

# MEHRWERT KULTIVATIONSUNABHÄNGIGER METHODEN ZUR ERKENNUNG MIKROBIOLOGISCHER VERÄNDERUNGEN IN WASSER

WaBoLu  
Fortbildungstagung für Wasserfachleute 2017

Andreas Nocker, Gabriela Schaule

- ***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.

- *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**

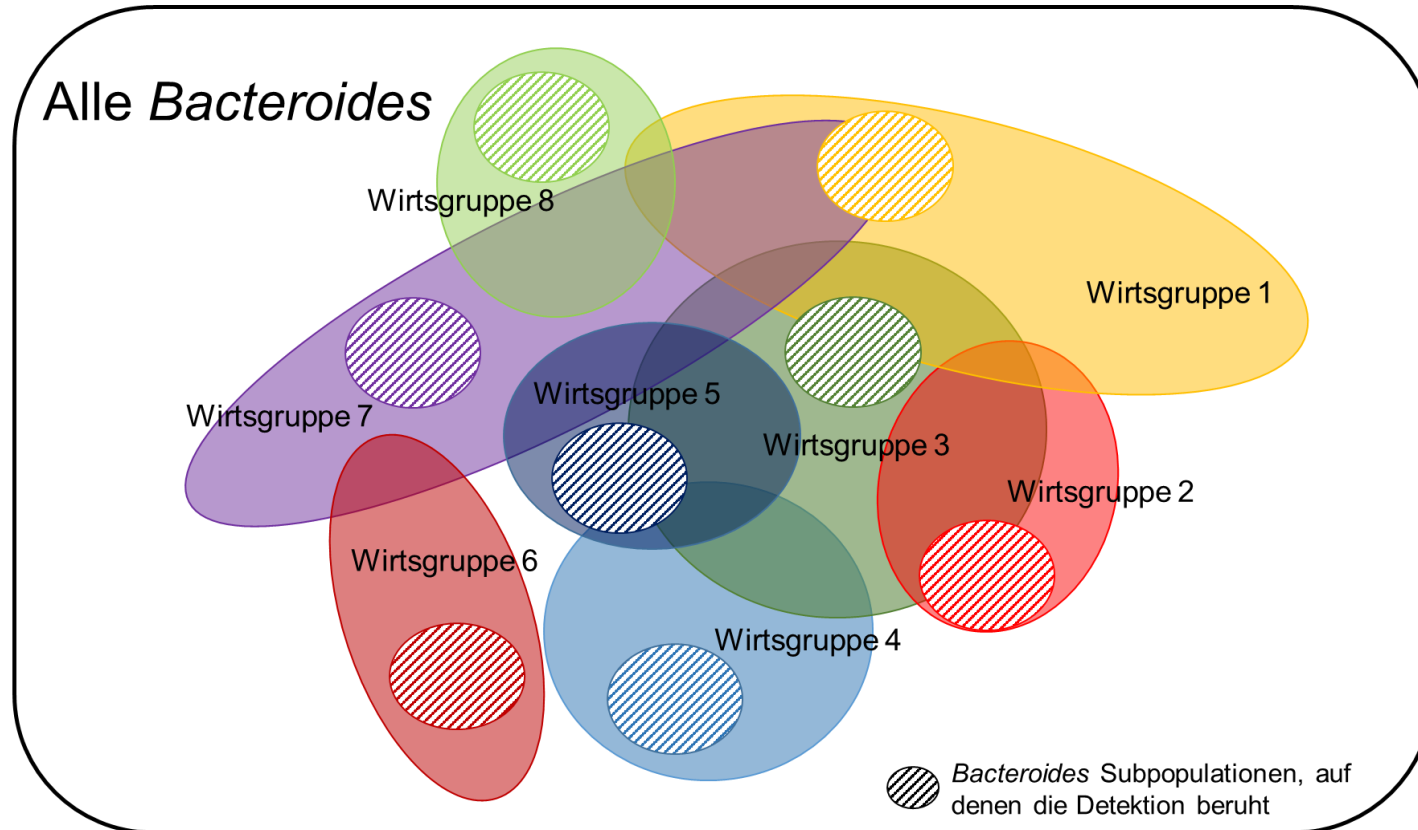
**Pferde**

**Vögel**

**Menschen**

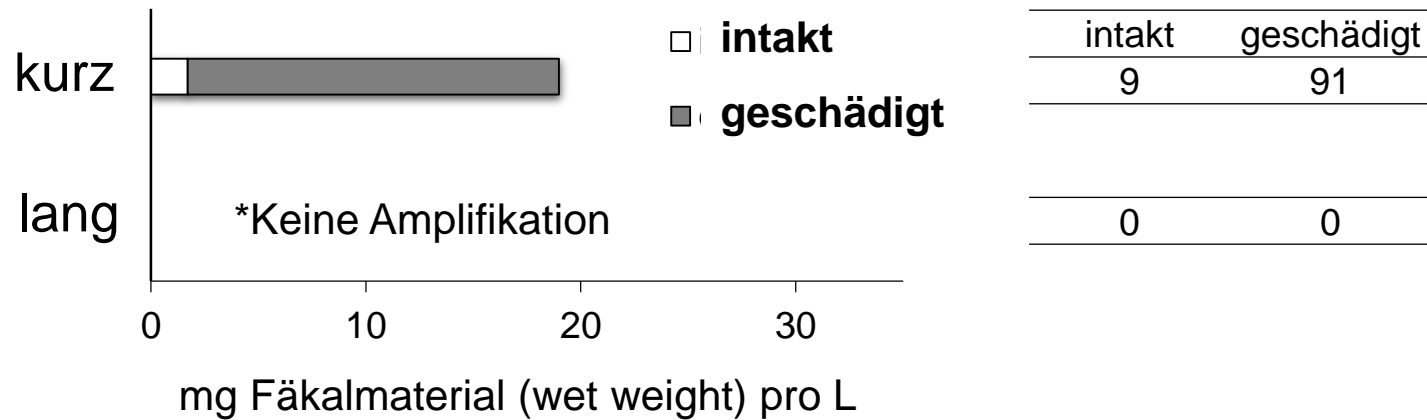
**Hunde**

# Microbial Source Tracking



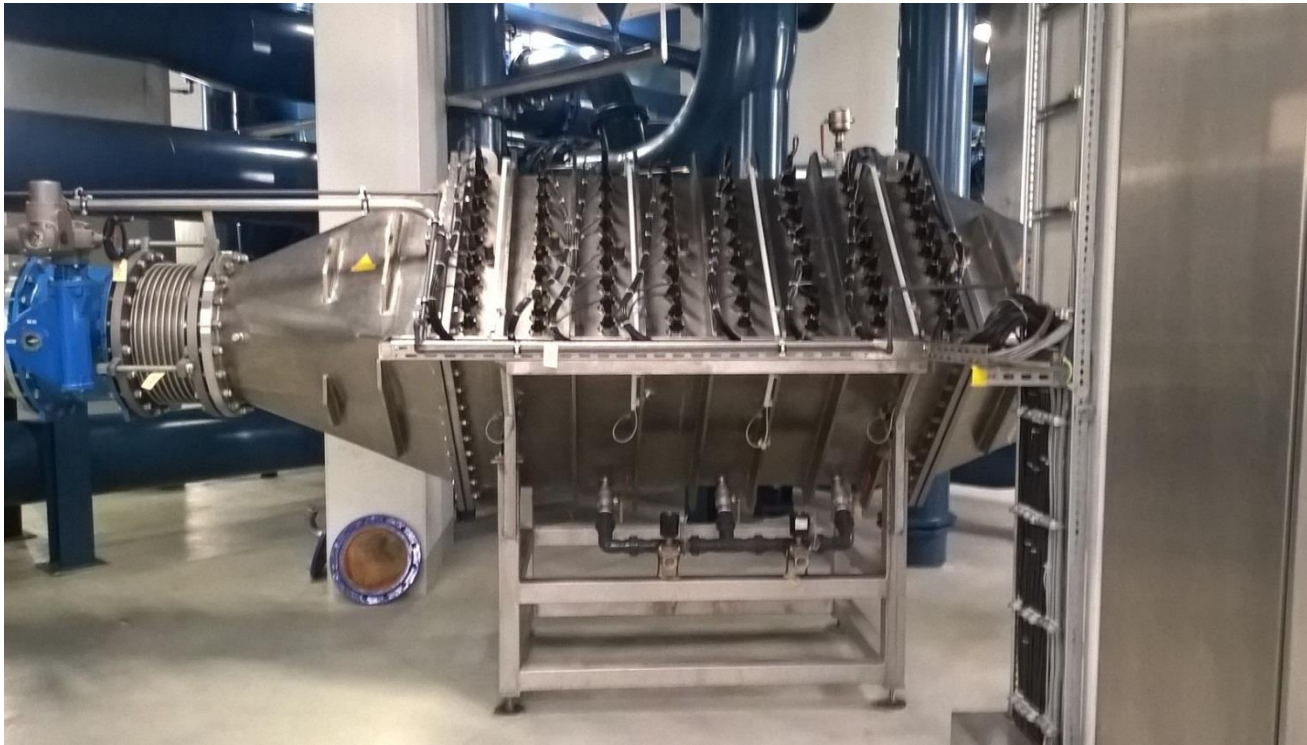
**Prinzip des Microbial Source Tracking.