

# **Mikrobiologische Gefährdungen im Rohwasser – welche Parameter müssen wir untersuchen?**

Hartmut Willmitzer, Dr. Peter Renner, Dr. Irmgard Feuerpfeil und Heidrun Müller

## Inhalt

**Ausgangssituation**

**Methodische Hinweise**

**Beispiel: Labor- und Betriebsdaten zur Charakterisierung eines Wassergewinnungssystems**

**Eignung von Indikatoren**

**Ausblick**

# Inhalt

## Ausgangssituation

Methodische Hinweise

Beispiel: Labor- und Betriebsdaten zur Charakterisierung eines Wassergewinnungssystems

Eignung von Indikatoren

Ausblick

# Grenzwerte eingehalten - alles in Ordnung?



Stichprobe am Zapfhahn



# Bewertung des Gesamtsystems

- WHO Guidelines for drinking-water quality
- DVGW, W 1001
- EU-RL 2015/1787 (Annexe II+III)



## Empfehlungen

Bundesgesundheitsbl 2014 · 57:1224–1230  
DOI 10.1007/s00103-014-2039-8  
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Empfehlung des Umweltbundesamtes

## Vorgehen zur quantitativen Risikobewertung mikrobiologischer Befunde im Rohwasser sowie Konsequenzen für den Schutz des Einzugsgebietes und für die Wasseraufbereitung

Empfehlung des Umweltbundesamtes nach Anhörung der Trinkwasserkommission

### Einleitung

Die vorliegende Empfehlung richtet sich in erster Linie an Trinkwasserversorgungsunternehmen und Gesundheitsämter.

An die Qualität von Trinkwasser werden in Deutschland hohe Anforderungen gestellt, da es sich um ein unverzichtbares, nicht zu substituierendes und verderblches Lebensmittel handelt. Die Beschaffenheit des Rohwassers variiert aufgrund der vielfältigen naturräumlichen Gegebenheiten (Böden, Geologie) in den Einzugsgebieten von Wassergewinnungsanlagen. Bei der Rohwassergewinnung und Aufbereitung zu Trinkwasser sind die Anforderungen der Trinkwasserverordnung [1] als Maßstab und gesetzlicher Rahmen einzuhalten. Neben den darin festgelegten Mindestanforderungen fordert diese die Einhaltung der allgemein anerkannten Regeln der Technik.

Verbesserungen der Rohwasserbeschaffenheit bzw. die Absicherung erreichter Qualität sind durch ein vielfältiges Bündel nicht nur technischer, sondern auch organisatorischer und personeller Maßnahmen in der Prozesskette von der Rohwasserressource über das Wasserwerk bis zum Zapfhahn möglich.

Dieser Ansatz wird als „Multi-Barrieref-Prinzip“ bezeichnet und zählt in Deutschland seit vielen Jahrzehnten zu den Eckpfeilern der Trinkwasserversorgung. Dabei gilt das Prinzip der Ursachenvermeidung: Der Ausschluss oder die Verhinderung von Qualitätsbeeinträchtigungen in den Prozessschritten hat Vorrang vor späteren Korrekturen, die aufwendig umzusetzen und ggf. nur bedingt wirksam sind. Zu beachten ist, dass jede Barriere ein wichtiges Element für das Funktionieren des Gesamtsystems ist – keine Barriere darf auf Kosten einer anderen vernachlässigt werden. Durch diese Schritte wird die notwendige Strukturqualität sichergestellt.

Der stichprobenartige Nachweis der infektionshygienischen Unbedenklichkeit von Trinkwasser als Maß für die Ergebnisqualität (Endproduktkontrolle) vorangegangener Gewinnungs- und Aufbereitungsprozesse erfolgt nach Trinkwasserverordnung durch die Messung konventioneller bakterieller Indikatororganismen (E. coli, coliforme Bakterien, Enterokokken) im aufbereiteten Trinkwasser und ggf. zusätzlich nach Desinfektion. Diese Vorgehensweise hat sich seit über 100 Jahren, insbesondere zur Beherrschung der damals wichtigsten wasserassoziierten Infektionskrankheiten, wie z. B. Cholera, Typhus, Shigellenruhr und Hepatitis A, bewährt. Sie wird für die Routineüberwachung des Trinkwassers auch weiterhin so beibehalten werden.

Fortschritte in der mikrobiologischen Analytik und der Epidemiologie sowie die wissenschaftliche Untersuchung von epidemisch verlaufenden Krankheitsausbrüchen haben jedoch gezeigt, dass nicht alle Krankheitserreger mit diesem Indikator- system sicher angezeigt werden. Dazu zählen insbesondere einige Viren sowie Parasitenstauerformen (Cryptosporidien und Giardien). Diese durch Wasser übertragbaren Krankheitserreger können bereits in sehr geringen Konzentrationen im Trinkwasser infektiös sein und sind gegenüber Umwelteinflüssen z. T. widerstandsfähiger und gegenüber Desinfektionsverfahren resisterter als die etablierten bakteriellen Indikatororganismen. Um jene in niedrigen Konzentrationen im Trinkwasser nachweisen zu können, müsste zum Beleg einer ausreichenden Sicherheit vor Infektionsrisiken die Untersuchung des Trinkwassers auf diese Erreger in sehr großen Wasservolumina erfolgen. Dies ist jedoch weder durch die derzeit verfügbaren Analyseverfahren unter Routinebedingungen möglich, noch sind geeignete Verfahren in näherer Zukunft zu er-

## UBA Empfehlung Quantitative Risikobewertung: (Zitate)

### Eignung der bisherigen Indikatoren?

Fortschritte in der mikrobiologischen Analytik und der Epidemiologie sowie die wissenschaftliche Untersuchung von epidemiisch verlaufenden Krankheitsausbrüchen haben jedoch gezeigt, dass nicht alle Krankheitserreger mit diesem Indikator-  
system sicher angezeigt werden. Dazu zählen insbesondere einige Viren sowie Parasitendauerformen (Cryptosporidien und Giardien).

### Untersuchung von Referenzerreger?

Sofern im Ergebnis ein fäkaler Einfluss festgestellt wird sowie bei Wasserversorgungen, die Flusswasser direkt, Talsperren mit Abwassereinfluss oder oberflächenwasserbeeinflusstes Grundwasser nutzen, sind zusätzliche Untersuchungen auf Parasitendauerformen (Cryptosporidien und Giardien) sowie in der Regel auch auf somatische Coliphagen (als möglicher Indikator für das Vorkommen humanpathogener Viren) zu empfehlen.

## Derzeitige praktische Grenzen

### Methoden

z. B. ISO 15553: „Water Quality – Isolation and Identification of Cryptosporidium oocysts and Giardia cysts from Water

ca. 50 Liter Filtration vor Ort

Filterelution

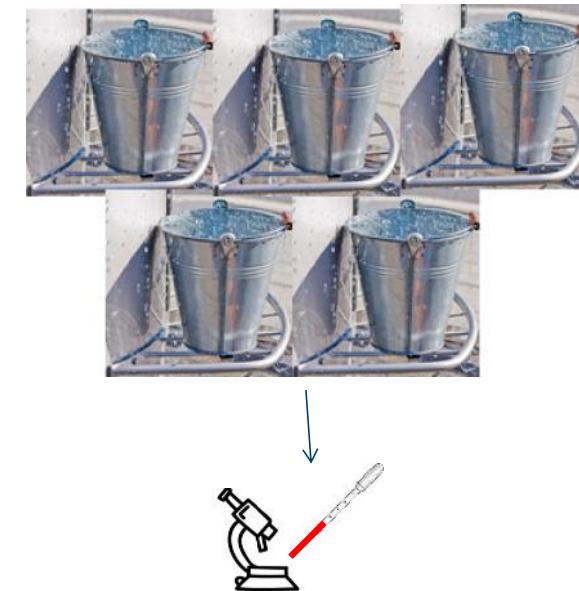
Volumenanreicherung auf 10 ml

Immunomagnetische Separation

Immunfluoreszenzfärbung +

Mikroskopie

Wiederfindung? Lebensfähigkeit?



### Quantitative Bewertung

ATT-Projekt 2010: in vier von 119 Proben Nachweis von Adenoviren-DNA (max. 32/100 ml)

# Inhalt

Ausgangssituation

Methodische Hinweise

Beispiel: Labor- und Betriebsdaten zur Charakterisierung eines Wassergewinnungssystems

Eignung von Indikatoren

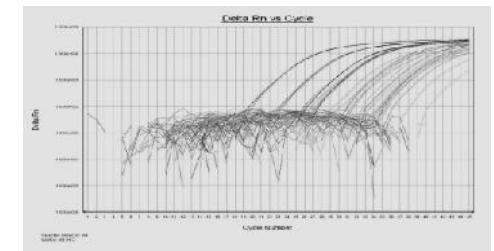
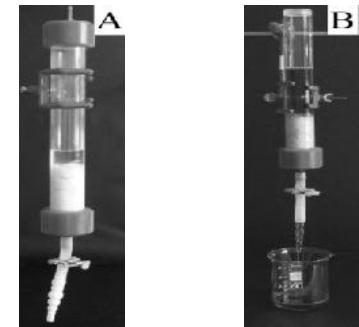
Ausblick

## Nachweis von Adenoviren- (DNA)

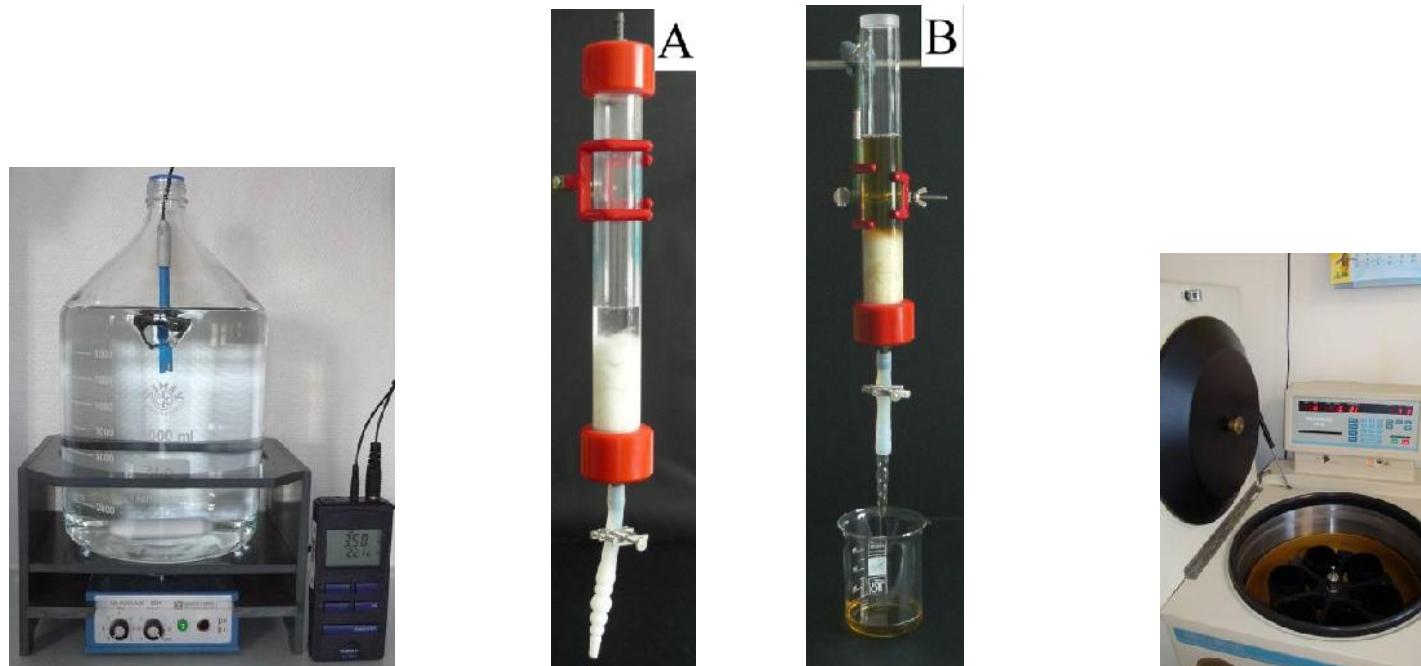
Dreistufiges Verfahren (Anreicherung, DNA Isolation, Quantifizierung)

Aus **10l** Wasserprobe werden am Ende **10µl** für die RT- PCR.

