

# W 270 – Ein Beitrag zur europäischen Produktprüfung

Georg-Joachim Tuschewitzki

## Trinkwasser, Mikrobiologische Werkstoffuntersuchung, Biomassevolumen, ATP, Biofilm, DVGW W 270

Werkstoffe, die sich in Kontakt mit Trinkwasser befinden, können von einem unerwünschten Oberflächenbewuchs von Mikroorganismen besiedelt werden. Daher besteht Bedarf nach einem Untersuchungsverfahren. Im Rahmen eines europäischen Projektes mit sechs Laboratorien wurde eine harmonisierte semistatische Testmethode auf der Basis der Messung von ATP untersucht. Es stellte sich heraus, dass die Ergebnisse nicht zufriedenstellend übereinstimmen und bezüglich der Testwasserqualität, der ATP-Analytik und der Biomasse-Ablösung weiterer Forschungsbedarf besteht.

Zwischenzeitlich wurden weitere Untersuchungen mit dem Verfahren nach DVGW W 270 durchgeführt. Hierbei wurden gute Ergebnisse erzielt. Derzeit werden weitere Untersuchungen zur Abstimmung des Verfahrens in vier Laboratorien vorgenommen.

Construction products in contact with drinking water are able to promote undesirable microbial growth. Therefore a test method is needed. Six laboratories from the EU developed a semi-static test with regular water replacement and the analysis of ATP. It was recognized, that the standardization of the method was not satisfying. Test water quality, ATP analysis and biomass detachment need further standardisation and pass-fail criteria have to be established.

As an alternative to the ATP-method, in Germany an optimized method for the assessment of enhanced microbial growth is developed on the basis of the DVGW W 270 method: easy handling, reduced testing time, reproducible results are some of the characteristics of the test method.

## 1. Einführung

Aus hygienisch-mikrobiologischer Sicht müssen Oberflächen, die in Kontakt mit Trinkwasser stehen, so beschaffen sein, dass das Wachstum und die Vermehrung von Krankheitserregern und von anderen Mikroorganismen nicht nennenswert gefördert werden.

Nach TrinkwV2001, § 17 dürfen nur solche Werkstoffe und Materialien für die Neuerrichtung oder die Instandhaltung von Anlagen für die Aufbereitung oder die Verteilung von Trinkwasser verwendet werden, die in Kontakt mit Wasser Stoffe nicht in Konzentrationen abgeben, die höher sind, als nach den allgemein anerkannten Regeln der Technik unvermeidbar, oder welche den nach dieser Verordnung vorgesehenen Schutz der menschlichen Gesundheit unmittelbar oder mittelbar mindern [1].

In der Literatur sind viele Beispiele für Praxiszwischenfälle verfügbar, die Beispiel für die bakterielle Kontamination von Trinkwasser durch Werkstoffe liefern, wobei es sich um apathogene Bakterien wie auch um fakultativ pathogene Bakterien wie *Pseudomonas aeruginosa* und *Legionella pneumophila* handeln kann [2; 3].

## 2. Biofilmentwicklung: Besiedlung, Bewuchsbildung

In hygienisch einwandfreiem Trinkwasser können und dürfen auch Bakterien vorkommen. Viele Trinkwässer sind so nährstoffarm, dass die Mikroorganismen sich darin nur wenig vermehren können und in Hungerformen übergehen. Dennoch können sie, je nach physikochemischen Eigenschaften der Oberflächen, an diese adsorbieren. Auf allen Oberflächen mit Kontakt zu Trinkwasser sind daher einzelne oder auch mehrere adsorbierte Bakterien zu finden, die dort eine mehr oder weniger festanhaftende Besiedlung bilden und die im allgemeinen die hygienische Beschaffenheit des Trinkwassers zunächst nicht beeinträchtigen.

Eine qualitative Beeinträchtigung der Trinkwasserbeschaffenheit wird sich erst dann ergeben, wenn diese Mikroorganismen, je nach Nährstoffaufnahme, aus dem Wasser oder dem Werkstoff, wachsen und sich vermehren, sodass von spärlichen, nur im Mikroskop zu erkennenden Mikrokolonien bis hin zu überquellenden mit dem bloßen Auge zu erkennenden Schleimschichten aus Bakterien, Pilzen und Protozoen unterschiedliche Besiedlungsdichten beobachtet werden können (Biofilmentwicklung). Der Bewuchs macht eine Entwicklung von mehreren Wochen bis Monaten durch, wobei ein großer Teil der zunächst physiologisch aktiven Bakterien abstirbt, aber als Biomasse zunächst noch erhalten

Privatdozent Dr. Georg-Joachim Tuschewitzki, Hygiene-Institut des Ruhrgebiets, Rotthausener Straße 19, D-45879 Gelsenkirchen.

