

Einsatz der Zytometrie zur Überwachung der Substitution energieintensiver Hygienisierung häuslicher Trinkwasser-Installationen

(DFZ-Analytik zur Überwachung der Energieeffizienz)

Dr. Martin Hippelein^{1,2}

Dipl. Ing. N. Puls³

Prof. Dr. Helmut Fickenscher¹

Dr. Bärbel Christiansen²

¹Institut für Infektionsmedizin

²Zentrale Einrichtung Medizinaluntersuchungsamt und Hygiene

³PPF Forschungsgemeinschaft

Endbericht 19.12.2018

Projekttitel

Einsatz der Durchflusszytometrie zur Überwachung der Substitution energieintensiver
Hygienisierung von häuslichen Trinkwasserinstallationen
(DFZ-Analytik zur Überwachung der Energieeffizienz)

Gefördert durch

Gesellschaft für Energie und Klimaschutz Schleswig-Holstein GmbH
Boschstraße 1
24118 Kiel
Förderprogramm: HWT Energie und Klimaschutz
Projekt Nr. 8/12-22

Projektdurchführender

CAU Kiel, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein
Institut für Infektionsmedizin, ZE Medizinaluntersuchungsamt und Hygiene
Prof. Dr. H. Fickenscher, Dr. M. Hippelein, Dr. B. Christiansen
Arnold-Heller-Straße 3, Haus 32, 24105 Kiel

Projektpartner

PPF Forschungsgemeinschaft GbR
(ab 2017 PPF Ingenieure UG)
Dipl.-Ing. N. J. Puls, Dipl.-Ing. H. Pramor
Bredkamp 70, 22589 Hamburg

DVGW-Forschungsstelle TUHH
Dr. B. Bendinger
Am Schwarzenberg – Campus 3, 21073 Hamburg

GTS GmbH
Dipl.-Ing. C. Wermter
Mühlenstraße 10, 25462 Rellingen

Hartig Anlagen- Energietechnik GbR
U. Hartig
Walheimer Straße 24a, 74357 Bönningheim

SOLVIS GmbH
H. Jäger
Grotrian-Steinweg-Straße 12, 38112 Braunschweig

GAD Koch Grundstücks GmbH & Co KG
Lagerlöfstraße 16, 22391 Hamburg

BVE Bauverein der Elbgemeinden e.G.
Heidrehmen 1, 22589 Hamburg

Birke Immobiliengesellschaft mbH & Co KG
Martenshofweg 2-8, 24109 Kiel

Zusammenfassung

Die hygienischen Anforderungen und allgemein anerkannten Regeln der Technik sehen für den Betrieb von Trinkwasser-Installationen eine Mindesttemperatur im Warmwasser von 55 °C zur Vermeidung unerwünschten Wachstums von Bakterien vor. Die Absenkung dieser Temperatur bietet erhebliche Potentiale zur Steigerung der Energieeffizienz, der Energieeinsparung und Reduktion der CO₂-Emissionen. In Anbetracht dieses Konfliktes wurde das EXERGENE®-Hygienekonzeption mit dem Ziel des hygienisch sicheren Betriebs von Trinkwasser-Installationen unter Einsatz von Ultrafiltrationsanlagen bei effektiver Energieeinsparung entwickelt. Teil dieses Konzeptes ist eine multidimensionale mikrobiologische Analytik unter Einsatz der Zytometrie zur Bestimmung von Zellzahlen im Wasser.

Ziel des Projektes war die Bestimmung der Gesamtzellzahl mittels Zytometrie als schnelle und sensitive Bestimmungsmethode für Trinkwasser-Installationen zu evaluieren und ein Bewertungsschema zu erstellen. Die erhaltenen Werte sollten mit den kulturellen Verfahren verglichen werden. Darüber hinaus sollte die Ultrafiltrationstechnik der Marke EXERGENE® in Trinkwarmwassersystemen von Modellobjekten eingesetzt werden. Die Zytometrie sollte als Methode zur mikrobiologischen und hygienischen Überwachung der Temperaturabsenkung eingesetzt werden.

Im durchgeführten Projekt wurden die Zytometrie zur Bestimmung von Gesamtzellzahlen, inklusive der Unterscheidung von intakten und nicht-intakten Zellen, in Trinkwasserproben als Routineparameter etabliert und etwa 1.700 Proben untersucht. Als Bestimmungsgrenze der Methode wurde im Routineverfahren 1.500 GZZ/ml ermittelt. Der Anteil intakter Zellen an der Gesamtzellzahl liegt in der Regel zwischen 40 und 68 %. An Hand von 450 Proben aus 138 Trinkwasser-Installationen wurde ein Bewertungsschema für die Gesamtzellzahl entwickelt. Werte zwischen 100.000 und 250.000 GZZ/ml sind als normal zu bewerten.

Ein Zusammenhang zwischen der Koloniezahlbestimmung bei 20 °C und 36 °C und der Zahl intakter Zellen mittels Zytometrie besteht nicht. Proben ohne kulturellen Nachweis von Bakterien der genannten Methoden enthalten im Mittel 62.000 intakte Zellen/ml. Mittels Zellzahlen aus der Zytometrie lassen sich die mikrobiologischen Verhältnisse in Wasser wesentlich besser und genauer beschreiben als mittels Kulturverfahren.

An Hand von 86 Reinwasserproben aus Ultrafiltrationsanlagen, die in Gebäuden in Betrieb sind, wurde ein Bewertungsschema für dieses Reinwasser erstellt. Ein Zielwert von 4.000 GZZ/ml ist anzustreben.

Der Abreinigungseffekt einer Ultrafiltrationsanlage wurde innerhalb einer Trinkwasser-Installation intensiv auf räumliche und zeitliche Variabilität untersucht. Im Mittel fand an den 17 peripheren Probenahmestellen eine Abreinigung um 64 % innerhalb von 7 Wochen statt. Automatische Spülarmaturen erhöhen diesen Abreinigungseffekt der Ultrafiltrationsanlage an den peripheren Stellen auf bis zu 89 %. Dieser Effekt ist bei Wiederausbau der automatischen Spülarmaturen nachhaltig.

In 13 untersuchten Modellobjekten im Feldversuch sanken die Gesamtzellzahlen in den systemischen Proben innerhalb von maximal zwei Wochen auf 20 % der Ausgangswerte ab. Im Mittel aller Modellobjekte wird diese Abnahme, d. h. eine Abreinigung um 80 %, an den peripheren Stellen ebenfalls erreicht, jedoch in unterschiedlichen Zeitabständen. In den untersuchten

Modellobjekten konnte ein hygienisch sicherer Betrieb bei abgesenkten Warmwassertemperaturen und Absicherung mittels Ultrafiltrationsanlage und Überwachung durch die Gesamtzellzahl nachgewiesen werden. Die angewandten „Leitplanken“ erwiesen sich als zweckmäßig für die Durchführung der Modellprojekte. Dabei kommt dem verantwortlichen Projektleiter eine zentrale und wichtige Rolle zu. In einem Modellobjekt wurde eine CO₂-Reduktion von etwa 31 % im Vergleich zum konventionellen Betrieb errechnet.

Im durchgeführten Projekt wurde die Zytometrie als erfolgreiches Verfahren zur Überwachung der Energieeffizienzsteigerung mittels Ultrafiltration unter Beachtung des Infektionsschutzes und als geeignetes Werkzeug für die Kommunikation zwischen Fachleuten und Laien entwickelt. Sie ist geeignet, mikrobielle Verhältnisse in Trinkwasser-Installationen zu bewerten und anhand von graphischen Auswertungen relativ leicht zu kommunizieren.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	10
2	Ziele und Aufgabengebiete im Projekt.....	11
3	Methodik und Qualitätssicherung	12
3.1	Herkunft der Proben und Probenahme	12
3.2	Durchführung der Analysen	12
3.2.1	Zytometrie.....	12
3.2.2	Verfahren der Trinkwasserverordnung	15
3.3	Vergleich unterschiedlicher Methoden zur Bestimmung der Bakterienkonzentration.....	15
3.4	Vergleichsuntersuchungen mit anderen Laboratorien	17
3.5	Auswertung der erhobenen Daten	20
4	Ergebnisse	20
4.1	Ergebnisse der Gesamtzellzahlen ohne Einfluss einer Ultrafiltrationsanlage	20
4.1.1	Vergleichsdaten im Trinkwasser verschiedener Wasserversorgungsanlagen	20
4.1.2	Bewertungsschema der Gesamtzellzahl in der Trinkwasser-Installation	27
4.2	Unterscheidung von intakten und nicht-intakten Zellen	30
4.3	Vergleich der Zahlen intakter Zellen mit Koloniezahlbestimmungen.....	30
4.4	Untersuchungen des Ultrafiltration-Reinwassers und dessen Bewertung.....	32
4.4.1	Untersuchungen zur Bauart des Reinwasserausgangs.....	32
4.4.2	Bewertungsschema der Gesamtzellzahl im Reinwasser der Ultrafiltrationsanlage...	34
4.5	Abreinigung einer Trinkwasser-Installation mittels Ultrafiltrationsanlage	36
4.5.1	Durchführung der Untersuchungen	36
4.5.2	Ergebnisse aus allen peripheren Stellen in Betriebsphasen 1 und 2	37
4.5.3	Ergebnisse aus dem zirkulierenden System in Betriebsphasen 1 bis 4.....	39
4.5.4	Ergebnisse an vier peripheren Stellen in Betriebsphasen 1 bis 4.....	40
4.6	Referenzgebäude mit abgesenkter Temperatur im Trinkwarmwasser.....	45
4.6.1	Anforderungen an Referenzgebäude und durchgeführte Untersuchungen	45
4.6.2	Ergebnisse der Gesamtzellzahlen in den Modellobjekten	46
4.7	Gesamtzellzahl mittels Zytometrie im Kontext der Energieeffizienzsteigerung	51
4.7.1	Gesamtzellzahl im Kontext der Klimaschutzziele 2030 und 2050.....	51
4.7.2	Zusammenspiel von Analytik und Technik für regenerative Konzepte.....	52
4.7.3	Quantitative Bewertung durch Gesamtzellzahlbestimmung.....	52

4.7.4	Prozessorientiertes Bewertungsschema	53
5	Schlussfolgerungen.....	55
6	Danksagung.....	57
7	Literatur.....	57
8	Anhang	60
8.1	Probenbegleitzettel	60
8.2	Abbildungen zum Abreinigungsversuch	62
8.3	Leitplanken für Modellobjekte	64
8.4	Abbildungen zu Modellobjekten	68

Verzeichnis der Abbildungen

Abbildung 1: Prinzip der Zytometriebestimmung (Kötzsch et al., 2012)	13
Abbildung 2: Kombination von Grün- und Rotfluoreszenz einer typischen Trinkwasserprobe und deren Auswertung	14
Abbildung 3: Grün-/Rotfluoreszenz (links) und Grünfluoreszenz-Histogramm (rechts) einer typischen Trinkwasserprobe zur Bestimmung des LNA/HNA-Verhältnisses	14
Abbildung 4: Ergebnisse des Methodenvergleichs	16
Abbildung 5: Vergleich der Untersuchungsergebnisse eines Probenzugs zwischen der ZE MUA HYG und dem IWW Rheinisch-Westfälisches Institut für Wasserforschung (IWW) Mülheim	18
Abbildung 6: Vergleich der Untersuchungsergebnisse eines Probenzugs zwischen der ZE MUA HYG und dem Institut für Hygiene und Öffentliche Gesundheit Bonn	18
Abbildung 7: Vergleich der Untersuchungsergebnisse für die Gesamtzellzahlen von 19 Routineproben zwischen der ZE MUA HYG und der DVGW-Forschungsstelle TUHH	19
Abbildung 8: Vergleich der Untersuchungsergebnisse für die intakten Zellen von 19 Routineproben zwischen der ZE MUA HYG und der DVGW-Forschungsstelle TUHH	19
Abbildung 9: Auswertung mittels Boxplot-Diagrammen	20
Abbildung 10: Häufigkeitsverteilung der Gesamtzellzahl/ml aller untersuchten Proben ohne Einfluss einer Ultrafiltrationsanlage (n = 1178)	21
Abbildung 11: Boxplot der Gesamtzellzahlen unterschiedlicher Wasserversorgungsanlagen, berechnet aus allen Proben oben: Boxplot nicht skaliert mit sichtbarem Maximum unten: Boxplot skaliert zur besseren graphischen Darstellung	25
Abbildung 12: Boxplot der Gesamtzellzahlen unterschiedlicher Wasserversorgungsanlagen, berechnet aus den Medianen der Wasserversorgungsanlagen oben: Boxplot nicht skaliert mit sichtbarem Maximum unten: Boxplot skaliert zur besseren graphischen Darstellung	26
Abbildung 13: Boxplot der Gesamtzellzahlen großer zentraler Wasserversorgungsanlagen (3a)	27
Abbildung 14: Häufigkeitsverteilungen der Proben aus der Trinkwasser-Installation (3e-Anlagen) oben: Anzahl aller Proben unten: Prozentuale Häufigkeit getrennt in Kaltwasser (KW) und Warmwasser (WW)	28
Abbildung 15: Boxplot der Gesamtzellzahlen aus Proben der Trinkwasser-Installation (3e-Anlagen), getrennt für Kalt- und Warmwasser. Probenahme nach Zweck B und C.	29
Abbildung 16: Boxplot des Anteils intakter Zellen (ICC) an GZZ aller Proben (n = 1.572)	30
Abbildung 17: Vergleich der Koloniezahlen bei 20 °C mit intakten Zellen (ICC) (n = 492)	31
Abbildung 18: Boxplots zum Vergleich der Koloniezahlen bei 36 °C mit intakten Zellen (ICC)	32
Abbildung 19: Foto der Laborversuchsanlage (links) mit Zusatzmodul (rechts)	33
Abbildung 20: Foto zweier Bauarten des Reinwasserausgangs der Ultrafiltrationsanlage Links: Variante 1: Anschlussstutzen direkt auf das Hüllrohr der Membranen geklebt Rechts: Variante 2: Anschlussstutzen auf ein zusätzliches Mantelrohr geklebt	33
Abbildung 21: Gesamtzellzahlen aus dem Reinwasser der Laboranlage mit den zwei Bauarten aus Abbildung 20	34
Abbildung 22: Boxplots der Gesamtzellzahlen im Reinwasser von in Gebäuden betriebenen Ultrafiltrationsanlagen (n = 86)	35

Abbildung 23: Abreinigung der Koloniezahl 20°C (KBE/ml) aller peripherer Stellen nach sieben Wochen Betriebszeit der Ultrafiltrationsanlage in Betriebsphase 2	38
Abbildung 24: Abreinigung der Koloniezahl 36°C (KBE/ml) aller peripherer Stellen nach sieben Wochen Betriebszeit der Ultrafiltrationsanlage in Betriebsphase 2	38
Abbildung 25: Abreinigung der Gesamtzellzahl/ml aller peripherer Stellen nach sieben Wochen Betriebszeit der Ultrafiltrationsanlage in Betriebsphase 2	39
Abbildung 26: Abreinigung der Gesamtzellzahlen/ml in den systemischen Proben (n = 123) über den gesamten Untersuchungszeitraum von 49 Wochen	40
Abbildung 27: Verlauf der Gesamtzellzahl im Abreinigungsversuch R 113	43
Abbildung 28: Abreinigung der Gesamtzellzahlen/ml im Raum 113 über die vier Betriebsphasen	44
Abbildung 29: Abreinigung der Gesamtzellzahlen/ml der vier untersuchten peripheren Stellen über die vier Betriebsphasen	44
Abbildung 30: Relative Gesamtzellzahlen im Modellobjekt 12, Berlin, Mietgebäude II	49
Abbildung 31: Relative Gesamtzellzahlen im Modellobjekt 9, Hannover, Mietgebäude III	50
Abbildung 32: Relative Gesamtzellzahlen im Modellobjekt 4, Pinneberg, Mietgebäude	50
Abbildung 33: Temperaturkaskade von der Wärmequelle bis zum Nutzer	51
Abbildung 34: Temperaturkaskade mit einem Filtrationssystem im TWW-Netz am Beispiel von Wärmepumpen	51
Abbildung 35: Abreinigung der Gesamtzellzahlen/ml im Raum 011 über die vier Betriebsphasen	62
Abbildung 36: Abreinigung der Gesamtzellzahlen/ml im Raum 109 über die vier Betriebsphasen	62
Abbildung 37: Abreinigung der Gesamtzellzahlen/ml im Raum 209 über die vier Betriebsphasen	63
Abbildung 38: Gesamtzellzahlen im Modellobjekt 1, Hamburg, Kochquartier Hotel	68
Abbildung 39: Gesamtzellzahlen im Modellobjekt 2, Hamburg, Kochquartier Mietgebäude	68
Abbildung 40: Gesamtzellzahlen im Modellobjekt 3, Braunschweig, Arbeitsstätte	69
Abbildung 41: Relative Gesamtzellzahlen im Modellobjekt 5, Juist, Hotel	69
Abbildung 42: Relative Gesamtzellzahlen im Modellobjekt 6, Clausthal-Zellerfeld, Arbeitsstätte	70
Abbildung 43: Relative Gesamtzellzahlen im Modellobjekt 7, Hannover, Mietgebäude I	70
Abbildung 44: Relative Gesamtzellzahlen im Modellobjekt 8, Hannover, Mietgebäude II	71
Abbildung 45: Relative Gesamtzellzahlen im Modellobjekt 10, Hildesheim, Mietgebäude	71
Abbildung 46: Relative Gesamtzellzahlen im Modellobjekt 11, Berlin, Mietgebäude I	72
Abbildung 47: Relative Gesamtzellzahlen im Modellobjekt 13, Kiel, Hotel	72

Verzeichnis der Tabellen

Tabelle 1: Angewandte Untersuchungsmethoden zum Methodenvergleich	15
Tabelle 2: Standardabweichungen s (%) beim Methodenvergleich ($n = 6$)	16
Tabelle 3: Übersicht über die Wasserversorgungsanlagen nach TrinkwV und entnommene Proben	22
Tabelle 4: Übersicht der GZZ (Zellen/ml) von Wasserversorgungsanlagen (WVA) nach TrinkwV, berechnet aus allen Proben	24
Tabelle 5: Übersicht der GZZ (Zellen/ml) von Wasserversorgungsanlagen (WVA) nach TrinkwV, berechnet aus den Medianwerten der Wasserversorgungsanlagen	24
Tabelle 6: Bewertungsschema der Gesamtzellzahl in der Trinkwasser-Installation	29
Tabelle 7: Erhobene Kennzahlen der Gesamtzellzahl für das Reinwasser und deren Herkunft (GZZ/ml)	36
Tabelle 8: Bewertungsschema der Gesamtzellzahl im Reinwasser von Ultrafiltrationsanlagen	36
Tabelle 9: Versuchsübersicht der Abreinigung in vier Betriebsphasen an vier peripheren Stellen	40
Tabelle 10: Beschreibung der vier näher untersuchten peripheren Stellen und Einstellung der automatischen Spülarmaturen.	41
Tabelle 11: Ergebnisse der vier Betriebsphasen an vier peripheren Stellen	41
Tabelle 12: Charakterisierung der Untersuchungsbedingungen der Modellobjekte	46
Tabelle 13: Ausgangswerte der Gesamtzellzahlen/ml in den Modellobjekten	47
Tabelle 14: Abreinigungswerte der Gesamtzellzahlen in den Modellobjekten	48
Tabelle 15: Prozessorientiertes Bewertungsschema für Modellobjekte	53
Tabelle 16: Beispiel eines prozessorientierten Bewertungsschemas mit Balkendiagramm	54

1 Einleitung

Die Einhaltung der hygienischen Anforderungen und der Trinkwasserverordnung erfordert nach den allgemein anerkannten Regeln der Technik in der Trinkwasser-Installation eine Mindesttemperatur von 55 °C im gesamten Warmwassersystem (DVGW 551, DIN 1988-200, VDI/DVGW 6023). Trotz aller Bemühungen sind in Neubau- und Bestandsobjekten einwandfreie hygienische und technische Zustände und ein bestimmungsgemäßer Betrieb häufig nicht sichergestellt. Zahlreiche Praxisbeispiele zeigen, dass kontaminierte Trinkwasser-Installationen mit kurzfristiger Symptombekämpfung in Form von thermischen und chemischen Desinfektionen keine dauerhafte Lösung darstellen.

In Bezug auf die energetische Effizienz von Gebäuden ist festzustellen, dass der Einsatz von regenerativen Energieträgern, wie Solarthermie oder Wärmepumpen, durch die oben genannte hohe Temperaturanforderung eingeschränkt wird. Deren optimale Betriebsbedingungen liegen deutlich unter der oben genannten Mindesttemperatur, d. h. hygienische Anforderungen an das Trinkwasser stellen eine Hürde in Bezug auf die Umsetzung klimapolitischer Ziele dar. Die Sicherstellung einer hohen hygienischen Sicherheit in Trinkwasser-Installationen ist Voraussetzung für die Absenkung von Systemtemperaturen in Trinkwarmwasser- und Heizungsnetzen.

Mit Unterstützung der EKSH (vormals. Innovationsstiftung S-H) wurde in den Jahren 2008 bis 2014 (Puls und Pramor 2011) von einem interdisziplinären Forschungsteam in der Regie der PPF Forschungsgemeinschaft GbR die EXERGENE[®]-Hygienekonzeption auf Basis der Ultrafiltration (UF)-Membrantechnologie entwickelt (Puls 2015). Hauptziel dieses, an einem konkreten Neubauprojekt erarbeiteten Hygienekonzeptes, ist der hygienisch sichere Betrieb von Trinkwasser-Installationen unter Einsatz von Ultrafiltrationsanlagen unter effektiver Energieeinsparung. Die Steigerung der Energieeffizienz kann insbesondere durch Substitution von thermischer Desinfektion bei aufgetretenen Verkeimungen im Wasser sowie einer Verringerung der Warmwassertemperatur erreicht werden. Dabei werden temperaturunabhängig Bakterien durch die Ultrafiltrationsanlage in zirkulierenden Systemen abgereinigt. Das EXERGENE[®] - Hygienekonzept stellt aus hygienischer Sicht eine innovative Entwicklung dar, die weit über die allgemein anerkannten Regeln der Technik hinausgeht und den Stand von Wissenschaft und Technik auf einem hohen Niveau widerspiegelt (Hippelein und Christiansen 2015).

Zur Kontrolle der Ergebnisse der Technologie wurde die Methode der multidimensionalen Analytik entwickelt. Diese umfasst neben klassischen mikrobiologischen Kultivierungsmethoden auch molekulargenetische Untersuchungen und quantitative Bestimmungen von Bakterienzellen (Gesamtzellzahl, GZZ) mittels Zytometrie. Das Verfahren der Zytometrie (auch Durchflusszytometrie, DFZ) stammt aus der Medizintechnik und hat gegenüber den klassischen Kultivierungsmethoden den Vorteil, dass Ergebnisse kurzfristig vorliegen und Kultivierungsmethoden lediglich einen kleinen Teil der durch Zytometrie nachweisbaren Zellen erfassen. Die Anwendung in Trinkwasserproben hat sich in der Wissenschaft als Methode zur Beschreibung des mikrobiologischen Zustands etabliert (Berney et al., 2008; Egli, 2010). Die Methode wurde zur Charakterisierung von Grundwasser (Kötzsch und Sinreich, 2014), zur Erfassung der Auswirkung der Trinkwasseraufbereitung auf die Mikrobiologie des Wasser (Hammes et al., 2008; Hammes et al., 2010) und dessen Veränderung im Verteilungsnetz (Prest et al., 2013) und in der Hausinstallation (Lautenschläger et al., 2010, Kötzsch und Egli, 2013) erfolgreich eingesetzt.

Zukünftig könnte mittels Zytometrie sogar eine Online-Überwachung ermöglicht werden (Besmer et al., 2014). Die Gesamtzellzahlbestimmung wurde im Dezember 2012 unter der Nummer 333 in das Schweizerische Lebensmittelbuch aufgenommen und somit als alternative Methode zur klassischen Koloniezahlbestimmung (KBE/ml) anerkannt (SLMB 333, 2012).

Trotz der vielfachen Anwendung der GZZ-Bestimmung in Wasserproben liegen bisher nur relativ wenige Daten aus der Trinkwasser-Installation vor, so dass eine Bewertung nur anhand von wenigen Vergleichsdaten möglich ist.

Fügt man der Wasserprobe einen weiteren Vorbereitungsschritt hinzu, ist es möglich neben der GZZ-Bestimmung zwischen lebenden (membranintakten) und toten (membrandefekten) Bakterien zu unterschieden werden (live/dead stain). Dies gibt eine weitere sehr wichtige Information über den physiologischen Zustand der Bakterien in einer Wasserprobe.

Neben der Bestimmung der GZZ und der Unterscheidung in membranintakte und membrandefekte Zellen ermöglicht die Zytometrie die Auswertung des Verhältnisses von Zellen mit wenigen Nukleinsäuren (low nucleic acid, LNA) und vielen Nukleinsäuren (high nucleic acid, HNA). LNA-Zellen werden dabei als kleine Bakterien mit geringem Gehalt an DNA/RNA sowie geringer Granularität, d. h. Zusammenballung der DNA/RNA, interpretiert; HNA-Zellen dagegen als größere Bakterien mit höherem DNA/RNA-Gehalt sowie höherer Granularität. Das LNA/HNA-Verhältnis liefert Informationen über den allgemeinen mikrobiologischen Zustand des untersuchten Wassers und evtl. vorliegenden Störungen (Kötzsch et al. 2012). Der Anteil an HNA-Bakterien kann als schnelles Screening-Werkzeug angesehen werden, um Veränderungen in Wasserproben, wie Wachstum, Kontamination, Stagnation oder Vermischung verschiedener Wässer zu erkennen (Prest et al. 2013). HNA-Bakterien werden im Allgemeinen als der metabolisch aktive Teil der Flora bezeichnet, wohingegen LNA-Bakterien als der inaktive Teil anzusehen sind (Lebaron et al. 2001, Servais et al. 2003, Tadonleke et al. 2005). Allerdings zeigt ein Review von Wang et al. (2010) Widersprüche und Gegensätze in der Interpretation der HNA- und LNA-Bakterien auf.

Die Gesamtzellzahlbestimmung mittels Zytometrie ist von zentraler Bedeutung für den Nachweis der Wirksamkeit der EXERGENE® - Schlüsselfunktion, der Anwendung von Ultrafiltrationsmembranen. Mit diesem Verfahren können Reinigungswirkungen von Membranen, die auf mechanischer Abscheidung von Bakterien und Partikeln beruhen, in geeigneter Weise nachgewiesen werden. Außerdem kann so das Gefährdungspotential einer Aufkeimung von Bakterien bei Absenkung der Warmwassertemperaturen wesentlich besser als allein durch kulturelle Verfahren abgeschätzt werden. Daher sollte im Projekt überprüft werden, ob der momentane technische Stand der Zytometrie die Anwendung dieser Technologie im Routinebetrieb der Trinkwasseruntersuchung grundsätzlich ermöglicht und sich dadurch eine deutliche Verbesserung in zeitlicher und qualitativer Hinsicht ergibt.

2 Ziele und Aufgabengebiete im Projekt

Ziel des Projektes war die Bestimmung der Gesamtzellzahl mittels Zytometrie (GZZ) als schnelle und sensitive Bestimmungsmethode für Trinkwasser-Installationen zu evaluieren. Wesentliches Ergebnis sollte die Erstellung einer Datenbank für die Gesamtzellzahlen sein, aus der ein

Bewertungsschema abgeleitet wird. Die erhaltenen Werte sollten mit den kulturellen Verfahren verglichen werden. Darüber hinaus sollte die Ultrafiltrationstechnik der Marke EXERGENE® in Trinkwarmwassersystemen zur hygienischen Absicherung eingesetzt werden, so dass anschließend die Temperaturen im Warmwasser abgesenkt und die Energieeffizienz gesteigert werden kann. Die Zytometrie sollte als Methode zur mikrobiologischen und hygienischen Prozessüberwachung der Temperaturabsenkung eingesetzt werden.

Das Projekt gliederte sich in die folgenden Aufgabengebiete:

1. Erhebung von Vergleichsdaten und Bewertung der Gesamtzellzahl mittels Zytometrie in Trinkwasser
2. Vergleich der Gesamtzellzahlen mit Koloniezahlbestimmungen nach Trinkwasserverordnung
3. Ermittlung eines Minimalwertes für die Gesamtzellzahl in Reinwasser aus Ultrafiltrationsanlagen
4. Unterscheidung von intakten und nicht-intakten Zellen
5. Nachweis des hygienisch sicheren Betriebes in Referenzgebäuden bei abgesenkten Warmwassertemperaturen und Absicherung durch Ultrafiltrationsanlagen (UF) und Zytometrie
6. Hochrechnung der energetischen Wirkung der Temperaturabsenkung im Warmwasser in Modellgebäuden

3 Methodik und Qualitätssicherung

3.1 Herkunft der Proben und Probenahme

Im Projekt wurden die im Wasserlabor der ZE Medizinaluntersuchungsamt und Hygiene (ZE MUA HYG) von externen Kunden eingehenden Trinkwasserproben unterschiedlicher Herkunft mittels Zytometrie untersucht, wenn die Koloniezahlbestimmung nach Trinkwasserverordnung beauftragt war.

Neben den Routineproben externer Auftraggeber wurden außerdem Trinkwasserinstallationen einzelner Gebäude untersucht, in denen eine Ultrafiltrationsanlage eingebaut ist oder zum Zweck der Temperaturabsenkung im Warmwasser eingebaut werden soll. Jede Probe wurde mittels eines zusätzlichen Probenbegleitzettels für die Zytometrie (siehe Anhang) charakterisiert, damit mögliche Einflüsse auf gemessene Werte bewertet werden können.

In einer speziellen Forschungsanlage am UKSH wurden Untersuchungen zum Reinwasser der Ultrafiltrationsanlage unternommen. Um die Wirkung der Ultrafiltrationsanlage räumlich und zeitlich engmaschig zu verfolgen, wurde ein abgegrenzter, definierter Bereich der Warmwasser-Installation im Gebäude der ZE MUA HYG mit einer Ultrafiltrationsanlage versehen und die nachgeschaltete Trinkwasser-Installation von zwei Projektmitarbeitern beprobt.

3.2 Durchführung der Analysen

3.2.1 Zytometrie

Die analytische Methode der Zytometrie in Trinkwasser wurde zu Beginn des Projektes etabliert und mit Unterstützung des Projektpartners eawag Abteilung Umweltmikrobiologie (Dübendorf, Schweiz) in den Routinebetrieb übernommen. Die eawag Abteilung Umweltmikrobiologie hat die

Untersuchungsmethode zur Bestimmung der Gesamtzellzahl (GZZ) und die Unterscheidung membranintakter (ICC) und nicht-intakter Zellen (NICC) in Trinkwasser entwickelt (Kötzsch et al., 2012) und die Softwareeinstellungen an dem für das Projekt beschafften Zytometer erstellt. Ein Mitarbeiter des Projektpartners nahm am Institut für Infektionsmedizin und der ZE MUA HYG die Softwareeinstellungen vor und führte die Mitarbeiter in die Methode ein. So konnte in sehr kurzer Zeit eine Routineanalytik etabliert werden.

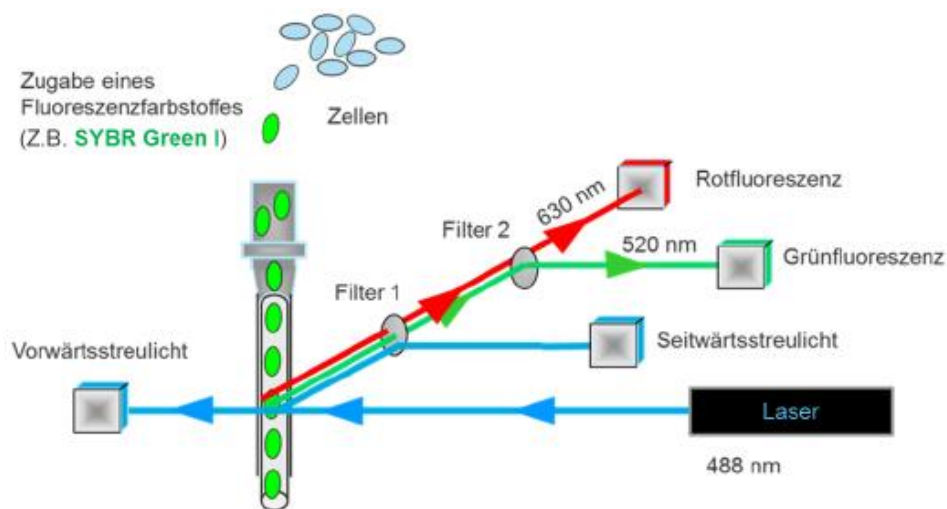


Abbildung 1: Prinzip der Zytometriebestimmung (Kötzsch et al., 2012)

Grundlage der zytometrischen Bestimmung ist die Färbung der Zellen einer Probe mittels Fluoreszenzfarbstoff oder eines Fluoreszenzfarbstoffgemisches (Abbildung 1). Der Farbstoff bindet an die DNA und RNA der Zelle, wodurch diese markiert wird. Zur Ermittlung der Gesamtzellzahl (GZZ) kommt der unter Anregung durch Laserlicht (488 nm) grün fluoreszierende Farbstoff SYBR Green I zum Einsatz. Für die Ermittlung der membranintakten Zellen (ICC) wird ein Farbstoffgemisch aus SYBR Green I und dem rot fluoreszierenden Propidiumiodid im Verhältnis 1:2 hergestellt. Nach Versetzen der Wasserprobe mit diesen Farbstoffen wurde diese für 15 min bei 37 °C inkubiert und anschließend im Zytometer (Accuri C6, Fa. Becton Dickinson) vermessen. Im Zytometer werden die Zellen mittels hydrodynamischer Fokussierung vereinzelt und durch eine von einem Laser durchstrahlte Glaskapillare geschleust. Jede Zelle führt nach Bestrahlung zu einer Lichtstreuung und zur Emission von grünem und rotem Fluoreszenzlicht und kann automatisiert gezählt werden. Die Geräteeinstellungen am Zytometer waren wie folgt:

Run with Limits	50 µl
Fluidics	fast, Flow Rate 66 µl/min, Core Size 22 µm
Threshold	800 on FL1-H

Die Analysensoftware erstellt verschiedene Diagramme aus Streu- und Fluoreszenzlicht nach Anregung mittels Laserlicht (488 nm). Routinemäßig wurden Diagramme aus der Signalkombinationen Grün- zu Rotfluoreszenz und aus dem Grünfluoreszenz-Histogramm ausgewertet. Bei der Kombination von Grün- und Rotfluoreszenz (Abbildung 2) werden Zellen von abiotischen Partikeln und Hintergrundsignalen durch Setzen eines sogenannten Gates in der Gerätesoftware abgetrennt und somit die GZZ bzw. der ICC-Wert erfasst. Der Wert für NICC wird

durch die Differenz von GZZ und ICC ermittelt. Bei der Analyse der GZZ wurde aus dem Grünfluoreszenz-Histogramm das LNA/HNA-Verhältnis der Zellen bestimmt (Abbildung 3).