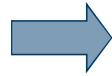
Eine quantitative Aussage ist möglich.



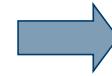
# Anreicherung der Viren-DNA



Einstellen des pH-Wertes auf 3,5

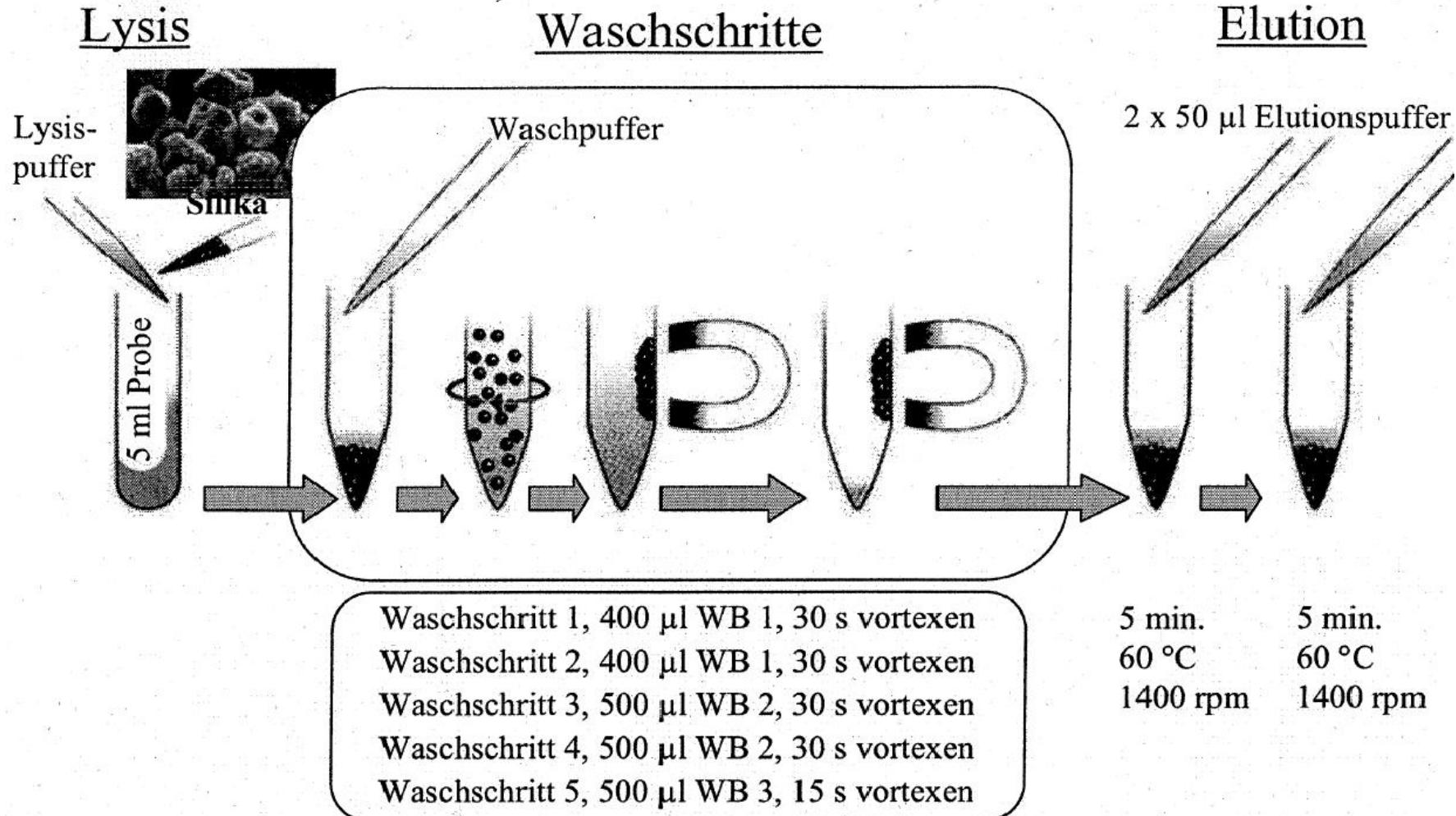


A: 10L Wasserprobe wird über vorkonditionierte Säule gepumpt  
B: Viren werden mit Beefextrakt (pH 9,5) - Medium von der Säule eluiert



Zentrifugieren bei 4000rpm für 30 min

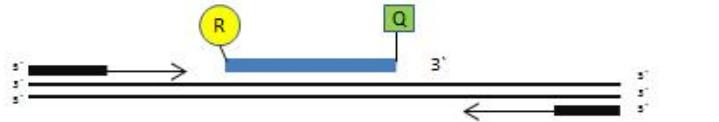
# DNA-Isolation



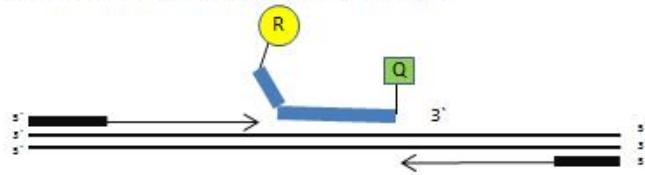
# Quantifizierung mittels real-time-PCR

## Prinzip der real-time-PCR

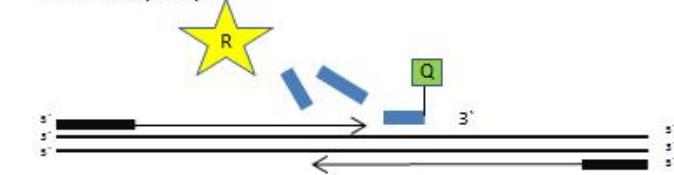
1. Sequenzspezifische Anlagerung der Sonde und der PCR-Primer



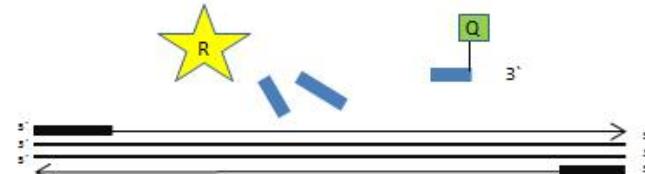
2. Prime-Extension und Sondenverdrängung



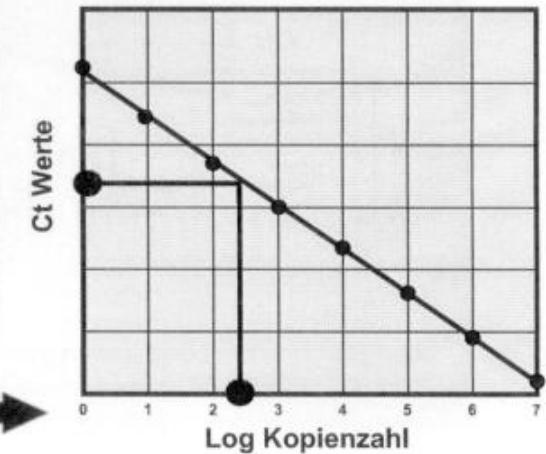
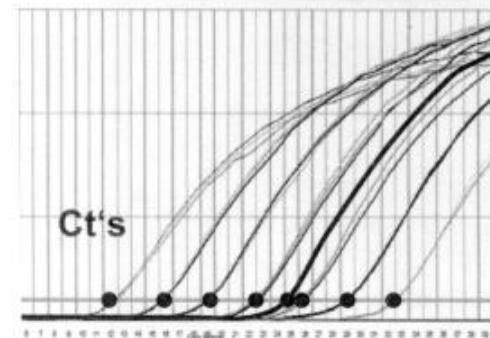
3. Sondenhydrolyse



4. Vollständige Synthese des PCR-Produkts und Trennung des Farbstoffs



## Auswertung der PCR



Ermittlung eines  
Schwellenwertes (Ct)  
(*cycle threshold*,  
Beginn der  
exponentiellen  
Vervielfältigung )

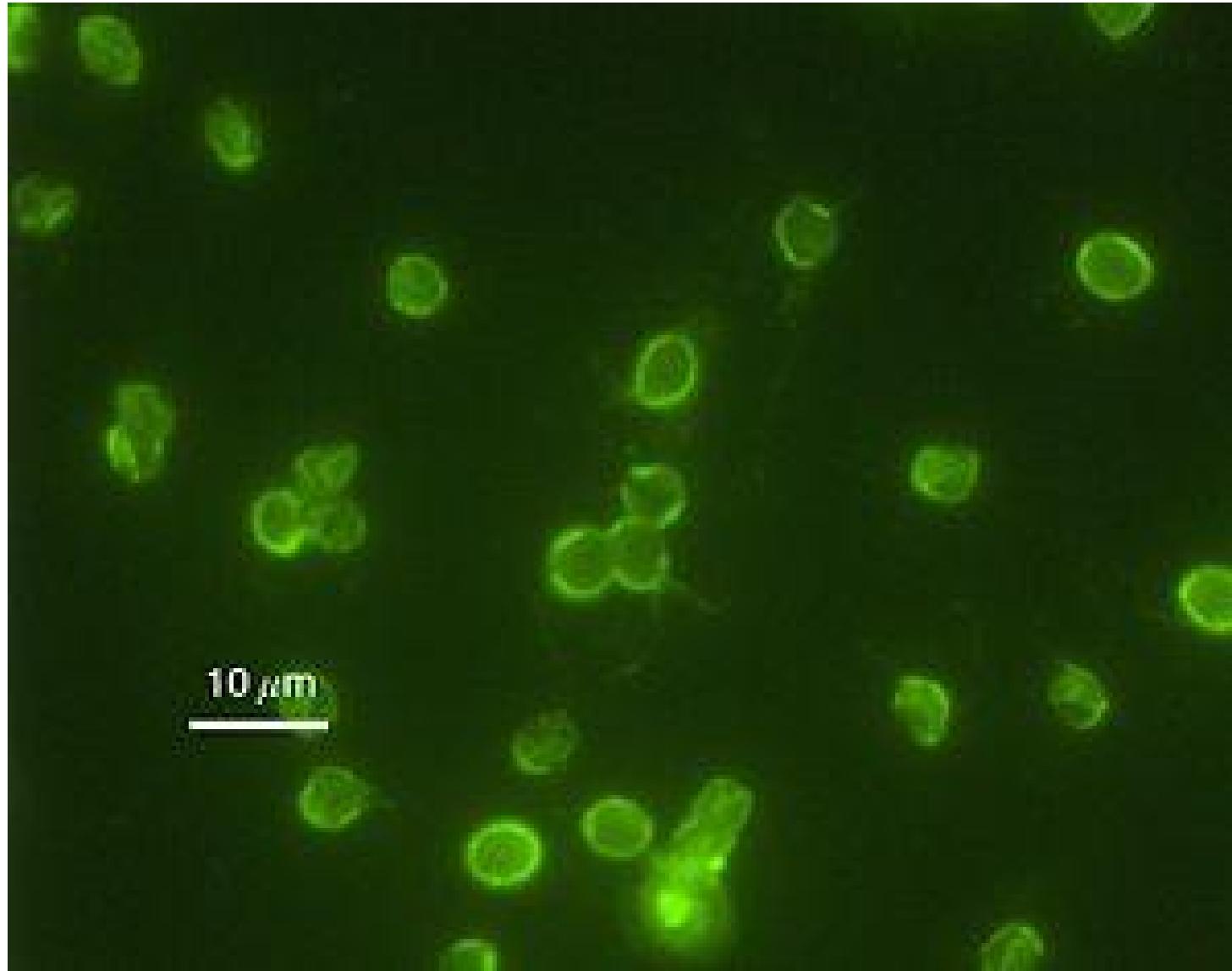
Ableitung der  
Konzentration anhand  
einer Standard (Kalibrier-  
kurve)