** *Bacteroides* Subpopulationen (schraffierte Kreise) mit möglichst hoher Wirtsspezifität werden mittels spezif. *Bacteroides*-Primern amplifiziert. Die Gesamtheit der *Bacteroides* Population kann mit universalen *Bacteroides* Primern (=Allbac) nachgewiesen werden.

# MST: Wichtigkeit technischer Parameter



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

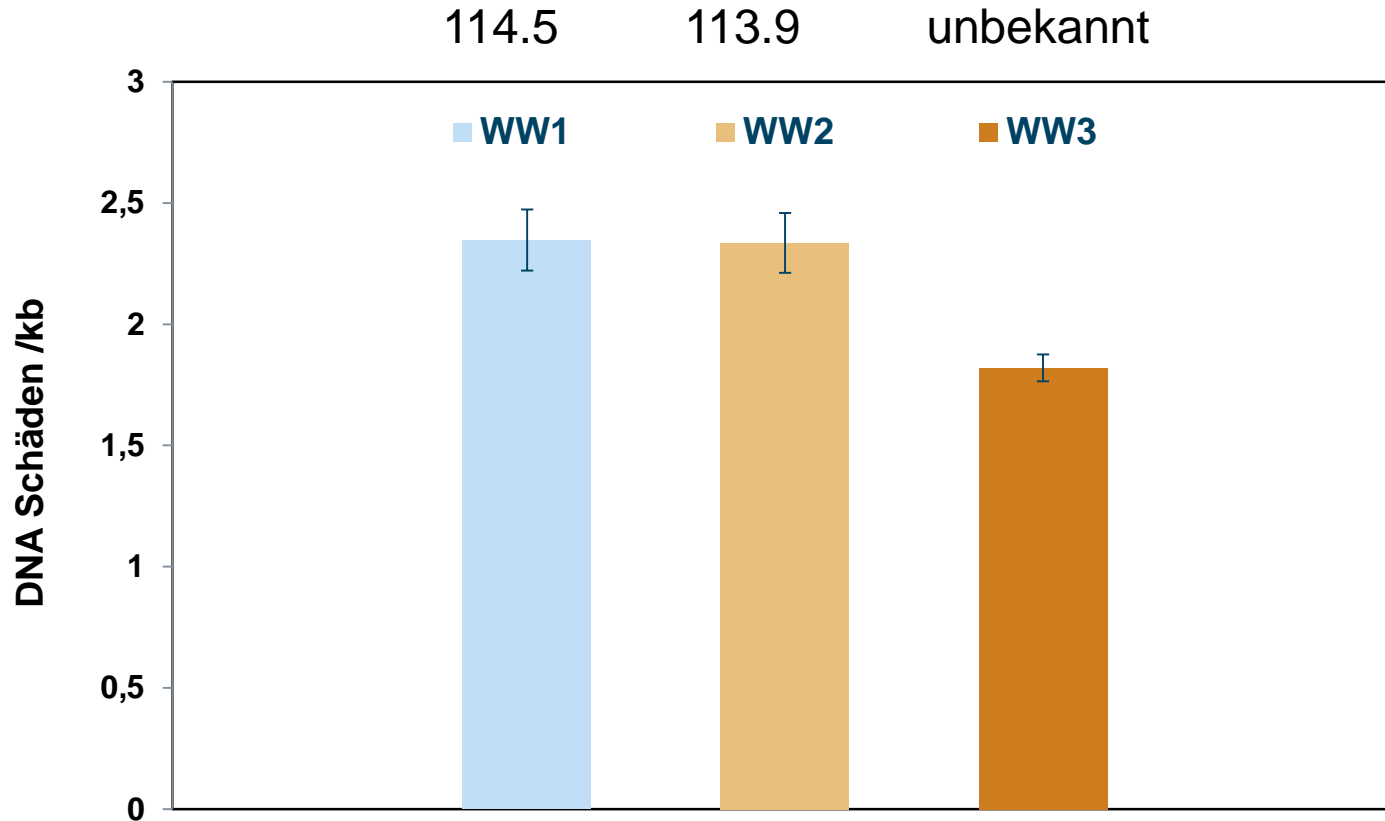
- *Pseudomonas aeruginosa* in Hausinstallationen
- Microbial Source Tracking
- **UV Effizienzmessung**
- Durchflusszytometrie als Bsp. einer aktuell-werdenden diagnostischen Methode
- Kultivation vs. Kultivations-unabhängig: Rivalität oder Synergie?



