

4

UNTERSUCHUNGEN ZUM RÜCKHALT VON VIREN IN DER TRINKWASSERAUFBEREITUNG AM BEISPIEL DES RUHRWASSERWERKS STYRUM-OST IN MÜLHEIM AN DER RUHR

Mathias Schöpel und Anne Heyer

RWW Rheinisch-Westfälische Wasserwerksgesellschaft GmbH (RWW)

Am Schloß Broich 1-3

45479 Mülheim an der Ruhr

4.1 Einleitung

Im Zusammenhang mit dem Forschungsvorhaben „Sichere Ruhr“, gefördert vom Bundesministerium für Bildung und Forschung im Rahmen der Fördermaßnahme RiSKWa (Risikomanagement von neuen Schadstoffen und Krankheitserregern im Wasserkreislauf), wurde vorrangig untersucht, ob und unter welchen Rahmenbedingungen zukünftig eine Nutzung der Ruhr als Badegewässer möglich ist. Begleitend wurde im Vorhaben am Beispiel des RWW-Ruhrwasserwerks Styrum-Ost in Mülheim untersucht, ob es im Hinblick auf die mikrobiologischen Belastungen der Ruhr Verbesserungsmöglichkeiten bei der Trinkwasseraufbereitung gibt, wobei hier neben den üblichen mikrobiologischen Parametern, die in Trinkwässern untersucht werden, auch die Elimination von Viren mittels neuer molekularbiologischer Verfahren ermittelt wurden (Merkel et al. 2015).

Das Wasserwerk Styrum-Ost liegt am Unterlauf der Ruhr kurz vor der Mündung der Ruhr in den Rhein und nutzt vorrangig als Rohwasser das Oberflächenwasser der Ruhr, daneben aber auch Rheinuferfiltrat, das aus der Wassergewinnungsanlage der RWW in Duisburg-Mündelheim stammt und in einem Teilbereich der Wassergewinnung des Werkes Styrum-Ost dem Ruhrwasser zu einem Anteil von etwa 10 bis 20% zugemischt wird.

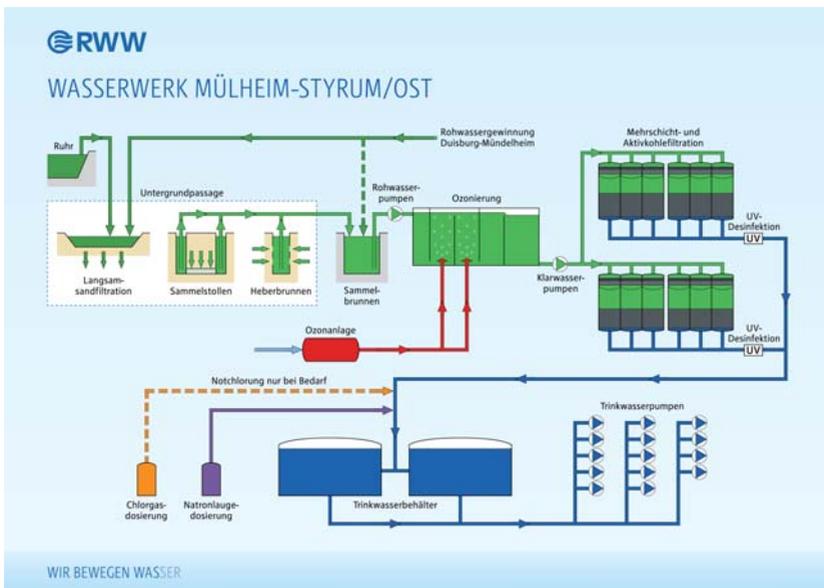


Bild 4.1: Schema des Aufbereitungsprozesses Wasserwerk Styrum-Ost

Der mehrstufige Aufbereitungsprozess beginnt zunächst mit der Langsandsandfiltration und einer sich daran anschließenden Untergrundpassage, bevor das Wasser der weiteren Aufbereitung (siehe Bild 4.1) zugeführt wird (RWW 2012). Nach einer kurzen Verweilzeit des Wassers von wenigen Tagen im Untergrund wird das Bodenfiltrat in Sammelbrunnen zurückgewonnen und anschließend einer mehrstufigen Aufbereitung, bestehend aus den Stufen Ozonung, Mehrschicht- und Aktivkohlefiltration sowie einer abschließender UV-Desinfektion, unterzogen.