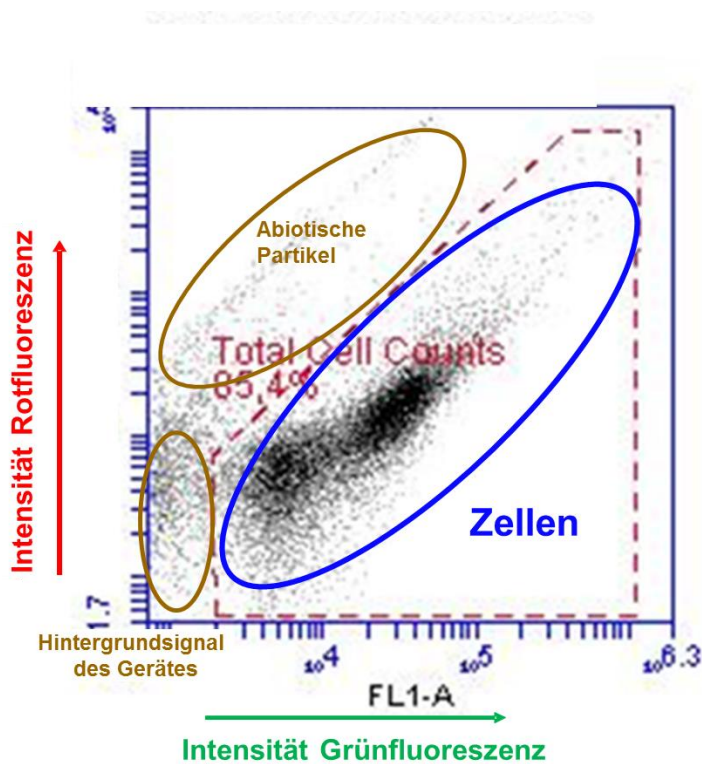


Abbildung 2: Kombination von Grün- und Rotfluoreszenz einer typischen Trinkwasserprobe und deren Auswertung

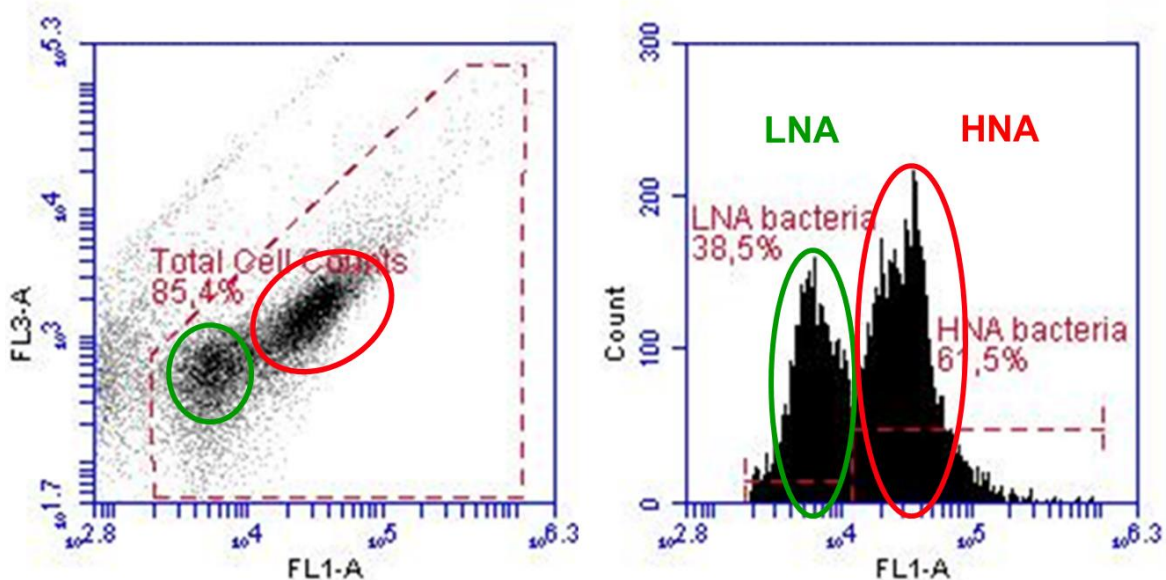


Abbildung 3: Grün-/Rotfluoreszenz (links) und Grünfluoreszenz-Histogramm (rechts) einer typischen Trinkwasserprobe zur Bestimmung des LNA/HNA-Verhältnisses

3.2.2 Verfahren der Trinkwasserverordnung

Für die Bestimmung mittels Kultivierungsverfahren wurden die nach Trinkwasserverordnung zugelassenen und akkreditierten Koloniezahlbestimmungen angewandt. In den meisten Fällen erfolgte die Untersuchung bei 20 und 36 °C nach TrinkwV Anhang 5 Teil 1 Nr. d) bb). Lediglich bei einem großen zentralen Wasserversorger wurde die Kultivierungsmethode nach DIN EN ISO 6222 bei 22 und 36 °C angewandt. Die beiden Kultivierungsmethoden können bei der gleichen Probe zwar unterschiedliche Ergebnisse zeigen, diese Unterschiede sind jedoch beim Vergleich mit der Gesamtzellzahl und Zahl intakter Zellen zu vernachlässigen.

3.3 Vergleich unterschiedlicher Methoden zur Bestimmung der Bakterienkonzentration

Mit standardisierten Bakteriensuspensionen von *Escherichia (E.) coli* bzw. *Pseudomonas (P.) aeruginosa* wurde die Zytometrie mit kulturellen Standardmethoden der Desinfektionsmitteltestung und der Trinkwasserverordnung im Dreifachansatz einer Verdünnungsreihe verglichen (Tabelle 1). Ziel der Untersuchung, die zu Beginn des Projektes durchgeführt wurde, waren eine Plausibilitätsprüfung der Ergebnisse von Zytometrie und kulturellen Verfahren sowie Ergebnisse zur Reproduzierbarkeit der Methoden mit Hilfe von standardisierten Proben. Es war zu erwarten, dass Trinkwasserproben wegen hoher natürlicher Schwankung der Zellzahlen nicht standardisierbar sind. Daher ist eine Übertragung der folgenden Ergebnisse aus Kapitel 3.3 auf Trinkwasserproben nicht möglich, da die Bakterien in der verwendeten Suspension unter optimalen Bedingungen wachsen und sich in der Wachstumsphase bzw. Steady-State-Phase einer Wachstumskurve in Nährstoffbouillon befinden. Trinkwasserproben bestehen aus einer Mischpopulation von Mikroorganismen, die den unterschiedlichsten Umweltbedingungen ausgesetzt sind, als Gesamtheit in keiner definierten Wachstumsphase zu finden ist und Teilpopulationen aufweisen, die absterben oder nicht kultivierbar sind.

Tabelle 1: Angewandte Untersuchungsmethoden zum Methodenvergleich

Abkürzung	Verfahren
TrinkwV	Plattengussverfahren nach Trinkwasserverordnung bei 20 °C und 36 °C
ISO 6222	Plattengussverfahren nach DIN EN ISO 6222 für Wasser bei 22 °C und 36 °C
DES	Ausspateln (AS) von 100 µl nach Desinfektionsmitteltestung, Kultur bei 36 °C
ICC	Zytometrie auf membranintakte Zellen
GZZ	Zytometrie auf Gesamtzellzahl

Die Standardabweichungen des Methodenvergleichs (Tabelle 2) zeigen für die Kultivierungsverfahren eine gute Reproduzierbarkeit des gewählten Ansatzes mit einer Standardabweichung von etwa 20 %. Deutlich niedrigere Standardabweichungen von unter 10 % wurden dabei mittels Zytometrie erreicht.

Tabelle 2: Standardabweichungen s (%) beim Methodenvergleich (n = 6)

Methode	TrinkwV		ISO 6222		DES	Zytometrie	
	KolZ 20	KolZ 36	KolZ 22	KolZ 36	AS 36	ICC	GZZ
<i>E. coli</i>	22	22	10	19	16	3,7	2,0
<i>P. aeruginosa</i>	11	27	21	15	7,4	4,0	7,5

Abbildung 4 stellt den Vergleich der unterschiedlichen Untersuchungsmethoden relativ zur mittels Zytometrie erhobenen Gesamtzellzahl dar. Im Mittel der beiden Bakterienstämme sind 66 % der Zellen intakt (ICC), und diese werden beim Verfahren mittels Ausspateln (AS DES) zu 49 % der GZZ kultiviert. Die vier Plattengussverfahren der Trinkwasserverordnung (TrinkwV und ISO) zeigen demgegenüber nur einen mittleren Anteil von 35 % kultivierbarer Zellen gegenüber der GZZ. Das Ausspateln stellt eine Oberflächenkultur dar, so dass diese Kulturen wegen des höheren Sauerstoffangebots gegenüber den Plattengussverfahren höhere Wiederfindungen zeigen. Die Bakteriensuspension von *E. coli* ergibt meist höhere Wiederfindungen als diejenige von *P. aeruginosa*, was sich insbesondere darin zeigt, dass fast alle Zellen intakt sind (ICC = 90 %). Die hier dargestellten Methoden des Ausspatelns und der ISO 6222 dienen nur für diese Vergleichsuntersuchung und wurden im Projekt nicht weiter angewandt.

Eine Übertragung der in Abbildung 4 dargestellten relativen Ergebnisse zur Gesamtzellzahl auf Trinkwasserproben ist jedoch nicht möglich, da die Vitalität, Kultivierbarkeit und der Anteil membranintakter Zellen auf Grund von Umwelteinflüssen deutlich geringer sind (siehe Kapitel 4.3).

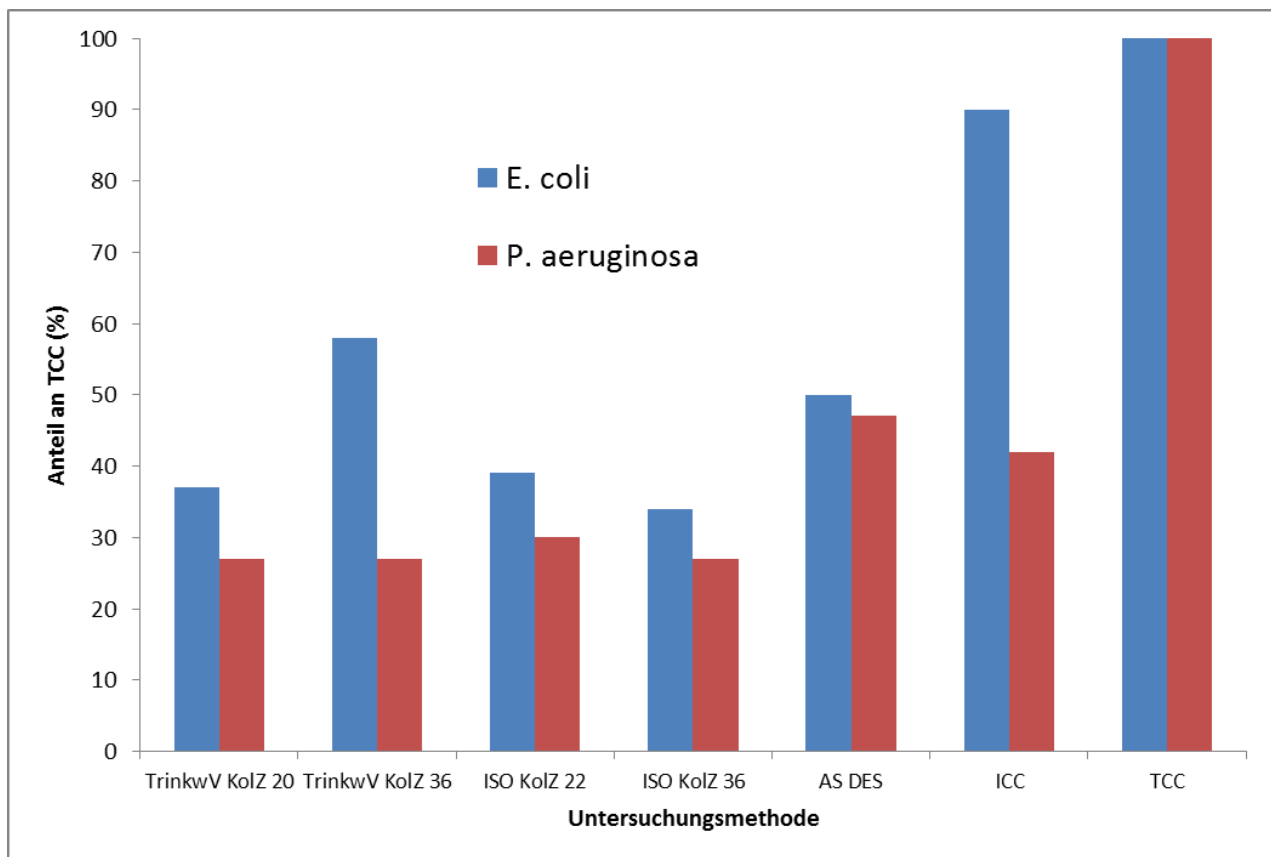


Abbildung 4: Ergebnisse des Methodenvergleichs

3.4 Vergleichsuntersuchungen mit anderen Laboratorien

Für die Zytometrie werden im Gegensatz zu Trinkwasseruntersuchungen nach Trinkwasserverordnung offizielle Ringversuche noch nicht angeboten. Jedoch bestand bei drei Probenahmen in der Trinkwasser-Installation die Möglichkeit einer Vergleichsuntersuchung mit drei verschiedenen Laboratorien. Abbildung 5 bis Abbildung 7 zeigen, dass die erhaltenen Ergebnisse für die Gesamtzellzahl der ZE MUA HYG mit denjenigen der Laboratorien von IWW und TUHH gut übereinstimmen. Dagegen sind die Werte des Hygieneinstituts Bonn etwas höher als diejenigen der ZE MUA HYG. Bei der Bestimmung der ICC-Werte sind die von der TUHH gemessenen Konzentrationen in allen Fällen höher als diejenigen der ZE MUA HYG (Abbildung 8).

Die Aufarbeitung der Proben, der Gerätehersteller und die Geräteeinstellungen waren nicht identisch bzw. konnten nicht abgeglichen werden, was die Unterschiede zumindest mit begründet. Die Proben beim Vergleich mit dem Hygieneinstitut Bonn und dem IWW wurden zwar an der gleichen Probenahmestelle zur gleichen Zeit gewonnen, aber in unterschiedliche Probenahmeflaschen abgefüllt. Dadurch konnte, im Gegensatz zum Vergleich mit der TUHH, nicht exakt die gleiche Probe untersucht werden. Außerdem konnte nicht gewährleistet werden, dass die gleichen Transportbedingungen, z. B. bzgl. Dauer und Lagerung, eingehalten wurden. Ob dies relevant ist, ist allerdings fraglich, da beim Vergleich mit dem IWW kein Einfluss unterschiedlicher Probenahmeflaschen und des Transportes erkennbar waren. Es gab hier keine systematischen Unterschiede der GZZ.

Die Abweichungen zwischen den Laboratorien liegen in der Regel unter 20 % und sind für mikrobiologische Vergleichsuntersuchungen zweier Laboratorien als gering zu bewerten. Die relativen Soll-Standardabweichungen für die Koloniezahlbestimmungen bei 20/22 °C und 36 °C in Ringversuchen des Niedersächsischen Landesgesundheitsamtes im Rahmen der Trinkwasserverordnung liegen zwischen 13 und 21 % (NLGA 2018). Ringversuchsergebnisse innerhalb dieser Soll-Standardabweichung werden als erfolgreiche Teilnahme am Ringversuch gewertet. Die Abweichungen der Ergebnisse der ZE MUA HYG von drei anderen Laboratorien zeigen ähnliche Werte wie Ringversuchsergebnisse der Kultivierungsverfahren.

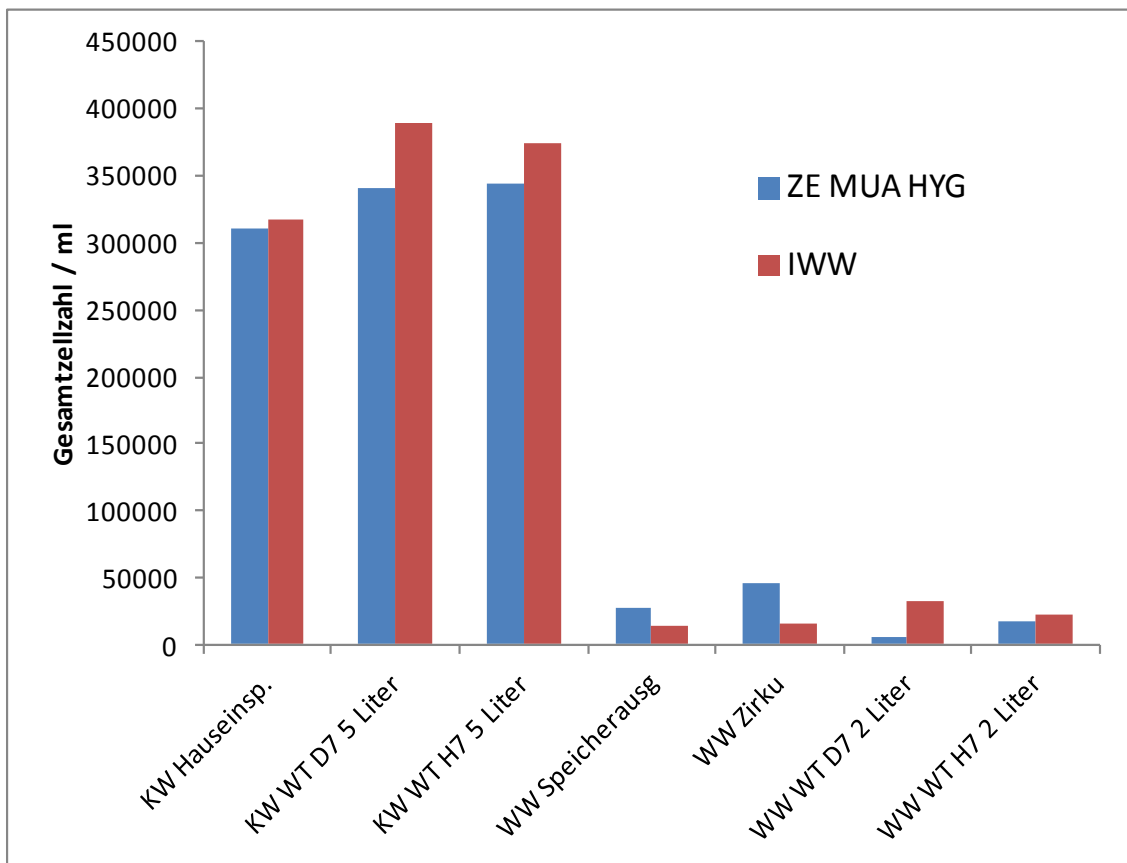


Abbildung 5: Vergleich der Untersuchungsergebnisse eines Probenzugs zwischen der ZE MUA HYG und dem IWW Rheinisch-Westfälisches Institut für Wasserforschung (IWW) Mühlheim

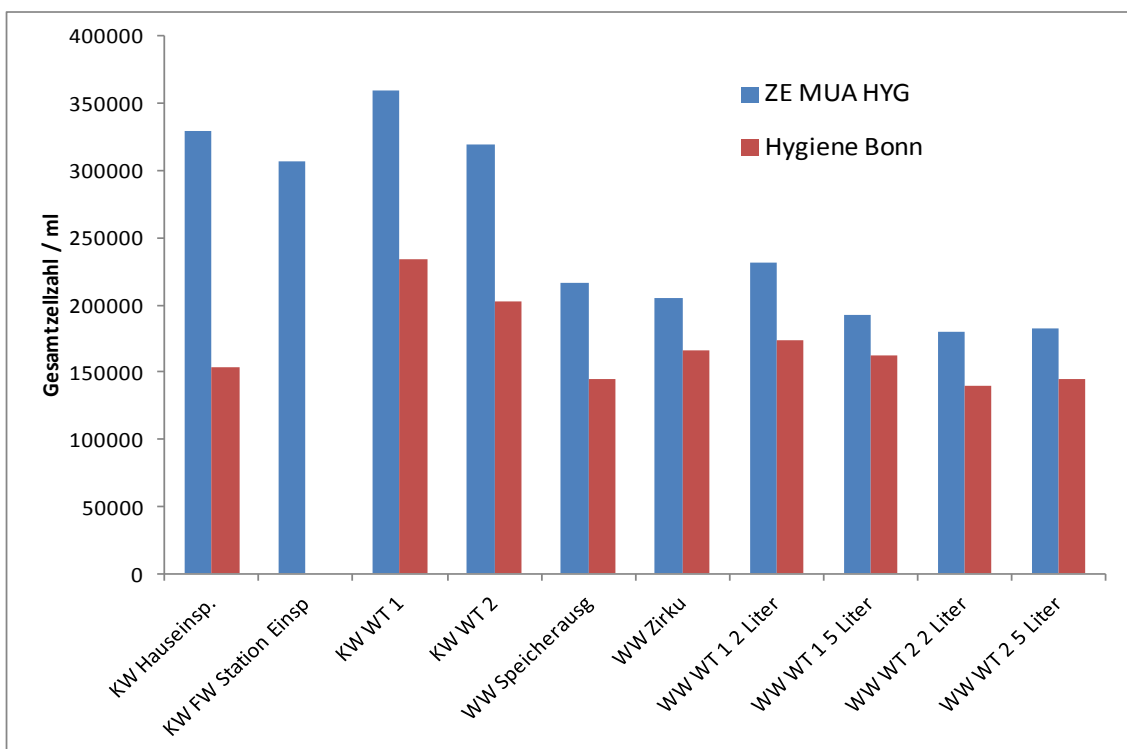


Abbildung 6: Vergleich der Untersuchungsergebnisse eines Probenzugs zwischen der ZE MUA HYG und dem Institut für Hygiene und Öffentliche Gesundheit Bonn

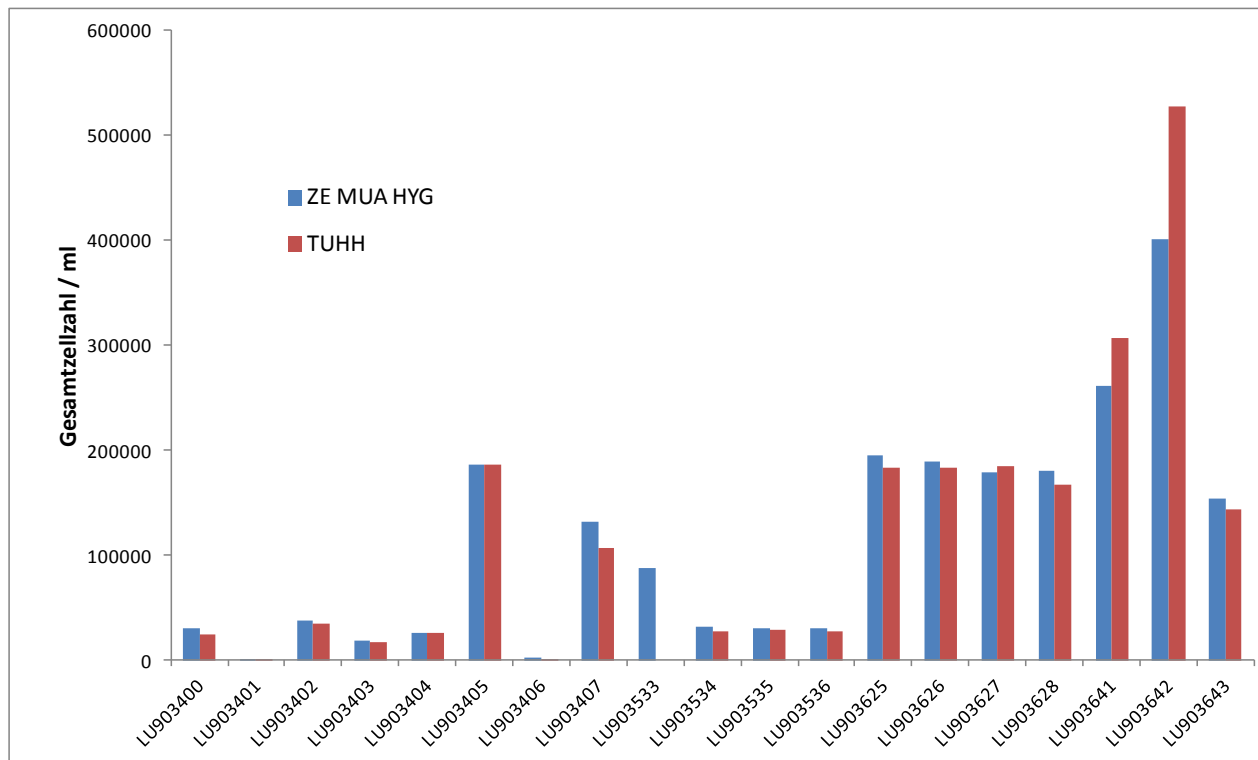


Abbildung 7: Vergleich der Untersuchungsergebnisse für die Gesamtzellzahlen von 19 Routineproben zwischen der ZE MUA HYG und der DVGW-Forschungsstelle TUHH

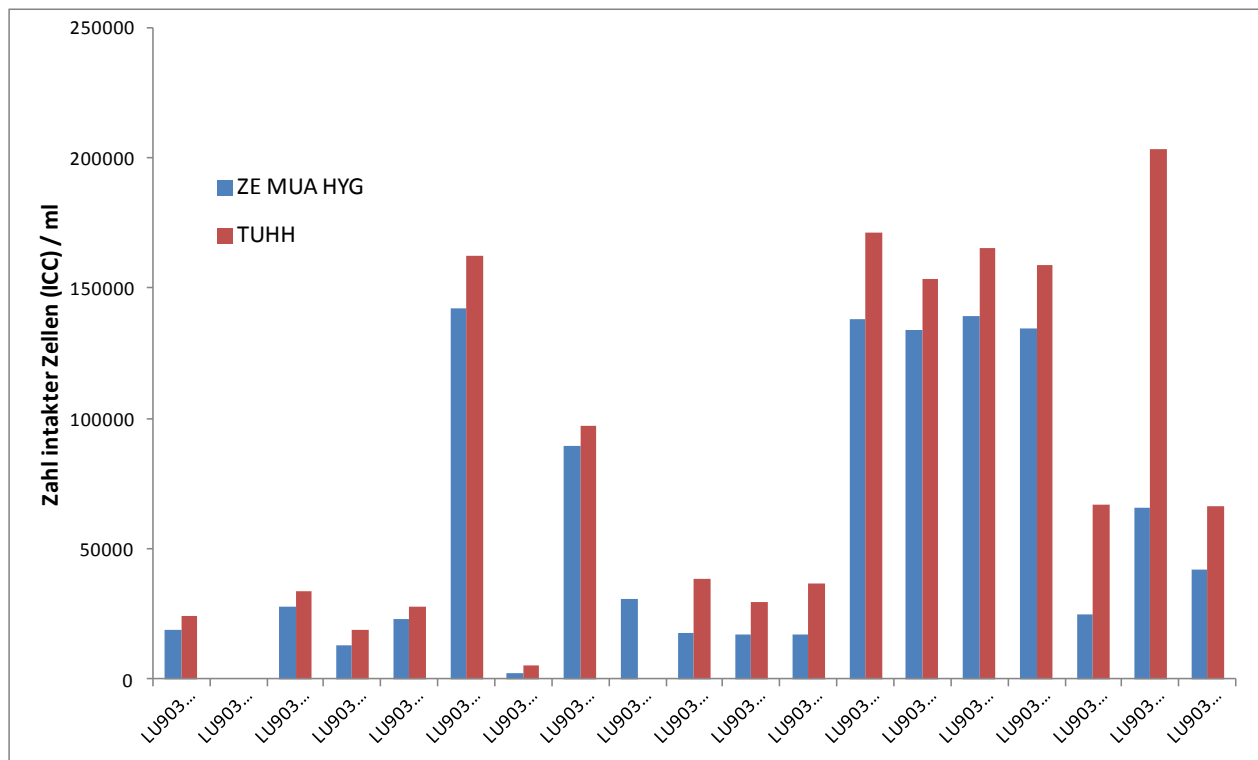


Abbildung 8: Vergleich der Untersuchungsergebnisse für die intakten Zellen von 19 Routineproben zwischen der ZE MUA HYG und der DVGW-Forschungsstelle TUHH

3.5 Auswertung der erhobenen Daten

Im durchgeführten Projekt wurden 1.692 Proben mittels Zytometrie auf die Parameter GZZ und ICC untersucht. Die Werte schwankten zwischen < 1.500 und $4.538.000$ GZZ/ml. Die gewonnenen Daten wurden mittels statistischer Methoden, d. h. Minimalwert, Maximalwert, Median (50. Perzentil), Mittelwert, 5./25./75. und 95. Perzentil ausgewertet. Werte zwischen dem 25. Perzentil und 75. Perzentil können als typisch bzw. normal bewertet werden. Werte unterhalb des 5. Perzentils und oberhalb des 95. Perzentils gelten als sehr gering bzw. deutlich erhöht. Die dazwischen liegenden Werte werden als gering bzw. erhöht interpretiert. Auf dieser Grundlage kann bei ausreichender Datenanzahl ein Bewertungsschema für Zytometrie-Werte erstellt werden. Die statistische Auswertung kann zum Vergleich verschiedener Datensätze in sogenannten Boxplot-Diagrammen übersichtlich dargestellt werden (Abbildung 9).

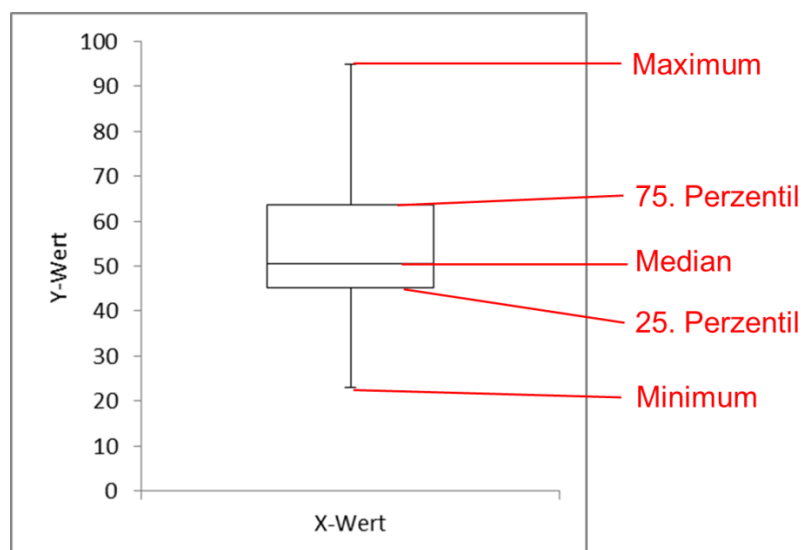


Abbildung 9: Auswertung mittels Boxplot-Diagrammen

4 Ergebnisse

4.1 Ergebnisse der Gesamtzellzahlen ohne Einfluss einer Ultrafiltrationsanlage

4.1.1 Vergleichsdaten im Trinkwasser verschiedener Wasserversorgungsanlagen

Die ermittelten Gesamtzellzahlen aller Proben ohne Einfluss einer Ultrafiltrationsanlage schwanken zwischen 2.000 und $4.538.000$ GZZ/ml bei einem Median von 149.000 /ml und einem Mittelwert von 197.725 /ml. Die Häufigkeitsverteilung dieser Proben in Abbildung 10 zeigt, dass über die Hälfte der Proben (58 %) im Bereich zwischen 100.000 und 200.000 GZZ/ml liegen. Allerdings erreichen fast ein Drittel der Proben (31 %) auch Werte über 250.000 /ml.

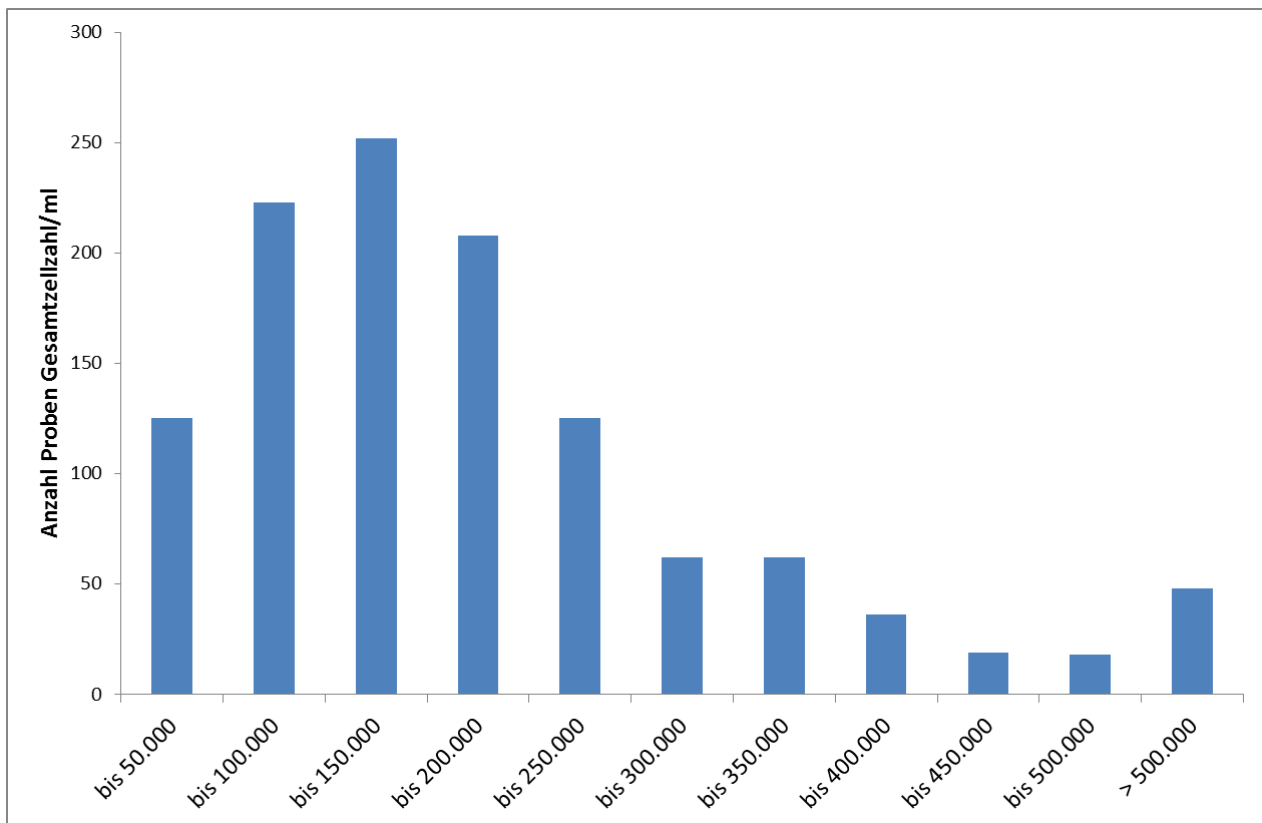


Abbildung 10: Häufigkeitsverteilung der Gesamtzellzahl/ml aller untersuchten Proben ohne Einfluss einer Ultrafiltrationsanlage (n = 1178)

Die Trinkwasserverordnung unterscheidet auf Grundlage § 3 Nr. 2 fünf verschiedene Wasserversorgungsanlagen, die erfahrungsgemäß mit unterschiedlichen mikrobiologischen Werten verbunden sind. So zeigen z. B. zentrale und dezentrale Wasserwerke (3a,b) in der Regel niedrigere Koloniezahlen als Kleinanlagen zur Eigenversorgung (3c), mobile Versorgungsanlagen (3d) oder Trinkwasser-Installationen in Gebäuden (3e).

