

Aus dem Institut für Hygiene der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg  
(Direktorin: Prof. Dr. med. M. Borneff-Lipp)



**Reduktionsleistung von Pflanzenkläranlagen hinsichtlich Parasitenzysten von  
*Cryptosporidium parvum* und *Giardia lamblia***

Dissertation  
zur Erlangung des akademischen Grades  
Doktor der Medizin (Dr. med.)

vorgelegt  
der Medizinischen Fakultät  
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Andreas Redder  
geboren am 25. Oktober 1977 in Bobingen

Gutachter:

1. Prof. Dr. rer. nat. Dr. med. Ingo Hansmann
2. PD Dr. med. Dipl. biol. Albrecht Oehme
3. Prof. Dr. med. Andreas Stang

Verteidigungsdatum: 20.04.2007

**urn:nbn:de:gbv:3-000012509**

[<http://nbn-resolving.de/urn/resolver.pl?urn=nbn%3Ade%3Agbv%3A3-000012509>]

## Kurzreferat

Die Wiederverwendung von Abwasser, vor allem zu Zwecken der Bewässerung in der Landwirtschaft, wird als eine der effektivsten Möglichkeiten angesehen, um Wasser zu sparen. Die Kosten der Abwasseraufbereitung sind für viele Entwicklungsländer unerschwinglich, so dass in diesen Ländern die Verwendung von Abwasser nicht reguliert ist und somit vielfach gesundheitliche Risiken birgt. Pflanzenkläranlagen stellen eine Möglichkeit der effizienten und kostengünstigen Abwasseraufbereitung dar. Bei der Vielzahl unterschiedlichster Verfahrenstechniken und Anlagentypen lassen sich inzwischen in der Regel gute Ergebnisse bezüglich der Reinigungsleistung gegenüber chemischen Inhaltsstoffen und Bakterien erzielen. Zur Beurteilung des Auftretens und der Reduktion von parasitären Erregern in derartigen Anlagen gibt es bisher allerdings nur wenige Erkenntnisse.

Ziel dieser Arbeit als Teilprojekt einer BMBF-geförderten Studie war es, die Reduktion der seuchenhygienisch relevanten Zysten von *Cryptosporidium parvum* und *Giardia lamblia* innerhalb der einzelnen Stufen der Abwasseraufbereitung in bewachsenen Bodenfiltern zu untersuchen. Hierfür wurden eine Pilotanlage in Langenreichenbach (Sachsen) und eine seit 1993 in Betrieb befindliche Praxisanlage in Belzig (Brandenburg) in regelmäßigen Abständen beprobt. Die Untersuchungen basierten auf einer Methode der US EPA von 1995 und beinhalteten im wesentlichen drei Hauptschritte: Konzentrierung der Oo-/Zysten durch Zentrifugation, Separierung durch Flotation mit einer Saccharose-Lösung und Darstellung der Zysten mittels einer indirekten Immunfluoreszenz. Für *Cryptosporidium* Oozysten und *Giardia* Zysten konnte eine Gesamtreduktion von durchschnittlich 2 Logarithmusstufen in den einzelnen Kopplungen der Anlage Langenreichenbach erzielt werden. Ein als Nebenbefund beprobter Abwasserteich in Containerbauweise zeigte keine relevante Reinigungsleistung. In der Anlage Belzig lag die durchschnittliche Gesamtreduktion bei 2,8 Log-Stufen.

Entsprechend vorgegebener Normen und Richtlinien (DIN 19650, WHO 1989) konnte eine Bewertung der Eignung als Bewässerungswasser nur eingeschränkt getroffen werden. Neben einer bakteriologischen Diagnostik ist aufgrund der Befunde auch eine parasitologische Untersuchung im Sinne einer Indikatorfunktion, zumindest bei bekanntermaßen hohen Belastungen des Abwassers, zu empfehlen.

---

Redder, Andreas: Reduktionsleistung von Pflanzenkläranlagen hinsichtlich Parasitenzysten von *Cryptosporidium parvum* und *Giardia lamblia*.  
Halle, Univ., Med. Fak., Diss., 79 Seiten, 2006

---

**Inhaltsverzeichnis**

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1	Grundlagen der Abwasserbehandlung	1
1.2	Dezentrale Abwasserreinigung	3
1.3	Aufbau und Funktionsweise einer Pflanzenkläranlage	4
1.4	Wasserassoziierte Parasitosen	6
<b>2</b>	<b>Zielsetzung der Arbeit</b>	<b>7</b>
<b>3</b>	<b>Material und Methodik</b>	<b>8</b>
3.1	Beprobte Anlagen	8
3.1.1	Pilotanlage Langenreichenbach	8
3.1.2	Pflanzenkläranlage Belzig	11
3.2	Untersuchte Parameter	11
3.2.1	<i>Giardia</i> Zysten	11
3.2.2	<i>Cryptosporidium</i> Oozysten	15
3.3	Probenverarbeitung	18
3.3.1	Probenahme	18
3.3.2	Elution des Filters	20
3.3.3	Konzentrierung der Parasiten	22
3.3.4	Reinigung der Proben	23
3.3.5	Markierung der Proben	25
3.4	Auswertung	27
3.5	Statistik	27
3.6	Kontrollen	28
3.6.1	Ermittlung der Oo-/Zystenkonzentration in der Positivkontrolle	28
3.6.2	Bestimmung der Nachweisgrenze	28
3.6.3	Positivkontrollen	28
3.6.4	Negativkontrollen	28
3.6.5	Ermittlung der Wiederfindungsrate	29
3.7	Umfang der Untersuchungen	29
<b>4</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>31</b>
4.1	Ergebnisse der Untersuchungen der Pilotanlage Langenreichenbach	31
4.1.1	<i>Giardia</i> Zysten	31
4.1.2	<i>Cryptosporidium</i> Oozysten	33

4.1.3	Darstellung der gesamten Parasitenlast	35
4.2	Ergebnisse der Untersuchungen der Praxisanlage Belzig	38
4.2.1	<i>Giardia</i> Zysten	38
4.2.2	<i>Cryptosporidium</i> Oozysten	39
4.2.3	Ergebnisse der Untersuchung	40
4.3	Zusammenfassung der Ergebnisse	41
4.4	Ergebnisse der Qualitätskontrolle	42
4.4.1	Negativkontrollen	42
4.4.2	Positivkontrollen	42
4.4.3	Ermittlung der Wiederfindungsrate	43
4.4.4	Positivkontrollen der Färbungen	44
<b>5</b>	<b>Diskussion</b>	<b>45</b>
5.1	Auswahl der untersuchten parasitologischen Parameter	46
5.2	Bewertung der Ergebnisse	46
5.2.1	Pilotanlage Langenreichenbach	46
5.2.2	Praxisanlage Belzig	47
5.2.3	Vergleich mit Ergebnissen aus anderen naturnahen Abwasseraufbereitungsverfahren	47
5.2.4	Vergleich mit Ergebnissen aus konventionellen Kläranlagen	49
5.2.5	Vergleich mit anderen mikrobiologischen Parametern	50
5.2.6	Mehranreicherung von Oo-/Zysten	52
5.3	Einfluss verschiedener Variablen auf die Reinigungsleistung	53
5.3.1	Einfluss der Bepflanzung auf die Reinigungsleistung	53
5.3.2	Einfluss der Bodenmatrix auf die Keimreduktion	53
5.4	Reinigungsleistungen hinsichtlich chemischer Parameter in bewachsenen Bodenfiltern	54
5.5	Diskussion der verwendeten Methode	55
5.5.1	Wahl des Flotationsmittels	55
5.5.2	Vitalitäts- bzw. Infektiösitätsüberprüfung	55
5.5.3	Wiederfindungsrate	57
5.6	Notwendigkeit systematischer Erfassung von wasserassoziierten Parasitosen	58
5.7	Weiterführende parasitologische Untersuchungen	59

<b>6</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>60</b>
<b>7</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>63</b>
7.1	Eigene Veröffentlichungen	72
<b>8</b>	<b>Anhang</b>	<b>73</b>
	Anhang 1	73
	Anhang 2	74
	Anhang 3	75
	Anhang 4	76
<b>9</b>	<b>Thesen</b>	<b>77</b>

**Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen, Symbole und Einheiten**

Abb.	Abbildung
AFNOR	Association Française de Normalisation
APHA	American Public Health Association
ATV	Abwassertechnische Vereinigung e.V. (Deutschland)
BioStoffV	Biostoffverordnung
BMBF	Bundesministerium für Bildung und Forschung
BSB <sub>5</sub>	Biochemischer Sauerstoffbedarf in fünf Tagen
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CSB	Chemischer Sauerstoffbedarf
d. h.	dass heißt
DABCO	1,4-Diazabicyclo(2.2.2)octam
DAPI	4,6-Diamidino-2-phenylindoldihydrochlorid
DBU	Deutsches Bundesumweltamt
DIN	Deutsche Industrie-Norm
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EG	Europäische Gemeinschaften, heute: Europäische Union
et al.	et alii
EW	Einwohnerwert
EWG	Europäische Wirtschaftsgemeinschaft
FITC	Fluoreszeinisothiocyanat
g	Ortsfaktor: $g = 9,81 \text{ m/s}^2$
ggf.	gegebenenfalls
i. d. R.	in der Regel
ISO	International Organization for Standardization
KW	Kalenderwoche
MPN	most probable number
MW	Mittelwert
NGS	Normal Goat Serum
PCR	Polymerase-Chain-Reaction
PBS	Phosphate buffered saline

PE	Polyethylen
pH	pH-Wert
PI	Propidumiodid
RF	Reduktionsfaktor
s	Sekunde
SA	Standardabweichung
SDS	Sodium-Dodecyl-Sulfat
spp.	species
Tab.	Tabelle
u. a.	und andere
UFZ	Umweltforschungszentrum, hier: Leipzig-Halle GmbH
US EPA	United States Environmental Protection Agency
vgl.	vergleiche
WHO	World Health Organisation
z. B.	zum Beispiel
z. T.	zum Teil

### **Chemische Symbole**

C-	Kohlenstoff
N-	Stickstoff
NH <sub>4</sub> -N	Ammonium-Stickstoff
P-	Phosphor

### **Maßeinheiten**

°C	Grad Celsius
%	Prozent
L	Liter
L/min	Liter pro Min
m <sup>2</sup>	Quadratmeter
µm	Mikrometer
µl	Mikroliter
min	Minute
min <sup>-1</sup>	pro Minute
ml	Milliliter

**Glossar**

- BSB<sub>5</sub>** Biochemischer Sauerstoffbedarf in fünf Tagen: Kenngröße für den Verschmutzungsgrad von Gewässern und Abwässern mit organischen Stoffen, Summenparameter
- CSB** Chemischer Sauerstoffbedarf: Kenngröße für den Verschmutzungsgrad von Gewässern und Abwässern mit organischen Stoffen, Summenparameter
- EW** Einwohnerwert: setzt sich aus der tatsächlichen Einwohnerzahl EZ und den Einwohnerequivalenten EGW zusammen (Abwasseranfall aus Industrie, Landwirtschaft usw.).  $EW = EZ + EGW$ . Ein Einwohnerequivalent entspricht in Deutschland einem Äquivalent von 60 g BSB<sub>5</sub> pro Tag.
- pH** pH-Wert: Maßzahl für die in Lösung enthaltene Konzentration an Wasserstoffionen, das heißt, für den sauren oder basischen Charakter einer Lösung.
- RF** Reduktionsfaktor: Faktor, um welche die Konzentration im Ablauf des jeweiligen Beetes verringert wurde, bezogen auf die Konzentration im Zulauf (angegeben als dekadischer Logarithmus).

## **1 Einleitung**

### **1.1 Grundlagen der Abwasserbehandlung**

Wasser ist ein unentbehrlicher Grundstoff aller Lebewesen. Der weltweite Bedarf an Trink-, Bewässerungs- sowie Betriebswasser für die Industrie steigt Jahr für Jahr erheblich an. In vielen Entwicklungs- und Schwellenländern herrscht aufgrund demografischer Bedingungen sowie rascher industrieller Entwicklung (z. B. Vietnam, China) eine ausgeprägte Wasserknappheit, so dass vielerorts auch ungereinigtes Abwasser zur Bewässerung von Feldern und Plantagen herangezogen werden muss (Kubin 2004). Eine effektive und kostengünstige Abwasserbehandlung, die im Rahmen des Wasserverwertungskreislaufes die Aufgabe hat, Schäden durch Abwasserverschmutzung von Gewässern, Grundwasser und Landschaften (z. B. infektionsgefährdende Kontamination von abwassergedüngten Freiland-Kulturen) zu vermeiden, ist demzufolge in vielen Ländern von existentieller Bedeutung.

Während der Abwasserbehandlung laufen Absterbe- und Inaktivierungsprozesse sowie weitere biologische Prozesse ab, die zur Reduktion der Erregerlast im Abwasser und damit zur Elimination pathogener und fakultativ pathogener Keime führen. Eine gezielte Elimination von Krankheitserregern im Abwasser wird üblicherweise bis auf wenige Ausnahmen (gezielte Abwasserdesinfektion im Seuchenfall, z. B. durch Chlorung) wegen der damit verbundenen toxikologischen Risiken für die Umwelt nicht durchgeführt.

Kommunale Abwässer enthalten die verschiedensten Arten von Krankheitserregern. Mit Ausnahme derjenigen der Sicherheitsstufe 3 und 4 (BiostoffV) gelten für die Einleitung von Abwasser in ein Gewässer bzw. in die Kanalisation in Deutschland bisher keine Grenz- oder Richtwerte für Bakterien, Viren oder Protozoen und auch keine generelle Forderung zur Durchführung einer Abwasserdesinfektion (Kubin 2004). Dies wird damit begründet, dass bei störungsfreiem Betrieb der Kläranlagen pathogene und fakultativ pathogene Erreger soweit reduziert werden, dass von ihnen kein Krankheitsrisiko mehr ausgeht.

Da üblicherweise eine weitere Verminderung der Erregerkonzentration durch Verdünnung in der Kläranlage nachgeschalteten Fließgewässern sowie bei der Aufreinigung nach Passage der Sedimente (Siebeffekt) stattfindet, sind selbst bei der Trinkwassergewinnung über Uferfiltrate keine pathogenen Mikroorganismen mehr zu erwarten. Andere Bedingungen gelten, wenn das Abwasser gezielt für Bewässerungszwecke eingesetzt werden soll, was in Deutschland wegen genügender Wasserreserven zur Zeit kaum erforderlich ist. Soll Abwasser zu Düngezwecken verwendet werden, sind in Deutschland Grenzwerte entsprechend den mikrobiologischen Anforderungen an Bewässerungswasser nach DIN 19650 (1999) sowie technische Sicherheitsanforderungen (z. B. Art der Ausbringung, Schutz des Personals) einzuhalten (vgl. Anhang 2, BioStoffV).

In den Ländern mit Wasserknappheit kommt der Abwasserbehandlung eine zentrale Bedeutung zu, weil das Abwasser meist direkt nach der Aufbereitung an Ort und Stelle (meist kleine Anlagen) zur Düngung verwendet werden soll. Die Aufbereitung in der Kläranlage muss technisch so erfolgen, dass mindestens die nationalen Empfehlungen und die Standards für hygienisch unbedenkliches Wasser für Bewässerungszwecke eingehalten werden. Häufig wird hierfür eine Empfehlung der WHO von 1989 zugrunde gelegt (vgl. Anhang 3).

Wenn in Ländern mit Wasserknappheit Einfachtechnologien bzw. preiswerte Alternativen, wie z. B. Pflanzenkläranlagen, zu konventionellen Kläranlagen erwogen werden, muss deshalb geprüft werden, inwieweit

- 1) die Anlagen die biochemisch/physikalisch erwünschten/geforderten Klärleistungen erbringen,
- 2) die Hygienisierungsleistung nationalen bzw. internationalen Anforderungen an Bewässerungsqualität entspricht,
- 3) die landwirtschaftlichen Produkte im Sinne der Qualitätssicherung nach Düngung de facto hygienisch unbedenklich sind.

## 1.2 Dezentrale Abwasserreinigung

Dezentrale Abwasserreinigung bedeutet, dass das Abwasser dort gereinigt wird, wo es entsteht (Kluttig 2003). Für die Abwasserentsorgung im ländlichen Bereich stellen dezentrale Abwasserreinigungsanlagen insofern eine wirtschaftliche Alternative dar, da der Anschluss an konventionelle Kläranlagen über kilometerlange Abwasserkanäle entfällt (Hagendorf 1997). Von entscheidender Bedeutung für die Realisierung dezentraler Abwasserreinigung ist, dass diese in Deutschland seit einigen Jahren rechtlich anerkannt werden und dementsprechend vom Anschluss einzelner Gemeindegebiete an das öffentliche Kanalsystem abgesehen werden kann (Bock und Robisch 2002).

In einer Richtlinie des Europäischen Rates vom 21. Mai 1991 über die Behandlung von kommunalem Abwasser (91/271/EWG) schreibt Artikel 3, Absatz 1 vor, dass „die Mitgliedsstaaten dafür Sorge tragen, dass alle Gemeinden bis zu folgendem Zeitpunkt mit einer Kanalisation ausgestattet werden:

...bis zum 31. Dezember 2000 in Gemeinden mit mehr als 15000 Einwohnerwerten (EW)

...bis zum 31. Dezember 2005 in Gemeinden von 2000 bis 15000 EW.“

In der oben zitierten Richtlinie der Europäischen Union über die Behandlung kommunalen Abwassers von 1991 heißt es in Artikel 3, Absatz 1 weiter: „Ist die Einrichtung einer Kanalisation nicht gerechtfertigt, weil sie entweder keinen Nutzen für die Umwelt mit sich bringen würde oder mit übermäßigen Kosten verbunden wäre, so sind individuelle Systeme oder andere geeignete Maßnahmen erforderlich, die das gleiche Umweltschutzniveau gewährleisten.“ In §18a, Absatz 1, des deutschen Wasserhaushaltsgesetzes heißt es dazu: „Abwasser ist so zu beseitigen, dass das Wohl der Allgemeinheit nicht beeinträchtigt wird. Dem Wohl der Allgemeinheit kann auch eine Beseitigung von häuslichem Abwasser durch dezentrale Anlagen entsprechen.“

Danach darf Abwasser mit Hilfe dezentraler Abwasserbehandlungsanlagen auf Dauer entsorgt werden, wenn Bau und Betrieb Reinigungsleistungen, die keine Gesundheitsgefährdung mit sich bringen, gewährleisten (Bock und Robisch 2002).

Landschaftsangepasste leistungsfähige Abwasserbehandlungsverfahren gehen auf die seit den frühen 50er Jahren bekannten „Pflanzenkläranlagen“ - meist mit Schilf bewachsenen - Bodenfilter zurück. Ihr Einsatz kann ökonomisch und ökologisch vorteilhaft sein, wenn bestimmte Rahmenbedingungen wie Standortwahl, Abwasserart, Vorreinigung, Bodenfilteraufbau, Zu- und Ablaufeinrichtungen, Wartung und Betrieb beachtet werden (Hagendorf 1997).

### **1.3 Aufbau und Funktionsweise einer Pflanzenkläranlage**

Pflanzenkläranlagen (Synonyme: „bewachsene Bodenfilter“, „bepflanzte Bodenfilter“, „Filterbeete“) dienen zur biologischen Behandlung von Abwässern (z. B. von häuslichen und gewerblichen Abwässern). Bei dieser naturnahen Abwasserreinigung spielen komplexe physikalische, chemische und biologische Vorgänge eine Rolle. Es werden unterschiedliche technische Verfahren und Bauweisen eingesetzt, die von einfachen bepflanzten Sandfilterstreifen bis hin zu großflächigen Beetanlagen mit computergesteuerter Abwasserbeschickung und Nachklärteich reichen.

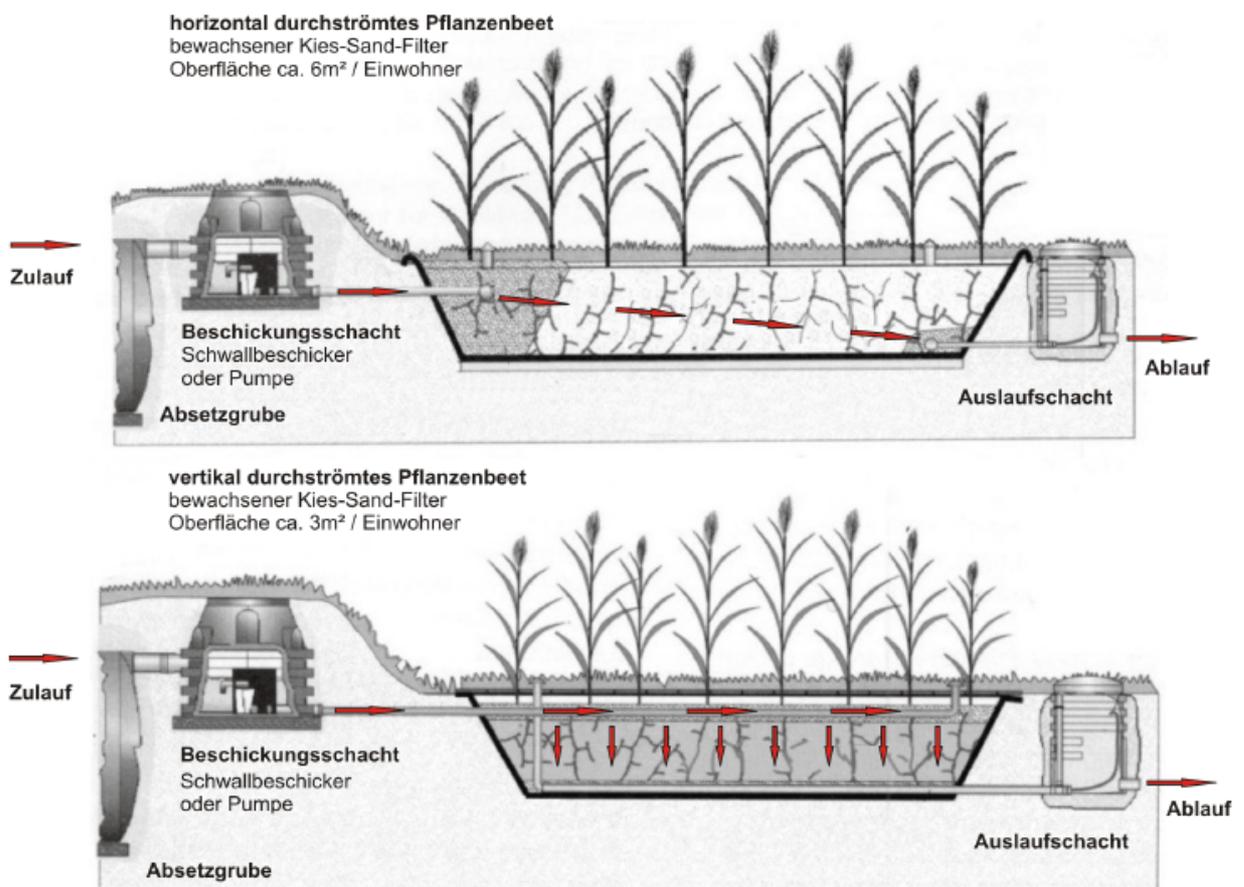
In den letzten zwanzig Jahren hat die Zahl von Pflanzenkläranlagen in Deutschland deutlich zugenommen. Genaue Daten über die Anzahl von Kleinkläranlagen und die daran angeschlossenen Einwohner standen lange Zeit nicht zur Verfügung (Oldenburg und Otterpohl 1997). Nach entsprechenden Angaben des Statistischen Landesamtes des Freistaates Sachsen und Schätzungen des Sächsischen Staatsministeriums für Umwelt und Landwirtschaft wurde 2003 das Abwasser von rund 1 Million Einwohner in Sachsen nicht in öffentlichen Kläranlagen behandelt, wobei für ca. 500 000 Einwohner über rund 100 000 Kleinkläranlagen und ca. 148 000 Einwohner über abflusslose Gruben entwässern (Förtsch und Jeschke 2003). Das Bayerische Landesamt für Umwelt schätzt, dass in Bayern langfristig ca. 100 000 Kleinkläranlagen für 500 000 Einwohner privat betrieben werden, wobei die Anzahl an naturnahen Abwasserteichen und bepflanzten Bodenfiltern in Bayern gegenwärtig auf ca. 1000 geschätzt wird (Seyler 2006).

Bei der Vielzahl unterschiedlichster Verfahrenstechniken und Anlagentypen lassen sich inzwischen bei fachgerechter Planung und konsequenter Wartung in der Regel den Normen entsprechende Ergebnisse bezüglich der Reinigungsleistung gegenüber chemischen Inhaltsstoffen erzielen.

Seit geraumer Zeit wird die Reduktion von Fäkal-Bakterien (z. B. *E. coli*, Coliforme und Enterokokken) in Pflanzenkläranlagen untersucht, um eine Eignung des gereinigten Abwasser für diverse Zwecke zu überprüfen (Mathys 1998, Quiñónez-Díaz et al. 2001, Hagendorf et al. 2002).

Zur Beurteilung hinsichtlich des Auftretens und der Reduktion parasitärer Erreger in Pflanzenkläranlagen gibt es bisher weltweit kaum wissenschaftliche Daten (Mathys 1998, Hagendorf et al. 2002).