Im Rahmen des Forschungsprojektes „Sichere Ruhr“ wurden insgesamt an fünf Probenahmeterminen verteilt über ein Jahr unter Berücksichtigung verschiedener Belastungssituationen die Ruhr, das Bodenfiltratwasser nach der Langsandsandfiltration, die Ablaufwässer der Ozonung, der Mehrschichtfilter, der Aktivkohlefilter nach UV-Desinfektion sowie das Trinkwasser beprobt.

Tabelle 4.1: Reduktion der hygienisch relevanten Mikroorganismen aus der Ruhr durch die Langsandsandfiltration Wasserwerk Styrum-Ost (aus Merkel et al. 2015)

Organismen	Minimal-/Maximalwert
Gesamtzellzahl	1
Koloniezahl 22 °C und 36 °C	2
E.coli	2,5
Coliforme Bakterien	3
Intestinale Enterokokken	2
Clostridium perfringens	> 2
Aeromonas spp.	3 - 4
Pseudomonas aeruginosa	> 1
Campylobacter spp.	nicht nachweisbar im Rohwasser
Salmonella enterica	nicht nachweisbar im Rohwasser
Adenovirus	keine einheitliche Eliminierung
Polyomavirus	keine einheitliche Eliminierung
Enterovirus	keine einheitliche Eliminierung
Norovirus GII	keine einheitliche Eliminierung
Rotavirus	keine einheitliche Eliminierung
E.coli-Phagen	2,5
Cryptosporidium parvum	nicht nachweisbar im Rohwasser
Gardia lamblia	> 0,5

Bei allen mikrobiologischen Parametern konnte bereits nach der 1. Aufbereitungsstufe im Bodenfiltratwasser eine deutliche Reduktion der Konzentrationen nach

Tabelle 4.1 festgestellt werden. Einige Organismen waren in der Ruhr nicht bzw. nur in geringen Konzentrationen vorhanden. Die Wasserproben der folgenden Aufbereitungsstufen erbrachten im Allgemeinen keine Nachweise von Bakterien.

Bei den Viren ergab sich hinsichtlich der Elimination in der Trinkwasseraufbereitung kein klares Bild, so dass auch keine Eliminationsleistung berechnet werden konnte. Dies liegt zum einen an einer zu geringen Probenfrequenz, zum anderen aber an dem Nachweisverfahren selbst. Denn bedingt durch die Methode kann bei den Untersuchungen nicht zwischen infektiösen und nicht-intakten Viren unterschieden werden. Daher wurden im Projekt „Sichere Ruhr“ diese Proben zusätzlich mittels zellkulturbasierter PCR-Methoden untersucht, womit zwar keine quantitative, aber eine qualitative Aussage zum Vorkommen infektiöser Viren im Verlauf des Aufbereitungsprozesses möglich ist. Im Ergebnis dieser Untersuchungen wurde festgestellt, dass in keinen Stufen der Aufbereitung infektiöse Adeno- oder Enteroviren mehr nachweisbar waren.

4.2 Weitere Untersuchungen

Die Ergebnisse der Untersuchungen im Projekt „Sichere Ruhr“ waren Anlass für RWW, zusammen mit der Abteilung für Hygiene, Sozial- und Umweltmedizin der RUB die Viren-Untersuchungen in den Jahren 2015 und 2016 im Wasserwerk Styrum-Ost fortzusetzen, um durch eine höhere Probenfrequenz die Datenlage insgesamt zu verbessern und die Aussagen zur Virenreduktion abzusichern. Man konzentrierte sich hierbei insbesondere auf die Untersuchung der 1. Aufbereitungsstufe der Langsandsandfiltration, wobei neben dem Ruhrwasser ein Sammelbrunnen in der Wassergewinnung Styrum-Ost beprobt wurde, wo ausschließlich Ruhrwasser zur Versickerung eingesetzt wird. In 2015 wurden acht und in 2016 siebzehn Beprobungen der Ruhr (im Zulauf der Versickerungsbecken) und des Bodenfiltratwassers nach der Langsandsandfiltration durchgeführt. Unter Berücksichtigung der fünf Beprobungen aus dem Projekt „Sichere Ruhr“ liegen somit in Summe die Ergebnisse von 30 Beprobungen zur Ermittlung der Virenreduktion der Langsandsandfiltration vor.

