

Inline-Monitoring wasserbürtiger Pathogene

Entwicklung und Implementierung eines Anreicherungs- und Detektionssystems für das Inline-Monitoring von wasserbürtigen Pathogenen in Trink- und Rohwasser

HINTERGRUND

Die Bereitstellung gesundheitlich unbedenklichen, hygienisch einwandfreien Trinkwassers ist eine wesentliche Errungenschaft weit entwickelter Staaten. Bislang fehlen aber zuverlässige, stationär und mobil einsetzbare Schnelldetektions- und -warnsysteme für mikrobiologische Wasserverunreinigungen. Der heute gängige Nachweis bakterieller Indikatorkeime durch Erregeranzucht im Labor ist für eine zeitnahe Alarmierung einer Kontamination mit Krankheitserregern (Bakterien, Viren und Parasiten) nicht geeignet. Ein kontinuierliches Monitoring würde zudem dynamische Kontaminationsprozesse in Leitungssystemen besser abbilden.

An dieser Stelle setzt EDIT mit der Entwicklung, Erprobung und vorbereitenden Implementierung eines kontinuierlichen Aufkonzentrierungssystems mit integrierter molekularbiologischer Multianalytendetektion für wasserbürtige Pathogene und Indikatororganismen (s. Tab. 1) an. Ziel ist ein automatisiertes Gesamtsystem, das den Erfordernissen der Wasserversorger entspricht.

Tab. 1: Liste der Erreger, die im Rahmen von EDIT nachgewiesen werden sollen

Bakterien	Viren	Phagen
- Escherichia coli	- Norovirus GGI-II	- MS2
- Enterococcus faecalis	- Adenovirus 40,41,52	- PhiX174
- Pseudomonas aeruginosa	- Enteroviren	
- Campylobacter jejuni		
- Klebsiella pneumoniae und Klebsiella oxytoca		

ZWISCHENERGEBNISSE

Das Projekt EDIT entwickelt ein Hygiene-Online-Monitoring (HOLM), das sich modular aus verschiedenen Teilsystemen zusammensetzt. Auf die Probenahme folgen drei Ankonzentrationsschritte, eine weitere Probenaufbereitung, die eigentliche Detektion und schließlich die Ergebnisbereitstellung.

Die erste Stufe stellt die Crossflow-Ultrafiltration (CUF) dar, über die Volumina von mehreren hundert bis tausend Litern auf ca. 20 l ankonzentriert werden. Die zweite Ankonzentrierungsstufe



Abb. 1: Inbetriebnahme der kontinuierlichen Crossflow-Ultrafiltration. Foto: Daniel Karthe

unterscheidet sich je nach Trübung der Probe. Für Rohwasser wird eine monolithische Affinitätsfiltration (MAF) eingesetzt, welche die Trübung weitgehend beseitigt und die 20 l-Probe auf 20 ml ankonzentriert. Für Trinkwasser, das praktisch keine Trübung aufweist, kommt der bereits existierende Munich Microorganism-Concentrator (MMC3) zum Einsatz, der eine Ultrafiltration mit einer monolithischen Affinitätsfiltration verbindet und Endvolumina von ca. 1 ml erreicht. Die dritte Ankonzentrierungsstufe bildet ein automatisiertes Lab-on-Chip-System (s. Abb. 3 und 4), das mittels einer Freifluss-Elektrophorese Erreger aus der Flüssigkeit extrahiert und an einer Hydrogelfront so ankonzentriert, dass das Volumen auf ca. 10 µl reduziert werden kann. Im selben Mikrochip erfolgt anschließend eine Extraktion und Aufreinigung der Nukleinsäuren. Anschließend werden die Extrakte an die automatisierte Mikroarray-Analyseplattform (MCR3) übergeben, wo nach einer Amplifikation die Identifizierung der RNA/DNA-Extrakte erfolgt. Da nur von lebenden Organismen ein Infektionsrisiko ausgeht, wird zusätzlich eine Lebend-Tot-Unterscheidung implementiert.