Tabelle 3 gibt einen Überblick über die im Projekt untersuchten Proben und deren Einordnung in Wasserversorgungsanlagen nach TrinkwV.

Tabelle 3: Übersicht über die Wasserversorgungsanlagen nach TrinkwV und entnommene Proben

Typ	Bezeichnung	Charakterisierung	Beprobte Einrichtungen	Entnommene Proben
a	Zentrale Wasserwerke	$\geq 10 \text{ m}^3/\text{d}$ oder ≥ 50 Personen	Stadtwerke, Flächenversorger, Wasserverteilungsunternehmen	Reinwasserbehälter, Wasserwerksausgang, Verteilungsnetz, Hochbehälter, Hausanschluss, Netzproben mit Entnahme nach Zweck A*
b	Dezentrale kleine Wasserwerke	$< 10 \text{ m}^3/\text{d}$ und < 50 Personen	Gruppenversorgung oder Einzelbrunnen mit Abgabe an Dritte	Reinwasser Wasserwerk, Hausanschluss, Proben in Gebäuden mit Entnahme nach Zweck A*
c	Kleinanlagen zur Eigenversorgung	$< 10 \text{ m}^3/\text{d}$ und < 50 Personen, Trinkwasserentnahme zur privaten/eigenen Nutzung	Einzelbrunnen/Gruppenversorgung ohne Abgabe an Dritte (Eigenversorgung)	Proben aus der Trinkwasser-Installation mit Entnahme nach Zweck A und B*
d	Mobile Versorgungsanlagen	An Bord von Land-, Wasser-, Luftfahrzeugen, fahrbare Schank- und Verkaufsstände	Schiffe, Eisenbahnwagons	Entnahmestellen auf Schiffen und in Eisenbahnwagons mit Entnahme nach Zweck A, B und C*
e	Ständige Wasser-Verteilung	Gesamtheit der Installation in Gebäuden	Mietshäuser, Kliniken, medizinische Einrichtungen, Alten- und Pflegeheime, Schulen, Kindergärten, Sporthallen, Schwimmbäder, Hotels, Appartementanlagen, Campingplätze, Bürogebäude, Gewerbebetriebe	Waschtische, Küchenspülen, Duschen, Eckventile, WW-Speicherzuläufe, WW-Speicherausgänge, Zirkulationsleitungen, Hausanschlüssen mit Entnahme nach Zweck B und C*

* Probenahme nach Zweck A, B, C der DIN EN ISO 19458

Tabelle 4 bis Tabelle 5 und Abbildung 11 bis Abbildung 12 stellen die Ergebnisse der Gesamtzellzahlen unterschiedlicher Wasserversorgungsanlagen dar. Ziel dieser Auswertungen war es Vergleichsdaten zu Gesamtzellzahlen unter normalen Betriebsbedingungen zu erheben, wie sie bei Routineuntersuchungen anzutreffen sind. Die größte Anzahl an Proben wurde aus Trinkwasser-Installationen bei der höchsten Anzahl von Wasserversorgungsanlagen untersucht, da hierfür ein Bewertungsschema aufgestellt werden sollte. Eine hohe Probenzahl findet sich auch bei großen zentralen Wasserversorgern, da bei diesen nach Trinkwasserverordnung und auf

Grund der Eigenüberwachung mikrobiologische Untersuchungen deutlich häufiger durchgeführt werden als z. B. bei Eigenversorgern, die nur einmal pro Jahr untersucht werden müssen.

Für Tabelle 4 und Abbildung 11 wurden die statistischen Kennzahlen aller Proben bestimmt, so dass hier als Datengrundlage alle Proben der jeweiligen Kategorie dienten. Rohwasser- und Proben aus der Aufbereitung im Wasserwerk wurden nicht berücksichtigt. Bei den 3e-Anlagen der Trinkwasser-Installation wurden nur solche Proben verwendet, die durch eine Ultrafiltrationsanlage nicht beeinflusst waren. Für die Tabelle 5 und Abbildung 12 dagegen wurden zuerst die Mediane der einzelnen Wasserversorgungsanlagen berechnet und anschließend diese Mediane für den Vergleich der Wasserversorgungsanlagen angewandt. Daher bilden in Tabelle 5 und Abbildung 12 die Anzahl der Wasserversorgungsanlagen die Datengrundlage. Somit könnte die unterschiedliche Gewichtung auf Grund unterschiedlicher Probenanzahlen zwischen den Wasserversorgungsanlagen ausgeglichen werden. Zum Beispiel wurden bei einem großen zentralen Wasserversorger (3a-Anlage) 84 Proben untersucht, wohingegen aus jeder 3b- (dezentrale kleine Wasserversorger) bzw. 3c- (Eigenversorger) in der Regel nur eine Probe entnommen wurde.

Bei großen zentralen Wasserversorgungsanlagen (3a) zeigten sich unabhängig von der Auswertemethode die niedrigsten Gesamtzellzahlen mit den geringsten Schwankungen der Werte. Innerhalb der großen Wasserversorger können deutliche Unterschiede zwischen den Trinkwasserverteilungsnetzen ermittelt werden (Abbildung 13). Mit Abnahme der Größe der Wasserversorgungsanlage nehmen die Gesamtzellzahlen zu, so dass die mobilen Wasserversorgungsanlagen (3d) die höchsten GZZ-Werte bei relativ großen Schwankungen zeigten. Dies entspricht auch den Erfahrungen aus den Koloniezählbestimmungen nach TrinkwV. Große zentrale Wasserversorgungen weisen auf Grund der Eigenüberwachungs- und Wartungstätigkeiten sowie der fachlichen Kenntnis der Mitarbeiter in der Regel geringe mikrobiologische Belastungen bei stabilen Versorgungssystemen auf. Kleine Versorgungssysteme mit Vorrattanks, geringem Verbrauch und Stagnationsphasen wie z. B. auf Schiffen zeigen höhere mikrobiologische Belastungen.

Die GZZ-Werte aus den Trinkwasser-Installationen zeigen je nach Auswertung der Daten über alle Einzelwerte oder Mediane der Wasserversorgungsanlagen ein unterschiedliches Verhalten im Vergleich zu den anderen Wasserversorgungsanlagen. Bei Auswertung über alle Einzelwerte waren die GZZ-Werte in den Trinkwasser-Installationen gegenüber den Werten der 3a-Anlagen erhöht, lagen aber im Mittel unterhalb der Werte aus 3b-, 3c- und 3d-Anlagen (Tabelle 4 und Abbildung 11). Der höchste GZZ-Wert stammt aus einem selten genutzten Waschtisch eines öffentlichen Gebäudes. Obwohl die Größe der Wasserversorgungsunternehmen, die das Wasser an die beprobten Trinkwasser-Installationen abgeben, nicht in allen Fällen bekannt war, ist anzunehmen, dass es sich zum größten Teil um 3a-Anlagen handelt. Gegenüber den 3a-Anlagen erhöhen sich die GZZ-Werte im Mittel in der Trinkwasser-Installation auf Grund von z. B. Stagnation, erreichen aber die Werte von 3b-Anlagen nicht. Damit ist das Ergebnis für die Auswertung über die Einzelproben plausibel. Nicht plausibel erscheint dagegen das Ergebnis der Trinkwasser-Installationen gegenüber den 3a-Anlagen, wenn über die Mediane der Wasserversorgungsanlagen ausgewertet wird. Hier zeigen die Trinkwasser-Installationen niedrigere GZZ-Werte als die 3a-Anlagen (Tabelle 5 und Abbildung 12). Grund hierfür könnte sein, dass die Proben aus den beprobten 3a-Anlagen nicht repräsentativ für die beprobten Trinkwasser-

Installationen sind. So stammen 76 % 3a-Anlagen, jedoch 90 % der Trinkwasser-Installationen aus Schleswig-Holstein und Hamburg.

Vor diesem Hintergrund wurde das Bewertungsschema für Gesamtzellzahlen in der Trinkwasser-Installation auf Grundlage der Einzelwerte erstellt (Kapitel 4.1.2). Die Auswertung über die Mediane der Wasserversorgungsanlagen lässt sich hier nicht sinnvoll nutzen.

Tabelle 4: Übersicht der GZZ (Zellen/ml) von Wasserversorgungsanlagen (WVA) nach TrinkwV, berechnet aus allen Proben

Typ WV	3a	3b	3c	3d	3e
Anzahl Proben	353	24	58	105	452
Minimum	15.000	63.000	44.000	5.000	2.000
Median	133.000	242.500	216.000	296.000	169.000
Maximum	517.000	524.000	1.910.000	3.209.000	4.538.000

Tabelle 5: Übersicht der GZZ (Zellen/ml) von Wasserversorgungsanlagen (WVA) nach TrinkwV, berechnet aus den Medianwerten der Wasserversorgungsanlagen

Typ WV	3a	3b	3c	3d	3e
Anzahl WVA	25	20	53	75	138
Minimum	10.000	63.000	44.000	5.000	8.500
Median	158.250	204.310	219.000	315.000	116.500
Maximum	729.500	524.000	1.910.000	3.209.000	1.182.500

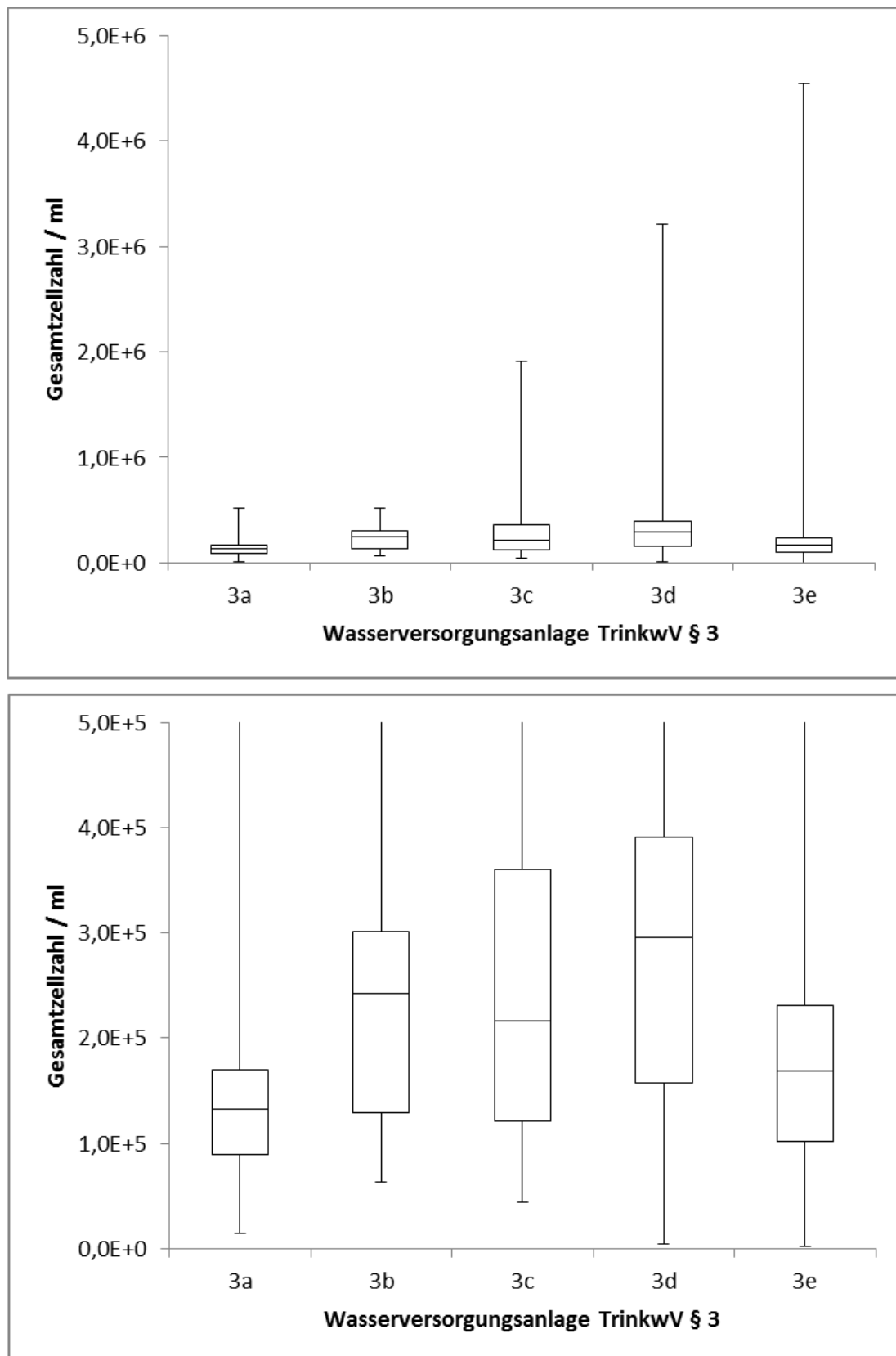


Abbildung 11: Boxplot der Gesamtzellzahlen unterschiedlicher Wasserversorgungsanlagen, berechnet aus allen Proben

oben: Boxplot nicht skaliert mit sichtbarem Maximum

unten: Boxplot skaliert zur besseren graphischen Darstellung

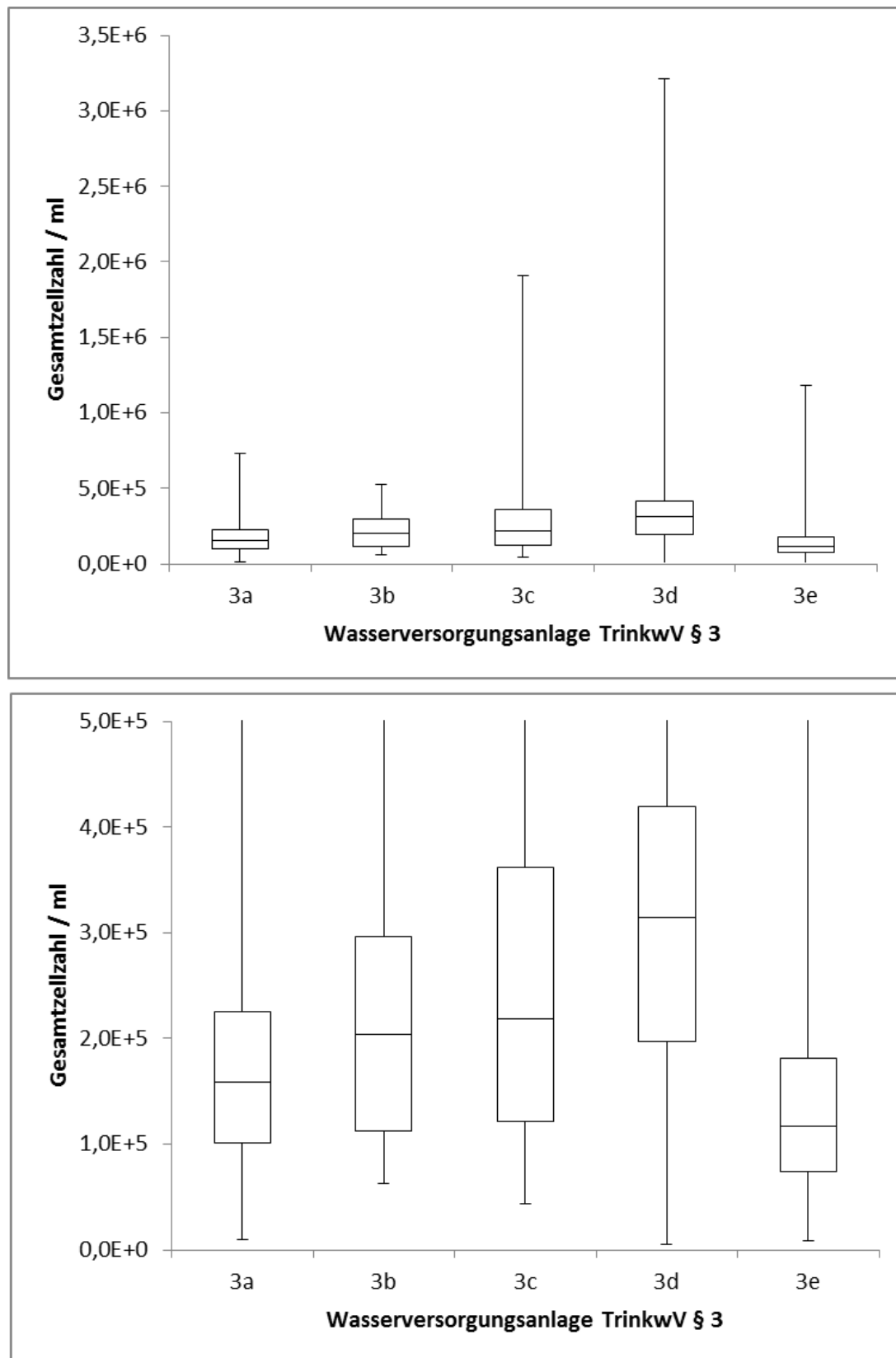


Abbildung 12: Boxplot der Gesamtzellzahlen unterschiedlicher Wasserversorgungsanlagen, berechnet aus den Medianen der Wasserversorgungsanlagen
 oben: Boxplot nicht skaliert mit sichtbarem Maximum
 unten: Boxplot skaliert zur besseren graphischen Darstellung

Abbildung 13 zeigt die Boxplots der großen zentralen Wasserversorgungsanlagen (3a) mit ausreichender Probenanzahl. Einzeln ausgewertet wurden 3a-Anlagen (A bis E), wenn mindestens 20 Einzelproben vorlagen. Wasserversorger B zeigt relativ geringe GZZ-Werte mit geringen Schwankungen. Dies zeigt ein mikrobiologisch gering belastetes Trinkwassernetz mit stabilen Bedingungen an. Wasserversorger D zeigt demgegenüber höhere GZZ-Werte und Schwankungen mit einem hohen Maximalwert.

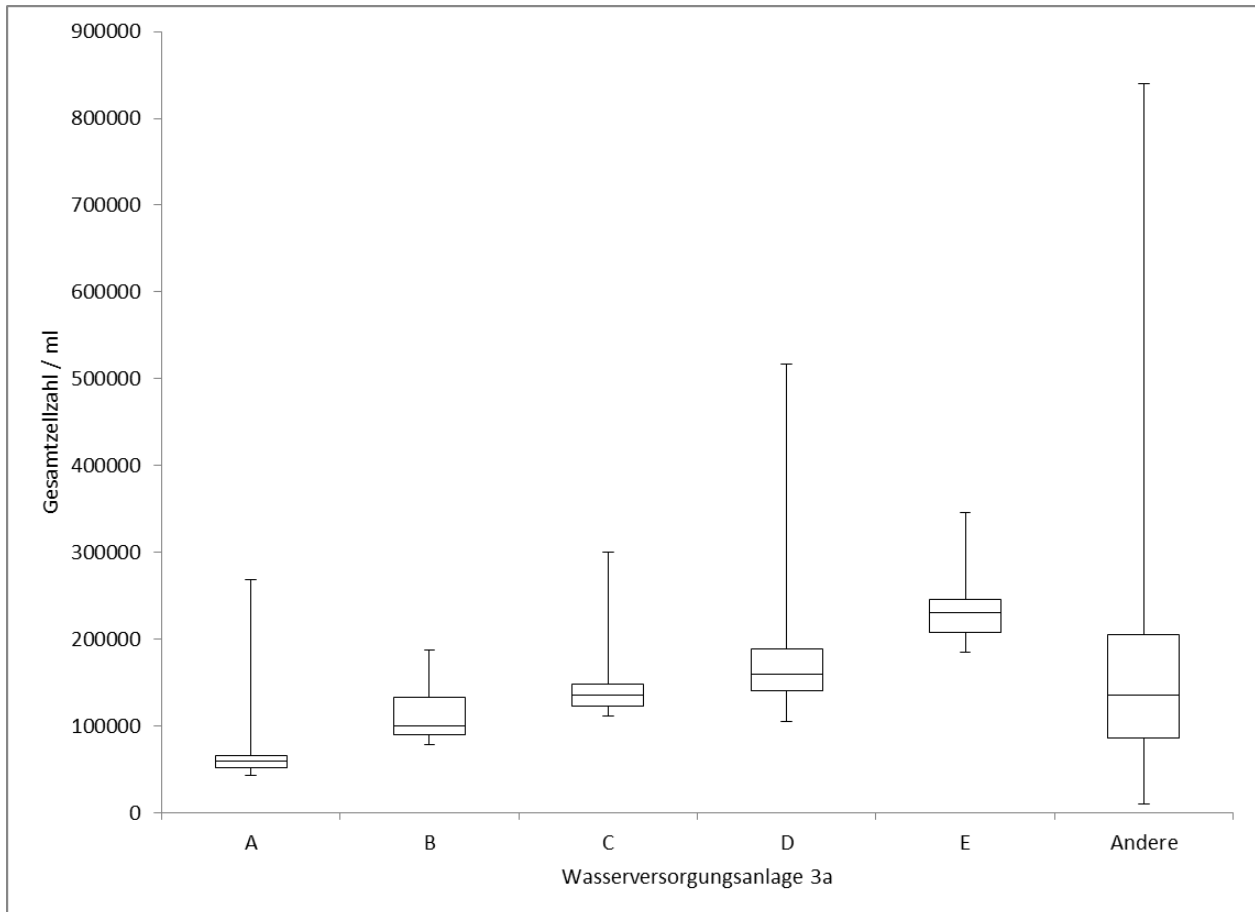


Abbildung 13: Boxplot der Gesamtzellzahlen großer zentraler Wasserversorgungsanlagen (3a)

4.1.2 Bewertungsschema der Gesamtzellzahl in der Trinkwasser-Installation

Für die Erstellung eines Bewertungsschemas für GZZ in der Trinkwasser-Installation wurden sämtliche Proben des Kalt- und Warmwassers ausgewertet, die eine Probenahme nach Zweck B oder Zweck C der DIN EN ISO 19458 aufwiesen und nicht durch den Einsatz einer Ultrafiltrationsanlage beeinflusst waren. Die Auswertung umfasst 452 Proben aus 138 verschiedenen Trinkwasser-Installationen. Es wurde außerdem zwischen 280 Kaltwasserproben und 170 Warmwasserproben unterschieden.

Abbildung 14 zeigt eine übliche Verteilung der Proben in Abhängigkeit von der Temperatur, wie sie für Trinkwasser-Installationen zu erwarten ist. Es wird der gesamte Temperaturbereich zwischen 10 und 70 °C abgedeckt. Die untere Teilabbildung zeigt, dass zum Teil im Kaltwasser unzulässig hohe Temperaturen nach VDI/DVGW 6023 von größer 25 °C bzw. unzulässig niedrige Temperaturen nach DVGW 551 von kleiner 55 °C auftreten. Dies dürfte auf Grund des

durchgeführten Probenahmezwecks B bzw. C auf eine Anpassung des stagnierenden Wassers in der Stichleitung an die Umgebungstemperatur oder auf technische Unzulänglichkeiten zurückzuführen sein. Es lässt sich schließen, dass die hier ausgewerteten Proben zur Erstellung eines Bewertungsschemas für Trinkwasserinstallationen repräsentativ für das Vorkommen in der Realität sind.

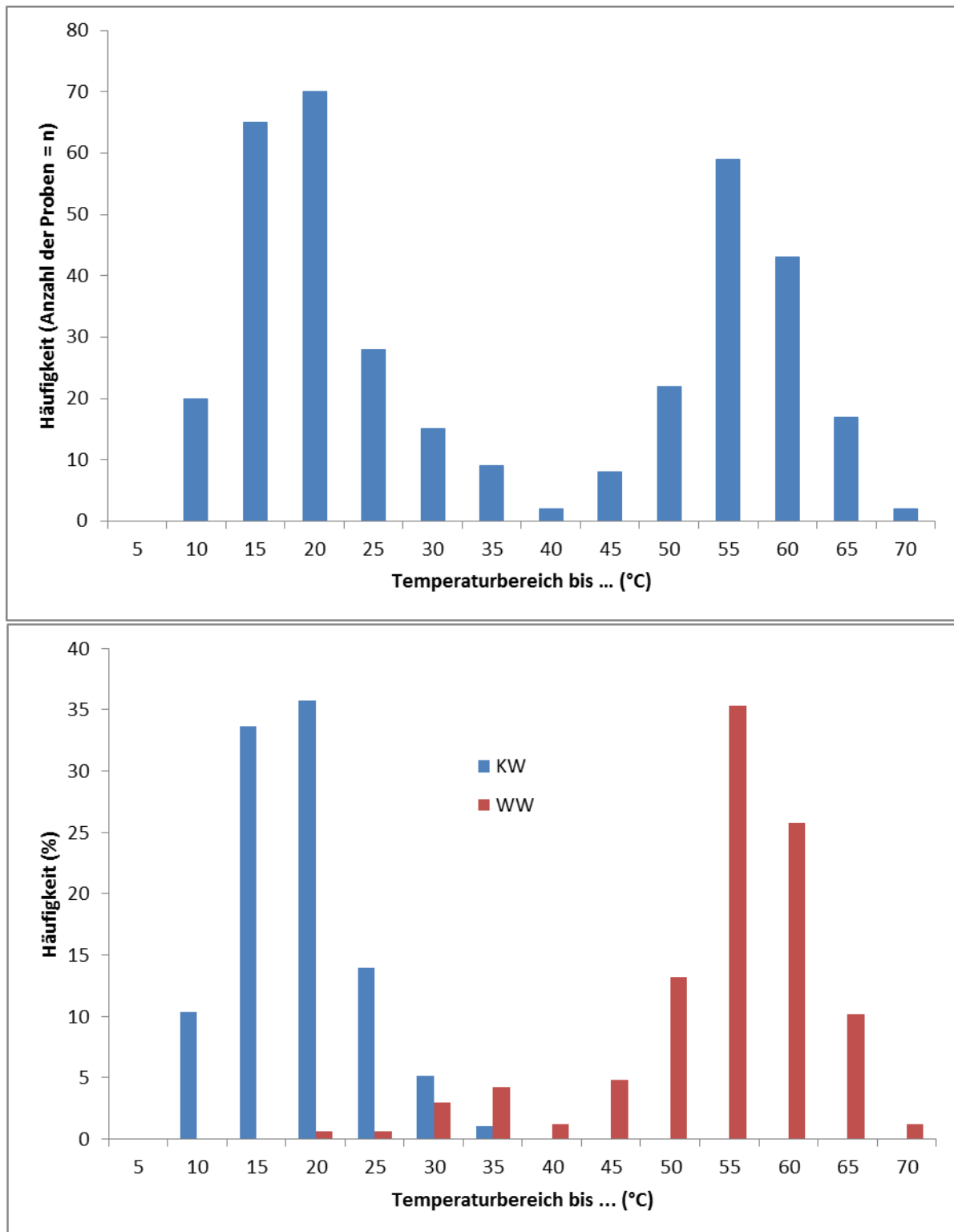


Abbildung 14: Häufigkeitsverteilungen der Proben aus der Trinkwasser-Installation (3e-Anlagen)
 oben: Anzahl aller Proben
 unten: Prozentuale Häufigkeit getrennt in Kaltwasser (KW) und Warmwasser (WW)

Abbildung 15 zeigt die Boxplots der Gesamtzellzahlen aus Proben der Trinkwasser-Installation, die als Grundlage für das Bewertungsschema herangezogen wurden. Es ist zu erkennen, dass die Verteilung der Gesamtzellzahlen im Kaltwasser und Warmwasser identisch ist, so dass die beiden Datensätze zusammengefasst werden können und ein Schema für alle Proben aus 3e-Anlagen erstellt werden kann.

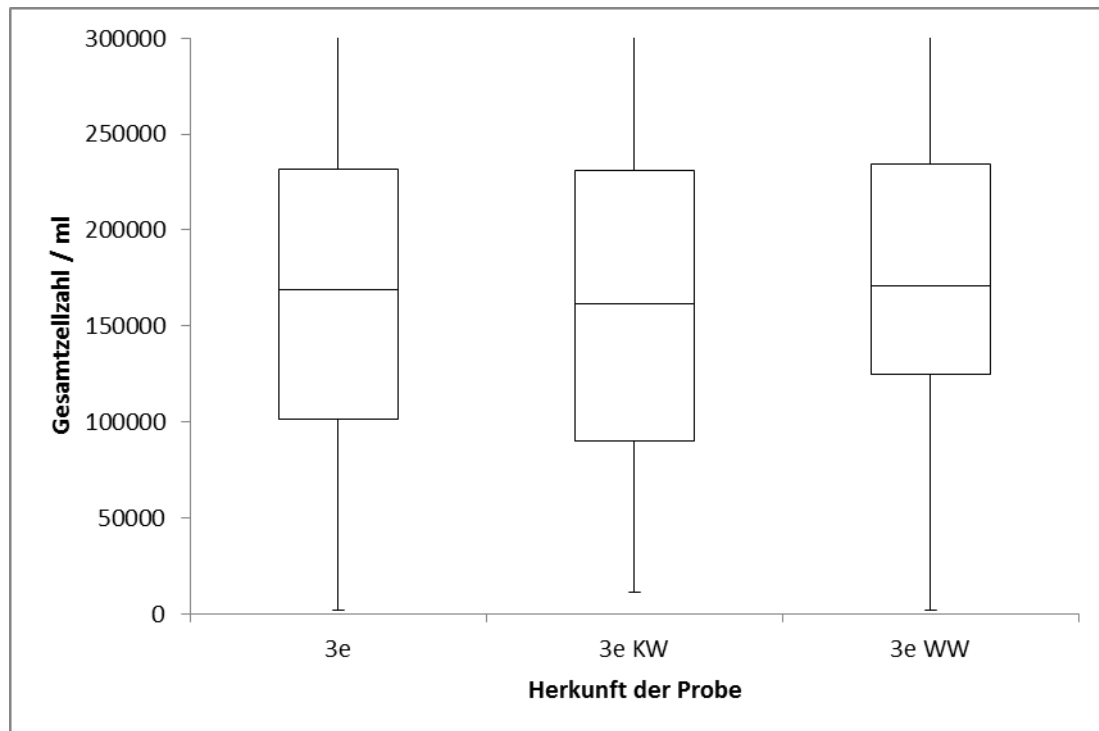


Abbildung 15: Boxplot der Gesamtzellzahlen aus Proben der Trinkwasser-Installation (3e-Anlagen), getrennt für Kalt- und Warmwasser. Probenahme nach Zweck B und C.

Das Bewertungsschema der Gesamtzellzahl in der Trinkwasser-Installation wurde auf Grundlage der in Kapitel 3.5 beschriebenen Vorgehensweise erstellt. Es erfolgt eine Einstufung in fünf Kategorien von sehr gering bis deutlich erhöht, deren Grenzen auf den gerundeten 5., 25., 75. und 95. Perzentilen beruhen (Tabelle 6). Zusätzlich ist die Bestimmungsgrenze der angewandten Methode dargestellt, deren Ermittlung in Kapitel 4.4 erläutert wird.

Tabelle 6: Bewertungsschema der Gesamtzellzahl in der Trinkwasser-Installation

GZZ / ml	Bewertung
< 1.500	Bestimmungsgrenze
1.500 bis < 35.000	sehr gering
35.000 bis < 100.000	gering
100.000 bis < 250.000	normal
250.000 bis < 450.000	erhöht
≥ 450.000	deutlich erhöht

4.2 Unterscheidung von intakten und nicht-intakten Zellen

Abbildung 16 zeigt den Anteil intakter Zellen an der Gesamtzellzahl für alle untersuchten Proben. Auf dieser Grundlage sind ICC-Anteile zwischen 40 und 68 %, bei einem Median von 61 % als normal zu bewerten. Deutlich erhöhte Anteile und damit mikrobiell besonders aktive, d. h. von Aufwuchs und Vermehrung betroffene Trinkwasserproben, haben einen ICC-Anteil von mindestens 77 % (95. Perzentil). Mikrobielle Inaktivität bzw. vermehrtes Absterben von Zellen zeigt sich unterhalb eines ICC-Anteils von 15 % (5. Perzentil).

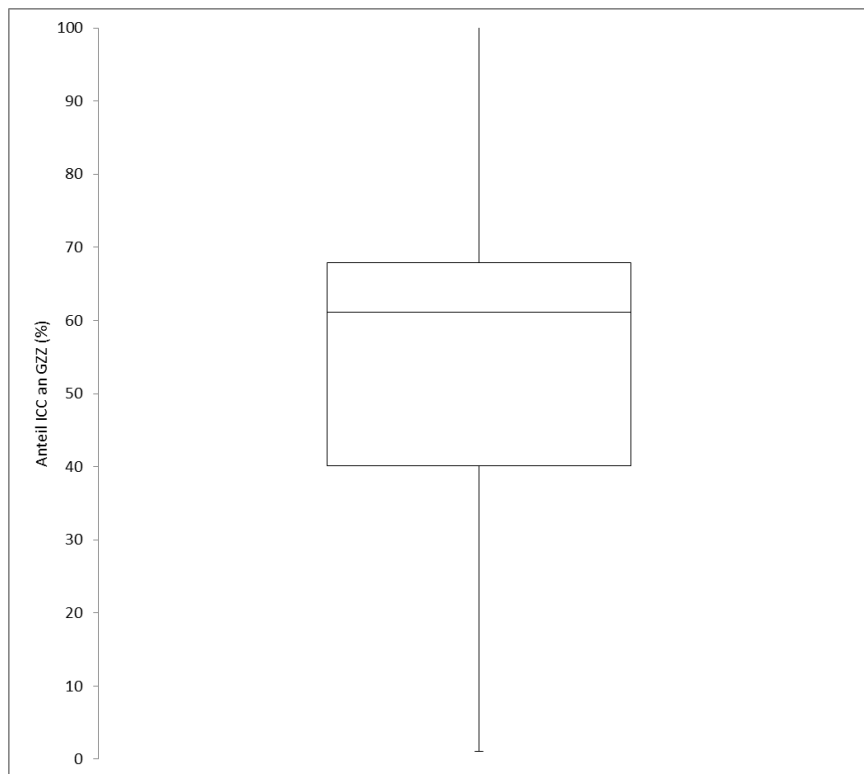


Abbildung 16: Boxplot des Anteils intakter Zellen (ICC) an GZZ aller Proben (n = 1.572)

Die Unterscheidung zwischen intakten und nicht-intakten Zellen ist in der Routine auch bei großen Probenzahlen gut durchführbar. Die Daten zeigen plausible Ergebnisse, die jedoch mit Ausnahme für den Vergleich mit dem Kulturverfahren (Kapitel 4.3) nicht weiter ausgewertet wurden, da für die Fragestellungen dieses Projektes keine zusätzlichen Erkenntnisse erkennbar waren. Für die Überwachung der Wirkung einer Ultrafiltrationsanlage ist die Bestimmung der Gesamtzellzahl ausreichend (Kapitel 4.4, 4.5 und 4.6). Bei auffälligem oder ungewöhnlichen Verhalten der Gesamtzellzahlen innerhalb einer Messkampagne oder besonderen Fragestellungen, wie z. B. die Wirkung von chemischer oder thermischer Desinfektion ist eine Bestimmung der ICC-Werte sinnvoll.