# Probenahme von Parasitendauerformen



14

## Cryptosporidien-Cysten (Mikroskopie)



15

## Inhalt

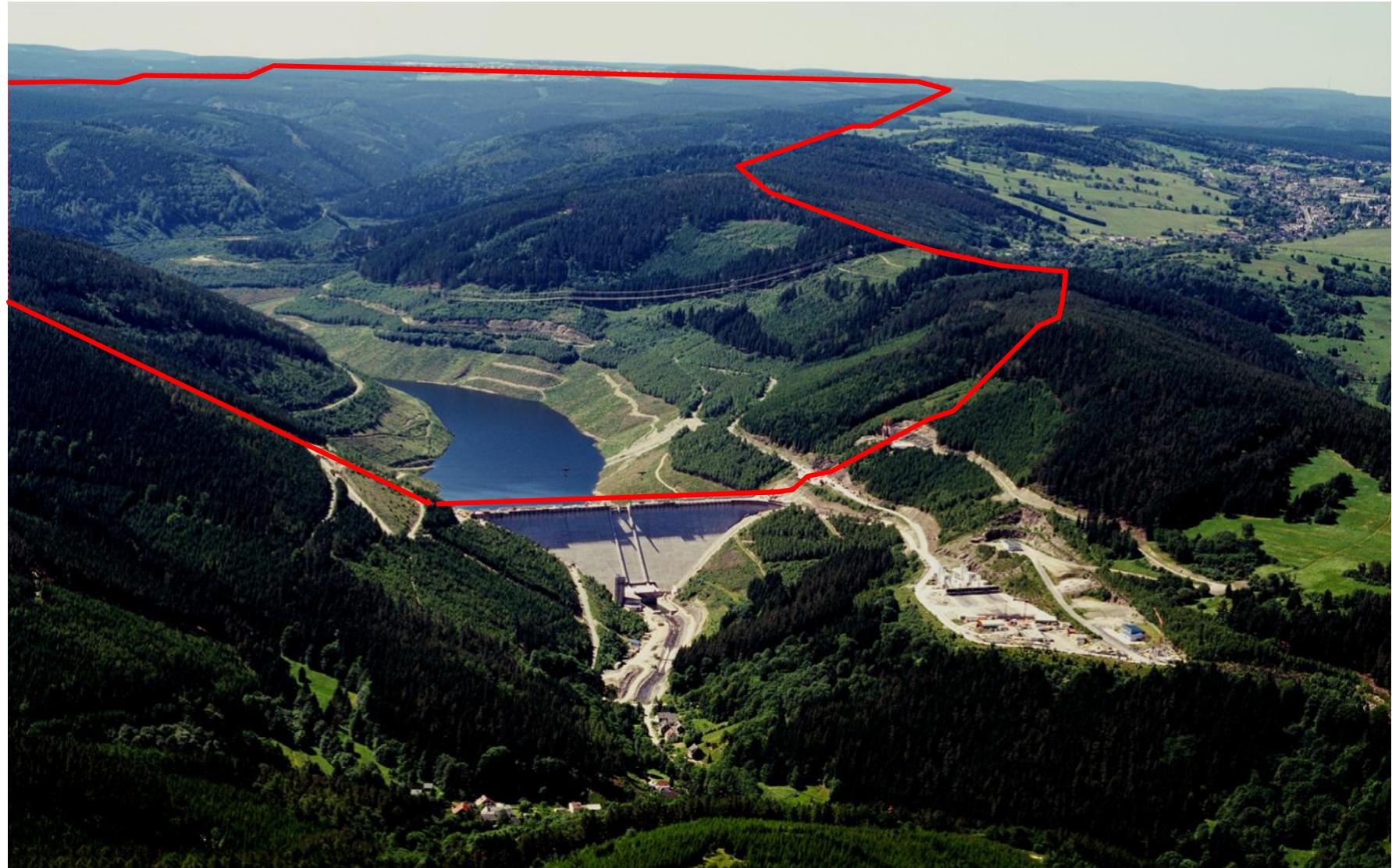
Ausgangssituation

Methodische Hinweise

**Beispiel: Labor- und Betriebsdaten zur Charakterisierung eines Wassergewinnungssystems**

Eignung von Indikatoren

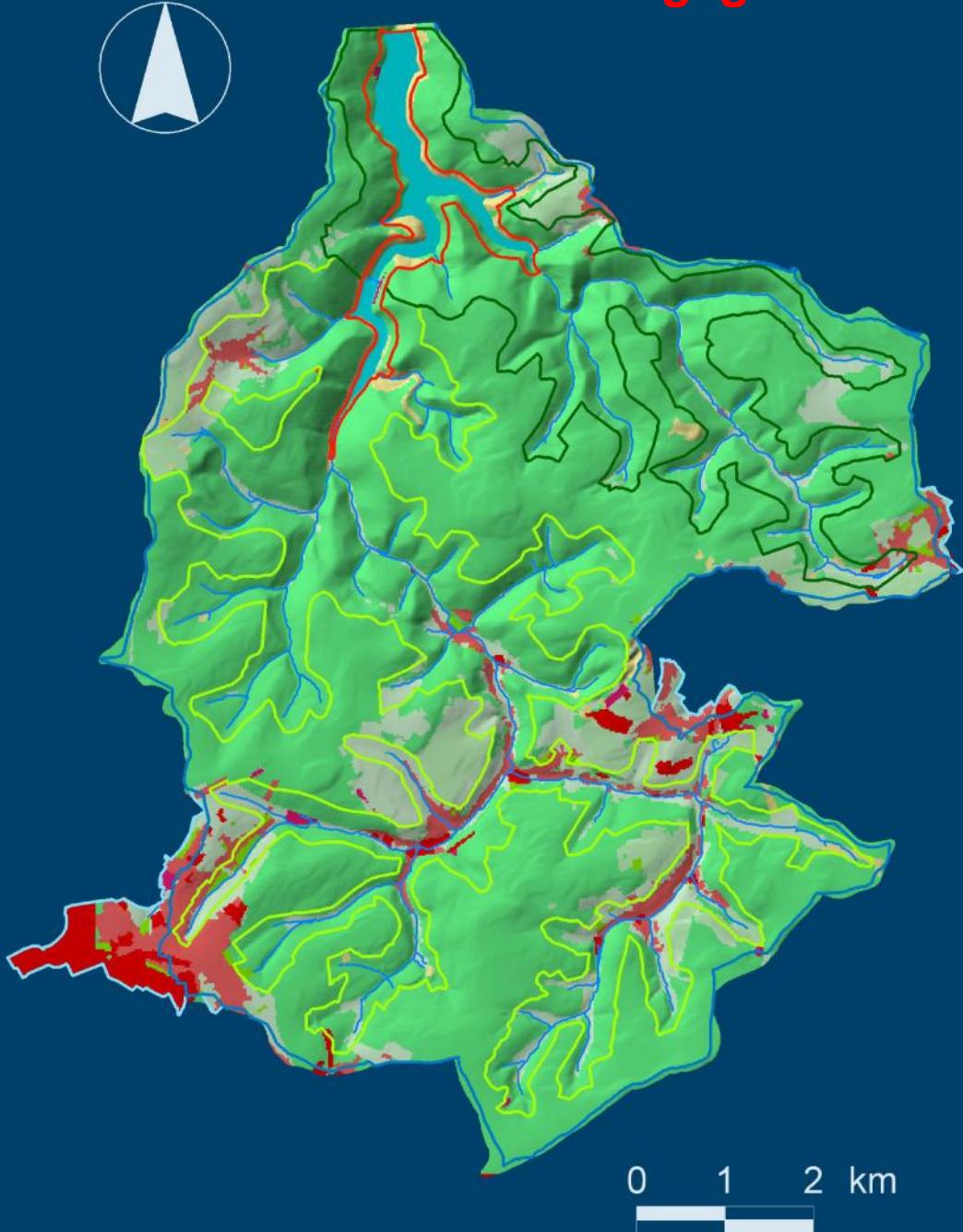
Ausblick



**Einzugsgebiet der Talsperre Leibis/Lichte**

17

## Strukturen im Einzugsgebiet



- Schutzzone I
  - Schutzzone II A
  - Schutzzone II B
  - Schutzzone III A
  - Schutzzone III B
- 
- Wald und Natur
  - Grünland
  - Siedlung und Gewerbe
  - Gewässer