# Messung der Effizienz von UV-Desinfektion mittels qPCR

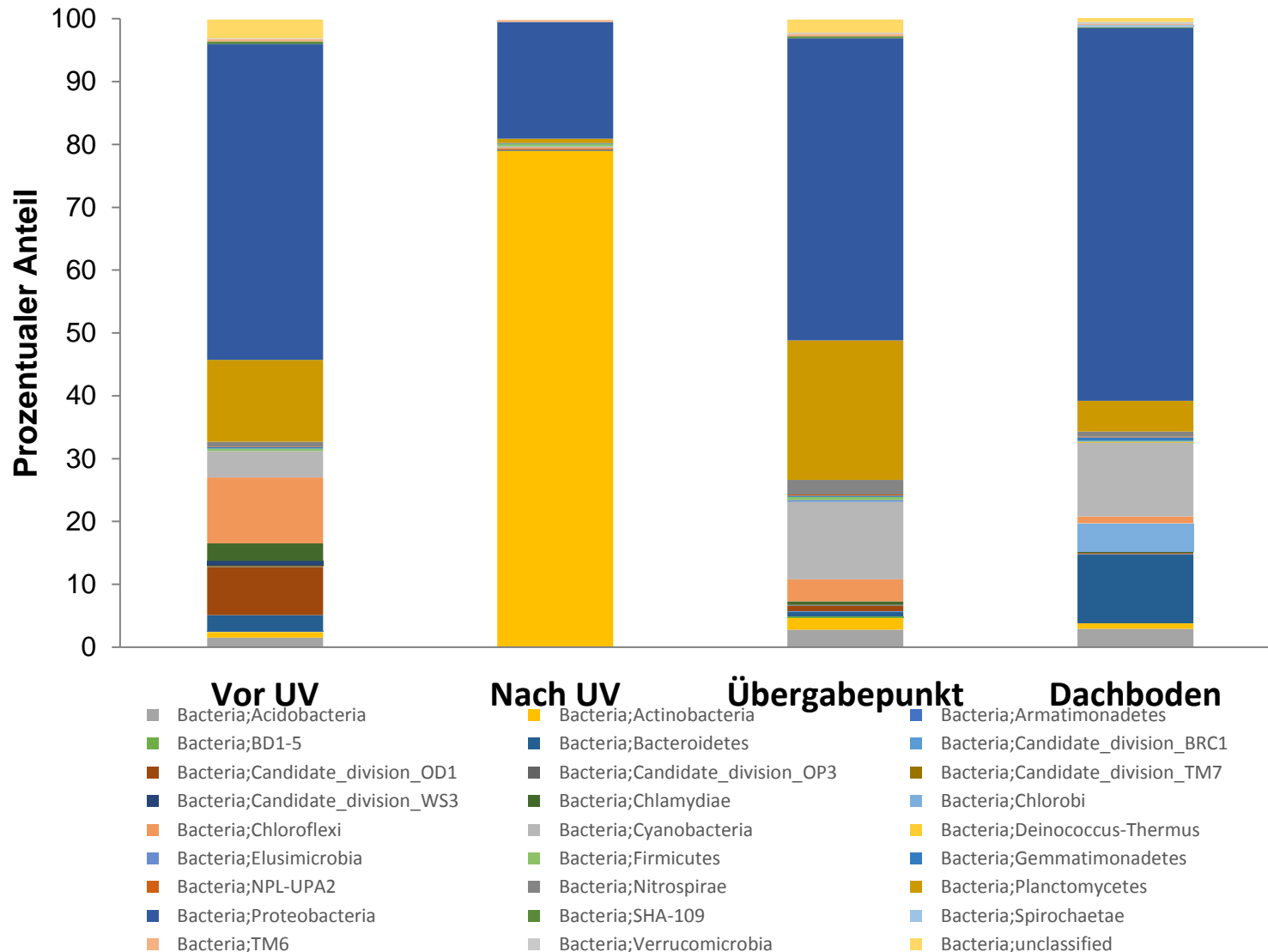
Vergleich von 3 Wasserwerken

UV-C Dosis in  $\text{mJ cm}^{-2}$



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.

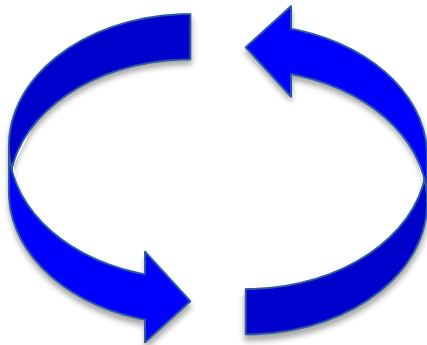
# Beispiel: mikrobielle Dynamik nach UV Desinfektion





