



MEHRWERT KULTIVATIONSUNABHÄNGIGER METHODEN ZUR ERKENNUNG MIKROBIOLOGISCHER VERÄNDERUNGEN IN WASSER

WaBoLu
Fortbildungstagung für Wasserfachleute 2017

Andreas Nocker, Gabriela Schaule

An-Institut der
**UNIVERSITÄT
DUISBURG
ESSEN**
Offen im Denken

DVGW
Mitglied im DVGW-
Institutsverbund

JRF
Johannes-Rau-
Forschungszentrum
kiwa
SICHER & EFFIZIENT
ISO 9001
ISO 14001
OHSAS 18001

- ***Pseudomonas aeruginosa* in Hausinstallationen**
- **Microbial Source Tracking**
- **UV Effizienzmessung**
- **Durchflusszytometrie als Bsp. einer aktuell-werdenden diagnostischen Methode**
- **Kultivation vs. Kultivations-unabhängig: Rivalität oder Synergie?
(Beispiel Durchflusszytometrie)**

- ***Pseudomonas aeruginosa* in Hausinstallationen**
- Microbial Source Tracking
- UV Effizienzmessung
- Durchflusszytometrie als Bsp. einer aktuell-werdenden diagnostischen Methode
- Kultivation vs. Kultivations-unabhängig: Rivalität oder Synergie?
(Beispiel Durchflusszytometrie)

Detektion von *P. aeruginosa* in Hausinstallationen

Gebäude A

P. aeruginosa KBE/100ml	qPCR P. aeruginosa (GU/100ml)
0	
0	7,2
0	< 2
0	< 2
0	4,4
0	< 2
0	< 2
-	< 2
0	5,8
0	5,4
>200	5020
-	< 2

Gebäude B

P. aeruginosa KBE/100ml	qPCR P. aeruginosa (GU/100ml)
0	334
0	432
0	2720
0	438
0	1324
0	3360
0	-
0	1894
0	28000
0	3180

Gebäude A und B sowie unterschiedliche PN-Stellen in diesen bergen sicherlich andere hygienische Risiken. Lange Listen von kulturellen ‚Null‘-Werten sind zur Abschätzung des Risikos wenig hilfreich.

P. aeruginosa in Hausinstallationen



Ende Juni

<i>P. aeruginosa</i> KBE/100ml	qPCR <i>P. aeruginosa</i> (GU/100ml)
n.a.	20600
0	5320
0	10700
0	16140
0	22400
0	7080
>300	1444000
>300	10700
0	17000

Anfang August

<i>P. aeruginosa</i> KBE/100ml	qPCR <i>P. aeruginosa</i> (GU/100ml)
0	562
0	49
0	510
0	408
0	416
0	236
160	344
33000	38600
0	370

qPCR Werte erlauben eine wesentlich fundiertere Aussage über das hygienische Risiko.

Gliederung

- *Pseudomonas aeruginosa* in Hausinstallationen
- **Microbial Source Tracking**
- UV Effizienzmessung
- Durchflusszytometrie als Bsp. einer aktuell-werdenden diagnostischen Methode
- Kultivation vs. Kultivations-unabhängig: Rivalität oder Synergie?