**Tabelle 1.** Vergleich der Untersuchungsverfahren (DVGW W 270, CPDW-Projekt).

	W 270	CPDW-Projekt
Probengröße	800 cm <sup>2</sup>	2 × (3 × 50 cm <sup>2</sup> )
Testwasser	Grundwasser im Durchfluss	Trinkwasser supplementiert Austausch 1 × pro Woche
Beimpfung	Entfällt	Flusswasser
Testeinrichtung	100 Liter	1 Liter
Bebrütung	ca. 9 bis 13 °C	30 °C
Dauer	2 × 3 Monat	2, 3, 4 Monate
Messung	Biomassevolumen <sup>2</sup>	ATP (Werkstoff, Wasser)
Grenzwert	≤ 0,1 ml	
Kontrolle positiv	> 6 ml	
Kontrolle negativ	≤ 0,1 ml	

<sup>2</sup> Biomassevolumen: Bakterien, Pilze, Protozoen (lebend und tot, aktiv und inaktiv) sowie von Mikroorganismen ausgeschiedene Substanzen (Polysaccharide)

bleibt, bevor Protozoen und Pilze mit der Zersetzung beginnen und u.a. verschiedene Farbpigmente bilden. Die Adsorption von einzelnen Bakterien und die weitere Entstehung einer Besiedlung oder eines flächendeckenden Bewuchses ist ein dynamischer Prozess, der sehr häufig als Entwicklung eines Biofilms beschrieben wurde [4]. Innerhalb dieser Entwicklung entsteht eine sich verändernde Biozönose mit unterschiedlicher Stoffwechselaktivität (Umsatz von ATP oder Sauerstoff).

Teile des instabilen Bewuchses können je nach hydraulischer Beanspruchung vom Werkstoff abgelöst werden und ins Wasser gelangen und dort zu einer Koloniezahlerhöhung führen, die je nach Durchströmung des Behälters, eines Rohres oder einer Armatur bei einer Koloniezahlbestimmung festgestellt werden kann oder bei starker Verdünnung auch nicht auffällt. Die Ablösung des Bewuchses erfolgt überwiegend sehr ungleichmäßig, weshalb gelegentliche stichprobenartige Untersuchungen des Wassers nicht geeignet sind, einen derartigen Bewuchs anzuzeigen.

Um eine nachteilige Beeinflussung des Trinkwassers durch Werkstoffe auszuschließen ist ein praxisrelevantes Prüfverfahren mit mikrobiologischen Untersuchungen zu definieren. Des Weiteren sind eine oder mehrere Grenzen zu definieren, wieviel Besiedlung bzw. Bewuchs (Schleim) auf Werkstoffoberflächen in Kontakt mit Trinkwasser noch toleriert ist – oder auf wieviel Prozent der Kontaktfläche Wasser/Werkstoff wieviel Besiedlung/Bewuchs zulässig ist. Für die Praxis ergibt sich die Frage, ob der Werkstoff für eine Dichtung z.B. in einer Armatur die gleichen mikrobiologischen Qualitätsanforderungen erfüllen muss wie ein Rohrwerkstoff oder ein Behälterauskleidungsmaterial.

### 3. Untersuchungsverfahren

Derzeit werden in Deutschland, Großbritannien, den Niederlanden und Österreich verschiedene mikrobiologische Untersuchungsverfahren zur Testung von Werkstoffen bzw. Produkten in Kontakt mit Trinkwasser eingesetzt [2; 5–9].

Schönen hat in ganz Deutschland langjährige Werkstoffuntersuchungen unter praxisnahen Bedingungen durchgeführt. In einem Durchflusssystem ohne künstliche Animpfung wird nach zwei 3monatigen Inkubationsperioden als wesentliches Kriterium das Biovolumen von einer 800-cm<sup>2</sup>-Fläche nach Abschaben und 24stündiger Sedimentation gemessen [2; 5].