Da die Virenelimination der nachgeschalteten Aufbereitungsstufen Ozonung, Mehrschicht- und Aktivkohlefiltration einschließlich UV wegen der bereits guten Reduktionsleistung der Langsandsandfiltration nicht ermittelt werden kann, erfolgten in 2016 zusätzlich im benachbarten Wasserwerk Styrum-West vier Be-

probungen der dort vorhandenen Voraufbereitung. In diesem Werk startet die Aufbereitung nach der Rohwasserentnahme aus der Ruhr mit den Stufen Flockung (Typ Accelator), Ozonung, Mehrschicht- und Aktivkohlefiltration, bevor das behandelte Wasser anschließend einer Untergrundpassage und abschließender UV-Desinfektion zugeführt wird. Untersucht wurde hier das Ablaufwasser der Aktivkohlefilter.

Bei den Viren wurden humanpathogene Adeno-, Rota- und Enteroviren erfasst. Zusätzlich zu den Viren wurden die somatischen Coliphagen, die Indikatorparameter der TrinkwV und die physikalisch-chemischen Begleitparameter wie z. B. Trübung und pH-Wert bestimmt.

4.3 Methoden

Sämtliche Probenahmen und Untersuchungen der Viren wurden im Labor der Ruhr-Universität Bochum, Abteilung für Hygiene, Sozial- und Umweltmedizin, durchgeführt. Da die Konzentrationen von Viren in Oberflächenwässern wie der Ruhr sehr gering sind, wurden die Viren zuvor nach dem VIRADEL-Verfahren (Hamza et al. 2009) aufkonzentriert. Dazu werden 10 L Wasserprobe nach Zugabe von Magnesiumchlorid bei einem pH-Wert von 3,5 über eine negativ geladene Nitrocellulose-Membran filtriert. Die Elution erfolgte mit einem Kaliumhydrogenphosphat-Puffer. Durch die anschließende Rekonzentrierung mit Polyethylenglykol kann das Volumen von insgesamt 10 L auf 5 mL eingengt werden.

Der eigentliche Virennachweis erfolgt mittels quantitativer Real Time PCR (Polymerase-Kettenreaktion). Um zusätzlich eine qualitative Aussage zur Anwesenheit infektiöser Viren machen zu können, wurde eine spezielle Zellkultur basierte PCR (ICC- oder integrated cell culture PCR) durchgeführt.

Nach der Extraktion der Nukleinsäuren aus 200 µL Probe mittels QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen, Deutschland) erfolgte die Quantifizierung der Viren und Phagen mittels Real-Time PCR. Für die ICC-PCR wurden neben den spezifischen Primern und Sonden (Tabelle 4.2) das Qantitect Probe RT-PCR Kit (Qiagen, Deutschland) und das High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems, USA) verwendet. Der eigentliche Nachweis viraler DNA/RNA erfolgte in 5 µL Proben.

Tabelle 4.2: Primer und Sonden zur molekularbiologischen Quantifizierung von Viren und Phagen

Virus	Primer-Bezeichnung	Sequenz 5'-3'	Referenz
HAdV	AQ1	GCCACGGTGGGGTTTCTAAACTTG	Heim et al. 2003
	AQ2	CCCCAGTGGTCTTACATGCACAT C	
	AdV P	[Hex]TGCACCAGACCCGGGCCAGGTACTCCGA [BHQ1]	
EV	EV 444	CCTCCGGCCCCCTGAATG	Hamza et al. 2009
	EV 621	ACCGGATGGCCAATCCAA	
	EV P	[FAM]ACGGACACCCAAAGTAGTCGGTCCG[BHQ1]	
RoV	Rota A s	GGAKGYCTGTACTCMTTGCAAAA	Logan et al. 2006
	Rota A as	TCCAGTTTGRAASTCATTTC	
	Rota P1	[6FAM]ATAATGTGCCTTCGACAAT [MGBNFQ]	
	Rota P2	[6FAM]AATATAATGTACCTTCAACAAT [MGBNFQ]	
φX174	phiX174-R	CGCCATTAATAATGTTTTCGTAA.	Price et al. 1992
	phiX174-F	CATCCCGTCAACATTCAAACG.[6FAM]	
	phiX174-P	TCTCATCATGGAAGGCGCTGAA[BHQ1]	

