

# Statusseminar zum BMBF-Verbundprojekt EXPOVAL

am 01./02.10.2015 in Hannover



TECHNISCHE  
UNIVERSITÄT  
DARMSTADT

## Parasiten im Abwasser –

Problematik und Lösungsansätze für die Wasserwiederverwendung  
(Unterverbund 7)

**Prof. Dr.-Ing. Peter Cornel**  
Stefan Kneidl, M.Sc.

TU Darmstadt, Institut IWAR  
Fachgebiet Abwassertechnik



EXPOVAL



GEFÖRDERT VOM



Bundesministerium  
für Bildung  
und Forschung

- 1. Helminthen und einzystierte Einzeller**
- 2. Problematik für die Wasserwiederverwendung**
- 3. Verhalten bei der Abwasserbehandlung**
- 4. Lösungsansätze und bisherige Ergebnisse**
- 5. Fazit und Ausblick**

# 1. Helminthen und einzystierte Einzeller

## Was sind Parasiten?

Lebewesen, „die zum Zwecke der Nahrungsgewinnung und Fortpflanzung permanent oder temporär in / auf einem andersartigen Lebewesen, dem Wirtsorganismus wohnen und diesen schädigen.“

[Aspöck et al., 2006]

Unterscheidung in

- Ektoparasiten: vorwiegend Arthropoden (z.B. Zecken, Mücken, Läuse)
- Endoparasiten: vorwiegend **Protozoen** (z.B. *Plasmodium spp.* → Malaria) und **Helminthen** (parasitisch lebende Würmer)

→ **Protozoen und Helminthen** von Relevanz in der Abwasserbehandlung

# 1. Helminthen und enzystierte Einzeller

## Protozoen (eukaryotische Einzeller)

- Enzystierte Dauerformen im Abwasser
- Erreger von Darmerkrankungen (meist *Diarrhoe*)
- *Größe:*

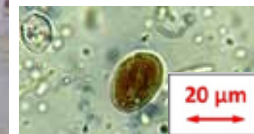
50 – 70  $\mu\text{m}$  (*Balantidium coli.*); 8 – 19  $\mu\text{m}$  (*Giardia intestinalis*) bis ca. 5  $\mu\text{m}$  (*Cryptosp. coli.*)

- Infektionsweg: Orale Aufnahme



[Ash und Orihel, 2007]

<http://illumina-chemie.de>

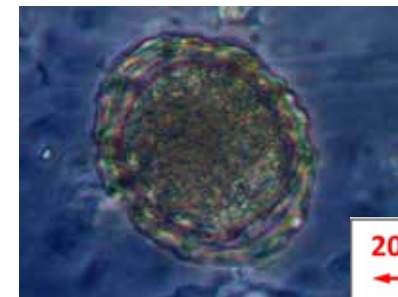


## Helminthen (parasitisch lebende Würmer)

- Stamm der Nematoden bereits > 20.000 Arten
- Larven und Eier im Abwasser
- *Größe:* 20 – 60  $\mu\text{m}$  (relevanter Bereich)
- Infektionswege (vereinfacht):

Orale Aufnahme von Larven / Eiern oder kutane Penetration von „Larven“

*Ascaris sp.*



*Trichuris sp.*



# 1. Helminthen und einzystierte Einzeller

## Fokus: „Soil-transmitted helminths“ (STH's)

- Mehr als **1,5 Milliarden infizierte Menschen weltweit** [WHO, 2015]
- Über den „Boden“ übertragbar
- Sehr hohe Resistenz der Eier gegenüber Umwelteinflüsse / Desinfektion
- Weites Krankheitsbild: (u.a.)
  - Anämie
  - Appetitlosigkeit / Gewichtsverlust
  - Einfluss auf Wachstum und Entwicklung von Kindern
  - Encystierung in Körper / Organen



[Foto: Gathany J., 2007]