Die mit Abstand gebräuchlichsten Bodenfilter sind horizontal oder vertikal durchströmte Bodenfilter mit einem Beet oder mehreren parallel oder in Reihe geschalteten Beeten (Abb. 1). Neben der Vorklärung und der biologischen Reinigungsstufe wird bei Pflanzenkläranlagen ein Beschickungs- und ein Sammel- bzw. Auslaufschacht benötigt. Die Vorklärung kann in Mehrkammerabsetzgruben, Faulgruben oder Rotteanlagen geschehen.



**Abb. 1: Aufbau und Funktion horizontal und vertikal durchströmter Pflanzenkläranlagen (nach Schlesinger 2003)**

Die Beschickung des Bodenfilters geschieht in Intervallen entweder über eine Pumpe oder einen Verteilerschacht mit Kippvorrichtung. Die biologische Reinigungsstufe ist ein durch Kunststofffolie oder Tonschicht abgedichteter Bodenkörper (Kiese, Sande, ca. 80 bis 100 cm mächtig), welcher mit Schilf (z. B. *Phragmites australis*) und / oder Binsen bepflanzt ist und zusätzlich durch ein Belüftungssystem mit Sauerstoff versorgt werden kann (vgl. Schlesinger 2003).

#### **1.4. Wasserassoziierte Parasitosen**

Infektionskrankheiten, meist Enteritiden und Hepatitiden, können durch kontaminiertes Trink-, Abwasser und Badewasser übertragen werden, z. B. Hepatitis A, Cholera, Ruhr und Typhus (Hellenbrand 2003). Neben bakteriellen und viralen Erregern kommen nicht selten Parasiten als über Wasser verbreitete Krankheitserreger in Industriestaaten und Entwicklungsländern vor. Im Gegensatz zu den bakteriellen und viralen Krankheitserregern besitzen Parasiten eine besondere Umweltresistenz und werden z. B. durch viele üblicherweise eingesetzte Desinfektionsmittel kaum abgetötet (Schoenen et al. 2001).

Dass die beiden einzelligen Parasiten *Cryptosporidium parvum* und *Giardia lamblia* eine wichtige humanmedizinische Bedeutung haben, ist seit fast 30 Jahren bekannt; mehrere trinkwasserbedingte Ausbrüche von Durchfallerkrankungen vor allem durch Cryptosporidien sind in den 80-er und 90-er Jahren beschrieben worden (Thielman und Guerrant 2004, Koch 2004).

Die wohl größte beschriebene Epidemie trat 1993 in Milwaukee, Wisconsin, USA auf, in deren Rahmen aufgrund unzureichender Trinkwasseraufbereitung über 400.000 Menschen erkrankten und Kosten von insgesamt über \$ 96,2 Mio. entstanden (Corso et al. 2003).

Die offizielle Anerkennung der Parasiten als trinkwasserübertragene Krankheitserreger ist spätestens seit 1996 mit der Aufnahme in die Guidelines for Drinking Water Quality der Weltgesundheitsorganisation WHO erfolgt (vgl. Koch 2004).

## 2 Zielsetzung

Die vorliegende Arbeit ist Teil eines Verbundprojekts zur „Keimzahlreduktion von Abwässern mit Pflanzenkläranlagen“, welches vom Institut für Hygiene der Medizinischen Fakultät der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg im Auftrag des BMBF durchgeführt wurde (Förderkennzeichen 02 WA 0108).

Die wesentlichen technischen Voraussetzungen für die Durchführung des Projektes wurden durch den Bau des Pilotanlagensystems in Langenreichenbach durch den Projektpartner Umweltforschungszentrum Leipzig-Halle GmbH und des Pilotanlagensystems Xochitla in Mexiko durch den Projektpartner Umweltschutz Nord GmbH geschaffen. Für die Untersuchungen im Praxismaßstab wurde die Kläranlage der Waldsiedlung in Belzig (Betreiber ÖKOTEC GmbH) genutzt. Diese Anlage wird seit 1993 betrieben.

Gemeinsames Ziel dieser Forschungsarbeiten war die Entwicklung und Anpassung von effizienten und kostengünstigen Verfahren zur Reduzierung von Krankheitserregern und Parasitenstadien in kommunalen Abwässern von Industrie- und Entwicklungsländern. Das Augenmerk der Untersuchungen lag neben den genannten Parasiten auch auf verschiedenen bakteriellen Indikatororganismen und einigen orientierenden chemischen Parametern. Die Parameter wurden so gewählt, dass im wesentlichen die Ergebnisse aus den Zwischenberichten des DBU-Projektes „Bewachsene Bodenfilter als Verfahren der Biotechnologie“ in Projektarbeit diskutiert und berücksichtigt werden konnten:

- DBU-Sachstandsberichte (1999, 2000, AZ: 14178-07) „Bewachsene Bodenfilter als Verfahren der Biotechnologie: Mikrobiologische Untersuchungen zur seuchenhygienischen Bewertung naturnaher Abwasserbehandlungsanlagen“
- DBU-Abschlussbericht „Bewachsene Bodenfilter“ des Teilprojektes zu mikrobiologischen Untersuchungen (Hagendorf et al. 2002)

Ziel der hier vorgelegten Arbeit war die Darstellung der Reduktion von *Cryptosporidium* Oozysten und *Giardia* Zysten in unterschiedlichen Anlagentypen von Pflanzenkläranlagen im Pilotmaßstab in Langenreichenbach (Sachsen) und in einer bereits in Betrieb befindlichen Anlage in Belzig (Brandenburg). Darüber hinaus war es Ziel, die dargestellten Ergebnisse hinsichtlich der Eignung für Bewässerungszwecke zu bewerten. Hierfür wurden Empfehlungen der WHO von 1989 und Richtlinien/Normen nach DIN 19650 von 1999 zugrundegelegt (vgl. Anhang 2 und 3).

### 3 Material und Methode

Das dieser Arbeit zugrunde liegende Vorhaben wurde vom Bundesministerium für Bildung und Forschung unter dem Kennzeichen 02WA0108 gefördert.

Die Probennahme erfolgte monatlich in der Pilotanlage des UFZ Leipzig-Halle GmbH in Langenreichenbach (Sachsen) und in einer 1993 in Betrieb genommenen Praxisanlage der Firma Ökotec GmbH in Belzig (Brandenburg).

Wir führten die Untersuchung basierend auf einer Methode der US EPA von 1995 (EPA/814-B-95-003) durch. Mittels eines Wickelfilters und einer Saugpumpe wurde ein Volumen von etwa 100 L Abwasser pro Filter filtriert. Die Methode bestand im wesentlichen aus drei Hauptschritten:

- Konzentrierung der Parasiten in einem Pellet durch Zentrifugation,
- Reinigung des Untersuchungsmaterials durch Flotation mit einer Saccharose-Lösung und
- Markierung der Zysten mittels indirekter Immunfluoreszenz (Falabi et al. 2002; vgl. Anhang 1).

#### 3.1 Beprobte Anlagen

##### 3.1.1 Pilotanlage Langenreichenbach

Die Pilotanlage des UFZ Leipzig/Halle GmbH in Langenreichenbach (Sachsen) bestand aus 15 Becken von je 6 m<sup>2</sup> Fläche, in denen das Abwasser mit unterschiedlichen Technologien gereinigt wurde (Abb. 2; vgl. Kuschik et al. 2003). Als Substrat wurde Sand bzw. ein Sand/Blähton-Gemisch verwendet. Die Beete wurden mit Schilf, Helophyten der Gattung *Phragmites australis*, bepflanzt. Um den Einfluss der Bepflanzung auf die Reinigungsleistung beurteilen zu können, blieben zwei Beete unbepflanzt.

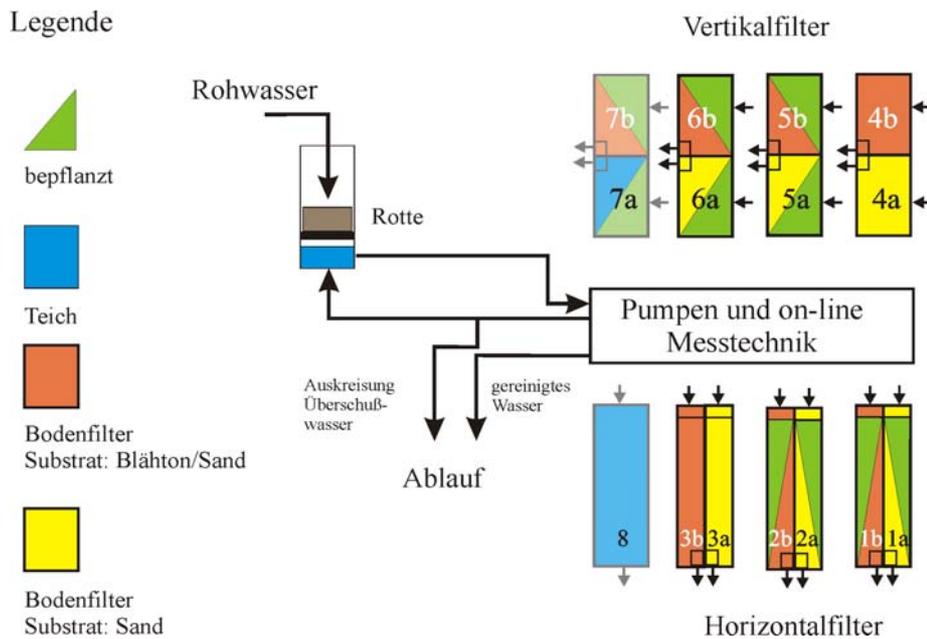
Das Abwasser stammte aus dem nahegelegenen Langenreichenbach und weiteren Gemeinden in der näheren Umgebung. Das Einzugsgebiet umfasste eine Einwohnerzahl von etwa 8000 Einwohnern. Neben der Landwirtschaft ist hier auch eine Wurstfabrik angesiedelt und ein Landwirt, der als Direktverwerter Fleischkonserven herstellt.

Das Abwasser wurde unbehandelt aus dem Zulauf der ansässigen kommunalen Kläranlage in die Pilotanlage geleitet, dort in der Rotte mechanisch vorgereinigt und anschließend über eine Ringleitung im Technikraum parallel in die einzelnen Beete geschickt.



**Abb. 2: UFZ-Pilotanlage in Langenreichenbach (Sachsen)  
(Foto: André Kuenzelmann, UFZ)**

Die Beete wurden so gekoppelt, dass der Ablauf des ersten Beetes der Zulauf des zweiten Beetes war. So konnte die Reinigungsleistung in Mehrkammerklärgruben simuliert werden. Für die parasitologischen Untersuchungen wurden die Beete 5b mit 1a, 6a mit 1b und 3b mit 3a verbunden, so dass drei unterschiedliche Anlagentypen simuliert wurden. Darüber hinaus wurden als Referenz monatlich Proben aus dem Abfluss des Beckens 8, einem unbelüfteten Abwasserteich ohne Bepflanzung gezogen (Abb. 3). Die Kopplungen, das jeweilige System, die verwendete Substratart und die Art der Bepflanzung der einzelnen Beete für die parasitologischen Untersuchungen sind in Tabelle 1 dargestellt (vgl. Baeder-Bederski 1999 und 2005).



**Abb. 3: Schematische Darstellung der Pilotanlage Langenreichenbach (nach Baeder-Bederski 2005)**

**Tab. 1: Technische Konstruktionsmerkmale der beprobten Beete in der Pilotanlage Langenreichenbach**

Kopplung	Beet	System	Substrat	Bepflanzung
<b>I</b>	1. Beet: 3b	Horizontalfilter	Blähton/Sand	keine
	2. Beet: 3a	Horizontalfilter	Sand	keine
<b>II</b>	1. Beet: 5b	Vertikalfilter	Blähton/Sand	<i>Phragmites australis</i>
	2. Beet: 1a	Horizontalfilter	Sand	<i>Phragmites australis</i>
<b>III</b>	1. Beet: 6a	Vertikalfilter	Sand	<i>Phragmites australis</i>
	2. Beet: 1b	Horizontalfilter	Blähton/Sand	<i>Phragmites australis</i>
	8	unbelüfteter Abwasserteich	ohne	keine

Das Anlagendesign der Pilotanlage Langenreichenbach basiert im wesentlichen auf den Empfehlungen und Normen entsprechend den allgemein anerkannten Regeln der Technik (DIN 4261-1, ATV A 262 1998).

Die Planung erfolgte durch das UFZ und entsprechend der Ausführungsplanung der Umweltschutz-Nord GmbH (Umweltschutz Nord GmbH 2000).

### **3.1.2 Pflanzenkläranlage Belzig**

Die Anlage in Belzig wurde 1993 in Betrieb genommen. Es handelt sich hierbei um eine kommunale Pflanzenkläranlage mit einem zweistufigen Filter-System mit der Möglichkeit zur Rezirkulation (Abb. 4).

Die Anlage erhält das Abwasser aus einer Wohnsiedlung mit Seminarzentrum in Belzig mit insgesamt bis zu 300 EW (Einwohner sowie Gäste des Seminargebäudes).

## **3.2 Untersuchte Parameter**

### **3.2.1 *Giardia* Zysten**

#### **3.2.1.1 Erregerarten und Vorkommen**

Innerhalb der Gattung *Giardia* unterscheidet man mehrere Arten (*Giardia lamblia*, *Giardia muris*, *Giardia agilis*, u. a.), welche sich morphologisch und molekularbiologisch unterscheiden.

*Giardia lamblia* (Synonyma: *Giardia intestinalis*, *Giardia duodenalis*) ist weltweit verbreitet mit Prävalenzraten in der europäischen Normalbevölkerung um 3-4% und mit sehr hohen Raten (bis über 50%) in vielen Entwicklungsländern. Besonders betroffen sind hierbei Kinder bis zu einem Alter von fünf Jahren (Eckert 1998, Garcia 2001).

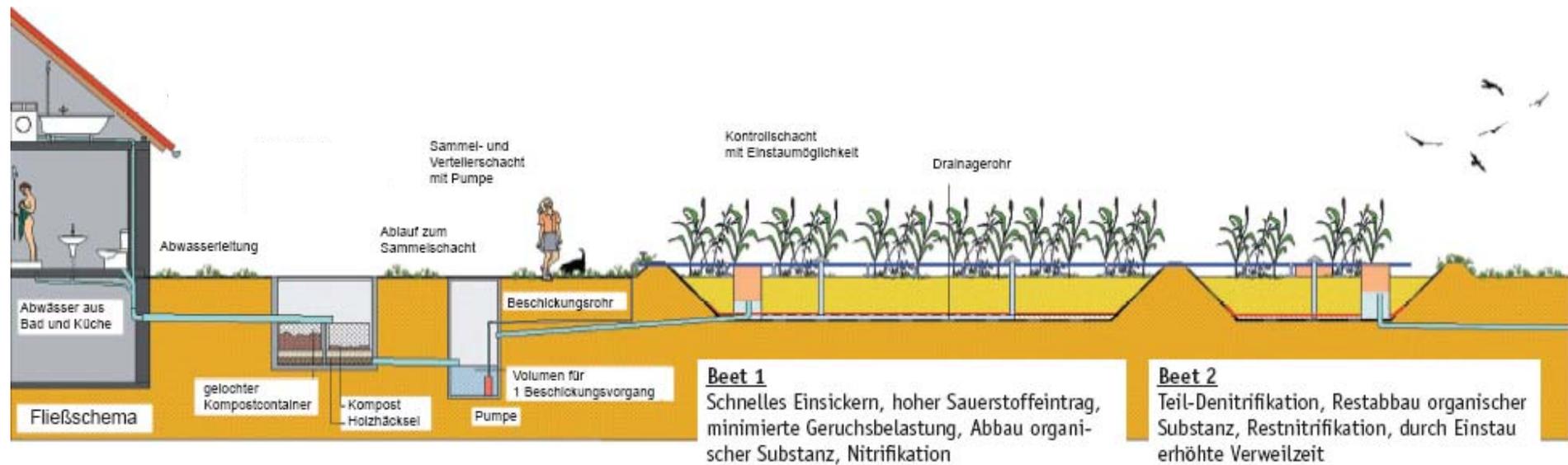


Abb. 4: Bewachsener Bodenfilter in Belgiz (modifiziert nach Ökotec GmbH Quelle: [www.oekotec.de](http://www.oekotec.de), 07.05.06)

### 3.2.1.2 Epidemiologie

Neben infizierten Menschen zählen Haus-, Nutz und Wildtiere (insbesondere Biber und Bisamratten) zum Erregerreservoir. Darüber hinaus müssen auch kontaminiertes Trink- und Badewasser, gelegentlich auch Lebensmittel in Betracht gezogen werden. (Schulze 1996, Exner et al. 2001). Die Ansteckung erfolgt auf dem fäkal-oralen Weg.

Die Zysten zeichnen sich, ähnlich wie die *Cryptosporidium* Oozysten, durch eine hohe Widerstandsfähigkeit gegenüber äußeren Einflüssen aus und sind in feuchter Umgebung bei 21 °C bis zu drei Wochen, in kühlem Wasser (8 °C) etwa 3 Monate lebensfähig (Eckert 1998). *Giardia* Zysten können in klärschlammgedüngtem Boden bis zu 12 Monate und in Klärschlamm sogar über 12 Monate überleben (Mathys 1998).

### 3.2.1.3 Morphologie und Entwicklung

Morphologisch lassen sich vegetative Stadien (Trophoziten) und Zysten unterscheiden. Die Trophoziten finden sich auf der Schleimhaut des Dünndarms und in seltenen Fällen auch in der Gallenblase. Die Trophoziten sind 9-21 µm lang und 5-12 µm dick und besitzen 8 Geißeln. Die Vermehrung erfolgt durch Längsteilung der Trophoziten (Abb. 7).

*Giardia lamblia* bildet ovale Zysten (8-14 x 8-10 µm), die 4 Kerne, Geißeln und sichelförmige sog. Mediankörper enthalten (Abb. 8; Eckert 1998).

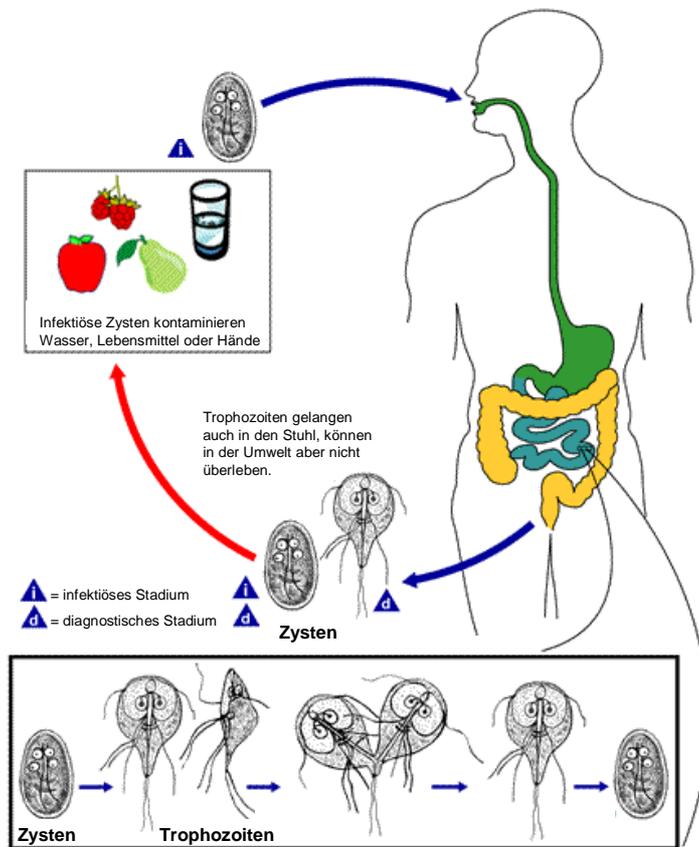


Abb. 7: Entwicklungszyklus von *Giardia lamblia* (modifiziert nach [www.dpd.cdc.gov](http://www.dpd.cdc.gov), 28.11.05)

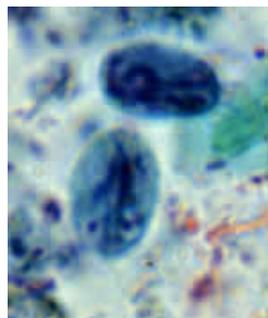


Abb. 8: *Giardia* Zysten Quelle: CDC Centers for Disease Control and Prevention, [www.dpd.cdc.gov](http://www.dpd.cdc.gov); 12.05.06

### **3.2.1.4 Krankheitsbild**

Die Infektionsdosis ist gering, beim Menschen reichen weniger als zehn Zysten aus, um eine Infektion zu verursachen. Die Inkubationszeit beträgt drei bis 25 Tage (Median sieben bis zehn Tage; Exner et al. 2001).

Symptome einer Giardiasis sind gastrointestinale Beschwerden mit Durchfall, Blähungen, Gewichtsverlust, Übelkeit und Appetitlosigkeit. In seltenen Fällen kann es zu einer Entzündung der Gallenblase kommen (Eckert 1998, Garcia 2001).

Neben den symptomatischen Infektionen werden auch asymptomatische Verläufe beschrieben, insbesondere bei Kindern und Personen mit früher durchgemachten Infektionen. Die Erkrankung ist i. d. R. selbstlimitierend. Unabhängig davon gibt es auch hier bei immunsupprimierten Patienten schwere und chronische Verläufe. Zur Therapie werden Nitroimidazol-Verbindungen eingesetzt (vgl. Exner et al. 2001).

## **3.2.2 *Cryptosporidium* Oozysten**

### **3.2.2.1 Erregerarten und Vorkommen**

Es gibt verschiedene Arten der Gattung *Cryptosporidium*, welche vorwiegend Parasiten des Darmes (selten der Lunge und anderer Organe) sind. Beim Menschen und zahlreichen Säugetierarten (u. a. Wiederkäuer, Hund, Katze, Kaninchen, Nager) kommt die Spezies *Cryptosporidium parvum* (Abb. 5) vor und scheint für diese Organismen infektiös zu sein (vgl. Exner et al. 2001).

Die Prävalenz von *Cryptosporidium parvum* beträgt in Europa bei immunkompetenten Personen etwa 2-4%, bei HIV-Infizierten, d. h. immuninkompetenten Patienten, dagegen bis zu 20%. Unter den Haustieren weisen junge Kälber besonders hohe Prävalenzen (bis zu 100%) auf (Eckert 1998).

### 3.2.2.2 Epidemiologie

Neben Haustieren und landwirtschaftlichen Nutztieren sind auch wildlebende Tiere als Infektionsquelle beschrieben. Cryptosporidien können durch Kontakt von einem infizierten Menschen oder Tier übertragen werden. Weitere infektionsepidemiologisch relevante Infektionsquellen sind Badewasser, kontaminierte Lebensmittel und insbesondere kontaminiertes Trinkwasser (Exner et al. 2001, Garcia 2001).

Die Oozysten zeichnen sich durch eine hohe Tenazität, d. h. eine großen Widerstandsfähigkeit gegenüber äußeren Einflüssen, aus. Deswegen können sie im wässrigen Milieu Monate überleben. Sie sind nach Ausscheidung uneingeschränkt infektiös, weisen eine hohe Chlorresistenz auf (Exner et al. 2001) und sind in Klärschlamm über 18 Tage und in klärschlammgedüngten Boden sogar über 30 Tage persistent (Mathys 1998).

### 3.2.2.3 Morphologie und Entwicklung

*Cryptosporidium parvum* parasitiert vorwiegend im Dünndarm, wo es Oozysten von 4-5 µm Durchmesser bildet. Die peroral aufgenommenen infektiösen Zysten enthalten 4 Sporozoiten. Diese werden im Dünndarm freigesetzt und dringen in den Mikrovillussaum des Darms ein, wo sie sich intrazellulär, dicht unter der Zellmembran, entwickeln (Garcia 2001).

Nach einer ungeschlechtlichen Vermehrung (Schizogonie) folgt eine geschlechtliche Phase (Gamogonie). Hierbei entstehen Oozysten, welche zu etwa 80% dickwandig und zu 20% dünnwandig sind. Bereits im Darm sporulieren die Oozysten, enthalten dann vier Sporozoiten und sind somit bereits infektiös. Untersuchungen an Tieren haben gezeigt, dass die dünnwandigen Oozysten bereits im Wirt platzen können und somit endogene Autoinfektionen verursachen. Die dickwandigen Oozysten werden nach kurzer Präpatenz (2-4, gelegentlich bis 12 Tage) mit den Fäzes ausgeschieden und können neue Wirte infizieren (Abb. 6; vgl. Eckert 1998).