Biologisch 'stabiles'  
Wasser

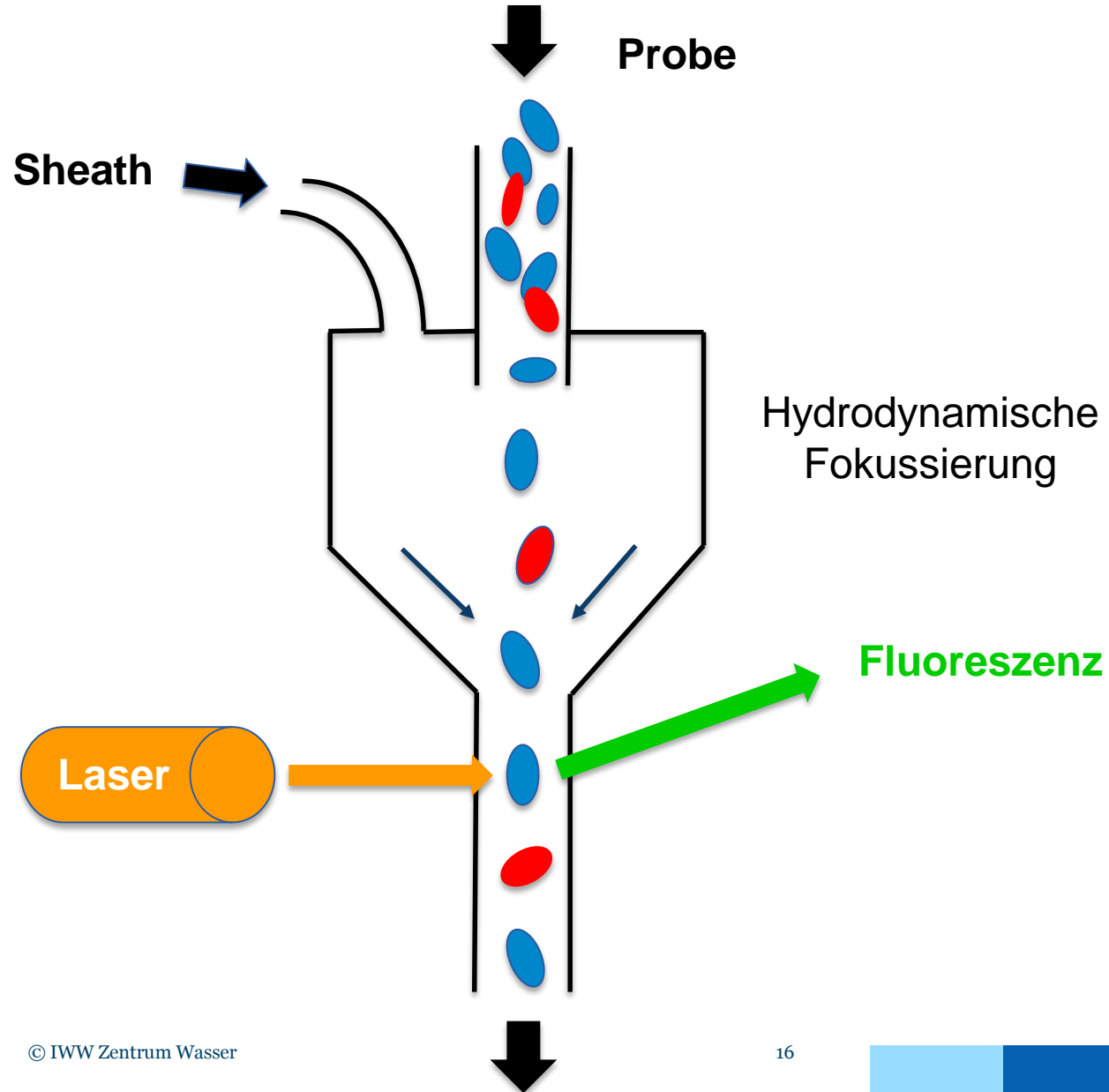
**Gesamtkoloniezahl**



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

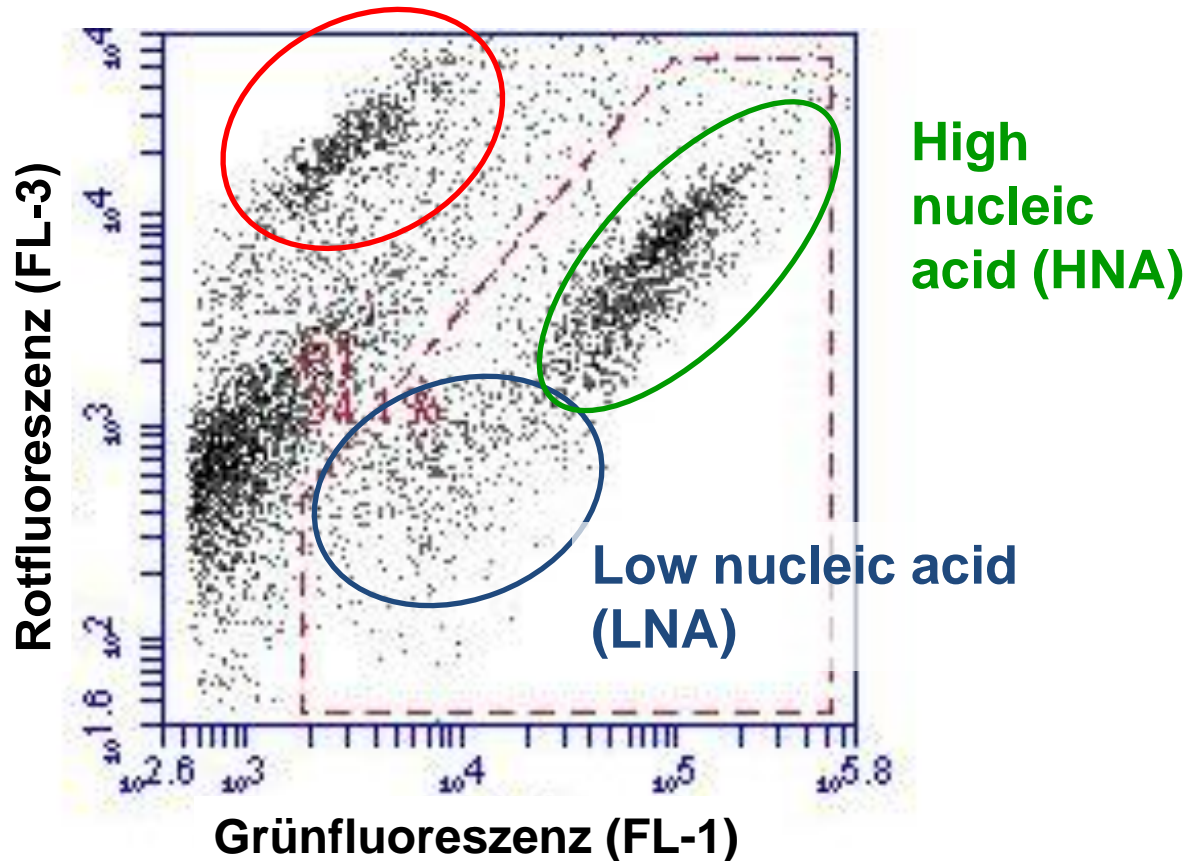
- *Pseudomonas aeruginosa* in Hausinstallationen
- Microbial Source Tracking
- UV Effizienzmessung
- **Durchflusszytometrie als Bsp. einer aktuell-werdenden diagnostischen Methode**
- Kultivation vs. Kultivations-unabhängig: Rivalität oder Synergie?

# Prinzip der Durchflußzytometrie



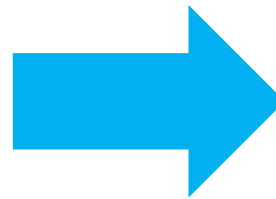
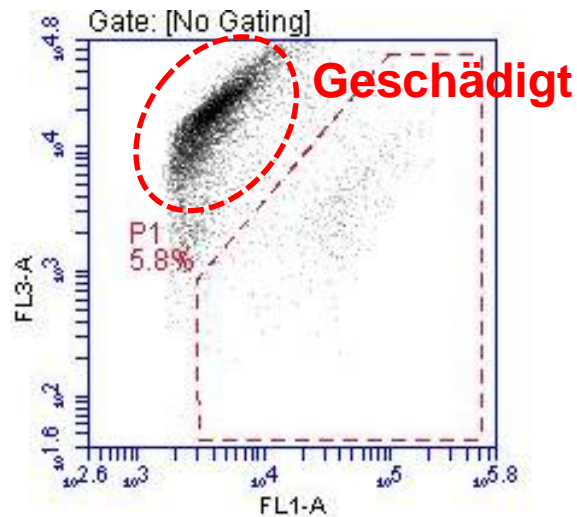
# Beispiel für mikrobiologisches Trinkwasserprofil