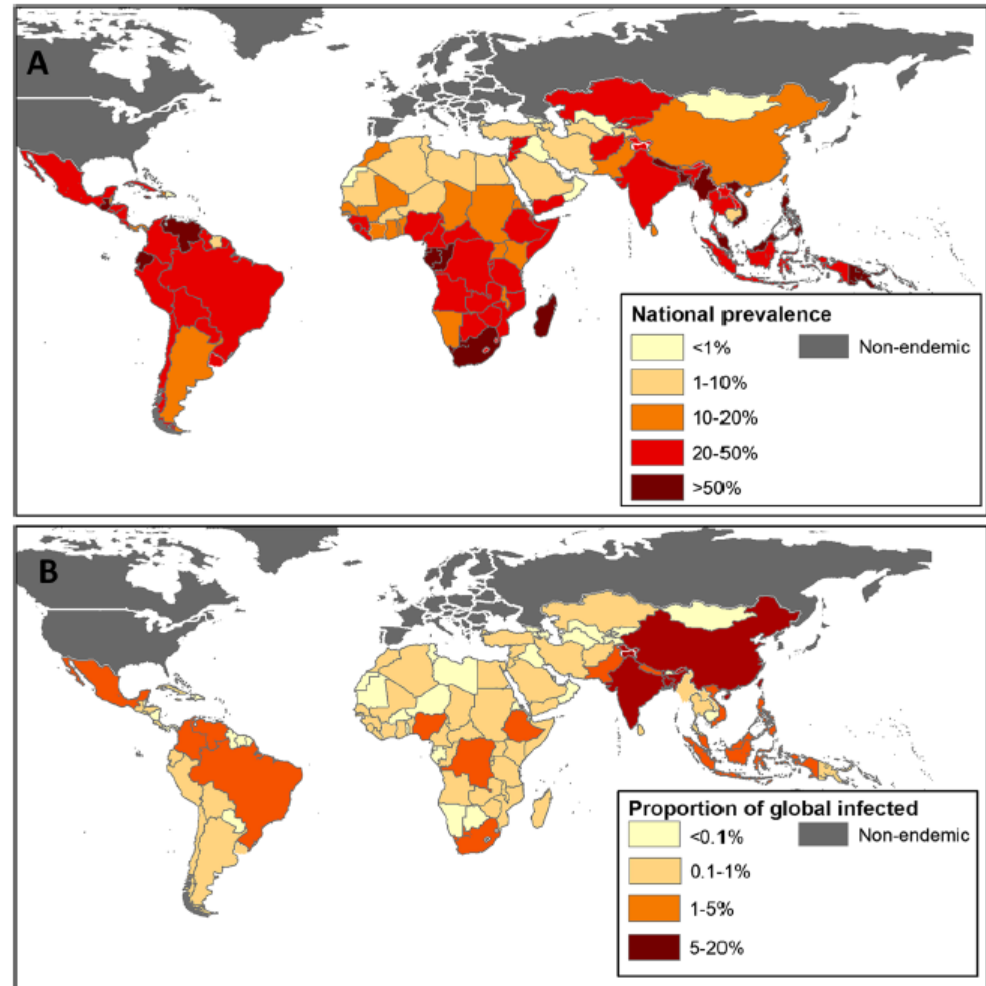
à Helminthen: Besonders hohe Relevanz für die Abwasserbehandlung und Wasserwiederverwendung

# 1. Helminthen und einzystierte Einzeller

## Prävalenz (2010)

- Anteil infizierter Personen
- Anteil infizierter Personen eines Landes an der globalen Infektionsrate

[Pullan et al., 2014]



## 2. Problematik für die Wasserwiederverwendung

### Helminthen-Eier entsprechend der Prävalenz in der ABA nachweisbar

à Transport der Eier auf Bewässerungsflächen

à Hohe Überlebensfähigkeit ([Feachem et al., 1983], [Hindiye, 2004],[Jiminez-Cisneros, 2007])

Helminthen-Spezies (Eier / Larven)	Überlebenszeit	
	auf Feldfrüchten [d]	in der Bodensubstanz [d]
<i>Ascaris lumbricoides</i>	ca. 30 (max. 60)	einige Monate
<i>Trichuris trichiura</i>	ca. 30 (max. 60)	einige Monate
Larve der Hakenwürmer	ca. 10 (max. 30)	ca. 30 (max. 90)

à Hohes Gefährdungspotential für

- Kinder / Jugendliche und
- in der Landwirtschaft tätige Personen.

