

PROF. DR. MED. M. EXNER

Direktor des Institutes für Hygiene und Öffentliche Gesundheit
der Universität Bonn



Hygiene-Institut - Sigmund-Freud-Str. 25 - D-53105 Bonn

Sigmund Freud-Str. 25

53127 BONN

Deutschland / Germany

Hamann Wasser-Kommunal
Ingenieurgesellschaft für kommunale
Dienstleistungen GmbH
Herrn Hans-Gerd Hamann
Zweibrücker Str. 13
D-76855 Annweiler am Trifels

Telefon: ++49 228 287 14022 (Durchwahl)

++49 228 287 15520 (Direktion)

Telefax: ++49 228 287 19522

e-mail: juergen.gebel@ukb.uni-bonn.de

Laborleiter: Dr. rer. nat. J. Gebel

11.10.2007



Akkreditiert durch
Zentralstelle der Länder
für Gesundheitsschutz
bei Arzneimitteln
und Medizinprodukten
ZLG-P-470.05.02

Prüfbericht zur Wirksamkeit des Impuls-Spül-Verfahrens in Kombination mit kurzfristig stagnierender Desinfektion gegen Biofilme in wasserführenden Hausinstallationssystemen

Auftraggeber: Hamann Wasser-Kommunal Ingenieurgesellschaft für kommunale
Dienstleistungen mbH

Mündlicher Auftrag vom 09.05.07 im Rahmen des BMBF-Projektes „Biofilme in der
Hausinstallation“

Untersuchungszeitraum: 23.05.07 – 06.06.07

Ziel der Untersuchung

Im Rahmen des BMBF-Projektes „Biofilme in der Hausinstallation“ sollte eine hygienisch-
mikrobiologische Untersuchung zur Wirksamkeit des Impuls-Spül-Verfahrens in Kombination
mit kurzfristig stagnierender Desinfektion zur Entfernung von Biofilmen in wasserführenden
Installationssystemen durchgeführt werden.

Einleitung

Biofilme

Biofilme sind höchst erfolgreiche Lebensgemeinschaften, die mikrobielles Leben eingebettet in einer Matrix aus extrazellulär polymeren Substanzen (EPS) ermöglichen. Nahezu alle Mikroorganismen leben in Form solcher synergetischer Gemeinschaften. Die synergetische Lebensweise und unterschiedlichen Lebensräume in einem Biofilm ermöglichen das Zusammenleben von Mischpopulationen verschiedener Spezies (Flemming u. Wingender 2001, Flemming u. Wingender 2002). Hat der Biofilm eine bestimmte Größe erreicht, geht er in einen Gleichgewichtszustand, bestehend aus Neubildung und Ablösung von Biofilmbestandteilen, über. Durch lokale Hydrolyse der EPS können einzelne Mikroorganismen oder durch physikalische Kräfte (z.B. Wasserströmungen) ganze Biofilmstücke freigesetzt werden, wodurch es zur Abgabe von Mikroorganismen in das durchströmende Wasser kommen kann (Costerton 1995, Costerton et al. 1999).

Für Wasserversorgungssysteme steht die mögliche Kontamination wasserführender Systeme mit fakultativ pathogenen Mikroorganismen, wie insbesondere durch *Pseudomonas aeruginosa* (Reuter et al. 2002, Anaissie et al. 2002), *Legionella pneumophila*, *Acinetobacter*, atypische Mykobakterien, *Serratia ssp.* (Rahal und Urban 2000, Trautmann et al. 2001, Langsrud et al. 2003, Hall-Stoodley und Stoodley 2005, Exner et al. 2005) bei dieser Problematik im Vordergrund.

Die Problematik von Biofilmen in Trinkwassersystemen und angeschlossenen Systemen gewinnt zunehmend an Bedeutung (Exner et al. 2005, Donlan u. Costerton 2002, Reuter et al. 2002). Im Verteilungsnetz können sie zur Kontamination des Trinkwassers führen, auch wenn dieses das Wasserwerk in einwandfreier Qualität verlassen hat. Eintragspfade für Biofilm-Organismen ergeben sich bei der Trinkwassergewinnung und -aufbereitung, nach der Aufbereitung im Rohrnetz durch Rohrbrüche, Reparatur, Wartungs- und Reinigungsarbeiten und nicht zuletzt durch das Personal (Nagy und Olsen 1985, Le Chavallier et al. 1987, Block 1992).

Dass insbesondere Hausinstallationen von medizinischen Einrichtungen als Infektionsreservoir für nosokomiale Infektionen eine bislang unterschätzte Bedeutung zukommt, wird in einer aktuellen Publikation von Exner et al. 2007 nochmals deutlich. Zu den kritischen Bereichen in der Hausinstallation zählen beispielsweise lange Versorgungsleitungen, Stagnationsbereiche, Sedimentablagerungen, Totleitungen sowie große Warmwasserbehälter. Seit die neue Verordnung über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch (Trinkwasserverordnung/TrinkwV 2001) am 1. Januar 2003 in Kraft getreten ist, haben Krankenhäuser als Betreiber von Hausinstallationen eine eigenständige Verantwortung für die Qualität des Wassers in ihren Hausinstallationssystemen zugeschrieben bekommen (Exner u. Kistemann 2004).

Die Erarbeitung von Handlungsanweisungen in Schadensfällen in Form erfolgreicher Sanierungsmethoden ist dringend notwendig und Teil dieses BMBF-Projektes.

