

Jetzt
kaufen auf
shop.wvgw.de

Als Print oder
PDF-Download

Deutscher Verein des
Gas- und Wasserfaches e.V.



www.dvgw-forschung.de

Entwicklung von Monitoringmethoden für SARS-CoV-2 in Rohwässern und vergleichende Untersuchungen von behüllten und unbehüllten Viren in der Aufbereitung (SARS)

Abschlussbericht

Dr. Claudia Stange

TZW: DVGW-Technologiezentrum Wasser Karlsruhe

Dr. Johannes Ho

TZW: DVGW-Technologiezentrum Wasser Karlsruhe

Prof. Dr. Andreas Tiehm

TZW: DVGW-Technologiezentrum Wasser Karlsruhe

Herausgeber

DVGW Deutscher Verein des Gas- und Wasserfaches e. V.

Technisch-wissenschaftlicher Verein

Josef-Wirmer-Straße 1–3

53123 Bonn

T +49 228 91885

F +49 228 9188990

info@dvwg.de

www.dvgw.de

**Entwicklung von Monitoringmethoden
für SARS-CoV-2 in Rohwässern und
vergleichende Untersuchungen von
behüllten und unbehüllten Viren in
der Aufbereitung (SARS)**

Abschlussbericht

Februar 2023

DVGW-Förderkennzeichen W 202014

Danksagung

Wir danken dem deutschen Verein des Gas- und Wasserfaches e.V. für die finanzielle Förderung.

Für die Zusammenarbeit, Unterstützung und Begleitung sowie die Bereitstellung von Proben im Projekt SARS möchten wir uns hiermit bei allen Beteiligten bedanken.

Beteiligte Wasserversorger / Projektbegleitgruppe (PBG)

- Wasserversorgung Rheinhessen-Pfalz GmbH, Hr. R. Krabsch
- bnNetze, Hr. D. Betting
- Berliner Wasserbetriebe, Dipl.-Ing. R. Gnirß, Dr. V. Schumacher
- Zweckverband Landeswasserversorgung, Dr. R. Fischeider
- Westfälische Wasser- und Umweltanalytik GmbH, Dr. M. Mackowiak
- Rheinisch-Westfälische Wasserwerksgesellschaft mbH, Dr. A. Heyer
- Rheinenergie, Dr. I. Hübner
- Umweltbundesamt, Dr. C. Förster
- Thüringer Fernwasserversorgung und Arbeitsgemeinschaft Trinkwassertalsperren e. V., Hr. H. Willmitzer
- Universität Duisburg-Essen, Dr. J. Wingender
- DVGW e.V., Dr. K. Gerhardy

Vielen Dank für die Anregungen sowie die kritische Diskussion der Ergebnisse.

Zusammenfassung

COVID-19 erkrankte Personen scheiden das SARS-CoV-2-Virus mit dem Kot aus. Seitdem dies bekannt ist, steht die Befürchtung im Raum, dass SARS-CoV-2 über den Abwasserpfad in die aquatische Umwelt und damit auch in zur Trinkwassergewinnung genutzte Wässer eingetragen wird. Basierend auf theoretischen Betrachtungen ist die Verbreitung von SARS-CoV-2 über das Trinkwasser als äußerst unwahrscheinlich einzustufen. Bislang sind aber kaum reale Messdaten über das Vorkommen von SARS-CoV-2 in Rohwässern sowie dem Verhalten von behüllten Viren bei der Wasseraufbereitung verfügbar. Um diese Wissenslücken zu schließen und die theoretischen Erkenntnisse abzusichern, wurden im Rahmen dieses Vorhabens entsprechende Untersuchungen durchgeführt.

In einem ersten Schritt wurde eine Methodik für den Nachweis von SARS-CoV-2-RNA in Rohwasserproben etabliert. Das Vorgehen umfasst die Konzentrierung der Viren aus einem größeren Volumen (10-100 L) mittels Ultrafiltration, eine sekundäre Anreicherung über eine Polyethylenglykol-Fällung, die Extraktion der viralen Nukleinsäuren sowie den Nachweis von drei SARS-CoV-2-spezifischen Genen mittels digitaler droplet PCR (ddPCR). Darüber hinaus wurde geprüft, ob eine Unterscheidung zwischen intakten und nicht-intakten Viren mittels innovativer PCR-basierter Verfahren möglich ist. Hierbei erwies sich der Nachweis von langen Nukleinsäure-Fragmenten (Long Amplicon-PCR, LA-PCR) für Viren mit einem RNA-Genom als nicht zielführend. Der Einsatz des Farbstoffes Propidium-Monoazid (PMA-PCR), der in nicht-intakte Viren eindringt, an ihre Nukleinsäure bindet und damit eine PCR-Amplifikation verhindert, stellt hingegen eine Option zur Unterscheidung von intakten und nicht-intakten Viren dar.