## 2. Problematik für die Wasserwiederverwendung

**Werte im Abwasser** in Regionen mit höherer Prävalenz

- **< 3000 HO/L** im KA-Zulauf (selten höher)
- **< 20 HO/L** im KA-Ablauf (selten höher)

**Grenzwerte** für die Wasserwiederverwendung in wenigen Ländern  
(u.a. Mexiko, Brasilien, Kolumbien und Marokko):

- Meist  **$\leq 1$  HO/L** (für uneingeschränkte Anwendung) bis 5 HO/L
- Empfehlung der WHO:  **$\leq 1$  HO/L** und  **$\leq 0,1$  HO/L** falls direkter Kontakt zu Kindern / Jugendlichen
- Grenzwerte bezogen auf STH's (*Ascaris spp.*, *Trichuris spp.*, Hakenwürmer) sowie entwicklungsfähige Eier / Larven

à **Problematik:** Ablaufwerte nicht immer unter Grenzwerten



# 3. Verhalten bei der Abwasserbehandlung

## Fragestellung:

### Wie verhalten sich die Helminthen-Eier im Abwasserprozess?

- Reduktion der Helminthen-Eier bis zu 100 % möglich  
à jedoch abhängig von Verfahren und Betrieb der Anlage

Verfahren	Reduktionsrate [%] (übliche Praxiswerte)
Vorklärung	< 30 %
UASB-Reaktor	70 bis > 99 %
Teichanlagen	60 bis > 99 %
Belebungsverfahren	85 bis 95 % (z.T. > 99 % bei anschließender Filtration)
Filtration	70 bis 100 %

(Eigene Messungen und Daten von [Jiminez-Cisneros, 2007])

# 3. Verhalten bei der Abwasserbehandlung

## Ursachen / Wirkprinzipien der Abscheidung

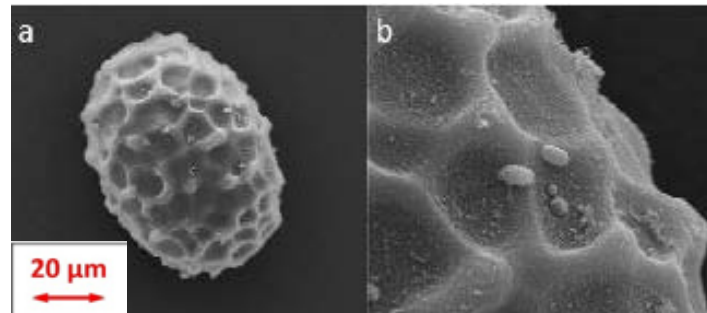
- Sedimentation

  - à Spezifische Dichte der Eier: ca. 1,05 bis 1,23 g/cm<sup>3</sup>

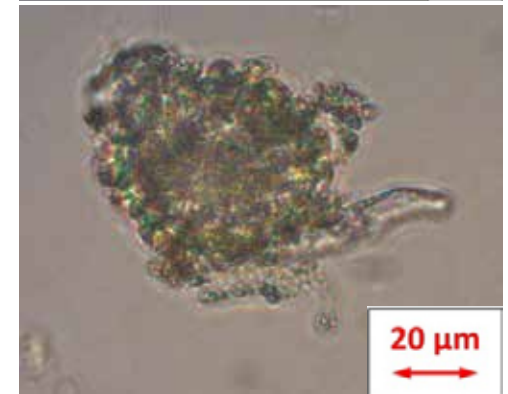
- Anhaftung an Partikel / Schlammflocke

  - „Klebrige“ Eigenschaft der Eihülle (insb. *Ascaris sp.*)
  - Charakteristische Oberflächenstruktur bei *Ascaris sp.*
  - à Austrag mit Partikel / Schlamm

*Ascaris sp.*



[Sengupta, 2012]

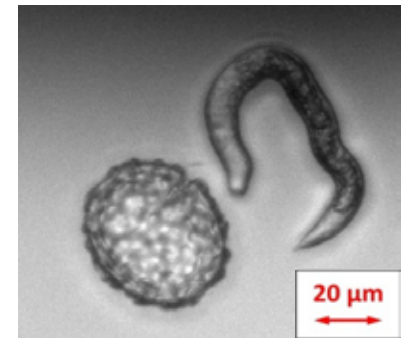
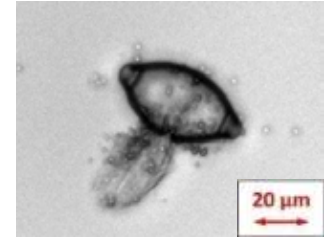