Microbial Source Tracking: Paradebeispiel für die Molekularbiologie

Kuh/
Pflanzen-
fresser



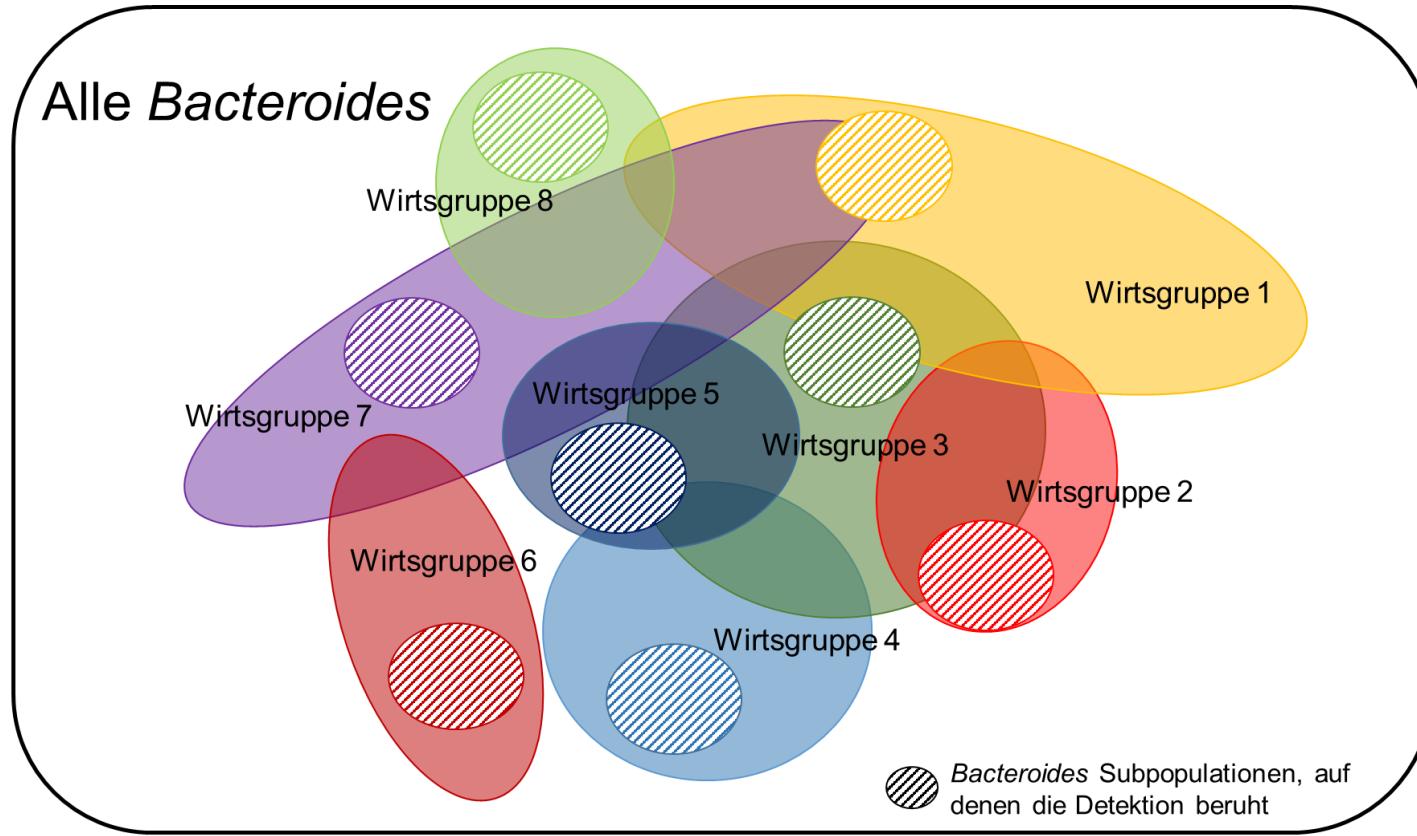
Schweine

Vögel

Menschen

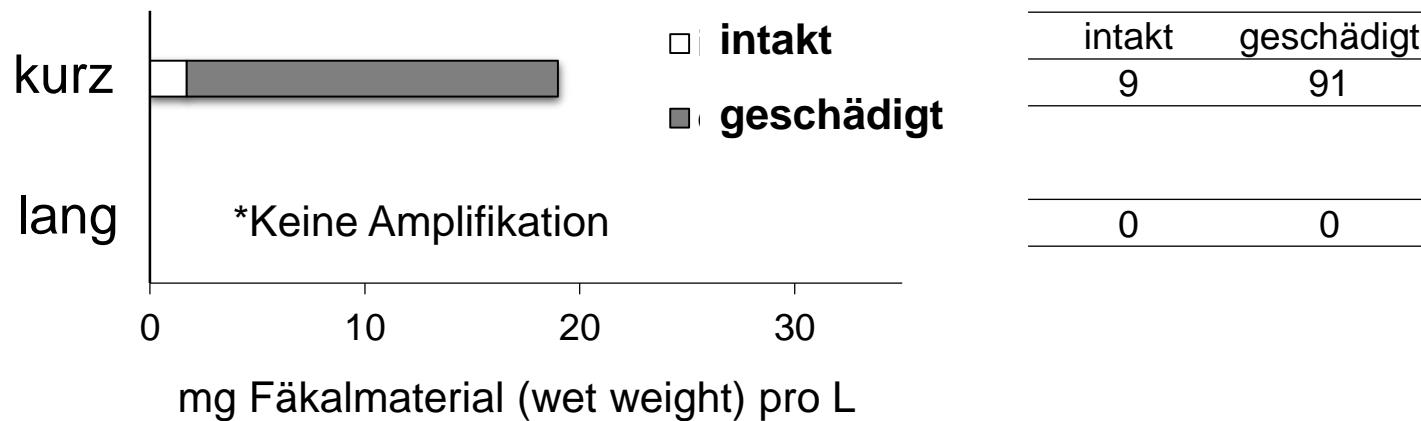
Hunde

Microbial Source Tracking



Prinzip des Microbial Source Tracking. Bacteroides Subpopulationen (schraffierte Kreise) mit möglichst hoher Wirtsspezifität werden mittels spezif. Bacteroides-Primern amplifiziert. Die Gesamtheit der *Bacteroides* Population kann mit universalen *Bacteroides* Primern (=Allbac) nachgewiesen werden.

MST: Wichtigkeit technischer Parameter

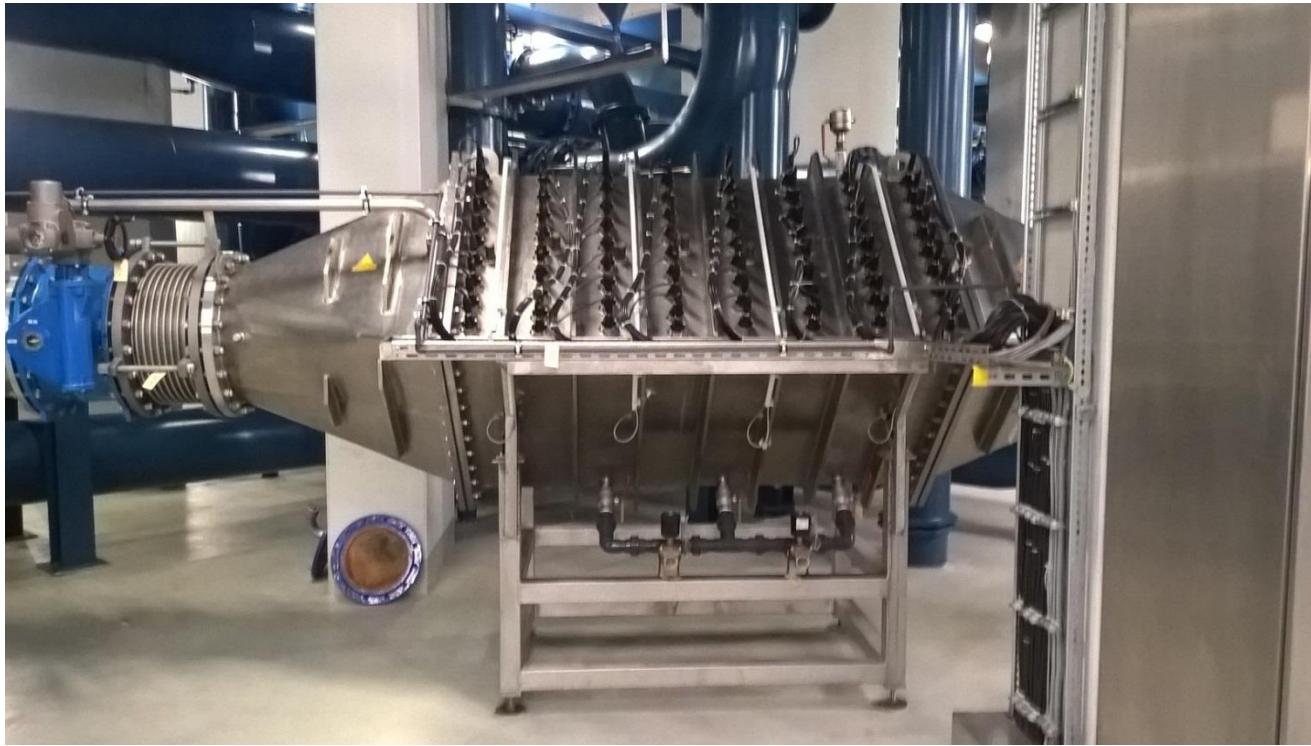


Seidel et al. 2017. J Microbiol Methods 140:23-31.

Gliederung

- *Pseudomonas aeruginosa* in Hausinstallationen
- Microbial Source Tracking
- **UV Effizienzmessung**
- Durchflusszytometrie als Bsp. einer aktuell-werdenden diagnostischen Methode
- Kultivation vs. Kultivations-unabhängig: Rivalität oder Synergie?