Zusätzlich zum molekularbiologischen Nachweis von φX174 wurde auch ein Phagen-Plaque Test gem. DIN EN ISO 10705-2 zur Quantifizierung infektiöser Phagen durchgeführt. Im Schichtgussverfahren wurde die zu untersuchende Probe mit geeigneten Bakterien gemischt und auf einen bereits vorhandenen modifizierten Soja-Agar gegossen. Die Phagen bilden durch Unterbindung der Bakterienvermehrung Plaques im Bakterienrasen und sind somit quantifizierbar.

4.4 Langsamsandfiltration

Die hydraulischen Rahmenbedingungen der Langsamsandfiltration im Wasserwerk Styrum-Ost nach Hohlmann, Schöpel, Konrad und Losen (2006) sind:

- Filtersand mit Mächtigkeit ca. 1 bis 2 Meter: vertikale Durchlässigkeit $k_f = 10^{-4}$ m/s.
- Untergrund mit Mächtigkeit ca. 5 bis 10 Metern: vertikale Durchlässigkeit mit $k_f = 2$ bis 3×10^{-4} m/s bzw. horizontale Durchlässigkeit $k_f = 10^{-3}$ m/s.
- Versickerungsleistung der Becken 1 bis 3 m³ Wasser pro m² Filterfläche täglich. Der Betrieb dieser als Langsamsandfilter genutzt

Becken erfolgt so, dass diese im Regelbetrieb nicht mit Ruhrwasser überstaut werden.

- Fließzeit des Wassers während der Untergrundpassage beträgt abhängig von der jeweiligen Lage der Versickerungs- und Rückgewinnungsanlagen 40 – 100 Stunden und im Mittel ca. 70 Stunden.

4.5 Wasserführung der Ruhr und Niederschläge

Das Abflussgeschehen der unteren Ruhr wird maßgeblich durch den Ruhrverband gesteuert und damit gezielt beeinflusst. Im Ruhreinzugsgebiet existieren eine Vielzahl von Talsperren im Oberlauf der Ruhr, die regulativ auf die Wasserführung der Ruhr einwirken.

Durch diese Steuerung werden insbesondere in den Wintermonaten die im Sauerland fallenden Niederschläge in den dort befindlichen Talsperren gespeichert, damit in den niederschlagsärmeren Zeiten (vor allem in den Sommermonaten) die Wasserführung der mittleren und unteren Ruhr gezielt erhöht werden kann. Der Ruhrverband ist gesetzlich verpflichtet, im Dreitagesmittel am Unterlauf der Ruhr am Pegel Mülheim einen Mindestabfluss von 15 m³/s zu gewährleisten. Damit sollen sowohl die Entnahmen der Wasserversorger aus der Ruhr ausgeglichen als auch die Wasserqualität des Ruhrwassers bei Niedrigwasserführung verbessert werden. Dieser Mindestabfluss soll u. a. sicherstellen, dass der Anteil des gereinigten Abwassers in der Ruhr nicht übermäßig ansteigt.

Zusätzlich betreibt der Ruhrverband fünf größere Stauhaltungen (Stauseen) an der mittleren und unteren Ruhr, die neben anderen Nutzungen (Energieerzeugung, Freizeitnutzung, Schifffahrt) ebenfalls zur Verbesserung der Ruhrwasserqualität beitragen.

Niederschlagsereignisse können Einfluss auf die Versickerungsbedingungen in der Langsamsandfiltration / Untergrundpassage haben, da insbesondere bei länger andauernden Niederschlagsperioden die Niederschläge auf den Wassergewinnungsflächen sehr schnell in den Untergrund eindringen können. Größere Niederschlagsereignisse können außerdem zu einem Überstau des Wassers in den Versickerungsbecken führen und damit die Filtrationsbedingungen in den Becken verschlechtern.