Sanierungsmethoden

Mikroorganismen, die im Biofilm eingebettet sind, sind weitestgehend vor den letalen Auswirkungen von Desinfektionsmitteln sowie thermischen als auch physikalischen Einflüssen geschützt. Sachgemäße gegebenenfalls kombinierte Sanierungsmaßnahmen sind erforderlich, um die widerstandsfähigen Biofilme nachhaltig aus den Wasserleitungssystemen beseitigen zu können.

Drei verschiedene Sanierungsmaßnahmen (thermische, chemische und technische Sanierung) stehen grundsätzlich zur Verfügung. Diese können auch in Kombination angewandt werden. Die Vor- und Nachteile der einzelnen Sanierungsmaßnahme werden im Arbeitspapier Legionellose; Medizinische und umwelthygienische Gesichtspunkte von Pleischl, Engelhart und Exner (2001) des Instituts für Hygiene und öffentliche Gesundheit der Universität Bonn im Detail beschrieben.

Ein entscheidender Nachteil der thermischen und chemischen Sanierungen ist häufig eine unzureichende Entfernung der Biofilme im System, woraus rasche Wiederverkeimungen resultieren (Fischeder 2002). Dass eine mechanische Behandlung durch manuelles „Bürsten“ von kontaminierten Systemen die Biomasse im Vergleich zu chemischen Verfahren (z.B. H_2O_2) einfach und wirkungsvoll reduzieren kann, wurde bereits von Exner et al. (1987) belegt.

Das Prinzip des Impuls-Spül-Verfahrens der Firma Hammann beruht auf Druckluftblasen, die in den Wasserstrom eingepresst werden und zu turbulenten Strömungen führen. Durch diese Art der mechanischen Behandlung können Biofilme und andere Verunreinigungen von den Rohrwandungen abgerissen werden und ebenfalls zu einer deutlichen Reduktion der Biomasse führen. Im Jahre 2006 konnte dem Impuls-Spül-Verfahren der Firma Hammann im Rahmen einer mikrobiologisch-hygienischen Untersuchung durch das Institut für Hygiene und für öffentliche Gesundheit (Hyg-Inst.) ein sehr gutes Potential zur Reinigung von biofilmkontaminierten, wasserführenden Systemen bescheinigt werden.

In dieser Folgeuntersuchung sollte die Wirksamkeit der Kombination aus mechanischer Reinigung, dem Impuls-Spül-Verfahren, und einer kurzfristigen Standdesinfektion überprüft werden. Zur Desinfektion wurde ein elektrochemisches Anolyt (ActiDes blue - Firma ActiDes GmbH), eine Chlordioxid-Lösung (Kryozid W - Firma KryoChem GmbH) und ein Desinfektionsmittel auf Wasserstoffperoxidbasis (Herlisil – Firma Herlisil GmbH) eingesetzt.

Material und Methoden

Silikonschlauchmodell

Für die Untersuchungen wurden Silikonschläuche verwendet, in denen durch kontinuierlichen Trinkwasserdurchfluss im Silikonschlauchmodell (Exner et al., 1984) Biofilme generiert wurden. Zu Beginn der Untersuchungen waren die Silikonschläuche mit einem 3-4 Jahre alten Biofilm mit bis zu $6,2 \times 10^8$ koloniebildenden Einheiten pro cm^2 bewachsen. Die verwendeten Silikonschläuche mit Biofilm hatten einen Innendurchmesser von 4 mm und eine Wandstärke von 1 mm. Für die Untersuchungen wurden die Silikonschläuche in gleich lange Segmente von 25 cm Länge geteilt und in der Versuchsanordnung befestigt (Abb. 1). Zum Schutz der flexiblen Silikonschläuche vor Druckdifferenzen wurden diese mit einer Plexiglashülle umgeben (Abb. 2).

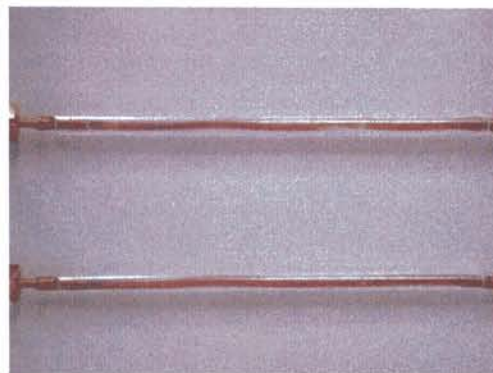


Abb.1: Silikonschlauchmodell mit Biofilm in der Versuchsanordnung zur Untersuchung des Impuls-Spül-Verfahrens

Abb.2: Plexiglashüllen zum Schutz der flexiblen Silikonschläuche

Versuchsapparatur

Für die Versuche wurde von der Fa. Hammann ein maßstabsgetreues Modell zur Anwendung des Impuls-Spül-Verfahrens konzipiert (Abb. 3). Die Geräte-Parameter wurden spezifisch an die Testsituation angepasst.