Biodosimetrie



Messung der Effizienz von UV-Desinfektion mittels qPCR

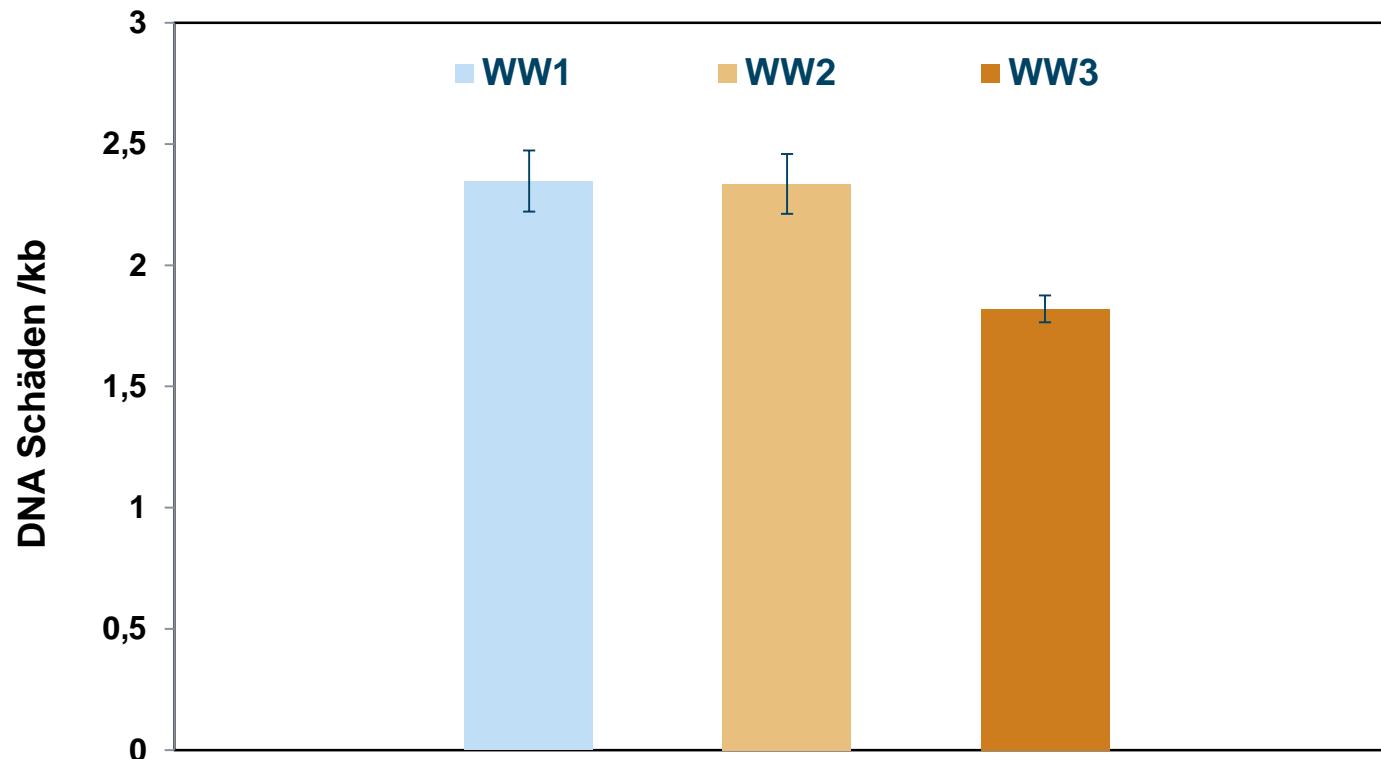
Vergleich von 3 Wasserwerken

UV-C Dosis in mJ cm^{-2}

114.5

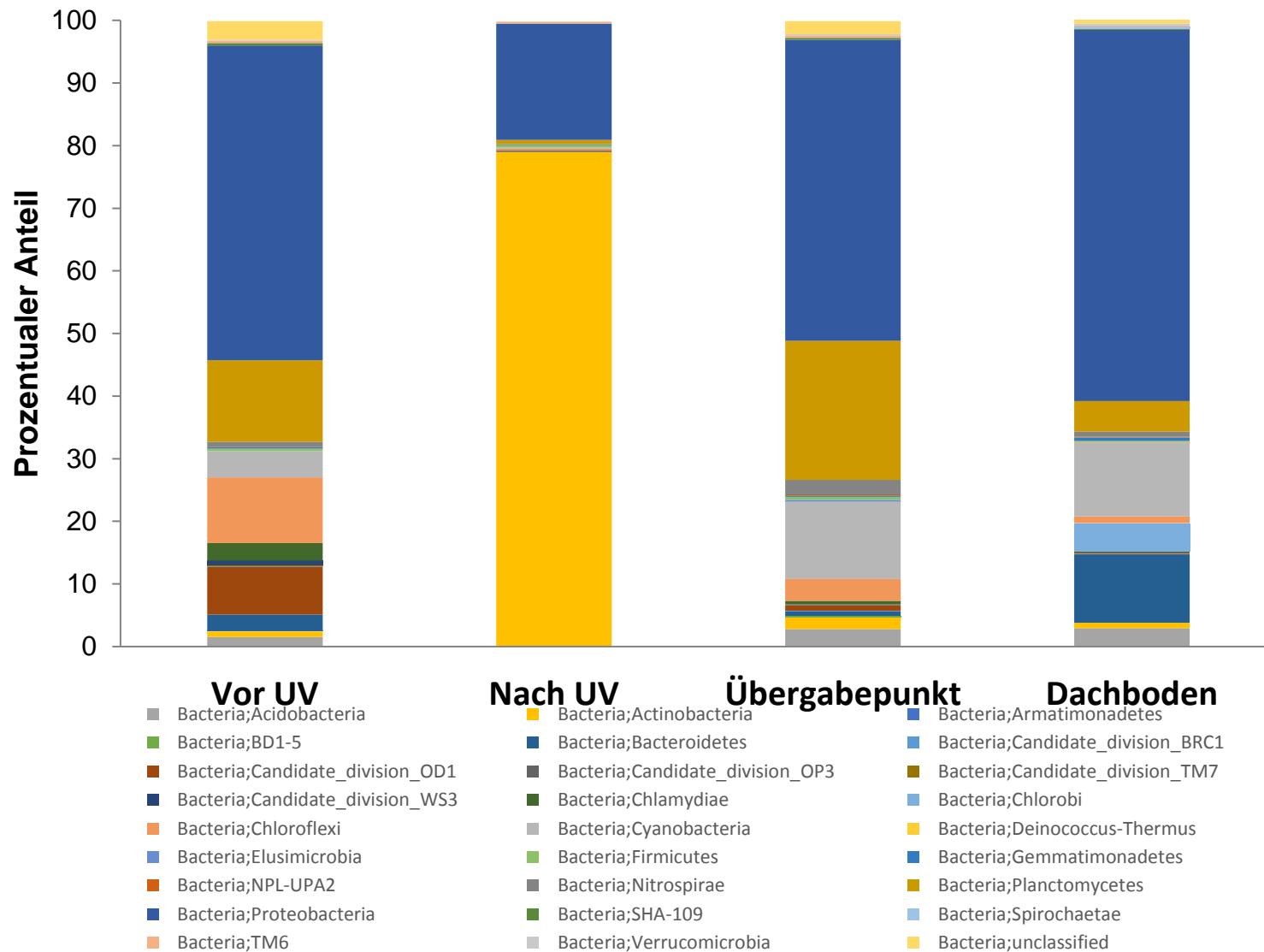
113.9

unbekannt



UV-Reaktoren sind für den sicheren Betrieb validiert, aber typischerweise ist die eigentliche UV-Dosis dem Wasserversorger nicht bekannt. Biodosimetrie (=kulturelles Verfahren) eignet sich nicht für on-site Messungen.