Im Hinblick auf die Rahmenbedingungen der Viren-Elimination ist es daher notwendig, neben den Ruhrdurchflussmengen auch die lokalen Niederschlagsmengen zu betrachten, wobei insbesondere Hochwasser- und Starkregenereignisse die Viren-Belastung der Ruhr beeinflussen.

Für das Abflussgeschehen der Ruhr wurden die Daten des Pegels Mülheim des Ruhrverbandes (Gauß-Krüger Werte: Rechtswert 2560940, Hochwert 5699900) und für die Niederschläge die Daten der Station Mülheim BHAB1N des Landesamtes für Natur, Umwelt- und Verbraucherschutz NRW herangezogen. Im Bild 4.2 sind die 17 Probenahmeterminale in 2016 dargestellt, wobei Situationen sowohl mit Hochwasserereignissen als auch mit Niedrigwasserführungen der Ruhr sowie Ereignisse mit hohen Niederschlagsmengen beprobt wurden.

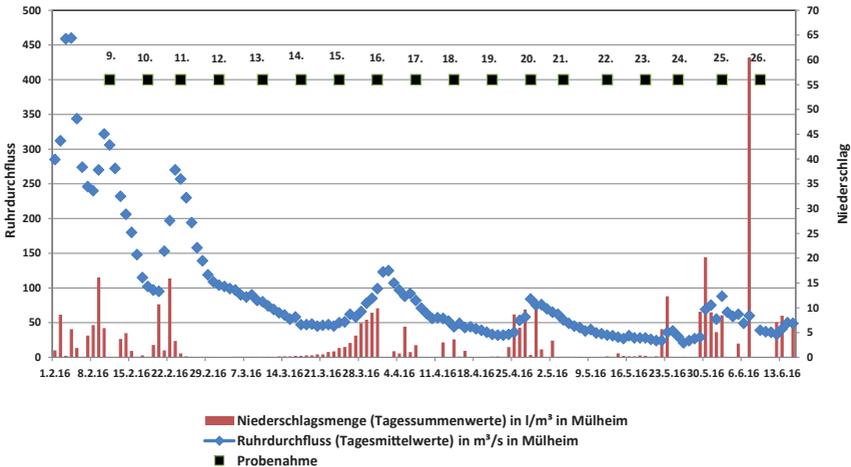


Bild 4.2: Ruhrdurchfluss und Niederschlagsmengen in Mülheim (2016)

4.6 Ergebnisse

Eine abschließende Bewertung aller Ergebnisse durch RWW und RUB steht noch aus. Jedoch soll an dieser Stelle auf die Ergebnisse der Viren-Untersuchungen des Zeitraumes 2016 eingegangen werden.

In Bild 4.3 sind für die 17 Probenahmetermine in 2016 die Ergebnisse für die Adenoviren dargestellt. Man erkennt deutlich, dass von Februar bis Anfang April die Konzentration dieser Viren in der Ruhr auf einem konstanten Niveau von 104 - 105 Genkopien pro Liter Ruhrwasser lag. Für den folgenden Zeitraum ab Mitte April wurden an zwei weiteren Terminen Adenoviren nachgewiesen.

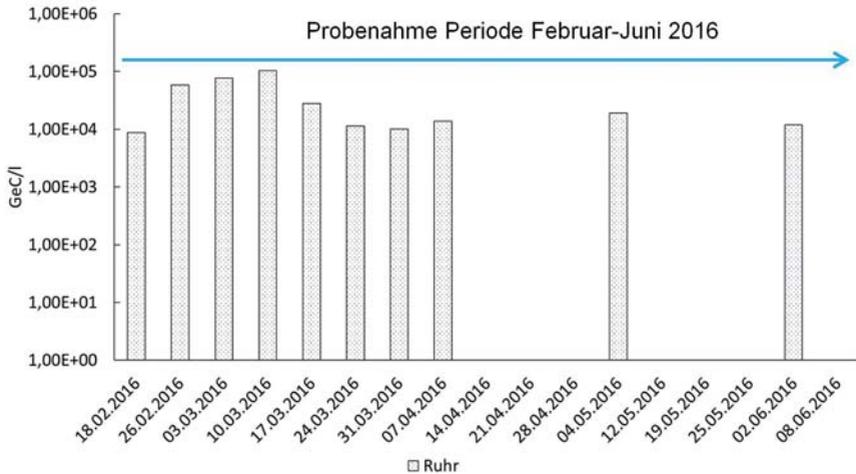


Bild 4.3: Anzahl der Genkopien pro Liter für die Adenoviren im Ruhrwasser über den Probenahmezeitraum 2016 (aus Vorholt 2017)

