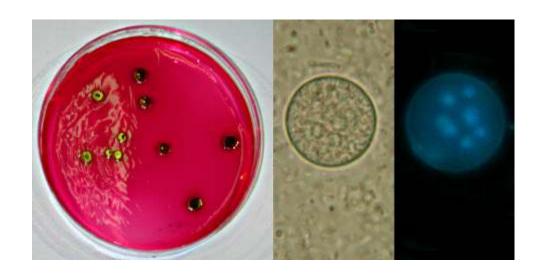
Zur Retention ausgewählter Organismen (Viren, Bakterien, Niedere Pilze und eucaryontische Parasiten) durch den Filter NFP Premium (NFP 2,0)

Eine Untersuchung für die Fa. Carbonit Filtertechnik GmbH, Dambeck/Altmark



Abschlussbericht und beratende Stellungnahme

Vorgelegt von

Prof. Dr. Rolf Mannesmann (wissenschaftliche Leitung und Projektführung) Dipl.-Biol. Stefan Rohlfing (wissenschaftliche Betreuung und Supervision) Dipl.-Biol. Christian Fuchs (wissenschaftliche Betreuung und Supervision)

Universität Bielefeld, Fakultät für Biologie Januar 2002

1 Vorbemerkungen und Ziel der Untersuchungen

Auf der Basis des im Angebot vom 05.04.01 aufgeführten Untersuchungsrahmens und - Umfangs wurde das Retentionsvermögen des Filtertyps NFP Premium (NFP 2,0) der Fa. Carbonit gegenüber 7 Bakterienspezies, 3 Niederen Pilzen (Hefen), 1 Bakteriophagen und 8 eucaryontischen Parasiten untersucht (s. Tab 1). Soweit möglich wurden definierte Testorganismen verwendet, die über kommerzielle Anbieter zu beziehen sind. Die Auswahl der Organismen erfolgte in Absprache mit dem Auftraggeber unter Berücksichtigung verschiedener Kriterien. Von entscheidender Bedeutung waren hierbei humanmedizinische Aspekte und der Einsatzbereich des Filters.

Ziel der Untersuchungen war es, die Filtrationseigenschaften des verwendeten Filtertyps (NFP Premium (NFP 2,0)) gegenüber den in Tab. 1 aufgelisteten wassergängigen Organismen zu überprüfen. Vereinbarungsgemäß wurde der verwendete Filter über einen Zeitraum von 14 Tagen regelmäßig mit dem jeweiligen Testorganismus belastet und das Filtrat überprüft. Eine detaillierte Beschreibung des Versuchsaufbaus und der Durchführung sowie der verwendeten Materialien erfolgt in Kap. 2.

Tabelle 1: Auflistung der eingesetzten Testorganismen

Organismengruppe		Spezies	Herkunft / Bezugsquelle	Kurzbeschreibung
	Viren	Phage <i>U3</i>	DSMZ No. 8986 *)	Virus der Bakterien (<i>E.coli</i>) befällt, Beispiel für Partikel in Virusgröße
		Staphylococcus aureus	DSMZ No. 1104 *)	weltweit verbreiteter Krankheitserreger mit hoher Pathogenität und Antibiotikaresistenz, kann einige Zeit im Freiland überleben
		Stapylococcus haemolyticus	DSMZ No. 20263 *)	Potentieller Krankheitserreger mit hoher Hygienerelevanz
Procaryonten		Enterococcus faecalis	DSMZ No. 2570 *)	Anzeiger für fäkale Verunreinigungen, Krankheitserreger
und Viren	Bakterien	Enterobacter cloacae	DSMZ No. 6234 *)	Typischer Abwasseranzeiger
una viren		Escherichia coli	DSMZ No. 1103 *)	Anzeiger für fäkale Verunreinigungen, Krankheitserreger
		Pseudomonas aeruginosa	DSMZ No. 1117 *)	humanmedizinisch bedeutendste <i>Pseudomonas</i> -Art, weltweit verbreiteter Krankheitserreger
		Bacillus subtilis	DSMZ No. 10 *)	für pathogene <i>Bacillus</i> -Arten (wie z.B. <i>Bacillus anthracis</i> = Milzbranderreger) eingesetzt
		Candida albicans	DSMZ No. 1386 *)	Weltweit verbreiteter pathogener Hefepilz, in Badewasser, Krankenhäusern etc.
	Pilze (Hefen)	Rhodotorula mucilaginosa (rubra)	DSMZ No. 70403 *)	Weltweit verbreiteter Krankheitserreger
		Saccharomyces cerevisae	DSMZ No. 1333 *)	apathogene Hefe, die in der Lebensmittelherstellung verwendet wird
		Giardia lamblia (Zysten)	Staatl. Vet.amt Detmold	Erreger der Giardiasis, häufig in Vorratswasser, Badewasser etc.
Eucaryonten		Entamoeba coli (Zysten)	Universität Bonn	apathogene <i>Entamoeba</i> -Art; <i>E. histolytica</i> ist der Erreger der weltweit verbreiteten Amoebenruhr
		Cryptosporidium parvum (Oozysten)	Waterborne Inc., USA	Erreger der Cryptosporidiose, häufig in Vorratswasser, Badewasser etc.
	Parasiten	Hymenolepis nana (Eier)	Fa. Bayer	Zwergbandwurmeier; Anzeiger mit hoher Hygienerelevanz; spez. in Krisengebieten
		Schistosoma mansoni (Eier)	eigener Laborstamm	Erreger der Bilharziose; gefährliche Parasitose in vielen warmen Ländern, die über das Wasser verbreitet wird; Eier sind wassergängig
		Schistosoma mansoni (Miracidien)	eigener Laborstamm	Erreger der Bilharziose; wassergängiges Larvalstadium
		Schistosoma mansoni (Cercarien)	eigener Laborstamm	Erreger der Bilharziose; wassergängiges Infektionsstadium
		Ascaris suum (Eier)	Isolate aus Schlachthof	Anstatt A. lumbricoides; Erreger der Ascariasis; weltweit verbreitet