Beispiel: mikrobielle Dynamik nach UV Desinfektion

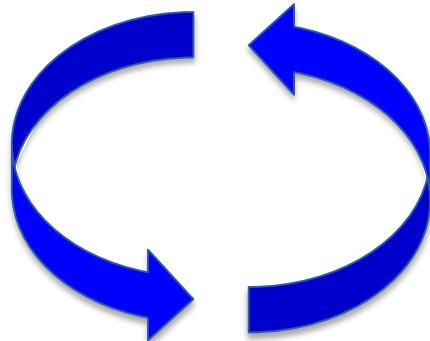


Unterschätzte mikrobiologische Dynamik im Wasser



Biologisch 'stabiles'
Wasser

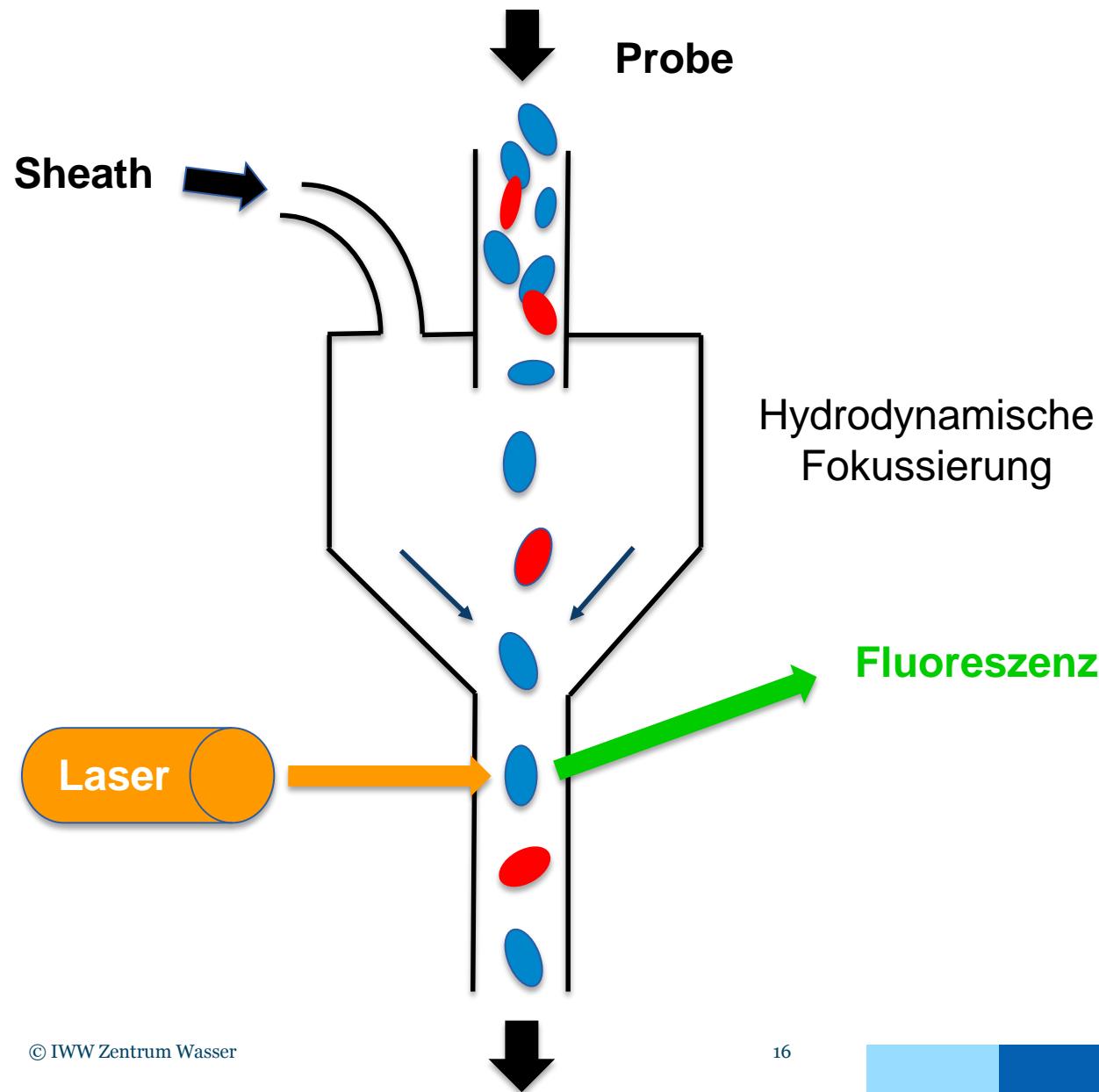
Gesamtkoloniezahl



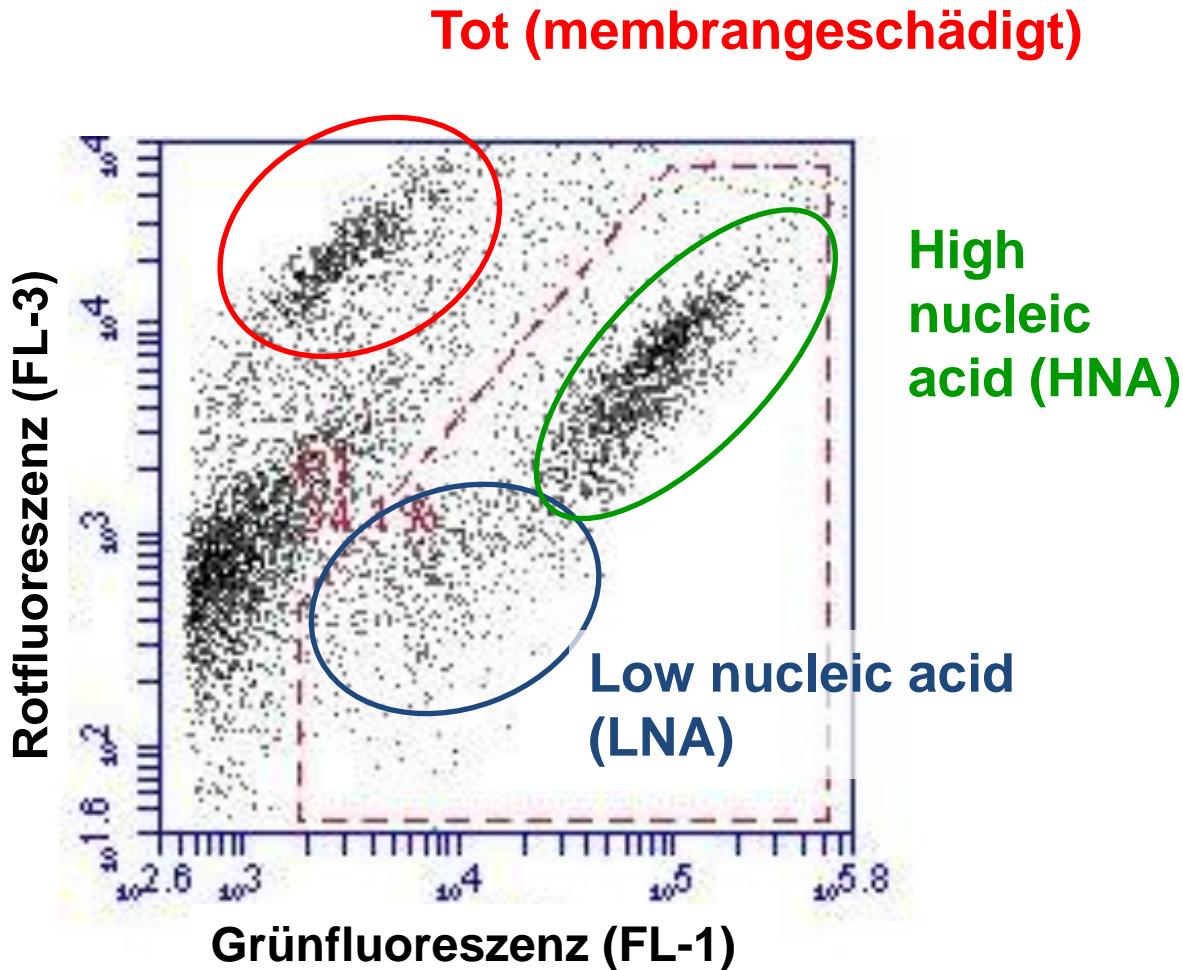
Die Mikrobiologie in der Wassermatrix
unterliegt einer permanenten
Umwälzung. Diese wird mit kulturellen
Verfahren nicht sichtbar.