Wasserschutzgebiet der Talsperre Leibis/Lichte

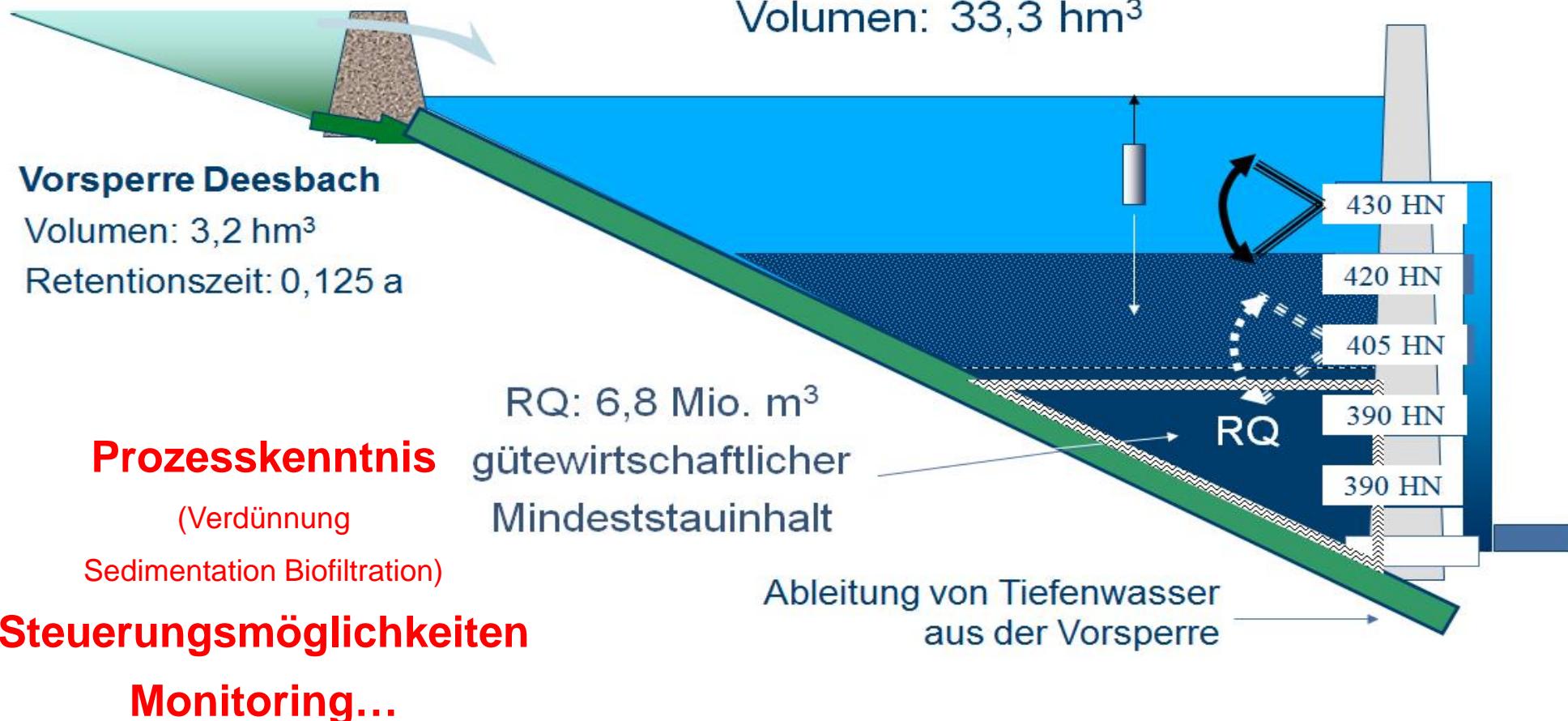
## Informationen zum aktuellen Zustand

Wasserqualität  
Hydrologie  
Meteorologie  
visuelle Kontrollen...

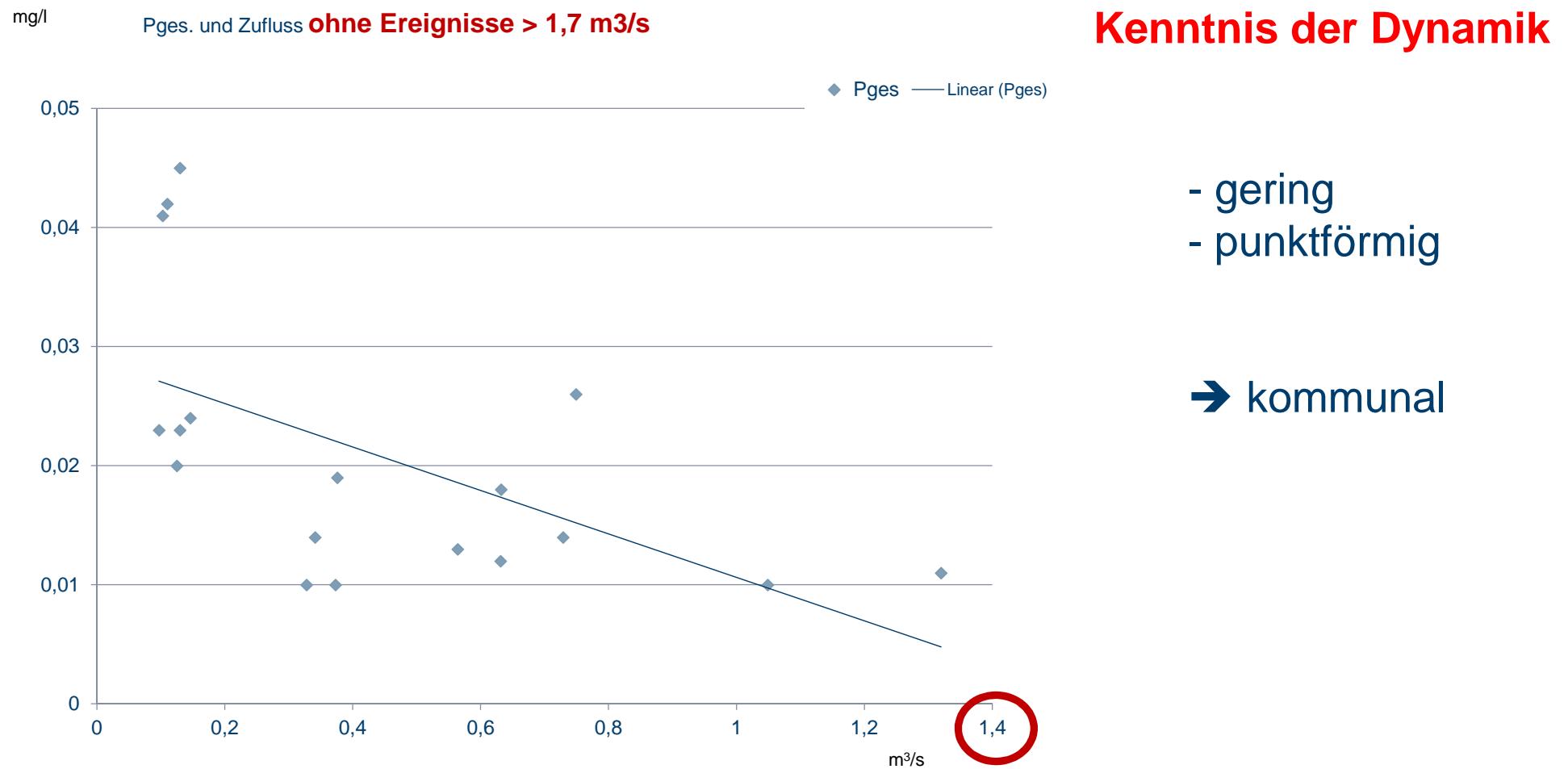


Repräsentative Messstellen im Schwarza-Gebiet 2013 – 2014, monatlich,  
mikrobiol. Indikatoren und Referenzerreger

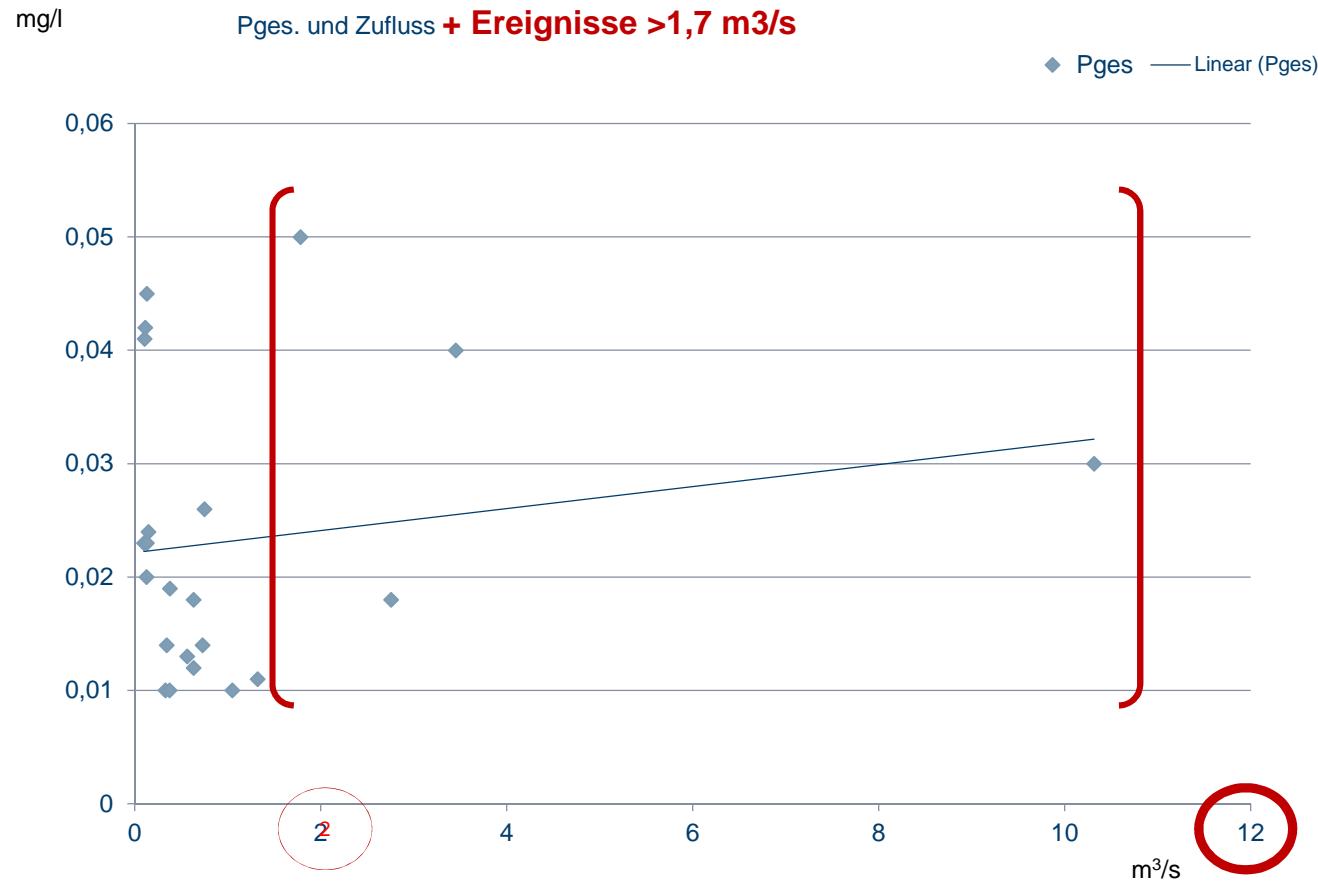
# Technische Steuerelemente und natürliche Prozesse zur Qualitätssicherung