 $^{*)} Deutsche \ Sammlung \ von \ Mikroorganismen \ und \ Zellkulturen \ GmbH$

Tabelle 2: Nachweismethoden für die verwendeten Testorganismen

Testorganismus	Nachweismethode zur Quantifizierung und Identifizierung	Wachstum auf Nährmedium bzw. Darstellung
Staphylococcus aureus	Ausplattierung oder Filtration auf Baird-Parker Agar (Merck, Art. Nr. 105406, zusätzlich Eigelb-Tellurit- Emulsion). Koloniewachstum: schwarz-glänzend	
Stapylococcus haemolyticus	Ausplattierung oder Filtration auf Baird-Parker Agar (Merck, Art. Nr. 105406, zusätzlich Eigelb-Tellurit- Emulsion). Koloniewachstum: schwarz-glänzend	
Enterococcus faecalis	Ausplattierung oder Filtration auf Membranfilter Enterokokken-Agar nach Slanetz und Bartley (Merck, ArtNr. 105289) Koloniewachstum: rot	
Enterobacter cloacae	Ausplattierung oder Filtration auf Endo-C-Agar (OXOID, ArtNr. CM 479) Koloniewachstum: rosa, dunkles Zentrum	
Escherichia coli	Ausplattierung oder Filtration auf Endo-C-Agar (OXOID, ArtNr. CM 479) <i>Escherichia coli</i> Koloniewachstum: violett, metallglanz	

Pseudomonas aeruginosa	Ausplattierung oder Filtration auf Cetrimid-Agar (Merck, ArtNr 5284) Koloniewachstum: grün-blau	
Bacillus subtilis	Standard-I-Agar (Merck, ArtNr 7881) Koloniewachstum: weisslich, rauh, trocken	
Candida albicans	Ausplattierung oder Filtration auf SABOURAUD- 2%-Glucose Agar (Merck, ArtNr. 107315) Koloniewachstum: weiss	
Rhodotorula mucilaginosa (rubra)	Ausplattierung oder Filtration auf SABOURAUD- 2%-Glucose Agar (Merck, ArtNr. 107315) Koloniewachstum: orange	Block of the state
Saccharomyces cerevisae	Ausplattierung oder Filtration auf SABOURAUD- 2%-Glucose Agar (Merck, ArtNr. 107315) Koloniewachstum: weiss	
Phage <i>U3</i>	Vermischung mit einer logarithmisch wachsenden <i>E.coli</i> –Kultur (Stamm K12) Wachstum: deutlich sichtbare Plaques im Bakterienrasen	

