

## Projektskizze „Erkennung, Risiko und Bekämpfung von vorübergehend unkultivierbaren Pathogenen in der Trinkwasser-Installation“

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

Die Überwachung der hygienischen Qualität von Trinkwasser geschieht über die Detektion koloniebildender Einheiten (KBE). Dieser Parameter wird seit langem erfolgreich verwendet, hat allerdings auch bekannte Schwächen in manchen Problemfällen, besonders, wenn es um hartnäckige Wiederverkeimungen geht. Tatsache ist, dass der Verlust der Kultivierbarkeit nicht bedeuten muss, dass Mikroorganismen dauerhaft inaktiviert sind. Hier kann die Hinzuziehung moderner mikrobiologischer und molekularbiologischer Methoden eine entscheidende Ergänzung darstellen, um die Grauzone nicht kultivierbarer, aber noch lebensfähiger hygienisch relevanter Mikroorganismen zu erhellen. Ein Beispiel: Als eines der wesentlichen Ergebnisse des derzeit laufenden BMBF-Verbundprojekts „Biofilme in der Hausinstallation“ zeigt sich, dass wasserrelevante Pathogene wie *Legionella pneumophila* und *Pseudomonas aeruginosa* auch dann in Trinkwasser-Installationen noch lebensfähig vorhanden sein können, wenn sie durch Kulturmethoden nicht nachzuweisen sind. Sie befinden sich dann in einem vorübergehend nichtkultivierbaren Zustand, der als „viable but not culturable“ (VBNC) bekannt ist. Deshalb werden sie mit konventionellen Kultivierungs-Methoden nicht erfasst, obwohl deren große Verdienste für die Überwachung der hygienischen Qualität von Trinkwasser unbestritten bleiben. Inzwischen existieren jedoch weitergehende Methoden, die in Problemfällen herangezogen werden sollten, um die ebenfalls unbestrittenen Schwachpunkte der klassischen Kulturverfahren zu überwinden.

Von *Legionella pneumophila* ist bereits bekannt, dass der Organismus in einen kultivierbaren und auch wieder infektiösen Zustand zurückkehren kann. Für *Pseudomonas aeruginosa* – ein Organismus, der zunehmend an Bedeutung in der Trinkwasser-Hygiene gewinnt- gibt es bisher kaum Untersuchungen, aber Erkenntnisse aus dem oben genannten Projekt deuten darauf hin, dass hier Gleiches zu erwarten ist. Dieses Phänomen erklärt eine Reihe von Beobachtungen der Praxis, bei denen es zu hartnäckigen wiederholten Kontaminationen mit diesen Organismen kommt, die zu langwierigen, oft vergeblichen Sanierungsmaßnahmen führen. Solche Phänomene wurden schon oft beobachtet, aber bisher kaum systematisch mit modernen Methoden verfolgt. Biofilme spielen offensichtlich eine besondere Rolle als Habitat für Pathogene. Dies hat das laufende Forschungsprojekt eindeutig gezeigt. Es gibt Hinweise darauf, dass Biofilme auch wichtig sind für den Übergang in den VBNC-Zustand und die Rückkehr daraus. Durch die gängigen epidemiologischen Modelle, die auf Kulturmethoden beruhen, lassen sie sich nicht erklären, aber sie sind es, die für hartnäckige Kontaminationen und immer wieder auftretende Befunde verantwortlich sein dürften, und es gibt eindeutige Hinweise darauf, dass die Organismen nach „Wiederbelebung“ („resuscitation“) auch ihre Infektiosität wiedererlangen können. Besonders relevant sind sie z.B. für Trinkwasser-Installationen von Krankenhäusern, Schulen, Altenheime, Kindergärten, Kasernen, Hotels und andere größere Einrichtungen, besonders, wenn sich immunsupprimierte Personen dort aufhalten. Solche Befunde stellen ein deutliches und bisher sowohl unterschätztes als auch unzureichend bekämpftes Risiko für die hygienische Sicherheit von Trinkwasser dar.

Die wirtschaftlichen Folgen können im Einzelfall ganz erheblich sein. Bei langwierigen Sanierungsmaßnahmen, die sich z. T. jahrelang hinziehen, summieren sich die Kosten auf große Beträge. Dazu gehören nicht nur die direkten Aufwendungen für wiederholte Desinfektionen, Personalaufwand sowie zeitweiliger Funktionsausfall der Installation, sondern auch Behelfsmaßnahmen, um Situationen zu überbrücken, in denen die Sanierung noch nicht erfolgreich war. In Krankenhäusern wird hier als Notlösung oft zur Verwendung von endständigen Sterilfiltern an Wasserhähnen gegriffen. In einem Beispiel handelt es sich um 800 Entnahmestellen, wobei sich die jährlichen Kosten allein für die Filter auf knapp 500.000 € belaufen. Sobald die Filter ausgebaut wurden, traten die pathogenen Organismen wieder auf, die zu dieser Maßnahme geführt hatten.