4.3 Vergleich der Zahlen intakter Zellen mit Koloniezahlbestimmungen

Die GZZ erfasst alle in der Wasserprobe vorhandenen Bakterienzellen. Die Messung von ICC erfasst den Anteil der Bakterienzellen, der eine intakte Membran besitzt und daher als lebend zu bezeichnen ist. Davon zu unterscheiden ist der Anteil an intakten Zellen, der zusätzlich in Abhängigkeit von der Methode kultivierbar ist, also eine Teilmenge von ICC darstellt. Bei standardisierten Bakteriensuspensionen ist der Anteil kultivierbarer Zellen an ICC relativ hoch

(Kapitel 3.3). In Trinkwasserproben war ein Anteil der kultivierbaren Zellen von etwa 0,1 % an der Gesamtzellzahl oder kleiner zu erwarten (Kötzsch et al. 2012).

Abbildung 17 zeigt einen Auftrag der Koloniezahl bei 20 °C in Abhängigkeit von intakten Zellen ICC für alle Proben aus dem Jahr 2016. Ein Zusammenhang ist nicht erkennbar. Dies gilt ebenso für die Koloniezahl bei 36 °C (Daten nicht dargestellt).

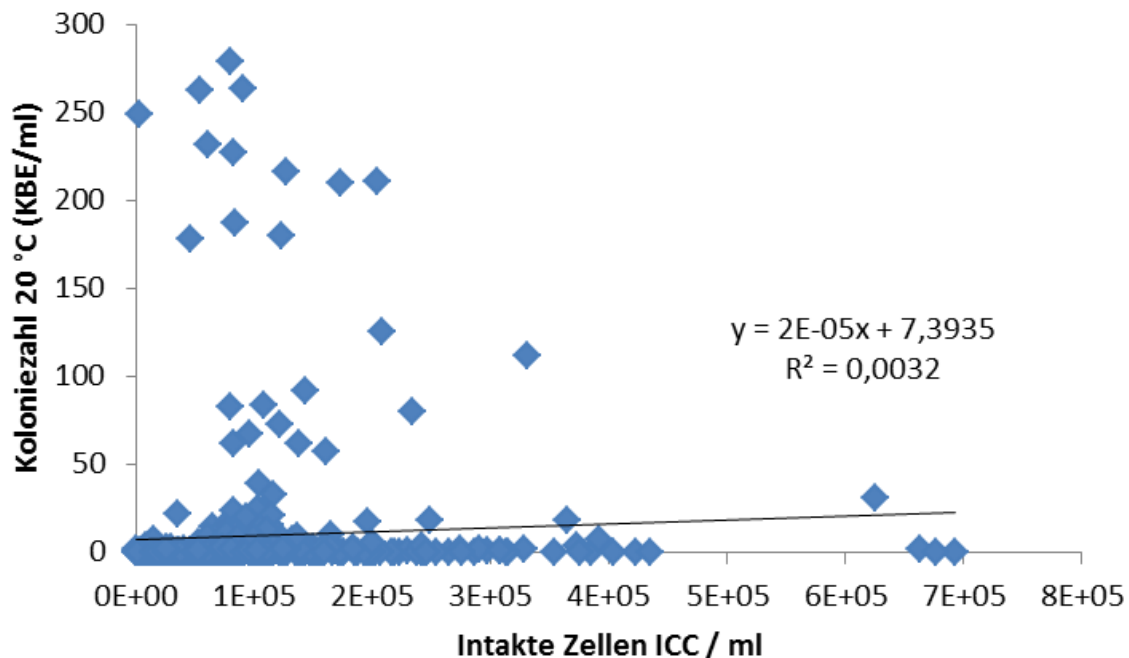


Abbildung 17: Vergleich der Koloniezahlen bei 20 °C mit intakten Zellen (ICC) (n = 492)

Abbildung 18 unterteilt den Datensatz aus Abbildung 17 für die Koloniezahlbestimmung in fünf Kategorien mikrobieller, kultivierbarer Belastung und stellt sie dem ICC-Wert in Form von Boxplots gegenüber. Proben mit geringster Belastung zeigen für die Koloniezahlen bei 20 und 36 °C keinen Nachweis kultivierbarer Mikroorganismen. Proben mit sehr hoher Belastung zeigen für beide Koloniezahlen nicht auswertbare Ergebnisse von > 300 KBE/ml. Die drei Kategorien dazwischen können nur auf eine Koloniezahl bezogen werden. In Abbildung 18 wird die Koloniezahl bei 36 °C in niedrige Keimzahlen (1 bis 10 KBE/ml), erhöhte Keimzahlen (11 bis 100 KBE/ml) und auswertbare Ergebnisse oberhalb des Grenzwertes der TrinkwV (101 bis 300 KBE/ml) eingeteilt. Auch bei dieser Betrachtung ist kein Zusammenhang zwischen der Koloniezahl und dem ICC-Wert erkennbar. Gleiches gilt für die Koloniezahl bei 20 °C (Daten nicht dargestellt). Auf eine Auswertung dieser komplexen Form wurde für die Proben aus den Jahren 2017 und 2018 verzichtet, da keine weiteren Kenntnisse zu erwarten waren.

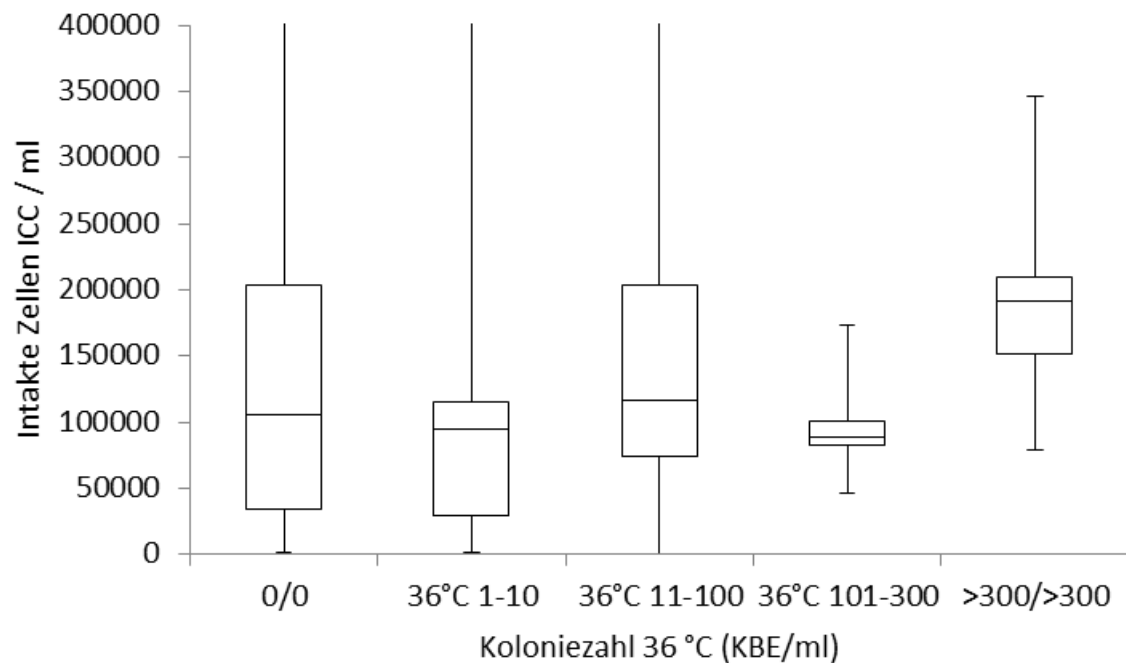


Abbildung 18: Boxplots zum Vergleich der Koloniezahlen bei 36 °C mit intakten Zellen (ICC)

Eine weitere Auswertung erfolgte für all diejenigen Proben, die sowohl bei der Koloniezahl bei 20 °C als auch 36 °C kulturell keinen Nachweis ergaben ($n = 383$). In diese Auswertung gingen alle Proben des Projektes aus den Jahren 2016 bis 2018 ein. Die Spanne von GZZ reicht dabei von < 1.500 bis $2.817.000$ /ml bei einem Median von 111.000 /ml. Die Werte für ICC lagen dabei zwischen < 1.500 und $2.153.000$ bei einem Median von 62.000 /ml. Dies bedeutet, dass bei den untersuchten Proben im Mittel nur etwa $0,02\%$ der vorhandenen intakten Zellen kultivierbar sind. Hier zeigt sich die bereits in Kapitel 3.3 erwähnte nicht mögliche Vergleichbarkeit von realen Trinkwasserproben und standardisierten Bakteriensuspensionen im Labor.

Zusammenfassend ergibt sich, dass die Koloniezahlbestimmungen mittels Plattengussverfahren als Kultivierungsmethode keine Abhängigkeit von GZZ oder der Anzahl intakter Zellen in Trinkwasserproben zeigen und mit den Kultivierungsmethoden nur ein kleiner Teil der vorhandenen Zellen erfasst wird.

4.4 Untersuchungen des Ultrafiltration-Reinwassers und dessen Bewertung

Die Ultrafiltrationsanlagen filtern auf Grund der geringen Porenweite der enthaltenen Membran theoretisch sämtliche Zellen aus dem Trinkwasser aus.

4.4.1 Untersuchungen zur Bauart des Reinwasserausgangs

In einer Laborversuchsanlage am UKSH (Abbildung 19) wurden zwei verschiedene Bauarten des Reinwasserausgangs (Abbildung 20) geprüft. Variante 1 wurde wegen des geringeren Platzbedarfs entwickelt. Hierbei war der Anschlussstutzen für den Reinwasserausgang direkt auf das Hüllrohr der Membranen geklebt. Bei Variante 2 war der Anschlussstutzen für den Reinwasserausgang auf ein zusätzliches Mantelrohr geklebt, so dass keine direkte Verbindung zum Hüllrohr der Membranen besteht. Von Variante 1 wurden 13 Proben und von Variante 2 jeweils 64 Proben von zwei verschiedenen Modulen untersucht.



Abbildung 19: Foto der Laborversuchsanlage (links) mit Zusatzmodul (rechts)

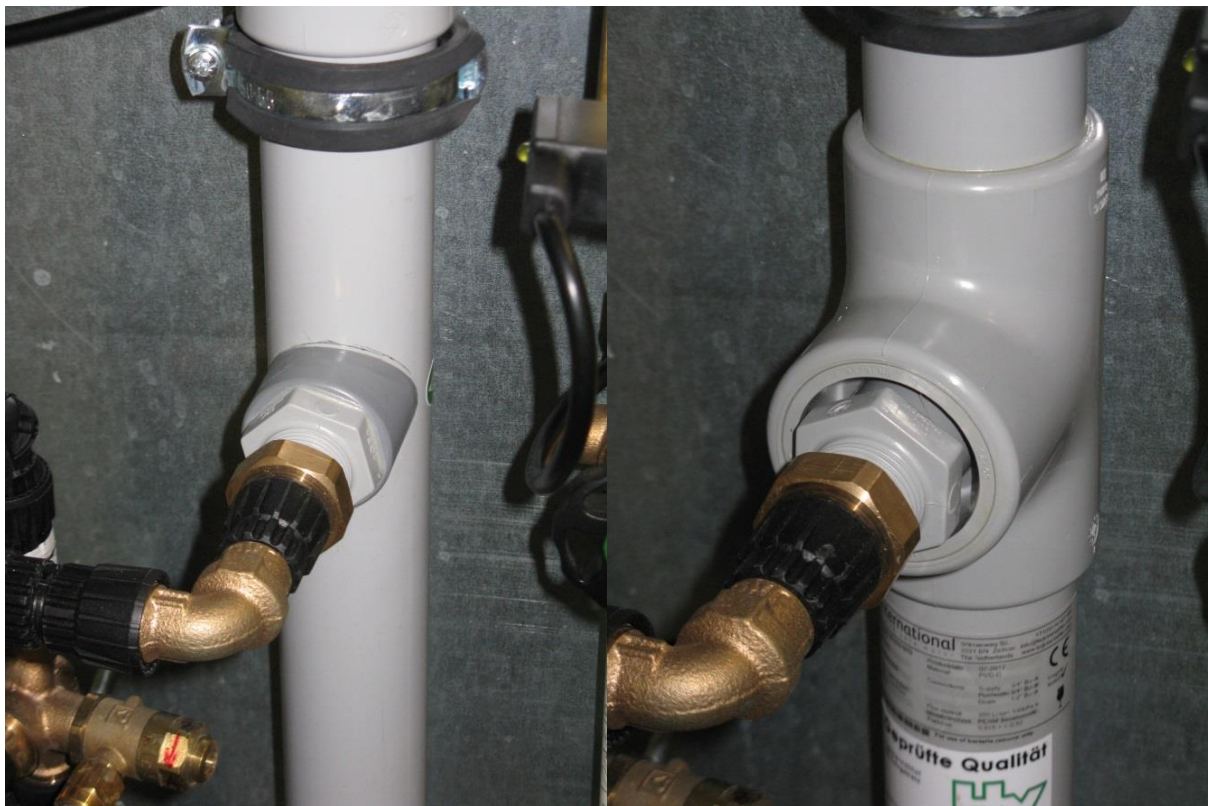


Abbildung 20: Foto zweier Bauarten des Reinwasserausgangs der Ultrafiltrationsanlage
 Links: Variante 1: Anschlussstutzen direkt auf das Hüllrohr der Membranen geklebt
 Rechts: Variante 2: Anschlussstutzen auf ein zusätzliches Mantelrohr geklebt

Abbildung 21 zeigt die Ergebnisse dieser Versuchsreihe. Die GZZ der Variante 1 ist deutlich höher (Mittelwert = 7.615 / ml) als diejenigen der Variante 2 (Mittelwert = 1.072 bzw. 812 /ml). Es ist anzunehmen, dass bei Bauart 1 an den Klebestellen kleine Membranbrüche entstehen, wenn das Ultrafiltrationsmodul unter Druck gesetzt wird. Bauart 2 ist daher besser geeignet.

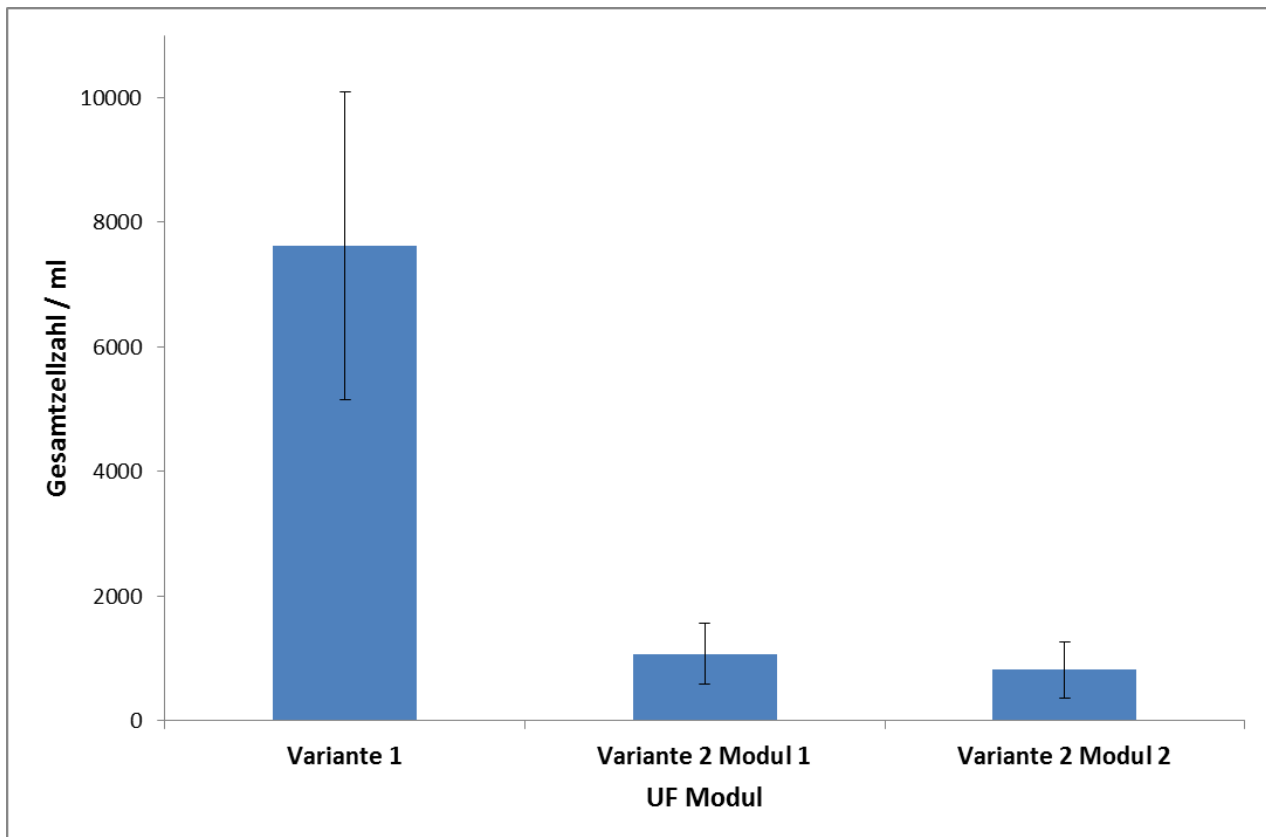


Abbildung 21: Gesamtzellzahlen aus dem Reinwasser der Laboranlage mit den zwei Bauarten aus Abbildung 20

Diese Versuchsreihe führte zu einer Verbesserung der Konstruktion der Ultrafiltrationsmodule und zeigt, wie durch die Bestimmung der Gesamtzellzahl mittels Zytometrie auch kleine Membranbrüche, die nur relativ wenige Zellen passieren lassen, erkannt werden können.

4.4.2 Bewertungsschema der Gesamtzellzahl im Reinwasser der Ultrafiltrationsanlage

Mittels einer Probenahme direkt nach dem Reinwasserausgang der UF-Anlage kann ein Minimalwert für GZZ ermittelt werden, der in das Leitungssystem nach der UF-Anlage eingespeist wird. Dieser Minimalwert kann deutlich von 0 Zellen/ml abweichen, da dieser von der Nachweisgrenze des in der Routine angewandten analytischen Verfahrens und damit von den Einstellungen am Zytometer und von der Reinheit der verwendeten Materialien und der Untersuchungsmethode bestimmt ist. Darüber hinaus können durch die Probenahme, durch die Bauteile nach dem Reinwasserausgang der UF-Anlage und bei evtl. Undichtigkeiten kleiner Abschnitte der Membran Zellen in die Trinkwasserprobe eingetragen werden, die jedoch noch kein hygienisches Problem für die nachgeschaltete Trinkwasser-Installation darstellt.

Für die Erhebung der kleinsten akzeptablen GZZ im Reinwasser einer Ultrafiltrationsanlage und der Ableitung eines Bewertungsschemas wurden daher drei Werte ermittelt:

1. Die Nachweis- und Bestimmungsgrenze des analytischen Verfahrens
2. Die Nachweis- und Bestimmungsgrenze für GZZ im Reinwasser eines Ultrafiltrationsmoduls. Hierzu wurde am UKSH eine Laborversuchsanlage aufgebaut (Abbildung 19)
3. Statistische Kennzahlen der GZZ im Reinwasser von vielen Ultrafiltrationsanlagen im praktischen Dauerbetrieb in Trinkwasser-Installationen.

Zu 1.) Die Nachweis- und Bestimmungsgrenze der analytischen Methode zur Bestimmung der GZZ wurde mittels der Schnellschätzung nach DIN 32645 unter Bestimmung der 3- bzw. 9-fachen Standardabweichung einer niedrig konzentrierten Probe bestimmt. Als niedrig konzentrierte Probe wurde eine Reinwasserprobe der Labor-Ultrafiltrationsanlage verwendet, 10-fach angesetzt und die GZZ bestimmt.

Zu 2.) Die Nachweis- und Bestimmungsgrenze unter Einbeziehung der Probenahme und zeitlichen Variabilität wurde ebenfalls mittels Schnellschätzung nach DIN 32645 durch 64 Probenahmen innerhalb eines Monats an der Labor-Ultrafiltrationsanlage eines UF-Moduls ermittelt.

Zu 3.) Die Bestimmung einer akzeptablen GZZ im Reinwasser und die Ableitung eines Bewertungsschemas wurden analog der Bewertung der GZZ in der Trinkwasser-Installation (Tabelle 6) durch Berechnung der Perzentile aller im Projekt untersuchten Reinwasserproben von in Gebäuden betriebenen Ultrafiltrationsanlagen durchgeführt. Abbildung 22 zeigt die Auswertung der im Ultrafiltrations-Reinwasser ermittelten Werte für die Gesamtzellzahl. Gesamtzellzahlen von 1.000 bis 4.000 Zellen/ml bei einem Median von 2.000 Zellen/ml sind als normal zu bewerten. Der Minimalwert liegt bei 200 GZZ/ml, der Maximalwert bei 37.000 GZZ/ml.

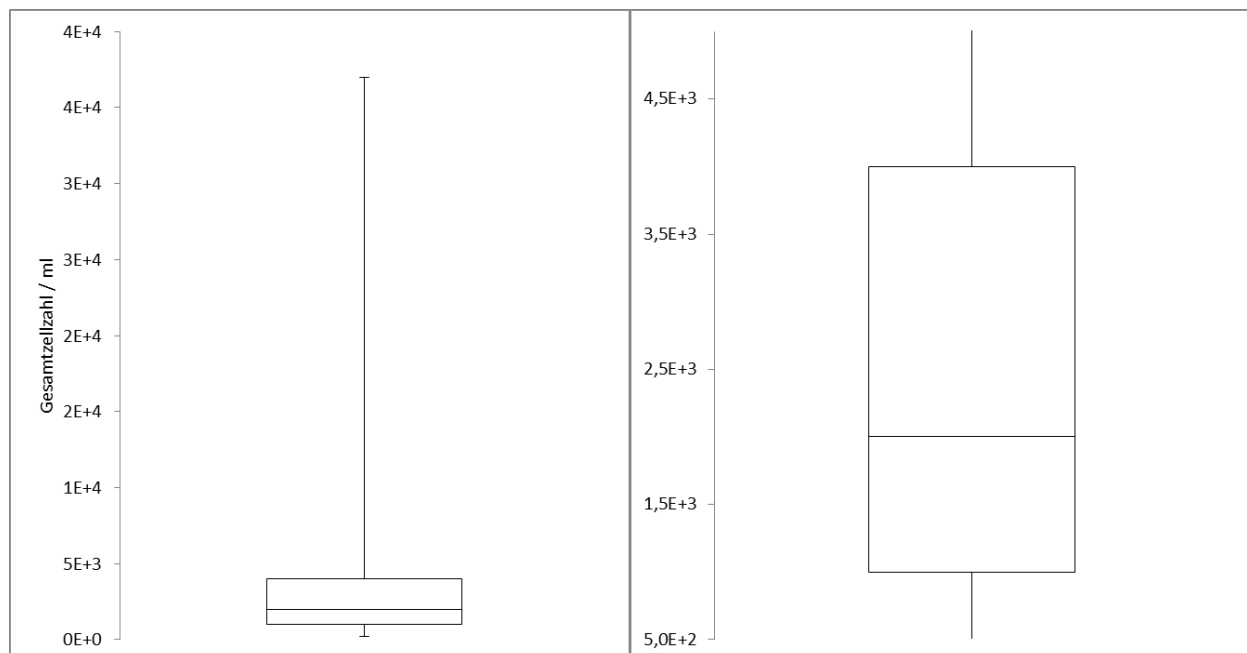


Abbildung 22: Boxplots der Gesamtzellzahlen im Reinwasser von in Gebäuden betriebenen Ultrafiltrationsanlagen (n = 86)

Die Kennzahlen für die Bestimmung von GZZ im Reinwasser sind in Tabelle 7 zusammengestellt. Die Bestimmungsgrenze der analytischen Methode ist ausreichend, um Reinwasser aus Ultrafiltrationsanlagen und Trinkwasserproben (Kapitel 4.1.1) sicher bestimmen zu können.

Tabelle 7: Erhobene Kennzahlen der Gesamtzellzahl für das Reinwasser und deren Herkunft (GZZ/ml)

Methoden/Probe	Kriterium	Berechnung	GZZ / ml
Analytisches Verfahren	Nachweisgrenze	3-fache Standardabweichung	487
	Bestimmungsgrenze	9-fache Standardabweichung	1.460
Reinwasser	Nachweisgrenze	3-fache Standardabweichung	1.364
UF-Laboranlage	Bestimmungsgrenze	9-fache Standardabweichung	4.092
		Median	2.000
Reinwasser UF		75. Perzentil	4.000
Routinebetrieb in Gebäuden		90. Perzentil	10.000
		95. Perzentil	14.000

Aus den Kennzahlen der Tabelle 7 wurde ein Bewertungsschema für Reinwasser aus Ultrafiltrationsanlagen abgeleitet, dass in Tabelle 8 dargestellt ist. Einwandfrei funktionierende Ultrafiltrationsanlagen sollten den Zielwert von 4.000 GZZ/ml, ermittelt aus dem 75. Perzentil der untersuchten Reinwasserproben aus Gebäuden, nicht überschreiten. Bis zu 10.000 GZZ/ml (90. Perzentil) sind akzeptabel, da der Warnwert noch nicht überschritten ist. Oberhalb des Maßnahmenwertes von 14.000 GZZ/ml (95. Perzentil) ist eine Überprüfung der Membran auf Undichtigkeiten oder Verkeimung der Reinwasserseite notwendig.

Tabelle 8: Bewertungsschema der Gesamtzellzahl im Reinwasser von Ultrafiltrationsanlagen

Bewertung	GZZ / ml
Bestimmungsgrenze	1.500
Zielwert	4.000
Warnwert	10.000
Maßnahmenwert	14.000

4.5 Abreinigung einer Trinkwasser-Installation mittels Ultrafiltrationsanlage

4.5.1 Durchführung der Untersuchungen

Um die Wirkung einer Ultrafiltrationsanlage und automatischer Spülarmaturen räumlich und zeitlich engmaschig zu verfolgen, wurde ein abgegrenzter, definierter Bereich der Warmwasser-Installation im Gebäude der ZE MUA HYG mit einer Ultrafiltrationsanlage der Fa. GTS GmbH (EXERGENE®-Technologie) betrieben. Die Ultrafiltrationsanlage wurde im Warmwasserzustrom unter Filtration des gesamten Volumens eingesetzt. Der Vollvolumenstrom wurde gewählt, um eine maximale Wirkung der zu erwarteten Abreinigung auch in die peripheren Stichleitungen innerhalb der

Projektlaufzeit zu erreichen. Die notwendige Zeit zum Erkennen einer Abreinigung war bei Versuchsbeginn nicht bekannt.

Die Probenahmen erfolgten in allen Fällen nach der Vorschrift des Umweltbundesamtes zur systemischen Untersuchung von Legionellen nach TrinkwV (UBA 2012) nach Zweck B der DIN EN ISO 19458 (2006). In der untersuchten Trinkwasser-Installation bedeutet diese Art der Probenahme mit einem Liter Ablaufvolumen, dass das beprobte Wasser an den peripheren Stellen aus der Stich- und Steigleitung zur Entnahmestelle stammt und nicht aus dem zirkulierenden System.

Die Betriebsphasen 1 (ohne Ultrafiltration) und 2 (mit Ultrafiltration) dienten neben der Darstellung der Wirkung der Ultrafiltrationsanlage der Ermittlung von Daten zur räumlichen und zeitlichen Variabilität der Koloniezahlen und Zellzahlen an allen peripheren Stellen. Neben den gewonnenen Ergebnissen der ersten beiden Betriebsphasen (Kapitel 4.5.2) konnten die räumliche und zeitliche Variabilität dieser Daten außerdem in das Bewertungsschema der Gesamtzellzahlen in der Trinkwasserinstallation (Tabelle 6) einfließen.

Nach längerer Betriebszeit ohne und mit Ultrafiltrationsanlage wurden zusätzlich vier endständige Zapfstellen (Räume 011, 109, 113 und 209) mit automatischen Spülarmaturen versehen. An diesen peripheren Stellen wurden daher vier Betriebsphasen (Tabelle 9) engmaschig beprobt, um den Effekt der Ultrafiltrationsanlage (Betriebsphase 2), der zusätzlichen automatischen Spülarmaturen (Betriebsphase 3) und der Nachhaltigkeit der getroffenen Maßnahmen nach Entfernung der Spülarmaturen (Betriebsphase 4) zu beurteilen (Kapitel 4.5.4).

Die systemischen Proben aus dem zirkulierenden System und der Ultrafiltrationsanlage wurden über alle Betriebsphasen und die gesamte Laufzeit der Versuchsreihe entnommen (Kapitel 4.5.3).

4.5.2 Ergebnisse aus allen peripheren Stellen in Betriebsphasen 1 und 2

Zu Beginn der Versuchsreihe wurden alle 17 peripheren Entnahmestellen der 11 Steigstränge beprobt und auf Koloniezahl bei 20 und 36 °C sowie mittels Zytometrie untersucht, um die Ausgangssituation und räumliche Variabilität zu erfassen (Betriebsphase 1). Nach 7 Wochen Betriebszeit der Ultrafiltrationsanlage wurden die Probenahme und Untersuchung unter den gleichen Bedingungen wiederholt (Betriebsphase 2). Abbildung 23 und Abbildung 24 zeigen für die beiden Kultivierungsverfahren, bei wenigen positiven Nachweisen mit relativ hoher Schwankung, eine vollständige Abreinigung. Die Auswertung der Gesamtzellzahl ergibt für alle peripheren Stellen, mit einer Ausnahme, eine Abreinigung, die deutlich erkennbar ist, zwischen 17 und 93 % liegt und einen Mittelwert von 64 % erreicht. Da die Gesamtzellzahl an den peripheren Stellen die Werte im zirkulierenden System (Kapitel 4.5.3) noch nicht erreichten, wurde eine 3. Betriebsphase mit Einbau von automatischen Spülarmaturen zur Erhöhung des Verbrauchs und evtl. weiterer Reduktion der GZZ an ausgewählten peripheren Stellen durchgeführt.

Die hier dargestellten Ergebnisse zeigen, dass innerhalb einer Trinkwasser-Installation eine große räumliche Variabilität der mikrobiologischen Untersuchungsparameter anzutreffen und durch die eingebaute Ultrafiltrationsanlage im Mittel eine Abreinigung um 64 % inklusive aller Stichleitungen innerhalb von 7 Wochen erreichbar ist.