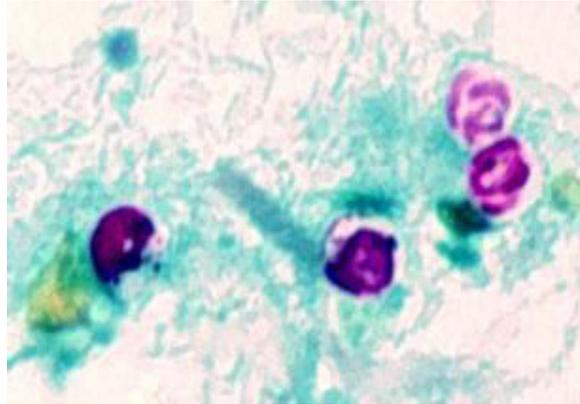


Abb. 5: Oozysten von *Cryptosporidium parvum*, Größe 4,2-5,4  $\mu\text{m}$  Durchmesser; Quelle: CDC Centers for Disease Control and Prevention, [www.dpd.cdc.gov](http://www.dpd.cdc.gov); 12.06.05

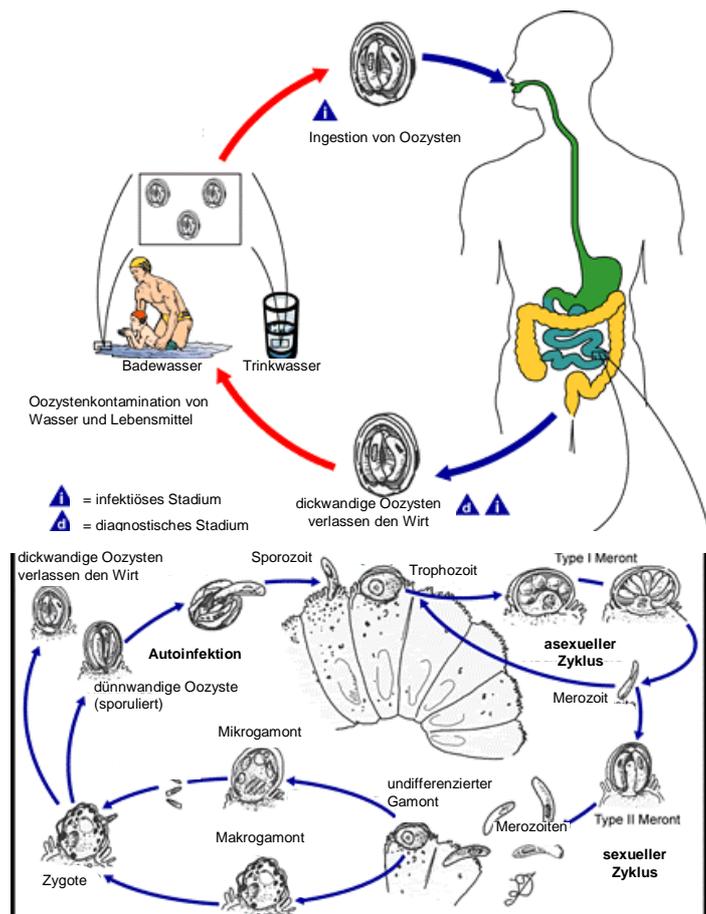


Abb. 6: Entwicklungszyklus von *Cryptosporidium parvum* (modifiziert nach [www.dpd.cdc.gov](http://www.dpd.cdc.gov), 28.11.05)

### **3.2.2.4 Krankheitsbild**

Die mittlere Infektionsdosis von Cryptosporidien Oozysten liegt zwischen 30 bis 1000 Oozysten. Die Inkubationszeit beträgt meist 7 Tage, kann aber auch bis zu vier Wochen betragen (Exner et al. 2001). Cryptosporidien verursachen beim Menschen in der Regel selbstlimitierende Diarrhoen (Schulze 1996). Der Durchfall ist wässrig, voluminös choleraähnlich und kann häufig mit anderen Symptomen wie Bauchschmerzen, Schwindel, Erbrechen und Fieber einhergehen. Bei immunsupprimierten Patienten, insbesondere HIV-Infizierten, kann der im Darm und Gallenwegsystem persistierende Parasit zu lebensbedrohlichen Infektionen mit starkem Elektrolyt- und Wasserverlust mit Schocksymptomatik führen. Eine wirksame kausale Therapie ist bisher nicht gesichert (Exner et al. 2001).

## **3.3 Probenverarbeitung**

### **3.3.1 Probenahme**

Die Proben wurden jeweils nach den einzelnen Aufbereitungsstufen der Anlagen entnommen, d. h. im einzelnen aus dem Zulauf vor und nach der mechanischen Reinigung und schließlich aus den Abläufen der entsprechenden Beete bzw. deren Kopplungen (vgl. Abb. 3; Tab. 1; Kap. 3.1.1).

#### Durchführung

Der Zulauf des Filtergehäuses wurde mit einem Saugschlauch verbunden. Eine Wasserpumpe (Gartenpumpe Gardena® 3000/4jet, Gardena Manufacturing GmbH, 89079 Ulm) wurde dem Filtergehäuse nachgeschaltet, so dass sich die Pumpe im Ablauf des Filters befand (APHA 1992, Schulze 1996). Dies reduziert die Wahrscheinlichkeit für Kreuzkontaminationen mit Zysten aus vorherigen Probenahmen (APHA 1992).

An den Ablaufschlauch der Pumpe wurde eine Wasseruhr montiert, um das Probenvolumen bestimmen zu können. Die Durchflussgeschwindigkeit konnte mit einem Kugelhahn reguliert werden (Abb. 9).

Das Filtergehäuse wurde zur Probennahme mit einem Wickelfilter der Porenweite 1 µm (Micro-Wynd® MW D-PPPY, Cuno Europe SA, Mainz; vgl. Gornik und Exner 1991, Schulze 1996) bestückt (Abb. 10). Durch das Filtergehäuse wurde das Wasser mit einer Strömungsgeschwindigkeit von etwa 10 L/min gesogen (Rose und Botzenhart 1990, Wagner und Kimming 1992).



**Abb. 9: Geräteaufbau zur parasitologischen Probenahme (Pumpe und Wasseruhr sind dem Filtergehäuse nachgeschaltet)**

Während das Abwasser durch den Filter gesaugt wurde, erfolgte eine Ablesung der Menge des durchgeflossenen Wasservolumens an der Wasseruhr. Die Filterpatronen wurden in Alufolie eingewickelt, bei +4° C gekühlt und in Kühlboxen ins Labor transportiert.

Die weitere Verarbeitung der Proben erfolgte innerhalb von 24 Stunden (US EPA 1995, 2001a und b).



**Abb. 10: Bestücken der Filterpatrone mit einem Wickelfilter, nominale Porenweite 1  $\mu\text{m}$ .**

### 3.3.2 Elution des Filters

Die Proben wurden im Labor über Nacht im Kühlschrank bei  $+4^\circ\text{C}$  gelagert und am nächsten Tag weiterverarbeitet.

Der Filter (Abb. 11) wurde mit einem desinfizierten Messer der Länge nach aufgeschnitten. Das Filtermaterial auseinander gezupft und in einen Stomacher-Beutel gegeben (Micro-Wynd® MW D-PPPY, Cuno Europe SA, Mainz, Artikelnummer: 161879). Bei der ganzen Prozedur wurden desinfizierte Einmalhandschuhe getragen.

Das Filtermaterial wurde anschließend mit 1,8 L 0,1%-iger Tween 80-Lösung (Merck KGaA, Darmstadt, Artikelnummer: 8.22187) getränkt und dreimal für jeweils 2 min in einem Stomacher (Stomacher JUMBOMIX®, Interscience, St. Nom, Frankreich) mit einer Frequenz von  $55\text{ min}^{-1}$  gewaschen (Abb. 12). Dazwischen wurden die Fasern immer wieder manuell (Handschuhe!) in die Flüssigkeit zurückgedrückt.

Nach dem ersten Waschzyklus wurden etwa 0,9 L der Flüssigkeit in ein 3 L-Becherglas mit einem PE-Beutel abgegossen und in den Stomacher-Beutel nochmals 0,9 L 0,1%-ige Tween 80-Lösung nachgefüllt.



**Abb. 11: Wickelfilter Super-Wynd<sup>®</sup>, nominale Porenweite 1  $\mu$ m**



**Abb. 12: Homogenisierer Stomacher Jumbomix<sup>®</sup> (Inter-science, St. Nom, Frankreich)**

Der Stomacher-Beutel wurde ein zweites Mal im Stomacher JUMBOMIX<sup>®</sup> für je dreimal 120 s mit Höchstgeschwindigkeit geknetet und anschließend die gesamte Flüssigkeit in den PE-Beutel abgossen, die Fasern ausgedrückt und nach Autoklavierung verworfen (Koch 2004).

### **3.3.3 Konzentrierung der Parasiten**

Wir konzentrierten die Oo-/Zysten mittels Zentrifugation im entstehenden Sediment. Zwei 500 ml-Zentrifugenbecher wurden hierfür mit der abgossenen Spülflüssigkeit gefüllt (Abb. 13) und in der Zentrifuge (Avanti<sup>®</sup> J-25 High-Performance-Zentrifuge, Beckman Coulter<sup>™</sup>, Fullerton, CA, USA) bei 1500xg und 4° C ohne Abbremsen für 12 min zentrifugiert (US EPA 2001a und b).

Nach der Zentrifugation wurde die Flüssigkeit auf 100 ml dekantiert und der Überstand verworfen. Anschließend wurde aus dem PE-Beutel wieder auf ein Volumen von 400 ml aufgefüllt, durch Schütteln homogenisiert und erneut zentrifugiert.

Der Vorgang wurde wiederholt bis die gesamte Flüssigkeit aus dem PE-Beutel verarbeitet war. Der leere PE-Beutel wurde mit destilliertem Wasser ausgespült, die Proben beider Zentrifugenbecher wieder vereinigt und die Spülflüssigkeit aus dem PE-Beutel dazugegeben. Es entstand so ein Volumen von etwa 200 ml, welches anschließend auf zwei 50 ml-Zentrifugenbecher verteilt und zentrifugiert wurde.

Nach der Zentrifugation wurde das Volumen von 50 ml auf 10 ml dekantiert und mithilfe eines Vortex-Schüttlers (Reax Top<sup>®</sup>, Heidolph, Schwabach) homogenisiert. Aus dem großen Zentrifugenbecher wurde wieder auf 50 ml aufgefüllt und erneut zentrifugiert. Diese Arbeitsschritte wiederholten sich ebenfalls bis die gesamte Flüssigkeit aus dem Becher verarbeitet war.

Anschließend wurden die Pellets der beiden Röhrchen vereinigt und mit Aqua dest. nachgespült. Nach erneuter Zentrifugation wurde das Volumen auf 20 ml abgossen und für 60 s mit einem Vortex-Schüttler homogenisiert.

Das Volumen der Proben vom 22.04.03 bis einschließlich 28.08.03 wurde halbiert und auf zwei Röhren verteilt. Ein Röhren diente als Rückstellprobe, während das andere für die weitere Verarbeitung verwendet wurde. Ab September 2003 wurde auf die Halbierung des entstandenen Sediments zugunsten einer optimierten Weiterverarbeitung und statistischen Auswertbarkeit verzichtet.

An dieser Stelle wurden die aufkonzentrierten Proben bei +4° C im Kühlschrank gelagert und erst am nächsten Tag weiterverarbeitet. Die Proben konnten zu diesem Zeitpunkt der Verarbeitung für maximal 72 Stunden bei +4°C gelagert werden (US EPA 1995, 2001a und b).

### **3.3.4 Reinigung der Proben**

Die Reinigung des Untersuchungsmaterials erfolgte durch eine Flotation mit einer Saccharose-Lösung, welche unter die Proben pipettiert wurde.

Die Saccharose-Lösung hat eine spezifische Dichte und dient als Abscheider. Bei der anschließenden Zentrifugation sedimentieren nur Bestandteile größerer Dichte durch das Flotationsmittel, während die Oo-/Zysten aufgrund ihrer geringeren Dichte in Überstand und Mittelphase der Probe verbleiben.

#### Durchführung

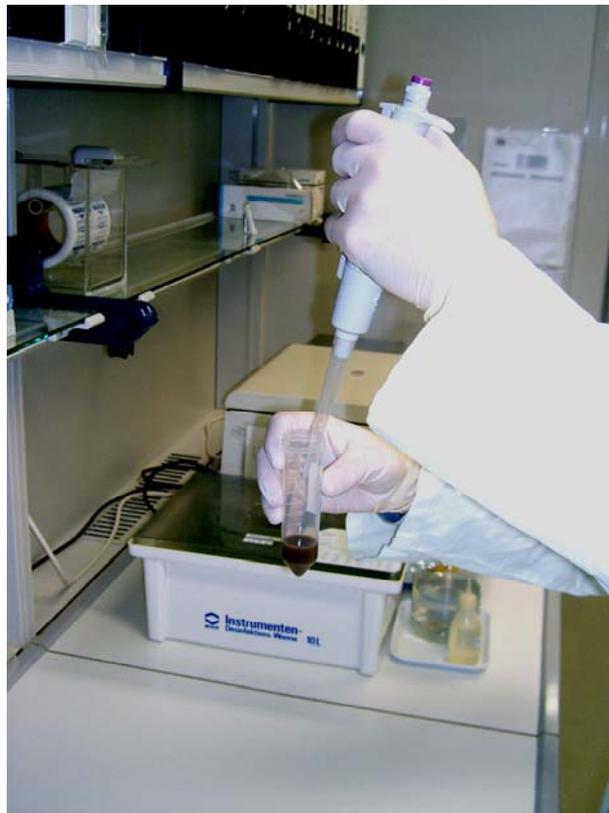
Für die Flotation mischten wir das Volumen des entstandenen Sediments im Verhältnis 1:2 mit SDS/TWEEN-Puffer. Der Puffer wurde hergestellt aus 20 g SDS (Dodecyl-Sulfat Natriumsalz, Merck KGaA, Darmstadt, Artikelnummer: AMREM107), 20 ml Tween 80 und mit Aqua dest auf 1000 ml aufgefüllt. Die Probe wurde erneut bei 1500xg über 12 min zentrifugiert und anschließend auf 10 ml dekantiert und für 60 s mit einem Vortexgerät homogenisiert.

Im Anschluss daran erfolgte die Flotation der Probe mit 10 ml einer Saccharose-Lösung (Merck KGaA, Darmstadt, Artikelnummer: 107654) als Flotationsmittel. Die Lösung hatte eine spezifische Dichte  $\rho = 1,18$  (Koch 2004, LeChevallier et al. 1990, Ayres et Mara 1996) und wurde unter die Probe geschichtet (Abb. 13).

Das Gemisch wurde für 60 s mithilfe eines Vortex-Gerätes homogenisiert, so dass eine Benetzung der unterschiedlichen Schichten gewährleistet wurde. Anschließend wurden die Proben bei 1000 xg mit minimaler Beschleunigung und ohne Abbremsen für 12 min zentrifugiert.

Überstand und Mittelphase des Zentrifugationsprodukts wurden in ein leeres, vorher abgewogenes 50 ml-Zentrifugenröhrchen gegeben und das Sediment verworfen. Die Probe wurde auf zwei Zentrifugenröhrchen verteilt und beide Röhrchen mit Aqua dest. auf jeweils 50 ml aufgefüllt. Erneut erfolgte eine Homogenisierung der Proben mit anschließender Zentrifugation bei 1500 xg.

Das Volumen wurde nach der Zentrifugation auf ein Fünftel (10 ml) reduziert, homogenisiert, mit destilliertem Wasser wieder auf 50 ml aufgefüllt und erneut zentrifugiert.



**Abb. 13: Unterschichten der Probe mit Saccharose-Lösung,  $\rho = 1,18$**

Nach Abgießen der Proben auf 10 ml wurden beide in einem Röhrchen wiedervereinigt, das andere Röhrchen mit Aqua dest. ausgespült und die Spülflüssigkeit ebenfalls zur Probe gegeben. So sollte sichergestellt werden, dass Zysten, welche unter Umständen an der Gefäßwand haften könnten, mit ausgespült werden.

Die Probe wurde anschließend wiederum auf 50 ml mit Aqua dest. aufgefüllt und zentrifugiert. Wie schon nach den anderen Zentrifugationen wurde die Probe erneut auf 10 ml dekantiert, homogenisiert und abschließend ohne Auffüllen ein letztes Mal zentrifugiert.

Nach Dekantieren der Probe bis knapp über das entstandene Pellet wurde das Röhrchen erneut gewogen. Das Mehrgewicht zur Leermasse entsprach dabei näherungsweise dem Volumen des Pellets.

### **3.3.5 Markierung der Proben**

Von einer Probe wurden 50 µl auf einen Objektträger aufgetragen und so verteilt, dass die Partikel nebeneinander gut unterscheidbar waren (US EPA 1995). Die Präparate wurden luftgetrocknet und anschließend im Methanolbad über 30 min fixiert. Die fixierten Präparate wurden unter Lichtabschluss bei  $-20^{\circ}$  C gelagert.

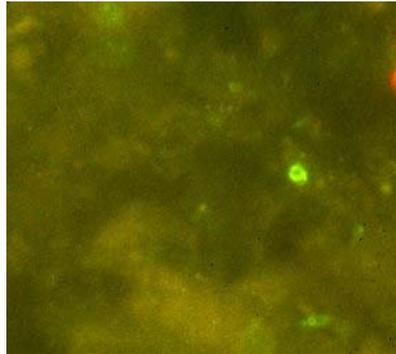
Für die Immunfluoreszenz-Färbung wurde Hydrofluor™-Combo (Indirect Immunofluorescent Detection Procedure for *Giardia* Cysts and *Cryptosporidium* Oocysts in Environmental Samples, Strategic Diagnostics Inc., Newark, DE, USA; Artikelnummer 7080500) verwendet (Abb. 14, Abb. 15).

Das Prinzip beruht auf einer indirekten Immunfluoreszenzfärbung. Mit Hilfe der Immunfluoreszenz können Oo-/Zysten in den Proben nachgewiesen werden. Die Proben werden hierzu mit spezifischen nichtmarkierten Antikörpern (1. Antikörper im Pool-Antiserum) inkubiert. Gebildete spezifische Antigen-Antikörper-Komplexe werden nach einem Waschschrift zur Entfernung ungebundener Antikörper im zweiten Schritt mit einem FITC-markierten „zweiten Antikörper“ inkubiert. Hat eine spezifische Bindung an das gesuchte Antigen stattgefunden, lässt sich dies anhand der typischen Fluoreszenz der markierten Antigene im Fluoreszenzmikroskop feststellen.

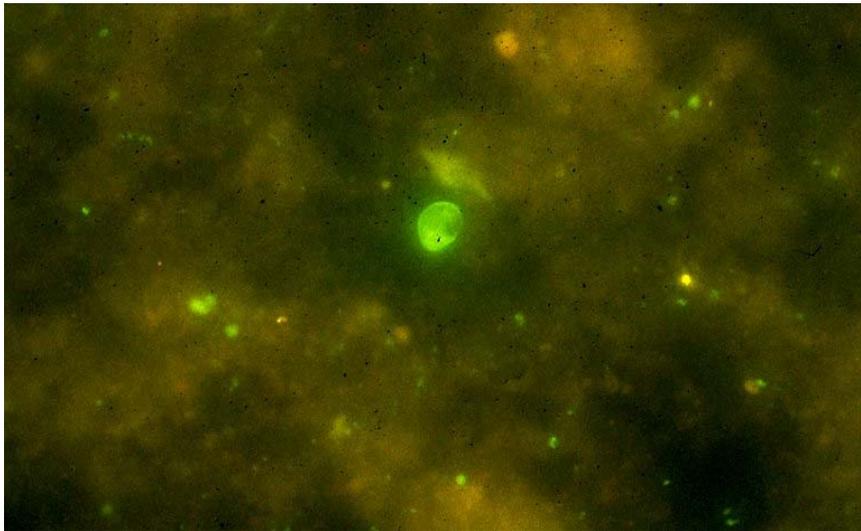
#### Durchführung

Die fixierten Objektträger und die benötigten Reagenzien wurden auf Raumtemperatur gebracht. Mit einer Pipette wurden 40 µl Antikörper-Lösung I, bestehend aus 10 µl Antikörper, 10 µl NGS (Blockierungsreagenz aus unmarkiertem nichtimmunem Serum der Ziege) und 20 µl PBS-Puffer, pH = 7,4 (PBS\_Tabletten, Sigma-Aldrich Chemie GmbH,

Steinheim, Artikelnummer: P-4417) auf jeden Objektträger aufgebracht. Die Objektträger wurden anschließend in einer feuchten Kammer bei 37° C inkubiert. Nach 30 min wurden die Proben zweimal über 60 s im PBS-Bad (pH = 7,4) gewaschen (US EPA 1995). Danach erfolgte die Zugabe von 40 µl Antikörper-Lösung II, bestehend aus 10 µl FITC, 10 µl NGS und 20 µl PBS, mit anschließender erneuter Inkubation unter den oben genannten Bedingungen. Nach der Inkubation wurden die Objektträger wiederum zweimal im PBS-Bad gewaschen.



**Abb. 14: Immunfluoreszenzfärbung, *Cryptosporidium* Oozyste, 400fache Vergrößerung**



**Abb. 15: Immunfluoreszenzfärbung, *Giardia* Zyste, 400fache Vergrößerung**

40 µl DABCO-Eindeckmedium (Merck KgaA, Darmstadt, Artikelnummer: 8.03456) wurden zugegeben und die Präparate mit einem Deckgläschen abgedeckt. Die Präparate wurden anschließend fluoreszenzoptisch ausgewertet.

### 3.4 Auswertung

Die Objektträger wurden unter einem Auflichtfluoreszenzmikroskop (Axiolab<sup>®</sup>, Zeiss, Jena, Deutschland) bei 400-facher Vergrößerung nach *Cryptosporidium* Oozysten und *Giardia* Zysten untersucht. Positiv- und Negativkontrollen wurden mitgeführt. Als positiv wurden die fluoreszenzpositiven (leuchtend grün) typischen Formen der Parasitenstadien (Oozysten und Zysten) definiert (Egorov et al. 2002).

### 3.5 Statistik

Die Anzahl der Oo-/Zysten pro filtriertem Ausgangsvolumen wurde ausgezählt und nach Gleichung 1 ermittelt:

$$(1) \quad X = gZ * F, \text{ wobei gilt } F = V_F / V_m$$

$X$  = Anzahl der Oo-/Zysten im filtrierten Ausgangsvolumen

$gZ$  = Anzahl der unter dem Mikroskop gezählten Oo-/Zysten

$F$  = Faktor, welcher sich zusammensetzt aus dem Volumen des Sediments nach Flotation ( $V_F$ ) und des davon mikroskopierten Volumens  $V_m$ .

Um vergleichbare Zahlen zu erhalten, wurde anschließend die Oo-/Zystenanzahl auf ein Wasservolumen von 100 L nach Gleichung 2 berechnet.

$$(2) \quad Y = X * 100 \text{ L} / V_A$$

$Y$  = Anzahl der Oo-/Zysten in 100 L Abwasser

$X$  = Anzahl der Oo-/Zysten im filtrierten Ausgangsvolumen

$V_A$  = filtriertes Ausgangsvolumen

### **3.6 Kontrollen**

#### **3.6.1 Ermittlung der Oo-/Zystenkonzentration in der Positivkontrolle**

Für Positivkontrollen und zur Ermittlung der Wiederfindungsrate führten wir eine künstliche Kontamination mit Oo-/Zysten durch. Die Zysten wurden aus der Positivkontrolle des Immunfluoreszenz-Kits Hydrofluor™-Combo gewonnen. Die Konzentration wurde durch Auszählen ermittelt.

Hierzu wurden jeweils 5 µl der Positivkontrolle auf je drei Objektträger pipettiert, in Methanol (Merck KGaA, Darmstadt, Artikelnummer: 1.06008) fixiert und anschließend gemäß der Arbeitsanleitung (s. o.) angefärbt. Die drei Objektträger wurden anschließend jeweils dreimal ausgezählt und die Werte gemittelt.

Es ergab sich eine mittlere Konzentration von 107 *Cryptosporidium* Oozysten / µl und 7 *Giardia* Zysten / µl.

#### **3.6.2 Bestimmung der Nachweisgrenze**

Zur Bestimmung der Nachweisgrenze legten wir eine logarithmische Verdünnungsreihe der Testproben in physiologischer Kochsalzlösung an und pipettierten 10 µl der Positivkontrolle (in etwa die 100fache Konzentration an Oo-/Zysten der durchschnittlichen Probenergebnisse) bis zu einer Verdünnung von 1:10<sup>5</sup>. Anschließend wurden pro Verdünnungsreihe zwei Objektträger angefärbt und mikroskopiert.

Als Ergebnis ermittelten wir, dass *Cryptosporidien* bis zu einer Verdünnung von 1:10<sup>2</sup>, *Giardien* bis zu einer Verdünnung von 1:10<sup>1</sup> nachgewiesen werden konnten. Höhere Verdünnungen ergaben keinen Nachweis.

#### **3.6.3 Positivkontrollen**

Positivkontrollen wurden bei jeder Färbung mitgeführt. Hierfür verwendeten wir Oo-/Zysten des Immunfluoreszenz-Kits.

#### **3.6.4 Negativkontrollen**

Für die Negativkontrollen wurde Leitungswasser durch einen Membranfilter mit einer maximalen Porenweite von 0,45 µm verwendet.

### 3.6.5 Ermittlung der Wiederfindungsrate

Zur Ermittlung der Wiederfindungsrate wurde eine künstliche Kontamination von sterilfiltriertem Leitungswasser mit Zysten von *Cryptosporidium* und *Giardia* durchgeführt. Die Konzentration in der Ausgangslösung betrug für *Cryptosporidium* Oozysten  $1,07 \cdot 10^4 \text{ L}^{-1}$  und für *Giardia* Zysten  $7,0 \cdot 10^2 \text{ L}^{-1}$ .