Methoden, Pathogene zu entdecken, die sozusagen „unter dem Radar“ der routinemäßigen Kulturverfahren durchgehen, existieren jedoch und sind auch im oben genannten Projekt erstmals in Trinkwasser-Installationen erprobt worden. Hierbei handelt es sich um molekularbiologische Techniken wie Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH), Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) sowie weitere fluoreszenzmikroskopische Methoden. Die Pulsfeld-Gel-Elektrophorese (PFGE) steht in Kombination mit anderen Methoden als Typisierungs-Verfahren zur Verfügung, um gewissermaßen als „genetischer Fingerabdruck“ die Rückverfolgung und die Lokalisierung von Pathogenen im System zu erreichen („route cause analysis“). Die Methoden eignen sich gerade in Problemfällen in Ergänzung zu den konventionellen Verfahren und ihre Einbeziehung

würde erhebliche Fortschritte in der hygienischen Sicherheit und Risiko-Abschätzung von Trinkwasser-Installationen bringen. Wenn im Extremfall ein Abkochgebot ausgesprochen werden muss, lässt sich mit diesen Methoden eine wesentlich größere Sicherheit erzielen, das Beseitigen einer Kontamination zuverlässig zu definieren - es ist inzwischen deutlich, dass es keineswegs erreicht sein muss, wenn die Pathogenen nicht mehr kulturell nachweisbar sind.

Um all dies zu ermöglichen, müssen aber noch weitere wissenschaftliche Erkenntnisse und Daten gewonnen werden, die im beantragten Projekt erarbeitet werden sollen. Hier konzentrieren wir uns auf die oben genannten Ziel-Organismen als Index-Pathogene. Dabei wird sowohl die Wasserphase als auch der Biofilm mit einbezogen.

Folgende Fragestellungen sollen bearbeitet werden:

1. Epidemiologischer Zusammenhang zwischen VBNC-Organismen und Erkrankungen, speziell bei Fällen, in denen die Sanierung eines Systems Probleme bereitet
2. Untersuchungen an Modell-Installationen nach Beaufschlagung mit den Zielorganismen, um den Übergang in den VBNC-Zustand und wieder zurück in den kultivierbaren Zustand unter Praxisbedingungen zu simulieren sowie Lokalisation der Stellen, an denen sich die Zielorganismen in realen Problemfällen einnisten (speziell durch PFGE)
3. Untersuchung der trinkwasser-relevanten Bedingungen, unter denen es zum Übergang in den VBNC-Zustand kommt und wann und warum die Organismen wieder kultivierbar werden (Temperaturveränderungen, Schwermetalle, Nährstoffe, Biofilme, Desinfektionsmittel)
4. Untersuchung des Effekts von Desinfektionsmaßnahmen (z.B. UV-Desinfektion, chemische und thermische Desinfektion) auf Überführung der Organismen in den VBNC-Zustand
5. Bestimmung der Infektiosität von Organismen im VBNC-Zustand vor und nach der Rückkehr in den kultivierbaren Zustand
6. Rolle der Begleitflora in Biofilmen für den VBNC-Zustand

Ziel des Projektes ist es, die hier dargestellten Methoden und Vorgehensweisen zu optimieren und auf ihre Eignung für die Durchführung von Gefährdungsanalysen hin zu entwickeln. Eine Datenbasis wird geschaffen und die Voraussetzungen für Risikoabschätzungen werden verbessert. Die Ergebnisse sind von unmittelbarer Bedeutung für die Aufklärung und Sanierung von Kontaminationsfällen. Sie sind auch für die Konzeption und den Betrieb von Trinkwasser-Installationen in öffentlichen Gebäuden grundlegend wichtig. Damit wird es für Wasserversorger, Gesundheitsbehörden und für andere verantwortlich Beteiligte möglich, auf neuen und sehr relevanten Erkenntnissen fundierte Entscheidungen über Maßnahmen zu treffen.

Aufbauend auf den wissenschaftlichen Erkenntnissen des Projekts sollen konkrete Hinweise für ein Management der Belastungen entwickelt werden, mit dem eine höhere Sicherheit der hygienischen Qualität von Wasser aus Trinkwasser-Installationen erreicht werden kann.