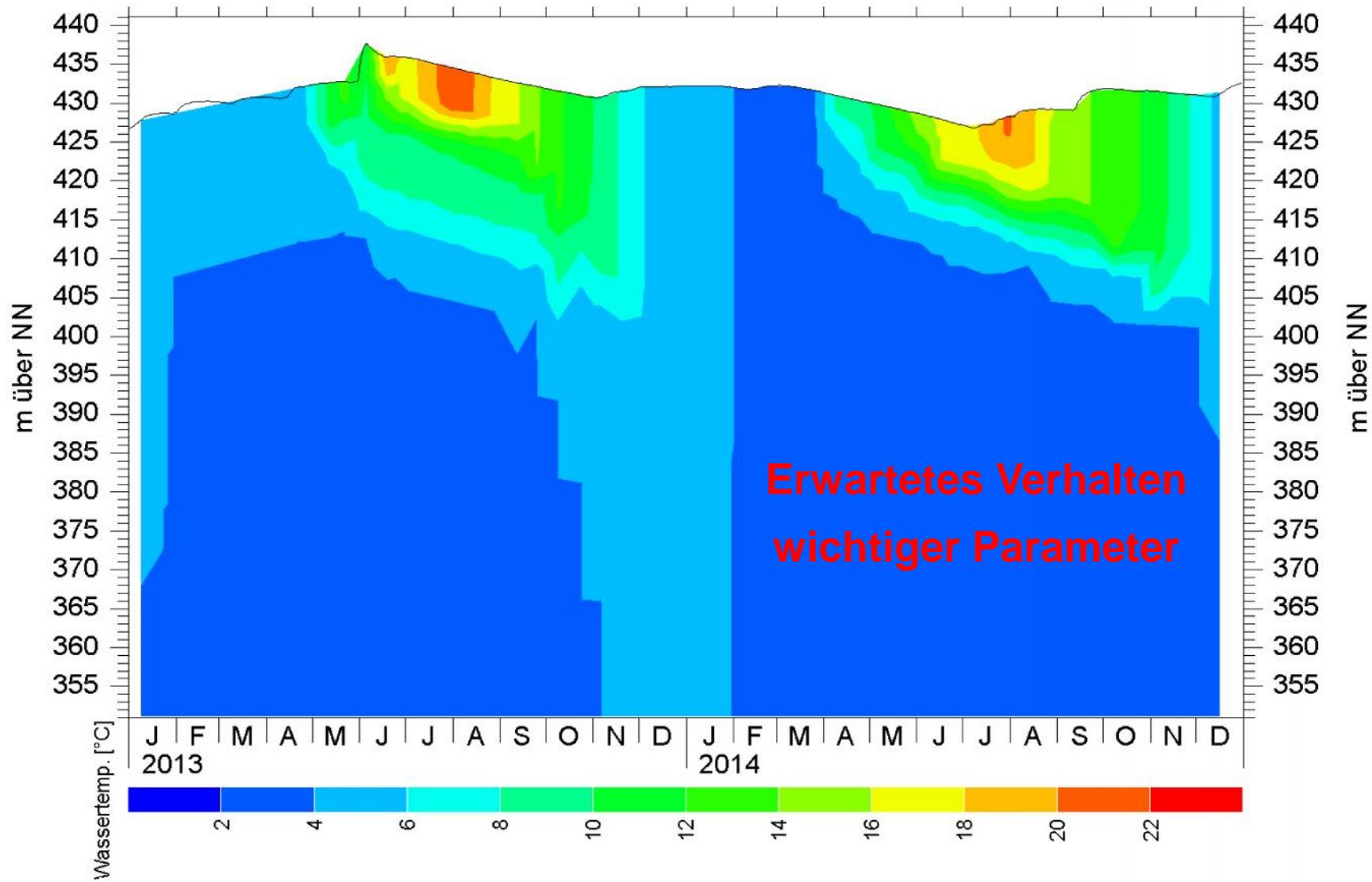
## Beispiel: Auswertung von Hydrologie und Qualität zur Charakterisierung von Belastungsquellen im Einzugsgebiet

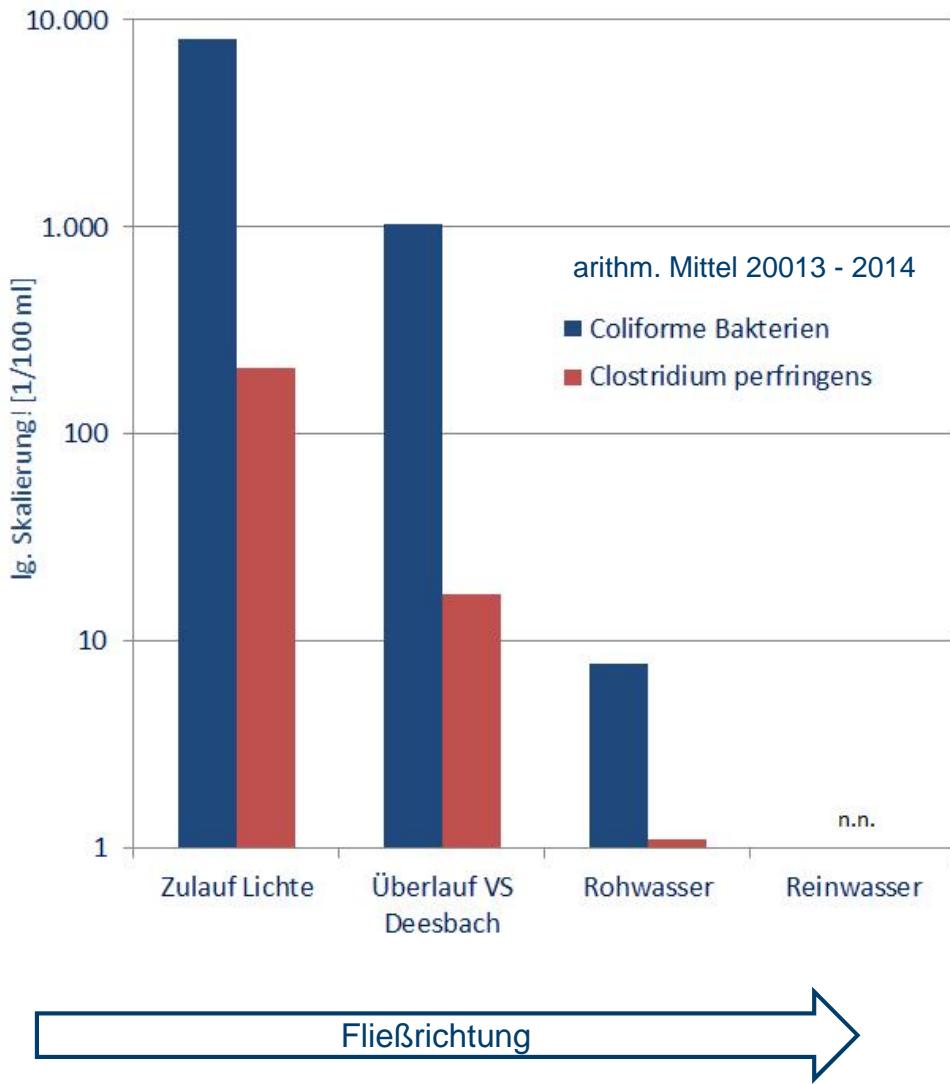


## Beispiel: Auswertung von Hydrologie und Qualität zur Charakterisierung von Belastungsquellen im Einzugsgebiet



# Thermische Schichtung der Talsperre Leibis/Lichte im Projektzeitraum





## Wirkung der Hauptsperre auf mikrobiologische Parameter

- Prozesse im Wasserkörper
- Steuerung
- Vorsperre: ca. eine Logstufe
- Hauptsperre: ca. zwei Logstufen
- Rohwassersystem: drei Logstufen

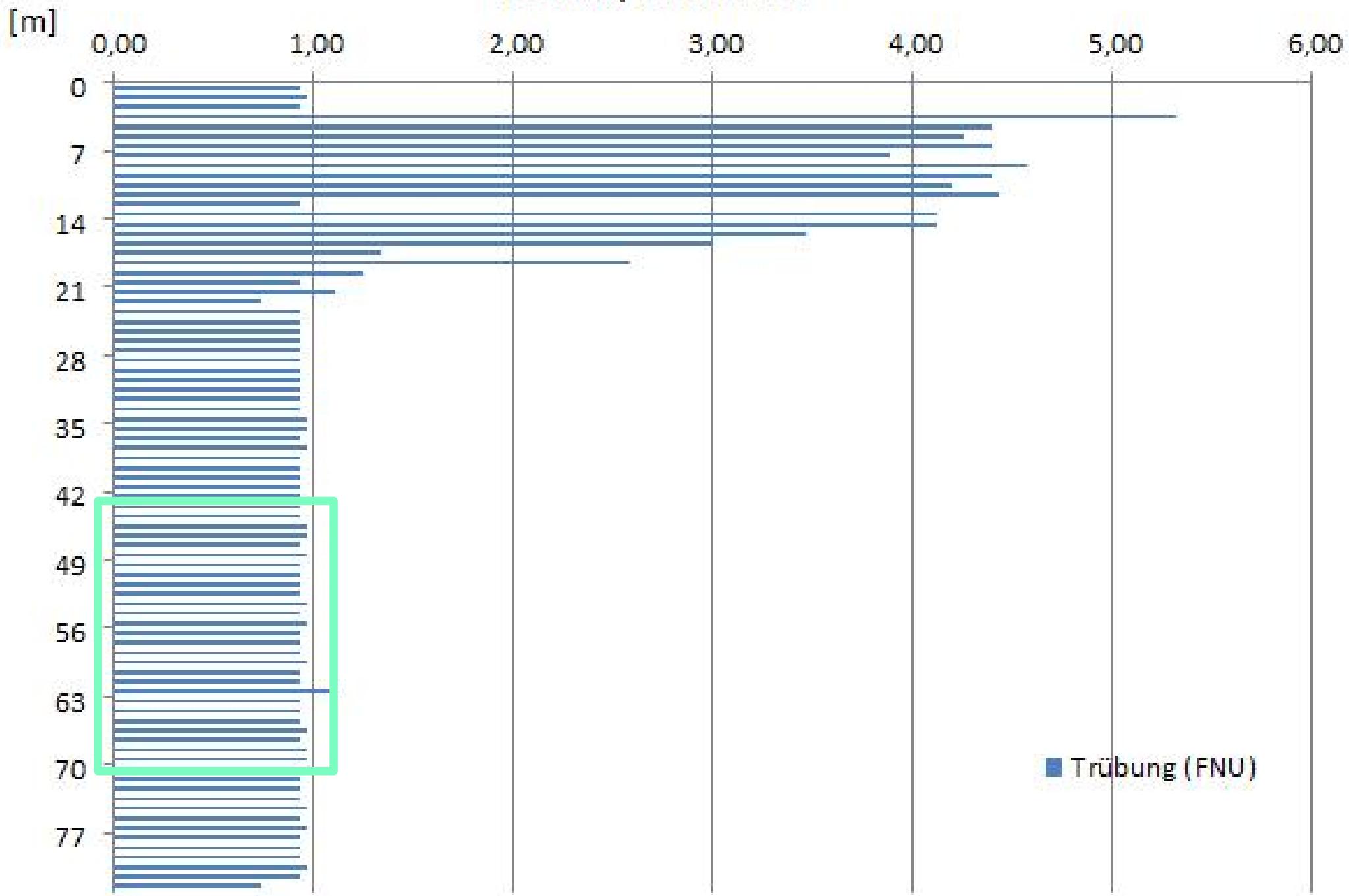
## Funktion der Barrieren

An aerial photograph showing a river winding its way through a steep, forested mountain valley. The water is a muddy brown color, indicating flooding or a high-water event. The surrounding hills are covered in dense green trees.