# 3. Verhalten bei der Abwasserbehandlung

## Zwei grundsätzliche Problemstellungen:

- **Abwasserbehandlung**

- Abtreibender Schlamm / Schwimmschlamm
- Dehnbarkeit der Eier (meist  $< 40\%$  des Durchmessers)
- Geringe Wirkung der **Desinfektion** (übliche Dosen)
  - à Chlorung / Ozonung meist 0 bis 20 % (Abtötung)
  - à UV-Bestrahlung meist 0 % (Abtötung)



- **Analyse der Eier**

- Noch keine verlässliche, automatisierte und quantitative Analyse (qPCR, ELISA-Test, Bilderkennung, etc.)
- Sehr niedrige Konzentrationswerte à aufwändige Aufbereitung
- Mikroskopische Auswertung à hohes Fehlerpotential

## 4. Lösungsansätze und bisherige Ergebnisse



### Möglichkeiten zum Abtöten / Abscheiden von Helminthen-Eiern:

- Hohe Temperaturen / lange Behandlungsdauer / geringe Feuchtigkeit
- Sedimentation
- Filtration

### Lösungsansatz

- Sedimentation nicht immer geeignet → Anhaftung und Austrag der Eier
- **Filtration / Mikrosiebung**: Vollständige Abscheidung der Eier möglich!

# 4. Lösungsansätze und bisherige Ergebnisse

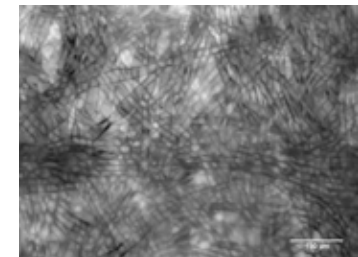
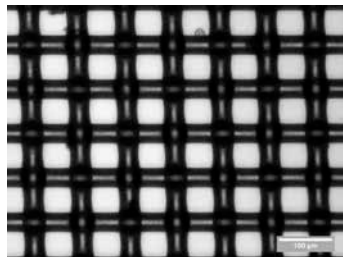
Laborversuche → Versuchsanlage → großtechnische Validierung



→



→ Einsatz von Geweben (PET / Edelstahl) und einem Nadelfilz



# 4. Lösungsansätze und bisherige Ergebnisse

Analyseverfahren modifiziert nach U.S. EPA und UNAM (Mexico City)

**1. Siebung**  
(160  $\mu\text{m}$  à 10  $\mu\text{m}$ )



**2. Siebrückstand**  
(20  $\mu\text{m}$  und 10  $\mu\text{m}$ )



**3. „Aufkonzentrierung“ bis Restvolumen ca. 2 - 5 mL \***



\* ggf. Abtrennung der Helminthen-Eier anhand ihrer spezifischen Dichte

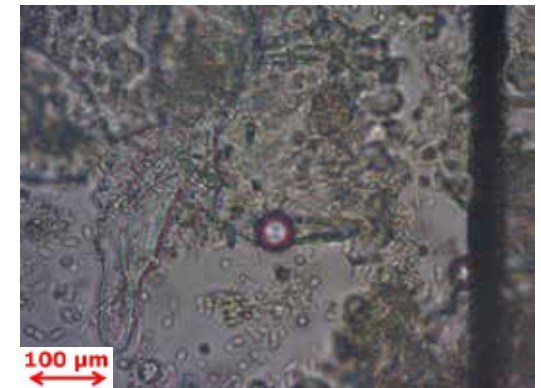
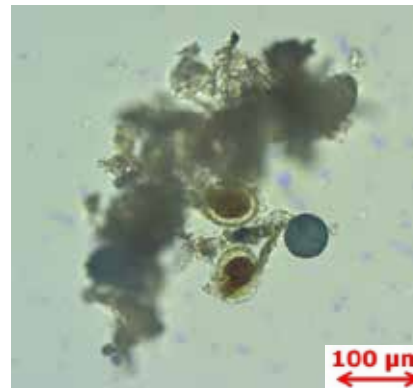
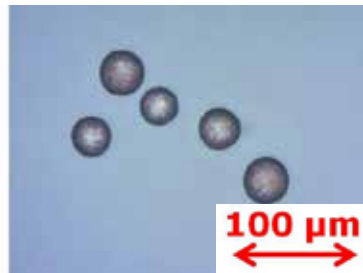
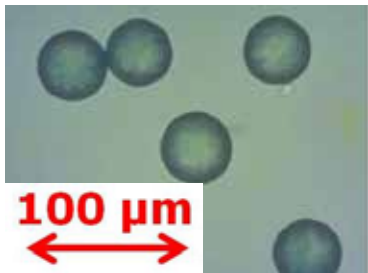
**4. Mikroskopische Auswertung (ggf. anfärben / inkubieren)**



