

Dissertation Miriam Moritz

“Einnistung von hygienisch relevanten Bakterien in Trinkwasserbiofilme auf Werkstoffen der Trinkwasser-Installation”

Englischer Originaltitel: “Integration of hygienically relevant bacteria in drinking water biofilms grown on domestic plumbing materials”

Zusammenfassung

Biofilme in Trinkwasser-Installationen können ein Reservoir für hygienisch relevante Bakterien wie *Pseudomonas aeruginosa*, *Legionella pneumophila* und coliforme Bakterien darstellen. Die Auswahl der in der Trinkwasser-Installation eingesetzten Werkstoffe sowie ihre Beanspruchung durch Desinfektionsmaßnahmen („Alterung“) können möglicherweise die Einnistung hygienisch relevanter Bakterien in Biofilme beeinflussen. Die Anwesenheit von Amöben kann einen zusätzlichen Effekt auf die Einnistung und Vermehrung hygienisch relevanter Bakterien in Trinkwasserbiofilmen haben. In dieser Arbeit wurde die Einnistung von *P. aeruginosa* und *L. pneumophila* in Trinkwasserbiofilme auf unbehandelten und gealterten Werkstoffen der Trinkwasser-Installation untersucht. Es handelte sich um Ethylen-Propylen-Dien-Monomer-Kautschuk (EPDM), silanvernetztes Polyethylen (PE-Xb), strahlenvernetztes PE (PE-Xc) und Kupfer. Die Alterung von EPDM, PE-Xb und PE-Xc bestand aus einer Behandlung mit Natriumhypochlorit bzw. Chlordioxid oder im Fall des Kupfers aus der Exposition in einem realen Trinkwasserverteilungssystem für mindestens 6 Monate. In Edelstahlreaktoren wurden Trinkwasserbiofilme auf Coupons dieser Werkstoffe angezüchtet und nach 14 Tagen mit *P. aeruginosa*, *L. pneumophila* und *Enterobacter nimpresuralis* (je 10^6 Zellen/mL) angeimpft. Nach Stagnation für 24 h wurden die Reaktoren für 4 Wochen mit Trinkwasser durchströmt. Die Gesamtzellzahl und Koloniezahl der Biofilme wurden bestimmt und die Diversität der Biofilmpopulationen wurde mit Hilfe der Polymerase-Kettenreaktion-Denaturierenden Gradientenelektrophorese (PCR-DGGE) analysiert. Die Zielorganismen wurden mit kulturellen Standardverfahren sowie mit der kultivierungsunabhängigen Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) quantifiziert. Das Auftreten von Gesamtprotozoen und Amöben der Gattungen *Acanthamoeba* und *Hartmannella* wurde mittels FISH untersucht.

Nach 14 Tagen hatten sich Biofilme mit unterschiedlicher Zelldichte gebildet. Am höchsten war die Besiedlung auf EPDM, gefolgt von PE-Xb, PE-Xc und Kupfer. Die Diversität der Biofilmpopulationen war in Biofilmen auf Kunststoffen (EPDM, PE-Xb

und c) größer als in Biofilmen auf Kupfer. Die Werkstoff-Alterung hat keinen Einfluss auf die Biofilmbildung und die Populationsdiversität der Trinkwasserbiofilme. *Acanthamoeba* spp. und *Hartmannella* spp. wurden in Biofilmen auf allen Werkstoffen nachgewiesen. *P. aeruginosa* persistierte für bis zu 28 Tage in Biofilmen auf EPDM und PE-Xb und c, konnte aber in Biofilmen auf Kupfer nicht nachgewiesen werden. *L. pneumophila* kolonisierte Biofilme auf allen Materialien und wurde noch 28 Tage nach Animpfen detektiert. *E. nimipressuralis* wurde in keinem der Biofilme nachgewiesen. Die desinfektionsmittel-behandelten Materialien zeigten in Bezug auf die Einnistung von *P. aeruginosa* und *L. pneumophila* keine deutlichen Unterschiede zu den unbehandelten Materialien. Mit der FISH-Methode wurden in vielen Fällen höhere Konzentrationen von *P. aeruginosa* und *L. pneumophila* nachgewiesen als mit kulturellen Verfahren. Diese Beobachtungen deuten darauf hin, dass ein Teil der *P. aeruginosa* und *L. pneumophila* Populationen im Biofilm in einen nicht kultivierbaren ("viable but non-culturable", VBNC) Zustand übergehen. Zusätzliche Untersuchungen mit *P. aeruginosa* Reinkulturen zeigten, dass Kupfer einer der Faktoren ist, der den Übergang in den VBNC Zustand in Trinkwasser und Trinkwasser-Biofilmen induzieren kann. Durch Kupfer gestresste und somit nicht kultivierbare planktonische und Biofilm-assoziierte *P. aeruginosa* konnten durch Zugabe des Chelators Diethyl-Dithiocarbamat wieder in einen kultivierbaren Zustand überführt werden.

Die Ergebnisse zeigen, dass sowohl die Besiedlungsdichte als auch die Entwicklung der Biofilmpopulationen materialabhängig stattfinden. Biofilmbildung und Populationsdiversität waren jedoch unabhängig von einer Material-Alterung. *P. aeruginosa* und *L. pneumophila* können sich in Trinkwasserbiofilme auf Materialien der Trinkwasser-Installation einnisten und dort persistieren. Eine Alterung der Werkstoffe durch die chemische Desinfektion (Behandlung mit Natriumhypochlorit oder Chlordioxid) oder Trinkwasser-Exposition hat keinen wesentlichen Einfluss auf die Einnistung der untersuchten hygienisch relevanten Bakterien. Die Anwesenheit von Amöben in Trinkwasserbiofilmen deutet darauf hin, dass diese Organismen im Biofilm mit hygienisch relevanten Bakterien in Wechselwirkung treten und als potenzieller Wirt für intrazelluläre Vermehrung dienen können. Dies wurde bereits in anderen Studien für *L. pneumophila* nachgewiesen. Ein Teil der Zielorganismen geht im Biofilm in einen nicht kultivierbaren (VBNC) Zustand über, in dem sie mit kulturellen Standardmethoden nicht nachgewiesen werden aber dennoch vorhanden sind und von hygienischer Bedeutung sein können.