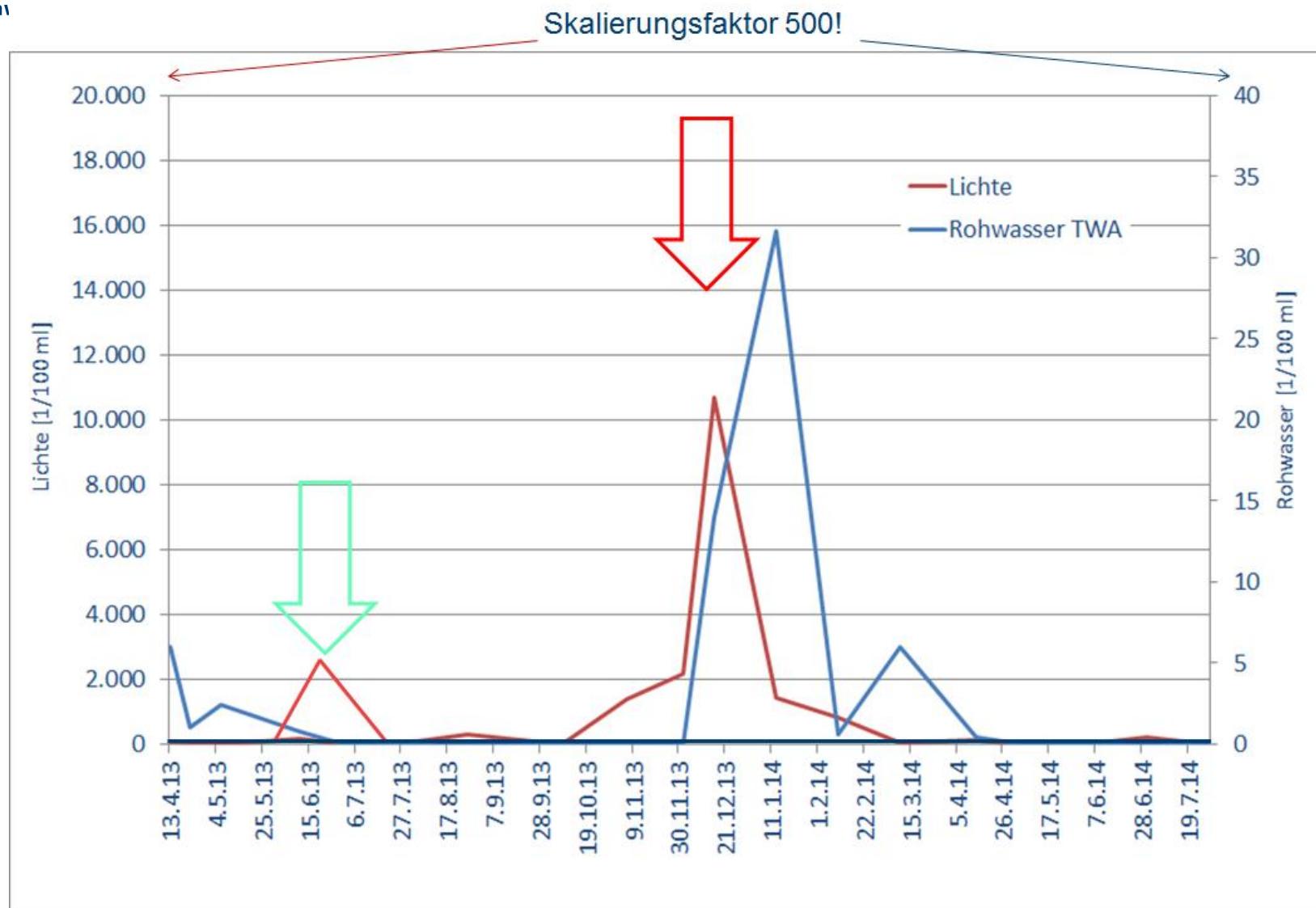
Ereignisse einschätzen

Juni 2013, oberflächennahe Einschichtung des Sommerhochwassers

# Profiler, 3. Juni 2013

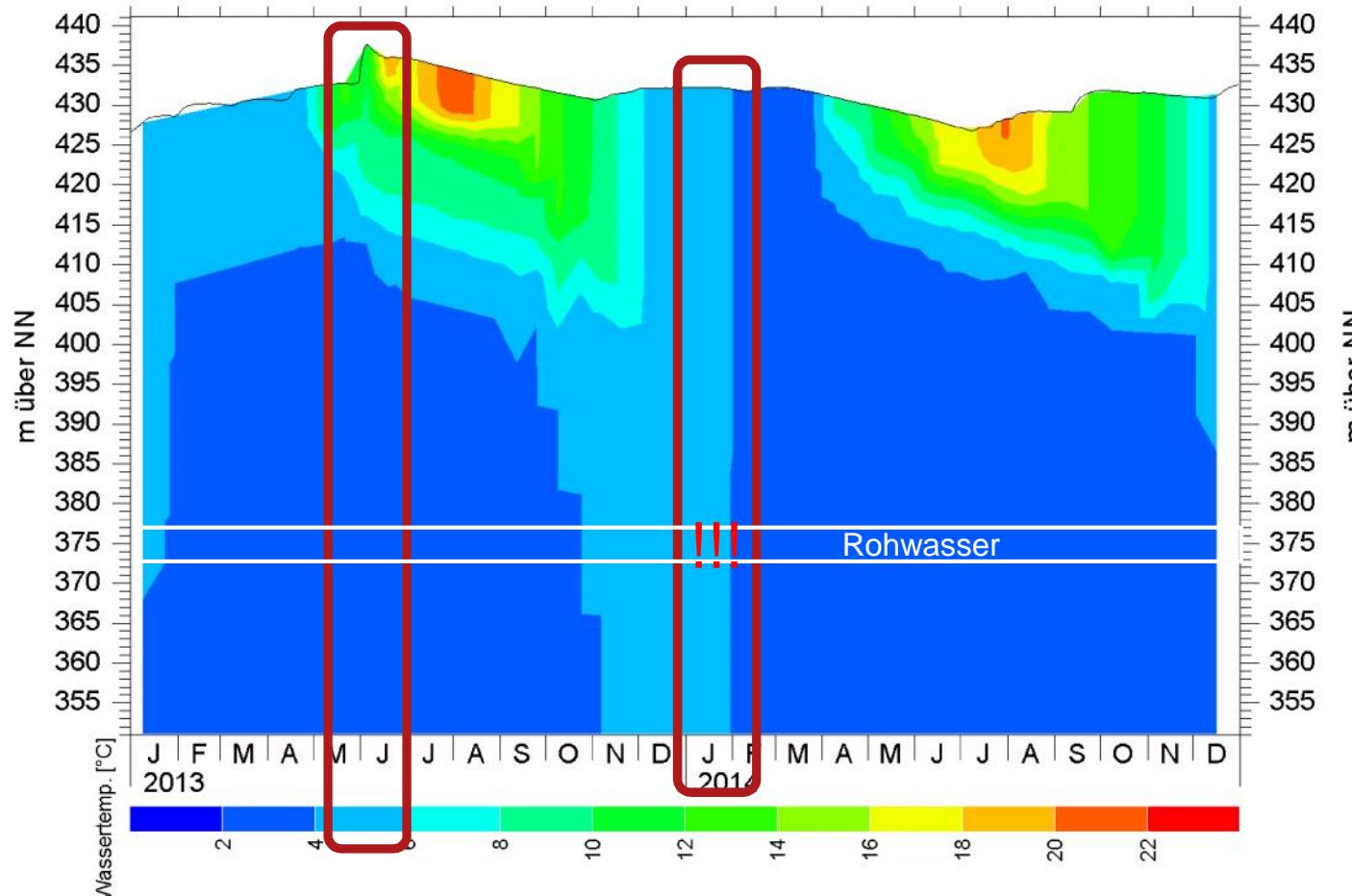


Trübung an der Mauer



Adeonviren-DNA; Zufluss Lichte und Rohwasser TWA Zeigerheim (2,5 Logstufen)

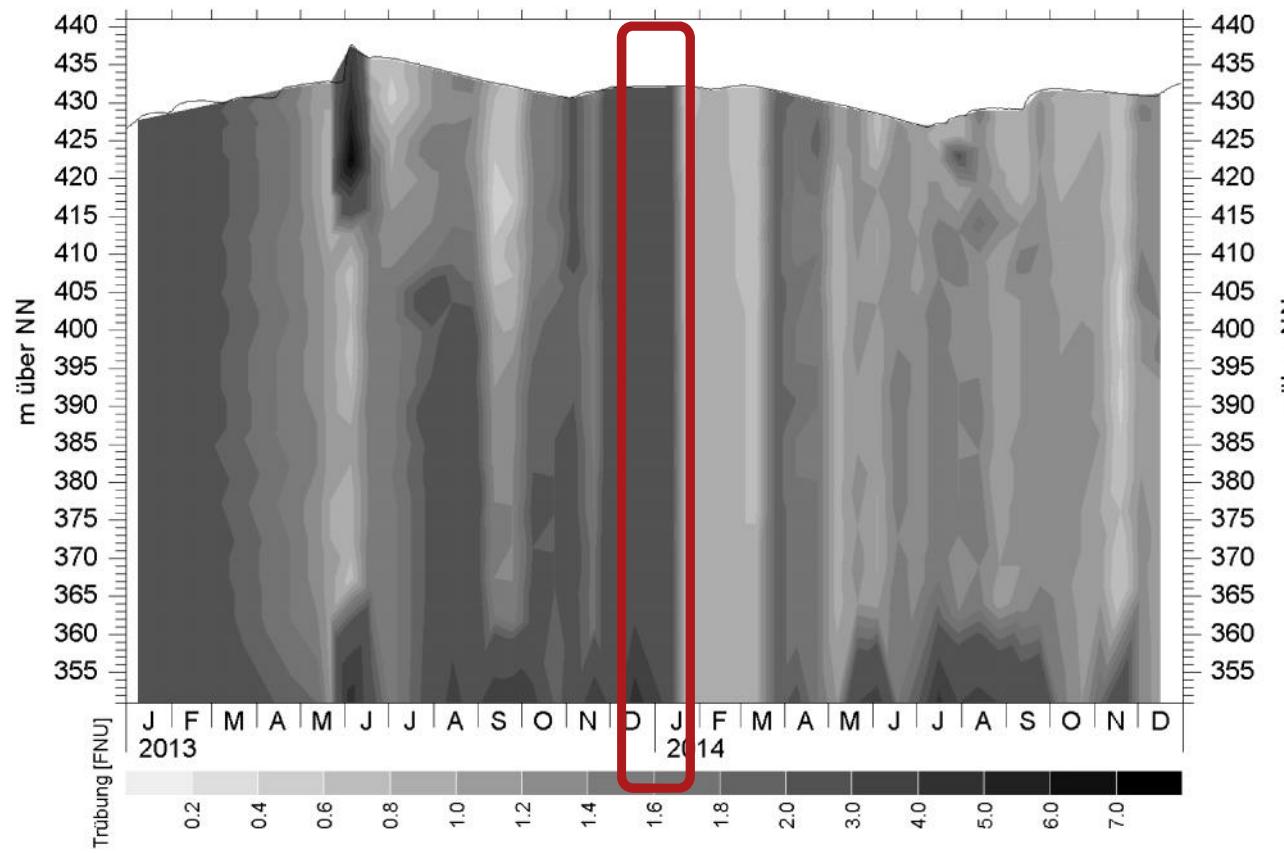
## 3 Faktoren, die zu erhöhter mikrobiologischer Belastung des Rohwassers führen können



- Kommunale Einflüsse
- Vollzirkulation
- Niederschlagsereignis(se)