**Tot (membrangeschädigt)**

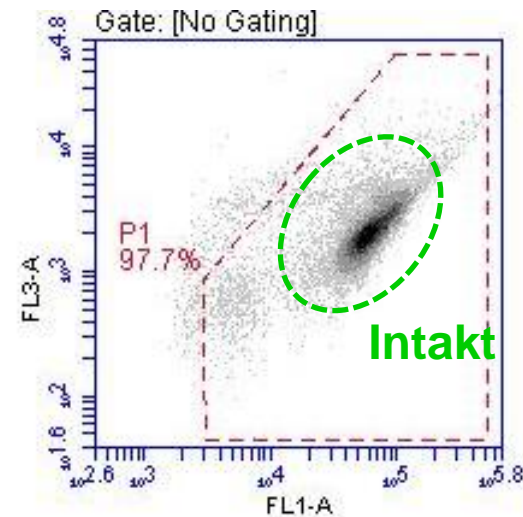


- Detektion beruht auf Färbung mit Fluoreszenzfarbstoffen
- Zeitaufwand: 15 min
- Jedes Signal stellt eine Zelle dar
- Im roten Feld: Signale von intakten Bakterien

Tag 0

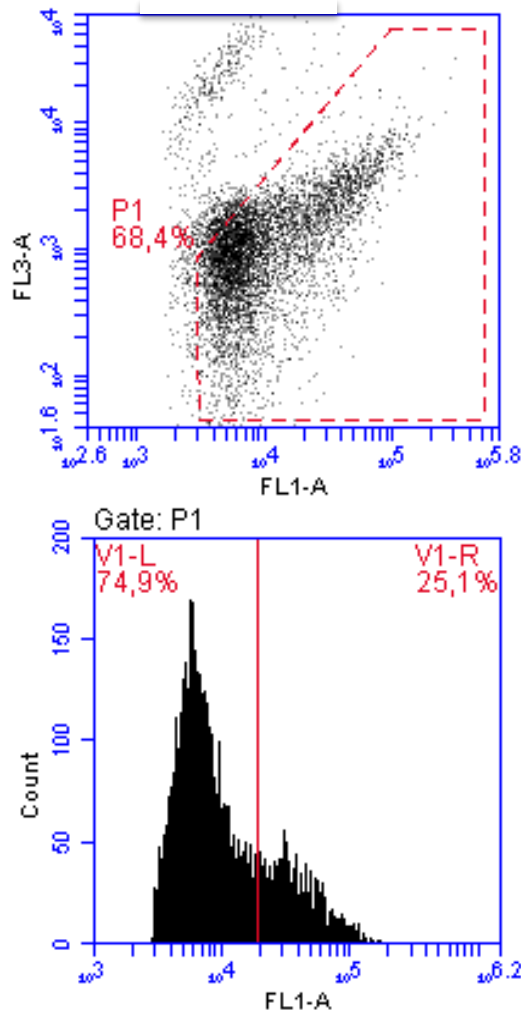


Tag 7

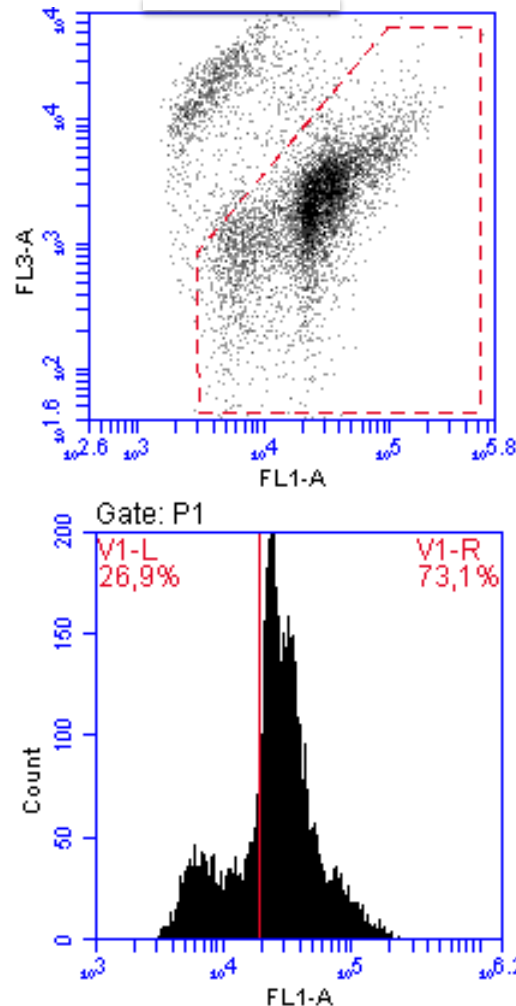


Alte Biomasse kann effizient in neue Biomasse umgewandelt werden. Der Vorteil der Durchflusszytometrie ist, auch TOTE Biomasse quantifizieren zu können.

## Werksausgang



## Verteilung



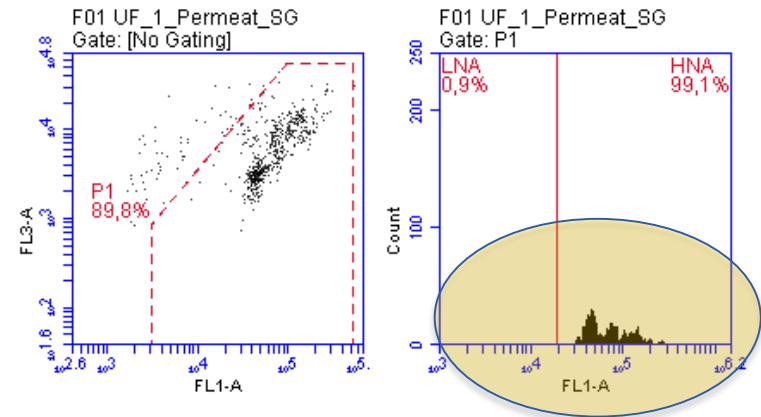
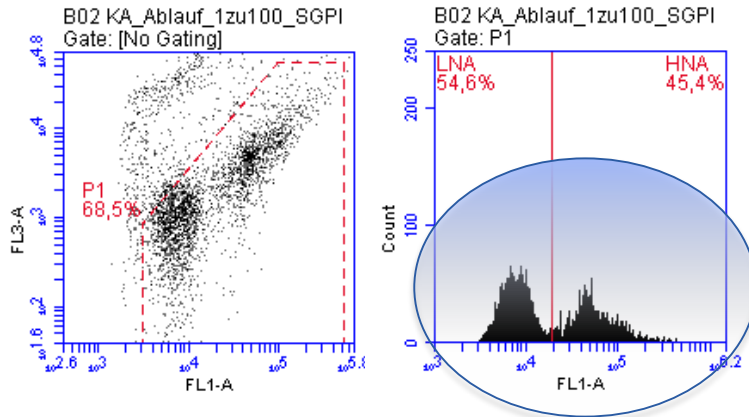
Beide Proben  
mikrobiologisch  
unauffällig.