- *Pseudomonas aeruginosa* in Hausinstallationen
- Microbial Source Tracking
- UV Effizienzmessung
- Durchflusszytometrie als Bsp. einer **aktuell-werdenden diagnostischen Methode**
- Kultivation vs. Kultivations-unabhängig: Rivalität oder Synergie?

Prinzip der Durchflußzytometrie

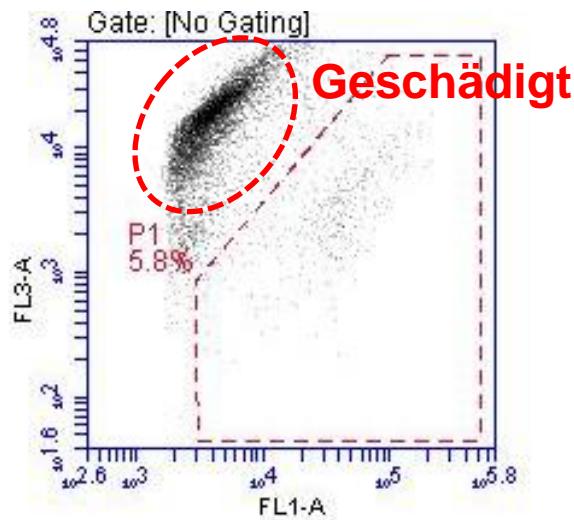


Beispiel für mikrobiologisches Trinkwasserprofil

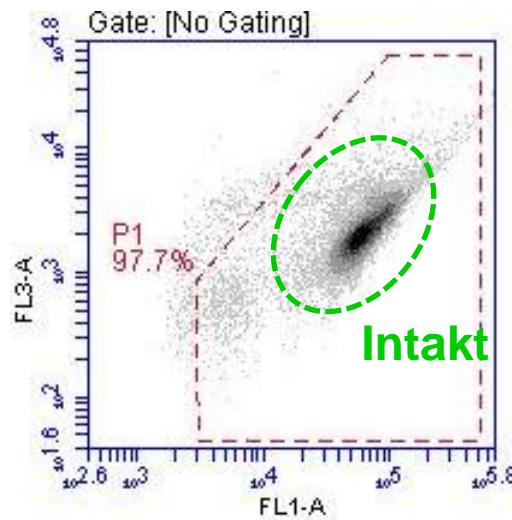


- Detektion beruht auf Färbung mit Fluoreszenzfarbstoffen
- Zeitaufwand: 15 min
- Jedes Signal stellt eine Zelle dar
- Im roten Feld: Signale von intakten Bakterien

Tag 0



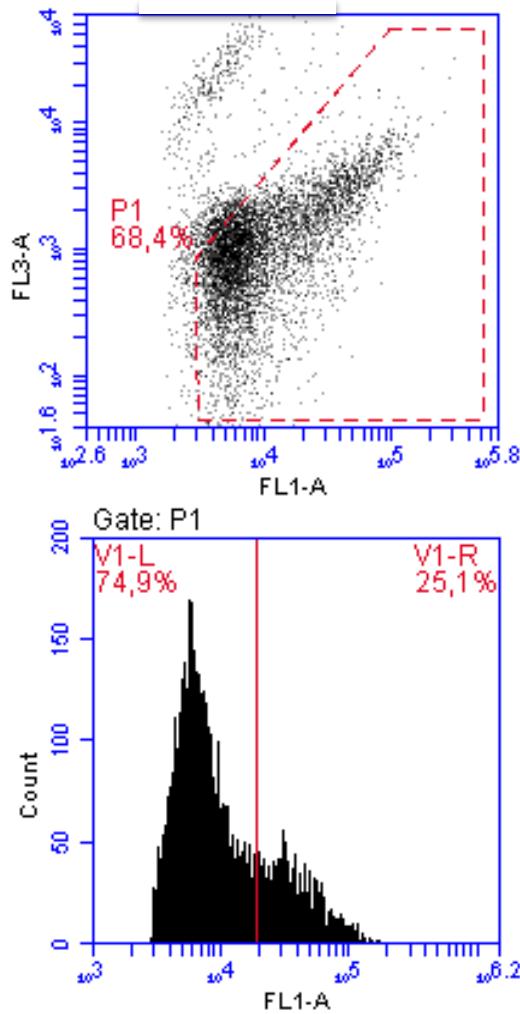
Tag 7



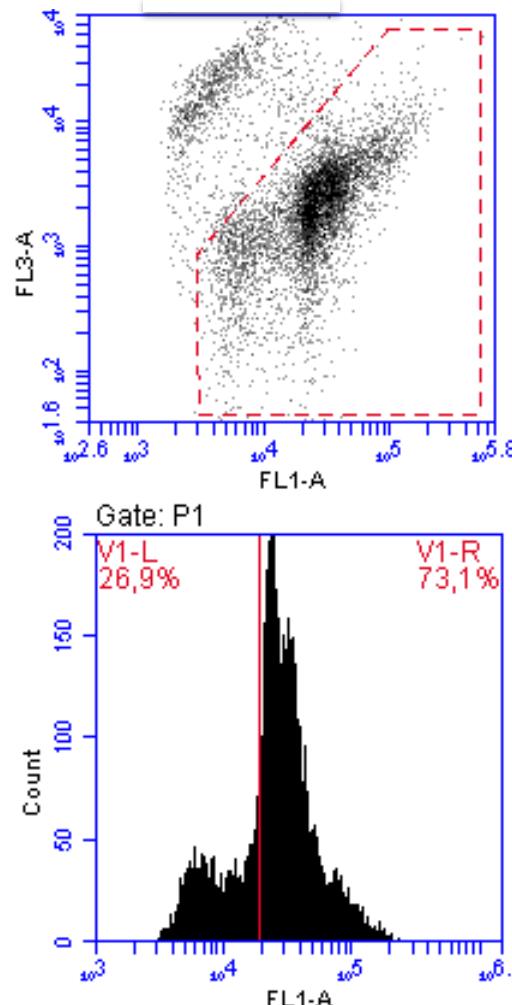
Alte Biomasse kann effizient in neue Biomasse umgewandelt werden. Der Vorteil der Durchfluszytometrie ist, auch TOTE Biomasse quantifizieren zu können.