**Gute Dokumentation  
von Ereignissen**

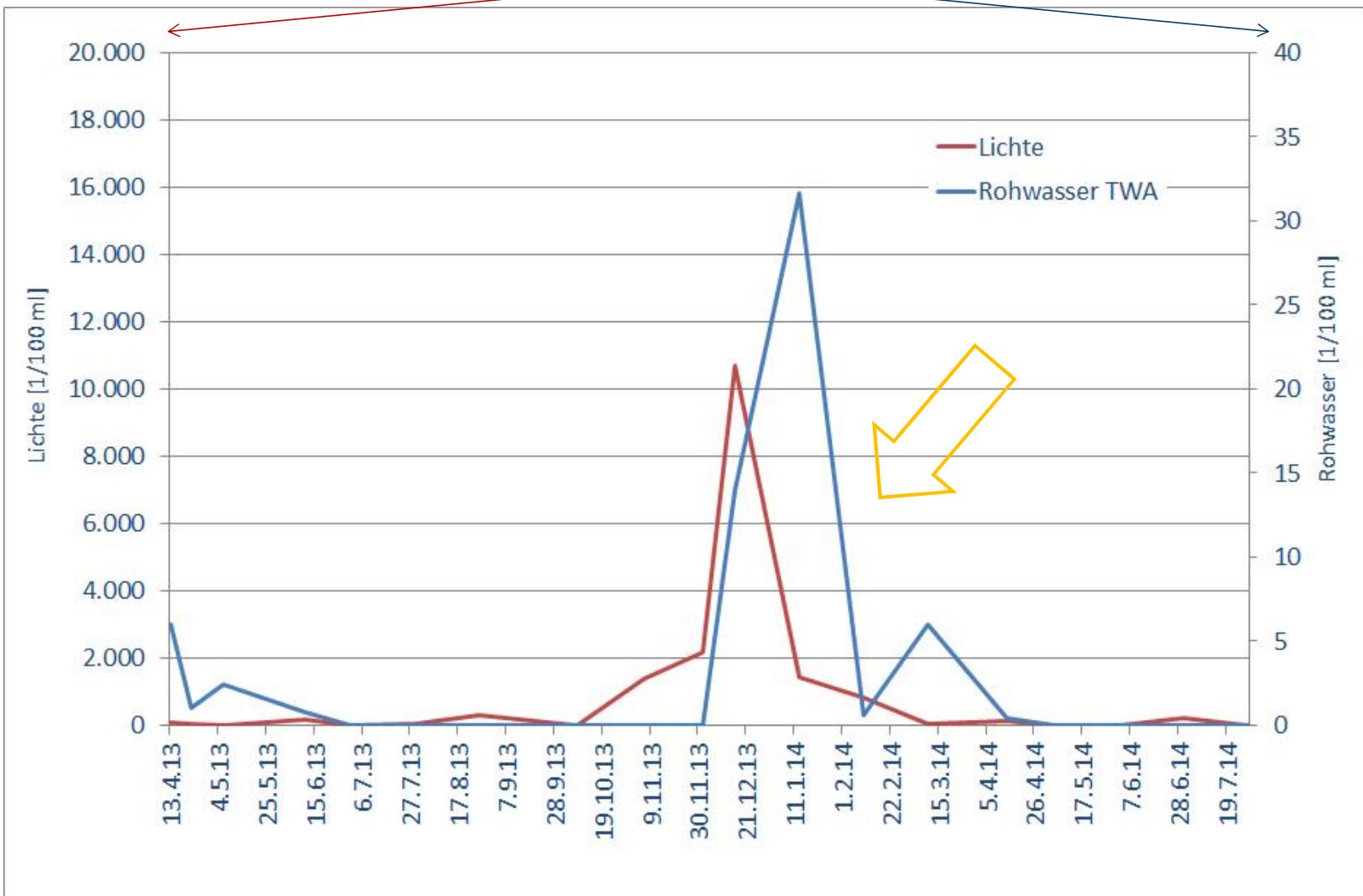
## 3 Faktoren, die zu erhöhter mikrobiologischer Belastung des Rohwassers führen können



Trübung in der Talsperre Leibis/Lichte

- Kommunale Einflüsse
- Vollzirkulation
- Niederschlags-ereignis(se)

**Skalierungsfaktor 500!**



Adeonviren-DNA; Zufluss Lichte und Rohwasser TWA Zeigerheim (2,5 Logstufen)

## Inhalt

Ausgangssituation

Methodische Hinweise

**Beispiel: Labor- und Betriebsdaten zur Charakterisierung eines Wassergewinnungssystems**

Eignung von Indikatoren

Ausblick

## Eignung von Indikatoren?

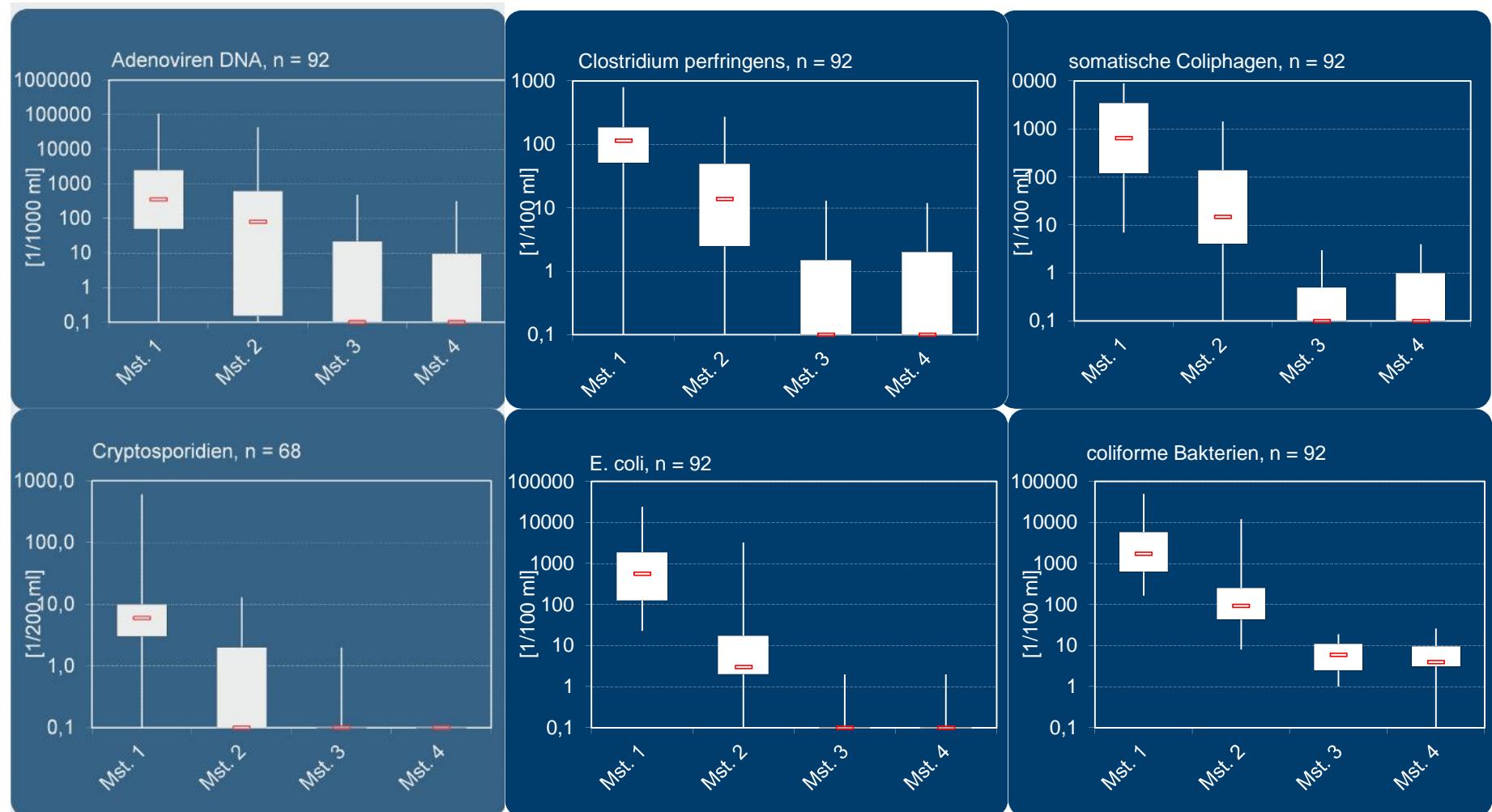


**Charakterisierung**  
des  
**Wassergewinnungssystems**



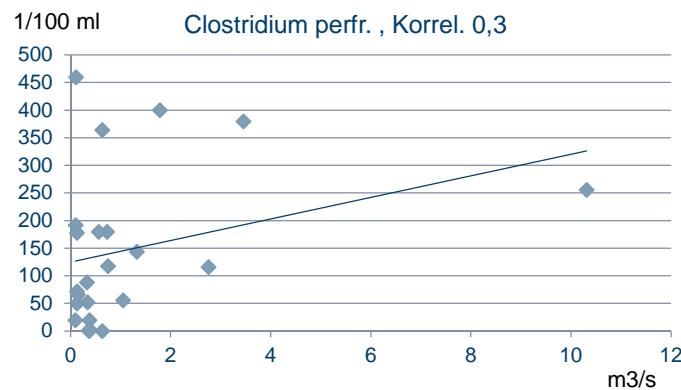
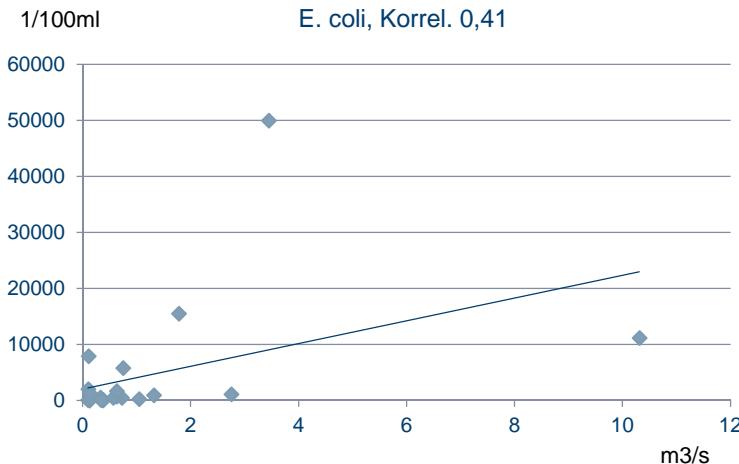
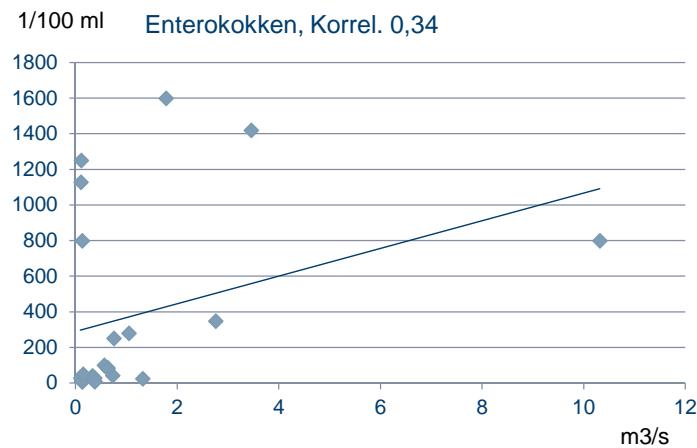
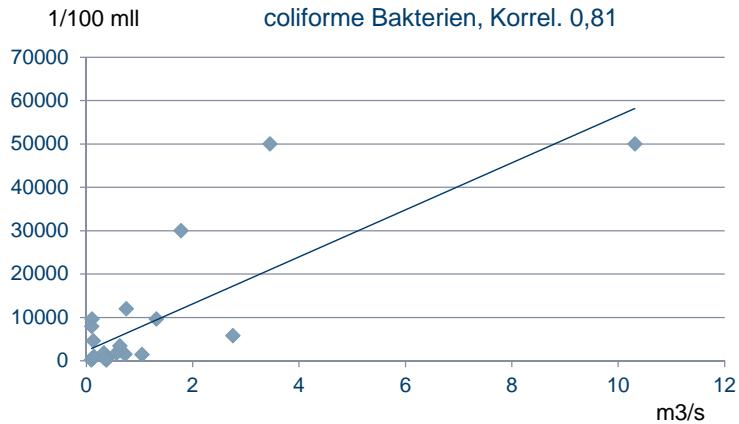
**Reaktion**  
auf  
**Ereignisse**

