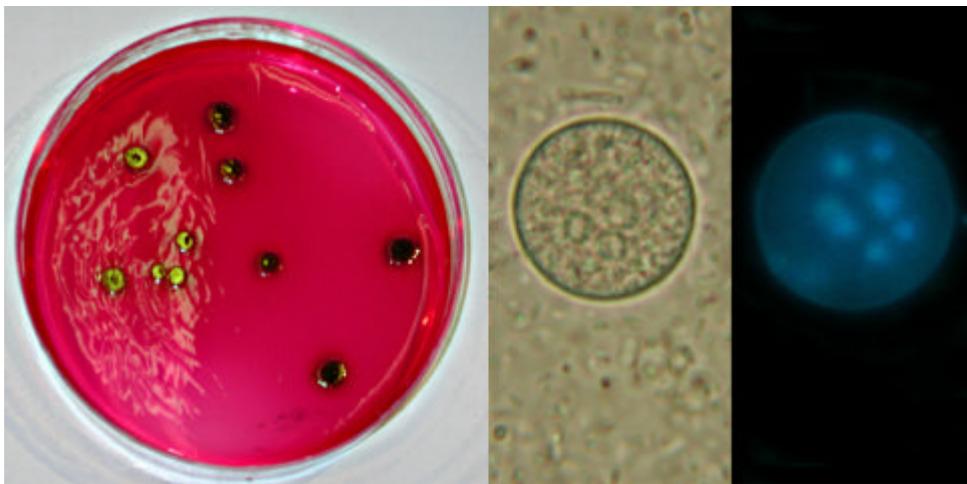


**Zur Retention ausgewählter Organismen
(Viren, Bakterien, Niedere Pilze und eucaryontische Parasiten)
durch den Filter NFP Premium (NFP 2,0)**

**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.

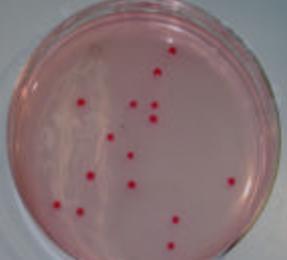
Ziel der Untersuchungen war es, die Filtrationseigenschaften des verwendeten Filtertyps (NFP Premium (NFP 2,0)) gegenüber den in Tab. 1 aufgelisteten wassergängigen Organismen zu überprüfen. Vereinbarungsgemäß wurde der verwendete Filter über einen Zeitraum von 14 Tagen regelmäßig mit dem jeweiligen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

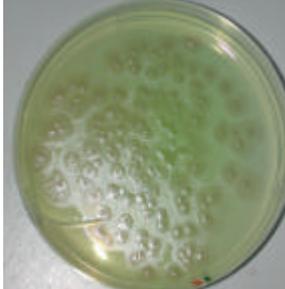
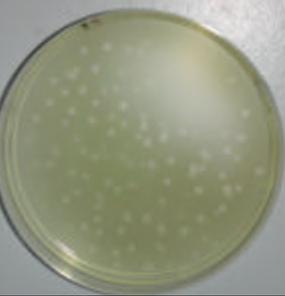
Tabelle 1: Auflistung der eingesetzten Testorganismen

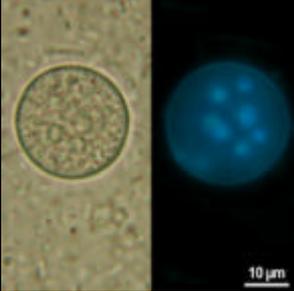
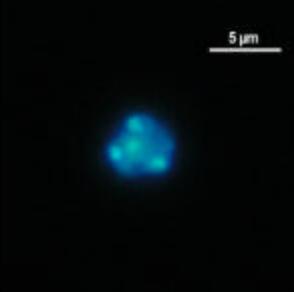
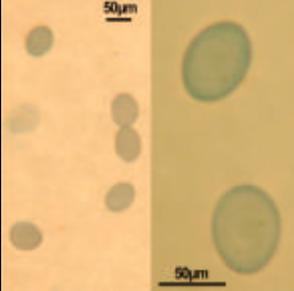
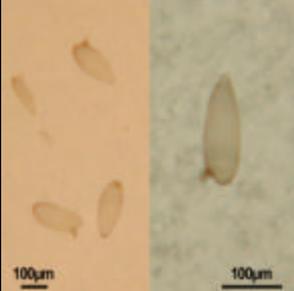
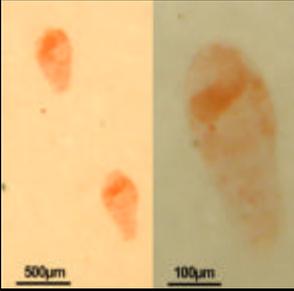
Organismengruppe		Spezies	Herkunft / Bezugsquelle	Kurzbeschreibung
Prokaryonten und Viren	Viren	Phage U3	DSMZ No. 8986 *)	Virus der Bakterien (<i>E.coli</i>) befällt, Beispiel für Partikel in Virusgröße
	Bakterien	<i>Staphylococcus aureus</i>	DSMZ No. 1104 *)	weltweit verbreiteter Krankheitserreger mit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