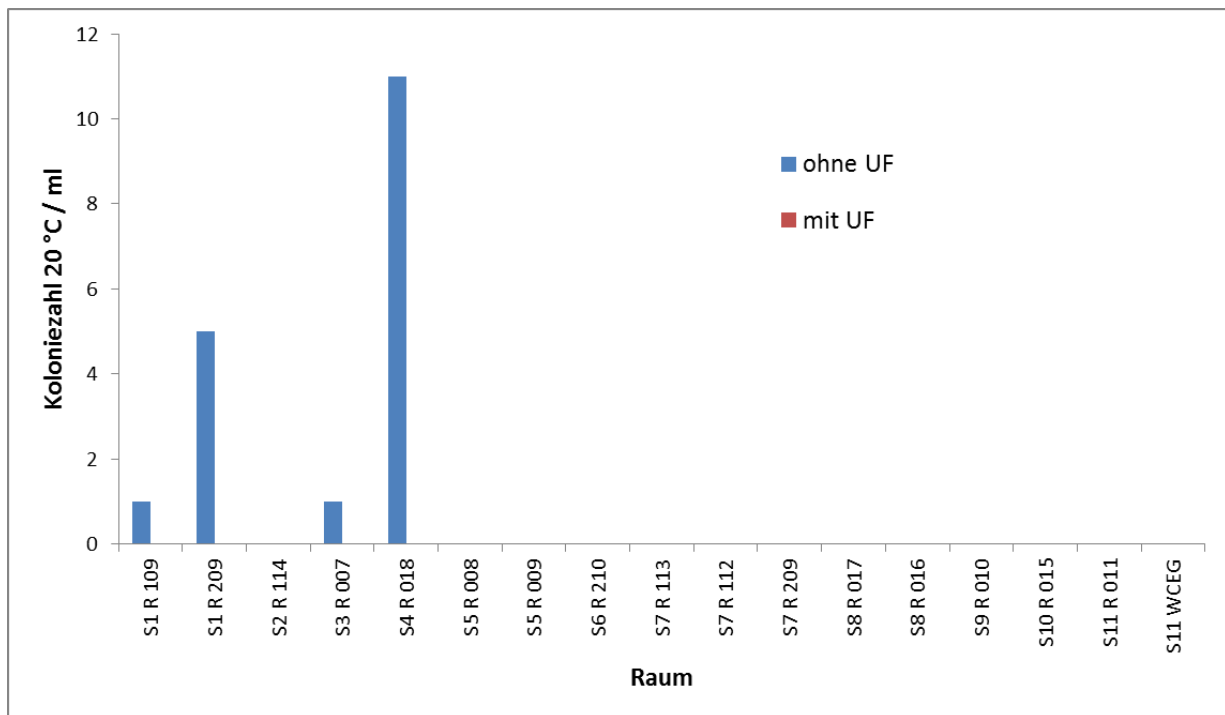


Abbildung 23: Abreinigung der Koloniezahl 20°C (KBE/ml) aller peripherer Stellen nach sieben Wochen Betriebszeit der Ultrafiltrationsanlage in Betriebsphase 2

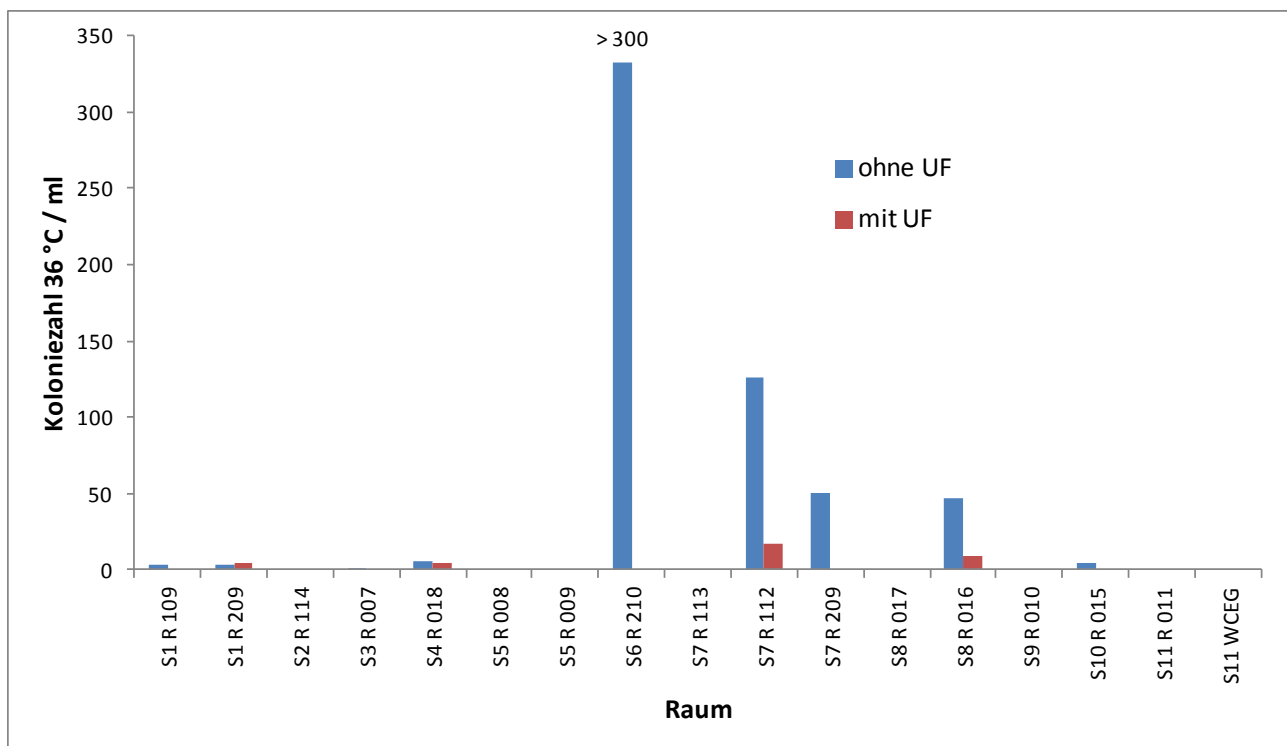


Abbildung 24: Abreinigung der Koloniezahl 36°C (KBE/ml) aller peripherer Stellen nach sieben Wochen Betriebszeit der Ultrafiltrationsanlage in Betriebsphase 2

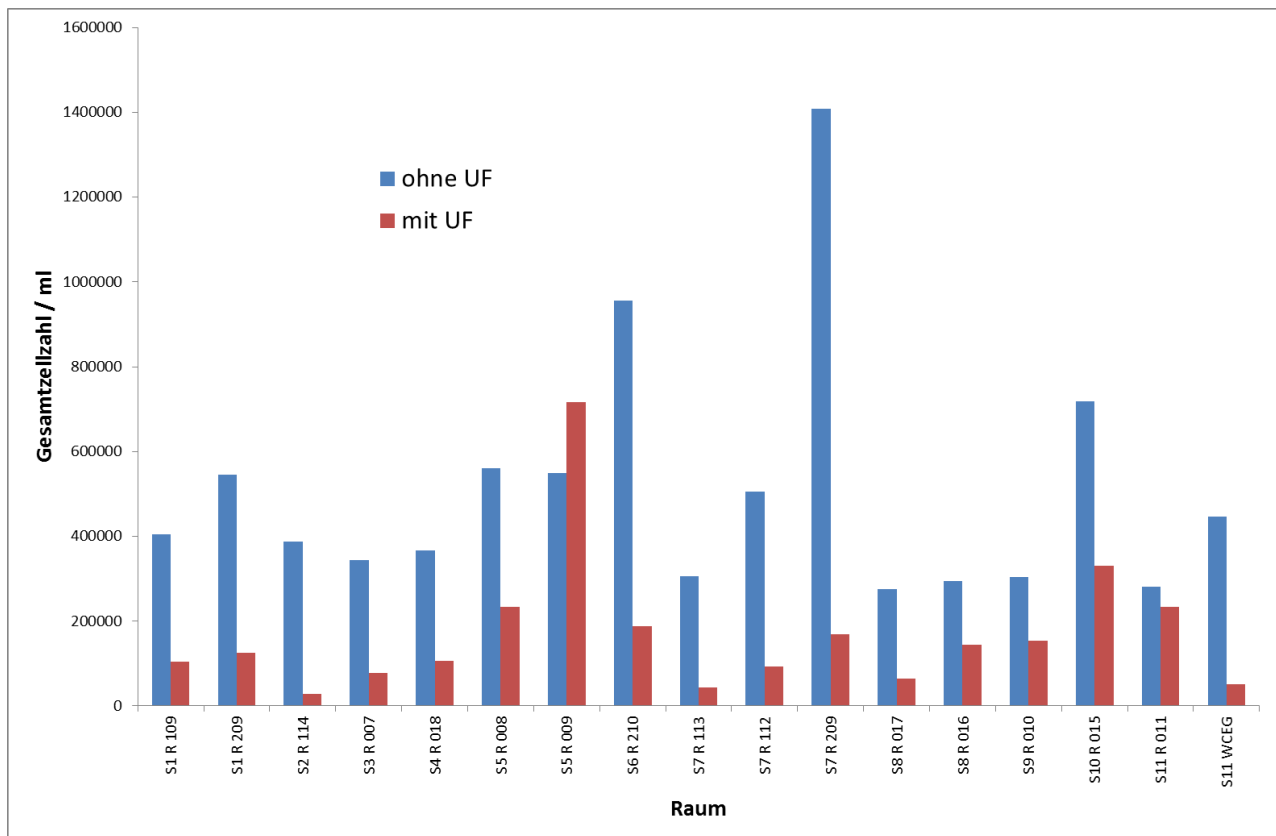


Abbildung 25: Abreinigung der Gesamtzellzahl/ml aller peripherer Stellen nach sieben Wochen Betriebszeit der Ultrafiltrationsanlage in Betriebsphase 2

4.5.3 Ergebnisse aus dem zirkulierenden System in Betriebsphasen 1 bis 4

Abbildung 26 zeigt die Ergebnisse der GZZ an den drei systemischen Probenahmestellen über alle vier Betriebsphasen. Bei einer mittleren GZZ von 49.000/ml (Median) und einer dauerhaft einwandfreien Funktion der Ultrafiltrationsanlage mit einem GZZ-Wert für Reinwasser von 841/ml (Median) wird eine Abreinigung um 82 % im Zirkulationsrücklauf (Median = 8600/ml) erreicht. Da die GZZ-Werte im Laufe der Zeit im Zirkulationsrücklauf immer weiter zurückgingen, findet sich der niedrigste Wert mit 2580/ml nach 49 Wochen Betriebszeit. Dies stellt eine praktisch vollständige Abreinigung (95 %) des Systems dar.

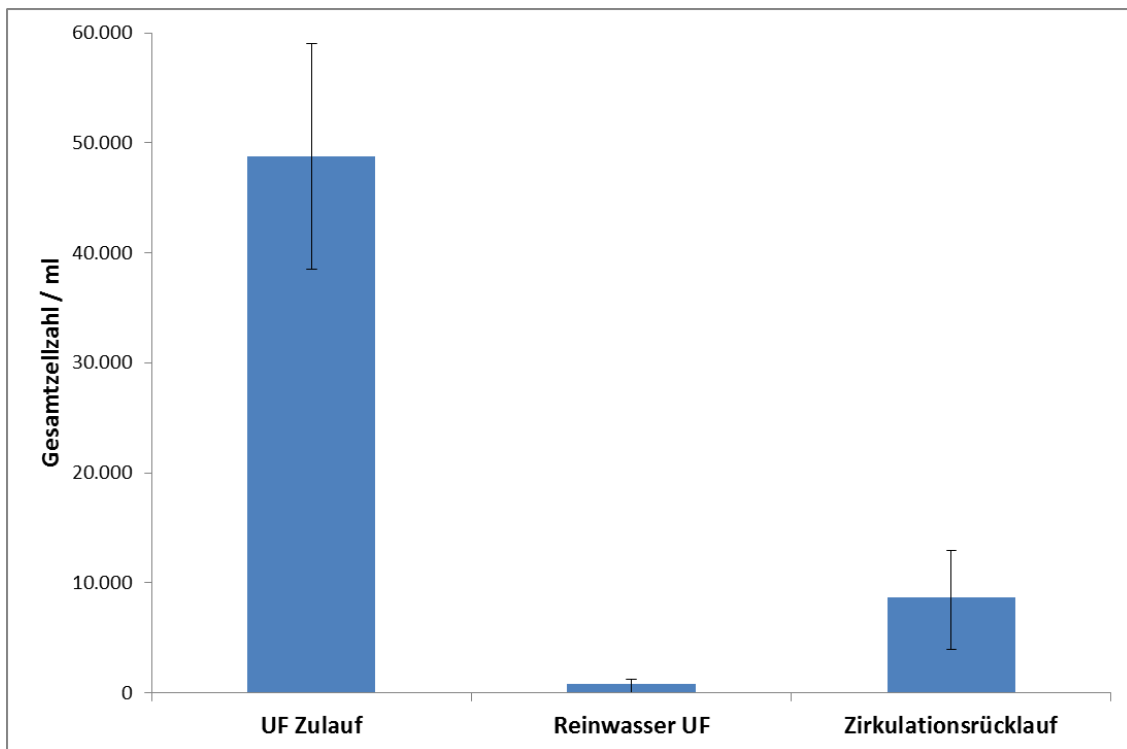


Abbildung 26: Abreinigung der Gesamtzellzahlen/ml in den systemischen Proben (n = 123) über den gesamten Untersuchungszeitraum von 49 Wochen

4.5.4 Ergebnisse an vier peripheren Stellen in Betriebsphasen 1 bis 4

In der gesamten Untersuchungsreihe mit 4 Betriebsphasen waren die Ergebnisse der Koloniezählbestimmungen bei 20 und 36 °C nach TrinkwV für eine Beurteilung nicht anwendbar, da in Betriebsphase 1 in den meisten Fällen und nach Einsatz der Ultrafiltrationsanlage in Betriebsphase 2 keine kultivierbaren Mikroorganismen nachweisbar waren (Kapitel 4.5.2). Dagegen war mit Hilfe der Gesamtzellzahlen eine vollständige Bewertung möglich. In Betriebsphase 3 wurden an vier ausgewählten peripheren Stellen automatische Spülarmaturen mit unterschiedlichem/r Spülintervall und -dauer an den Entnahmestellen angebracht (Tabelle 10).

Tabelle 9: Versuchsübersicht der Abreinigung in vier Betriebsphasen an vier peripheren Stellen

	Betriebsphase 1 ohne Ultrafiltration, mit Normalverbrauch				Betriebsphase 2 mit Ultrafiltration, mit Normalverbrauch			
	R011	R109	R113	R209	R011	R109	R113	R209
Probenzahl	18	18	19	18	21	23	21	21
Dauer (Wo)	9	8	9	9	17	15	14	14

	Betriebsphase 3 mit Ultrafiltration, mit Spülarmatur				Betriebsphase 4 mit Ultrafiltration, mit Normalverbrauch			
	R011	R109	R113	R209	R011	R109	R113	R209
Probenanzahl	16	16	18	20	14	15	19	14
Dauer (Wo)	7	9	5	10	25	25	30	25

Tabelle 10: Beschreibung der vier näher untersuchten peripheren Stellen und Einstellung der automatischen Spülarmaturen.

	R011	R109	R113	R209
Raumnutzung	Pausenraum	Labor	Labor	Lehrsaal
Normalverbrauch	häufig	mittel	häufig	selten
Leitungsvolumen* (Liter)	1,5	2,0	1,0	5,5
Spülintervall (h)	12	2	4	4
Spüldauer (min)	0,5	3	5	5

*: Leitungsvolumen vom Abzweig des zirkulierenden Systems bis zum Zapfhahn

Tabelle 11 zeigt die Ergebnisse in Form des Mittelwertes der GZZ in den vier Betriebsphasen sowie die relative Abnahme (Abreinigung) gegenüber Betriebsphase 1 (Normalverbrauch ohne Ultrafiltrationsanlage). Es ist zu erkennen, dass die Gesamtzellzahlen im Laufe der Versuchszeiträume abnehmen und die niedrigsten Werte in Betriebsphase 3 unter Einsatz von Ultrafiltrationsanlage und automatischer Spülarmatur erreicht werden. Diese niedrigen GZZ bleiben in Betriebsphase 4 erhalten, nachdem die Spülarmaturen wieder ausgebaut und zum Normalverbrauch zurückgekehrt wurde. Die Mittelwerte steigen von Betriebsphase 3 nach 4 zwar an drei Probenahmestellen wieder leicht an, aber die Abweichungen vom Mittelwert (Standardabweichung, siehe zugehörige Abbildung 35, Abbildung 36 und Abbildung 37 im Anhang) überschneiden sich. In Raum 113 sinkt der Mittelwert der GZZ in Betriebsphase 4 weiter ab (Abbildung 28). Die nach 25 bzw. 30 Wochen in Betriebsphase 4 ermittelten GZZ zeigen mit 23.880/ml in Raum 011, 33.520/ml in Raum 109, 15.200/ml in Raum 113 bzw. 180.000/ml in Raum 209 (Daten nicht dargestellt) die geringsten Werte, die alle deutlich unterhalb des jeweiligen Mittelwertes der Betriebsphase 4 aus Tabelle 11 liegen. Dies bedeutet, dass am Ende der gesamten Versuchsdauer die niedrigsten Gesamtzellzahlen in allen vier Räumen erreicht wurden und ein langfristiger Abreinigungseffekt gegeben bzw. für die Zukunft zu prognostizieren ist.

Tabelle 11: Ergebnisse der vier Betriebsphasen an vier peripheren Stellen

	Betriebsphase 1				Betriebsphase 2			
	ohne Ultrafiltration, mit Normalverbrauch				mit Ultrafiltration, mit Normalverbrauch			
	R011	R109	R113	R209	R011	R109	R113	R209
GZZ/ml	341.778	483.778	377.211	1.063.056	97.286	275.130	92.190	750.333
Abreinigung	0%	0%	0%	0%	72%	43%	75%	19%

	Betriebsphase 3				Betriebsphase 4			
	mit Ultrafiltration, mit Spülarmatur				mit Ultrafiltration, mit Normalverbrauch			
	R011	R109	R113	R209	R011	R109	R113	R209
GZZ/ml	44.938	51.625	59.222	168.950	49.250	81.380	34.938	246.490
Abreinigung	87%	89%	84%	80%	86%	83%	91%	72%

Abbildung 27, Abbildung 28 und Abbildung 29 veranschaulichen den Abreinigungsprozess durch Ultrafiltration und automatische Spülarmaturen. Die Gesamtzellzahlen unterliegen einer räumlichen (vier untersuchte Räume) und zeitlichen Schwankung (Betriebsphasen 1 bis 4) mit einer prozentualen Standardabweichung zwischen 26 und 73 % bei einem Mittelwert von 44 % ohne einheitliche Tendenz. Diese Standardabweichungen sind klein genug, um Unterschiede zwischen den Betriebsphasen und zwischen den Räumen deutlich zu erkennen. Mit Einbau der Ultrafiltrationsanlage ist beim Vergleich von Betriebsphase 1 und 2 eine Abnahme der Gesamtzellzahlen zu erkennen. Diese Abreinigung beginnt praktisch sofort mit dem Einbau. Die Datenpunkte vom 22.03.2017 und 23.03.2017 in Abbildung 27 kennzeichnen die Probenahme vor und nach Einbau der Ultrafiltrationsanlage. Der GZZ-Wert sinkt von 293.000 auf 107.000 ab und bleibt für die gesamte Betriebsphase 2 auf niedrigerem Niveau. Dieser Effekt ist für alle vier untersuchten Räume erkennbar. Abbildung 29 zeigt, dass der Einsatz der Ultrafiltrationsanlage in den Räumen 011 und 113 in Betriebsphase 2 zu einer deutlichen Abreinigung um 72 bzw. 75 % gegenüber der Ausgangs-GZZ in Betriebsphase 1 führt. In den Räumen 109 und 209 ist dieser Effekt geringer, was durch den geringeren Normalverbrauch der Nutzer und die längere Stichleitung zu erklären ist (Tabelle 10). Nach Einbau der automatischen Spülarmaturen in Betriebsphase 3 erfolgt eine maximale Abreinigung der Proben von 80 % bis 89 %.

Die Einstellungen für Spülintervall und Spüldauer der automatischen Spülarmaturen wurde unterschiedlich gewählt, wobei in Raum 011 die geringsten Werte eingestellt waren (Tabelle 10). Die deutlich intensivere automatische Spülung in den drei anderen Räumen gegenüber Raum 011 führt zu keiner größeren Abreinigung. Die Effekte im Leitungsvolumen vom Abzweig des zirkulierenden Systems bis zum Zapfhahn dürfte in den untersuchten Fällen entscheidender für die Abreinigung sein als die Einstellung der Spülarmaturen. Oder die Einstellung in Raum 011 mit 0,5 min alle 12 h ist für eine vollständige Abreinigung evtl. ausreichend. Eine abschließende Empfehlung für die optimale Einstellung von Spülarmaturen kann daraus nicht abgeleitet werden.

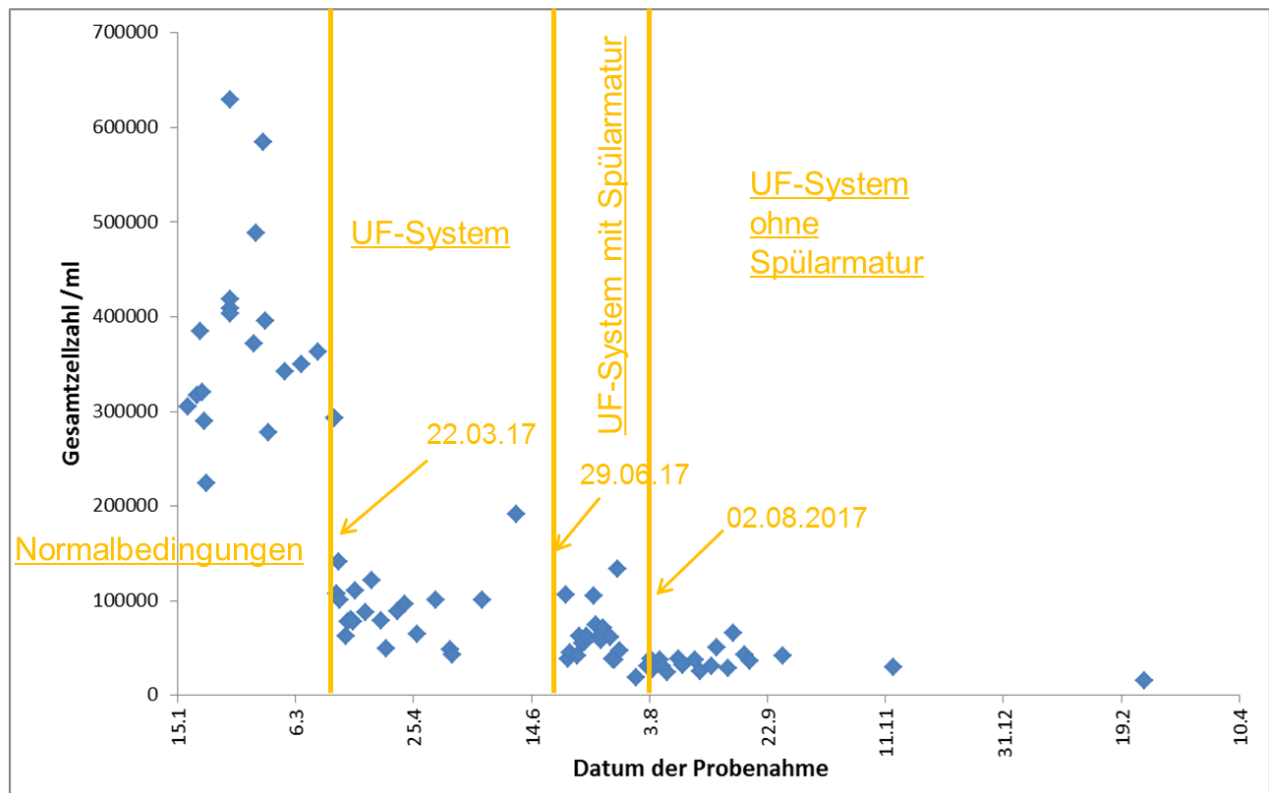


Abbildung 27: Verlauf der Gesamtzellzahl im Abreinigungsversuch R 113

Daraus lässt sich schließen, dass die automatischen Spülmaturen durch den erhöhten Verbrauch gegenüber dem Normalverbrauch der Nutzer den Abreinigungsprozess durch die Ultrafiltrationsanlage unterstützen bzw. vervollständigen.

Nach Ausbau der automatischen Spülmaturen und weiterem Betrieb der Ultrafiltrationsanlage in Betriebsphase 4 bleiben die deutlich reduzierten Gesamtzellzahlen erhalten, d. h. die erzielte Abreinigung bleibt mindestens für die untersuchte Zeit von sechs bis 7 Monaten erhalten.

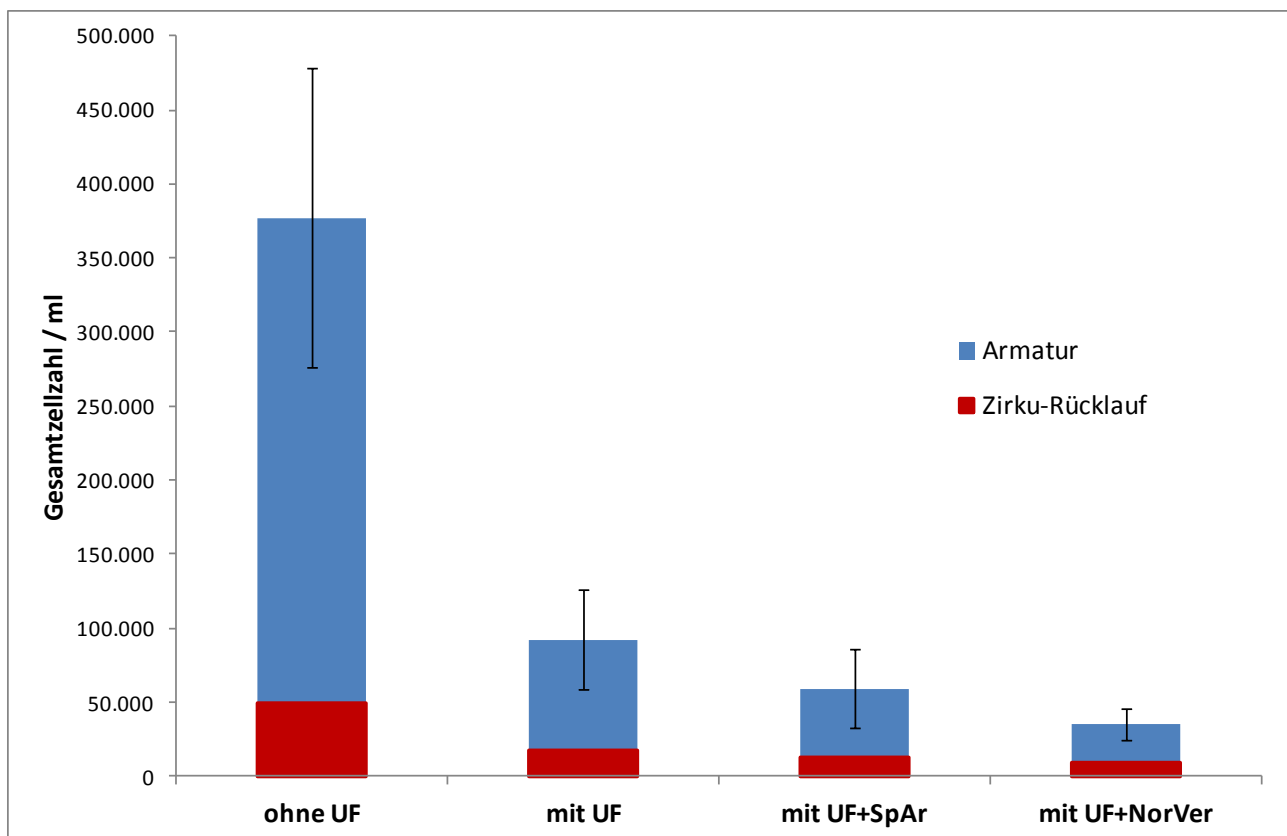


Abbildung 28: Abreinigung der Gesamtzellzahlen/ml im Raum 113 über die vier Betriebsphasen

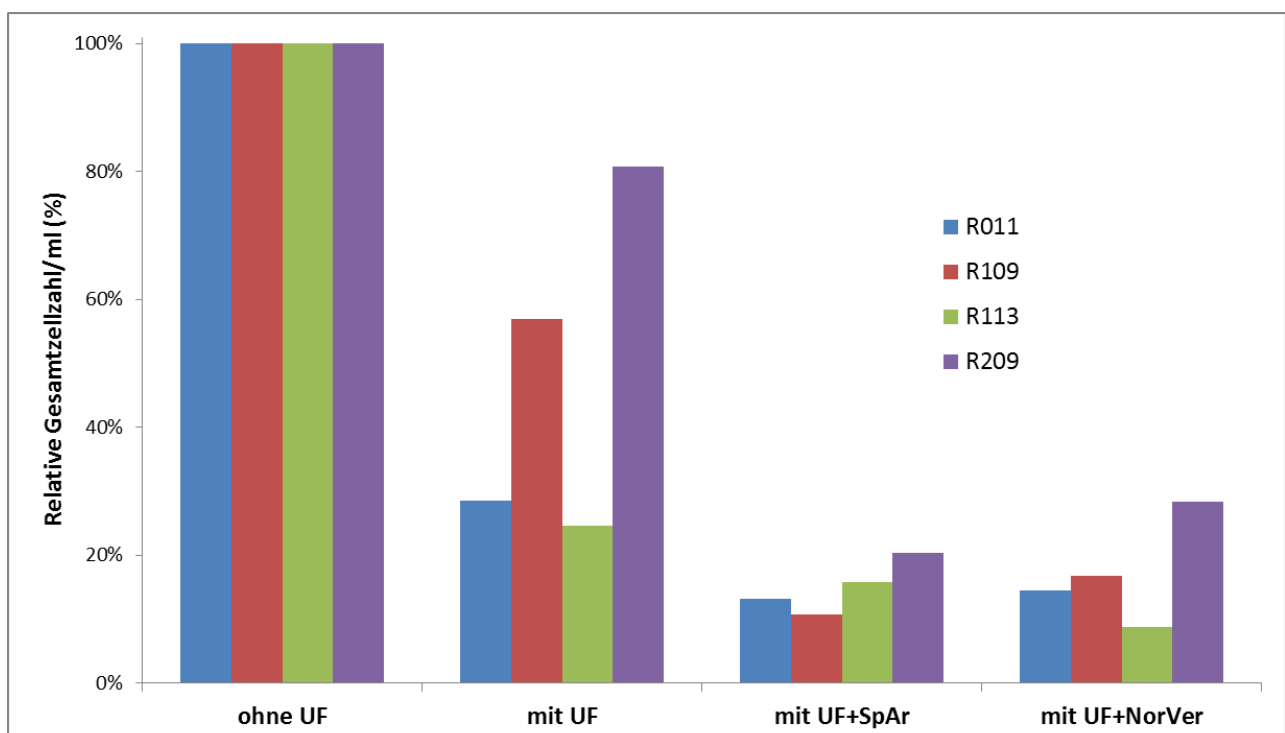


Abbildung 29: Abreinigung der Gesamtzellzahlen/ml der vier untersuchten peripheren Stellen über die vier Betriebsphasen

4.6 Referenzgebäude mit abgesenkter Temperatur im Trinkwarmwasser

4.6.1 Anforderungen an Referenzgebäude und durchgeführte Untersuchungen

Die entwickelte Methode der Zellzahlbestimmung mittels Zytometrie, die Untersuchungen des Ultrafiltration-Reinwassers und die Abreinigung der Trinkwasser-Installation an der ZE MUA HYG wurden durch Anwendung in Feldversuchen an Hand von 13 Referenzgebäuden (Modellobjekten) in der Praxis angewandt, um auf breiterer Datengrundlage eine Überwachung von Temperaturabsenkungen im Warmwasser beurteilen zu können. Im Verlauf vorangegangener Forschungsprojekte der PPF-Forschungsgemeinschaft wurde ein Konzept zur Einhaltung der hygienischen Sicherheit bei gleichzeitiger Absenkung der Warmwassertemperatur in der Trinkwasserinstallation mittels der EXERGENE®-Technologie entwickelt und vom Niedersächsischen Landesgesundheitsamt unter Beteiligung der ZE MUA HYG in Form von „Leitplanken“ als Leitfaden für die Gesundheitsämter zur Durchführung von Modellprojekten erstellt. Die „Leitplanken“ wurden im hier beschriebenen Projekt umgesetzt (Kapitel 8.3 im Anhang) und u.a. folgende wesentlichen Punkte auf die Gegebenheiten in den Modellobjekten angewandt:

- Benennung eines verantwortlichen Projektleiters
- Bestandsaufnahme der Trinkwasserinstallation und Einhaltung der allgemein anerkannten Regeln der Technik
- Einhaltung der Vorgaben der Trinkwasserverordnung
- Beteiligung und Information der zuständigen Gesundheitsbehörde
- Engmaschiger Probenzugplan zur Überwachung der mikrobiologischen Verhältnisse
- Absicherung der Temperaturabsenkung durch ein EXERGENE®-Filtrationssystem
- Temperaturabsenkung im ersten Schritt bis minimal 50 °C
- Online-Überwachung und Monitoring der GTS-Clean-Ultrafiltrationsanlage mit sofortiger Meldung bei Störungen
- Einhaltung eines Spülplans und Regelungen bei Zimmerleerstand um ausreichend Verbrauch sicherzustellen.

Die EXERGENE®-Technologie nutzt Ultrafiltrationsanlagen der GTS GmbH, welche im Zirkulationsrücklauf des Warmwassersystems eingebaut werden.

Tabelle 12 zeigt eine Übersicht der 13 Modellobjekte mit untersuchter Laufzeit und Probenanzahl. Bei einer Laufzeit von 3,5 Monaten bis etwa 3,5 Jahren wurden bei durchschnittlich 7 Probenahmen im Mittel 45 Proben pro Objekt entnommen und untersucht. In den Wasserversorgungsanlagen der Objekte 1 bis 3 wurde bereits vor Projektbeginn die Temperatur im Warmwassersystem aktiv auf etwa 45 °C und in den Objekten 4 sowie 8 bis 13 auf etwa 50 °C abgesenkt. In den Objekten 5 bis 7 müssen vor Absenkung noch technische Maßnahmen durchgeführt werden.

Tabelle 12: Charakterisierung der Untersuchungsbedingungen der Modellobjekte

Modellobjekt		Probenahme			Temp. WW
Lfd.-Nr.	Ort Objektart	Termine (n)	Dauer (Wo)	Anzahl (n)	(°C)
1	HH Hotel	4	58	20	45
2	HH Mietgebäude	4	58	16	44
3	BS Arbeitsstätte	14	93	89	43
4	PI Mietgebäude	10	203	74	51
5	NOR Hotel	4	68	20	51
6	CLZ Arbeitsstätte	5	59	36	52
7	H Mietgebäude I	6	59	55	54
8	H Mietgebäude II	7	37	48	51
9	H Mietgebäude III	7	37	44	51
10	HI Mietgebäude	8	38	43	51
11	B Mietgebäude I	4	23	32	50
12	B Mietgebäude II	6	26	37	52
13	KI Hotel	6	15	72	50

4.6.2 Ergebnisse der Gesamtzellzahlen in den Modellobjekten

Die Probenzugpläne waren in allen Modellobjekten so angelegt, dass nach Überprüfung der allgemein anerkannten Regeln der Technik in der Trinkwasser-Installation Ausgangswerte der GZZ vor Einbau der Ultrafiltrationsanlage an folgenden Probenahmestellen erhoben wurden (Tabelle 13): Kaltwasserzulauf zum Speicher (oder Hausanschluss), Ausgang Warmwasserbereiter, Zirkulationsrücklauf und die endständige Stelle eines jeden Steigstrangs. Der Kaltwasserzulauf wurde bei jedem Probenzug als Referenzprobe für die systemischen Proben im Warmwasser mit untersucht. Die GZZ im Warmwasser kann höher oder niedriger sein als im Kaltwasser. Nach dem Bewertungsschema für die Gesamtzellzahl (Tabelle 6) waren die Ausgangswerte im Warmwasser im Mittel als erhöht zu bewerten. Die Werte zeigen starke Unterschiede zwischen 94.000/ml und 1.720.000/ml.

Tabelle 13: Ausgangswerte der Gesamtzellzahlen/ml in den Modellobjekten

Lfd.-Nr.	KW	Warmwasser		
	GZZ (/ml)	Speicher	Zirkulation	Peripherie*
1	138.107	n.g.	n.g.	n.g.
2	158.280	n.g.	n.g.	n.g.
3	297.341	n.g.	n.g.	n.g.
4	201.216	230.000	230.000	132.000
5	713.373	1.076.000	1.720.000	1.431.500
6	674.616	246.000	235.000	323.600
7	263.500	165.000	165.000	174.000
8	281.570	235.000	217.000	241.000
9	251.460	170.000	174.000	168.444
10	368.017	138.000	94.000	206.000
11	157.985	106.260	106.260	115.600
12	184.770	311.500	318.940	378.100
13	128.167	170.000	322.000	707.214
Mittelwert	293.723	284.776	358.220	387.746

n.g.: Nicht gemessen, da Einbau der Ultrafiltrationsanlage vor Projektbeginn

*: Mittelwert aller untersuchten peripheren Probenahmestellen

In allen Modellprojekten sinken die GZZ-Werte nach Einbau der Ultrafiltrationsanlage mit der Zeit ab. Zu unterschiedlichen Zeiten stellen sich an allen Probenahmestellen relativ konstante GZZ-Werte ein, so dass nach Ablauf der Untersuchungsphase für jedes Modellobjekt ein minimaler GZZ-Wert entweder aus einem Mittelwert mehrerer zeitlich nacheinander liegender Probenahmen oder aus dem letzten Probenahmetermin ermittelt werden konnte (Tabelle 14). Abreinigungswerte, die aus dem letzten Probenahmetermin ermittelt wurden (§ in Tabelle 14) haben ihr Maximum eventuell noch nicht erreicht, so dass die Abreinigung im Modellprojekt gegebenenfalls noch nicht abgeschlossen war. Beispielsweise ist das in der Peripherie in Modellprojekt 4 der Fall (Abbildung 32).