Im Bild 4.4 sind für die 17 bzw. 4 Probenahmen die Befundlagen mit infektiösen Viren für die drei Probenahmestellen Ruhr, Sammelbrunnen Styrum-Ost nach Langsamsandfiltration und Ablauf Aktivkohlefiltration Styrum-West dargestellt. Positiv-Nachweise wurden demnach in der Ruhr bei 10 Proben für Adenoviren, bei 3 für Enteroviren und bei einer für Rotaviren festgestellt. Zusätzlich konnten in 15 von 17 Proben Phagen festgestellt werden. Für die beiden anderen Probenahmestellen konnten keine Nachweise von infektiösen Viren erbracht werden.

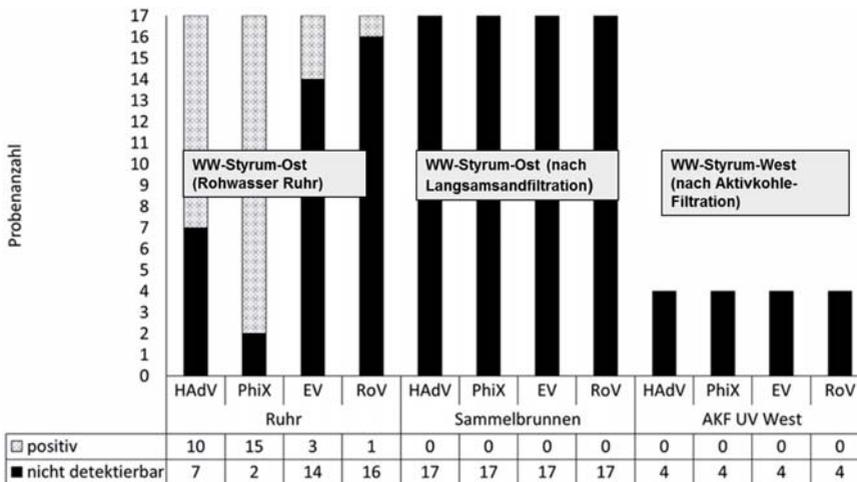


Bild 4.4: PCR-Ergebnisse der Viren und Phagen 2016 für die 3 Probenahme-stellen Ruhr, Sammelbrunnen Styrum-Ost und Ablauf Aktivkohlefilter Styrum-West (aus Vorholt 2017)

Aus den bisher vorliegenden Untersuchungsergebnissen lassen sich folgende Ergebnisse ableiten:

- Die PCR-Nachweise von Viren und deren Infektiösität durch parallel angesetzte Plaque Essay Tests haben bisher auch aus wissenschaftlicher Sicht interessante Ergebnisse geliefert. Der Plaque Test unterscheidet infektiöse Viren von nicht infektiösen Fragmenten. Nur im Rohwasser war dieser Test positiv, infektiöse Viren konnten also lediglich in der Ruhr nachgewiesen werden.
- Die hohen mikrobiologischen Befunde in der Ruhr korrelieren vor allem mit Starkregenereignissen. Bei sehr starken Niederschlägen kommt als Eintragsquelle noch der Überlauf von Kläranlagen hinzu, die die Rohwasserqualität temporär stark beeinflussen können.
- Die Ruhr kann trotz teilweise hoher Viren-Belastungen als Rohwasserquelle für die Trinkwasseraufbereitung bei RWW genutzt werden, da die Langsamsandfiltration / Untergrundpassage aber auch die vorhandenen zusätzlichen Aufbereitungsschritte Viren sicher zurückhalten können.
- Die Ergebnisse zeigen deutlich, dass schon der erste Schritt der Aufbereitung mittels Langsamsandfiltration / Untergrundpassage bereits eine hohe Abbauleistung hinsichtlich der Virenelimination zeigt. Nach

den vorliegenden Ergebnissen der Adenoviren, die am häufigsten in der Ruhr vorkommen, kann von einer Reduktion von mindestens 4 bis 5 log-Stufen ausgegangen werden.