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

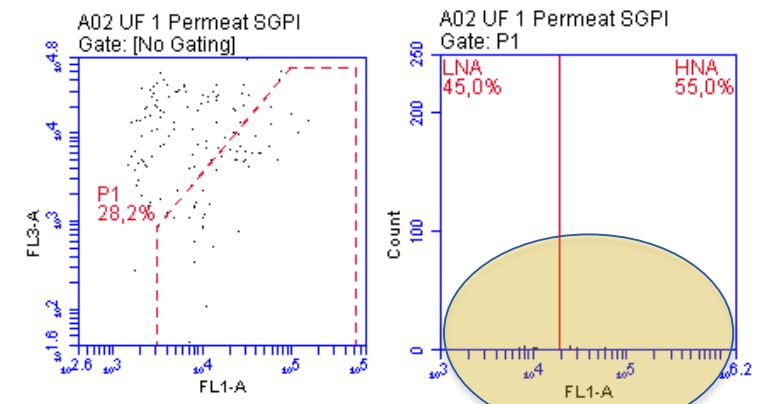
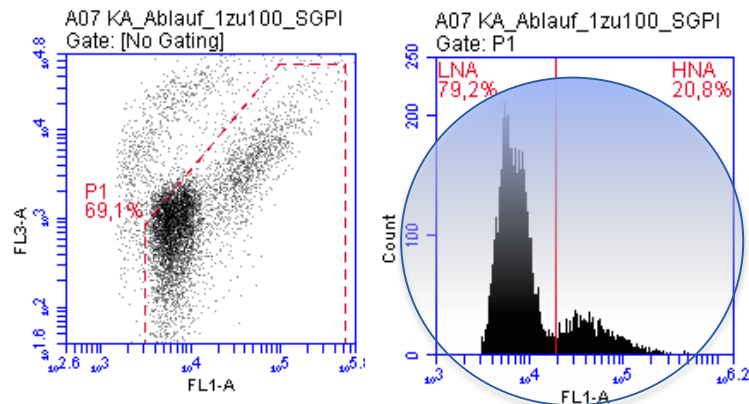
## Zulauf-Beschickung

## Permeat

diskontinuierlich



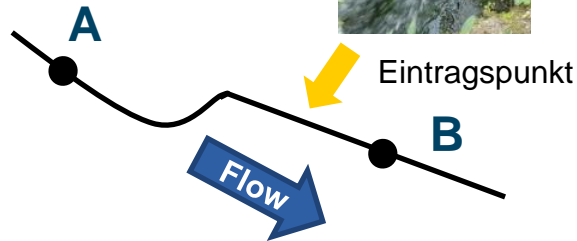
kontinuierlich



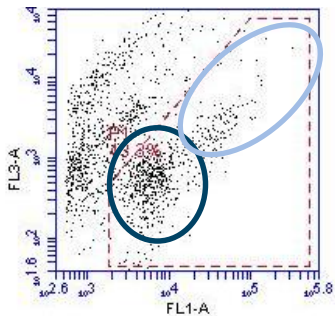
- Mikrobiologie des Rohwasser unterliegt Schwankungen
- Verkeimung kann schnell detektiert werden

# Detektion anthropogener Nährstoffeinträge

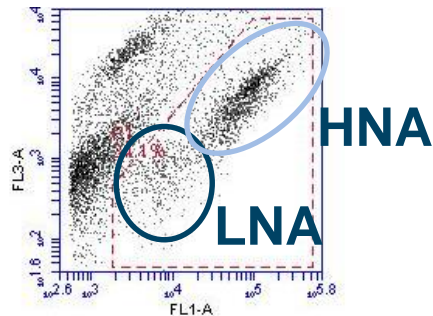
Eintrag geklärten Abwassers in Bach



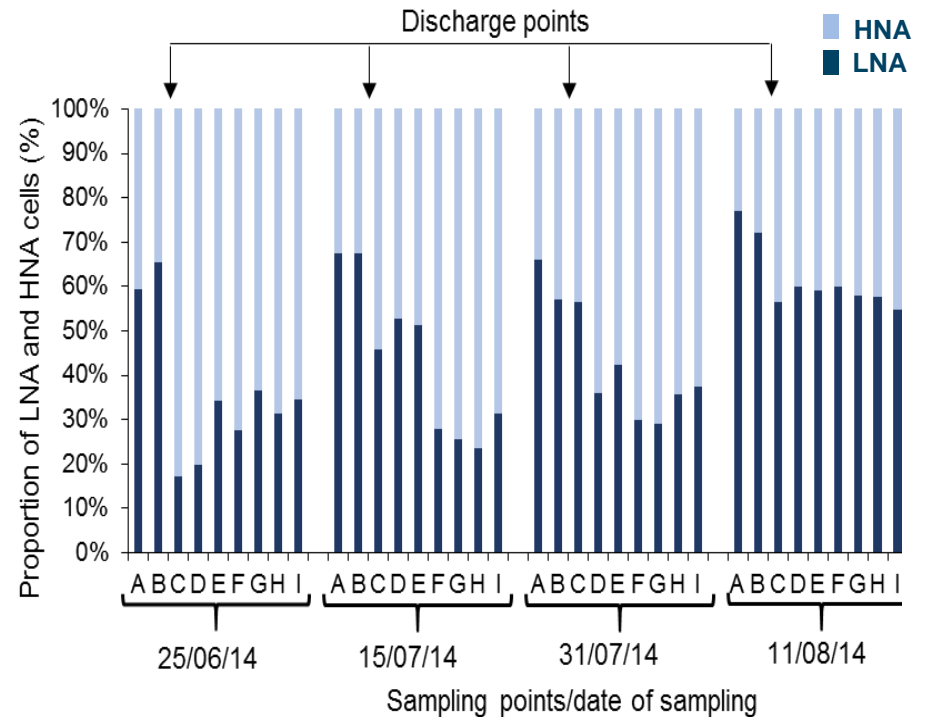
(A) Oberhalb

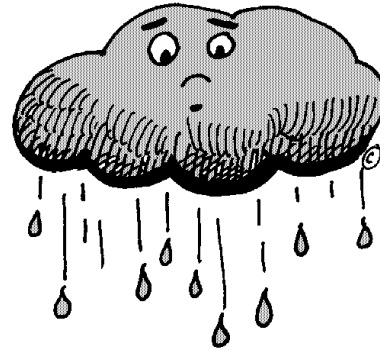


(B) Unterhalb



Eintrag bedingt starken Anstieg in HNA:





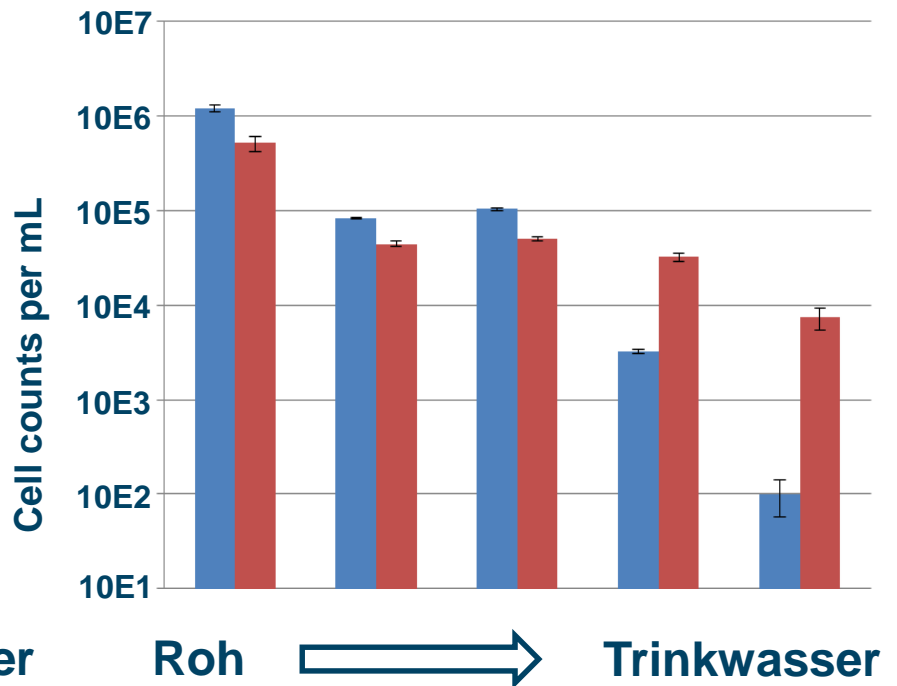
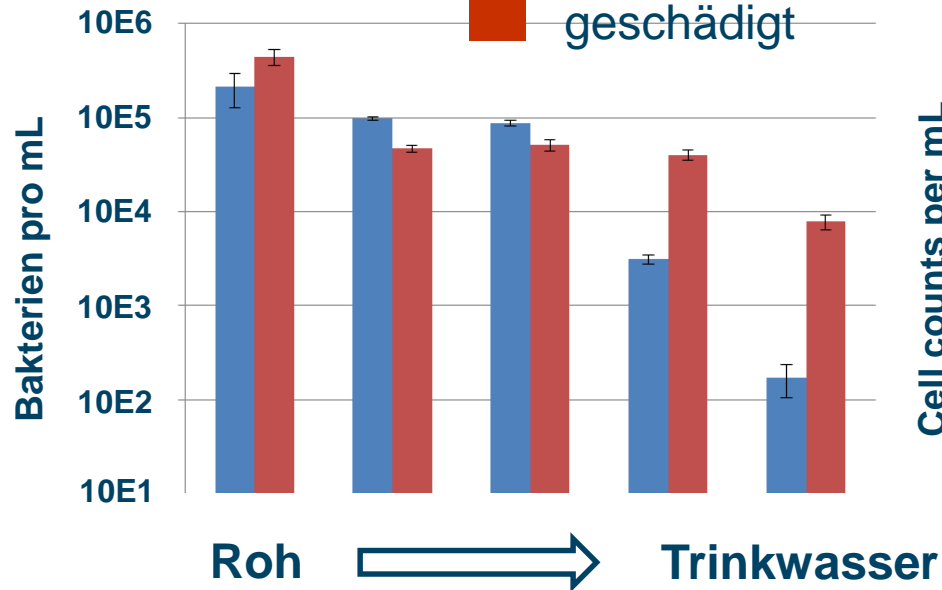
Regen



Montag

Freitag

■ intakt  
■ geschädigt



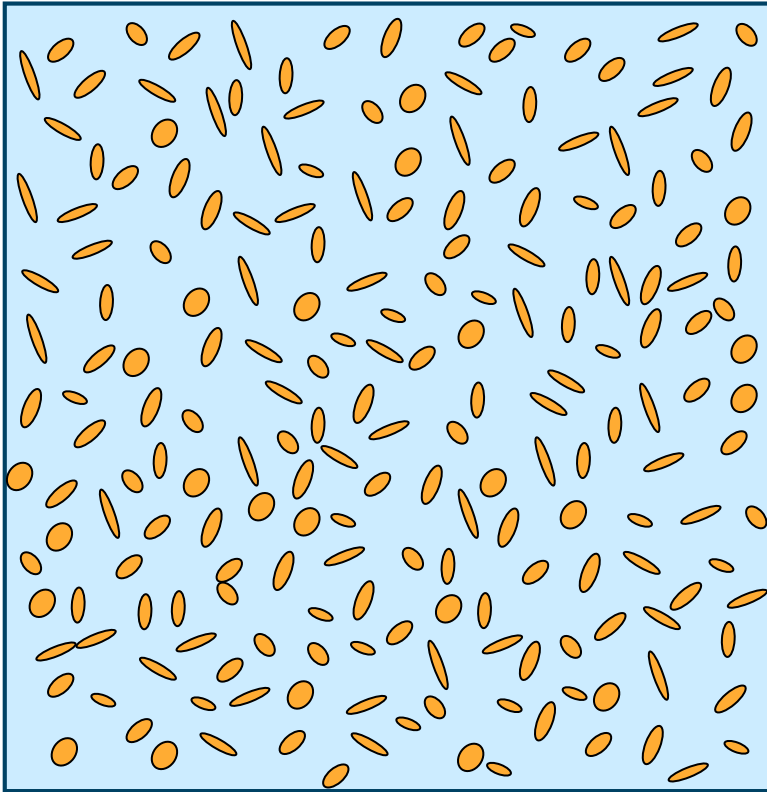
- *Pseudomonas aeruginosa* in Hausinstallationen
- Microbial Source Tracking
- UV Effizienzmessung
- Durchflusszytometrie als Bsp. einer aktuell-werdenden diagnostischen Methode
- **Kultivation vs. Kultivations-unabhängig: Rivalität oder Synergie?**  
**(Beispiel Durchflusszytometrie)**