Während des Elutions- und Flotationsvorgangs wurde die Reduktion der Oo-/Zysten durch arbeitsbedingte Verluste ermittelt. Darüber hinaus wurden diese Verluste während der gesamten Verarbeitung bestimmt, um festzustellen, ob die Summe der Verluste der einzelnen Arbeitsschritte näherungsweise dem Verlust der gesamten Methode entspricht. Der Probenumfang betrug pro Vorgang jeweils  $n=3$ . Um die Wiederfindungsrate der gesamten Parameter zu bestimmen, wurden die jeweiligen Konzentrationen an Zysten und Oozysten summiert und zusammen dargestellt.

### 3.7 Umfang der Untersuchungen

Insgesamt wurden in Langenreichenbach 93 und in Belzig 19 Einzelproben aus den einzelnen Kopplungsstufen genommen. Die Anlage in Langenreichenbach wurde innerhalb des Zeitraumes vom 22.04.2003 – 15.12.2003 und die Kläranlage in Belzig im Zeitraum vom 13.10.03 – 01.12.03 beprobt.

Es wurde zunächst eine Bestimmung der im geklärten Wasser vorhandenen Parasiten vorgenommen. Die Werte wurden über die absoluten Anzahlen in den Proben ermittelt. Die Parasitenbelastung wurde mikroskopisch als Anzahl der Parasitenformen (Zyste, Oozyste) pro L bzw. pro 100 L angegeben. Die Reduktionsleistung wurde im Rahmen der Untersuchung anhand des Vergleichs der Rohwasserbelastung abzüglich der Belastung des geklärten Wassers dargestellt. Die Reduktionsleistung wurde als Reduktionsfaktor RF ( $\log_{10}$ ) bewertet und verglichen.

Zur Bewertung der Eignung für Bewässerungszwecke wurden folgende Empfehlungen bzw. Richtlinien/Normen zugrunde gelegt (vgl. Anhang 2 und 3):

- a) Hygienisch-mikrobiologische Klassifizierung von Bewässerungswasser nach DIN 19650 von 1999
- b) WHO Guidelines (Microbiological Quality Guidelines for treated Wastewater used for Crop Irrigation von 1989).

## **4 Ergebnisse**

### **4.1 Ergebnisse der Untersuchungen der Pilotanlage Langenreichenbach**

#### **4.1.1 *Giardia* Zysten**

##### **4.1.1.1 Zufluss**

In allen Zuläufen (n = 11) der Probenahmetagen waren *Giardia* Zysten vorhanden, in der Folge als „Zysten“ bezeichnet. Die Vorlast betrug zwischen 45 bis 399 Zysten / 100 L (Mittelwert 175,5) (Tabelle 2).

##### **4.1.1.2 Kopplungen**

###### **4.1.1.2.1 Kopplung I (3a-3b)**

Es handelt sich hierbei um die Kopplung zweier unbepflanzter Horizontalfilter unterschiedlichen Substrats (vgl. Tab. 1, S. 11). Bei 5 der 8 Beprobungen liegen Vergleichswerte vor.

Bei 4 dieser Probenahmen ergab sich eine Reduktion auf <1 Parasiten / 100 L. Bei der übrigen Probe konnten 2 Zysten im Ablauf nachgewiesen werden. Die mittlere Reduktionsleistung lag bei einem RF(Log<sub>10</sub>) von 2,0 mit geringstem RF von 1,7 und einem maximalen von 2,3 Logstufen.

###### **4.1.1.2.2 Kopplung II (5b-1a)**

Hierbei handelt es sich um die Kopplung eines Vertikalfilters mit grobkörnigem Blähton/Sand als Substrat und eines Horizontalfilters mit feinkörnigem Sand als Substrat. Beide Beete waren mit *Phragmites australis* bepflanzt.

Bei 3 von 8 Beprobungsdaten liegen zeitgleich keine Zulaufdaten vor. Bei den 5 Probetagen mit Zu- und Ablauf-Befunden ergab sich in 4 Proben eine komplette Reduktion auf 0 Zysten / 100 L. In einer der Proben konnten im Ablauf noch 3 Zysten nachgewiesen werden (KW 31). Dabei lag der durchschnittliche RF bei 2,1 Logstufen mit einem minimalen RF von 1,7 (KW 31) und einem maximalen RF von 2,4 (KW 35).

**Tabelle 2: Mittlere Reduktion von *Giardia* Zysten während des Dauerversuches (Pilotanlage Langenreichenbach)**

Kopplung		KW 17	KW 19	KW 21	KW 23	KW 25	KW 27	KW 29	KW 31	KW 33	KW 35	KW 37	KW 39	KW 41	KW 43	KW 45	KW 47	KW 49	KW 51	MW	SA	
Zulauf	Giardien / 100 L	-	-	-	-	-	-	45	167	399	250	89	154	199	112	63	292	160	-	175,5	105,6	
	Giardien / 1 L	0,45 1,67 3,99 2,50 0,89 1,54 1,99 1,12 0,63 2,92 1,6																		1,75	1,06	
	Log <sub>10</sub> / 100 L	1,7 2,2 2,6 2,4 1,9 2,2 2,3 2,0 1,8 2,5 2,2																		2,2	0,3	
Kopplung I	3b (1.Stufe)	Giardien / 100 L	-	1*	-	1*	-	8	-	1*	-	1*	-	-	4	1*	-	9	-	9	3,3	4,2
		Giardien / 1 L	1* 1* 0,08 1* 1* 0,04 1* 0,09 0,09																		0,04	0,04
		RF / 100 L	>2,2 >2,4 1,7 >2,0 1,5																		2,0	0,4
	3a (2.Stufe)	Giardien / 100 L	8	-	1*	-	1*	-	1*	-	2	-	1*	-	-	1*	-	1*	-	1,3	2,8	
		Giardien / 1 L	0,08 1* 1* 1* 0,02 1* 1* 1*																		0,01	0,03
		RF / 100 L	>1,7 2,3 >1,9 >1,8 >2,2																		2,0	0,3
Kopplung II	5b (1.Stufe)	Giardien / 100 L	4	-	19	-	16	-	8	-	1*	-	2	1*	-	1*	-	15	-	7,1	7,7	
		Giardien / 1 L	0,04 0,19 0,16 0,08 1* 0,02 1* 1* 0,15																		0,07	0,08
		RF / 100 L	0,8 >2,6 1,6 >2,2 >1,8 1,0																		1,7	0,7
	1a (2.Stufe)	Giardien / 100 L	-	1*	-	1*	-	-	-	3	-	1*	-	-	1*	1*	-	-	1*	1*	0,4	1,1
		Giardien / 1 L	1* 1* 0,03 1* 1* 1* 1*																		0,00	0,01
		RF / 100 L	1,7 >2,4 >2,3 >2,0 >2,2																		2,1	0,3
Kopplung III	6a (1.Stufe)	Giardien / 100 L	4	11	-	1*	-	1*	-	6	-	1*	-	1*	18	1*	-	2	-	7	4,4	5,8
		Giardien / 1 L	0,04 0,11 1* 1* 0,06 1* 1* 0,18 1* 0,02 0,07																		0,04	0,06
		RF / 100 L	0,4 >2,4 >2,2 >2,0 2,2																		1,8	0,8
	1b (2.Stufe)	Giardien / 100 L	-	-	1*	-	4	-	4	-	-	-	1*	-	-	1*	-	1*	-	1,3	2,1	
		Giardien / 1 L	1* 0,04 0,04 1* 1*																		0,01	0,02
		RF / 100 L	1,1 >1,9 >1,8 1,0																		1,6	0,6
Abwasser- teich	Giardien / 100 L	38	-	32	-	79	-	28	-	43	-	564	47	28	-	144	-	286	-	128,9	172,8	
	Giardien / 1 L	0,38 0,32 0,79 0,28 0,43 5,64 0,47 0,28 1,44 2,86																		1,29	1,73	
	RF / 100 L	0,3 1 -0,9 0,5 0,9 -0,4 -0,3																		0,2	0,7	

(\* 1, da Log von 0 nicht definiert)

#### 4.1.1.2.3 Kopplung III (6a-1b)

Diese Kopplung bestand aus einem sandhaltigen Vertikalfilter und einem blähton-sandhaltigen Horizontalfilter, beide mit *Phragmites australis* bepflanzt.

In 2 von 6 Probenahmen lagen zeitgleich keine Zulaufdaten vor. In zwei der Beprobungen konnten noch jeweils 4 Zysten / 100 L im Ablauf der Kopplung gefunden werden. In den übrigen Proben erfolgte eine komplette Reduktion auf 0 Zysten / 100 L.

Die mittlere Reduktionsleistung lag bei einem RF(Log<sub>10</sub>) von 1,6 mit geringstem RF von 1,0 und einem maximalen von 1,9 Logstufen.

#### 4.1.1.2.4 Unbelüfteter Abwasserteich

Bei allen 7 vergleichbaren Proben fanden sich noch Zysten im Teichablauf. Bei vier Proben ergab sich eine – wenn auch marginale – Parasitenreduktion mit einem RF von 0,3 Logstufen bis max. 1,0 Logstufen. Bei den 3 übrigen Ablaufproben fanden sich mehr Zysten im Ablauf als im Zulauf, z.T. bis zum Mehrfachen der Zulaufmenge.

### 4.1.2 *Cryptosporidium* Oozysten

#### 4.1.2.1 Zufluss

In 6 von 11 Zuläufen der Probenahmetage waren *Cryptosporidium* Oozysten vorhanden, in der Folge als „Oozysten“ bezeichnet. Die Vorlast betrug zwischen 11 bis 42 Oozysten / 100 L (Mittelwert 12,4, vgl. Tabelle 3).

#### 4.1.2.2 Kopplungen

##### 4.1.2.2.1 Kopplung I (3b-3a)

Es handelt sich hierbei um die Kopplung zweier unbepflanzter Horizontalfilter unterschiedlichen Substrats (vgl. Tab. 1, S.11).

Bei 5 der 8 Probenahmen liegen Zulaufwerte vor. In 3 der verwertbaren 5 Proben zeigte sich eine komplette Reduktion auf 0 Oozysten / 100 L.

In einer der Proben konnten weder im Zulauf noch im Ablauf der Kopplung Oozysten nachgewiesen werden.

In der KW 33 wurden im Zulauf keine Zysten nachgewiesen, wohingegen im Ablauf 2 Oozysten / 100 L ermittelt wurden. Der mittlere Reduktionsfaktor lag bei 0,8 Logstufen.

##### 4.1.2.2.2 Kopplung II (5b-1a)

Hierbei handelt es sich um die Kopplung eines Vertikalfilters mit grobkörnigem Blähton/Sand als Substrat und eines Horizontalfilters mit feinkörnigem Sand als Substrat. Beide Beete waren mit *Phragmites australis* bepflanzt.

Lediglich in 4 von 8 Probenahmen fanden sich Oozysten im Zulauf. Im Ablauf der Kopplung konnten keine Oozysten nachgewiesen werden. Der mittlere RF liegt bei 1,4 mit einem Minimum von 1,2 und einem Maximum von 1,6 Logstufen.

#### **4.1.2.2.3 Kopplung III (6a-1b)**

Diese Kopplung bestand aus einem sandhaltigen Vertikalfilter und einem blähton-sandhaltigen Horizontalfilter, beide mit *Phragmites australis* bepflanzt.

In 3 der 6 Probenahmen konnte eine Reduktion nachgewiesen werden. Der mittlere RF lag bei 1,2 Log-Stufen.

#### **4.1.2.2.4 Unbelüfteter Abwasserteich**

Bei 6 von 7 vergleichbaren Proben fanden sich noch Oozysten im Teichablauf. In drei der Proben ergab sich eine nur marginale Parasitenreduktion. Lediglich in einer Probe ergab sich ein RF von 1,4 Logstufen. Bei den 3 übrigen Ablaufproben fanden sich mehr Zysten im Ablauf als im Zulauf.

**Tabelle 3: Mittlere Reduktion von *Cryptosporidium* Oozysten während des Dauerversuches (Pilotanlage Langenreichenbach)**

Kopplung		KW 17	KW 19	KW 21	KW 23	KW 25	KW 27	KW 29	KW 31	KW 33	KW 35	KW 37	KW 39	KW 41	KW 43	KW 45	KW 47	KW 49	KW 51	MW	SA		
Zulauf	Csp. / 100 L	-	-	-	-	-	-	11	42	1*	1*	12	1*	16	28	1*	1*	27	-	12,4	14,6		
	Csp. / 1 L							0,11	0,42	1*	1*	0,12	1*	0,16	0,28	1*	1*	0,27		0,1	0,2		
	Log <sub>10</sub> / 100 L							<b>1,0</b>	<b>1,6</b>			<b>1,1</b>		<b>1,2</b>	<b>1,4</b>			<b>1,4</b>		<b>1,3</b>	<b>0,2</b>		
Kopplung I	3b (1.Stufe)	Csp. / 100 L	-	1*	-	1*	-	8	-	1*	-	1*	-	-	4	1*	-	9	-	9	3,3	4,2	
		Csp. / 1 L		1*		1*		0,08		1*		1*			0,04	1*		0,09		0,09	0,04	0,04	
		RF / 100 L														<b>&gt;1,6</b>		<b>(0)</b>		<b>0,6</b>	<b>&gt;1,4</b>	<b>-1</b>	<b>0,7</b>
	3a (2.Stufe)	Csp. / 100 L	8	-	1*	-	1*	-	1*	-	2	-	1*	-	-	1*	-	1*	-	-	1,3	2,8	
		Csp. / 1 L	0,08		1*		1*		1*		0,02		1*			1*		1*		-	0,01	0,03	
		RF / 100 L									<b>&gt;1,0</b>		<b>-0,3</b>		<b>&gt;1,1</b>				<b>(0)</b>		<b>&gt;1,4</b>	<b>0,8</b>	<b>0,8</b>
Kopplung II	5b (1.Stufe)	Csp. / 100 L	1*	-	12	-	1*	-	4	-	1*	-	1*	1*	-	1*	-	2	-	2,0	4,0		
		Csp. / 1 L	1*		0,12		1*		0,04		1*		1*	1*		1*		0,02		-	0,01	0,02	
		RF / 100 L								<b>0,4</b>		<b>(0)</b>		<b>&gt;1,1</b>	<b>(0)</b>			<b>(0)</b>		<b>1,1</b>	<b>0,9</b>	<b>0,4</b>	
	1a (2.Stufe)	Csp. / 100 L	-	1*	-	1*	-	-	-	1*	-	1*	-	-	1*	1*	-	-	1*	1*	0	0	
		Csp. / 1 L		1*		1*				1*		1*			1*	1*			1*	1*	0	0	
		RF / 100 L									<b>&gt;1,6</b>		<b>(0)</b>			<b>&gt;1,2</b>	<b>&gt;1,4</b>		<b>&gt;1,4</b>		<b>1,4</b>	<b>0,2</b>	
Kopplung III	6a (1.Stufe)	Cps. / 100 L	1*	1*	-	1*	-	1*	-	1*	-	1*	-	1*	1*	-	1*	-	2	0,2	0,6		
		Cps. / 1 L	1*	1*		1*		1*		1*		1*		1*	1*	1*		1*		0,02	0	0,01	
		RF / 100 L									<b>&gt;1,6</b>		<b>(0)</b>		<b>(0)</b>	<b>&gt;1,2</b>	<b>&gt;1,4</b>		<b>(0)</b>		<b>1,4</b>	<b>0,2</b>	
	1b (2.Stufe)	Csp. / 100 L	-	-	1*	-	1*	-	1*	-	-	-	1*	-	-	1*	-	1*	-	-	0	0	
		Csp. / 1 L			1*		1*		1*				1*			1*		1*		-	0	0	
		RF / 100 L									<b>&gt;1,0</b>				<b>&gt;1,1</b>				<b>(0)</b>		<b>&gt;1,4</b>	<b>1,2</b>	<b>0,2</b>
Abwasser- teich	Csp. / 100 L	8	-	8	-	1*	-	4	-	7	-	48	3	4	-	1*	-	1*	-	8,2	14,3		
	Csp. / 1 L	0,08		0,08		1*		0,04		0,07		0,48	0,03	0,04		1*		1*		0,08	0,14		
	RF / 100 L									<b>0,4</b>		<b>-0,8</b>		<b>-1,7</b>	<b>-0,5</b>	<b>0,6</b>		<b>(0)</b>		<b>&gt;1,4</b>	<b>-0,1</b>	<b>1,1</b>	

(\* 1, da Log von 0 nicht definiert; Csp. = Cryptosporidien, ( ) Wert nicht in MW- Berechnung einbezogen, da bereits im Zulauf kein Nachweis von Oozysten)

### 4.1.3 Darstellung der gesamten Parasitenlast

#### 4.1.3.1 Zufluss

Für die Bewertung hinsichtlich des gereinigten Abwassers hinsichtlich einer Eignung als Bewässerungswasser wurden die numerisch ermittelten Konzentrationen von *Giardia* Zysten und *Cryptosporidium* Oozysten zur Gesamtparasitenlast summiert.

Die Parasitenvorlast fiel sehr variabel aus und reichte von 56 bis 339 Parasiten/100L (Mittelwert 182,36; SA 90,75) (Tabelle 4). Insgesamt wurden die Daten von 5 Probenahmetagen mit jeweils 3 Kopplungsvarianten sowie von einem unbelüfteten Abwasserteich, in der Folge mit „Teich“ bezeichnet, mit Vergleich der Zu- und Ablaufwerte ausgewertet.

Für die Mittelwerte der Gesamtbewertungen hinsichtlich der Eignung nach DIN 19650 bzw. WHO wurden alle verfügbaren Befunde der Abläufe, auch wenn keine Zulaufdaten vorlagen, gewertet (n = 8 für Kopplung I und III und für Kopplung II n = 7 Werte und n = 10 Werte für den Teich). Die Befunde von *Cryptosporidium parvum* und *Giardia lamblia* wurden als Mittelwerte jeweils zweier Proben bestimmt und gemeinsam bewertet. In allen Zuläufen der Probenahmetage waren Zysten bzw. Oozysten vorhanden, in der Folge als „Parasiten“ bezeichnet.

#### **4.1.3.2 Reduktionsleistungen in den einzelnen Kopplungen**

##### **4.1.3.2.1 Kopplung I (3b-3a)**

Es handelt sich hierbei um die Kopplung zweier unbepflanzter Horizontalfilter unterschiedlichen Substrats (vgl. Tab. 1, S. 11).

Bei 4 der 8 Beprobungsbefunde ergab sich eine komplette Reduktion der Parasiten auf 0/100 L, bei 3 Beprobungen lagen keine Zulaufbeprobungen vor. Bei 2 Beprobungen waren noch Parasiten nachweisbar: Probe KW 17 mit 12 und Probe KW 33 mit 2 Parasiten. Der mittlere RF lag bei 2,0, minimal bei >1,7 und maximal >2,3 Log-Stufen.

##### **4.1.3.2.2 Kopplung II (5b-1a)**

Hierbei handelt es sich um die Kopplung eines Vertikalfilters mit grobkörnigem Blähton/Sand als Substrat und eines Horizontalfilters mit feinkörnigem Sand als Substrat. Beide Beete waren mit *Phragmites australis* bepflanzt.

Bei 5 von 8 Beprobungstagen liegen Vergleichswerte vor. Bei 4 dieser Probenahmen ergab sich eine Reduktion auf <1 Parasiten/100 L. Bei der übrigen Probe (KW 31) konnten noch 3 Parasiten im Ablauf detektiert werden. Die Reduktionsleistung bei den kompletten Reduktionen lag bei durchschnittlich >2,2 RF mit geringstem RF von 1,8 und maximalem von 2,4 Logstufen.

**Tabelle 4: Mittlere Reduktion von Parasiten (Summe aus Anzahl *Giardia* Zysten und *Cryptosporidium* Oozysten) während des Dauerversuches (Pilotanlage Langenreichenbach)**

Kopplung		KW 17	KW 19	KW 21	KW 23	KW 25	KW 27	KW 29	KW 31	KW 33	KW 35	KW 37	KW 39	KW 41	KW 43	KW 45	KW 47	KW 49	KW 51	MW	SA		
Zulauf	Parasiten / 100 L	-	-	-	-	-	-	56	209	339	250	101	154	215	140	63	292	187	-	182,4	90,7		
	Parasiten / 1 L	0,56 2,09 3,39 2,50 1,01 1,54 2,15 1,40 0,63 2,92 1,87																		1,82	0,91		
	Log <sub>10</sub> / 100 L	1,7 2,3 2,5 2,4 2,0 2,2 2,3 2,1 1,8 2,5 2,3																		2,2	0,3		
Kopplung I	3b (1.Stufe)	Parasiten / 100 L	-	1*	-	1*	-	8	-	1*	-	1*	-	-	6	1*	-	14	-	9	4,1	5,3	
		Parasiten / 1 L	1*		1*		0,08		1*		1*		0,06		1*		0,14		0,09		0,05	0,05	
		RF / 100 L	>2,3				>2,4				1,5 >2,1				1,4				1,9	0,5			
	3a (2.Stufe)	Parasiten / 100 L	12	-	1*	-	1*	-	1*	-	2	-	1*	-	-	1*	-	1*	-	-	1,8	4,2	
		Parasiten / 1 L	0,12	1*		1*		1*		0,02		1*		1*		1*		1*		0,02	0,04		
		RF / 100 L	>1,7				2,2				>2,0				>1,8				>2,3				2,0
Kopplung II	5b (1.Stufe)	Parasiten / 100 L	4	-	31	-	16	-	12	-	0	-	2	0	-	0	-	17	-	9,1	10,7		
		Parasiten / 1 L	0,04	0,31		0,16		0,12		0		0,02		0		0		0,17		0,09	0,11		
		RF / 100 L	0,6				>2,5				1,7 >2,2				>1,8				1,1				1,7
	1a (2.Stufe)	Parasiten / 100 L	-	1*	-	1*	-	-	-	3	-	1*	-	-	1*	1*	-	-	1*	1*	0,4	1,1	
		Parasiten / 1 L	1*		1*		0,03				1*		1*		1*		1*		1*		0,00	0,01	
		RF / 100 L	1,8				>2,4				>2,3 >2,1				>2,3				2,2	0,2			
Kopplung III	6a (1.Stufe)	Parasiten / 100 L	4	11	-	1*	-	1*	-	6	-	1*	-	1*	18	1*	-	2	-	9	4,6	6,0	
		Parasiten / 1 L	0,04	0,11	1*		1*		0,06		1*		1*		0,18	1*	0,02		0,09		0,05	0,06	
		RF / 100 L	1,5				>2,4				>2,2				1 >2,1				2,2				1,9
	1b (2.Stufe)	Parasiten / 100 L	-	-	1*	-	4	-	4	-	-	-	1*	-	-	1*	-	1*	-	-	1,3	2,1	
		Parasiten / 1 L	1*		0,04		0,04		1*				1*		1*		1*		0,01	0,02			
		RF / 100 L	1,1				>2,0				>1,8				>2,3				1,9	0,5			
Abwasser- teich	Parasiten / 100 L	46	-	40	-	79	-	32	-	50	-	612	50	32	-	144	-	286	-	137,1	184,4		
	Parasiten / 1 L	0,46	0,40		0,79		0,32		0,50		6,12		0,50		0,32		1,44		2,86		1,37	1,84	
	RF / 100 L	0,2				0,8				-0,8 0,5 0,8				-0,4 -0,2				0,1	0,6				

(\* 1, da Log von 0 nicht definiert)

#### 4.1.3.2.3 Kopplung III (6a-1b)

Diese Kopplung bestand aus einem sandhaltigen Vertikalfilter und einem blähton-sandhaltigen Horizontalfilter, beide mit *Phragmites australis* bepflanzt.

Bei 2 der 7 vorliegenden Beprobungsdaten liegen zeitgleich keine Zulaufdaten vor. Bei den 5 Probetagen mit Zu- und Ablauf-Befunden ergab sich in 4 Proben eine Reduktion auf <1 Parasiten/100 L.

In einer der Proben konnten im Ablauf der Kopplung noch 4 Parasiten gefunden werden (KW 29). Dabei lag der RF durchschnittlich bei 1,9 Logstufen mit einem minimalen RF von 1,1 (KW 29) und maximal 2,3 (KW 49).

#### 4.1.3.2.4 Unbelüfteter Abwasserteich

Bei allen 7 vergleichbaren Proben fanden sich noch Parasiten im Teichablauf. Bei vier Proben ergab sich eine – wenn auch marginale – Parasitenreduktion mit einem RF von 0,2 Logstufen bis max. 0,8 Logstufen. Bei den 3 übrigen Ablaufproben fanden sich mehr Parasiten im Ablauf als im Zulauf, z. T. bis zum Mehrfachen der Zulaufmenge.

### 4.2 Ergebnisse der Untersuchungen der Praxisanlage Belzig

#### 4.2.1 *Giardia* Zysten

##### 4.2.1.1 Zufluss

In allen Zuläufen der Probenahmetagen waren *Giardia* Zysten vorhanden, in der Folge als „Zysten“ bezeichnet. Die Vorlast betrug zwischen 358 bis 869 Zysten / 100 L (Mittelwert 523,3, vgl. Tabelle 5).

##### 4.2.1.2 Abfluss

Im Ablauf der Anlage konnten keine Zysten mehr nachgewiesen werden. Die Hauptreinigungsleistung lag überwiegend in der ersten Stufe der Anlage. In zwei der fünf Proben aus dem Abfluss des ersten Beckens konnten lediglich 2 Zysten / 100 L detektiert werden.