Entamoeba coli (Eier)	Isolat aus humanem Faeces; Filtratanalyse mittels Calciumcarbonat-Fällung, anschließender Membranfiltration (Sartorius; Cellulosenitratfilter Ø 1,2µm) und Fluoreszenzmikroskopie; Färbung: DAPI	
Giardia lamblia (Zysten)	Isolat aus dem Faeces eines Hundewelpen; Filtratanalyse mittels Calciumcarbonat-Fällung, anschließender Membranfiltration (Sartorius; Cellulosenitratfilter Ø 1,2µm) und Fluoreszenzmikroskopie; Färbung: DAPI	- 10 Jun
Cryptosporidium parvum (Oozysten)	Isolat aus dem Faeces eines Kalbes; Filtratanalyse mittels Calciumcarbonat-Fällung, anschließender Membranfiltration (Sartorius; Cellulosenitratfilter Ø 1,2µm) und Fluoreszenzmikroskopie; Färbung: DAPI	<u>5µm</u>
Hymenolepis nana (Eier)	Isolat aus dem Faeces einer infizierten Maus; Filtratanalyse mittels Membranfiltration (Schleicher&Schüll; Nitrocellulosefilter Ø 12,0μm) Färbung: Amidoschwarz	50_m 8 8 9 50_m
Schistosoma mansoni (Eier)	Isolat aus dem Faeces einer infizierten Maus; Filtratanalyse mittels Membranfiltration (Schleicher&Schüll; Nitrocellulosefilter Ø 12,0μm) Färbung: Neutralrot	100µm 100µm
Schistosoma mansoni (Miracidien)	Isolat aus dem Faeces einer infizierten Maus; Filtratanalyse mittels Membranfiltration; (Schleicher&Schüll; Nitrocellulosefilter Ø 12,0μm) Färbung: Neutralrot	500µm 100µm

Schistosoma mansoni (Cercarien)	Isolat aus infizierten Zwischenwirten (Süsswasserschnecken) Filtratanalyse mittels Membranfiltration; (Schleicher&Schüll; Nitrocellulosefilter Ø 12,0μm) Färbung: Neutralrot	
Ascaris suum (Eier)	Isolat aus adulten Ascariden Filtratanalyse mittels Membranfiltration; (Schleicher&Schüll; Nitrocellulosefilter Ø 12,0μm) Färbung: Amidoschwarz	50µm

ERGEBNISSE - 11 -

3 Ergebnisse und deren Bewertung

3.1 Ergebnisse der bakteriologischen, mykologischen und virologischen Unersuchungen

Für die Darstellung der Zahlenwerte in den Tabellen wurde aus Gründen der Übersichtlichkeit die Potenzschreibweise gewählt.

Beispiel: $5,00E+05 = 5,00x10^5 = 500 000$ Bakterien pro ml

Alle Ergebnisse der bakteriellen Belastungsuntersuchungen beziehen sich auf ein Probenvolumen von 10 Litern, da 10 Liter bakteriell kontaminiertes Wasser für diese Untersuchungen wurde eingesetzt (vergl. Kap. 2.1). Bakterienkonzentrationen sind in Koloniebildenden Einheiten (KBE/ml) angegeben. Die Phagenkonzentrationen in Plaque forming Units (PfU/ml).

Die bis 14 zeigen Untersuchungsergebnisse für die Tabellen 3 die bakteriologischen, mykologischen und virologischen Belastungstests. Hinsichtlich Belastungsuntersuchungen mit den Testorganismen der Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Escherichia coli (b)1 (s. Tab. 8 u. 9) und des Bacteriophagen U3² ist festzustellen, dass diese Organismen zu keinem Zeitpunkt im Filtrat nachgewiesen werden konnten. Bezüglich der anderen Testorganismen ist festzuhalten, dass im Filtrat (Filterausgang) geringe Konzentrationen (im Vergleich zur Eingangskonzentration) nachgewiesen wurden. Diese positiven Nachweise erfolgten jedoch frühestens im Anschluss an die zweite Belastung, so dass alle untersuchten Filter der erstmaligen Belastung mit dem jeweiligen Testorganismus standhielten.

¹ Die Belastungsuntersuchung mit *E. coli* wurde aus technischen Gründen zweimal durchgeführt

_

² Im Hinblick auf die Belastungsuntersuchung mit dem Bacteriophagen U3 sei an dieser Stelle erwähnt, dass der untersuchte Filtertyp durchaus Eigenschaften besitzt, die zu einer unerwartet deutlichen Reduzierung dieser extrem kleinen Partikel führten. Hieraus ist jedoch nicht zu schließen, dass auch andere Viren in gleichem Umfang zurückgehalten werden.