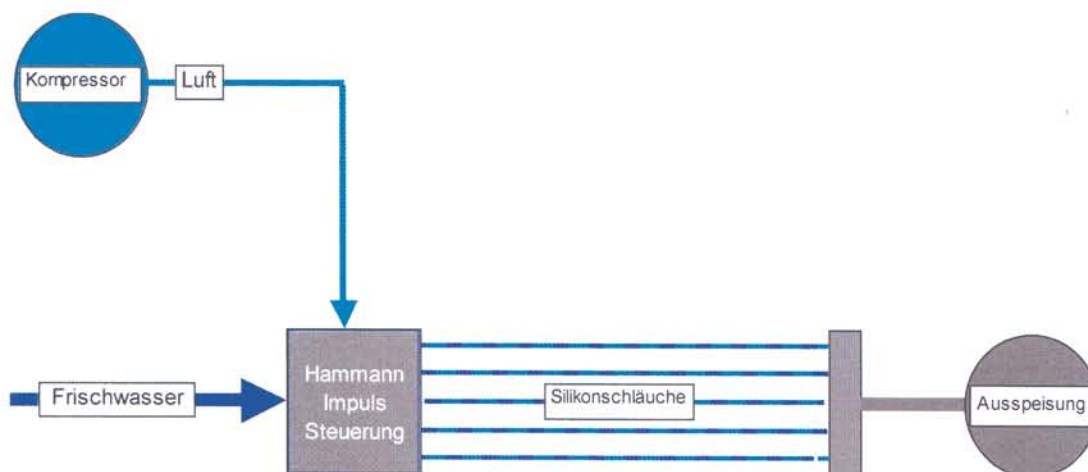


Abb. 3: Schematischer Versuchsaufbau zur Untersuchung der Wirkung des Impuls-Spül-Verfahrens auf Biofilme

Versuchsanordnung

Die Versuchsanordnung lässt sich grundlegend in 4 unterschiedliche Durchgänge (1-4), in denen unterschiedliche Kombinationen aus Impuls-Spül-Verfahren und Desinfektion getestet wurden, unterteilen. Die Einwirkzeit der Desinfektionslösungen betrug stets 30 Minuten. Die getesteten Kombinationen (1-4) und eingesetzten Konzentrationen der Desinfektionsmittel sind der Tabelle 1 zu entnehmen.

Biofilm Nr.	- Biofilm- Bez. (Alter)	Durchgang	Kombination			
			Impulse	Desinfektion	Impulse	Desinfektion
1	B (3 Jahre)	1	1000			
2	B (3 Jahre)		2000			
3	B (3 Jahre)		3000			
4	B (3 Jahre)	2	2000	ActiDes blue (1:200)		
5	B (3 Jahre)		2000	Kryozid W 6 mg/l		
6	B (3 Jahre)		2000	Herlisil 0,15 mg/l		
7	A (4 Jahre)	3	2000	ActiDes blue (1:200)	500	
8	A (4 Jahre)		2000	Kryozid W 6 mg/l	500	
9	A (4 Jahre)		2000	Herlisil 0,15 mg/l	500	
10	B (3 Jahre)	4	2000	ActiDes blue 1:200	500	ActiDes blue 3:200
11	B (3 Jahre)		2000	Kryozid W 6 mg/l	500	Kryozid W 18 mg/l
12	B (3 Jahre)		2000	Herlisil 0,15 mg/l	500	Herlisil 0,45 mg/l

Die Impuls-Spülung erfolgte jeweils bei einem Luftdruck von 4 bar und einem Wasserdruck von 2 bar.

Zugeben der Desinfektionslösung:

Die Desinfektionslösung wurde manuell zugegeben (siehe Abb. 3). Durch einen Vorversuch mit blauem Lebensmittelfarbstoff konnte belegt werden, dass zur Befüllung 30 ml Lösung ausreichen (siehe Abb. 4). Nach der Impuls-Spülung wurden die Silikonschläuche mit 30 ml Desinfektionslösung befüllt. Anstatt der bei Standarddesinfektion üblichen Desinfektionszeit von mindestens 12 Stunden betrug die Desinfektionszeit nur 30 Minuten.



Abb.3:Manuelle Zudosierung von je 30 ml Desinfektionsmittel



Abb. 4:Kontrollschlauch nach Befüllung von 30 ml einer blauen Lebensmittelfarbe

Koloniezahlbestimmungen (KBE/cm^2) und Ermittlung des Reduktionsfaktors

Um die Wirkung des kombinierten Impuls-Spül-Verfahrens auf Bakterien in Biofilmen zu untersuchen, wurden kulturelle Bestimmungen der koloniebildenden Einheiten pro cm^2 Schlauchmaterial (KBE/cm^2) vor und nach jedem Durchgang (siehe Tab.1) durchgeführt. Dazu wurden die Biofilme aus je 25 cm langen Stücken des Silikonschlauchs ausgeschabt, in 0,9% NaCl-Lösung homogenisiert, in einer dekadischen Verdünnungsreihe von 10^{-1} bis 10^{-7} verdünnt, im Doppelansatz auf R2A-Agar ausplattiert und für 7 Tage bei 20°C inkubiert. Anschließend wurden die KBE ausgezählt und daraus die KBE/cm^2 und der Reduktionsfaktor (RF) bestimmt.

Proteinbestimmungen

Um eine Aussage über die Wirkung des Impuls-Spül-Verfahrens auf den Abbau der Biofilm-Matrix treffen zu können, wurden Gesamtprotein-Bestimmungen modifiziert nach Lowry (Lowry 1951) durchgeführt, um daraus die Proteinreduktion in Prozent und in $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ zu errechnen. Hauptbestandteil der Biofilm-Matrix sind die sogenannten extrazellulären polymeren Substanzen (EPS). Diese bestehen u.a. aus Proteinen und Kohlenhydraten, die von den Mikroorganismen gebildet wurden. Durch eine Reduktion des Proteinanteils können somit Rückschlüsse auf den Abbau der EPS gezogen werden.

