechnische Bedingungen)



weitere Anlagerungen planktischer Zellen (höherer Nährstoffgehalt
im Wasser) oder Vermehrung bereits anhaftender Zellen
(Substratlimitierung im Wasser)

* nach SZEWZYK (1996)

30

Biofilme und Gütezustand des Trinkwassers

Den im gesamten Verteilungssystem
vorhandenen Biofilmen wird ein
mehr oder weniger starker Einfluss
auf den **Gütezustand des**
Trinkwassers zugesprochen

- * **Keimwachstum** innerhalb des Verteilungssystems →
überwiegend im **Biofilm** auf den **Materialoberflächen**
- * **Aufkeimungen** im Netz im Wesentlichen durch **Keimeinträge**
aus den Biofilmen in den Wasserkörper
- * **Keimeintrag** findet nur bei **instabilen Bedingungen** im Netz
statt (plötzlicher Anstieg der Nährstoffkonzentration, schwankende Rest-
konzentrationen von Desinfektionsmitteln)
- * Bei **stabilen Bedingungen**: **niedrige Koloniezahl** im Verlauf
der Verteilung von Trinkwasser trotz Vorliegen von „erhöhtem“
Nährstoffgehalt (z.B. AOC > 10 µg ac-C eq/l)

* Abschlussbericht zum DVGW Forschungsvorhaben W50/99 (2003)

32



Biofilme und Trinkwasserqualität - Beispiel aus der Praxis (1)

Ergebnisse von Koloniezahlbestimmungen sowie Bestimmungen des Wachstumspotentials vor und nach Änderung der Betriebsweise

Netzstellen	Ausgangswert	Endwert
1	1.400	20.000
2	5	43.000
3	10	300
4	17	600
5	280	3.100
6	134	1.000
7	2.500	3.100
8	2.000	2.400
9	1.300	4.400
10	235	4.200

Netzstellen	Ausgangswert	Endwert
1	11	1.900
2	18	38
3	17	62
4	25	15
5	63	165
6	68	100
7	11	107
8	26	43
9	19	61
10	135	500

Aufkeimungsstandversuche (HEA, 22°C)
Werte vor Änderung der Betriebsweise

Aufkeimungsstandversuche (HEA, 22°C)
Werte nach Änderung der Betriebsweise

Biofilme und Trinkwasserqualität - Beispiel aus der Praxis (2)

Allgemeines
Uferfiltrat als Rohwasser
keine Aufbereitung, Desinfektion mittels UV-Bestrahlung

Problem
Beläge im Wasserzähler (nach UV-Bestrahlung)
Ablagerungen im Hochbehälter

1. Abhilfemaßnahme
Austausch eines Filters (Porenweite 100 µm, silberbeschichtet) an einer Netzstelle (Wohnhausanlage)

35

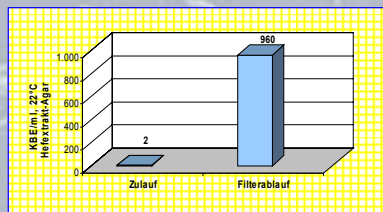




Biofilme und Trinkwasserqualität - Beispiel aus der Praxis (3)

Kleingerät zur Nachbehandlung von Trinkwasser

Vergleich der Koloniezahlen zwischen Zulauf (Trinkwasser) und Ablauf des Gerätes (KBE/ml, 22°C, Hefeextrakt-Agar)



39

Wodurch wird das Wachstum von Biofilmen gefördert ?

- durch Nährstoffe
 - aus dem Wasser
 - aus den Materialien

Wodurch wird das Wachstum von Biofilmen gehemmt ?

- durch Biozide
 - Desinfektionsmittel im Wasser
 - mikrobiocide Stoffe in den Materialien

Prüfmethode

40

Prüfmethoden (Auswahl)

Material

DVGW-Regelblatt W 270
ÖNORM 5018

Trinkwasser

Bestimmung des
Wachstumspotentials
(Aufkeimungsstandversuche)

Unified Biofilm Approach

41

Bewertung von Rohrmaterialien

Allgemeines

umfassende **Trinkwassertauglichkeit von Rohrmaterialien**
schwierig zu bestimmen (komplex, nur stufenweise zu klären)

Unterscheidung möglich in

- * **grundsätzliche Eignung**
- * **keine Eignung**

42

Ausblick: Problem – Lösung

komplex

nur im Team möglich

Rolle der Mikrobiologie im Team

- liefert Wissensgrundlagen über die Vielfalt biologischer Prozesse im Zusammenhang mit Trink-, Brauch- und Abwasser
- ermöglicht eine umfassende Ursachenabklärung beim Auftreten von Problemen
- schafft dadurch die Voraussetzung für eine zielgerichtete, interdisziplinäre Entscheidungsfindung zur Behebung von Problemen
- ist in der Lage die Sinnhaftigkeit von technischen Maßnahmen zu bewerten (Analytik: Standardverfahren, erweiterte Untersuchungsprogramme)

44