ERGEBNISSE - 12 -

Tabelle 3: Untersuchungsergebnisse für Phage *U3*

Phage <i>U3</i>				
Datum	Filtereingang PfU*)/ml	Filterausgang PfU*)/ml		
30.08.01	5,81E+03	0,00E+00		
03.09.01	5,81E+03	0,00E+00		
07.09.01	5,81E+03	0,00E+00		
13.09.01	5,81E+03	0,00E+00		

Tabelle 5: Untersuchungsergebnisse für Staphylococcus haemolyticus

Staphylococcus haemolyticus			
Datum	Filtereingang KBE/ml	Filterausgang KBE/ml	
06.07.01	4,43E+05	0,00E+00	
11.07.01	1,23E+05	0,00E+00	
16.07.01	1,43E+05	3,33E-03	
20.07.01	11,27E+05	0,00E+00	

Tabelle 7: Untersuchungsergebnisse für Enterobacter cloacae

Enterobacter cloacae				
Datum	Filtereingang KBE/ml	Filterausgang KBE/ml		
06.07.01	2,00E+05	0,00E+00		
11.07.01	2,70E+05	0,00E+00		
16.07.01	2,17E+05	3,33E-03		
20.07.01	2,27E+05	6,67E-03		

Tabelle 9: Untersuchungsergebnisse für Escherichia coli (b)

Escherichia coli (2)				
Datum	Filtereingang KBE/ml	Filterausgang KBE/ml		
29.05.01	3,17E+06	0,00E+00		
01.06.01	4,57E+06	0,00E+00		
06.06.01	3,27E+06	0,00E+00		
11.06.01	2,33E+06	0,00E+00		

Tabelle 4: Untersuchungsergebnisse für Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus			
Datum	Filtereingang KBE/ml	Filterausgang KBE/ml	
06.07.01	2,23E+06	0,00E+00	
11.07.01	3,30E+06	0,00E+00	
16.07.01	3,53E+06	0,00E+00	
20.07.01	2,33E+06	0,00E+00	

Tabelle 6: Untersuchungsergebnisse für Enterococcus faecalis

Enterococcus faecalis				
Datum	Filtereingang KBE/ml	Filterausgang KBE/ml		
04.05.01	3,36E+05	0,00E+00		
10.05.01	2,47E+05	0,00E+00		
14.05.01	7,70E+05	3,07E+02		
16.05.01	2,27E+05	1,13E-01		

Tabelle 8: Untersuchungsergebnisse für Escherichia coli (a)

Escherichia coli (1)				
Datum	Filtereingang KBE/ml	Filterausgang KBE/ml		
04.05.01	3,55E+06	0,00E+00		
10.05.01	5,30E+06	0,00E+00		
14.05.01	4,57E+06	0,00E+00		
16.05.01	1,77E+06	1,67E-01		

Tabelle 10: Untersuchungsergebnisse für Pseudomonas aeruginosa

Pseudomonas aeruginosa			
Datum	Filtereingang KBE/ml	Filterausgang KBE/ml	
06.06.01	1,60E+06	0,00E+00	
11.06.01	1,13E+06	0,00E+00	
15.06.01	1,10E+06	0,00E+00	
20.06.01	1,60E+06	0,00E+00	

ERGEBNISSE - 13 -

Tabelle 11: Untersuchungsergebnisse für Bacillus subtilis

Bacillus subtilis			
Datum	Filtereingang KBE/ml	Filterausgang KBE/ml	
22.08.01	9,00E+04	0,00E+00	
27.08.01	6,00E+04	2,93E+00	
31.08.01	8,33E+04	1,55E+02	
05.09.01	1,40E+05	1,13E+01	

Tabelle 13: Untersuchungsergebnisse für Rhodotorula mucilaginosa (rubra)

Rhodotorula mucilaginosa (rubra)			
Datum	Filtereingang KBE/ml	Filterausgang KBE/ml	
01.06.01	3,57E+04	0,00E+00	
06.06.01	6,13E+04	8,97E-01	
11.06.01	6,37E+04	0,00E+00	
15.06.01	4,83E+04	0,00E+00	

Tabelle 12: Untersuchungsergebnisse für Candida albicans

Candida albicans			
Datum	Filtereingang KBE/ml	Filterausgang KBE/ml	
02.08.01	3,23E+05	0,00E+00	
07.08.01	4,77E+05	0,00E+00	
12.08.01	6,43E+05	0,00E+00	
16.08.01	3,43E+05	3,33E-02	

Tabelle 14: Untersuchungsergebnisse für Saccharomyces cerevisiae

Saccharomyces cerevisiae			
Datum	Filtereingang KBE/ml	Filterausgang KBE/ml	
15.06.01	4,43E+04	0,00E+00	
20.06.01	1,70E+04	0,00E+00	
25.06.01	1,40E+04	1,00E-02	
29.06.01	4,20E+04	0,00E+00	

Tabelle 15: Im Filtrat (Filterausgang) nachgewiesene Bakterienkonzentrationen in [%]

