

## Biofilme in der Trinkwasser-Installation – Konsequenzen für die Risikoeinschätzung

### Autor:

Prof. Dr. Hans-Curt Flemming, Biofilm Centre, Universität Duisburg-Essen sowie IWW Zentrum Wasser, Mülheim

### Kurzfassung:

In Trinkwasser-Installationen gibt es Biofilme. Hier kann es zur Einnistung hygienisch relevanter Mikroorganismen kommen. In einem vom BMBF geförderten Verbundvorhaben wurden alle deutschen Gesundheitsämter zu ihren Erfahrungen bei der Überwachung von Hausinstallationen gem. TrinkwV2001 befragt; viele Behörden antworteten und eine aussagekräftige Stichprobe stellte ihre Daten für eine weitergehende Analyse zur Verfügung. Etwa 5% der Kaltwasser- und 20% der Warmwasser-Hausinstallationen bieten hygienisch-mikrobiologische Auffälligkeiten. In Labor-Untersuchungen mit Kleinreaktoren wurden Biofilme erzeugt, die dann mit *Pseudomonas aeruginosa* bzw. *Legionella pneumophila* beaufschlagt wurden. Sie waren auch nach Wochen kulturell im Biofilm nachweisbar, wenn auch z.T. nur noch in geringer Konzentration. Eine Analyse mittels Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) der Ziel-Organismen zeigte jedoch praktisch keine Abnahme im Versuchszeitraum (4 Wochen). Das deutet darauf hin, dass sie keineswegs „tot“ sind, sondern nur in einen nicht-kultivierbaren Zustand („viable but nonculturable“, VBNC) übergegangen sind. Besonders leicht und reproduzierbar ließ sich dies am Beispiel von *P. aeruginosa* in Gegenwart von Cu-Ionen zeigen. Dabei gingen die Koloniezahlen dieses Organismus drastisch zurück. Unter Verwendung von Fluoreszenzfarbstoffen war jedoch noch ein hoher Anteil vitaler Zellen nachweisbar. Wurde ein Kupfer-Chelator zugegeben, erholten sich die Organismen so weit, dass sie alle wieder kultivierbar wurden. In einer halbtechnischen Versuchsanlage, in der ein repräsentatives Wasserentnahmeprofil simuliert wurde, wuchsen natürliche Biofilme an und wurden mit *P. aeruginosa* bzw. *L. pneumophila* beaufschlagt. Beide Organismen nisteten sich auch hier in Biofilme ein, wobei die Besiedlungsdichte vom Werkstoff abhängig war. Unerwartet war, dass sich beide Organismen auch in Biofilmen auf Materialien vermehrten, die eine Prüfung nach W 270 bestanden hatten. Es kam auch zur Kontamination der Wasserphase. Nach Reinigung und Desinfektion (z.B. mit 2 bis 20 mg/L ClO<sub>2</sub> für 24 h) wurden *L. pneumophila* und *P. aeruginosa* sowohl im Biofilm als auch im Stagnationswasser immer noch kulturell nachgewiesen. Weitere Prüfungen von Desinfektions- und Reinigungsmaßnahmen an einem Biofilm-System in Silikonschläuchen ("Biofilm-Monitor) erwiesen, dass eine nachhaltige Elimination der Biofilme nur schwer zu erreichen ist. Der Biofilm-Monitor erwies sich dabei als brauchbares System für das Screening von Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen. Es wurde auch untersucht, in wie weit eine Alterung der Werkstoffe die Besiedlung mit Biofilmen und die Ansiedlung hygienisch relevanter Mikroorganismen beeinflusst. Dabei zeigte sich ein Unterschied in der Biofilm-Besiedlung zwischen neuen und gealterten Werkstoffen in Abhängigkeit von der Wasserqualität (Multifaktorenansatz: Temperatur, AOC, Wasserhärte, Huminstoffe, pH, Eisengehalt, Alterung). Molekularbiologische Analysen der Biofilm-Population führten zu dem Ergebnis, dass die Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaften auf verschiedenen Werkstoffen im gleichen Wasser signifikant unterschiedlich ist. Wenn gleiche Werkstoffe an verschiedenen Standorten exponiert werden, differieren die Populationen ebenfalls stark. Auf EPDM fand sich eine erheblich höhere Biodiversität als auf PE-x und Kupfer (wo sie nach 36 Wochen jedoch stark zugenommen hatte). Der wesentliche Einfluss auf die Zusammensetzung des Biofilms stammt von der Herkunft des Trinkwassers.

Zusammenfassend ist zu sagen, dass die Untersuchungen ganz klar zeigen, hygienisch relevante Organismen sich in Biofilmen nicht nur einnisten, sondern dort auch vermehren und die Wasserphase kontaminieren können. Damit muss besonders dann gerechnet werden, wenn Materialien im System sind, die Nährstoffe abgeben. Dabei findet oft ein Übergang der Organismen in den VBNC-Zustand statt. Dann sind die Organismen zwar noch vorhanden, aber nicht mehr über Kultivierung, sondern nur mit molekularbiologischen Methoden zu erkennen. Sie können ihre volle Vitalität wiedererlangen, was diesem Zustand eine beträchtliche hygienische Relevanz verleiht. Dies ist sicherlich der Grund für viele Fälle aus der Praxis, in denen es immer wieder zu erneuten Kontaminationen kommt. Gerade in kritischen Fällen sollten Kulturmethode nicht mehr die alleinige Basis der Erfolgskontrolle bleiben, sondern durch molekularbiologische Verfahren ergänzt werden.

#### Danksagung:

Dieses Projekt wurde erfolgreich gemeinsam mit dem IHPH der Universität Bonn (Prof. Exner, PD Dr. Kistemann, Dr. Gebel), der DVGW-Forschungsstelle TUHH (Dr. Bendinger), dem IWW Mülheim (Dr. Schaule), der TU Berlin Biofilm (Prof. Szewzyk) sowie dem Biofilm Centre (Dr. Wingender) durchgeführt. Besonderer Dank gebührt dem BMBF für die Förderung sowie den 22 Industriepartnern, die dieses Projekt ebenfalls unterstützen.