- Nach den Untersuchungsergebnissen im Wasserwerk Styrum-West ist die Voraufbereitung mittels Flockung, Ozonung, Mehrschicht- und Aktivkohlefiltration ebenfalls in der Lage, die Viren um mindestens 4 bis 5 log-Stufen zu reduzieren. Zu beachten ist, dass das bei RWW an der Ruhr eingesetzte „Mülheimer Verfahren“ in beiden Verfahrensvarianten aus einer Kombination von einer Langsandsandfiltration / Untergrundpassage und Vor- bzw. Nachaufbereitung besteht und sich damit die Eliminationsraten beider bestehender Stufen addieren.

4.7 Literatur

Hohlmann, W.; Schöpel, M.; Konrads, B.; Losen, H.: Betriebsoptimierung eines Wasserwerkes durch nachhaltige Ertüchtigung der Langsandsandfiltration, energie/wasser-praxis 6/2006, 20-26 (2005).

RWW: Das Mülheimer Verfahren. RWW-Broschüre, (<http://www.rww.de/trinkwasser/wasseraufbereitung/muelheimer-verfahren/>).

Ruhrverband: Talsperrenleitzentrale, (<http://www.talsperrenleitzentrale-ruhr.de/veroeffentlichungen.html>).

DIN EN ISO 10705-2: Wasserbeschaffenheit - Nachweis und Zählung von Bakteriophagen - Teil 2: Zählung von somatischen Coliphagen (ISO 10705-2:2000), Deutsche Fassung EN ISO 10705-2:2001.

Hamza, I.A.; Stang, A.; Sure, K.; Überla, K.; Wilhelm, M.: Detection of human viruses in rivers of a densely-populated area in Germany using a virus adsorption elution method optimized for PCR analyses. Water Res. 43, 2657-2668 (2009).

Heim, A.; Ebnet, C.; Harste, G.; Pring-Akerblom, P.: Rapid and quantitative detection of human adenovirus DNA by real-time PCR. J Med Virol. 70, 228-239 (2003).

Logan, C.; O'Leary, J.J.; O'Sullivan, N.: Real-time reverse transcription-PCR for detection of rotavirus and adenovirus as causative agents of acute viral gastroenteritis in children. J Clin Microbiol. 44, 3189-3195 (2006).

- Merkel et. al: Sichere Ruhr - Gemeinsamer Abschlussbericht aller Verbundprojektpartner. Forschungsprojekt gefördert mit Mitteln des BMBF im Rahmen der Fördermaßnahme Risikomanagement von neuen Schadstoffen und Krankheitserregern im Wasserkreislauf - RiSKWa (2015), (<http://www.sichere-ruhr.de>).
- Price, J.A.; Yamanashi, W.; McGee J.M.: Bacteriophage phi X-174 as an aerobiological marker for surgical plume generated by the electromagnetic field focusing system. *Journal of Hospital Infection* 21, 39-50 (1992).
- Mannke, A.M.: Evaluierung der Eliminationsleistung von Viren und Bakterien durch die Bodenpassage als erster Schritt der Aufbereitung. Masterarbeit, Fakultät für Biologie und Biotechnologie der Ruhr-Universität Bochum (2015).
- Vorholt, S. M.: Nachweis von Viren in der Trinkwasseraufbereitung - Evaluierung molekularbiologischer Methoden zur Quantifizierung humanpathogener Viren und Anpassung des Konzentrationsverfahrens. Masterarbeit, Fakultät für Biologie und Biotechnologie der Ruhr-Universität Bochum (2017).
- Heyer, A.; Schöpel, M.; Leifels, M.; Jurzik, L.: Elimination von Viren in der Trinkwasseraufbereitung am Beispiel des Ruhrwasserwerkes Styrum-Ost der RWW. *Gewässerschutz-Wasser-Abwasser* 239, 49/1-49/11 (2016).