# 4. Lösungsansätze und bisherige Ergebnisse

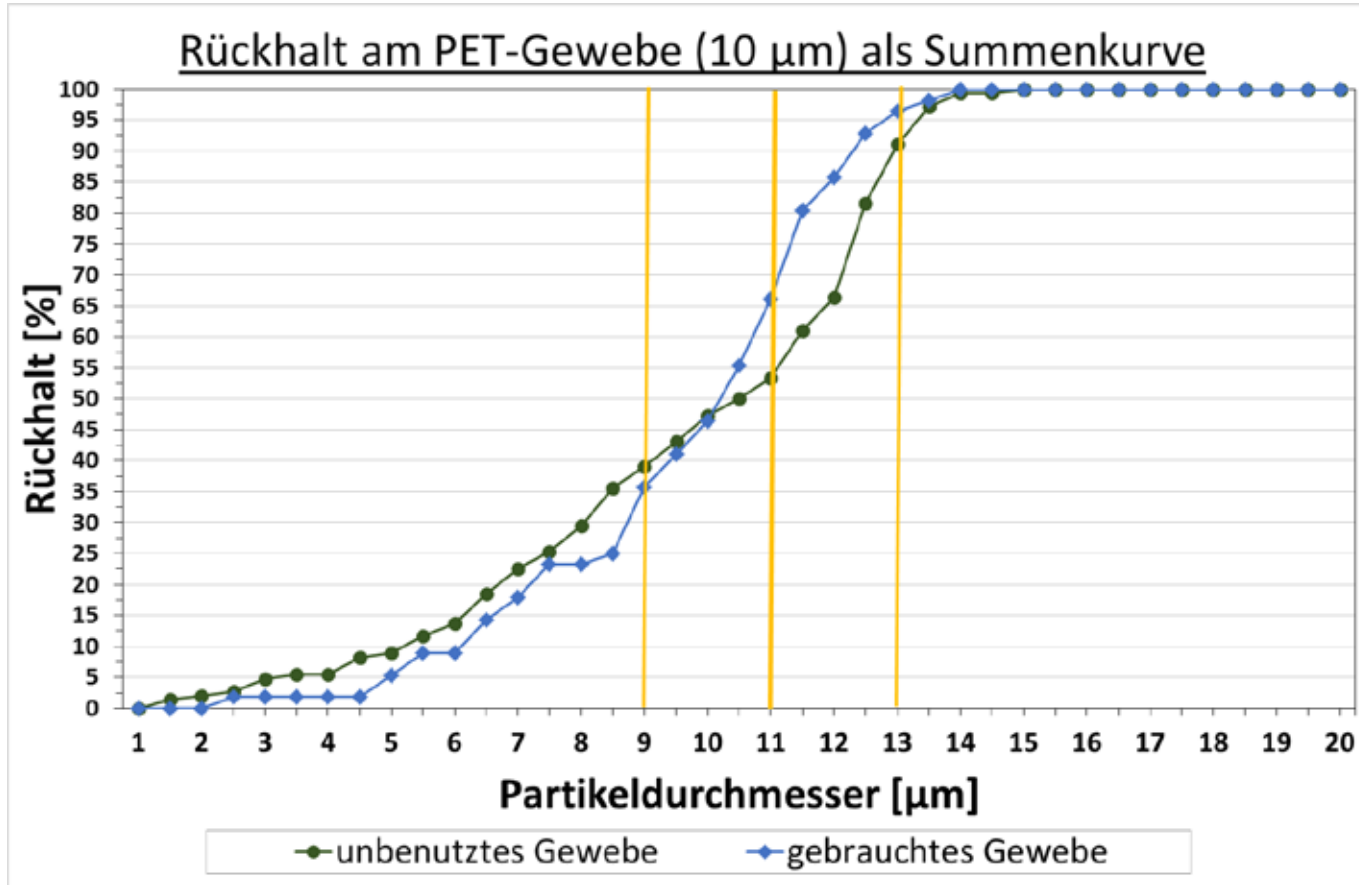
## Ersatzpartikel für Helminthen-Eier

- Häufig stark variierende Konzentration an Eiern und Art der Spezies
- Ziel: Ersatzpartikel für Helminthen-Eier → Material: PE / PMMA / PS
- Eigenschaften
  - Gefärbte, sphärische Partikel mit ähnlicher spezifischer Dichte
  - Identisches Analyseverfahren → parallel zu den Eiern bestimmbar