**Kultivation: 18 h – 18 Wochen**

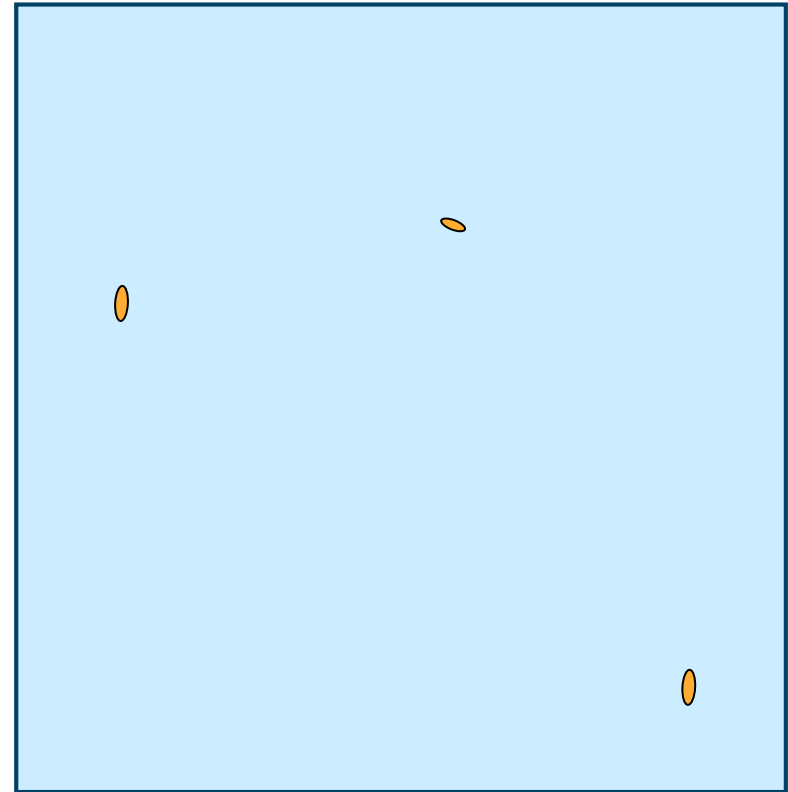
**Alternativ: meist Stunden**

# Wieviel sieht man?

**nicht-kulturell**



**kulturell**



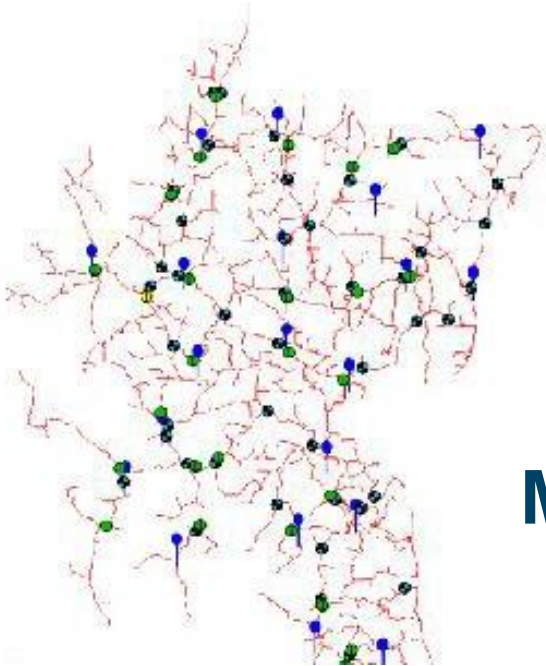
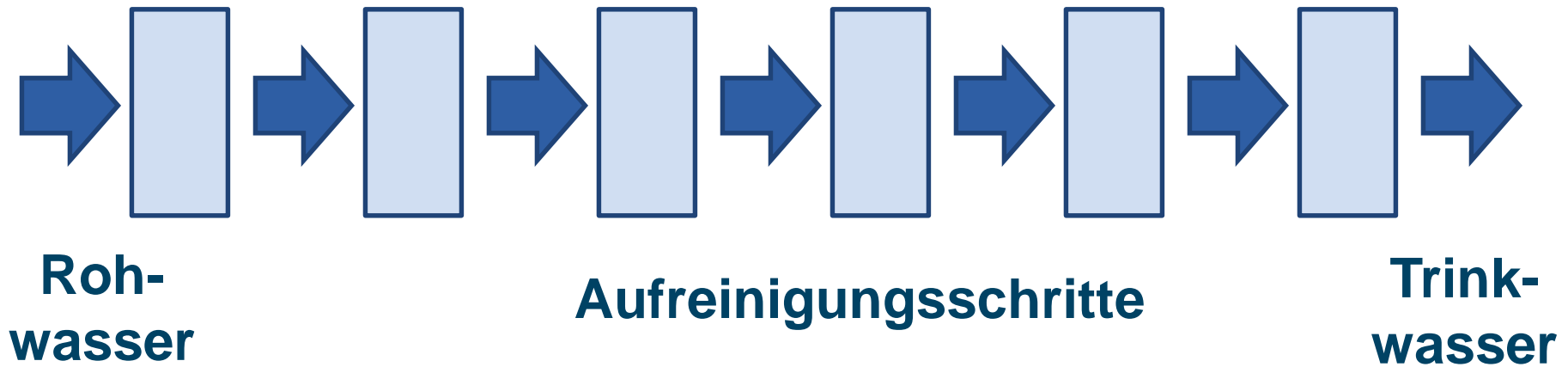
Die grosse Mehrheit der Mikroorganismen sind nicht kultivierbar und selbst die kultivierbaren wachsen nicht immer.

- ❑ **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

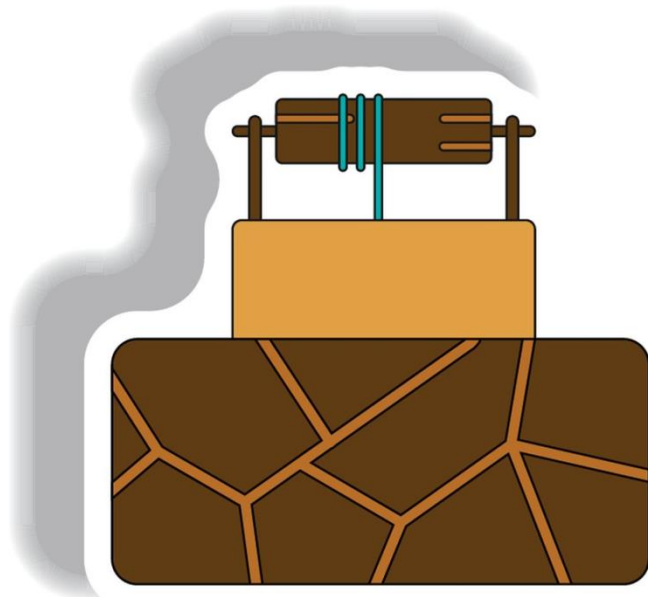


# Stärken nicht-kultureller Verfahren



**Monitoring des Verteilungsnetz**

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



**Hygienischer Fokus**

**Operativer Fokus**  
(HACCP-kompatibel)

# VIELEN DANK