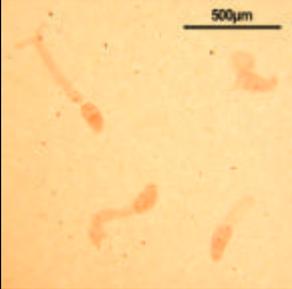
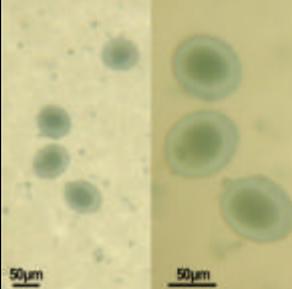
*)Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH

Tabelle 2: Nachweismethoden für die verwendeten Testorganismen

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

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

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

<p><i>Schistosoma mansoni</i> (Cercarien)</p>	<p>Isolat aus infizierten Zwischenwirten (Süßwasserschnecken) Filtratanalyse mittels Membranfiltration; (Schleicher&Schüll; Nitrocellulosefilter Ø 12,0µm) Färbung: Neutralrot</p>	
<p><i>Ascaris suum</i> (Eier)</p>	<p>Isolat aus adulten Ascariden Filtratanalyse mittels Membranfiltration; (Schleicher&Schüll; Nitrocellulosefilter Ø 12,0µm) Färbung: Amidoschwarz</p>	

3 Ergebnisse und deren Bewertung

3.1 Ergebnisse der bakteriologischen, mykologischen und virologischen Untersuchungen

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

Beispiel: $5,00E+05 = 5,00 \times 10^5 = 500\,000$ 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 eingesetzt wurde (vergl. Kap. 2.1). Die Bakterienkonzentrationen sind in **Koloniebildenden Einheiten (KBE/ml)** angegeben. Die Phagenkonzentrationen in **Plaque forming Units (PfU/ml)**.

Die Tabellen 3 bis 14 zeigen die Untersuchungsergebnisse für die bakteriologischen, mykologischen und virologischen Belastungstests. Hinsichtlich der Belastungsuntersuchungen mit den Testorganismen *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.

Tabelle 3: Untersuchungsergebnisse für Phage U3

Phage U3		
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 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 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 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 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 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 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 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

Tabelle 11: Untersuchungsergebnisse für *Bacillus subtilis*

<i>Bacillus subtilis</i>		
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 12: Untersuchungsergebnisse für *Candida albicans*

<i>Candida albicans</i>		
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 13: Untersuchungsergebnisse für *Rhodotorula mucilaginosa (rubra)*

<i>Rhodotorula mucilaginosa (rubra)</i>		
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 14: Untersuchungsergebnisse für *Saccharomyces cerevisiae*

<i>Saccharomyces cerevisiae</i>		
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 [%]

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

*) % der jeweilig eingesetzten Organismenkonzentration

Die höchsten Konzentrationen im Filtrat konnten für *Enterococcus faecalis* (3,07E+02 KBE/ml) und *Bacillus 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

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*

<i>Giardia lamblia</i> (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 17: Untersuchungsergebnisse für Zysten von *Entamoeba coli*

<i>Entamoeba coli</i> (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 18: Untersuchungsergebnisse für Oozysten von *Cryptosporidium parvum*

<i>Cryptosporidium parvum</i> (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 19: Untersuchungsergebnisse für Eier von *Hymenolepis nana*

<i>Hymenolepis nana</i> (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 20: Untersuchungsergebnisse für Eier von *Schistosoma mansoni*

<i>Schistosoma mansoni</i> (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*

<i>Schistosoma mansoni</i> (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

Tabelle 22: Untersuchungsergebnisse für Cercarien von *Schistosoma mansoni*

<i>Schistosoma mansoni</i> (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*

<i>Ascaris suum</i> (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