**Tabelle 5: Mittlere Reduktion von *Giardia* Zysten während des Dauerversuches (Praxisanlage Belzig)**

Kopplung		KW 42	KW 43	KW 45	KW 47	KW 49	MW	SA	
Zulauf	Giardien / 100 L	480	869		358	386	523,3	236,3	
	Giardien / 1 L	4,8	8,69		3,58	3,86	5,23	2,36	
	<b>Log<sub>10</sub> / 100 L</b>	<b>2,7</b>	<b>2,9</b>		<b>2,6</b>	<b>2,6</b>	<b>2,7</b>	<b>0,2</b>	
B1a-B2a	B1a (1.Stufe)	Giardien / 100 L	2	1*	2	1*	1*	0,8	1,1
		Giardien / 1 L	0,02	1*	0,02	1*	1*	0,01	0,01
		<b>RF / 100 L</b>	<b>2,4</b>	<b>&gt;2,9</b>		<b>&gt;2,6</b>	<b>&gt;2,6</b>	<b>2,6</b>	<b>0,2</b>
	B2a (2.Stufe)	Giardien / 100 L	1*	1*	1*	1*	1*	0	0
		Giardien / 1 L	1*	1*	1*	1*	1*	0	0
		<b>RF / 100 L</b>	<b>&gt;2,7</b>	<b>&gt;2,9</b>		<b>&gt;2,6</b>	<b>&gt;2,6</b>	<b>2,7</b>	<b>0,1</b>

(\* 1, da Log von 0 nicht definiert)

## 4.2.2 *Cryptosporidium* Oozysten

### 4.2.2.1 Zufluss

In allen Zuläufen der Probenahmetagen waren *Cryptosporidium* Oozysten vorhanden, in der Folge als „Oozysten“ bezeichnet. Die Vorlast betrug zwischen 106 bis 223 Zysten / 100 L (Mittelwert 147, vgl. Tabelle 6).

**Tabelle 6: Mittlere Reduktion von *Cryptosporidium* Oozysten während des Dauerversuches (Praxisanlage Belzig)**

Kopplung		KW 42	KW 43	KW 45	KW 47	KW 49	MW	SA	
Zulauf	Cryptosporidien / 100 L	150	223		109	106	147	54,5	
	Cryptosporidien / 1 L	1,5	2,23		1,09	1,06	1,47	0,54	
	<b>Log<sub>10</sub> / 100 L</b>	<b>2,2</b>	<b>2,3</b>		<b>2,0</b>	<b>2,0</b>	<b>2,1</b>	<b>0,2</b>	
B1a-B2a	B1a (1.Stufe)	Cryptosporidien / 100 L	2	1*	1*	1*	1*	0,4	0,90
		Cryptosporidien / 1 L	0,02	1*	1*	1*	1*	0	0,01
		<b>RF / 100 L</b>	<b>1,9</b>	<b>&gt;2,3</b>		<b>&gt;2,0</b>	<b>&gt;2,0</b>	<b>2,1</b>	<b>0,2</b>
	B2a (2.Stufe)	Cryptosporidien / 100 L	1*	1*	1*	1*	1*	0	0
		Cryptosporidien / 1 L	1*	1*	1*	1*	1*	0	0
		<b>RF / 100 L</b>	<b>&gt;2,2</b>	<b>&gt;2,3</b>		<b>&gt;2,0</b>	<b>&gt;2,0</b>	<b>2,1</b>	<b>0,2</b>

(\* 1, da Log von 0 nicht definiert)

#### 4.2.2.2 Abfluss

Im Ablauf der Anlage konnten keine Oozysten mehr nachgewiesen werden. Die Hauptreinigungsleistung lag überwiegend in der ersten Stufe der Anlage. Lediglich in einer der fünf Proben aus dem Abfluss des ersten Beckens konnte noch 1 Oozysten / 100 L nachgewiesen werden.

#### 4.2.3 Ergebnisse der Untersuchungen

Insgesamt wurden an 4 Probenahmetagen die Daten der Kopplung verwertet. Die Befunde von *Cryptosporidium parvum* und *Giardia lamblia* wurden als Mittelwerte jeweils zweier Proben bestimmt und gemeinsam bewertet (Tabelle 7).

In allen Zuläufen der Probenahmetagen waren Zysten bzw. Oozysten vorhanden, in der Folge als „Parasiten“ bezeichnet.

Alle vier Proben der Kopplung ergaben komplette Reduktionen der Parasiten (<1 / L). Diese Reduktionsleistung wurde bei allen Beprobungen im Wesentlichen durch die erste Stufe vollzogen, lediglich bei der Beprobung KW 42 waren noch 4 Parasiten/ 100 L im Ablauf der ersten Stufe nachweisbar, alle anderen Nachweise lagen bei 0/ L bereits nach der ersten Stufe.

**Tabelle 7: Mittlere Reduktion von Parasiten während des Dauerversuches (Praxisanlage Belzig)**

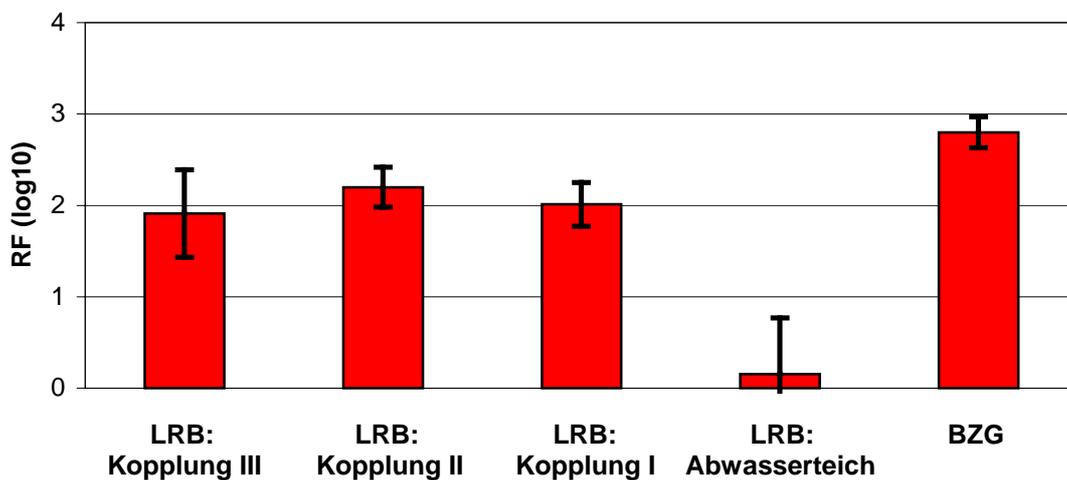
		Kopplung					KW 42	KW 43	KW 45	KW 47	KW 49	MW	SA
Zulauf	Parasiten / 100 L	630	1092	-	467	492	670,3	290,2					
	Parasiten / 1 L	6,3	10,92		4,67	4,92	6,70	2,90					
	<b>Log<sub>10</sub> / 100 L</b>	<b>2,8</b>	<b>3,0</b>		<b>2,7</b>	<b>2,7</b>	<b>2,8</b>	<b>0,1</b>					
B1a-B2a	B1a (1.Stufe)	Parasiten / 100 L	4	1*	2	1*	1*	1,2	1,8				
		Parasiten / 1 L	0,04	1*	0,02	1*	1*	0,01	0,02				
		<b>RF / 100 L</b>	<b>2,2</b>	<b>&gt;3,0</b>		<b>&gt;2,7</b>	<b>&gt;2,7</b>	<b>2,7</b>	<b>0,3</b>				
	B2a (2.Stufe)	Parasiten / 100 L	1*	1*	1*	1*	1*	0	0				
		Parasiten / 1 L	1*	1*	1*	1*	1*	0	0				
		<b>RF / 100 L</b>	<b>2,8</b>	<b>&gt;3,0</b>		<b>&gt;2,7</b>	<b>&gt;2,7</b>	<b>2,8</b>	<b>0,1</b>				

(\* 1, da Log von 0 nicht möglich)

Von 490 bis rund 1100 Parasiten / 100 L Vorlast zeigt die Anlage relative Unabhängigkeit der Reinigungskapazität von der Vorlast.

### 4.3 Zusammenfassung der Ergebnisse

Nach Passage der Anlage Langenreichenbach mit gekoppelten Becken wurden bei allen 3 Kopplungen gegenüber den Parasiten *Cryptosporidium parvum* und *Giardia lamblia* ein durchschnittlicher RF von  $>2$  Logstufen erzielt (Abb. 16). Bei den 15 Probenahmen, die einen Vergleich der Kopplungen mit den entsprechenden Zuläufen erlauben, wurden in 12 Fällen Reduktionsleistungen mit nicht mehr nachweisbaren Parasiten in 100 L Probevolumen erzielt. Bei drei der Proben konnten noch Parasiten nachgewiesen werden. Der Teich zeigt keine relevante Reinigungsleistung gegenüber den untersuchten Parasiten.



**Abb. 16: Mittlere Reduktionsfaktoren des Parasitennachweises (Summe aus Anzahl *Giardia* Zysten und *Cryptosporidium* Oozysten) bezogen auf die einzelnen Kopplungen der Beete, dargestellt als Reduktionsfaktor RF ( $\text{Log}_{10}$ ) mit Standardabweichung**

Nach Passage der Anlage Belzig mit zwei gekoppelten Becken waren bei allen vier Beprobungen (mit positivem Parasitenkonzentrationen im Zulauf) und damit auch im Durchschnitt keine Zysten bzw. Oozysten nachweisbar. Dies entspricht bezüglich der Reinigungsleistung gegenüber *Cryptosporidium parvum* und *Giardia lamblia* einen RF von durchschnittlich 2,8 Log-Stufen (berechnet auf Nachweis in 100 L Abwasservolumen). Als maximaler Wert wurde ein RF von 3,0 in KW 43 gemessen.

## 4.4 Ergebnisse der Qualitätssicherung

### 4.4.1 Negativkontrollen

Der Probenumfang für die Negativkontrollen betrug  $n = 9$ . Es erfolgte eine Kontrolle in den einzelnen Arbeitsschritten und des methodischen Gesamtdurchlaufs. Für die Negativkontrollen wurden jeweils 5 L Leitungswasser verwendet, welches vorher durch einen Membranfilter mit einer Porenweite von  $0,45 \mu\text{m}$  filtriert wurde. Nach Filtration konnte in keiner der Leitungswasserproben Oozysten bzw. Zysten nachgewiesen werden. Auch nach Verarbeitung der Negativkontrolle konnten keine Parasiten in den Proben detektiert werden (Tab. 8).

**Tabelle 8: Ergebnisse der Negativkontrollen**

Probe (n=9)		<i>Cryptosporidium</i> Oozysten		<i>Giardia</i> Zysten		Parasiten	
		Akonz.	Ekonz.	Akonz.	Ekonz.	Akonz.	Ekonz.
<b>ELUTION</b>	Einheit:	Oozysten/L	Oozysten/L	Zysten/L	Zysten/L	Parasiten/L	Parasiten/L
Negativ-Kontrollen	N1	0	0	0	0	0	0
	N2	0	0	0	0	0	0
	N3	0	0	0	0	0	0
<b>FLOTATION</b>	Einheit:	Oozysten/ml	Oozysten/ml	Zysten/ml	Zysten/ml	Parasiten/ml	Parasiten/ml
Negativ-Kontrollen	N1	0	0	0	0	0	0
	N2	0	0	0	0	0	0
	N3	0	0	0	0	0	0
<b>E+F</b>	Einheit:	Oozysten/L	Oozysten/L	Zysten/L	Zysten/L	Parasiten/L	Parasiten/L
Negativ-Kontrollen	N1	0	0	0	0	0	0
	N2	0	0	0	0	0	0
	N3	0	0	0	0	0	0

Akonz.: Ausgangskonzentration

Ekonz.: Endkonzentration, nach Durchführen der Kontrollen

E + F: Summe der Einzelschritte = gesamte Verarbeitung

### 4.4.2 Positivkontrollen

Für die Positivkontrollen kontaminierten wir Leitungswasser, welches ebenfalls vorher filtriert wurde mit  $1,07 \cdot 10^4$  *Cryptosporidium* Oozysten / L und 700 *Giardia* Zysten / L. Es handelt sich dabei um formalinfixierte Oo-/Zysten aus dem Färbekit, welche numerisch ermittelt wurden. Die Anzahl der Zysten wurde gemittelt und die Gesamtreduktion beider Parameter, im folgenden als „Parasiten“ bezeichnet, bestimmt.

Die Ausgangskonzentration betrug somit  $1,14 \cdot 10^4$  Parasiten / L. Der Probenumfang betrug für die beiden Arbeitsschritte und für die Gesamtverarbeitung jeweils  $n = 3$ .

Es zeigte sich eine Reduktion von jeweils einer Logstufe sowohl in der Elution als auch in der Flotation, wobei bei der Flotation die Verluste in allen drei Proben größer waren. Bei der getrennt davon durchgeführten Positivkontrolle der Gesamtmethode (E+F) zeigte sich ein Verlust von durchschnittlich zwei Logstufen (Tab. 9).

**Tabelle 9: Ergebnisse der Positivkontrollen**

Probe (n=9)		<i>Cryptosporidium</i> Oozysten		<i>Giardia</i> Zysten		Parasiten	
		Akonz.	Ekonz.	Akonz.	Ekonz.	Akonz.	Ekonz.
<b>ELUTION</b>	Einheit:	Oozysten/L	Oozysten/L	Zysten/L	Zysten/L	Parasiten/L	Parasiten/L
Positiv-Kontrollen	P1	$1,07 \cdot 10^4$	$3,79 \cdot 10^3$	$7,0 \cdot 10^2$	$4,74 \cdot 10^2$	$1,14 \cdot 10^4$	$4,26 \cdot 10^3$
	P2	$1,07 \cdot 10^4$	$2,16 \cdot 10^3$	$7,0 \cdot 10^2$	$3,69 \cdot 10^2$	$1,14 \cdot 10^4$	$2,53 \cdot 10^3$
	P3	$1,07 \cdot 10^4$	$6,99 \cdot 10^3$	$7,0 \cdot 10^2$	$1,92 \cdot 10^2$	$1,14 \cdot 10^4$	$7,18 \cdot 10^3$
<b>FLOTATION</b>	Einheit:	Oozysten/ml	Oozysten/ml	Zysten/ml	Zysten/ml	Parasiten/ml	Parasiten/ml
Positiv-Kontrollen	P1	$1,07 \cdot 10^4$	$1,53 \cdot 10^3$	$7,0 \cdot 10^2$	$1,38 \cdot 10^2$	$1,14 \cdot 10^4$	$1,67 \cdot 10^3$
	P2	$1,07 \cdot 10^4$	$7,72 \cdot 10^2$	$7,0 \cdot 10^2$	$2,17 \cdot 10^2$	$1,14 \cdot 10^4$	$9,89 \cdot 10^2$
	P3	$1,07 \cdot 10^4$	$2,90 \cdot 10^3$	$7,0 \cdot 10^2$	$3,47 \cdot 10^2$	$1,14 \cdot 10^4$	$3,25 \cdot 10^3$
<b>E+F</b>	Einheit:	Oozysten/L	Oozysten/L	Zysten/L	Zysten/L	Parasiten/L	Parasiten/L
Positiv-Kontrollen	P1	$1,07 \cdot 10^4$	$9,28 \cdot 10^2$	$7,0 \cdot 10^2$	$5,9 \cdot 10^1$	$1,14 \cdot 10^4$	$9,87 \cdot 10^2$
	P2	$1,07 \cdot 10^4$	$4,82 \cdot 10^2$	$7,0 \cdot 10^2$	$1,56 \cdot 10^2$	$1,14 \cdot 10^4$	$6,38 \cdot 10^2$
	P3	$1,07 \cdot 10^4$	$6,58 \cdot 10^2$	$7,0 \cdot 10^2$	$9,3 \cdot 10^1$	$1,14 \cdot 10^4$	$7,51 \cdot 10^2$

Akonz.: Ausgangskonzentration

Ekonz.: Endkonzentration, nach Durchführen der Kontrollen

E + F: Summe der Einzelschritte = gesamte Verarbeitung

#### 4.4.3 Ermittlung der Wiederfindungsrate

Die Wiederfindungsrate wurde über die Positivkontrollen ermittelt. Hierfür wurde die mittlere Konzentration der mikroskopisch ermittelten Oozysten bzw. Zysten berechnet ( $n = 3$ ). Die Wiederfindungsrate der Gesamtparasiten wurde durch die Mittelung der einzelnen Parameter bestimmt. In der Methodenverarbeitung zeigt sich eine höhere Wiederfindungsrate für *Giardia* Zysten. Die Verluste an *Cryptosporidium* Oozysten ist sowohl in den einzelnen Arbeitsschritten (Elution des Filters und Flotation der Proben), als auch im gesamten Arbeitsablauf jeweils größer als für *Giardia* Zysten.

Beim Vergleich der einzelnen Arbeitsschritte zeigt sich ein größerer Verlust an Parasiten in der Flotation als in der Elution (Tab. 10). Die Wiederfindungsrate beträgt für *Cryptosporidium* Oozysten 6,4 % und für *Giardia* Zysten 14,7 %. Die gesamte Wiederfindungsrate beträgt lediglich 7,0 %.

**Tabelle 10: Darstellung der Wiederfindungsrate (in %; n = 9)**

Mittlere Wiederfindungsrate (%)	Cryptosporidien	Giardien	Parasiten
<b>ELUTION</b>	40,3	49,3	40,9
<b>FLOTATION</b>	16,2	26,7	17,3
<b>ELUTION + FLOTATION</b>	<b>6,4</b>	<b>14,7</b>	<b>7,0</b>

#### 4.4.4 Positivkontrollen der Färbungen

Zur Kontrolle wurden bei jedem Anfärben Positivkontrollen mit angelegt. Die Kontrollen wurden hierbei lediglich quantitativ durchgeführt.

## 5 Diskussion

Wasser als eine der wichtigsten Lebensgrundlagen unterliegt den unterschiedlichsten Nutzungen, die in der Regel in konkurrierender Wechselbeziehung stehen. Aufgrund verschiedenartigen Ge- und Verbrauchs von Wasser sowie der Beanspruchung des Grundwassers durch Landwirtschaft, Verkehrs- und Siedlungsaktivitäten sind Gewässer starken Belastungen ausgesetzt. Einwandfreies Wasser ist damit zu einem knappen Gut geworden, dessen Schutz zu den Hauptaufgaben staatlicher Politik gehört (vgl. z. B. Senatsbeschluss Hamburg: Neufassung der Globalrichtlinie D1/99 2005).

Während die städtische Abwasseraufbereitung größtenteils durch große Kläranlagen zentralisiert geleistet wird, kommt in ländlichen Gebieten mit langen Transportwegen die Installation von dezentralen Anlagen zur Abwasserreinigung in Betracht, die hier eine ökonomische Alternative darstellen können. Dezentrale Lösungen sind u. a. Pflanzenkläranlagen, die in den letzten Jahren durch ihre naturnahe Konstruktionsweise und der Unabhängigkeit von aufwändiger Steuerungstechnologie eine Renaissance erleben.

In Deutschland hat durch die gesetzlichen Regelungen bezüglich der sog. „dezentralen Abwasserreinigung“ die Bedeutung von Kleinkläranlagen und hierbei vor allem diejenigen der bewachsenen Bodenfilter in den letzten Jahren stark zugenommen (Mathys 1998, Borneff-Lipp et al. 2005).

Bei den unterschiedlichen Anlagentypen und Verfahrenstechniken lassen sich inzwischen bei sorgfältiger Planung und Betrieb gute Ergebnisse hinsichtlich der abwasserchemischen Parameter erzielen, welche den Erfordernissen zur Abwassernutzung zu Bewässerungszwecken gerecht werden. Vergleichsweise wenige Daten liegen über die Reduktion von seuchenhygienisch relevanten Krankheitserregern, wie z. B. Salmonellen und Parasiten, vor (Mathys 1998, Hagendorf et al. 2002).

## 5.1 Auswahl der untersuchten parasitologischen Parameter

Wir wählten *Giardia* Zysten und *Cryptosporidium* Oozysten als Parameter für unsere Untersuchungen, da sie in Industriestaaten eine krankheitsrelevante Bedeutung haben (Schoenen et al. 2001). Bei zahlreichen durch *Cryptosporidien* ausgelösten Ausbrüchen in Nordamerika und Europa waren mehrere tausend Menschen betroffen. Diese Ausbrüche waren immer auf eine Kontamination des Trinkwassers mit häuslichen oder landwirtschaftlichen Abwässern, Oberflächenwasser oder auf Verunreinigungen mit Tierkot zurückzuführen (Hellenbrand 2003). Ensink konnte ein signifikant erhöhtes Risiko für (asymptomatische) *Giardia* Infektionen bei Landwirten, die Abwasser zur Bewässerung verwendeten, im Vergleich zu einer Kontrollgruppe, welche gewöhnliches Wasser als Bewässerungswasser nutzten, nachweisen (Ensink 2005).

Darüber hinaus nimmt das Projekt Bezug auf bereits durchgeführte Studien, welche *Giardia* Zysten und *Cryptosporidium* Oozysten als protozoische Parameter wählten (vgl. Hagendorf et al. 2002).

## 5.2 Bewertung der Ergebnisse

### 5.2.1 Pilotanlage Langenreichenbach

Nach Passage der Anlage mit gekoppelten Becken wurde bei allen 3 Kopplungen gegenüber den Parasiten *Cryptosporidium parvum* und *Giardia lamblia* ein durchschnittlicher RF von >2 Logstufen erzielt. Bei den 15 Probenahmen, die einen Vergleich der Kopplungen mit den entsprechenden Zuläufen erlauben, wurden in 12 Fällen Reduktionsleistungen mit nicht mehr nachweisbaren Parasiten in 100 L Probevolumen erzielt (=100 L).

Bei drei der Proben konnten noch Parasiten nachgewiesen werden. Der Teich zeigt nur eine vergleichsweise schwache Reinigungsleistung gegenüber den untersuchten Parasiten.

Sämtliche Kopplungsformen erzielten Parasitenwerte im Ablauf von <1 Parasitenform/1 L. Wendet man die Klassifizierung der „DIN 19650“ bzw. der WHO Empfehlung an, so würde die Kategorie A nach WHO erreicht werden.

Voraussetzung hierfür wäre, dass keine anderweitigen Parasitenformen nachweisbar sind, was im Rahmen unserer Studie zeitgleich nicht untersucht wurde. Eine nachgeschaltete Beprobung ergab auch keinen Nachweis weiterer Parasiten im Ablauf der Pilotanlage (vgl. Kap. 5.7).

Die Zweistufigkeit der Kopplung der Anlage bewährte sich dabei insofern, als im Ablauf des ersten Beckens noch vereinzelt Parasiten nachweisbar waren, die in der zweiten Stufe eliminiert wurden.

### **5.2.2 Praxisanlage Belzig**

Die Hauptreinigungsleistung findet bereits in den ersten Kopplungsstufen statt. Zur Bewertung der Abwasserqualität nach Aufbereitung hinsichtlich einer Eignung als Bewässerungswasser nach DIN bzw. WHO würde die Anlage (Werte nach Kopplungsstufe) die Eignungsklasse 1 nach DIN 19650 sowie Kategorie A nach WHO Empfehlung ebenso wie die Anlage Langenreichenbach nur dann erfüllen, wenn keine anderweitigen Parasitenformen nachweisbar wären.

### **5.2.3 Vergleich mit Ergebnissen aus anderen naturnahen Abwasseraufbereitungsverfahren**

Hagendorf et al. führten im Rahmen einer unserem Projekt vorangehenden Studie Untersuchungen in drei Anlagen unterschiedlicher Bauweise durch. Hierbei erfolgten auch Untersuchungen hinsichtlich der Reduktion von *Cryptosporidium* Oozysten und *Giardia* Zysten.

Die Ergebnisse der Zulaufkonzentrationen in den einzelnen Anlagen, als auch die Konzentrationen der beiden Parameter aus den Abläufen der jeweiligen Anlagen entsprechen weitestgehend denen der hier dargestellten Ergebnisse. In der Anlage Wiedersberg (zweistufig, Horizontalfilter – Vertikalfilter) z. B. wurden *Cryptosporidium* Oozysten und *Giardia* Zysten, deren Konzentration im Zulauf bei  $4,9 \times 10^1/100$  L bzw.  $3,2 \times 10^3/100$  L lagen, bei der Bodenfilterpassage auf Werte von 1 bzw.  $0,5/100$  L reduziert.

Für die Parasitendauerformen wurden generell sehr gute Eliminationsraten durch die bewachsenen Bodenfilter nachgewiesen. Hierbei wurden nur sporadisch in ca. 10% der Proben positive Parasitenbefunde erhoben (Hagendorf et al. 2002).

Stott et al. untersuchten 1997 die Reinigungsleistung eines bepflanzten Kiesbeetes in Ägypten mit dem Ziel eine Reduktion der verschiedenen mikrobiologischer Parameter, darunter auch Zysten von *Giardia* und Helmintheneier zu ermitteln. Es konnte immerhin, trotz teilweise hoher Konzentrationen im Zulauf, eine – wenn auch nicht komplette – Reduktion, sowie eine Qualität im Sinne entsprechend der WHO-Empfehlung (1989) gewährleistet werden (Stott et al. 1997).