Mehrwert durch alternative Diagnostik

Werksausgang



Verteilung



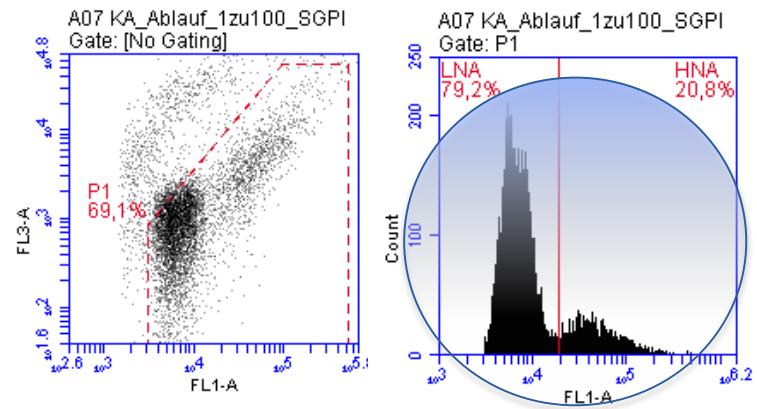
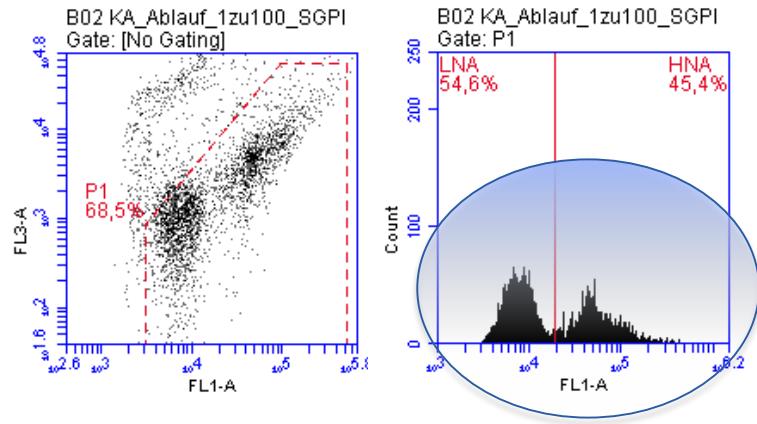
Beide Proben mikrobiologisch unauffällig.

Risikobewertung beruht sowohl auf Zellzahlen als auch auf Möglichkeit, Veränderungen in Populationen zu erkennen.

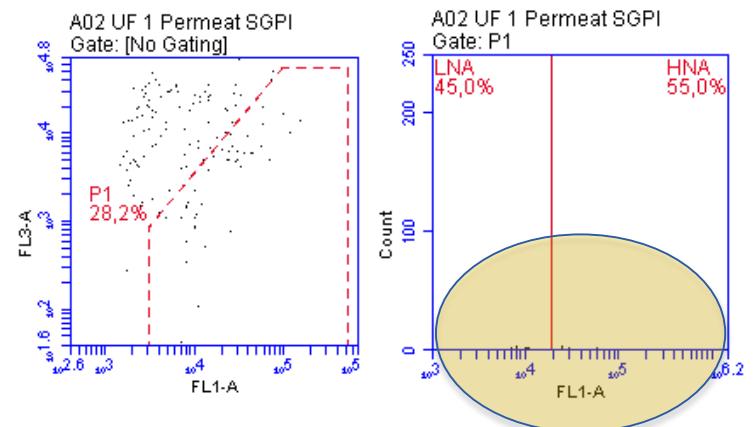
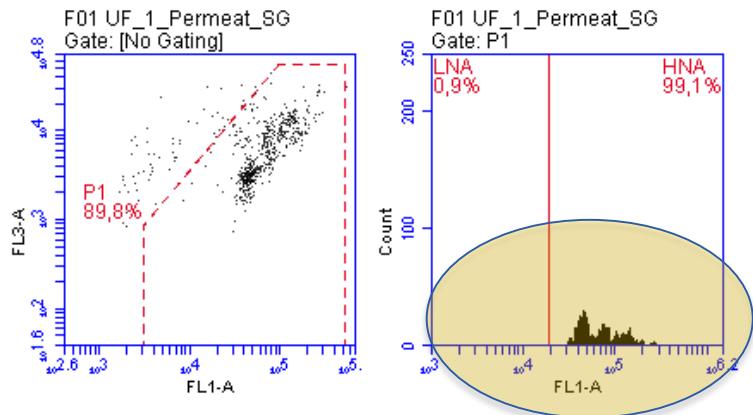
diskontinuierlich

kontinuierlich

Zulauf-Beschickung



Permeat



- Mikrobiologie des Rohwasser unterliegt Schwankungen
- Verkeimung kann schnell detektiert werden

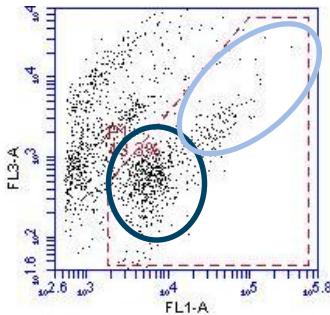
Detektion anthropogener Nährstoffeinträge

Eintrag geklärten Abwassers in Bach

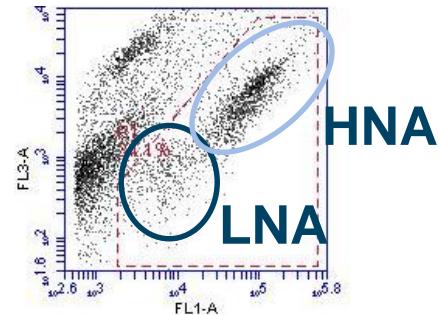


The diagram illustrates a river bend with two points labeled A and B. Point A is at the top left, and Point B is at the bottom right. A blue arrow labeled "Flow" points from Point B towards Point A, indicating the direction of water flow. A yellow arrow points downwards from the text "Eintragspunkt" towards Point A, indicating the location where a tributary enters the main river.

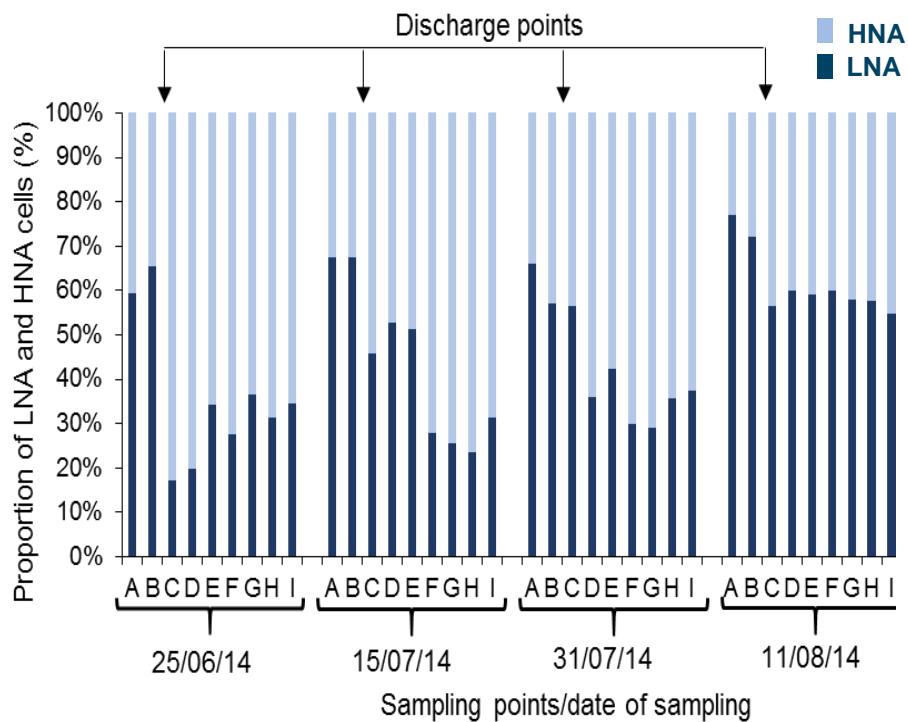
(A) Oberhalb



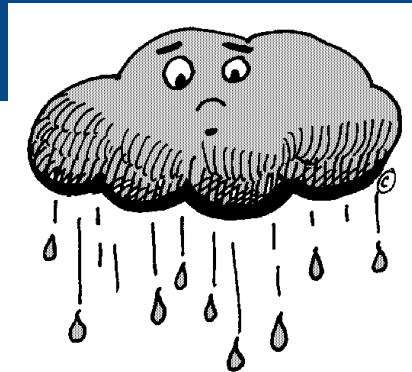
(B) Unterhalb



Eintrag bedingt starken Anstieg in HNA:

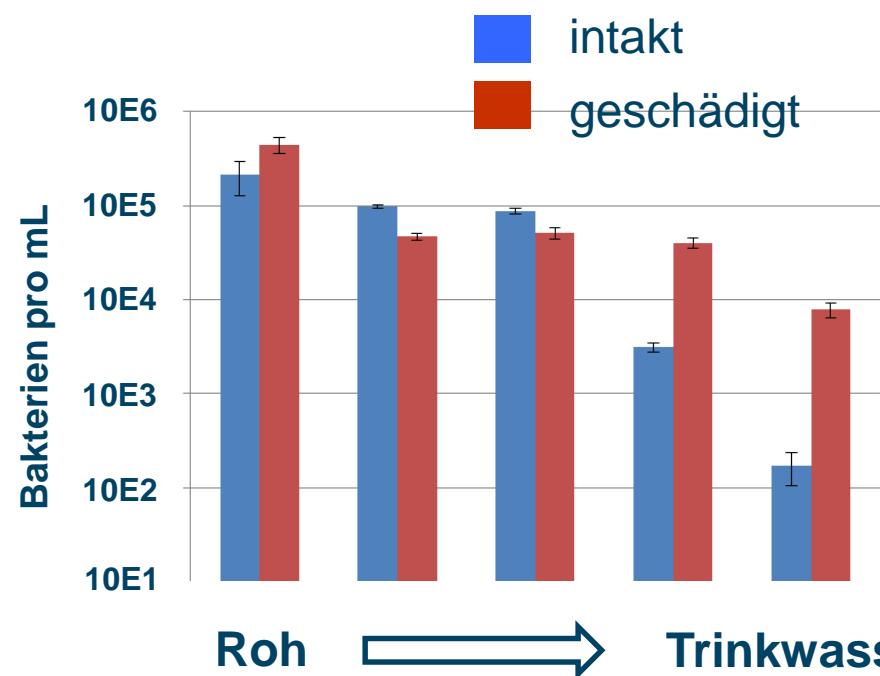


Wettereinflüsse

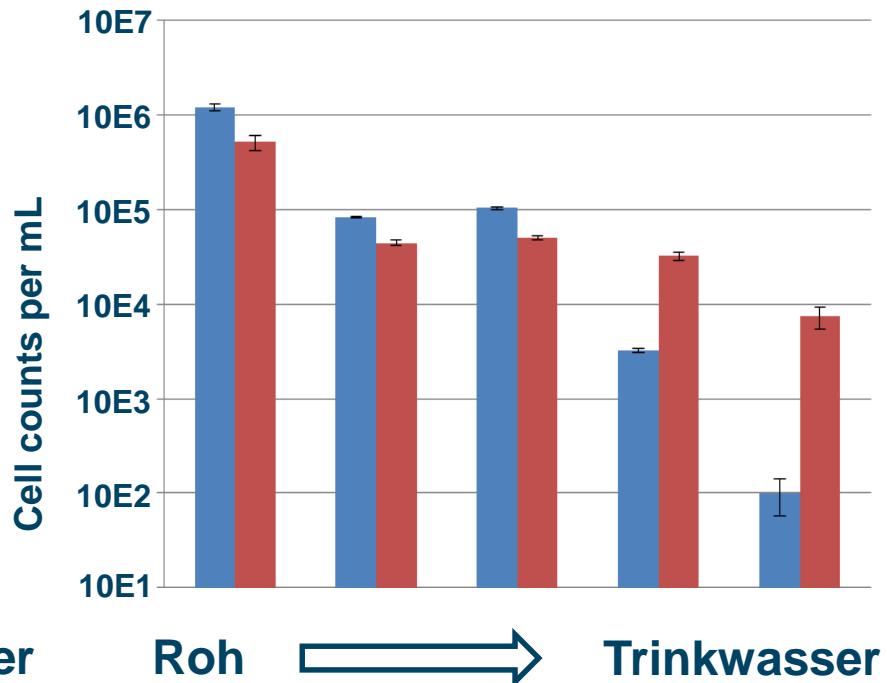


Regen

Montag



Freitag



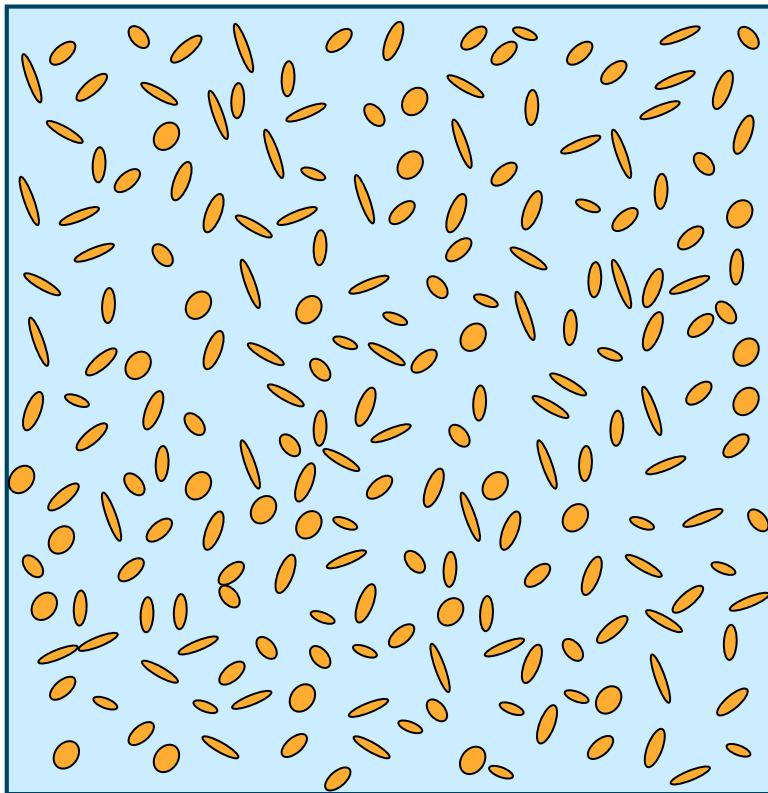
- *Pseudomonas aeruginosa* in Hausinstallationen
- Microbial Source Tracking
- UV Effizienzmessung
- Durchflusszytometrie als Bsp. einer aktuell-werdenden diagnostischen Methode
- **Kultivation vs. Kultivations-unabhängig: Rivalität oder Synergie?
(Beispiel Durchflusszytometrie)**