Die Abreinigung erfolgt mit Ausnahme zweier Gebäude in allen Modellobjekten auf geringe bis sehr geringe Werte der Gesamtzellzahl (Tabelle 6) auf etwa 20 % der Ausgangswerte (Tabelle 13), das heißt die Abreinigung erfolgt im Mittel aller Gebäude zu 80 %.

Tabelle 14: Abreinigungswerte der Gesamtzellzahlen in den Modellobjekten

Lfd-Nr	GZZ (/ml)			Reduktion um		
	Speicher	Zirkulation	Peripherie*	Speicher	Zirkulation	Peripherie*
1	96.767	69.050	40.370 ^{\$}	-	-	-
2	69.707	29.270	32.773 ^{\$}	-	-	-
3	23.293	29.988	32.653	-	-	-
4	25.460	13.742	17.000 ^{\$}	89%	94%	87% ^{\$}
5	46.150	29.487	369.000 ^{\$}	96%	98%	74% ^{\$}
6	58.665	31.780	35.183	76%	86%	89%
7	16.000	15.333	32.500	90%	91%	81%
8	82.228	65.284	66.910	65%	70%	72%
9	79.896	68.656	68.552	53%	61%	59%
10	56.540	18.703	80.340	59%	80%	61%
11	14.630	9.650	17.685 ^{\$}	86%	91%	85% ^{\$}
12	20.790	17.820	30.820	93%	94%	92%
13	29.500	12.750	262.462 ^{\$}	83%	96%	63% ^{\$}
Mittelwert	47.664	31.655	83.557	79%	86%	76%

*: Mittelwert aller untersuchten peripheren Probenahmestellen

^{\$}: Der Wert wurde aus der letzten Probenahme ermittelt. Alle anderen angegebenen Werte wurden aus dem Mittelwert mehrerer Probenahmeterminen bestimmt.

In den Modellobjekten 1 und 2 ist seit September 2013 und in Modellobjekt 3 seit Juni 2016 jeweils eine Ultrafiltrationsanlage eingebaut und die Warmwassertemperatur auf etwa 45 °C abgesenkt. Es haben sich geringe Gesamtzellzahlen zwischen 30.000/ml und 100.000/ml eingestellt. Die in Tabelle 12 angegebene Laufzeit von 58 Wochen bezieht sich auf die Zeitspanne der GZZ-Untersuchungen.

Der Verlauf der Abreinigung und der erreichte höchste Wert ist zwischen den Modellobjekten verschieden, hat aber immer die gleiche Charakteristik einer Abnahme der GZZ-Werte und Einstellung relativ konstanter Werte nach Ablauf verschiedener Zeiträume.

Abbildung 30 zeigt das Beispiel einer optimalen schnellen Abreinigung um 92 % bis 94 % im Modellobjekt 12. Die zweite Probenahme erfolgte einen Monat nach der Ermittlung der Ausgangswerte. Kurz vor dieser zweiten Probenahme erfolgte der Einbau der Ultrafiltrationsanlage. Am dritten Probenahmetermin weitere 2 Monate später ist die fast vollständige Abreinigung im System und in der Peripherie erreicht und bleibt bis zum Ende der Versuchslaufzeit bei sehr geringen GZZ-Werten (Tabelle 6 und Tabelle 14). Die Temperatur im Warmwasser wurde zwischen dem 5. und 6. Probenahmetermin abgesenkt.

Abbildung 31 zeigt das Beispiel einer schnellen Abreinigung aller Probenahmestellen im Modellobjekt 9, die jedoch nur eine Abreinigung um etwa die Hälfte der Ausgangswerte erreicht. Die dargestellten Probenahmetermine fanden in einem Abstand von jeweils einem Monat statt. Nach Ermittlung der Ausgangswerte wurde die Ultrafiltrationsanlage einen Monat später installiert (2. Probenahmetermin). Bereits bei der dritten Probenahme einen Monat nach Inbetriebnahme war die maximale Abreinigung im System und an den peripheren Stellen erreicht. Die GZZ-Werte änderten sich im weiteren Versuchsverlauf relativ wenig auf gleichbleibend niedrigem Konzentrationsniveau von etwa 70.000 GZZ/ml. Die Warmwassertemperatur wurde erst nach dem 7. Probenahmetermin abgesenkt.

Abbildung 32 zeigt das Beispiel einer schnellen Abreinigung in den beiden systemischen Proben und einer länger andauernden allmählichen Abreinigung an den peripheren Probenahmestellen. Die GZZ-Werte der systemischen Proben sanken bereits bei der 2. Probenahme rasch ab und blieben über den gesamten Untersuchungszeitraum auf sehr geringem Niveau < 40.000/ml. Die GZZ-Werte in den peripheren Proben dagegen zeigten bei einem Anfangswert von 132.000/ml nur eine allmähliche Abnahme bis diese zum Ende der Versuchsreihe im Mittel einen sehr geringen Wert von 17.000/ml nahe bei den systemischen Proben mit etwa 12.000/ml erreichten. Im Laufe der Untersuchungen dieses Modellobjektes wurden technische Verbesserungen in der Trinkwasser-Installation und ein optimaler hydraulischer Abgleich der Steigstränge vorgenommen um die Gesamtzellzahlen in den peripheren Proben zu verringern. Die Warmwassertemperatur wurde am Termin der 7. Probenahme abgesenkt.

Der Verläufe der Abreinigung in den anderen Modellprojekten sind im Anhang in Abbildung 38 bis Abbildung 47 zu finden.

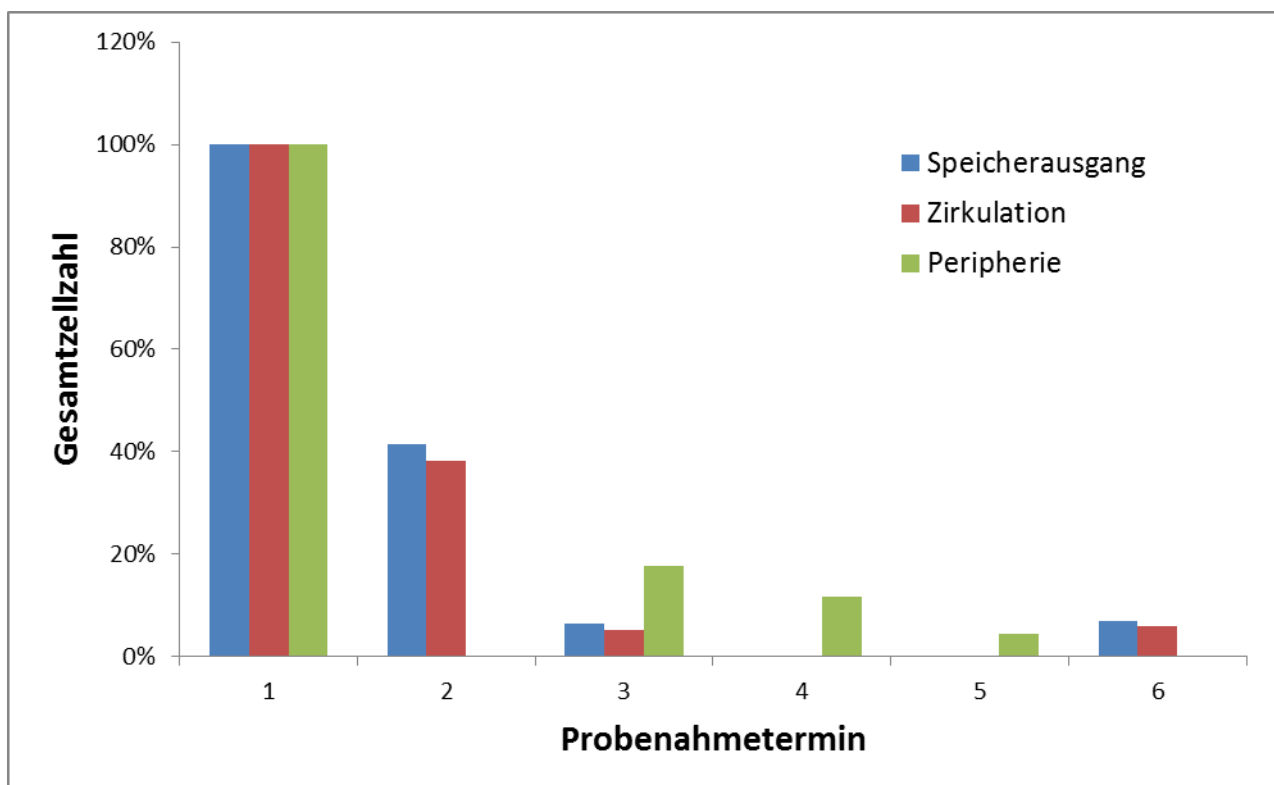


Abbildung 30: Relative Gesamtzellzahlen im Modellobjekt 12, Berlin, Mietgebäude II

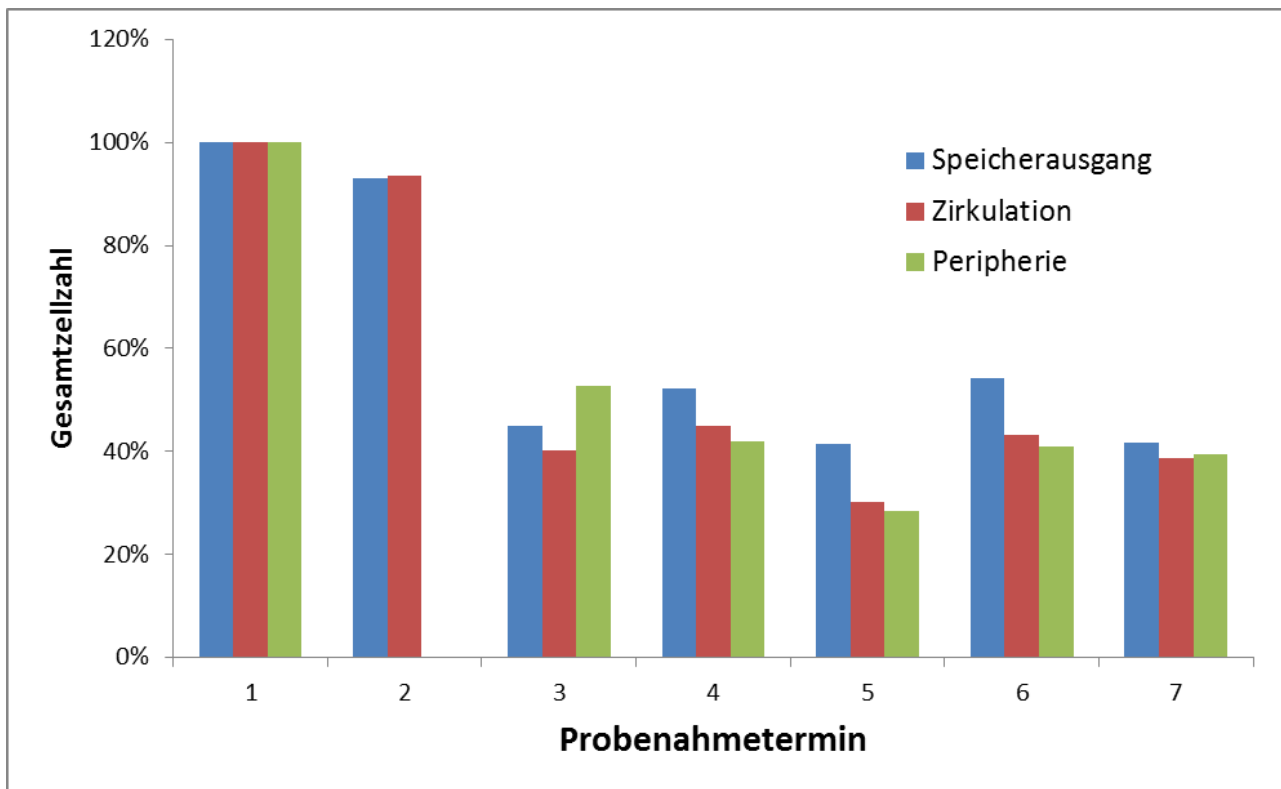


Abbildung 31: Relative Gesamtzellzahlen im Modellobjekt 9, Hannover, Mietgebäude III

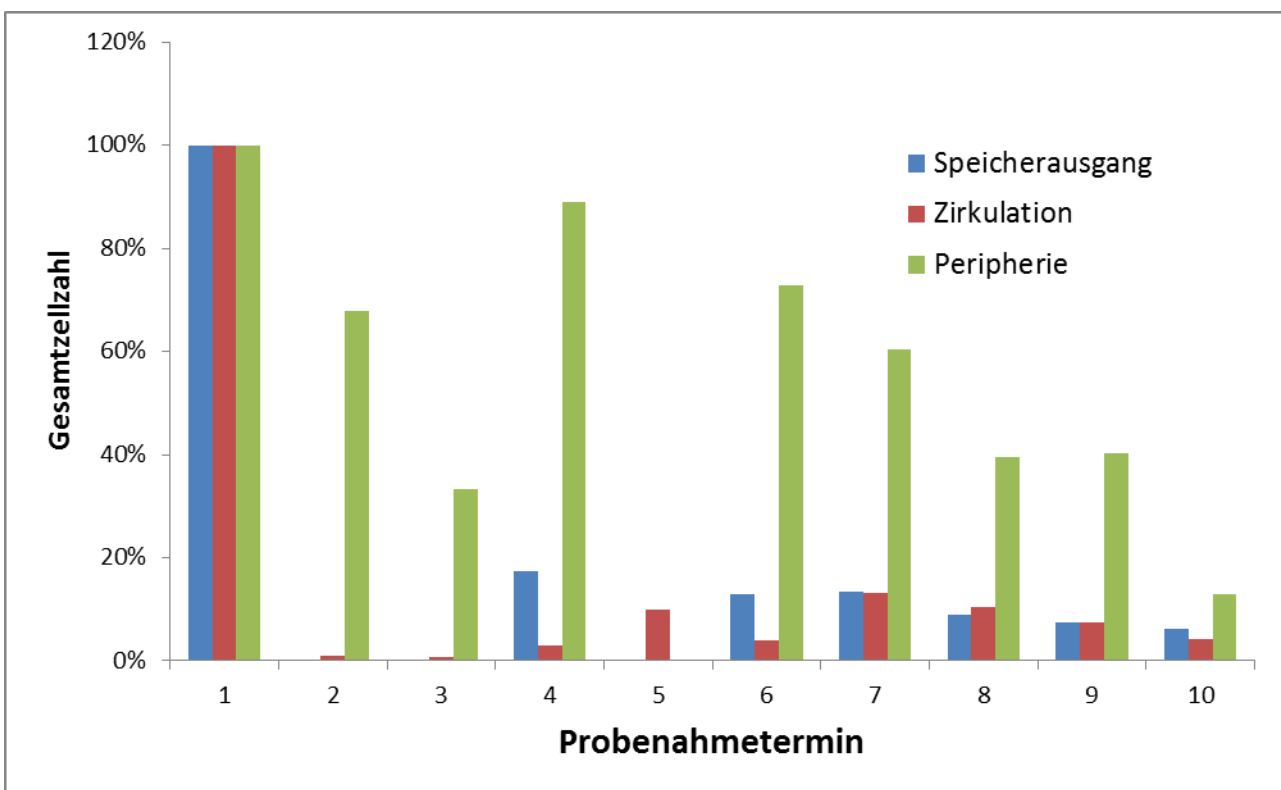


Abbildung 32: Relative Gesamtzellzahlen im Modellobjekt 4, Pinneberg, Mietgebäude

Die im Projekt angewandten „Leitplanken“ haben sich in den durchgeführten Modellobjekten bewährt. Dabei kommt der Funktion des verantwortlichen Projektleiters eine wichtige Rolle zu, um die technischen, hygienischen, qualitätssichernden Maßnahmen und Untersuchungsergebnisse an einer Stelle zu bündeln und an alle Beteiligten, inklusive der Verbraucher und Betreiber der

Trinkwasser-Installation zu kommunizieren. Eine Weiterentwicklung der „Leitplanken“ bei zunehmenden Erfahrungen aus den im Projekt untersuchten und weiteren Modellobjekten ist anzustreben.

In den Modellprojekten mit abgesenkter Warmwassertemperatur wurden parallel zur Bestimmung von GZZ, intakten Zellen und Koloniezahlen bei 20 und 36 °C ebenfalls Legionellen mittels des Kulturverfahrens nach Trinkwasserverordnung bestimmt. Die Ergebnisse der Legionellenuntersuchungen sind nicht Gegenstand des durchgeführten Projektes, können aber beim Erstautor angefragt werden.

4.7 Gesamtzellzahl mittels Zytometrie im Kontext der Energieeffizienzsteigerung

4.7.1 Gesamtzellzahl im Kontext der Klimaschutzziele 2030 und 2050

Der sparsame und effiziente Umgang mit natürlichen Ressourcen ist Voraussetzung für eine nachhaltige Entwicklung unserer Gesellschaft. Von zentraler Bedeutung sind dabei die Reduktion von Treibhausgasemissionen (THG) sowie der Schutz von Wasserressourcen. Für das Erreichen der Klimaschutzziele im Gebäudesektor sind die Nutzung aller verfügbaren regenerativen Wärmequellen und der Ausbau von Wärmenetzen erforderlich. Ein wesentlicher Engpass in diesem Kontext ist die viel zu geringe Zahl von regenerativen Wärmeerzeugern. Zu dieser Kategorie zählen beispielsweise Wärmepumpen sowie solar- und geothermische Anlagen.

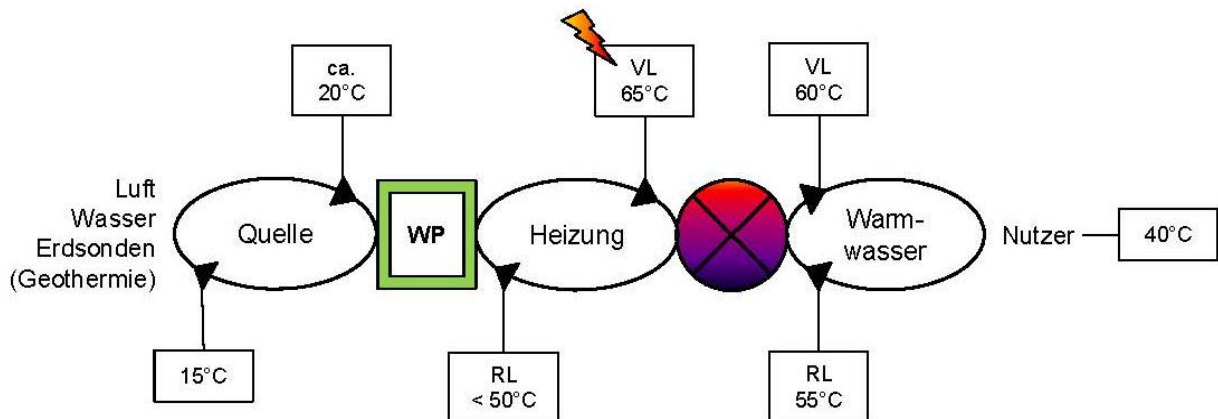


Abbildung 33: Temperaturkaskade von der Wärmequelle bis zum Nutzer

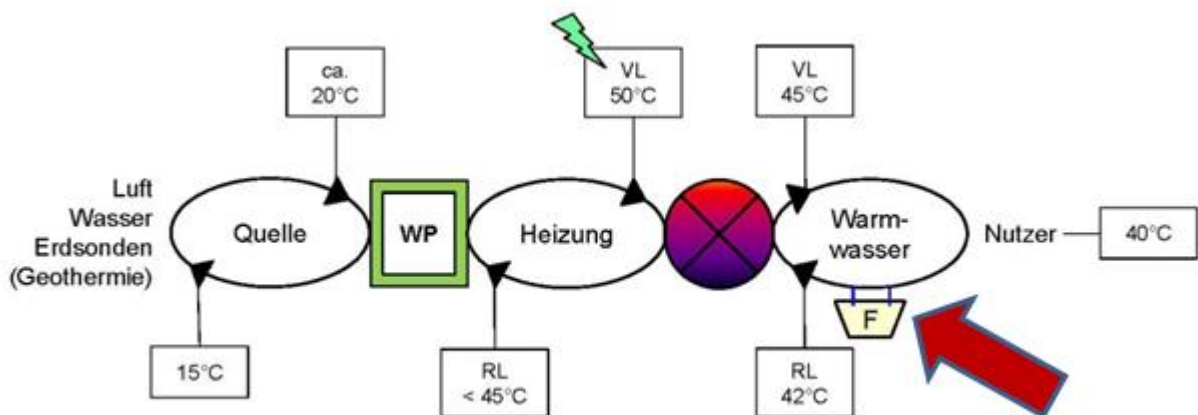


Abbildung 34: Temperaturkaskade mit einem Filtrationssystem im TWW-Netz am Beispiel von Wärmepumpen

Die Beschleunigung der Marktdurchdringung von regenerativen Wärmeerzeugern setzt die Lösung des Konflikts zwischen Trinkwasserhygiene und den für den Wärmepumpeneinsatz nötigen Temperaturabsenkungen in häuslichen Trinkwassernetzen voraus. Hauptproblem sind aus hygienischen Gründen einzuhaltende Trinkwarmwassertemperaturen von mindestens 55°C, die ein heizungsseitiges Temperaturniveau von mindestens 63°C erfordern.

Das Problem zu hoher Systemtemperaturen existiert in nahezu jedem Mehrfamilienhaus und behindert quartiersbezogene Weiterentwicklungen von Niedrigenergiesystemen. Um den Pfad in Richtung „Minus 95 Prozent THG-Emissionen pro Jahr“ bis 2050 offen zu halten, muss bis 2030 eine Verfünfachung der jährlichen Neuinstallation von Wärmepumpen erreicht werden, d. h. von aktuell ca. 90.000 Stück auf etwa 360.000 Stück pro Jahr (Fraunhofer IWES/IBP 2017). Der schleppende Ausbau der regenerativen Wärmeversorgung hängt somit eng mit der Sicherstellung der Trinkwasserhygiene zusammen. Von hygienischer Sicherheit kann allerdings erst dann gesprochen werden, wenn Komplikationen so früh aufgedeckt werden können, dass genügend Zeit und Handlungsspielraum zur Beseitigung von Ursachen von Verkeimungen bestehen.

Die präventiven Sicherheitsanforderungen des Infektionsschutzes setzen ein Analyseverfahren voraus, dass eine vorsteuernde Bewertung hygienischer Verhältnisse ermöglicht. In diesem Zusammenhang ist die besondere Bedeutung der immanenten Präzision der Zytometrie für die Energieeffizienzsteigerung von Gebäuden und Wärmenetzen (Wärmewende 2030) zu sehen

4.7.2 Zusammenspiel von Analytik und Technik für regenerative Konzepte

Im Zeitraum von Januar bis Mai 2017 wurde im Modellobjekt 13 in Kiel untersucht, welche Wirkung die Reduktion der Trinkwarmwassertemperatur von 55 °C auf 50 °C im Zirkulationsrücklauf auf das bestehende Energieversorgungssystem mit zwei gasbetriebenen konventionellen Blockheizkraftwerken (BKHV) und einem Gas - Brennwertheizkessel hat. Um die Trinkwasserhygiene sicherzustellen, wurde das EXERGENE® - Filtrationssystem vom Typ GTS-Clean in das zirkulierende Trinkwarmwassernetz des Neubauteils des Hotels eingesetzt. Neben der projektbezogenen wissenschaftlicher Fragestellungen wurde untersucht, in welcher Weise die unterschiedlichen Interessen und Intentionen der Akteure (Hotelbetreiber, Gesundheitsamt, technische und hygienische Sachverständige, Hotelpersonal) unter dem Primat des Infektionsschutzes sowie den Vorstellungen zur Realisierung von Energieeffizienzmaßnahmen unter Realbedingungen koordiniert werden können.

Es konnte nachgewiesen werden, dass die Temperaturreduktion auf 50 °C Zirkulationsrücklauftemperatur gefahrlos möglich ist und sich dadurch erhebliche positive energetische und finanzielle Effekte für das Hotel ergaben. Ohne zusätzliche Veränderungen am Energiesystem beträgt die zusätzliche CO₂-Reduktion etwa 31 % im Vergleich zum konventionellen Betrieb.

Planung und Umsetzung des Projektes wurde in einem umfassenden Projektbericht dokumentiert, auf den an dieser Stelle verwiesen wird (Brousil et al. 2017).

4.7.3 Quantitative Bewertung durch Gesamtzellzahlbestimmung

Die Tatsache, dass mit der Angabe von Gesamtzellzahlen eine quantitative Bewertung der Zustände innerhalb eines Trinkwassernetzes verbunden ist, stellt eine enorme Erleichterung der Kommunikation hygienischer Zusammenhänge zwischen Fachleuten und Laien dar. Die Erfahrung im Umgang mit den Werten zeigt, dass in Tabellenform dargestellte Ergebnisse mit Hilfe des

erarbeiteten Bewertungsschemas (Tabelle 6) ohne weiteres vermittelt werden können. Diskussionen um notwendige Maßnahmen zur Verbesserung der hygienischen Qualität einer Trinkwasserinstallation konnten zielorientiert umgesetzt werden.

Als Beispiel sei ein Waschbecken im Saunabereich des Modellobjektes 13 genannt, das einen siebenstelligen Wert der Gesamtzellzahl im Verhältnis von sonst sehr niedrigen Werten aufwies und ohne Zögern demontiert wurde. Auch die Wirkung von manuellen Spülungen konnten mit Mitarbeitern diskutiert werden, mit der Folge, dass Spülzeiten selbstständig angepasst wurden, um sich die Verbesserung im nächsten Probenzug anzuschauen.

4.7.4 Prozessorientiertes Bewertungsschema

Der Umgang mit Gesamtzellzahlen in der Praxis von Modellobjekten hat gezeigt, dass sich weiterführende Erkenntnisse erst durch ein Bewertungsschema ergeben, das aktuelle Ergebnisse kultureller und zytometrischer Analysen in Beziehung zu vorangegangenen Ergebnisse setzt. In der Praxis hat sich das in Tabelle 15 dargestellte Schema bewährt.

Tabelle 15: Prozessorientiertes Bewertungsschema für Modellobjekte

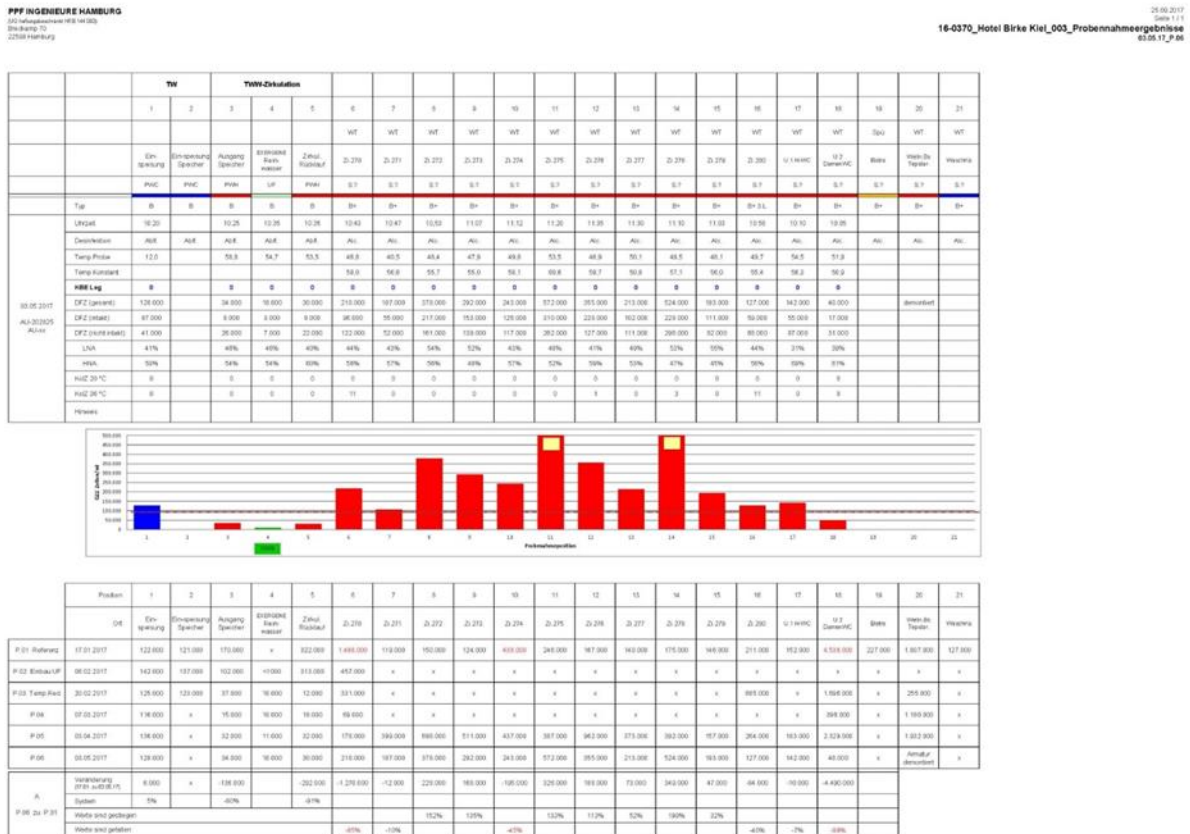
		Probenahmestellen					
	Parameter	1	2	3	4	..n	Median
Aktuelle Analyse- ergebnisse	Legionellen						
	GZZ						
	qPCR Leg						
		Graphische Darstellung (Balkendiagramm)					
Historische Daten (GZZ)	Probenzug 1						
	Probenzug 2						
	Probenzug 3						
	Probenzug 4						
Bewertung	Veränderung						
	Reduktionsleistung	%	%	%	%	%	

Im Bewertungsschema werden im oberen Teil die aktuellen Ergebnisse einzelner Probenahmestellen eingetragen. In Bezug auf die Gesamtzellzahl hat sich eine graphische Darstellung in Form eines Balkendiagramms als vorteilhaft erwiesen. Diese Darstellungsform lässt auf einen Blick die Unterschiede zwischen den Probenahmestellen erkennen und ist im fachlichen Austausch ein anschauliches Werkzeug. Historische Daten werden tabellarisch nach unten fortgeschrieben, so dass auch bei wechselnder Anzahl von Probenahmestellen eine schnelle und übersichtliche Bewertung von Verläufen möglich ist. Für den Erkenntnisgewinn wichtig sind außerdem Medianwerte der Probenahmeergebnisse, um insbesondere für die peripheren Stellen

im zeitlichen Verlauf einen schnellen Überblick zu erhalten. Ein Anwendungsbeispiel ist in Tabelle 16 dargestellt.

Die Erstellung von Auswertungen kann relativ leicht mit Tabellenkalkulationsprogrammen vorgenommen werden, die etwas Erfahrung im Umgang mit Formelprogrammierungen erfordern. Der Vorteil ist, dass Anpassungen von Darstellungen im Verlaufe von Untersuchungen schnell vorgenommen werden können.

Tabelle 16: Beispiel eines prozessorientierten Bewertungsschemas mit Balkendiagramm



Die Komplexität der Zusammenhänge erfordert es, dass eine Gesamtbewertung aller Ergebnisse in der Hand eines fachkundigen Projektleiters liegt, der sich sowohl mit den konstruktiven und organisatorischen Rahmenbedingungen auseinandersetzt, als auch Erfahrungen mit kulturellen und zytometrischen Analyseverfahren im Kontext des Einsatzes der Ultrafiltration verfügt.

5 Schlussfolgerungen

Im durchgeführten Projekt wurden die Zytometrie zur Bestimmung von Gesamtzellzahlen (GZZ), inklusive der Unterscheidung von intakten und nicht-intakten Zellen, in Trinkwasserproben als Routineparameter etabliert und etwa 1.700 Proben untersucht. Vergleichsmessungen mit drei anderen Laboratorien ergaben gute Übereinstimmungen zwischen den ermittelten Zellzahlen. Als Bestimmungsgrenze der Methode wurde im Routineverfahren 1.500 GZZ/ml ermittelt. Der Anteil intakter Zellen an der Gesamtzellzahl liegt in der Regel zwischen 40 und 68 %. An Hand von 450 Proben aus 138 Trinkwasser-Installationen wurde ein Bewertungsschema für die Gesamtzellzahl entwickelt. Eine Trinkwasser-Installation enthält unabhängig von Kalt- oder Warmwasserleitung normalerweise 100.000 bis 250.000 GZZ/ml. Sehr geringe Werte liegen unterhalb von 35.000/ml, deutlich erhöhte oberhalb von 450.000/ml.

Ein Zusammenhang zwischen der Koloniezahlbestimmung bei 20 °C und 36 °C und den Zahl intakter Zellen mittels Zytometrie besteht nicht. Proben ohne kulturellen Nachweis von Bakterien mit den genannten Methoden enthalten im Mittel 62.000 intakte Zellen/ml, d. h. mittels Plattengussverfahren nach Trinkwasserverordnung wird nur ein kleiner Teil der vorhandenen Zellen erfasst. Mittels Zytometrie lassen sich die mikrobiologischen Verhältnisse in Wasser wesentlich besser und genauer beschreiben als mittels Kulturverfahren.

In einer Labor-Ultrafiltrationsanlage konnte gezeigt werden, dass mittels der Gesamtzellzahlbestimmung kleine Membranbrüche des Filters erkannt werden. Dadurch konnten konstruktive Verbesserungen der Ultrafiltrationstechnologie erfolgen. An Hand von 86 Reinwasserproben aus Ultrafiltrationsanlagen, die in Gebäuden in Betrieb sind, wurde ein Bewertungsschema für dieses Reinwasser erstellt. Ein Zielwert von 4.000 GZZ/ml ist anzustreben und oberhalb von 14.000 GZZ/ml muss eine Überprüfung der Membran auf Undichtigkeiten oder Verkeimung der Reinwasserseite durchgeführt werden.

Innerhalb der ZE MUA HYG wurde eine Trinkwasser-Installation mit einer Ultrafiltrationsanlage ausgestattet und an den systemischen - und peripheren Entnahmestellen intensiv auf räumliche und zeitliche Variabilität untersucht. Zwischen 17 peripheren Entnahmestellen waren mittels Gesamtzellzahl deutliche räumliche Unterschiede zwischen 275.000/ml und 1.400.000/ml erkennbar, was bei der Koloniezahlbestimmung bei 20 °C und 36 °C nicht möglich war, da nur in vier Fällen Kolonien kultivierbar waren. Im Mittel fand eine Abreinigung um 64 % inklusive aller Stichleitungen innerhalb von 7 Wochen statt. Über einen Gesamtzeitraum von 49 Wochen wurden in den systemischen Proben und vier ausgewählten peripheren Entnahmestellen mit zusätzlichen automatischen Spülarmaturen die Gesamtzellzahlen untersucht. Im System fand eine praktisch vollständige Abreinigung von 95 % statt. An den peripheren Stellen erhöhen automatische Spülarmaturen den Abreinigungseffekt der Ultrafiltrationsanlage von 19 % bis 75 % auf Werte zwischen 80 % und 89 %. Dieser Effekt ist bei Wiederausbau der automatischen Spülarmaturen nachhaltig.