Karpiscak et al. führten Untersuchungen über die Reduktion von Giardien und Cryptosporidien in zwei zweistufigen Klärteichen unterschiedlicher Bauweise durch. Die Anlagen befanden sich in Arizona, USA. Die Konzentrationen an Oo-/Zysten im Zulauf der beiden Anlagen war nahezu identisch und variierten für Cryptosporidien zwischen 1 und 24 Oozysten/L, für Giardien zwischen 1 und 161 Zysten/L. Insgesamt wurden durchschnittlich 98% der *Giardia* Zysten und 87% der *Cryptosporidium* Oozysten bei Passage der Anlagen reduziert (Karpiscak et al. 1996).

Quiñónez-Díaz et al. untersuchten die Reduktionsleistung von Bodenfiltern im Pilotmaßstab in Tuscon (Arizona, USA). Die Zulaufkonzentrationen für *Giardia* betrug 7444 Zysten/L und für *Cryptosporidium* 140 Oozysten/L. Die durchschnittlichen Reduktionen in den einzelnen Bodenfiltern lag für Giardien zwischen 95,3 ( $\pm$  2,4) und 99,9%, für Cryptosporidien zwischen 92,7 ( $\pm$  2,8) und 99%. Wie in unseren Untersuchungen konnten die Autoren keinen signifikanten Einfluss der Bepflanzung auf die Reduktion von Parasiten zeigen (Quiñónez-Díaz et al. 2001).

### Exkurs

Innerhalb unseres Projektes wurden, neben den dieser Arbeit zugrunde liegenden Untersuchungen, auch parasitologische Proben aus einer Pilotanlage in Mexiko-City (Mexiko) gewonnen (vgl. Dürr et al. 2003). Es handelt sich hierbei um eine weitestgehend baugleiche Anlage der Pilotanlage in Langenreichenbach. Um den lokalen Gegebenheiten und dem besonderen Infektionsrisiko in Mexiko Rechnung zu tragen, wurden die Untersuchungen dort um die mikroskopische Diagnostik von Ascariden, Taenien und Schistosomen erweitert.

Alle untersuchten Becken wiesen eine deutliche Reduktionsleistung mit einem minimalen RF von 1,9 und einem maximalen RF von 2,14 gegenüber Parasiten auf. Die Reduktionsleistung der 3 beprobten Einzelbecken betrug auch hier etwa 2 Logarithmusstufen.

Bei zwei der drei Kopplungen in Mexiko wurde die Leistung durch Kopplung intensiviert. Allerdings kam es bei einer Kopplung zu einer Verschlechterung der Reduktionsleistung um rund 0,5 Logstufen.

Hinsichtlich der seuchenhygienischen Bewertung entsprechend den bekannten Normen/Richtlinien (WHO/DIN/NOM-003-ECOL; vgl. Anhang 2,3 und 4) kann die Nutzung des Abwasser als Bewässerungswasser nach Passage dieser Pilotanlage nur eingeschränkt empfohlen werden (Borneff-Lipp et al. 2005).

#### 5.2.4 Vergleich mit Ergebnissen aus konventionellen Kläranlagen

Unsere Untersuchungen zeigten eine durchschnittliche Reduktion der Parasiten von 2 Log-Stufen in gekoppelten Anlagen.

Caccio et al. untersuchten kommunale Kläranlagen in Italien hinsichtlich der Reduktion von Giardien und Cryptosporidien. *Cryptosporidium* Oozysten traten sporadisch und nur im Zulauf der Anlagen auf. *Giardia* Zysten konnten in allen Zuläufen nachgewiesen werden. Die Konzentrationen von *Giardia* Zysten im Zulauf der Anlagen variierte zwischen  $2,1 \cdot 10^3$  und  $4,2 \cdot 10^4$  Zysten/L mit den höchsten Konzentrationen in Herbst und Winter. Die prozentuale Gesamtreduktion in den Kläranlagen lag zwischen 87,0 und 98,4%. Dies entspricht eine Reduktion von 1 bis 2 Logstufen (vgl. Caccio et al. 2003).

Kistemann konnte *Giardia lamblia* in allen Zuläufen von sechs untersuchten konventionellen Kläranlagen unterschiedlicher Bauart nachweisen. Die Reinigungsleistung der untersuchten Kläranlagen lag für Giardien zwischen 1 und 3,5 Logarithmus-Stufen. *Cryptosporidium spp.* traten hingegen nur in 20 bis 60% der Zulaufproben und nur sporadisch in den Abläufen auf (Kistemann 2001).

Insgesamt liegen kaum Veröffentlichungen zu diesem Thema vor und die wenigen Studien erlauben dementsprechend kaum allgemeingültige Aussagen. Allerdings fielen große Abweichungen innerhalb der einzelnen Untersuchungen auf (Mathys 1998).

Bischoff und Feuerpfeil wiesen in einer Studie über die Belastung von Trinkwassertalsperren mit Parasiten eine höhere Konzentration von Protozoen bei nachgewiesenem Siedlungsabwassereintrag nach. Durch Siedlungsabwassereintrag überwiegen demnach *Giardia* Zysten im Vergleich mit *Cryptosporidium* Oozysten (Bischoff und Feuerpfeil 2001). Dies entspricht unseren Ergebnissen in der Pilotanlage Langenreichenbach und der Praxisanlage Belzig, denen Siedlungsabwasser zugeführt wird.

### 5.2.5 Vergleich mit anderen mikrobiologischen Parametern

Insgesamt muss für Protozoen mit vergleichsweise geringen Reduktionsraten im behandelten Abwasser gerechnet werden. Dies gilt vor allem im Vergleich zu denjenigen Reduktionsraten hinsichtlich Fäkalindikatoren und Viren (Pike 1990). In unserem Projekt stellten wir fest, dass das gereinigte Abwasser unter optimierter 2-stufiger Anlagentechnik eine um 4-5 log-Stufen verringerte Konzentration für die Parameter KBE, Coliforme Bakterien, *E. coli* und Enterokokken aufwies. Salmonellen, Clostridien und die untersuchten Parasiten wurden dagegen in deutlich geringerem Umfang reduziert (Borneff-Lipp et al. 2005, Dürr et al. 2005).

Blumenthal et al. stellen darüberhinaus fest, dass die Reduktion von *Helminthen-Eiern* in Abwässern nicht mit der Reduktion von protozoischen Parasiten wie Cryptosporidien, Giardien und *Cyclospora* korreliert (Blumenthal et al. 2000).

Dennoch halten die Autoren das Risiko einer durch Abwasser verursachten Epidemie durch Protozoen bei Einhalten des Grenzwertes für Helminthen Eiern ( $\leq 1/L$ ) für so gering, dass keine Nachweisgrenze für Protozoen eingeführt werden muss. Diese Tatsache wird damit begründet, dass Ausbrüche von wasserassoziierten Parasitosen hauptsächlich in Zusammenhang mit kontaminiertem Trinkwasser, Auftreten in Badewässern und Verzehr von kontaminierten Lebensmitteln beschrieben wird.

Aufgrund der geringen Datenlage gibt es bisher keinen epidemiologischen Beweis für ein erhöhtes Risiko beim Gebrauch von Abwasser zu Bewässerungszwecken, die den erheblichen, sowohl technischen als auch finanziellen, Mehraufwand der parasitologischen Untersuchungen rechtfertigen würde (Blumenthal et al. 2000). In Regionen mit hohen Belastungen an Parasiten sollten diesbezüglich Untersuchungsparameter im Sinne von Indikatororganismen jedoch einbezogen werden.

### Exkurs

Die Trinkwasserrichtlinie der Europäischen Union (Richtlinie 98/83/EG des Rates über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch) deklariert das Bakterium *Clostridium perfringens* als resistenten Fäkalindikator. Bei von Oberflächenwasser beeinflusstem und aufbereitetem Trinkwasser muss nach der novellierten Trinkwasserverordnung (Trinkwasserverordnung 2001) die Untersuchung auf *Clostridium perfringens* als Indikator für eine Kontamination durch Protozoen erfolgen (Hellenbrand 2003).

Man geht dabei von folgendem Zusammenhang aus:

Sind in 100 ml Wasser keine Clostridien nachweisbar, sollte das Wasser auch keine Parasitendauerformen wie beispielsweise *Cryptosporidium* Oozysten und *Giardia* Zysten enthalten, da Clostridien als Sporenbildner wesentlich widerstandsfähiger gegenüber äußeren Einflüssen sind, als die übrigen Fäkalindikatoren. Daher sollen sich anaerobe Sporenbildner als Indikator für Protozoen eignen (Mazoua 2005).

Allerdings können Clostridien nur eingeschränkt als Indikatorkeim für eine möglicherweise länger zurückliegende fäkale Verunreinigung des Wassers bzw. Kontamination mit Protozoen dienen (Schindler 2004). Fuchslin et al. untersuchten 15 Wasserproben, welche mit *Cryptosporidium* Oozysten kontaminiert waren auf die Koexistenz von *Clostridium* spp.. Sie fanden jedoch keine Korrelation zwischen dem Auftreten von Cryptosporidien und dem resistenten Fäkalindikator *Clostridium perfringens* (Fuchslin 2005).

In unseren Untersuchungen konnte ebenfalls keine Korrelation zwischen *Clostridium* spp. (Nachweisverfahren: Nachweis und Zählung der Sporen sulfitreduzierender Anaerobier (Clostridien) (ISO 6461-1)) und den untersuchten Protozoen festgestellt werden. So war im Zulauf der Anlage Langenreichenbach die Clostridien-Konzentration, die im Bereich von 2,5-4,5 log (MPN/100 ml) lag, mit deutlich größeren Schwankungen im jahreszeitlichen Verlauf behaftet. In den Abläufen der einzelnen Stufen zeigte sich, dass im Ablaufwasser der 2. Stufe zum Teil höhere Clostridien-Konzentrationen festgestellt werden konnten, als im Ablaufwasser der 1. Stufe (Borneff-Lipp et al. 2005).

In der Praxisanlage Belzig kam es zu keiner wesentlichen weiteren Abnahme der Clostridien-Konzentration in der 2. Stufe der Anlage. Im Ablauf der 2. Stufe konnten noch regelmäßig Clostridien nachgewiesen werden mit Konzentration von etwa 0,5-2,0 log (MPN/100 ml). Protozoen konnten im Ablauf der 2. Stufe in keiner der Proben nachgewiesen werden.

Für unsere untersuchten Anlagen gilt daher im weitesten Sinne, dass *Clostridium perfringens* als Indikatoren für Protozoen nicht zuverlässig sind. Wahrscheinlich folgen Protozoen und Clostridien in ihrem Umweltverhalten nicht einheitlichen Gesetzmäßigkeiten (Füchslin 2005). Dennoch sollten bei Vorkommen von *Clostridium spp.* in Proben weiterführende Untersuchungen zur Abklärung einer zusätzlichen parasitologischen Belastung durchgeführt werden.

### 5.2.6 Mehranreicherungen von Oo-/Zysten

Im Abwasserteich der Pilotanlage Langenreichenbach zeigte sich in drei Proben eine Anreicherung von Oo-/Zysten teilweise bis zum 6-fachen der Zulaufwerte. Da es sich hierbei um einen unbelüfteten Abwasserteich handelt, ist nicht von einer biologischen Vermehrung auszugehen. Die Parasiten sedimentieren jedoch im Abwasser und setzen sich im entstehenden Klärschlamm ab, wo sie über einen langen Zeitraum persistieren können (Mathys 1998).

Kommt es zum Aufwühlen des Klärschlammes, zum Beispiel bei der Beschickung des Teiches, lösen sich die Oo-/Zysten und tauchen dann im Ablauf des Teiches auf. Wie lange die Parasitenzysten vital im Teichsediment überleben, ist bisher nicht untersucht.

Der Transport der Mikroorganismen im Boden wird durch deren Adsorption an die Bodenmatrix beeinflusst. Adsorbierte Mikroorganismen sterben nicht zwangsläufig ab. Nach einer Desorption ist ihr Weitertransport möglich (Borneff-Lipp et al. 2005).

Ein entsprechender Effekt könnte auch für Parasiten zutreffen und die Mehranreicherung im Ablauf erklären.

### **5.3 Einfluss verschiedener Variablen auf die Reinigungsleistung**

#### **5.3.1 Einfluss der Bepflanzung auf die Reinigungsleistung**

Den Effekt der verstärkten Eliminierung von Bakterien (*E. coli*) in der Rhizosphäre von *Phragmites* bzw. *Typha* (mit 35 - 91%) gegenüber unbepflanzten Kontrollvarianten (mit 0 - 35%) konnten Rivera et al. (1995) in Wurzelraum-Untersuchungen nachweisen. Zwischen den beiden Pflanzenspezies ergaben sich keine signifikanten Unterschiede in der Effizienz (Rivera et al. 1995). Im Winter ergab sich bei den Untersuchungen im Pilotmaßstab eine geringere Eliminierungsrate als in den Sommermonaten, allerdings ohne signifikanten Unterschied zwischen bepflanzter und unbepflanzter Variante.

Die Pflanzen sind indirekt am Reinigungsprozess beteiligt, sie fördern milieuhängige Vorgänge im Wurzelraum, die letzten Endes zum Absterben von Bakterien im Zulauf führen (Hofmann und Wissing 1995).

In der hier vorliegenden Arbeit konnte kein wesentlicher Einfluss der Bepflanzung auf die Reduktion von Parasitenstadien in Pflanzenkläranlagen gezeigt werden.

#### **5.3.2 Einfluss der Bodenmatrix auf die Keimreduktion**

In Abhängigkeit vom Vorhandensein oberflächenaktiver Bodenkolloide und essentieller Nährstoffe werden Mikroorganismen im Bodenkörper filtrierte. Der Transport der Mikroorganismen im Boden wird durch deren Adsorption an die Bodenmatrix beeinflusst. Die Adsorption ist abhängig von der Größe der Bodenpartikel und deren Gehalt an organischer Substanz. Ton- und humusreiche Böden begünstigen aufgrund ihrer großen spezifischen Oberfläche die Adsorption. Adsorbierte Bakterien sterben nicht zwangsläufig rasch ab. Nach einer Desorption ist ihr Weitertransport möglich. Sedimentationsvorgänge erhöhen das Rückhaltevermögen des Bodens gegenüber Bakterien (Carlson 1986).

Hagendorf und Hahn (1994) untersuchten die Leistungsfähigkeit einer Reihe von Pflanzenkläranlagen in Deutschland. Die höchsten Reduktionsergebnisse wurden in Anlagen mit nichtbindigem Bodenmaterial und vertikalem Durchfluss erzielt. Anlagen mit kiesigem Boden erreichen eine schwächere Keimverminderung als diejenigen mit fein- bis mittelsandigem Boden (Hagendorf und Hahn 1994).

Bindige Böden führten zu hydraulischen Problemen (Überstau) mit z. T. drastischer Senkung der Leistungsfähigkeit. Bezüglich des Einflusses der Bodenmatrix auf die Reduktion von Protozoen liegen bisher keine systematischen Ergebnisse vor. Unsere Studie erlaubte keine Schlussfolgerung bezüglich der Abhängigkeit der Reduktion von Parasiten von der Art der untersuchten Bodenmatrix.

Im Gegensatz hierzu konnte für die untersuchten Bakterien eine Rangreihung hinsichtlich der Reinigungsleistungen gezeigt werden. Die höchsten Leistungen, z. B. für *E. coli*, wurden in den Filtern mit feinkörnigem Sand erzielt, wobei der Vertikalfilter die besten Leistungen lieferte.

#### **5.4 Reinigungsleistungen hinsichtlich chemischer Parameter in bewachsenen Bodenfiltern**

Hinsichtlich der Entfernung von chemischen Abwasserinhaltsstoffen konnte eine im Vergleich mit konventionellen Anlagen bemerkenswerte Reinigungsleistung nachgewiesen werden. So liegt der Wirkungsgrad für den Abbau der organischen Kohlenstoffverbindungen (CSB, BSB) in den Filterbeeten bei bis zu über 95%. Abhängig von der Flächenbelastung werden Ablaufwerte im Bereich der analytischen Nachweisgrenzen erreicht. Die geforderten Ablaufwerte werden ganzjährig sicher eingehalten, wobei Leistungseinbußen im Sommer-Winterbetrieb nur ausnahmsweise beobachtet wurden (Hagendorf 1997).

In Horizontalfiltern konnte, abhängig von der Flächenbelastung, eine Gesamt-Stickstoff-Elimination über 80% und in Vertikalfiltern i.d.R. sogar eine vollständige Nitrifikation beobachtet werden, so dass sich bei höheren Flächenkombinationen eine Verfahrenskombination Vertikal- und Horizontalfilter empfiehlt (Platzer 1995).

Die Phosphor-Elimination liegt i.d.R. über 60%. Sie hängt vom eingesetzten Filtermaterial ab und erreicht bei spezifischen Flächen zwischen 5 bis 10m<sup>2</sup>/EW in Horizontalfiltern Wirkungsgrade von bis zu 99%. Bei Vertikalfiltern werden vergleichbare Wirkungsgrade bereits bei Flächen von 3 – 5 m<sup>2</sup>/EW erreicht (Hagendorf 1997).

In unseren Untersuchungen konnte erwartungsgemäß eine sehr effektive Reduktion der CSB-, C-, N- und P-Werte erzielt werden, wobei Sandfilter eine bessere durchschnittliche Reinigungsleistung als die Mischsubstratfilter (Sand/Blähton) zeigten. In Langenreichenbach

war durch die Modifikation des Beschickungsregimes der Vertikalfilter, insbesondere der Beschickungsfrequenz, eine Steuerung der CSB- und  $\text{NH}_4\text{-N}$ -Reinigungsleistung möglich. Folglich können durch Anpassung an unterschiedliche, standortspezifische Filtersubstrate stabile Reinigungsleistungen erzielt werden. Im Vergleich dazu lag die Reinigungsleistung (CSB-,  $\text{N}_{\text{ges}}$ -Reduktion) des unbelüfteten Abwasserteiches meist unter derjenigen von einstufigen Bodenfiltern bei gleicher hydraulischer Belastung und Zulaufkonzentration (Müller 2005).

## 5.5 Diskussion der verwendeten Methode

Die Methode der US EPA ist nur zur orientierenden Bewertung der parasitologischen Wasseraufbereitung vorgesehen, für eine weitergehende Überprüfung bzw. Einordnung der Abwasseraufbereitungsqualität für Bewässerungszwecke, z. B. nach europäischen (z. B. DIN, AFNOR) und US-amerikanischen Normen bzw. Empfehlungen, müssten zusätzliche Parameter untersucht werden, bzw. die Methodik erweitert werden.

### 5.5.1 Wahl des Flotationsmittels

Wir verwendeten eine Saccharose-Lösung mit einem spezifischen Gewicht von 1,18 g/ml. Diese hat gegenüber anderen Flotationslösungen, wie z. B. Calciumcitrat, den Vorteil, dass es nach Zugabe weiterer Detergentien nicht zu Ausfällungen kommt (Rose und Botzenhart 1990). Darüber hinaus wird in der Literatur eine Verwendung von Saccharose-Lösungen empfohlen, da gesättigte Salzlösungen die Oberfläche von Cryptosporidien schädigen können und die Darstellung der Zysten mittels indirekter Immunfluoreszenz aufgrund der zerstörten Oberflächenantigene erschwert wird (Watkins 1999).

### 5.5.2 Vitalitäts- und Infektiösitätsprüfung

Die zum Nachweis der Zysten-Zielorganismen *Cryptosporidium parvum* und *Giardia lamblia* angewandte Methode der DAPI-Färbung in Korrelation mit der Immunfluoreszenz-Färbung erfüllte das Studienziel, zu einer quantitativen Bewertung der innerhalb der Pflanzenkläranlage stattfindenden Reduktion zu kommen.

Tsushima et al. (2003) merken jedoch zum Einsatz dieser Färbemethode an, dass eine sichere Unterscheidung zwischen vitalen und nichtvitalen Zysten problematisch sei – im Rahmen der Untersuchungen dieser Autoren kam es beim Einsatz dieser Methoden für Flusswasser zu Kreuzreaktionen mit gelösten Teilchen; dieses Phänomen könnte durchaus auch bei Abwasser im Aufbereitungsprozess auftreten. Insofern sind unsere Untersuchungsergebnisse kritisch zu beleuchten, als keine Aussage zur Vitalität und damit zur Infektiösität der nachgewiesenen Zysten getroffen werden kann. Ein diesbezüglicher Nachweis erfordert den Einsatz aufwändigerer Verfahren, wie molekularbiologische Methoden, z. B. mittels PCR (vgl. Fillkom et al. 1994). Die Nachweisgrenzen liegen allerdings nach Wagner-Wiening 1999 sowie Caccio 2004 bei 10 vitalen Cryptosporidien und 5 vitalen Giardien.

Bisher existieren ohnehin nur ungenügende Daten zur Korrelation der Nachweisparameter mit der in vivo-Infektiösität für den Menschen. Diese müssten unter Zellkultur-Behandlungen (in-vitro-Zell-Attachnachweis in Enterozyten) im Zusammenhang mit dem molekularen Nachweis replizierbarer DNA in der Zyste etabliert werden, was einen separaten Forschungsansatz darstellen würde.

Es ist davon auszugehen, dass die von uns anhand der Färbemethoden ermittelten Werte daher das potentielle Infektionsrisiko eher zu hoch bewerten lassen; diese Erkenntnis ergibt sich in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Garcia et al. (2003), die zur Bestimmung der Lebensfähigkeit von Giardia Zysten aus dem Abfluss von konventionellen Kläranlagen diese in Mäuse übertrugen. Die Autoren kamen zu dem Schluss, dass ohne Bestimmung der Vitalität der Zysten das potentielle Gesundheitsrisiko überschätzt würde, weil übertragene nichtvitalen Zellen auffällig wurden (Garcia et al. 2002).

Grundsätzlich bleibt festzuhalten, dass in der parasitologischen Diagnostik im Bereich der Umwelthygiene aufgrund der primär geringen Belastung mit Oo-/Zysten zumindest für unsere Breiten ein Bedarf an sensitiven Nachweismethoden besteht, die auch eine Aussage über die Lebensfähigkeit bzw. Infektiösität der nachgewiesenen Oo-/Zysten ermöglichen.

### 5.5.3 Wiederfindungsrate

Der Nachweis von *Giardia* Zysten und *Cryptosporidium* Oozysten mittels einer Immunfluoreszenzfärbung ist aufwändig und erfordert spezielle Laborausrüstung und entsprechende Erfahrung bei der Auswertung. Die Wiederfindungsrate betrug in unseren Untersuchungen rund 7%.

In anderen Studien wurden weite Schwankungen festgestellt; McCuin et al. beschreiben Schwankungsbreiten der Wiederfindungsraten zwischen 0,4% und 83,9% für *Cryptosporidium parvum* und 3,2% bis 90,3% für *Giardia lamblia* (McCuin et al. 2000). Mikrobiologische Untersuchungen von Oberflächengewässern in Österreich zeigten, dass die Wiederfindungsrate indirekt proportional zur Trübung des Wasser ist. Hier konnten Werte zwischen 8,2 und 17,3% erreicht werden (Stauffer et al. 2001).

Clancy et al. untersuchten in einer Blindstudie 16 kommerzielle Labore in den USA. Hier fand sich eine Wiederfindungsrate für *Giardia* Zysten in den einzelnen Laboren von 0,8% bis zu 22,3% und (Mittelwert 9,3%) und für *Cryptosporidium* Oozysten zwischen 1,3 und 5,5% (Durchschnitt 2,8%; Clancy et al. 1994).

LeChevallier et al. führten eine Analyse der Immunfluoreszenzmethode durch und kamen zu dem Ergebnis, dass es zu einem höheren Verlust an *Cryptosporidium* Oozysten verglichen mit *Giardia* Zysten kommt und dass die Hauptverluste durch die Zentrifugation und die Reinigung der Proben verursacht sind (LeChevallier et al. 1995).

Rose und Botzenhart beschrieben bereits 1990 eine Methode, welche im wesentlichen derjenigen der US EPA von 1995 entspricht. In der Studie wurde die Wiederfindungsquote der Methode mit beimpftem Leitungswasser überprüft. Die prozentuale Ausbeute variierte von mindestens 6% bis maximal 59%. Die Autoren unterstreichen den Einfluss der Wasserqualität auf die Wiederfindungsrate. Die Variationsbreite der Wiederfindungsquote wird demzufolge durch suspendierte Feststoffe, Trübung, Lehm, Algen und organische Materialien beeinflusst (Rose und Botzenhart 1990).

Die in unseren Untersuchungen ermittelte Wiederfindungsrate von 7% entspricht folglich im wesentlichen den Ergebnissen der zitierten Literatur.

## 5.6 Notwendigkeit systematischer Erfassung von wasserassozierten Parasitosen

Bislang sind in Deutschland nur vereinzelte Fälle trinkwasser- oder badewasserassoziierter Ausbrüche durch *Cryptosporidien* oder *Giardien* publiziert. In der internationalen Diskussion wird dieser Sachverhalt u. a. darauf zurückgeführt, dass in Deutschland keine verbindliche Regelung zur Erfassung wasserbedingter Infektionen besteht. Dies steht im Gegensatz zu Regelungen in den USA und anderen europäischen Ländern, insbesondere England und Wales sowie den skandinavischen Ländern, welche die Erfassung wasserbedingter Infektionen ausdrücklich regeln.