Ein Fokus des Projektes lag auf der Untersuchung des Vorkommens von SARS-CoV-2 in Rohwässern. Insgesamt wurden 91 Oberflächenwasserproben und 9 Grundwasserproben auf das Vorkommen von SARS-CoV-2 analysiert. In keiner der Proben konnte SARS-CoV-2-RNA nachgewiesen werden, weshalb auch keine weiterführenden Untersuchungen (LA-PCR, PMA-PCR oder kultureller Nachweis) durchgeführt wurden. Zusätzlich zu SARS-CoV-2 wurde das Vorkommen von humanen Adenoviren, Noroviren Genogruppe I und Enteroviren mittels PCR untersucht. Der humane Adenovirus wurde am häufigsten detektiert (43 % der Proben), wohingegen nur 19 % der Proben positiv für Noroviren der Genogruppe 1 waren. Enteroviren konnten in keiner Probe nachgewiesen werden.

Für die Laboruntersuchungen zum Verhalten von Viren in der Aufbereitung wurde der *Pseudomonas*-Phage phi6 als Surrogat für behüllte Viren und die Coliphagen MS2 und phiX174 für unbehüllte Viren ausgewählt. Die Ergebnisse der Untersuchungen belegen, dass durch die Behandlung mit Chlor, Ozon und UV-Strahlung eine Inaktivierung sowohl von behüllten als auch von unbehüllten Viren erreicht werden kann. Allerdings wurden behüllte Viren nicht immer effektiver inaktiviert als unbehüllte Viren, was auf die unterschiedlichen Wirkmechanismen und Angriffspunkte der Desinfektionsverfahren zurückzuführen ist. Die gewonnenen Daten in Kombination mit aktuellen Studien belegen aber deutlich, dass behüllte Viren wie SARS-CoV-2 aufgrund ihres Aufbaus (Membranhülle und einzelsträngiges RNA-Genom) durch eine Chlorung, Ozonung bzw. UV-Bestrahlung effektiv inaktiviert werden.

Insgesamt bestätigen die Erkenntnisse aus diesem Vorhaben, dass eine Verbreitung von SARS-CoV-2 über den Trinkwasserpfad höchst unwahrscheinlich ist. Bereits in Rohwässern wurden keinerlei PCR-Nachweise von SARS-CoV-2 erbracht. Das Multibarrierensystem der Trinkwasserversorgung und vor allem die Desinfektionsverfahren bieten zusätzlich einen effektiven Schutz gegenüber möglichen Kontaminationen mit SARS-CoV-2.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Zielsetzung des Projektes.....	2
3	Wissenschaftliche Ausgangssituation.....	4
4	Durchgeführte Arbeiten	6
4.1	Anpassung der etablierten Methodik an die Matrix Rohwasser.....	6
4.1.1	Probenaufbereitung/Anreicherung.....	7
4.1.2	Extraktion	9
4.1.3	PCR-Nachweis.....	9
4.1.4	Prüfung der Methodik.....	12
4.2	Surrogat – PCR-Nachweis und Kulturverfahren.....	12
4.2.1	<i>Pseudomonas</i> -Phage phi6	14
4.2.2	Murines Hepatitis Virus	15
4.2.3	Surrogate für unbehüllte pathogene Viren	15
4.3	Entwicklung einer PCR-Methodik zur Unterscheidung von intakten und nicht-intakten Viren	16
4.3.1	PMA-PCR	16
4.3.2	Long Amplicon PCR	18
4.4	Ringversuche	22
4.5	Vergleichendes Vorkommen von SARS-CoV-2 im Rohwasser.....	23
4.6	Elimination von behüllten und unbehüllten Surrogat-Viren durch Aufbereitungs- und Desinfektionsverfahren	26
4.6.1	Chlorung	26
4.6.2	Ozon-Behandlung	29
4.6.3	UV-Bestrahlung.....	31
4.7	Zusammenfassung und Bewertung der Ergebnisse	33
5	Schlussfolgerungen	37
6	Literatur	38
7	Abkürzungsverzeichnis.....	48
8	Abbildungsverzeichnis.....	49
9	Tabellenverzeichnis.....	50