  - Definierte Größe sowie konstante Dosierbarkeit
  - Ersatzpartikel als Kontrolle der Analyse → Wiederfindungsrate

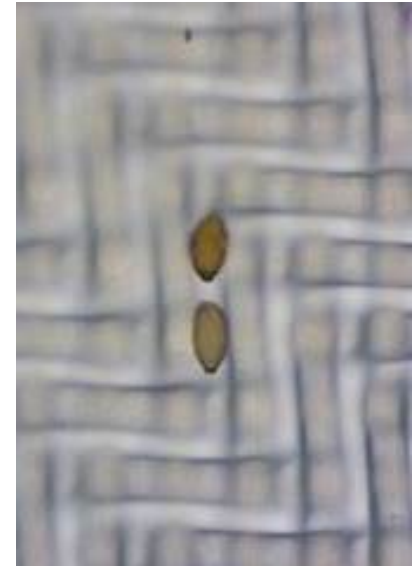


# 4. Lösungsansätze und bisherige Ergebnisse

## Laborversuche mit PE/PMMA/PS-Partikel und Helminthen-Eier



*Trichuris*-Eier  
am Filtergewebe





# 4. Lösungsansätze und bisherige Ergebnisse

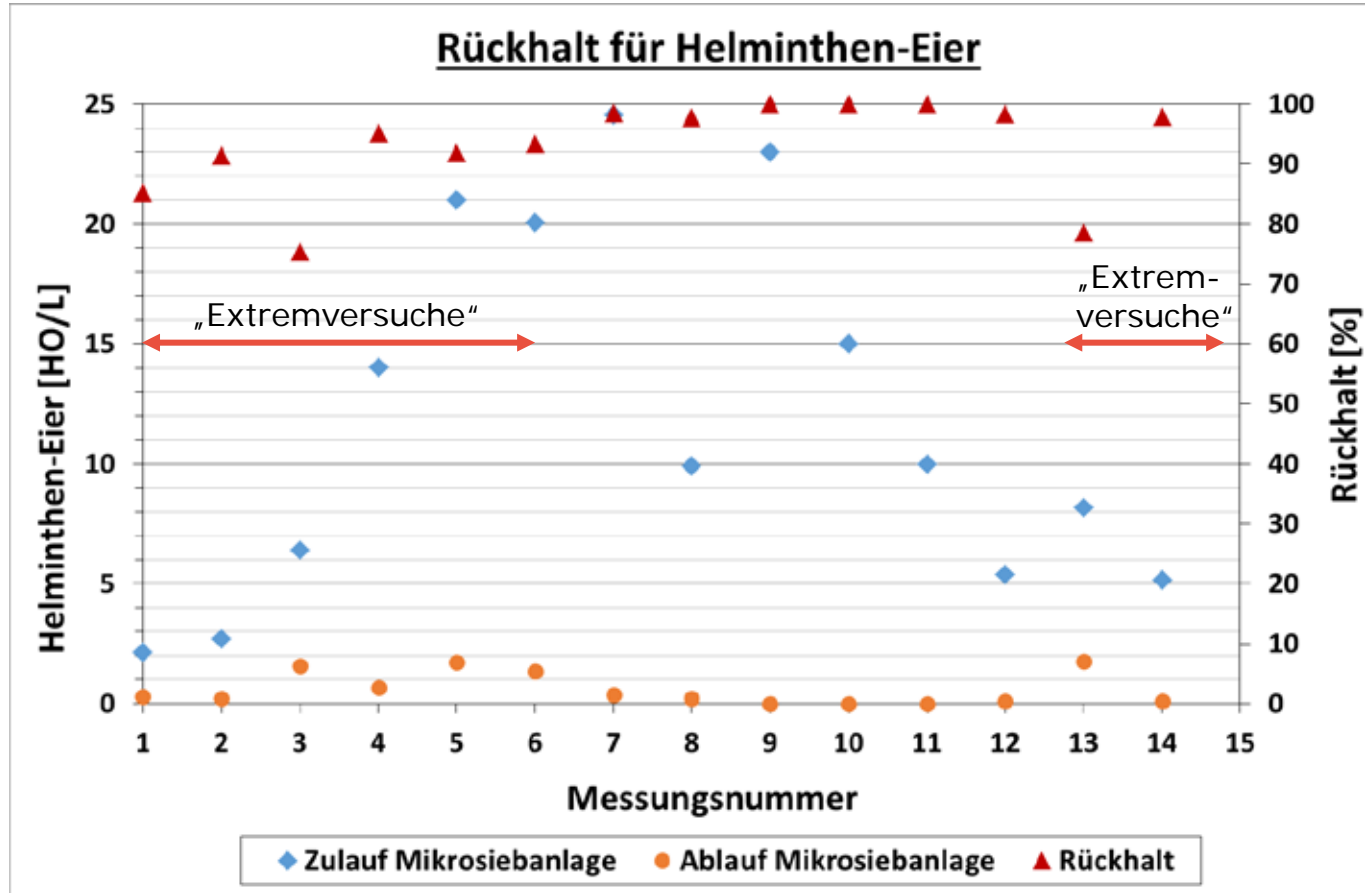
## Laborversuche mit PE/PMMA/PS-Partikel und Helminthen-Eier