Unabhängig von Schönen hat Colbourne in England ein Testverfahren entwickelt, bei dem der Sauerstoffverbrauch von Mikroorganismen auf den Werkstoffen gemessen wird [6]. Tendenziell lassen sich mit beiden Testsystemen vergleichbare Ergebnisse erzielen, jedoch scheint der Grenzwert in England nicht ganz so streng zu sein. Darüber hinaus sind in England Inhaltsstoffe in Werkstoffen zugelassen, die nach KTW in Deutschland nicht zugelassen sind.

In den letzten Jahren hat van der Kooij bei der KIWA in den Niederlanden ein Testsystem entwickelt bei dem der Aufwuchs als sogenanntes Biofilmbildungspotential über Adenosintri-phosphat (ATP<sup>1</sup>) gemessen wird [7]. Schließlich wurde in Österreich ein Testverfahren auf der Basis von ATP zur Beurteilung von Rohren vorgestellt [8; 9]. Ein kurzer Vergleich der Verfahren ist in [3] enthalten.

Auf europäischer Ebene wurde im Rahmen des EAS (European Approval System) ein Forschungsprojekt „Development of a harmonised test to be used in the European Acceptance Scheme concerning CPDW“ (EVK1-CT2000-00052) in 6 Ländern über zwei Jahre durchgeführt, um zu einem abgestimmten Prüfverfahren zu gelangen. Der Untersuchungsbericht „Assessment of the microbial growth support potential of products in contact with drinking water“ liegt seit Juli 2003 vor [3].

Auf der Grundlage von ATP-Messungen sollten der Testablauf und die Analytik optimiert werden. Hierbei ging es um verschiedene Parameter wie Testdauer (lang oder kurz), Animpfung des Testansatzes, Temperatur (20 °C oder 30 °C), Testwasser (synthetisch oder natürlich), Wasserwechsel (Häufigkeit) usw.

In Tab. 1 sind die wesentlichen Angaben zu den beiden Testverfahren zusammengestellt.

Aus den Untersuchungen und Ergebnissen des CPDW-Projektes wurden folgende Feststellungen abgeleitet [3]: weitere Standardisierung ist nötig für die Analytik von ATP bezüglich der Ablösung der Mikroorganismen von den Werkstoffprüfkörpern und bezüglich des Einflusses abbaubarer Stoffe aus der Laborluft, Gefäßen, Pipetten, Wasser usw.

Der Aufwand für die biochemischen ATP-Messungen ist nicht unerheblich und die Dauer ist mit 16 Wochen nicht wesentlich kürzer als bei W 270 Ausgabe 1990.

Weiterer Untersuchungsbedarf zum CPDW-Projekt besteht insbesondere hinsichtlich der noch nicht festgelegten Kriterien, welche Werte herangezogen werden, ob ein Werkstoff im Trinkwasserbereich eingesetzt werden darf oder nicht.

Zusammengefasst stellte sich die Situation so dar, dass auch nach mehrjährigen intensiven Vergleichsuntersuchungen die Erarbeitung einer europäischen mikrobiologischen

<sup>1</sup> ATP Adenosintri-phosphat energiereiche Verbindung von lebenden aktiven Zellen

Prüfnorm auf der Basis von ATP-Messungen nicht den Durchbruch geschafft hat, sondern, dass weiterer Forschungsbedarf aufgedeckt wurde.

Zwischenzeitlich wurde die Methode nach DVGW W 270 im Rahmen von DVGW-geförderten Projekten einer Überprüfung und weiteren Entwicklung unterzogen. Die Untersuchungen dauern noch an.

Wesentliche Punkte zeichnen sich ab: Verkürzung der Untersuchungsdauer, einfache Handhabung der Untersuchungsmethode, reproduzierbare (Wiederholbarkeit und Genauigkeit) Ergebnisse.

Nach wie vor liegt der hauptsächlichliche Vorteil dieser Methode in der Messung des Volumens der Biomasse, einem sehr robusten, und ohne aufwändige biochemische Verfahren zu messenden, Parameter: lebendige und tote, inaktive und aktive Mikroorganismen wie auch deren Ausscheidungsprodukte (extrazelluläre polymere Substanz, Schleim) werden erfasst. Damit wird nicht nur ein spezielles Signal in einer akuten Situation (Aktivität) erfasst, sondern ein allgemeiner Parameter, der den gesamten vorangegangenen Zeitraum umfasst (integrale statt punktuelle Messung).