Rasterelektronenmikroskopie

Zur optischen Bestätigung des Matrix-Abbaus wurden rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen durchgeführt. Dazu wurden 1 cm lange Silikonschlauchstücke, nach den einzelnen Durchgängen, für 2 h in 25%iger Glutaraldehyd- Lösung fixiert und anschließend für mindestens 4 h oder über Nacht in 0,25%iger Osmiumtetroxid-Lösung inkubiert. Nach einer 30-minütigen Inkubation in Natriumcacodylat-Puffer erfolgte eine Dehydrierung der Proben in einer dekadisch aufsteigenden Ethanolreihe von 0 - 100%. Die fertigen Präparate wurden unter Vakuum mit Gold besputtert und anschließend bei verschiedenen Vergrößerungen untersucht.

Ergebnisse

Koloniezahlbestimmungen und Ermittlung des Reduktionsfaktors

Die Ergebnisse stammen aus 4 verschiedenen Durchgängen (1-4) mit je drei Biofilmschläuchen, bei denen verschiedene Kombinationen aus Impuls-Spülung und stagnierender Desinfektion überprüft wurden (siehe Tab.1).

Aus den erhaltenen Daten wurde die $\log_{10}$ Reduktion ermittelt. Die Ergebnisse sind in Abb. 5 graphisch zusammengefasst.

Durch die kombinierte Anwendung des Impuls-Spül-Verfahrens und der kurzfristigen stagnierenden Desinfektion konnte im 4. Durchgang eine deutlich verbesserte Reduktion der Bakterien auf der Schlauchwand erzielt werden. Die höchste Reduktion von 3,81 $\log_{10}$ konnte in Kombination mit der Chlordioxid-Lösung (Kryozid W) erzielt werden.

Proteinbestimmungen

Die Proteinbestimmungen ergab bereits nach dem 1. Durchgang, der reinen Impuls-Spülung, eine Reduzierung der Proteine um 80% (siehe Abb. 6). Dabei ließ sich kein signifikanter Unterschied in Abhängigkeit der Impulshäufigkeit darstellen. Nach Anwendung der kombinierten Verfahren (Durchgang 2-4) konnte kein verbesserter Abbau der Proteine festgestellt werden.

In Abbildung 6 sind Ergebnisse der Proteinmessungen nach Lowry graphisch zusammengestellt.