Andererseits sind in Deutschland bei Wasserversorgungsunternehmen, die Oberflächenwasser oder oberflächenbeeinflusstes Grundwasser nutzen, i. d. R. Filtrationssysteme und nachgeschaltete Fällungsstufen eingeführt, wodurch das Risiko wasserassoziierter Parasitosen (und Virusinfektionen) minimiert wird.

Zur Zeit kann jedoch die Epidemiologie wasserassoziierter Parasitosen aufgrund fehlender systematisierter Erfassung in Deutschland nicht sicher beurteilt werden kann (Exner et al. 2001). Im Jahr 2000 wurde erstmalig eine Häufung einer durch kontaminiertes Wasser übertragenen parasitären Erkrankung beschrieben. In einer Ortsgemeinschaft des Landes Rheinland-Pfalz trat gehäuft Giardiasis auf (Hellenbrand 2003). Weiterhin wurde eine Gruppenerkrankung während einer 5tägigen Feldübung der Bundeswehr in Baden-Württemberg beobachtet, bei der 200 von 450 Soldaten an Gastroenteritis erkrankten. Hierbei konnte in 199 Stuhlproben von Soldaten *Cryptosporidium spp.* nachgewiesen werden (Robert Koch-Institut 2001, Hellenbrand 2003).

Da die Indikatorfunktion von Fäkalkeimen (*E. coli*, Coliforme, Enterokokken) bei der Verunreinigung von Wasser mit Protozoen nicht entsprechend zuverlässig ist, sollte bei Ausbrüchen das Trinkwasser grundsätzlich auf protozoische Dauerformen untersucht werden (vgl. Fuchslin 2005, Schindler 2004, Bischoff und Feuerpfeil 2001).

### 5.7 Weiterführende parasitologische Untersuchungen

Im Nachgang der Untersuchungen für diese Arbeit wurden im August 2005 vom UFZ Leipzig-Halle zusätzlich stichprobenartig Proben auf Eier von Nematoden, *Ascaris*, *Trichuris* und Hakenwürmer in der Pilotanlage Langenreichenbach hin untersucht.

Hier konnten lediglich geringe Konzentrationen von Nematodeneiern (7/L) im Zulauf der Pilotanlage Langenreichenbach nachgewiesen werden.

Im Ablauf der einzelnen Beete waren in keiner der Proben Eier der vorgenannten Parasiten aufgetreten, so dass eine Eignung des Wasser entsprechend den Normen der DIN bzw. WHO eine uneingeschränkte Verwendung zu Bewässerungszwecken möglich zu sein scheint<sup>1</sup>.

Es steht außer Frage, dass die Belastung des Abwassers mit Protozoen- und Helminthenstadien – insbesondere in wärmeren Regionen – besondere Beachtung finden muss, da eine direkte Korrelation zu bakteriellen Indikatorsystemen, wie *E. coli* und coliforme Keime, wie in der vorliegenden Studie gezeigt werden konnte, nicht herzustellen ist. Vielmehr sind Epidemien bekannt, die zu mehreren tausend Infektionsfällen geführt haben, obwohl das Wasser nach den Kriterien des Indikatorsystems einwandfrei war.

Unabhängig von der Untersuchung von Indikatororganismen ist daher die Kontrolle auf Krankheitserreger, wie z. B. Salmonellen und Parasitenstadien von unveränderter Bedeutung.

---

<sup>1</sup> persönliche Mitteilung, Dezember 2005, von Herrn Dr. Dipl. Ing. Baeder-Bederski, UFZ Leipzig-Halle

## 6 Zusammenfassung

Wasser ist unentbehrlicher Grundstoff aller Lebewesen. Der Bedarf an Trinkwasser sowie an Betriebswasser für die Industrie steigt ständig an. Darüber hinaus besteht in vielen Entwicklungs- und Schwellenländern aufgrund klimatischer Bedingungen häufig Wasserknappheit, so dass Abwasser zur Bewässerung von Feldern und Plantagen herangezogen wird.

Ziel der Abwasserreinigungsverfahren ist es, Schäden durch Abwassereinleitungen in Gewässer möglichst zu vermeiden. Durch die Richtlinie des Europäischen Rates vom 21. Mai 1991 wird dieser Problematik Sorge getragen und der rechtliche Rahmen zur Abwasseraufbereitung gelegt.

Eines der wichtigsten Elemente der zentralen und dezentralen Abwasserentsorgung sind Kläranlagen. Sie werden errichtet, um das vom Menschen gebrauchte und veränderte Trinkwasser der Natur wieder so zuzuführen, dass es nahezu die biologischen, chemischen und physikalischen Eigenschaften des Ursprungsproduktes besitzt. Die Reinigung des Abwassers in Kläranlagen kann dies bis heute nur in gewissem Maße erreichen, selbst wenn die Entwicklung weiter fortschreitet.

Für die dezentrale Abwasserentsorgung im ländlichen Raum stellen Pflanzenkläranlagen eine wirtschaftliche Alternative dar. Pflanzenkläranlagen sind mit ausgewählten Sumpfpflanzen (Helophyten) besetzte Bodenfilter, die vom Abwasser horizontal oder vertikal durchströmt werden. Die Abwasserreinigung erfolgt im Bodenkörper sowie im Wurzelraum, in dem die Wasserinhaltsstoffe vielfältigen Wechselwirkungen mit dem Filtermaterial (Sand, Blähton) bzw. der Wurzelraumbiozönose unterliegen, woraus das natürliche Eliminationsvermögen resultiert.

Bei der Vielzahl unterschiedlicher Anlagentypen und Verfahrensweisen lassen sich inzwischen bei regelrechter Planung und konsequenter Wartung normerfüllende Ergebnisse hinsichtlich der Reduktion von Abwasserinhaltsstoffen und chemischen Parametern erreichen. Hinsichtlich der Reduktion von pathogenen und fakultativ pathogenen Krankheitserregern liegen bisher allerdings nur wenige Studien vor, so dass z. B. eine Nutzung als Bewässerungswasser für Deutschland bzw. Europa bisher nicht abschließend beurteilt werden kann.

Diese Situation war für das Institut für Hygiene der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg Anlass, die Keimreduktion in Abwässern mit Pflanzenkläranlagen weiter zu untersuchen. Ziel des Projektes, welches vom BMBF gefördert wurde (Förderkennzeichen: 02WA0108), war die Entwicklung und Anpassung von effizienten und kostengünstigen Verfahren zur Reduzierung von Krankheitserregern einschließlich Parasitenstadien in kommunalen Abwässern von Industrie- und Entwicklungsländern.

Hierfür wurden Pilot- und Praxisanlagen in Deutschland beprobt. Ziel der vorgelegten Arbeit war die Darstellung der Reduktion von *Cryptosporidium* Oozysten und *Giardia* Zysten in der Pilotanlage Langenreichenbach (Sachsen) und der Praxisanlage Belzig (Brandenburg). Die beiden Parameter wurden aufgrund ihrer Bedeutung im Rahmen wasserassoziierte Parasitosen in Deutschland und z. T. auch weltweit ausgewählt.

Für die parasitologischen Untersuchungen wurde eine Methode der US EPA von 1995 verwendet (EPA/814-B-95-003). Sie besteht im wesentlichen aus fünf Schritten: (1) Probenahme mittels eines Wickelfilters, (2) Auswaschen des Wickelfilters, (3) Konzentrierung der Oo-/Zysten mittels Zentrifugation, (4) Reinigung der Proben durch Flotation und (5) Beurteilung der Präparate unter dem Mikroskop unter Verwendung einer indirekten Immunfluoreszenzfärbung.

In der Pilotanlage Langenreichenbach wurden drei Beetkopplungen unterschiedlicher Substrate und Beschickungsart mit und ohne Bepflanzung beprobt. Hier konnte eine durchschnittliche Reduktion von zwei Logarithmusstufen festgestellt werden. Die Reduktion der untersuchten Protozoen scheint hierbei unabhängig von der Bepflanzung zu sein. Die Reinigung erfolgt durch das Filtermaterial, wobei die Wahl des verwendeten Substrats von untergeordneter Bedeutung war, da auch hier kein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Reduktion von Protozoen festgestellt werden konnte. Ein als Referenz hierzu untersuchter Abwasserteich zeigte dagegen lediglich eine marginale Reduktion.

In der Praxisanlage Belzig zeigte sich eine Gesamtreduktion von durchschnittlich 2,8 Logarithmusstufen. Im Ablauf der Anlage konnten keine Oo-/Zysten mehr nachgewiesen werden. Dabei wies die Anlage eine relative Unabhängigkeit von der Konzentration der Parameter im Zulauf der Anlage auf.

Für beide Anlagen ist eine zweistufige Abwasserreinigung zu empfehlen, da im Ablauf des ersten Beetes regelmäßig Oo-/Zysten nachweisbar waren.

Die verwendete Methode ist zur orientierenden Bewertung der parasitologischen Wasseraufbereitung vorgesehen, für eine weitergehende Überprüfung bzw. Einordnung der Abwasseraufbereitungsqualität für Bewässerungszwecke, z. B. nach europäischen und US-amerikanischen Normen bzw. Empfehlungen müssten zusätzliche Verfahren und Parasitennachweise zum Einsatz kommen. Diese waren jedoch im Rahmen des Projekts nicht realisierbar. Die Wiederfindungsrate lag für *Giardia* Zysten bei 14,7% und für *Cryptosporidium* Oozysten bei lediglich 6,4%. Weitere Untersuchungen sollten den Nachweis der Vitalität und damit der Infektiosität der im Ablauf nachgewiesenen Oo-/Zysten ermöglichen, um eine weitergehende hygienische Bewertung der Qualität des aufbereiteten Wassers zu gewährleisten. Diesbezüglich bestehen jedoch noch analytisch-diagnostische Probleme, so dass letztendlich keine optimale Untersuchungstechnik international aktuell vorliegt.

In der Zusammenschau der Ergebnisse aus dem gesamten BMBF-Projekt zur Keimzahlreduktion von Abwässern mit Pflanzenkläranlagen ist die Nutzung des gereinigten Abwassers zu Bewässerungszwecken aus mikrobiologischer Sicht prinzipiell möglich. Allerdings stellen nachgeschaltete Kopplungen (mehrstufige Beetsysteme) eine notwendige Anforderung dar, da sie zu einer höheren Sicherheit der Ablaufwerte führen. Eine engmaschige, begleitende mikrobiologische Analytik ist in der Nutzungsphase für Bewässerung unerlässlich.

Es steht außer Frage, dass die Belastung des Abwassers mit Protozoen- und Helminthenstadien – insbesondere in wärmeren Regionen – besondere Beachtung finden muss, da eine direkte Korrelation zu bakteriellen Indikatorsystemen, wie *E. coli* und coliforme Keime, wie in der vorliegenden Studie gezeigt werden konnte, nicht herzustellen ist. Vielmehr sind Epidemien bekannt, die zu mehreren tausend Infektionsfällen geführt haben, obwohl das Wasser nach den Kriterien des Indikatorsystems einwandfrei war.

Unabhängig von der Untersuchung von Indikatororganismen ist daher die Kontrolle auf Krankheitserreger, wie z. B. Salmonellen und Parasitenstadien von unveränderter Bedeutung.

## 7 Literaturverzeichnis

- (1) Abwassertechnische Vereinigung e. V. (Hrsg): Grundsätze für die Bemessung, Bau und Betrieb von Pflanzenbeeten für kommunales Abwasser bei Ausbaugrößen bis 1000 Einwohnerwerte ATV-A 262, Bad Hoenf (1998)
- (2) APHA: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 18. Auflage, American Public Health Association, Washington, D.C. USA, 1992
- (3) Ayres RM, Mara DD: Analysis of wastewater for use in agriculture. WHO Genf (1996) 1-35
- (4) Baeder-Bederski O: Planungsgrundlage für ein pilottechnisches Pflanzenklär-anlagensystem, Bericht UFZ intern (1999)
- (5) Baeder-Bederski O, Dürr M, Borneff-Lipp M, Kusch P, Netter R, Daeschlein G, Mosig P, Müller R A: Retention of *E. coli* in municipal sewage by means of planted soil filters in two-stage pilot plant systems. Proceedings of Wetland Systems for Pollution Control. Water Sci Technol 51 (2005) 205-212
- (6) Bischoff K, Feuerpfeil I: Belastungen von Trinkwassertalsperren und ihrem Einzugsgebiet mit Parasiten (*Cryptosporidium*-Oocysten und *Giardia*-Cysten) und ausgewählten potentiell pathogenen Bakterien als hygienisches Risiko bei der Trinkwasseraufbereitung. Umweltmedizinischer Informationsdienst (2001) 3-11
- (7) Blumenthal UJ, Mara DD, Peasey A, Ruiz-Palacios G, Stott R: Guidelines for the microbiological quality of treated wastewater used in agriculture: Recommendations for revising WHO guidelines. Bulletin of the World Health Organisation 78 (2000) 1104-1116
- (8) Bock W, Robisch H: Das abwasserfreie Haus – Zukunftsvision oder Realität? Schriftenreihe der Kommunalen Umwelt-Aktion (U. A.N.) ; 44, Hannover, 2002, 1-8

- (9) Borneff-Lipp M, Dürr M, Daeschlein G, Scholz S, Braunbeck T, Hollert H: Abschlussbericht Verbundprojekt: Keimzahlreduktion von Abwässern mit Pflanzenkläranlagen (Förderkennzeichen: 02WA0108), Teilprojekt 4: Anwendung hygienischer und ökotoxikologischer Testsysteme zur Evaluierung der Anlageneffizienz. (2005)
- (10) Carlson S: Bakteriologie und Virologie des Wassers. In: Höll K: Wasser, 7. Auflage, Walter de Gruyter, Berlin, 1986, S. 421-535
- (11) Caccio SM, Giacomo M, Aulicino FA, Pozio E: *Giardia* cysts in wastewater treatment plants in Italy. *Appl Environ Microbiol* 69 (2003) 3393-3398
- (12) Caccio SM: New methods for the diagnosis of *Cryptosporidium* and *Giardia*. *Parasitologia* 46 (2004) 151-155
- (13) Clancy JL, Gollnitz WD, Tabib Z: Commercial labs: how accurate are they? *J Am Water Works Assoc* 86 (1994) 89-97
- (14) Corso PS, Kramer MH, Blair KA, Addiss DG, Davis JP, Haddix AC: Cost of Illness in the 1993 Waterborne *Cryptosporidium* Outbreak, Milwaukee, Wisconsin. *Emerg Infect Dis* 9 (2003) 402-417
- (15) Diario Oficial de la Federation: Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reusen en servicios al público. Norma Oficial Mexicana. NOM-003-ECOL-1997 (1997) 68-85
- (16) Dürr M, Daeschlein G, Stüber S, Redder A, Hollert H, Braunbeck T, Borneff-Lipp M: Reduction of microorganisms in municipal waste water using planted soil filters. Part II: Reduction of *E. coli*, *Enterococci*, *Salmonellae*, *Cryptosporidium* and *Giardia* by means of planted soil filters. Wastewater Hygienisation in Constructed Wetlands, Ponds and Related Systems. UFZ Centre for Environmental Research Leipzig-Halle in the Helmholtz Association und BDZ, Training and Demonstration Centre for Decentralised Sewage Treatment, Leipzig, 06.-07.11.2003.

- (17) Dürr M, Daeschlein G, Müller R, Baeder-Bederski O, Borneff-Lipp M: Optimierung der Abwasserbehandlung durch bepflanzte Bodenfilter – Teil 1: Mikrobiologische Ergebnisse. *Umweltmed Forsch Prax* 10 (2005) 311-313
- (18) Eckert J: Protozoen. In Kayser FH, Bienz KA, Eckert J, Zinkernagel RM: *Medizinische Mikrobiologie*, 9. Auflage, Georg Thieme, Stuttgart, New York, 1998, S. 484-556
- (19) Egorov A et al.: Contamination of water supplies with *Cryptosporidium parvum* and *Giardia lamblia* and diarrheal illness in selected Russian cities. *Int J Environ Health* 205 (2002) 281-289
- (20) Ensink JH, van der Hoek W, Amerasinghe FP: *Giardia duodenalis* infection and wastewater irrigation in Pakistan. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 100 (2006) 538-542
- (21) Exner M, Gornik V, Kistemann T: Charakterisierung, Risikoeinschätzung und Prävention wasserassoziierter Parasitosen. *Bundesgesundheitsbl – Gesundheitsforsch – Gesundheitsschutz* 44 (2001) 358-363
- (22) Falabi J, Gerba C, Karpiscak M: *Giardia* and *Cryptosporidium* removal from wastewater by a duckweed (*Lemna gibba* L.) covered pond. *Lett Appl Microbiol* 34 (2002) 384-387
- (23) Filkorn R, Wiedenmann A, Botzenhart K: Selektiver Nachweis lebensfähiger *Cryptosporidium* Oocysten mit der PCR. *Zbl Hyg* 195 (1994) 489-494
- (24) Förtsch S, Jeschke K: Sächsische Regelungen zu dezentralen Abwasserbehandlungsanlagen. *Dresdner Berichte* 23 (2003) 9-13
- (25) Fuchsli HP: Verunreinigtes Trinkwasser aus Landwirtschaftszonen? *Eawag aquatic research*, Schweiz, *Eawag news* 59 (2005) 9-11

- (26) Garcia A, Yanko W, Batzer G, Widmer G: *Giardia* cysts in tertiary-treated wastewater effluents: are they infective? *Water Environ Res* 74(6) (2002) 541-544
- (27) Garcia LS : *Diagnostic Medical Parasitology*. 4. Auflage, American Society for Microbiology. ASM Press, Washington DC, 2001, 36-105
- (28) Gornik V, Exner M: Nachweismethode und Vorkommen von *Cryptosporidium sp.* in ausgewählten Oberflächengewässern. *Zbl Hyg* 192 (1991) 124 – 133
- (29) Hagendorf U, Hahn J: Untersuchungen zur umwelt- und seuchenhygienischen Bewertung naturnaher Abwasserbehandlungssysteme. Umweltbundesamt Texte 60/94 (1994)
- (30) Hagendorf U: Abwasserbehandlung in Bewachsenen Bodenfiltern - Grundlagen, Reinigungsleistungen und Verhalten im Langzeitbetrieb. In Weigert B (Hrsg): *Schriftenreihe Wasserforschung Bd. 2: Dezentrale Abwasserbehandlung in ländlich strukturierten Regionen*. Berlin, Wasserforschung e.V. (1997) 129-145
- (31) Hagendorf U, Bartocha W, Diehl K, Feuerpfeil I, Hummel A, Lopez-Pila J M, Szewzyk R: Mikrobiologische Untersuchungen zur seuchenhygienischen Bewertung naturnaher Abwasserbehandlungsanlagen, AZ 14178-07 Umweltbundesamt Berlin. Teilprojekt im Rahmen des Verbundprojektes „Bewachsene Bodenfilter als Verfahren der Biotechnologie“, AZ 14178-01, gefördert durch die Deutsche Bundesstiftung Umwelt, Osnabrück, 1998. (2002)
- (32) Hänninen ML, Hörman A, Rimhanen-Finne R, Vahtera H, Malmberg S, Herve S, Lahti K: Monitoring of *Cryptosporidium* and *Giardia* in the Vantaa river basin, southern Finland. *Int J Hyg Environ Health* 208 (2005) 163-171
- (33) Hellenbrand W: Neu und vermehrt auftretende Infektionskrankheiten. In Robert Koch-Institut (Hrsg): *Gesundheitsberichterstattung des Bundes Heft 18* (2003) 1-33

- (34) Hofmann K, Wissing F (Hrsg): Wasserreinigung mit Pflanzen. E. Ulmer-Verlag, Stuttgart, 1995
- (35) Karpiscak MM, Gerba CP, Watt PM, Foster KE, Falabi JA: Multi-species plant systems for wastewater quality improvements and habitat enhancement. *Wat Sci Tech* 33 (1996) 231-236
- (36) Kistemann T: Untersuchungen zur mikrobiellen Belastung von Fließgewässern durch Kläranlagen. Projekt MUNLV IV – 9 – 042 147 Gewässergüte (2001)
- (37) Kluttig A: Ein integriertes Wasserwirtschaftskonzept Abwasserreinigung und Möglichkeiten der Brauchwassernutzung. Diplomarbeit. Internationales Hochschulinstitut Zittau. Lehrstuhl für Umweltverfahrenstechnik (2003)
- (38) Koch, C: Vergleichende Untersuchungen der Belastung von Fließgewässern mit *Cryptosporidium sp.* und *Giardia lamblia* in vier Einzugsgebieten mit unterschiedlicher naturräumlicher Ausstattung und menschlicher Nutzung. Dissertation. Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn (2004)
- (39) Kubin, K: Einfluss unterschiedlicher Verfahrenskonzepte auf Substratabbau und Nährstoffverwertung in Membranbelebungsanlagen zur kommunalen Abwasserreinigung. Dissertation. Technische Universität Berlin (2004)
- (40) Kusch P, Schuler P, Wießner A, Hufe S, Böhme D: Treating sewage with biocoenoses of plants and microorganisms. The phytoremediation research association at UFZ Centre of environmental research Leipzig-Halle in the Helmholtz Association. UFZ-Umweltforschungszentrum Leipzig-Halle GmbH in der Helmholtz-Gemeinschaft (2003)
- (41) LeChevallier MW, Trok TM, Burns MO, Lee RG: Comparison of the zinc sulfate and immunofluorescence techniques for detecting *Giardia* and *Cryptosporidium*. *Res Technol* (1990) 75-82

- (42) LeChevallier MW, Norton WD, Siegel JE, Abbaszadegan M: Evaluation of the immunofluorescence procedure for detection Giardia cysts and Cryptosporidium oocysts in water. *Appl Environ Microbiol* 33 (1995) 2592-2595
- (43) Mathys W: Abschätzung gesundheitlicher Risiken beim Betrieb von Kleinkläranlagen, speziell von Pflanzenkläranlagen. Literaturstudie Uni Münster, Institut für Hygiene, Münster (1998)
- (44) Mazoua S: Aerobic spore-forming bacteria for assessing quality of drinking water produced from surface water. *Water Res* 39 (2005) 5186-5198
- (45) McCuin RM, Bukhari Z, Clancy JL: Recovery and viability of *Cryptosporidium parvum* oocysts and *Giardia intestinalis* cysts using the membrane dissolution procedure. *Can J Microbiol* 46 (2000) 700-707
- (46) Müller R : Keimzahlreduktion von Abwässern mit Pflanzenkläranlagen. Teilprojekt 1: Entwicklung und Optimierung dezentraler Pflanzenkläranlagen für den Einsatz in Entwicklungs- und Industrieländern. Abschlussbericht (Förderkennzeichen 02 WA 0107) (2005)
- (47) Normenausschuß Wasserwesen (NAW) im Deutschen Institut für Normung e. V.: Bewässerung: Hygienische Belange von Bewässerungswasser. DIN 19650 (1999)
- (48) Normenausschuß Wasserwesen (NAW) im Deutschen Institut für Normung e.V.: DIN 4261 Kleinkläranlagen - Teil 1: Anlagen zur Abwasservorbehandlung. (2002)
- (49) Oldenburg M, Otterpohl R (1997): Möglichkeiten der dezentralen und semizentralen Abwasserbehandlung. In Weigert B (Hrsg): Schriftenreihe Wasserforschung Bd. 2: Dezentrale Abwasserbehandlung in ländlich strukturierten Regionen. Berlin, Wasserforschung e.V. (1997) 107-122

- (50) Pike EB: The removal of cryptosporidial oocysts during sewage treatment. Hrsg.: Badenoch J: *Cryptosporidium* in water supplies, Department of the Environment and Department of Health, HSMO (1990) 205-208
- (51) Platzer C: Vergleichende Untersuchungen zur Nitrifikation. Wiener Mitt. Wasser, Abwasser, Gewässer 124 (1995) 133-148
- (52) Quiñónez-Díaz MJ, Karpiscak MM, Ellman ED, Gerba CP: Removal of pathogenetic and indicator microorganisms by a constructed wetland receiving untreated domestic wastewater. J Sci Health 36 (7) (2001) 1321-1333
- (53) Rivera F, Warren A, Ramirez E, Decamp O, Bonilla P, Gallegos E, Calderon A, Sanchez JT: Removal of pathogens from wastewaters by the root zone method (RZM). Wat Sci Technol 32 (1995) 211-218
- (54) Robert Koch - Institut (Hrsg.): Gruppenerkrankung in Baden-Württemberg: Verdacht auf Kryptosporidiose. Epidemiologisches Bulletin 39 (2001) 298-299
- (55) Rose J, Botzenhart K: *Cryptosporidium* und *Giardia* im Wasser – Nachweisverfahren, Häufigkeit und Bedeutung als Krankheitserreger. Wasser – Abwasser 131 (1990) 563-572
- (56) Schindler P: Fäkale Verunreinigung im Trinkwasser. Beitrag im Rahmen des FLUGS-Seminars „Wasser – Reservoir des Lebens. Aktuelle Fragen zu Wasserversorgung und -hygiene“ (6. Oktober 2003, Nürnberg). Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (2004)
- (57) Schlesinger R: Dezentrale Abwasserentsorgung – neue Erkenntnisse, hygienische Aspekte. Diplomarbeit. Fachhochschule Lausitz (Cottbus) (2003)