Tootorgoniomus	Konzentrationen von Bakterien/Pilzen in [%]*)		
Testorganismus	Nach zweiter Belastung	Nach dritter Belastung	Nach vierter Belastung
Bacillus subtilis	0,004889	0,186400	0,008095
Candida albicans	0	0	0,000010
Enterobacter cloacae	0	0,000002	0,000003
Enterococcus faecalis	0	0,039913	0,000050
Escherichia coli (a)	0	0	0,000009
Rhodotorula mucilaginosa (rubra)	0	0	0,001462
Saccharomyces cerevisae	0	0	0,000071
Staphylococcus aureus	0	0	0
Stapylococcus haemolyticus	0	0,000002	0

^{*) %} der jeweilig eingesetzten Organismenkonzentration

Die höchsten Konzentrationen im Filtrat konnten für *Enterococcus faecalis* (3,07E+02 KBE/ml) und *Bacillius subtilis* (1,55E+02 KBE/ml) nachgewiesen werden. Dies entspricht 0,04% bzw. 0,19% der jeweilig eingesetzten Bakterienkonzentration. Ansonsten liegen die im Filtrat nachgewiesenen Bakterienzahlen erheblich unter den genannten Werten. Prozentual betrachtet

ERGEBNISSE - 14 -

wird ein Wert von 0,01% nicht überschritten bzw. größtenteils deutlich unterschritten (s. Tab. 15).

3.2 Ergebnisse der parasitologischen Untersuchungen

Die Tabellen 16 bis 23 zeigen die Untersuchungsergebnisse der parasitologischen Belastungstests. Die in den Tabellen angegebenen Abundanzen beziehen sich auf eine Wassermenge von 10 Litern.

Für sämtliche getesteten Parasitenstadien ist festzustellen, dass zu keinem Zeitpunkt Organismen im Filtrat nachgewiesen werden konnten.

Tabelle 16: Untersuchungsergebnisse für Zysten von Giardia lamblia

Giardia lamblia (Zysten)			
Datum	Filtereingang Zysten	Filterausgang Zysten	
20.07.01	10.000	0	
24.07.01	10.000	0	
29.07.01	10.000	0	
03.08.01	10.000	0	

Tabelle 18: Untersuchungsergebnisse für Oozysten von Cyptosporidium parvum

Cryptosporidium parvum (Oozysten)			
Datum	Filtereingang Oozysten	Filterausgang Oozysten	
25.10.01	1.000.000	0	
29.10.01	1.000.000	0	
02.11.01	1.000.000	0	
08.11.01	1.000.000	0	

Tabelle 20: Untersuchungsergebnisse für Eier von Schistosoma mansoni

Schistosoma mansoni (Eier)			
Datum	Filtereingang Eier	Filterausgang Eier	
10.07.01	5.000	0	
16.07.01	5.000	0	
20.07.01	5.000	0	
24.07.01	5.000	0	

Tabelle 17: Untersuchungsergebnisse für Zysten von Entamoeba coli

Entamoeba coli (Zysten)			
Datum Filtereingang Zysten		Filterausgang Zysten	
25.10.01	20.000	0	
29.10.01	20.000	0	
02.11.01	20.000	0	
08.11.01	20.000	0	

Tabelle 19: Untersuchungsergebnisse für Eier von *Hymenolepis nana*

Hymenolepis nana (Eier)			
Datum	Filtereingang Eier	Filterausgang Eier	
10.07.01	5.000	0	
16.07.01	5.000	0	
20.07.01	5.000	0	
24.07.01	5.000	0	

Tabelle 21: Untersuchungsergebnisse für Miracidien von Schistosoma mansoni

Schistosoma mansoni (Miracidien)			
Datum	Filtereingang Eier	Filterausgang Eier	
25.07.01	1.000	0	
30.07.01	1.000	0	
03.08.01	1.000	0	
08.08.01	1.000	0	

ERGEBNISSE - 15 -

Tabelle 22: Untersuchungsergebnisse für Cercarien von *Schistosoma mansoni*

Schistosoma mansoni (Cercarien)		
Datum	Filtereingang Eier	Filterausgang Eier
25.07.01	1.000	0
30.07.01	1.000	0
03.08.01	1.000	0
08.08.01	1.000	0

Tabelle 23: Untersuchungsergebnisse für Eier von *Ascaris suum*

Ascaris suum (Eier)		
Datum	Filtereingang Eier	Filterausgang Eier
22.06.01	10.000	0
27.06.01	10.000	0
02.07.01	10.000	0
06.07.01	10.000	0