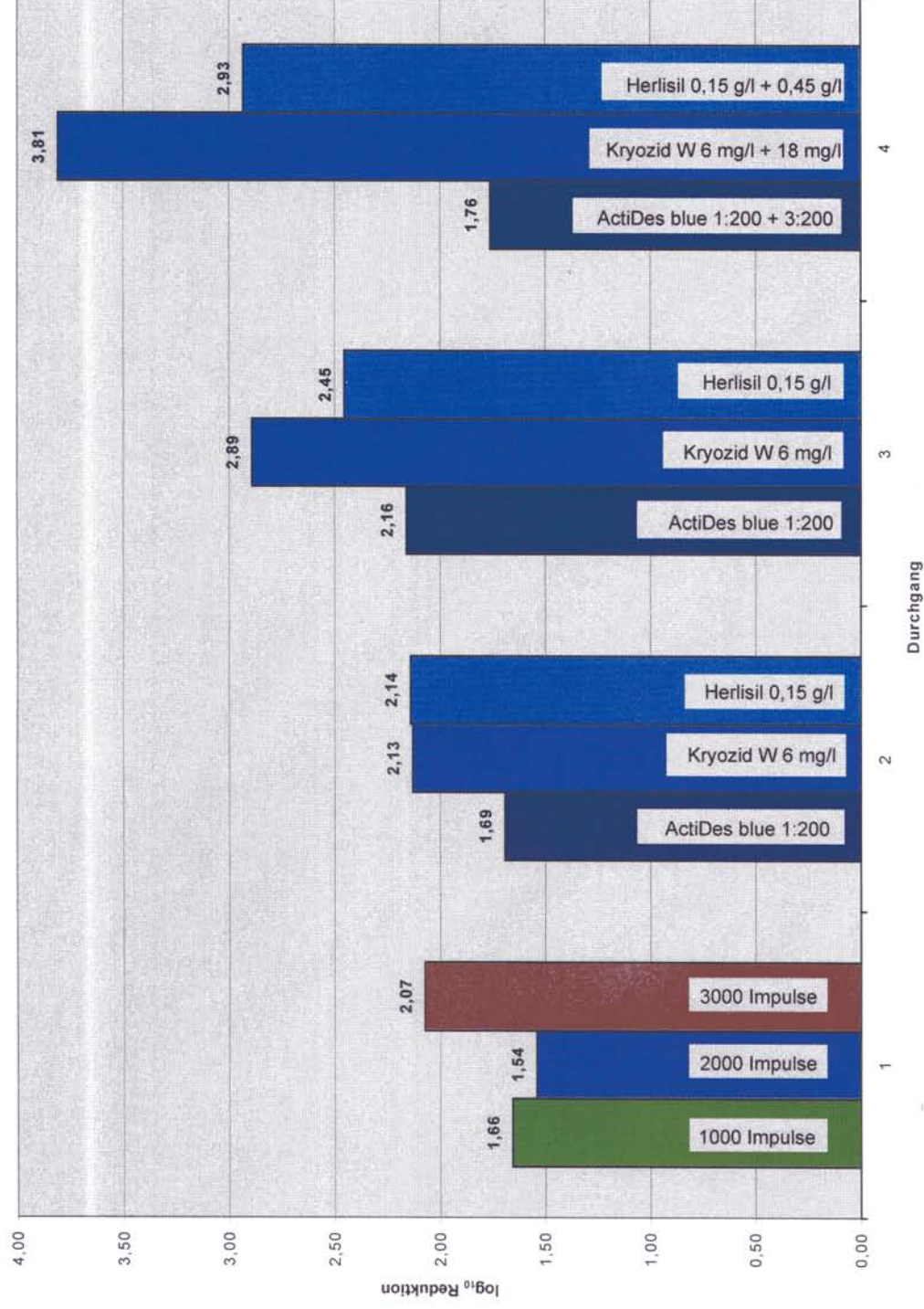
Reduktion der KBE/cm²

Abb. 5: Zusammenfassung der Ergebnisse der Durchläufe (1-4), die die unterschiedlichen Kombinationen aus Impuls-Spülung und Desinfektion widerspiegeln.
 Durchgang 1: verschiedene Impulse / Durchgang 2: 2000 Impulse + 30 min Desinfektion / Durchgang 3: 2000 Impulse + 500 Impulse + 30 min Desinfektion + 500 Impulse + 30 min 3-fach konzentrierte Desinfektion

Prozentuale Reduktion des Proteingehalts

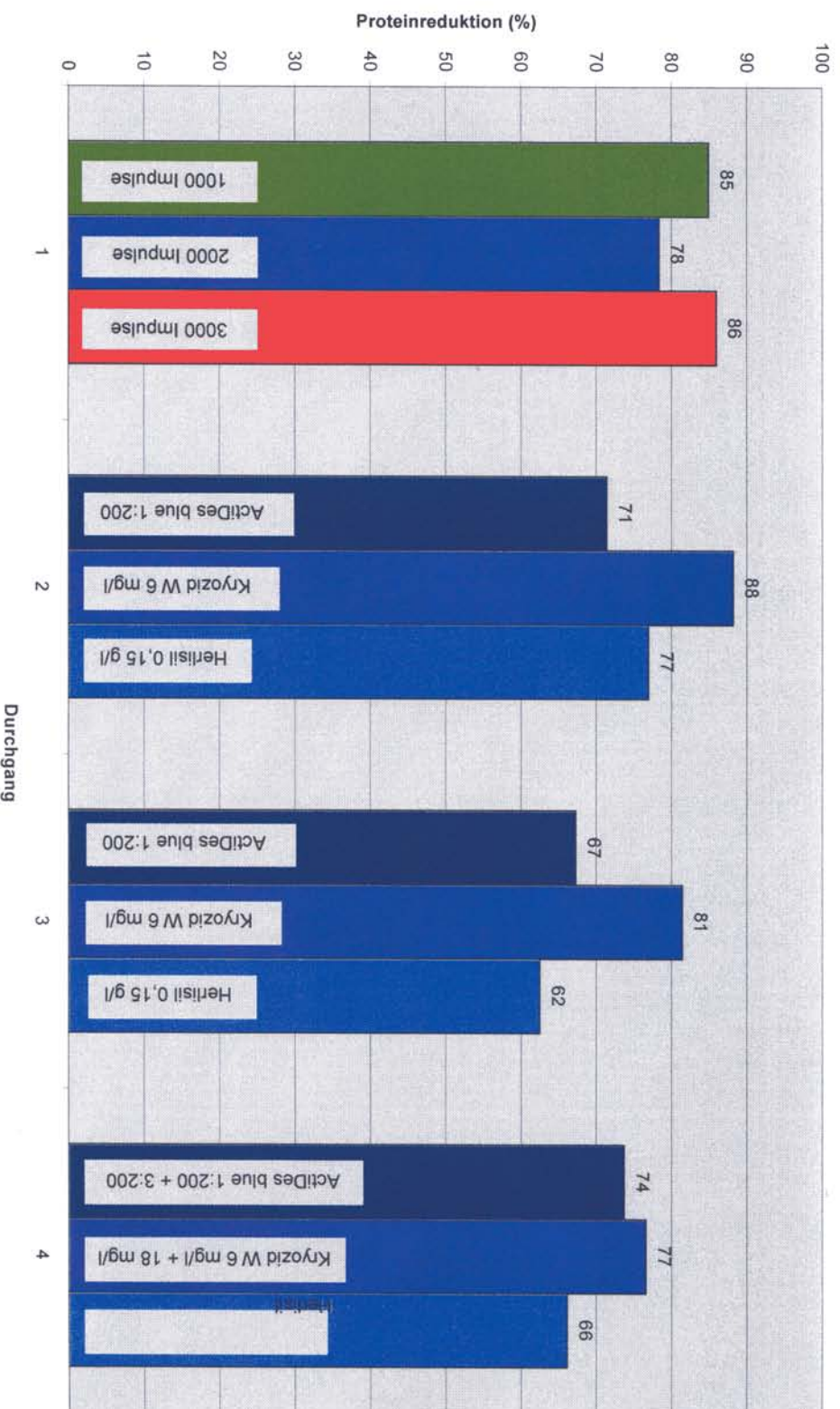


Abb. 6: Zusammenfassung der Ergebnisse von 4 Durchläufen mit unterschiedlichen Kombinationen aus Impuls-Spül-Verfahren und Desinfektion. Proteinkonzentration in $\mu\text{g/ml}$ und Proteinreduktion in Prozent (%). Durchgang 1: verschiedene Impulse / Durchgang 2: 2000 Impulse + 30 min Desinfektion / Durchgang 3: 2000 Impulse + 30 min Desinfektion + 500 Impulse / Durchgang 4: 2000 Impulse + 30 min Desinfektion + 500 Impulse + 30 min 3-fach konzentrierte Desinfektion