- (58) Schoenen D, Botzenhart K, Exner M, Feuerpfeil I, Hoyer O, Sacré C, Szewzyk R: Beobachtungen über parasitenbedingte Ausbrüche durch Trinkwasser und Maßnahmen zu deren Vermeidung. Teil III: Seuchenhygienische Anforderungen. Bundesgesundheitsbl – Gesundheitsforsch – Gesundheitsschutz 44 (2001) 377-381
- (59) Schulze E: Hygienisch-mikrobiologische Wasseruntersuchungen. Methoden der Biologischen Wasseruntersuchung; Band 1; Gustav-Fischer-Verlag, Jena, Stuttgart, 1996, 125-136
- (60) Senatsbeschluss Hamburg: Neufassung der Globalrichtlinie D1/99 gemäß § 6 BezVG zur Steuerung der wasserrechtlichen Erlaubnisverfahren für die Einleitung häuslicher Schmutzwässer aus Kläranlagen mit Anschlusswerten bis 150 Einwohnerwerten in oberirdische Gewässer. Senatsbeschluss vom 10.05.2005
- (61) Seyler F: Abwasserentsorgung im ländlichen Raum – neue Rahmenbedingungen. Fachtagung: Abwasserentsorgung im ländlichen Raum (2006)
- (62) Stauffer F, Makrithathis A, Hassl A, Nowotny S, Neudorfer W: Microbiological irrigation water quality of the Marchfeld Canal system. Int J Hyg Environ Health 203 (2001) 445-450
- (63) Stott R, Jenkins T, Shabana M, May E: A survey of the microbial quality of wastewaters in Ismailia, Egypt and the implications for wastewater reuse. Wat Sci Tech 35 (1997) 211–217
- (64) Thielmann NM, Guerrant RL: Acute Infectious Diarrhea. N Engl J Med 350 (2004) 38-47
- (65) Tsushima Y, Karanis P, Kamada T, Xuan X, Makala LHC, Tohya Y, Akashi H, Nagasawa H: Viability and infectivity of *cryptosporidium parvum* detected in river water in Hokkaido, Japan J Vet Med Sci 65 (2003) 585-589

- (66) Umweltschutz Nord GmbH: Ergebnisse der Ausführungsplanung, Baubeschreibung für die Erstellung eines halbtechnischen Pflanzenkläranlagensystems zur Untersuchung der Keimreduktion, UFZ intern (2000)
- (67) US EPA: ICR Protozoan Method for Detecting *Giardia* Cysts and *Cryptosporidium* Oocysts in Water by a Fluorescent Antibody Procedure (EPA/814-B-95-003). (1995)
- (68) US EPA: Method 1622: *Cryptosporidium* in Water by Filtration/IMS/FA. (2001a)
- (69) US EPA: Method 1623: *Cryptosporidium* and *Giardia* in water by Filtration/IMS/Fa. (2001b)
- (70) Verordnung über Sicherheit und Gesundheitsschutz bei Tätigkeiten mit biologischen Arbeitsstoffen (Biostoffverordnung – BioStoffV) vom 27. Januar 1999 (BGBl. I S. 50), zuletzt geändert durch Art. 8 der Verordnung vom 23. Dezember 2004 (BGBl. I S. 3758). Carl Heymanns Verlag KG Köln, Berlin, München (2004)
- (71) Wagner C, Kimmig P: *Cryptosporidium parvum* und *Giardia lamblia* – Vorkommen in Oberflächen- und Trinkwasser – Bedeutung und Nachweisverfahren. *Gesundh-Wes* 54 (1992) 662-665
- (72) Wagner-Wiening C, Kimmig P: In situ-Hybridisierungstechniken zum Nachweis der Vitalität von Kryptosporidien und Giardien. In Wiedenmann A und Krüger P (Hrsg.): Aktuelle Aspekte der Cryptosporidien- und Giardien-Analytik in Wasserproben; Statuskolloquium; Universität Tübingen (1999)
- (73) Watkins J: The impact of purification and concentration procedures on the surface properties of oocysts (slide presentation) in: Report on a workshop on *Cryptosporidium* and water, Hampshire, UK, 11-12 August 1999
- (74) WHO (Hrsg.): Guidelines for the microbiological quality of treated wastewater used in crop irrigation, WHO Genf (1989)

## 7.1 Eigene Veröffentlichungen

### Poster

**A. Redder**, M. Dürr, G. Ockert, G. Daeschlein, S. Stüber, M. Borneff-Lipp: Entfernung von Parasiten aus Abwässern durch Pflanzenkläranlagen. „Lange Nacht der Wissenschaften“ der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Halle/Saale, 04.07.2003.

**A. Redder**, G. Daeschlein, M. Dürr, H. Koch, A. Rechenburg, M. Borneff-Lipp: Reinigungsleistung von bepflanzten Bodenfiltern im Pilotmaßstab hinsichtlich abwasserhygienisch relevanter Parasitenzyten von *Cryptosporidium parvum* und *Giardia lamblia*. 12. GHU / 8. ISEM Tagung, Halle/Saale, 03.10-05.10.2004.

### Vortrag

M. Dürr, G. Daeschlein, S. Stüber, **A. Redder**, H. Hollert, Th. Braunbeck, M. Borneff-Lipp: Reduction of microorganisms in municipal waste water using planted soil filters. Part II: Reduction of *E. coli*, *Enterococci*, *Salmonellae*, *Cryptosporidium* and *Giardia* by means of planted soil filters. Wastewater Hygienisation in Constructed Wetlands, Ponds and Related Systems. UFZ Centre for Environmental Research Leipzig-Halle in the Helmholtz Association und BDZ, Training and Demonstration Centre for Decentralised Sewage Treatment, Leipzig, 06.-07.11.2003.

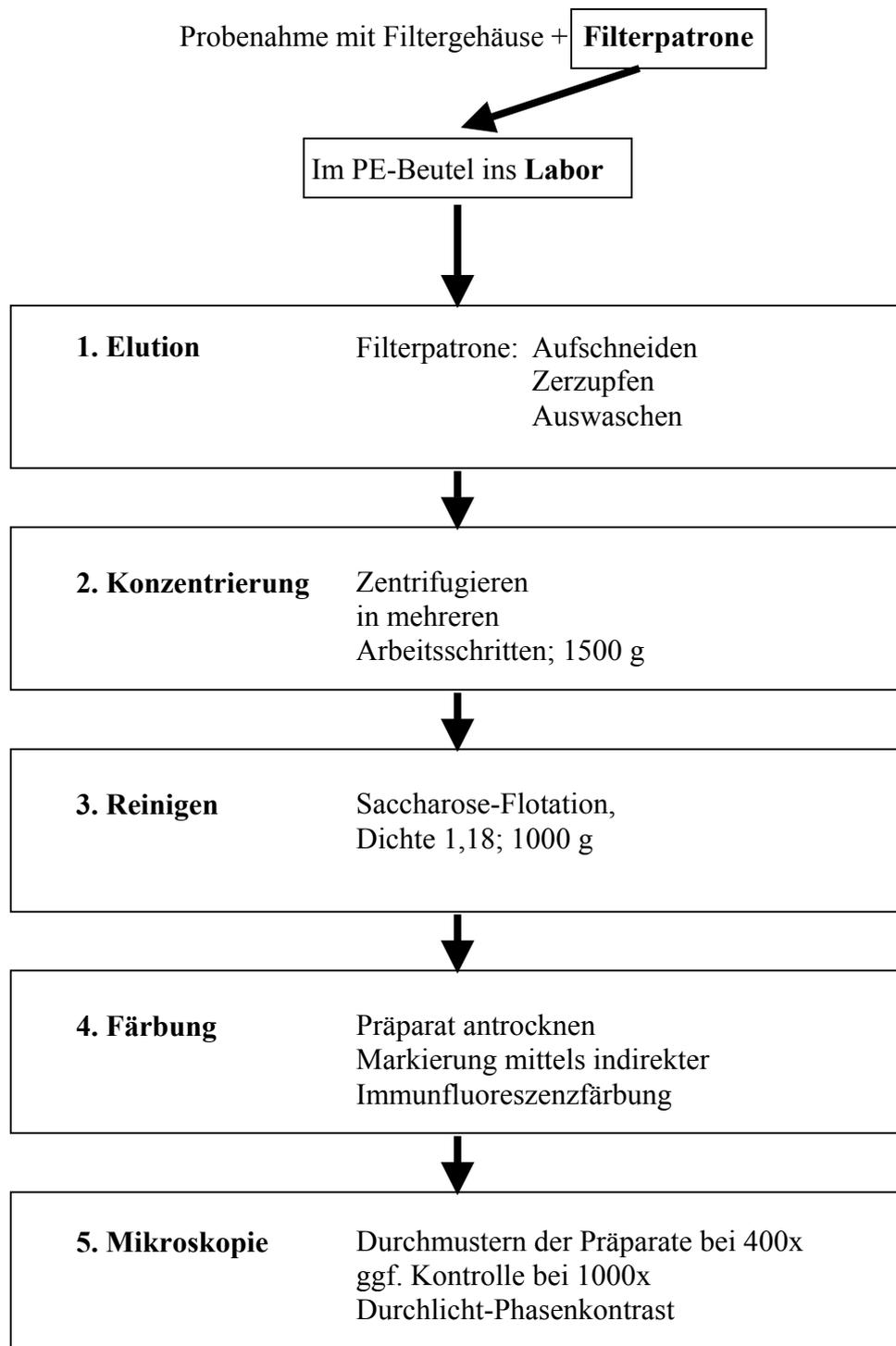
### Originalarbeit

**A. Redder**, G. Daeschlein, M. Dürr, Ch. Koch, O. Baeder-Bederski, M. Exner, M. Borneff-Lipp: Constructed wetlands – are they safe in reducing protozoan parasites? In Vorbereitung zur Einreichung in: Int. J. Hyg. Environ.-Health

## 8 Anhang

## Anhang 1

## Flussdiagramm Methodik



## Anhang 2

## Mikrobiologische Anforderungen an Bewässerungswasser nach DIN 19650, 1999

Land	Eignungsklasse/ Kategorie	Parameter				
		<i>E. coli</i> / 100 ml	FS <sup>1)</sup> / 100 ml	Salmonellen /1000 ml	FC <sup>2)</sup> / 100 ml <sup>5)</sup>	Parasiten <sup>3)</sup> / 1000 ml
Deutschland	Eignungsklasse 1	n. n.	n. n.	n. n.	-	n. n. <sup>4)</sup>
	Eignungsklasse 2	≤ 200	≤ 100	n. n.	-	n. n.
	Eignungsklasse 3	≤ 2000	≤ 400	n. n.	-	n. n.
	Eignungsklasse 4	Abwasser, das mindestens eine biologische Reinigungsstufe durchlaufen hat			-	<b>Für Darm-Nematoden: keine Standard-Empfehlung möglich</b> Für Stadien von Taenia: n. n.

- 1) FS - Fäkalstreptokokken (Enterokokken)
- 2) FC - Fäkalcoliforme (Thermotolerante Coliforme)
- 3) Potentiell infektiöse Stadien von Mensch- und Haustierparasiten (beinhaltet Untersuchung auf *Ascaris*, *Trichuris*-Arten. und Hakenwürmer nach WHO-Empfehlung)
- 4) n. n. - nicht nachweisbar

## Anhang 3

## Mikrobiologische Anforderungen an Bewässerungswasser nach WHO 1989

Land	Eignungsklasse/ Kategorie	Parameter				
		<i>E. coli</i> / 100 ml	FS <sup>1)</sup> / 100 ml	Salmonellen /1000 ml	FC <sup>2)</sup> / 100 ml <sup>7)</sup>	Parasiten <sup>3)</sup> / 1000 ml
International	WHO, 1989					
	Kategorie A <sup>6)</sup>	-	-	-	≤ 1000	≤ 1
	Kategorie A <sup>8)</sup>				≤ 200	
	Kategorie B <sup>9)</sup>	-	-	-	kein Standard <sup>4)</sup>	≤ 1 <sup>5)</sup>
	Kategorie C <sup>10)</sup>	-	-	-	entfällt	entfällt

- 1) FS - Fäkalstreptokokken (Enterokokken)
- 2) FC - Fäkalcoliforme (Thermotolerante Coliforme) , Einheit: „Faecal coliforms [geometric mean number per 100 ml] during the irrigation period“ (orig. engl. Wortlaut)
- 3) Potentiell infektiöse Stadien von Mensch- und Haustierparasiten (beinhaltet Untersuchung auf *Ascaris*, *Trichuris*-Arten. und Hakenwürmer nach WHO-Empfehlung)
- 4) empfohlener Grenzwert bei eingeschränkter Bewässerung von  $\leq 10^5$  KBE/100 ml (Kontakt von Kindern <15 Jahre mit aufbereitetem Abwasser ausgeschlossen)
- 5) bei Kontakt von Kindern <15 Jahre mit aufbereitetem Abwasser gilt Grenzwert  $\leq 0,1$
- 6) Bewässerung von Kulturpflanzen zum direkten Rohverzehr, für Sportplätze und öffentliche Parks mit exponierten Gruppen: Arbeiter, Konsumenten und Öffentlichkeit
- 7) Hotelrasen etc.: Ein niedrigerer Richtwert ( $\leq 200$  Fäkalcoliforme / 100 ml) für Bewässerung öffentlicher Grünanlagen, wie z. B. Hotelrasen oder vergleichbare, mit denen die Öffentlichkeit in direkten Kontakt kommt (Quelle Analyses of Wastewater for Use in Agriculture – A Laboratory Manual of Parasitological and Bacteriological Techniques: WHO, Genf 1996 )
- 8) Bewässerung von Getreidepflanzen, industriellen Nutzpflanzen, Futterpflanzen, Weideland, Bäume (für Fruchtbäume Ende der Bewässerung 2 Wochen vor der Ernte, keine Sprühbewässerung, keine Früchte vom Boden aufheben) mit exponierter Gruppe: Arbeiter
- 9) Wie Kategorie B mit Sprüh- oder Versickerungsbewässerung, so dass weder Arbeiter noch Öffentlichkeit mit dem Abwasser in Kontakt kommen können

**Anhang 4:**

**Mikrobiologische Anforderungen für die Wiederverwendung von Wasser nach  
Mexikanischer Norm NOM-003-ECOL, 19975)**

Land	Eignungsklasse/ Kategorie	Parameter				
		<i>E. coli</i> / 100 ml	FS <sup>1)</sup> / 100 ml	Salmonellen/ 1000 ml	FC <sup>2)</sup> / 100 ml <sup>4)</sup>	Parasiten <sup>3)</sup> / 1000 ml
Mexiko	Direkter Kontakt <sup>6)</sup>	-	-	-	≤ 240	≤ 1
	Indirekter Kontakt <sup>7)</sup>	-	-	-	≤ 1000	≤ 5

- 1) FS - Fäkalstreptokokken (Enterokokken)
- 2) FC - Fäkalcoliforme (Thermotolerante Coliforme)
- 3) Potentiell infektiöse Stadien von Mensch- und Haustierparasiten (beinhaltet Untersuchung auf *Ascaris*, *Trichuris*-Arten. und Hakenwürmer nach WHO-Empfehlung)
- 4) Einheit: „Faecal coliforms [geometric mean number per 100 ml] during the irrigation period“ (orig. engl. Wortlaut) = deutsche Entsprechung: [MPN / 100 ml]
- 5) Keine direkte Einstufung der Grenzwerte für die Art der verwendeten landwirtschaftlichen Produkte wie sie in der WHO-Richtlinie vorgenommen wird
- 6) Wiederverwendung von Wasser für öffentliche Dienstleistungen mit direktem Kontakt für folgende Zwecke: Befüllen von künstlichen Seen und Kanälen zur Erholung mit Motorbooten, Rudern, Kanusport und Wasserski; Autowäsche, Beregnung von Park- und Gartenanlagen
- 7) Wiederverwendung von Wasser für öffentliche Dienstleistungen mit indirektem oder gelegentlichem Kontakt: Beregnung in Gärten und an Straßenrändern von Autobahnen, Beregnung von Alleen, Springbrunnen, Golfplätze, Versorgung von Hydranten zur Brandbekämpfung, künstliche Seen ohne Erholungsnutzungen, Sicherheitswasserbarrieren und Friedhöfe

## Thesen

1. Der weltweit steigende Bedarf an Trink- und Brauchwasser erfordert künftig einen sparsamen Umgang mit der Ressource Wasser und eine adäquate Aufbereitung anfallenden Abwassers, um dieses ohne wesentlich erhöhtes Risiko für Natur und Menschen für Bewässerungszwecke nutzen zu können.
2. In Deutschland gibt es gegenwärtig keine Regelung über mikrobiologische Anforderungen an gereinigtes Abwasser. Allerdings werden mikrobiologische Anforderungen an die Qualität des Abwasser gestellt, wenn dieses z. B. für Bewässerungszwecke in der Landwirtschaft verwendet werden soll (DIN 19650, WHO 1989).
3. Kleinkläranlagen spielen eine wichtige Rolle bei der Realisierung der dezentralen Abwasserbeseitigung entsprechend den Vorgaben der Europäischen Union (Richtlinie des Europäischen Rates vom 21. Mai 1991 über die Behandlung von kommunalem Abwasser (91/271/EWG)).
4. Bei der Vielzahl unterschiedlicher Bauweisen und Verfahrenstechniken von Pflanzenkläranlagen lassen sich inzwischen gute Ergebnisse hinsichtlich der Reinigungsleistung chemischer Abwasserinhaltsstoffe erzielen. Über die Reduktion von pathogenen Erregern, u. a. auch Viren und Parasiten liegen bisher kaum wissenschaftliche Daten vor.
5. Infektionen mit *Cryptosporidium* Oozysten und *Giardia* Zysten spielen eine bedeutende Rolle bei der Übertragung wasserassoziierter Parasitosen in Industrieländern. Sie verursachen i. d. R. sich selbst limitierende Diarrhöen, können aber auch einen schweren klinischen Verlauf nehmen, der bei immunsupprimierten Patienten sogar letal verlaufen kann.
6. *Cryptosporidium* Oozysten und *Giardia* Zysten zeichnen sich durch eine ausgeprägte Tenazität aus. Dies bedingt eine ausgeprägte Widerstandsfähigkeit gegenüber gewöhnlichen Desinfektionsmassnahmen, wie z. B. Chlorung.

7. Im Rahmen eines BMBF-Projekts wurden eine Pilotanlage in Langenreichenbach (Sachsen) und eine Praxisanlage in Belzig (Brandenburg) hinsichtlich der Reduktion von Parasitenstadien untersucht.
8. Für den Nachweis von Oo-/Zysten im Wasser wird eine Methode der US EPA (EPA/814-B-95-003) von 1995 verwendet. Sie besteht im wesentlichen aus drei Schritten: (1) Konzentrierung der Parasiten durch Zentrifugation, (2) Separierung der Oo-/Zysten mittels Flotation und (3) Markierung der Protozoen mittels indirekter Immunfluoreszenz.
9. Die Wiederfindungsrate der Parasiten in unseren Untersuchungen betrug 7%. In der Literatur wird dieser Wert insofern bestätigt, als Schwankungsbreiten der Wiederfindungsraten zwischen 0,4% und 83,9% für *Cryptosporidium parvum* und 3,2% bis 90,3% für *Giardia lamblia* beschrieben werden und Untersuchungen von Oberflächengewässern in Österreich zeigten, dass die Wiederfindungsrate indirekt proportional zur Trübung des Wasser ist. Hier konnten Werte zwischen 8,2 und 17,3% erreicht werden.
10. Die Vitalität der Oo-/Zysten konnte nicht geklärt werden, weil die eingesetzte Methode, die Färbung mit DAPI zusammen mit der Immunfluoreszenz-Färbung, keine sichere Abgrenzung vitaler von nichtvitalen Zysten ermöglichte. Da dies in den Kontrolluntersuchungen gelang, muss von einer Hemmwirkung im Abwasser ausgegangen werden.
11. In Übereinstimmung mit Untersuchungen in Deutschland von Hagendorf et al. konnten bei der Abwasseraufbereitung der untersuchten Anlagen (Pilotanlage Langenreichenbach und Praxisanlage Belzig) ähnliche Reduktionsleistungen der untersuchten Protozoen (zwischen 1,9 und 2,8 Logarithmusstufen) erzielt werden.

12. Aufgrund der erhobenen mikrobiologischen Daten zu Indikatororganismen wurde *E. coli* als Überwachungsparameter für den laufenden Anlagebetrieb empfohlen. Unabhängig von der Untersuchung von Indikatororganismen ist die Kontrolle auf Krankheitserreger, wie z. B. Salmonellen sowie Parasiten aufgrund der nicht ausreichenden Aussagesicherheit durch Indikatororganismen von unveränderter Bedeutung.
  
13. In der Zusammenschau der Ergebnisse aus dem gesamten BMBF-Projekt zur Keimzahlreduktion von Abwässern mit Pflanzenkläranlagen ist die Nutzung des gereinigten Abwassers zu Bewässerungszwecken aus mikrobiologischer Sicht prinzipiell möglich. Allerdings stellen nachgeschaltete Kopplungen (mehrstufige Beetsysteme) eine notwendige Anforderung dar, da sie zu einer höheren Sicherheit der Ablaufwerte führen. Eine engmaschige, begleitende mikrobiologische Analytik ist in der Nutzungsphase für Bewässerung unerlässlich.

## Lebenslauf

### Persönliche Daten

Name	Andreas Redder
Geburtsdatum	25. 10. 1977
Geburtsort	Bobingen
Eltern	Vater: Manfred Redder, Studiendirektor a.D. Mutter: Eva Maria Redder, Dr. med., Anästhesistin
Familienstand	ledig
Staatsangehörigkeit	deutsch

### Schulausbildung

1984 – 1988	Grundschule Steppach
1988 – 1997	Peutinger-Gymnasium Augsburg
06/97	Allgemeine Hochschulreife

### Zivildienst

1997 – 1998	Rettungssanitäter; Johanniter-Unfall-Hilfe Augsburg
-------------	---

### Medizinstudium

Oktober 1998	Immatrikulation an der Medizinischen Fakultät der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
1998 – 2004	Studium der Humanmedizin an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
2004 - 2005	Studium der Humanmedizin an der Universität Leipzig
Nov. 2005	Drittes Staatsexamen
Dez. 2005	Approbation

### Ärztliche Tätigkeit

seit Juni 2006	Weiterbildungsassistent im Fachgebiet Orthopädie/Unfall- chirurgie in der I. Orthopädischen Klinik der Hessing Stiftung, Augsburg
----------------	---

## **Eidesstattliche Erklärung**

Hiermit erkläre ich, dass ich die der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg vorgelegte Dissertation mit dem Titel

„Reduktionsleistung von Pflanzenkläranlagen hinsichtlich Parasitenzysten von  
*Cryptosporidium parvum* und *Giardia lamblia*“

selbständig und nur unter Verwendung der angegebenen Literatur und Hilfsmittel angefertigt habe.

Halle, September 2006

## **Eidesstattliche Erklärung**

Hiermit erkläre ich, dass keine früheren Promotionsverfahren weder mit dieser noch mit einer anderen Dissertation eingeleitet wurden.

Halle, September 2006

## Danksagung

Mein Dank gilt allen, die zum Entstehen dieser Arbeit beigetragen haben.

**Frau Prof. Dr. med. habil. M. Borneff-Lipp** danke ich herzlich für die Gelegenheit, im Rahmen meiner Dissertation ein so interessantes fachübergreifendes Thema zu bearbeiten. Ebenso danke ich für ihre stets freundliche Unterstützung und ihr immer forderndes Interesse am Fortschritt der Arbeit.

Ich danke **Herrn Dipl.-Chem. M. Dürr** (Institut für Hygiene der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg) und **Herrn Dr. med. G. Daeschlein** (Institut für Hygiene der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald, vormals im Institut für Hygiene der Martin-Luther-Universität Halle/Wittenberg tätig) für die fachliche Begleitung und für ihre wertvollen Hinweise. Sie haben dadurch maßgeblich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

**Frau Hinze** und **Frau Koleczko** (Institut für Hygiene der Martin-Luther-Universität Halle/Wittenberg) sei gedankt für ihre Geduld und ihre praktischen Ratschläge, welche mir bei der Verarbeitung der Proben sehr geholfen haben.

**Herrn Prof. Dr. rer. nat. habil. G. Ockert** bin ich ebenfalls zu Dank verpflichtet. Er hat mir mit seinem umfassenden Wissen und seinen medizinhistorischen Anekdoten die Parasitologie näher gebracht.

Allen Mitarbeitern und Doktoranden am Institut für Hygiene der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg danke ich für ihr unbefangenes Urteil und ihre Diskussionsbereitschaft im Rahmen der Doktorandenseminare. Ihre Ideen und Hinweise waren hilfreich und anregend.

Mein Dank gebührt auch **Herrn Dipl.-Ing. O. Baeder-Bederski** und **Herrn Dipl.-Ing. Peter Mosig** (beide UFZ Leipzig-Halle) für die Unterstützung bei den Probenahmen in der Anlage und ihren technischen Erläuterungen zum Betrieb der Anlage.

Ein besonderer Dank geht an **Herrn Prof. Dr. med. M. Exner** und seine Mitarbeiter (Institut für Hygiene der Universität Bonn), welche die Methode modifiziert hatten und uns stets mit Rat und Tat zur Seite standen.

**Meinen Eltern** möchte ich danken für die Liebe, die sie mir entgegengebracht haben. Sie haben mir eine unbeschwerte Kindheit und Jugend ermöglicht und mich auf meinem Lebensweg stets unterstützt.