In 13 Modellobjekten wurde unter Einhaltung definierter hygienischer, technischer und organisatorischer Vorgaben die Temperaturabsenkung im Warmwasser auf 50 °C mittels Gesamtzellzahl untersucht und als hygienisch-mikrobiologische Absicherung des Prozesses in der Praxis von Felduntersuchungen eingesetzt. Der Verlauf der Abreinigung im Warmwasser, ermittelt aus GZZ-Werten vor und nach Einbau einer Ultrafiltrationsanlage, und der erreichte höchste Wert

der Abreinigung ist zwischen den Modellobjekten verschieden, hat aber immer die gleiche Charakteristik einer Abnahme der GZZ-Werte und Einstellung relativ konstanter Werte nach Ablauf verschiedener Zeiträume. Die Gesamtzellzahlen in den systemischen Proben sinken innerhalb von maximal zwei Wochen auf 20 % der Ausgangswerte ab.

Im Mittel aller Modellobjekte wird diese Abnahme, d. h. eine Abreinigung um 80 %, an den peripheren Stellen ebenfalls erreicht, jedoch in unterschiedlichen Zeitabständen. Anhand der durchgeführten Probenahme wurde erkannt, dass diese Abreinigung auch in den Stichleitungen erfolgt, in denen das Trinkwasser nicht dauerhaft zirkuliert. In den untersuchten Modellobjekten konnte ein hygienisch sicherer Betrieb bei abgesenkten Warmwassertemperaturen und Absicherung mittels Ultrafiltrationsanlage und Überwachung mittels GZZ-Bestimmung nachgewiesen werden.

Der Vorgang einer gezielten und nachhaltigen Reduktion von Gesamtzellzahlen wird als Stabilisierung von mikrobiellen Verhältnisse in einem zirkulierenden Trinkwassernetz bezeichnet.

Im durchgeführten Projekt wurde die Zytometrie als erfolgreiches Verfahren zur Überwachung der Energieeffizienzsteigerung mittels Ultrafiltration unter Beachtung des Infektionsschutzes und als geeignetes Werkzeug für die Kommunikation zwischen Fachleuten und Laien entwickelt. Ergebnisse der Gesamtzellzahlbestimmung, die nicht in der Trinkwasserverordnung enthalten ist, lassen sich nun bewerten und sind geeignet, mikrobielle Verhältnisse in der Trinkwasser-Installation zu beschreiben.

In einem Modellobjekt konnte eine CO₂-Reduktion von etwa 31 % im Vergleich zum konventionellen Betrieb erreicht werden.

Die im Projekt angewandten „Leitplanken“ zum sicheren hygienischen Betrieb bei abgesenkten Warmwassertemperaturen unter Einsatz der Ultrafiltration wurden in Fachgremien eingebracht und sollten in zukünftigen Forschungsvorhaben weiterentwickelt werden (DVGW 2018). Dabei spielt der verantwortliche Projektleiter eine zentrale Rolle in der Zusammenführung der Erkenntnisse und Kommunikation unter allen Beteiligten. Für die Untersuchung weiterer Modellobjekte liegen mit den im Projekt gewonnenen Erkenntnissen erstmals Erfahrungen vor, die in die Bewertung von Temperaturabsenkungen einfließen können. Die Gesundheitsämter und der öffentliche Gesundheitsdienst erhalten eine Unterstützung zur Begleitung von Modellobjekten zur Energieeffizienzsteigerung und neuen Verfahren, die noch nicht den allgemein anerkannten Regeln der Technik in der Trinkwasserversorgung entsprechen.

6 Danksagung

Das Projekt wurde durch die „Gesellschaft für Energie und Klimaschutz Schleswig-Holstein GmbH (EKSH)“ gefördert.

Ein Modellobjekt wurde zusätzlich durch die Stadt Kiel, Umweltschutzamt gefördert.

Besonderer Dank gilt Herrn Sigrist, eawag, Abteilung Umweltmikrobiologie, Dübendorf, Schweiz, für die analytische Methode und die Einführung in die Zytometrie. Vielen Dank an Frau Selk und Herrn Jesinghaus, sowie dem Wasserlabor der ZE MUA HYG für die technische Durchführung des Projektes.

Weiterhin wird dem „IWW Zentrum Wasser, Mülheim an der Ruhr“ und dem „Institut für Hygiene und Öffentliche Gesundheit, Universität Bonn“ für die Bereitstellung der vergleichenden Untersuchungsergebnisse gedankt.

Außerdem geht der Dank an die beteiligten Projektpartner, insbesondere der PPF Forschungsgemeinschaft für die Koordinierung des Projektes und der DVGW-Forschungsstelle an der TUHH, Herr Dr. Bendinger, für die Einführung in die Zytometrie, Diskussionsbeiträge und Korrektur des Manuskripts.

Den zuständigen Gesundheitsämtern wird für Ihre Bereitschaft der Unterstützung der Modellobjekte gedankt.

Die Betreiber der Modellobjekte ermöglichten die Anwendung neuer Technologien.

7 Literatur

Berney M., Vital M., Hülshoff I., Weilenmann H.-U., Egli T., Hammes F. (2008): Rapid, cultivation-independent assessment of microbial viability in drinking water, *Water Research* 42, 4010–401.

Besmer, M.D., Weissbrodt D.G., Kratochvil B.E., Sigrist J.A., Weyland M.S., Hammes F. (2014): The feasibility of automated online flow cytometry for in-situ monitoring of microbial dynamics in aquatic ecosystems, *Frontiers in Microbiology* 5, 1-12.

Brousil J., Hippelein M., Puls N. (2017): Entwicklung des Konzepts zur hygienisch flankierten Energieeffizienzsteigerung von BHKW-Energiesystemen in Wohn- und Nichtwohngebäuden (HyKWK Ringhotel Birke Kiel).

DIN 1988-200 (2012): Technische Regeln für Trinkwasser-Installationen – Teil 200: Installation Typ A (geschlossenes System) – Planung, Bauteile, Apparate, Werkstoffe; Technische Regel des DVGW.

DIN 32645 (2008): Chemische Analytik – Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze unter Wiederholbedingungen – Begriffe, Verfahren, Auswertung.

DIN EN ISO 19458 (2006): Wasserbeschaffenheit – Probenahme für mikrobiologische Untersuchungen.

DVGW (2004): Technische Regel – Arbeitsblatt W 551, Trinkwassererwärmungs- und Trinkwasserleitungsanlagen; Technische Maßnahmen zur Verminderung des Legionellenwachstums; Planung, Errichtung, Betrieb und Sanierung von Trinkwasser-Installationen.

- DVGW (2018): Rahmenbedingungen für die hygienisch sichere Erprobung der Ultrafiltration bei wissenschaftlich begleiteten Feldversuchen innerhalb von Forschungsprojekten, die vom DVGW begleitet werden, Bonn, Stand Mai 2018.
- Egli T. (2010): Neue Methoden für die Wasseranalytik. Gas Wasser Abwasser gwa 4, 315-324.
- Hammes F., Berger C., Köster O., Egli T. (2010): Assessing biological stability of drinking water without disinfectant residuals in a full-scale water supply system, Journal of Water Supply: Research and Technology—AQUA, 59, 31–40.
- Fraunhofer IWES/IBP (2017): Wärmewende 2030. Schlüsseltechnologien zur Erreichung der mittel- und langfristigen Klimaschutzziele im Gebäudesektor, Studie im Auftrag von Agora Energiewende.
- Hammes F., Berney M., Wang Y., Vital M., Köster O., Egli T. (2008): Flow-cytometric total bacterial cell counts as a descriptive microbiological parameter for drinking water treatment processes, Water Research, 42, 269–277.
- Hammes F., Egli T. (2010): Cytometric methods for measuring bacteria in water: advantages, pitfalls and applications, Analytical and Bioanalytical Chemistry 397, 1083-1095.
- Hippelein M., Christiansen B. (2015): Stellungnahme zum EXERGENE-Hygienekonzept eines Bauvorhabens im Altenwohnheim, Temperaturabsenkung im Trinkwarmwasser. 21.08.2015.
- Kötzsch S., Alisch S., Egli T. (2012): Durchflussszytometrische Analyse von Wasserproben. Schweizerisches Bundesamt für Gesundheit.
- Kötzsch S., Egli T. (2013): Kunststoffe in Kontakt mit Trinkwasser, Labortests und Realität, Aqua & Gas 3/13.
- Kötzsch S., Sinreich M. (2014): Zellzahlen im Grundwasser – Bestimmung mittels Durchflussszytometrie, Aqua und Gas, 3, 14-21.
- Lautenschlager K., Boon N., Wang Y., Egli T., Hammes F. (2010): Overnight stagnation of drinking water in household taps induces microbial growth and changes in community composition, Water Research 44, 4868-4877.
- Lebaron P., Servais P., Agogue H., Courties C., Joux F. (2001): Does the high nucleic acid content of individual bacterial cells allow us to discriminate between active cells and inactive cells in aquatic systems? Applied Environmental Microbiology 67, 4, 1775-1782.
- NLGA (2018): Niedersächsisches Landesgesundheitsamt: Abschlussbericht Trinkwasser-ringversuch 3-2018.
- Prest E.I., Hammes F., Kötzsch S., van Loosdrecht M.C.M., Vrouwenvelder J.S. (2013): Monitoring microbiological changes in drinking water systems using a fast and reproducible flow cytometric method, Water Research, 47, 7131–7142.
- Puls N. (2015): Konzeption zur hygienisch flankierten Energieeffizienzsteigerung des Altenwohnheims Billwerder Bucht - EXERGENE® - Konzeption, Hamburg, Stand 01.04.2015
- Puls N., Pramor H. (2011): Einsatz der Ultrafiltrations – Membrantechnologie zur dauerhaften Sicherstellung der Trinkwasserhygiene bei gleichzeitiger Reduktion des Energieeinsatzes zur Brauchwassererwärmung. Teilprojekt 1 – Entwicklung einer Filtrationstechnologie; Teilprojekt 2 – Entwicklung eines Selbstschutzes für Filteroberflächen; Projekt – Nr. 2008-18 der Innovationsstiftung Schleswig-Holstein, Kiel.

Servais P., Casamayor E.O., Courties C., Catala P., Parthuisot N., Lebaron P. (2003): Activity and diversity of bacterial cells with high and low nucleic acid content, *Aquatic Microbial Ecology* 33, 41–51.

SLMB 333 (2012): Bestimmung der Totalzellzahl und des quantitativen Verhältnisses der Zellen niedrigen bzw. hohen Nukleinsäuregehaltes in Süßwasser mittels Durchflusszytometrie. Schweizerisches Lebensmittelbuch, Schweizerisches Bundesamt für Gesundheit.

Tadonleke RD., Planas D., Lucotte M. (2005): Microbial food webs in boreal humic lakes and reservoirs: ciliates as a major factor related to the dynamics of the most active bacteria, *Microbial Ecology* 49, 325–341.

TrinkwV (2018): Verordnung über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch mit 4. Novellierung vom 03.01.2018.

VDI/DVGW (2013): Hygiene in Trinkwasserinstallationen – Anforderungen an Planung, Ausführung, Betrieb und Instandhaltung, VDI/DVGW-Richtlinie 6023

Wang Y., Hammes F., De Roy K., Verstraete W., Boon N. (2010): Past, present and future applications of flow cytometry in aquatic microbiology, *Trends in Biotechnology* 28, 8, 416-424.

8 Anhang

8.1 Probenbegleitzettel

Forschungsprojekt: **Durchflussszytometrie** zur Überwachung der Energieeffizienz
Begleitbogen zur Untersuchung mittels Durchflussszytometrie

LIEGENSCHAFT

WASSEITEMPERATUR bitte auf dem Routine-Begleitschein für jede Probe eintragen

WASSERVERSORGUNGSANLAGE gemäß TrinkwV § 3 Nr. 2 (bitte ankreuzen)

a) [] b) [] c) [] d) [] e) [] f) [] Sonstige []

Herkunft der Probe beim WASSERVERSORGER:

Herkunft	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Rohwasser										
Wasserwerk Aufbereitung										
Wasserwerk Ausgang										
Netz										
Hausanschluss										

(bitte ankreuzen)

EINRICHTUNG/GEBÄUDE: Art der Einrichtung, des Gebäudes in der Probenahmestelle liegt

- ☐ Öffentliches Gebäude ☐ Miet- oder Wohngebäude ☐
- ☐ Krankenhaus/Klinik ☐ Alten-/Pflegeheim ☐ Sonstige medizinische Einrichtung
- ☐ Schule ☐ Kindergarten/KiTa ☐ Sportstätte ☐ Campingplatz
- ☐ Hotel/Gaststätte ☐ Verwaltung ☐ Appartementanlage

Bitte wenden

PROBENAHMESTELLE im Gebäude: Bitte ankreuzen, Daten können auch im Routinebegleitzettel stehen

Probenahmestelle	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Hausanschluss										
WW-Speicher KW-Zulauf										
WW-Speicher Ausgang										
Zirkulationsrücklauf										
Reinwasser UF-Anlage										
Waschtisch										
Dusche										
Eckventil										
Sonstiges										

(Bitte ankreuzen, Daten können auch im Routinebegleitzettel stehen)

NUTZUNGSHÄUFIGKEIT: Die Nummern entsprechen der Probennummer auf dem Routine-Begleitschein

Nutzung	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Dauerhaft										
Mehrmals täglich										
Einmal täglich										
24 - 72 h Stagnation										
> 72 h Stagnation										

(bitte abschätzen und ankreuzen)

ULTRAFILTRATION: Die Probenahmestellen sind von einer Ultrafiltrationsanlage beeinflusst

☐ ja ☐ nein

Die folgenden Probenahmestellen sind davon ausgenommen:

.....

BEMERKUNGEN: z.B. Auffälligkeiten bei Probenahme, Bekannte mikrobiologische Verunreinigung...

.....

.....

8.2 Abbildungen zum Abreinigungsversuch

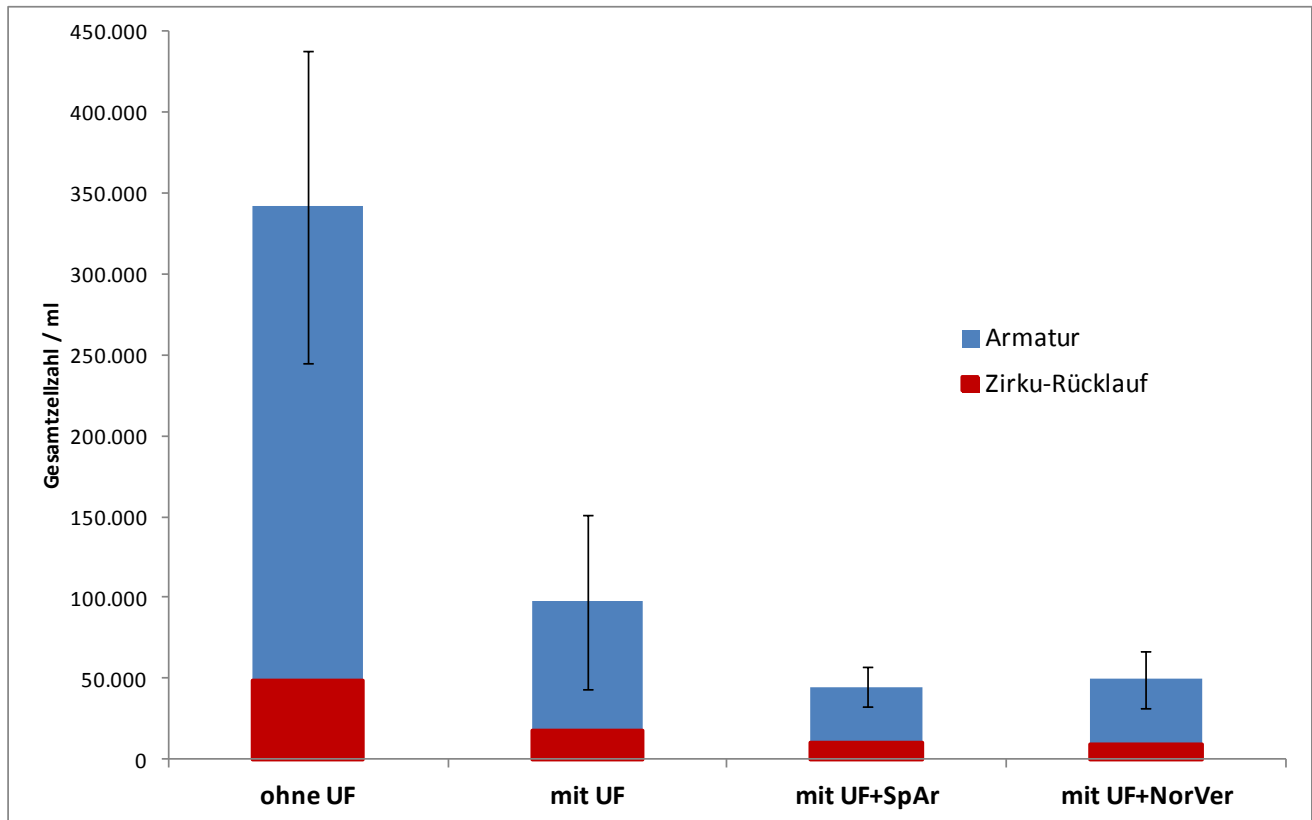


Abbildung 35: Abreinigung der Gesamtzellzahlen/ml im Raum 011 über die vier Betriebsphasen

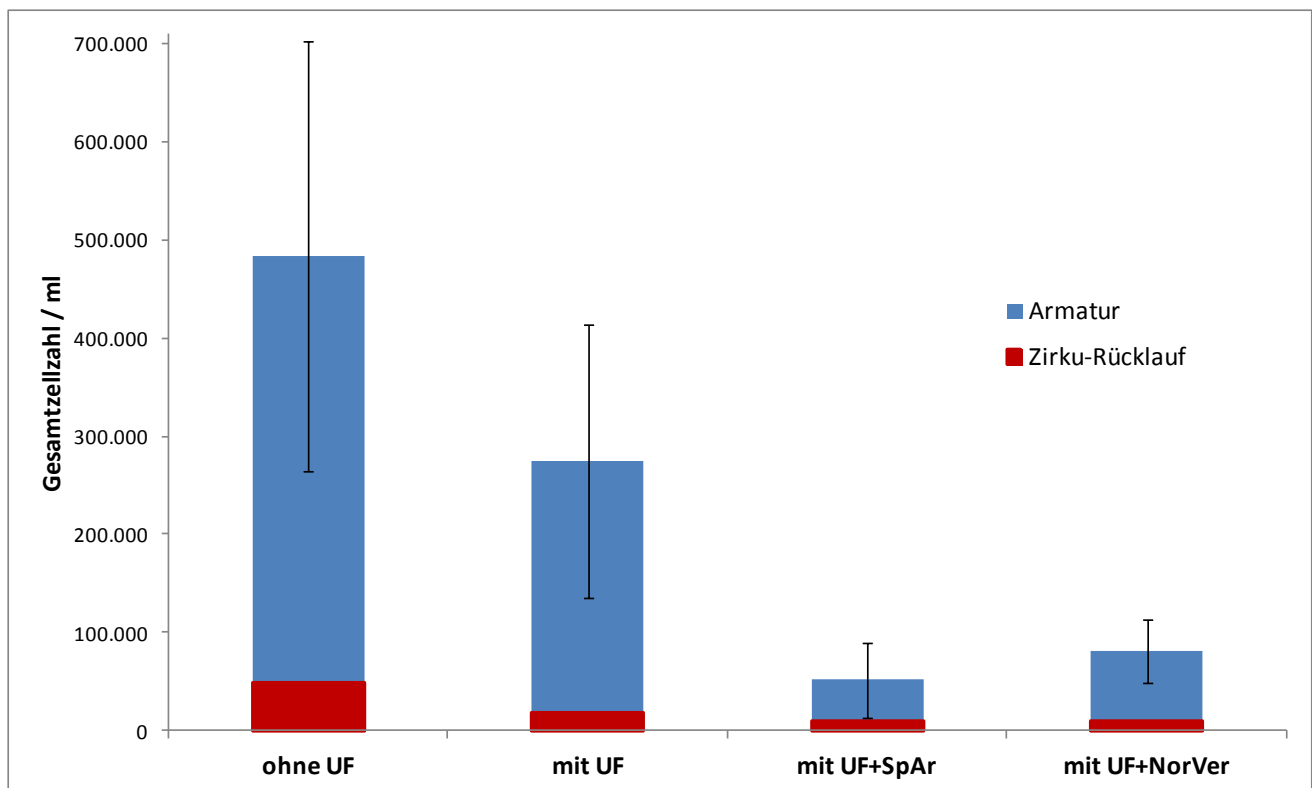


Abbildung 36: Abreinigung der Gesamtzellzahlen/ml im Raum 109 über die vier Betriebsphasen

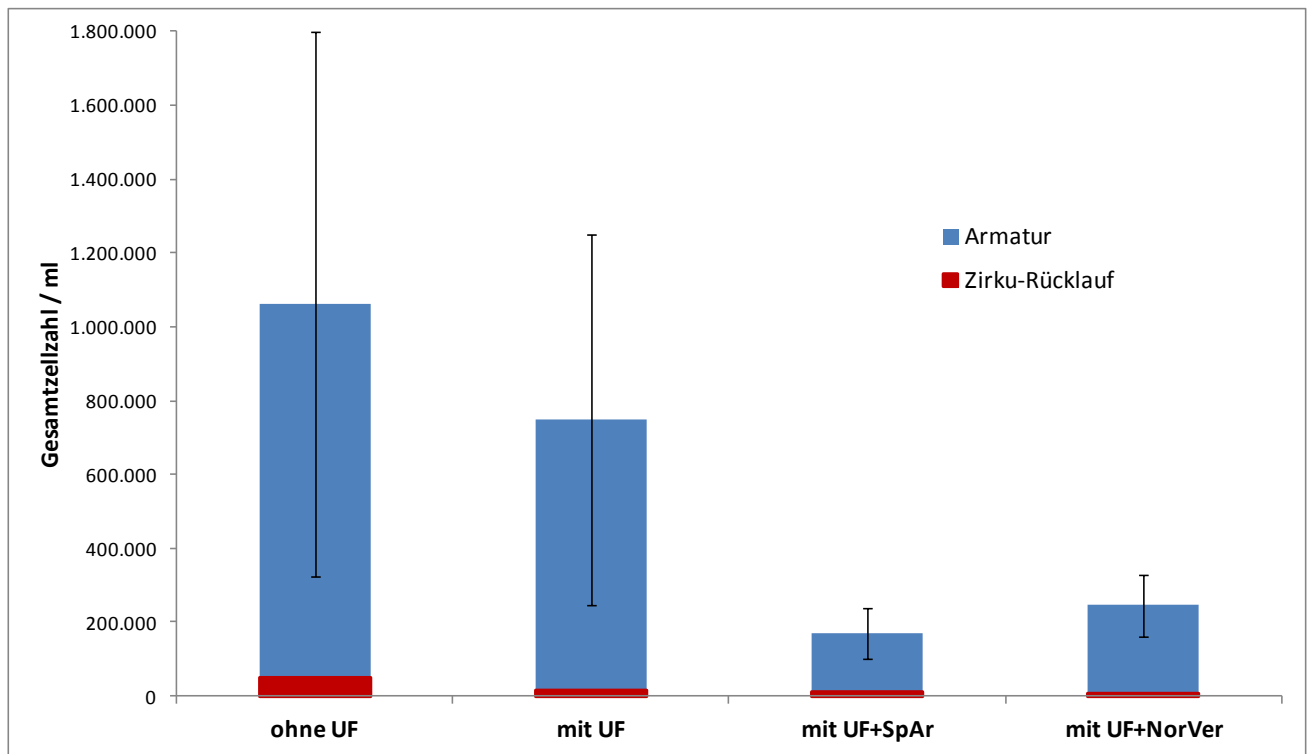


Abbildung 37: Abreinigung der Gesamtzellzahlen/ml im Raum 209 über die vier Betriebsphasen

8.3 Leitplanken für Modellobjekte

UKSH, Campus Kiel, Medizinaluntersuchungsamt und Hygiene
Arnold-Heller-Straße 3, Haus 32, Lieferadresse, Brunswiker Str. 4, 24105 Kiel

Campus Kiel

ZE Medizinaluntersuchungsamt und Hygiene

Ansprechpartner: Dr. M. Hippelein

Tel.: 0431 500- 16405

Fax: 0431 500- 16428

E-Mail: martin.hippelein@uksh.de
www.uksh.de/hygiene-kiel

Datum:



Leitplanken für Modellprojekte

Hygienisch flankierte Energieeinsparung mittels EXERGENE® Technologie

Anlass

In einem Modellprojekt soll der Betrieb einer neuartigen Ultrafiltrationsanlage der Fa. EXERGENE® aufgenommen werden. Nach Inbetriebnahme und bei nachgewiesenermaßen hygienisch einwandfreiem problemlosen Betrieb bei den u.a. im Arbeitsblatt DVGW W 551 vorgegebenen Temperaturen von 60-55°C ist beabsichtigt, die Temperatur auf 50 °C in der Zirkulation abzusenken.

Das Modellprojekt berührt unmittelbar einen bisher im Bereich der Trinkwassererwärmung bestehenden Widerspruch zwischen Anforderungen von Energieeinsparung und –effizienz (mit möglichst niedrigen Temperaturen) auf der einen, und den hygienischen (möglichst hohen) Temperaturanforderungen auf der anderen Seite. Der Einsatz in neuen oder erfolgreich sanierten Anlagen ist auch im Sinne der Schonung von Energieressourcen umweltpolitisch interessant.

Anforderungen der Trinkwasserverordnung 2001

Die Trinkwasserverordnung legt fest, dass der Betreiber (Usl im Sinne der TrinkwV 2001) einer Trinkwasserinstallation kein Trinkwasser abgeben darf, welches Krankheitserreger in Konzentrationen enthält, die eine Schädigung der menschlichen Gesundheit besorgen lassen (§§ 4, 5 TrinkwV 2001).

Es müssen mindestens die allgemein anerkannten Regeln der Technik eingehalten werden. Daneben sind insbesondere auch z.B. die allgemeinen Verkehrssicherungspflichten zu beachten.

Regelwerk zu Legionellen

Die bestehenden Regelwerke, insbesondere die Arbeitsblätter DVGW W551 und W553 zeigen einen sicheren Weg auf, mit dem bei entsprechender Umsetzung bei Planung, Bau und Betrieb ein dauerhafter hygienisch sicherer Betrieb möglich ist (Strukturqualität).

Die Einhaltung dieser Rahmenbedingungen ist zudem durch wiederkehrende orientierende Untersuchungen im jährlichen bzw. im dreijährlichen Abstand zu belegen (Ergebnisqualität). Bei Abweichung vom Arbeitsblatt DVGW W 551 (Öffnungsklausel) ist der hygienisch sichere Betrieb durch intensivierte mikrobiologische Untersuchungen nachzuweisen.

Wirkprinzip

Das Wirkprinzip des EXERGENE®-Filtrationssystems besteht darin, mittels einer Kombination verschiedener Armaturen, Apparaten und Sensoren, durch Einbau im Bypass einen variablen Teilstrom

von ca. 30% des Zirkulationsvolumenstroms über ein rückspülbares UF-Modul von Legionellen, anderen Bakterien bis hin zu Schwebstoffen zu befreien.

Da die Zirkulation und das Ultrafiltrationssystem im Dauerbetrieb gefahren werden, sollte es somit im Laufe der Zeit zu einer Abreicherung der genannten partikelartigen Inhaltsstoffe des Trinkwassers und insbesondere zu einem hochgradigen Rückhalt der Legionellen kommen. Durch Rückspülung wird der Filter regelmäßig von den abgeschiedenen „Inhaltsstoffen“ befreit, wobei diese mittels Rückspülung mit Zirkulationswasser an das Abwasser abgegeben werden. Eine sichere Trennung zwischen Abwasser und Trinkwasser ist durch einen freien Auslauf nach a.a.R.d.T. am Spülwasserablauf gegeben.

Technisches Regelwerk zur Ultrafiltration in der Trinkwasserinstallation

Das technische Regelwerk (DIN, DVGW oder VDI) kennt für die häusliche Trinkwasserinstallation bisher keine Ultrafiltrationsanlage mit rückspülbaren Filtrationsmodulen. So sieht das Regelwerk (DIN EN 1717 / DIN 1988-100) ganz allgemein lediglich vor, dass ein (passiver) Filter < 80 µm Filterdurchlass nur mittels eines freien Auslaufes abgesichert gegen Rücksaugen oder Rückdrücken an die Trinkwasserleitung angeschlossen werden darf.

Im Zusammenhang mit dem o.a. Anwendungszweck ist hier kein freier Auslauf möglich.

„Leitplanken“ für das Modellprojekt

Wenn ein bewohntes Gebäude mittels dieser neuartigen Technik ausgestattet werden soll, muss das Sicherheitsniveau der Mieter bzw. Bewohner gleich hoch oder höher sein, denn der Schutz der Gesundheit ist immer ein höherrangiges Ziel als das Energiesparen.

Die Exergene® Technologie und das zugehörige Konzept stellen aus hygienischer Sicht eine innovative Entwicklung dar, die über die allgemein anerkannten Regeln der Technik hinausgehen und die Möglichkeit bieten weitere Maßnahmen zur Verbesserung der hygienischen Verhältnisse im Trinkwasser zu ergreifen.

In dem Modellprojekt sollen weitere Praxiserfahrungen bei abgesenkten Warmwassertemperaturen unter bestimmten Bedingungen und wissenschaftlicher Begleitung sowie Sicherstellung der Trinkwasserhygiene gesammelt werden. Es ist geplant die Ergebnisse in das technische Regelwerk einfließen zu lassen.

Durch die nachfolgend aufgeführten Anforderungen („Leitplanken“) soll ein hinreichendes Sicherheitsniveau in der Trinkwasserinstallation erreicht werden, wenn im laufenden Betrieb zusätzlich die Temperatur auf 50 °C abgesenkt wird.

1. Als Modellprojekt ist der Einbau in Gebäuden mit gewerblicher und öffentlicher Tätigkeit unter den nachfolgend genannten Anforderungen („Leitplanken“) denkbar. Aus heutiger Sicht ist der Einbau eines Ultrafiltrationssystems zur Temperaturabsenkung in Gebäuden mit besonders vulnerablen Personenkreis (Medizinische Einrichtungen wie z.B. Krankenhaus, Altenpflegeheim, Kindertagesstätten) nicht zulässig. Eine Anpassung dieses Ausschlusses kann durch die Gesundheitsbehörden bei Vorlage hinreichender neuer Erkenntnisse, wie sie in diesem Projekt gewonnen werden sollen, vorgenommen werden.
2. Zum jetzigen Zeitpunkt sollen die Themen Energieeinsparung und Sanierung getrennt behandelt werden, d.h. im Falle von hygienisch unzureichenden Zuständen hat eine Sanierung Vorrang. Der Einbau zur Absicherung einer Temperaturabsenkung erfolgt nur in Gebäude, die bereits vorab die Anforderungen der TrinkwV und der a.a.R.d.T erfüllen (z.B. hydraulischer Abgleich usw.).
3. Dies wird zuvor durch eine technische Bestandsaufnahme und Dokumentation belegt.
4. Es erfolgt eine hygienische Bestandsaufnahme: multidimensionale Analytik, Untersuchungsumfang und regelmäßige Kontrolle gemäß abgestimmten Probenzugplan (engmaschig, zunächst innerhalb von drei Monaten nach Abstimmung mit dem Gesundheitsamt).
5. Die Filterstandzeit wird zunächst auf 2 Jahre begrenzt.
6. Es erfolgt eine dokumentierte Filterrückspülung alle 2 Stunden (Minimierung der Bakterienlast).

7. Die Funktion der UF-Anlage und die Integrität der Filtermodule werden permanent online überwacht (Durchfluss, Temperatur usw.). Fehlermeldungen werden unmittelbar auf das Mobiltelefon des dafür Verantwortlichen übermittelt.
8. Bei gravierenden Fehlfunktionen wird die Anlage unmittelbar online außer Betrieb gesetzt. Eine Reaktionszeit vor Ort von ≤ 24 Stunden wird, falls z.B. im Störfall eine Temperaturerhöhung eingestellt werden muss, sichergestellt.
9. Temperaturabsenkung in der Zirkulation auf minimal $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ (in Abweichung von DVGW W 551, aber noch nach DIN 1988-200 bei erhöhtem Wasseraustausch zulässig) gemäß Versuchsplan nach frühestens 2 bis 4 Wochen nach Bestandsaufnahme mit Beprobung und anschließendem Einsatz der UF-Anlage, wenn die Laborbefunde einwandfrei sind, d.h. die Legionellenergebnisse gemäß TrinkwV 0 KBE/100 ml nicht überschreiten.
10. „Abbruchkriterium“ - Im Falle einer Überschreitung des technischen Maßnahmenwertes (Legionella spec. > 100 KBE/100ml) an einer Probenahmestelle wird die Absenkung abgebrochen und die Mindesttemperatur nach TrinkwV bzw. DVGW W 551 von $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ am Ausgang des Warmwasserbereiters bzw. $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ im Zirkulationsrücklauf eingestellt.
Die Ursachen werden geklärt und das Problem entsprechend der TrinkwV beseitigt. Die Frage ob und wie eine Weiterführung der Temperaturabsenkung möglich ist, wird im gemeinsamen Gespräch mit dem Gesundheitsamt abgestimmt.
11. „Plan B“ – Im Falle von Komplikationen soll die Anlage nicht nur $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ in der Zirkulation dauerhaft halten können, sondern auch eine thermische Desinfektion der Trinkwasserinstallation bei $\geq 70\text{ }^{\circ}\text{C}$ ermöglichen (z.B. „Backup-Therme“ oder gute Anschlussmöglichkeiten für eine mobile Heizanlage).
12. Besonderes Augenmerk ist auf die peripheren Leitungen und das Nutzerverhalten zu legen. Daher sind insbesondere durch Laboruntersuchungen gemäß abgestimmtem Probenzugplan die Stränge zu erfassen, dann aber jeweils an peripheren Zapfstellen mittels Legionellenkulturen nach TrinkwV zu untersuchen. Weitere Untersuchungen mit anderen Methoden sind ergänzend zum Zwecke der Forschung möglich.
13. Es sind verbindliche Regelungen zu treffen, wie im Falle von Zimmer- bzw. Wohnungsleerstand ein bestimmungsgemäßer Betrieb sichergestellt wird.
14. Aktive Information der Betreiber, aller Bewohner, Mieter und ggf. Eigentümer über Legionellen und diesen speziellen Modellversuch mit dem Hinweis, sich bei Auffälligkeiten umgehend zu melden.
15. Vom Betreiber (Usl) ist für die ordnungsgemäße Durchführung des Modellvorhabens ein „verantwortlicher Projektleiter“ zu benennen. Dieser übernimmt die Überwachung der Schutzfunktion gesetzlicher Regelungen, insbesondere die Regelungen der TrinkwV, im öffentlich-rechtlichen Sinne und ist in allen technischen, hygienischen und organisatorischen Fragen der zentrale Ansprechpartner des Gesundheitsamtes und der Mieter bzw. Bewohner des Gebäudes.
16. Beginn und Abschluss des Modellvorhabens sind dem zuständigen Gesundheitsamt mit Angabe des verantwortlichen Projektleiters schriftlich anzuzeigen. Ein Wechsel des Projektleiters ist anzuzeigen. Das Gesundheitsamt wird fortlaufend über alle relevanten Ergebnisse informiert.