Eine Verbesserung der Ablesung des Biovolumens durch Zentrifugation statt der bisherigen Sedimentation wird derzeit untersucht und ist nach Beendigung der Inkubation mit einer Verkürzung des Zeitraums bis zum Vorliegen der Ergebnisse verbunden.

Eine weitere Optimierung erfolgt hinsichtlich der Expositionszeit. Die Kombination mehrerer paralleler Ansätze über 1, 2 und 3 Monate Prüfdauer liefert mehr Information über den Wachstumsverlauf und das Verhalten eines Werkstoffes hinsichtlich der Verfügbarkeit von Nährstoffen. Diese differenzierte Aussage ist insbesondere für den Produktentwickler von Vorteil, da eine erste Einschätzung des Wachstums bereits nach 4 Wochen erfolgen kann und nach weiteren 4 Wochen anhand der Entwicklung des Wachstums (Anstieg, Abnahme oder gleichbleibend) die Verfügbarkeit von Nährstoffen angezeigt wird.

Die ersten Ergebnisse zeigten bei detaillierter Abstimmung der Versuchsbedingungen eine gute Übereinstimmung der Ergebnisse, sodass derzeit mit vier Laboratorien die weitere Anwendbarkeit der Methode überprüft wird. Bei erfolgreichem Verlauf ist die Erweiterung auf europäischer Ebene geplant.

Insgesamt gesehen bleibt festzuhalten, dass Bakterien, Pilze und Protozoen auf trinkwasserberührten Oberflächen auf verschiedene Weise gemessen werden können. Für die praktischen Zwecke einer hygienisch einwandfreien Trinkwasserversorgung muss eine hinreichend genaue und zuverlässige und möglichst einfache Methode festgelegt werden. Dies muss, wie bei den übrigen mikrobiologischen Untersuchungsverfahren für Trinkwasser nicht in jedem Fall die empfindlichste Methode sein. In diesem Zusammenhang zeigten sich bei der ATP-Methode unerwartete Schwierigkeiten und der Bedarf Details der Methode weiter abzuklären. Demgegenüber ist die Methode nach DVGW W 270 einfach und robust bei hinreichender Empfindlichkeit. Sie weist darüber hinaus Entwicklungspotential auf, sich im europäischen Umfeld zu bewähren.

## Literatur

- [1] N.N.: Verordnung zur Novellierung der Trinkwasserverordnung vom 21. Mai 2001. Bundesgesetzblatt I, S. 959–980.
- [2] *Schoenen, D. und Schöler, H. F.*: Trinkwasser und Werkstoffe – Praxisbeobachtungen und Untersuchungsverfahren. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag, 1983.
- [3] *Van der Kooij, D.; Albrechtsen, H.-J.; Corfitzen, C. B.; Ashworth, J.; Parry, I.; Enkiri, F.; Hamsch, B.; Hametner, C.; Kloiber, R.; Veenendaal, H. R.; Verhamme, D. and Hoekstra, E. J.*: Assessment of the microbial growth support potential of products in contact with drinking water. EU-Report 20832. July 2003.
- [4] *Flemming, H. C.*: Biofilme und Wassertechnologie, Teil 1: Entstehung, Aufbau, Zusammensetzung und Eigenschaften von Biofilmen. GWF-Wasser/Abwasser 132 (1991) Nr. 4, S. 197–207.
- [5] DVGW Arbeitsblatt W 270: Vermehrung von Mikroorganismen auf Materialien für den Trinkwasserbereich, – Prüfung und Bewertung. Hrsg. DVGW Deutscher Verein des Gas- und Wasserfaches e.V. Aug. 1990.
- [6] *Colebourne, J. S. and Brown, D. A.*: Dissolved oxygen utilization as an indicator of total microbial activity on non-metallic materials in contact with potable water. J. Appl. Bacteriol. 47(1979), S. 223–231.
- [7] *van der Kooij, D. and Venendaal, H. R.*: Biomass Production Potential of materials in contact with drinking water: method and practical importance. Water Sci. Technol. Water Supply 1 (2001), S. 39–45.
- [8] Önorm B 5018-1: Prüfung der Verkeimungsneigung von Trinkwasserrohren. Teil 1: Prüfverfahren. Österreichisches Normungsinstitut, 1020 Wien 2002.
- [9] Önorm B 5018-2: Prüfung der Verkeimungsneigung von Trinkwasserrohren. Teil 2: Bewertung. Österreichisches Normungsinstitut, 1020 Wien 2002.