Rasterelektronenmikroskopie

Die rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen unterstützen die Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen. Die kombinierten Anwendungen aus Impuls-Spülung, Desinfektion, Impuls-Spülung und einer weiteren, höher konzentrierteren Desinfektion (Kombination 4) zeigen auch visuell einen verbesserten Abtrag der Biofilme (siehe Abb. 8 a) + b)). Aufgrund des nicht völlig gleichmäßigen Abtrags der Biofilme, der vermutlich auf den verbleibenden Bewegungsspielraum der Silikonschläuche zurückzuführen ist, korrelieren die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen nicht immer vollkommen mit den biochemisch und mikrobiologischen Untersuchungen.

Im Vergleich zu Abb. 8 zeigt Abb. 7 rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen eines Silikonschlauchs mit einem 3 Jahre alten Biofilmbewuchs ohne Behandlung. Der Biofilm befindet sich in einem Gleichgewichtszustand aus Neubildung und Ablösung von Biofilmbestandteilen.

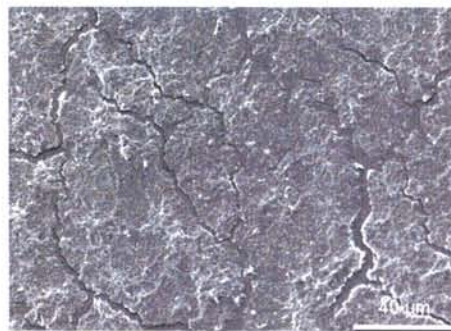


Abb. 7: REM- Aufnahmen der Oberfläche eines Silikonschlauchs eines 3 Jahre alten Biofilmbewuchs ohne Behandlung (Vergrößerung 500-fach).

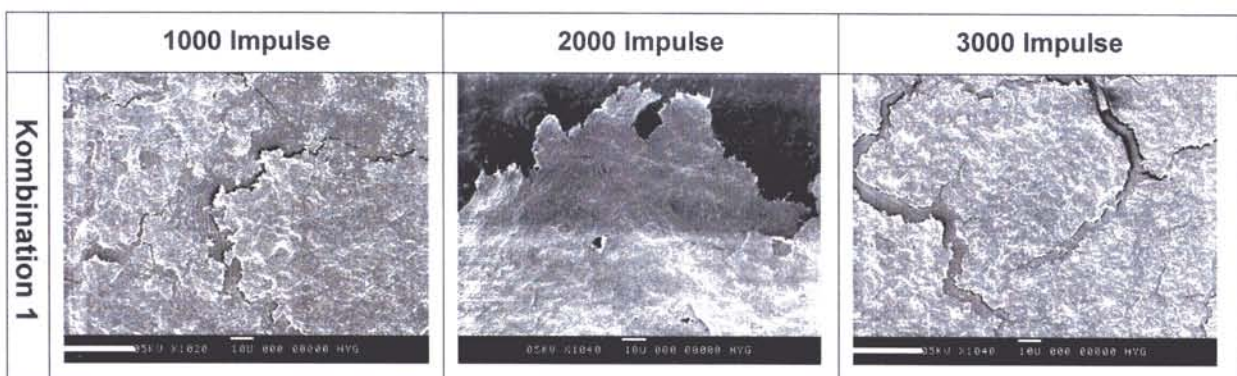


Abb. 8 a): REM - Aufnahmen der Silikonschlauchoberflächen mit einem 3-4 Jahre alten Biofilmbewuchs unterschiedlicher Impuls-Behandlung (Vergrößerung 1000-fach).