Fazit

Voraussetzung für den Einsatz des Ultrafiltrationssystems mit anschließender Temperaturabsenkung ist die Einhaltung dieser 16 Leitplanken, der Angaben in den vorgelegten ergänzenden Dokumenten (Prinzipskizze, technische Beschreibung usw.) sowie des im jeweiligen Einzelfall abgestimmten Vorgehens (z.B. „Probenzugplan“). Dann erscheint das Sicherheitsniveau durch die besonderen technischen und betriebstechnischen Vorkehrungen sowie das vermehrte und zugleich redundante Hygienemonitoring (Koloniezahlbestimmung, Durchflusszytometrie usw.) sogar höher, als dies durch die reguläre Untersuchung gemäß TrinkwV im jährlichen Abstand gegeben ist.

Das Prognose-Intervall für einen Legionellen-sicheren Betrieb der häuslichen Trinkwasserinstallation wird hier bei der Temperaturabsenkung auf zunächst 3 Monate (anstelle von 1 Jahr) verkürzt.

Über eine Fortsetzung der Temperaturabsenkung wird nach Abschluss des Modellprojektes im Einvernehmen aller Beteiligten entschieden.

Mit freundlichen Grüßen

gez. Dr. M. Hippelein

gez. Dr. med. B. Christiansen

8.4 Abbildungen zu Modellobjekten

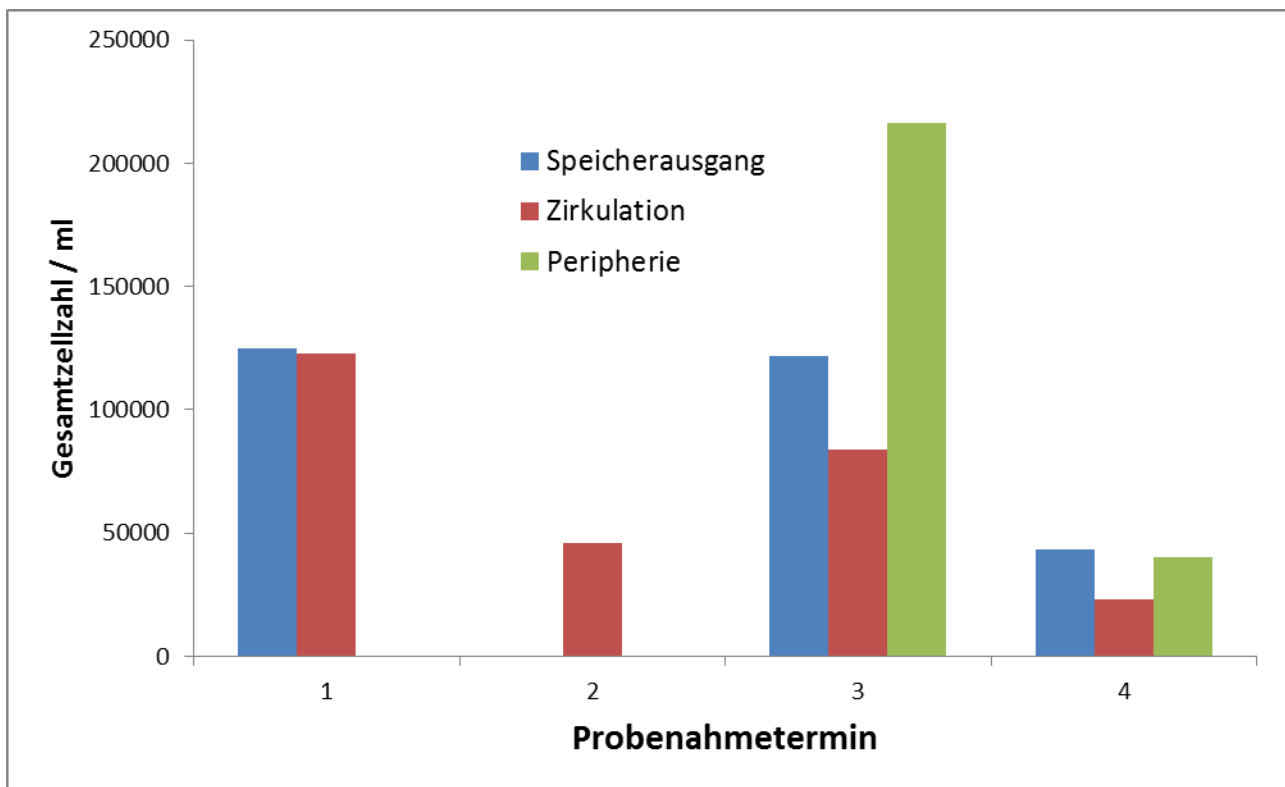


Abbildung 38: Gesamtzellzahlen im Modellobjekt 1, Hamburg, Kochquartier Hotel

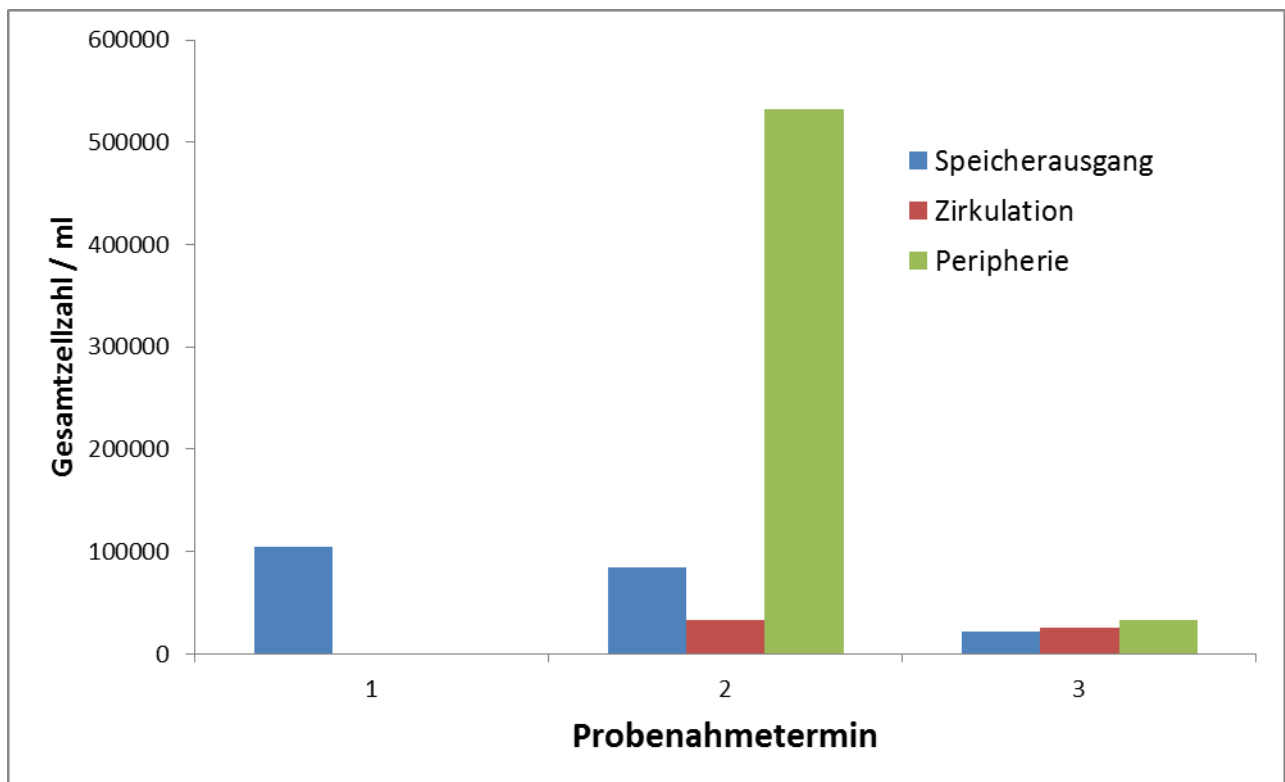


Abbildung 39: Gesamtzellzahlen im Modellobjekt 2, Hamburg, Kochquartier Mietgebäude

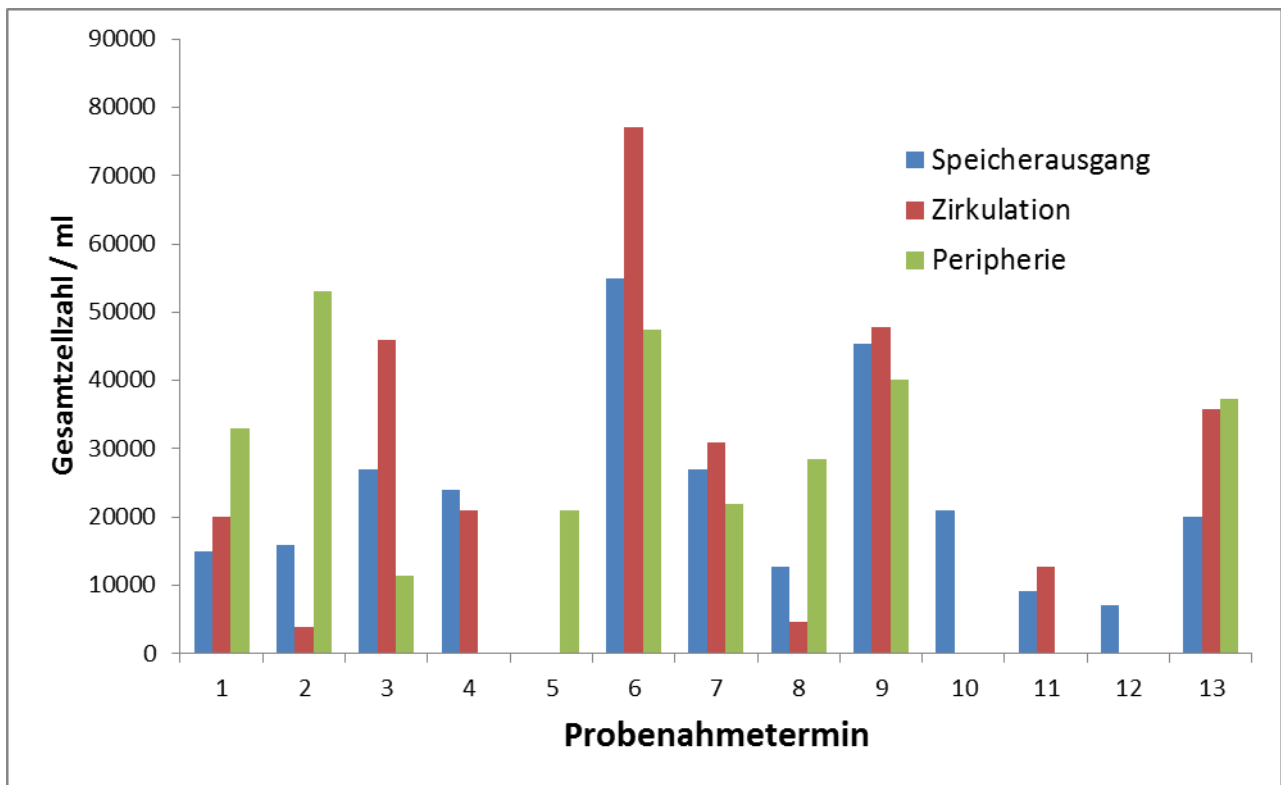


Abbildung 40: Gesamtzellzahlen im Modellobjekt 3, Braunschweig, Arbeitsstätte

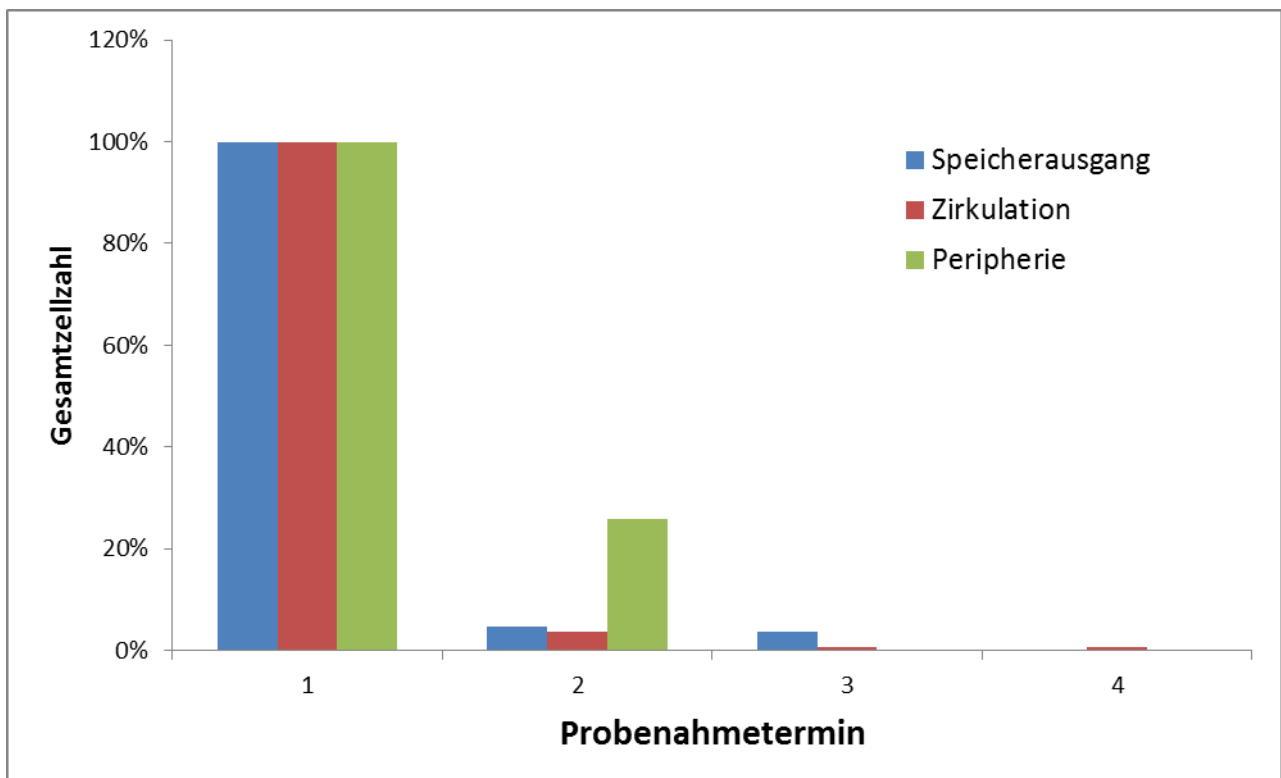


Abbildung 41: Relative Gesamtzellzahlen im Modellobjekt 5, Juist, Hotel

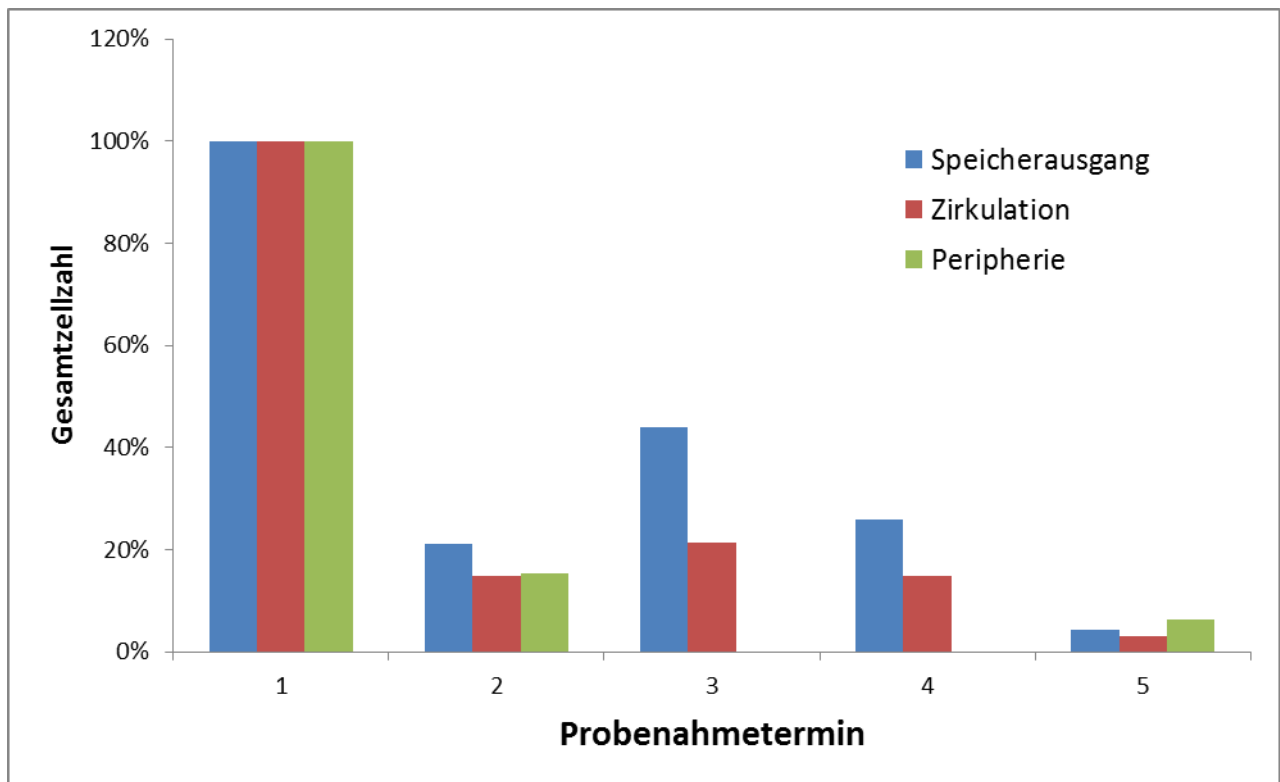


Abbildung 42: Relative Gesamtzellzahlen im Modellobjekt 6, Clausthal-Zellerfeld, Arbeitsstätte

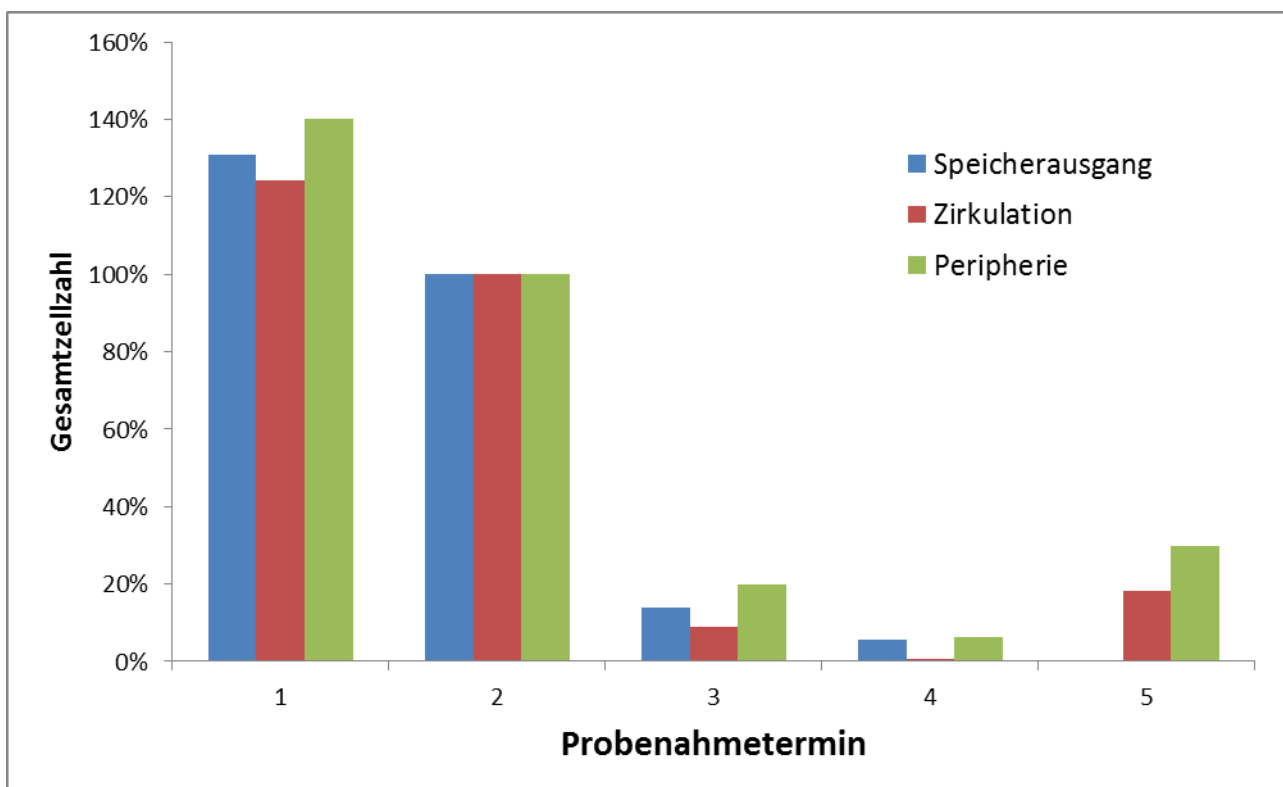


Abbildung 43: Relative Gesamtzellzahlen im Modellobjekt 7, Hannover, Mietgebäude I

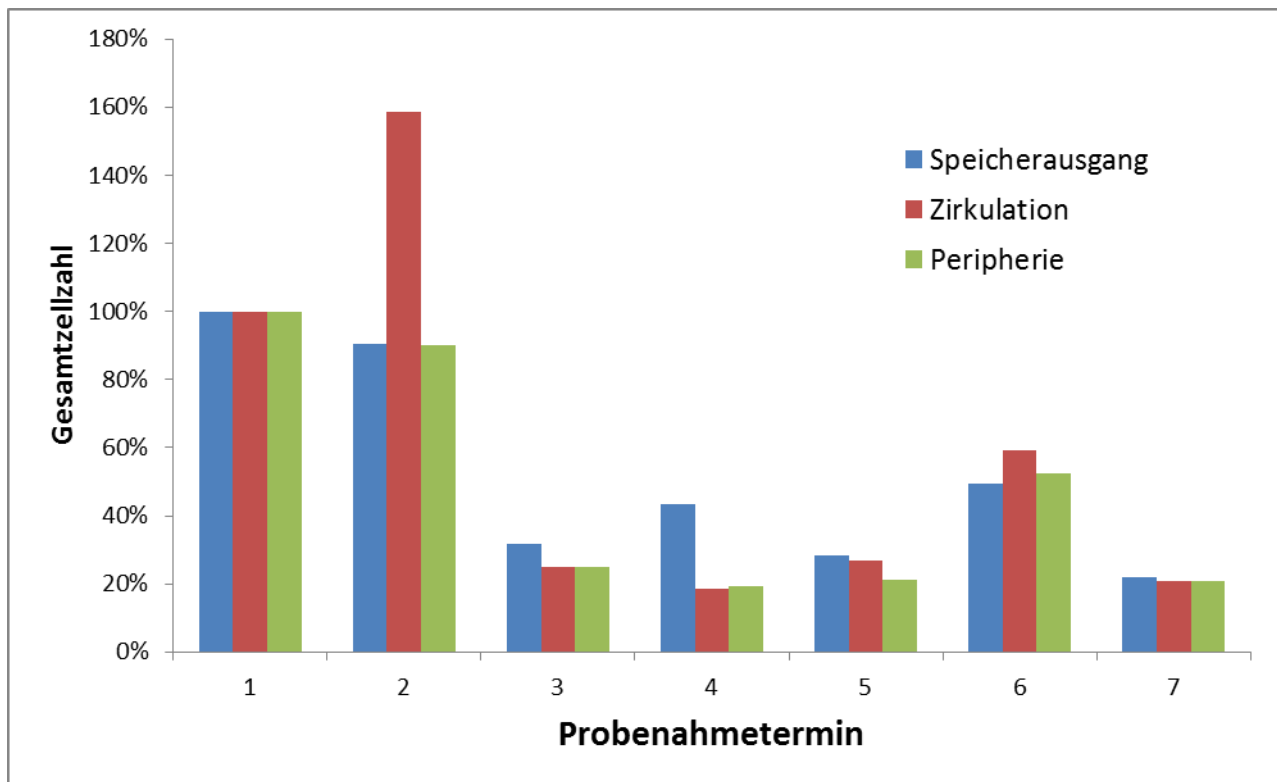


Abbildung 44: Relative Gesamtzellzahlen im Modellobjekt 8, Hannover, Mietgebäude II

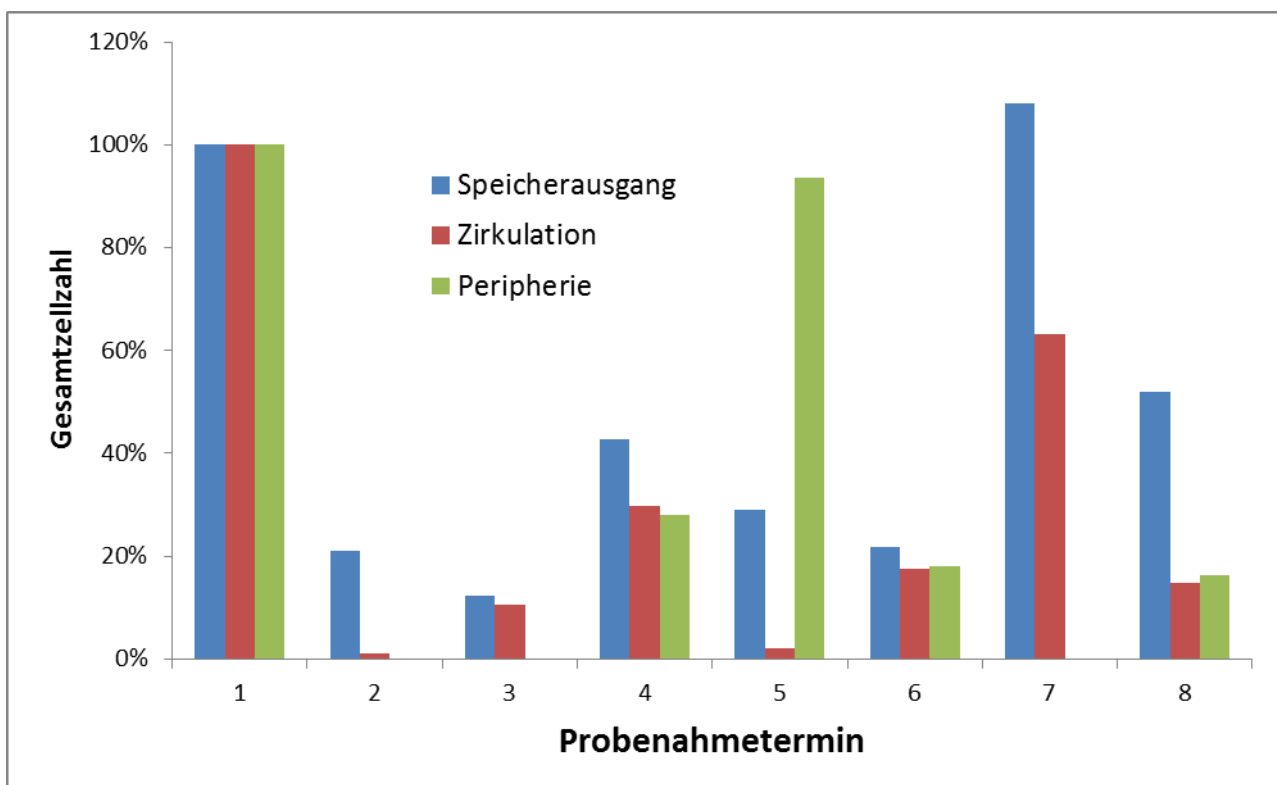


Abbildung 45: Relative Gesamtzellzahlen im Modellobjekt 10, Hildesheim, Mietgebäude

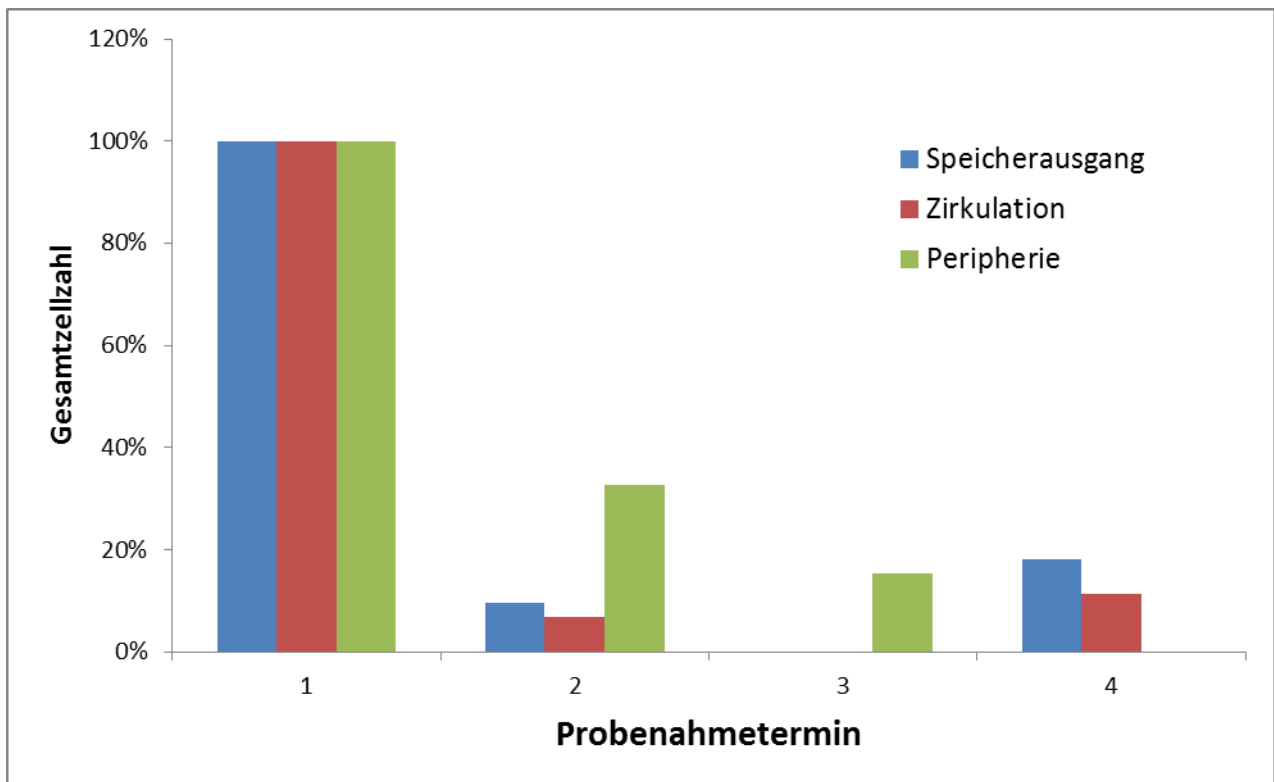


Abbildung 46: Relative Gesamtzellzahlen im Modellobjekt 11, Berlin, Mietgebäude I

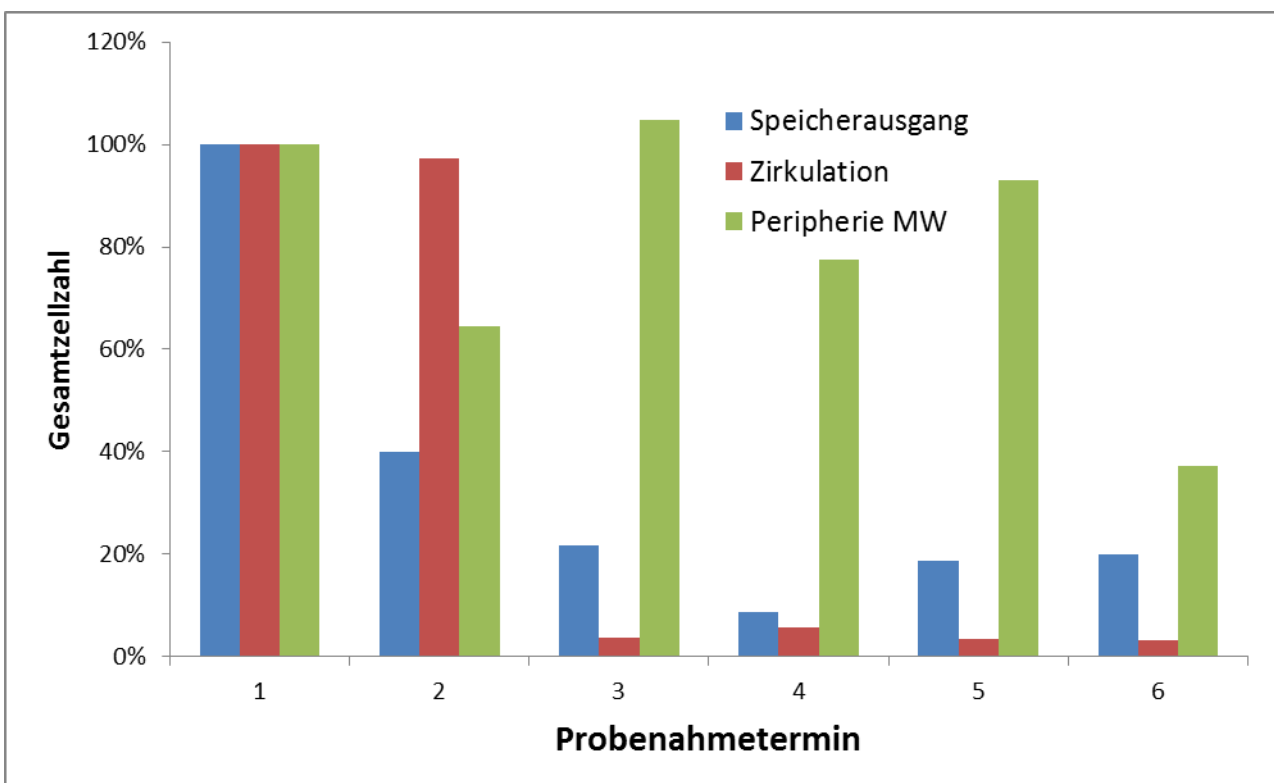


Abbildung 47: Relative Gesamtzellzahlen im Modellobjekt 13, Kiel, Hotel