Kultivation: 18 h – 18 Wochen

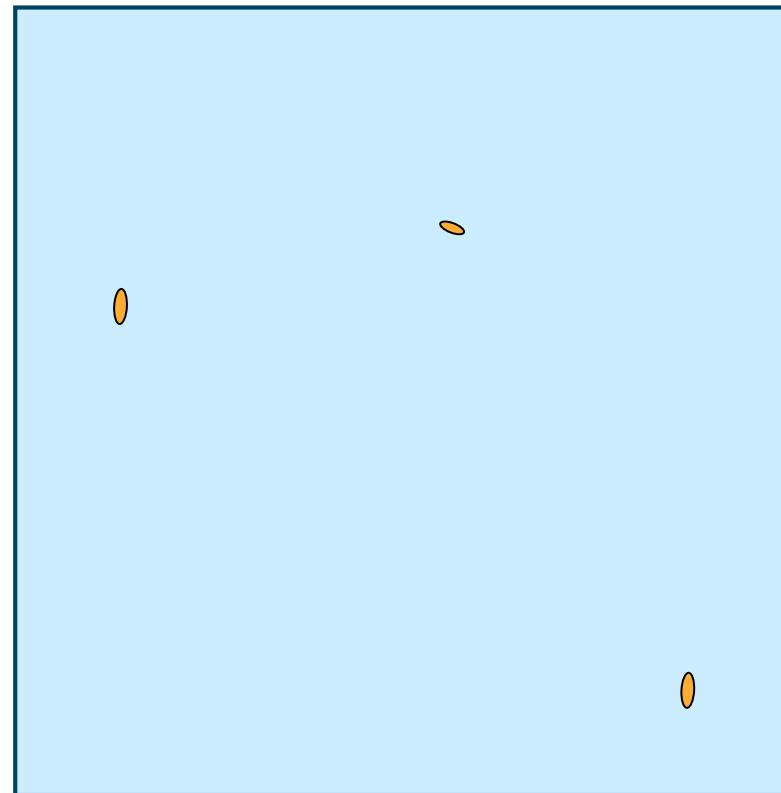
Alternativ: meist Stunden

Wieviel sieht man?

nicht-kulturell



kulturell



Die grosse Mehrheit der Mikroorganismen sind nicht kultivierbar und selbst die kultivierbaren wachsen nicht immer.

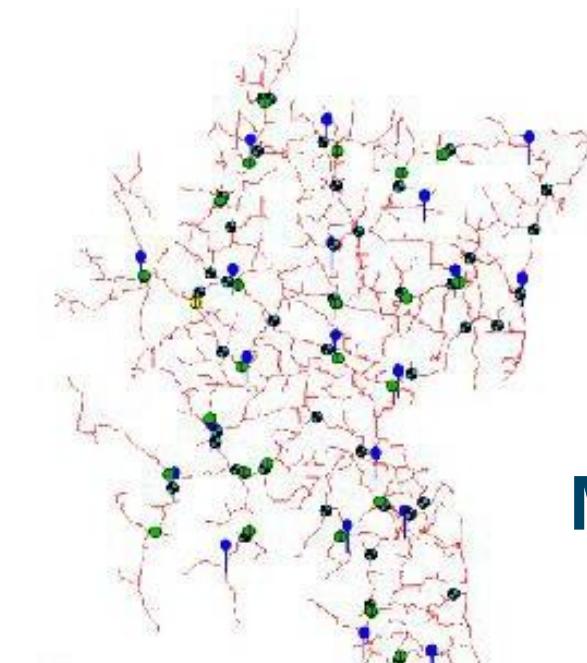
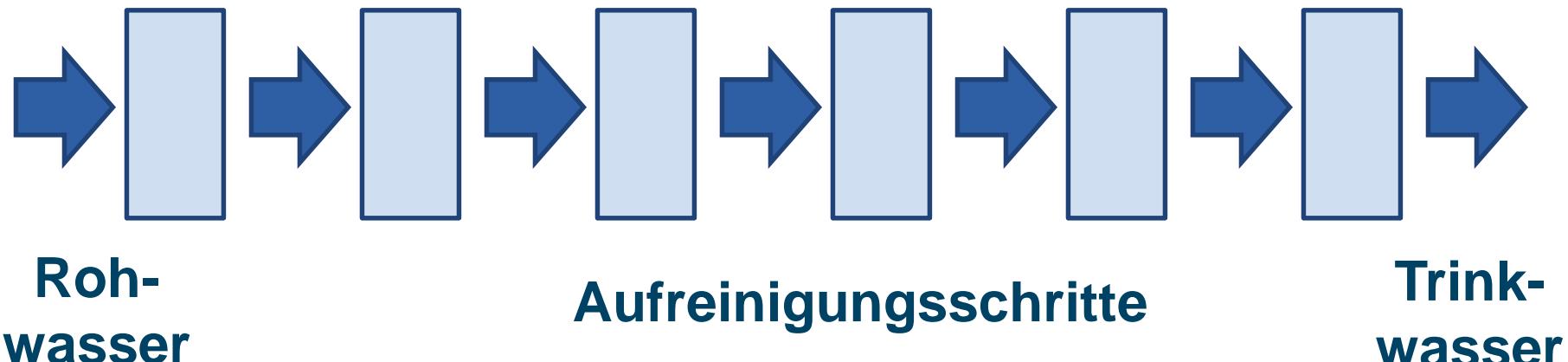
Hürden für kultivationsunabhängige Methoden

- Problematische Unterscheidung zw. lebend und tot**
- Wenig bis nicht standardisiert**
- Gesamtzellzahl: Mikrobiologische ‚Relativität‘ (jedes Wasser hat andere Belastung („alles ist relativ“))**
- Mangelnde Sensitivität (man weist nicht mal so schnell ein *E. coli* in 100 ml nach...)**
- „Overmarketing“ durch Kommerzialisierung**

Stärken der klassischen Kulturverfahren

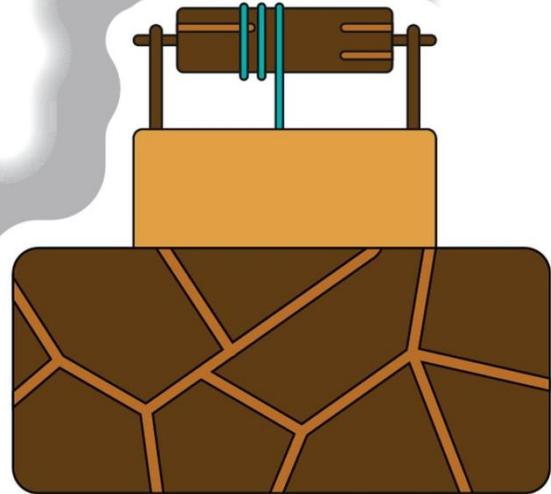


Stärken nicht-kultureller Verfahren



Monitoring des Verteilungsnetz

Kulturell vs. nicht-kulturell (z.B. DFZ)



Hygienischer Fokus

**Operativer Fokus
(HACCP-kompatibel)**

VIELEN DANK