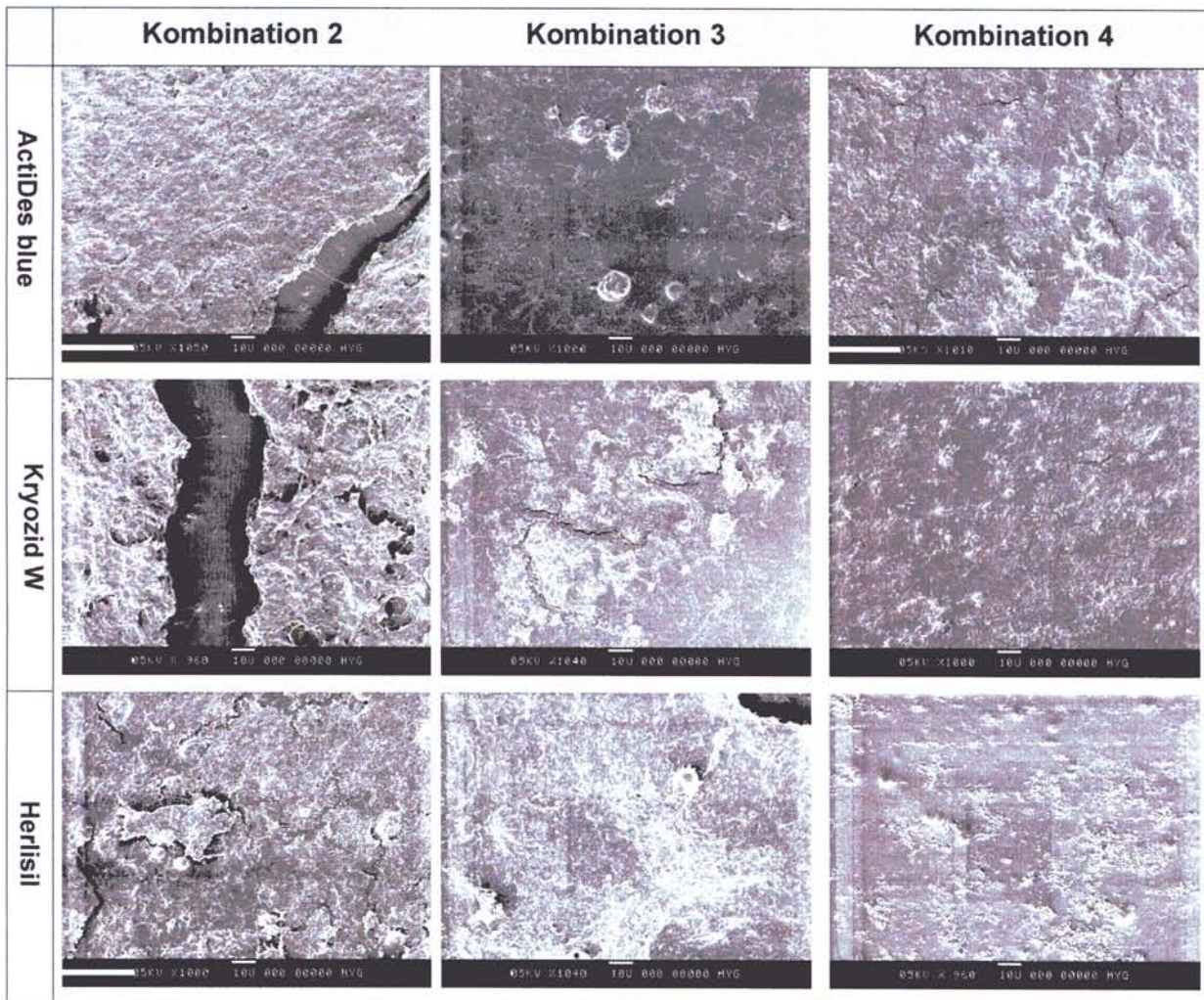


Abb. 8: REM - Aufnahmen der Silikonschlauchoberflächen mit einem 3-4 Jahre alten Biofilmbewuchs nach unterschiedlich kombinierter Behandlung aus Impuls-Spülung und Desinfektion.

Desinfektionsschritte erfolgten mit ActiDes blue (Reihe 1), Kryozid W (Reihe 2) und Herlisil (Reihe 3).

Kombination 2: 2000 Impulse + Desinfektion

Kombination 3: 2000 Impulse + Desinfektion + 500 Impulse

Kombination 4: 2000 Impulse + Desinfektion + 500 Impulse + Desinfektion (3x konzentriert)

Zusammenfassung

Das Impuls-Spül-Verfahren soll laut Hersteller in erster Linie für die gründliche Reinigung von wasserführenden Systemen verwendet werden. Die kombinierte Anwendung aus Impuls-Spül-Verfahren und kurzfristiger Desinfektion zeigte einen zusätzlichen Reduktionseffekt im Maximum von bis zu 2,3 $\log_{10}$ unter Verwendung des chlordioxidhaltigen Desinfektionsmittels (z.B. Kryozid W, siehe Abb. 5). Das positive Potential der kombinierten Anwendung konnte mit dieser ersten orientierenden Studie dargestellt werden.

Deutlich wurde, dass die Entfernung der Biofilmschicht innerhalb kürzester Zeit sehr effektiv mit der Impuls-Spülung erzielt werden konnte. Dieser effektive Abtrag der Biofilme konnte vor Ort makroskopisch durch die transparenten Silikonschläuche sowie mikrobiologisch und biochemisch im Labor belegt werden.

Ein zusätzlicher Abbau der Proteine, und damit der EPS, in den Durchgängen mit Desinfektionsmitteln konnte nicht gezeigt werden (siehe Abb. 6). Die Proteinanalysen korrelieren nicht mit den REM- Aufnahmen und den mikrobiologischen Untersuchungen. Eine Hypothese hierfür ist die Freisetzung von Proteinen aus dem Silikonschlauchmaterial, die bei der Proteinbestimmung zu verfälschten Ergebnissen führten. Aufgrund dieser Annahme ist bei weiteren Untersuchungen die Proteinanalyse eines neuen, sterilen Silikonschlauchs nach der Impuls-Spülung dringend erforderlich, um die Freisetzung von Proteinen aus dem Silikonschlauch ausschließen bzw. quantifizieren zu können.

Eine Kombination aus Impuls-Spül-Verfahren der Firma Hammann und einer chemischen Desinfektion ist nach den hier erworbenen Kenntnissen zur Sanierung wasserführender Systeme empfehlenswert. Auch im Bereich der Flächendesinfektion hat sich die Kombination aus einer mechanischen Behandlung, dem Wischen, und der chemischen Desinfektion bewährt (Gebel et al. 2004).