## Charakteristik verschiedener Messstellen „Rohwässer“



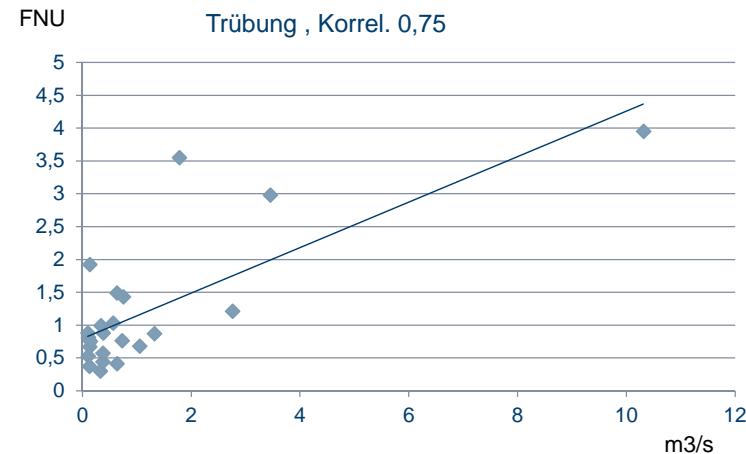
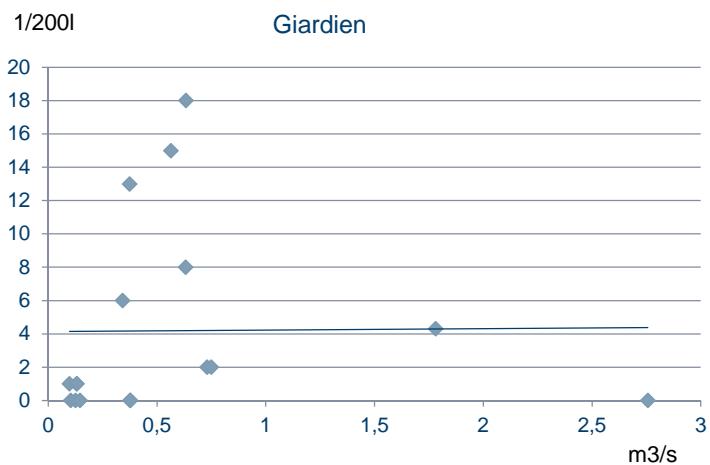
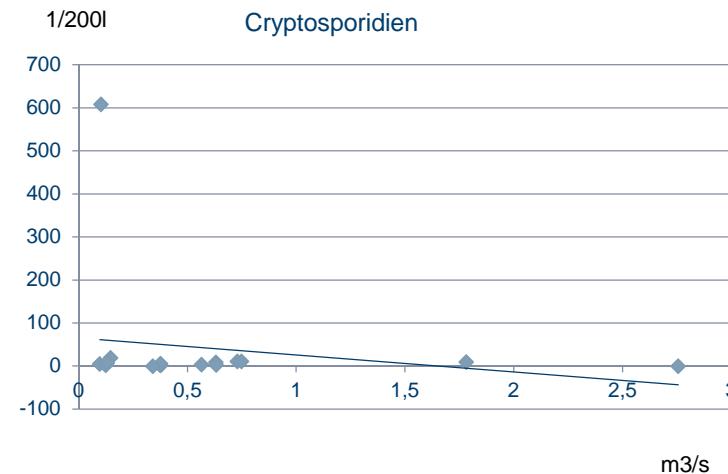
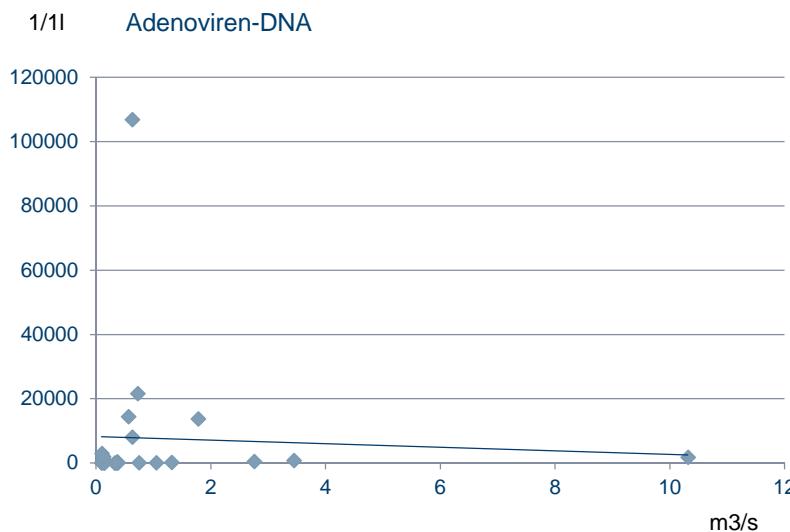
Sonderprogramm Mikrobiologie TS Leibis/Lichte, Zufluss Lichte, Überlauf Vorsperre, Rohwasser Talsperre, Rohwasser TWA; Max., Min., 25-/75 %, Median, **knapp zwei Jahresgänge**

# Bewertung von Ereignissen - Zuflussabhängigkeit?



Zunahme der Belastung mit zunehmendem Zufluss → alle Indikatorparameter zeigen Zuflussabhängigkeit (kommunale Einflüsse)

# Bewertung von Ereignissen - Zuflussabhängigkeit?



Keiner der Referenzerreger zeigt Zuflussabhängigkeit - Methode? -

# Bewertung/Erkennen von Ereignissen - gleichzeitiger Nachweis von Indikatoren und Referenzerregern?

	Anwesenheit [%]
Adeno/Coliphagen	90
Adeno/Coliforme	100
Adeno/Ecoli	71
Adeno/Entero	68
Adeno/Clostr	91
Adeno/alle	100
Crypto/Coliphagen	85
Crypto/Coliforme	100
Crypt/o/Ecoli	85
Cryotp/Entero	96
Cryotp/Clostr	92
Crypto/alle	100
Giardia/Coliphagen	83
Giardia/Coliforme	100
Giardia/Ecoli	80
Giardia/Entero	83
Giardia/Clostr	93
Giardia/alle	100

- immer **Coliforme Bakterien**, wenn **Referenzerreger vorhanden**
- Einer der Indikatoren wurde immer nachgewiesen, wenn **Referenzerreger vorhanden**

**Rohwasser, kein Chlor**

## Inhalt

Ausgangssituation

Methodische Hinweise

**Beispiel: Labor- und Betriebsdaten zur Charakterisierung eines Wassergewinnungssystems**

Eignung von Indikatoren

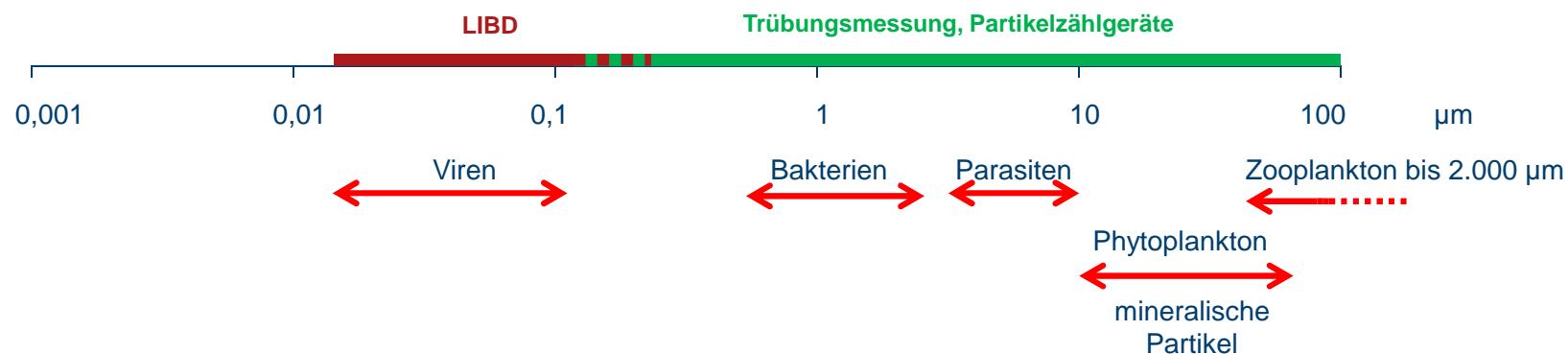
**Ausblick**

## Referenzerreger oder/und Indikatorparameter?

1. Wasserwirtschaftliche Daten + ausreichende Zeitreihen der Indikatoren: System kann gut charakterisiert werden - trifft für alle untersuchten Messstellen mit unterschiedlich hoher kommunaler Belastung zu
2. Rückschlüsse auf die Höhe der Belastung mit Referenzerregern im Ereignisfall sind mit Indikatoren nicht möglich (keine Korrelation, begrenzte Laborkapazität)
3. Hohe Belastung mit Indikatoren: Ermittlung der Eliminierungsleistung von Referenzerregern statistisch sicherer, Systemleistung sollte insbesondere für den Ereignisfall geprüft werden (UBA-Empfehlung)

## Bewertung der Eliminierungsleistung ?

- Keine/kaum relevanten Mikroorganismen im Rohwasser
- Diskutierte Erreger zu klein, um alternative herkömmliche Verfahren zu nutzen (Trübung, Partikelzählung)



Forschungsansatz: TZW Karlsruhe, ATT-Forschungsprojekt:  
**Laser-Induzierte Breakdown Detektion (LIBD) zur Bestimmung nanoskaliger Partikel (20 – 500 nm)**

## Praktische Konsequenzen

1. Ereignisfall: Daten zur Steuerung der Wassergewinnungssysteme (unverzüglich!, Labordaten reichen nicht, zeitlich verzögert)
  2. Mikrobiologische Parameter sowie hydrologische und technische Rahmenbedingungen im Kontext auswerten → gehören zusammen aufs Protokoll
  3. Bewertung mikrobiologischer Gefährdungen: Nur machbar, wenn Informationen über Struktur und Funktion aller Barrieren (im Routine und Ereignisfall) gleichermaßen vorliegen
- Sinn einer Risikobewertung gem. EG-Trinkwasserrichtlinie



**Praktikable Tools  
zur  
Ressourcen-  
kontrolle – die erste  
Voraussetzung für  
spannende  
Erkenntnisse**