Über eine eigens entwickelte Smartphone- und Tablet-taugliche App werden Informationen zur Probe, Probenahme sowie eine Vielzahl von Betriebsparametern erfasst. Diese Daten sollen nicht nur eine umfassende Dokumentation ermöglichen, sondern im



Abb. 2: Pilotanlage zur kontinuierlichen Crossflow-Ultrafiltration im Berliner Wasserwerk Friedrichshagen. Foto: Daniel Karthe

Falle einer Fehlbedienung oder eines Defektes die Fehlersuche erleichtern.

Die CUF-Anlage für die erste Ankonzentrierung von Roh- und Trinkwasser wurde im ersten Projektabschnitt komplett aufgebaut und im Sommer 2014 bei den Berliner Wasserbetrieben im Probetrieb getestet (s. Abb. 1 und 2), um schnellstmöglich die Erfordernisse der Wasserbetriebe in die Fertigstellung des Endgerätes einfließen lassen zu können. Eine erste Erprobung der übrigen Teilsysteme erfolgte im Rahmen von Funktionstests im Labor.

AUSBLICK

Bislang wurden in EDIT die Systemkomponenten eines HOLM entwickelt. Ziel ist es, den Workflow durch Schnittstellen zwischen den Teilsystemen so weit wie möglich zu automatisieren. Dies bedingt vorab umfassende Funktionsprüfungen und zum Teil auch Anpassungen der Systemkomponenten. Schließlich sollen unter praxisnahen Bedingungen Funktionstests des Gesamtsystems durchgeführt werden. Hierzu sind neben einem versorgerseitigen Routineeinsatz auch kontrollierte Versuche auf einer speziellen Teststrecke der Berliner Wasserbetriebe vorgesehen.

Perspektivisch besteht für ein HOLM sowohl in Deutschland wie auch international ein erheblicher Bedarf, da Umweltveränderungen, soziodemografische Trends und ein vermehrtes Auftreten hochresistenter Krankheitserreger neue Herausforderungen für die Wasserhygiene darstellen. Daher wird die Systementwicklung durch Begleitforschung zu den Auswirkungen des Klimawandels sowie des demografischen Wandels auf die Wasserhygiene in Deutschland zur besseren Einschätzung der Einflüsse/Gefährdung ergänzt. Hierzu sollen im Projektverlauf Kurzexperten fertiggestellt werden.

So soll das EDIT-Projekt Wasserversorger in die Lage versetzen, frühzeitig geeignete Maßnahmen zur Sicherstellung der Trinkwasserhygiene zu treffen, um auch zukünftig Trinkwasser von höchster Qualität an den Verbraucher liefern zu können.



Abb. 3: Mikrochip des Lab-on-chip-Systems. Foto: Gregory Dame

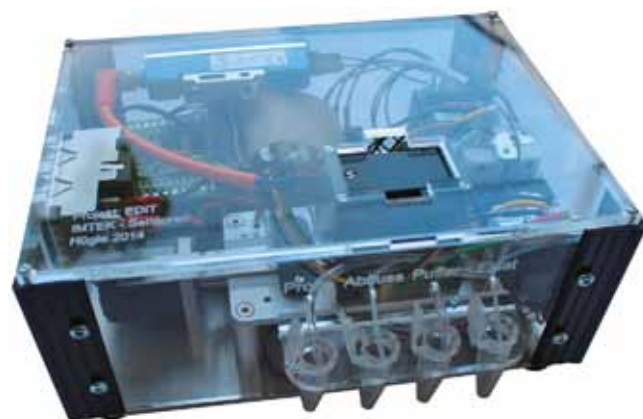


Abb. 4: Automatisiertes Lab-on-chip-Gesamtsystem. Foto: Matthias Hügler

KONTAKT

Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung (UFZ)
Department Aquatische Ökosystemanalyse und Management
Brückstraße 3a | 39114 Magdeburg

Dr. Daniel Karthe
Tel.: +49 391 810 9104
daniel.karthe@ufz.de

Albert-Ludwigs-Universität Freiburg
Institut für Mikrosystemtechnik (IMTEK)
Georges-Köhler-Allee 103 | 79110 Freiburg

Dr. Gregory Dame
Tel.: +49 761 203 7267
dame@imtek.de

www.ufz.de/index.php?de=32485

Projektlaufzeit: 06/2013 – 05/2016