Das Impuls-Spül-Verfahren ermöglicht einen effektiven Abtrag der Biofilme aus dem System in kürzester Zeit und schafft gute Bedingungen für eine nachhaltige chemische Sanierung. Die Problematik von rein chemischen Sanierungen, die häufig die Biofilme aus den Systemen nicht ausreichend und nachhaltig entfernen, könnten durch die kombinierte Anwendung behoben werden.

In weiteren Untersuchungen sollte geklärt werden, ob mit der kombinierten Anwendung des Impuls-Spül-Verfahren und der vom Hersteller empfohlenen Einwirkzeit der Desinfektionsmittel eine totale Reduktion der Biomasse erreicht werden kann. Des Weiteren ist eine Impuls-Spülung unmittelbar mit einem entsprechenden Desinfektionsmittel in Form einer zirkulierende Sanierung vorstellbar und sollte überprüft werden.

Bonn, den 11.10.2007

Prof. Dr. med. M. Exner

Dr. rer. nat J. Gebel

Literatur

- Anaissie, E., Penzak, S. and Dignani, C. (2002). The hospital water supply as a source of nosocomial infections. *Arch Intern Med* 162: 1483-1492.
- Block, J.C. (1992). Biofilms in drinking water distribution systems. In: *Biofilms – science and technology*: 469-486. Kluwer Acad. Publ., Dordrecht.
- Costerton, J.-W. (1995). Overview of microbial biofilms. *J. Ind. Microbiol.* 15:137-140
- Costerton, J.W., Stewart, P.S. and Greenberg, E.P. (1999). Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science* 284: 1318-1322.
- Donlan, R.-M. und Costerton, J.-W. (2002). Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin. Microbiol. Rev.* 15: 167-193.
- Exner et al. (2007). Wasser als Infektionsquelle in medizinischen Einrichtungen, Prävention und Kontrolle. Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz. 50: 302-311.
- Exner, M., Kramer, A., Lajoie, L. et al. (2005). Prevention and control of health care-associated waterborne infections in health care facilities. *Am J Infect Control* 33 (5 Suppl 1): 26-40.
- Exner, M., Kistemann T. (2004). Bedeutung der Verordnung über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch (Trinkwasserverordnung 2001) für die Krankenhaushygiene. Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz. 47: 384-391.
- Exner, M., Tuschewitzki, G.-J. and Scharnagel, J. (1987). Influence of biofilms by chemical disinfectants and mechanical cleaning. *Zbl Bakt Hyg* 183: 549-563.
- Flemming, H.-C. und Wingender, J. (2001). Biofilme – die bevorzugte Lebensform der Bakterien. *Biologie in unserer Zeit* 31 (3): 169-180.
- Flemming, H.-C. und Wingender, J. (2002). Was Biofilme zusammenhält. *Chemie in unserer Zeit* 36 (1): 30-42.
- Fischeder R. (2002). Mikrobiologische Probleme in der Hausinstallation. LW Schriftenreihe Beitrag 5: 48-53
- Gebel, J., Hornei, B., Vacata, E., Dietlein, E., Exner, M. (2004). Neue Erkenntnisse und Bewertung der Eigenschaften von Reinigungs- und Desinfektionsverfahren für die Fläche. *Hyg Med* 29 (9): 327-333
- Hall-Stoodley, L. and Stoodley, P. (2005). Biofilm formation and dispersal and the transmission of human pathogens. *Trends Microbiol* 13 (1): 7-10.
- Langsrud, S., Moretro, T. and Sundheim, G. (2003). Characterization of *Serratia marcescens* surviving in disinfecting footbaths. *J Appl Microbiol* 95 (1): 186-195.
- LeChevallier, M.W., Babcock, T.M. and Lee, R.G. (1987): Examination and characterization of distribution system biofilms. *Appl Environ Microbiol.* 53: 2714-2724.
- Lowry, O.-H., Rosebrough, N.-J., Farr, A.-L., et al. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193:265-275.

Nagy, L.A. and Olsen, B.H. (1985). Occurrence and significance of bacteria, fungi and yeasts associated with distribution pipe surfaces. Proc Water Qual Tech Conf Houston, American Water Works Association, Denver.

Pleischl, S., Engelhart, S., Exner, M. (2001): Arbeitspapier Legionellose; Medizinische und umwelthygienische Gesichtspunkte. Institut für Hygiene und öffentliche Gesundheit der Universität Bonn, Download über <http://www.med.uni-bonn.de/hygiene/forschung/legionellose.pdf>

Rahal, J.J. and Urban, C. (2000). Acinetobacter. *Semin Respir Crit Care Med* 21 (4): 341-348.

Reuter, S., Sigge, A., Wiedeck, H. et al. (2002). Analysis of transmission pathways of *Pseudomonas aeruginosa* between patients and tap water outlets. *Crit. Care Med.* 10: 2222-2228.

Reuter, S., Sigge, A., Reuter, U. et al. (2002). Endemische Übertragungswege von *Pseudomonas aeruginosa*. *Hyg Mikrobiol* 6: 6-12.

Trautmann, M., Michalsky, T., Heidmarie, W. et al. (2001). Tap water colonization with *Pseudomonas aeruginosa* in a surgical intensive care unit (ICU) and relation to *P. aeruginosa* infections of ICU patients. *Infect Control Hosp Epidemiol* 22 (1): 49-52.