Prozentualer Rückhalt für Helminthen-Eier respektive Larven in Abhängigkeit der Maschenweite								
Maschenweite [µm] (Toleranzen)	54 (50±5)	37	33 (33±3)	20 (21±3)	18 (18±1)	17	15 (15±2)	10 (11±2)
Filtermaterial	PET	Edelstahl	PET	PET	Edelstahl	PET	PET	PET
<i>Ascaris spp.</i>	10,0- 44,0	86,2- 100	96,0- 100	100	100	100	100	100
<i>Trichuris spp.</i>	0,0	71,0	24-75,0	99,1 - 100	94,1 - 100	100	100	100
<i>Taenia spp.</i>	16,6	33,3	83,3	100	100	100	100	100
<i>Hymenolepis spp.</i>	38,2 - 100	89,6- 100	96,8- 100	100	100	100	100	100
<i>Strongyloiden-Larven</i>	-	-	-	-	100	100	100	100

à Reproduzierbar für Kunststoff-Partikel

# 4. Lösungsansätze und bisherige Ergebnisse

## Versuchsanlage in Sharjah (VAE): Rückhalt am PET-Gewebe (10 µm)



„Extremversuche“:  
Versuchsreihen mit  
hoher Beaufschlagung  
sowie starker  
mechanischer  
Belastung  
à AFS-Spitzen bis zu  
ca. 100 mg/L  
innerhalb weniger  
Minuten  
à Dauerspül-Intervalle

## 4. Lösungsansätze und bisherige Ergebnisse



### Großtechnische Mikrosiebanlagen

- **Sharjah** (Scheibenfilter) → Edelstahl-Gewebe mit 18 µm
  - Rückhalt für Helminthen-Eier zwischen 5 % und 50 %
  - Partikel jeder Größenklasse im Ablauf nachweisbar
- **Namibia** (Trommelfilter) → Maschengewebe mit 15 µm
  - Rückhalt für Eier / Larven < 25 % ( nicht ordnungsgemäße Abdichtung)
  - Rückhalt für Eier / Larven > 93 % (ordnungsgemäße Abdichtung)
- **Costa Ballena** (Scheibenfilter) → Maschengewebe (PET) mit 10 µm
  - Rückhalt für Helminthen-Eier und Partikel > 98 %
  - Vereinzelt Partikel bis über 33 µm im Ablauf nachweisbar

→ Rückhalt von Eiern / Larven variiert erheblich

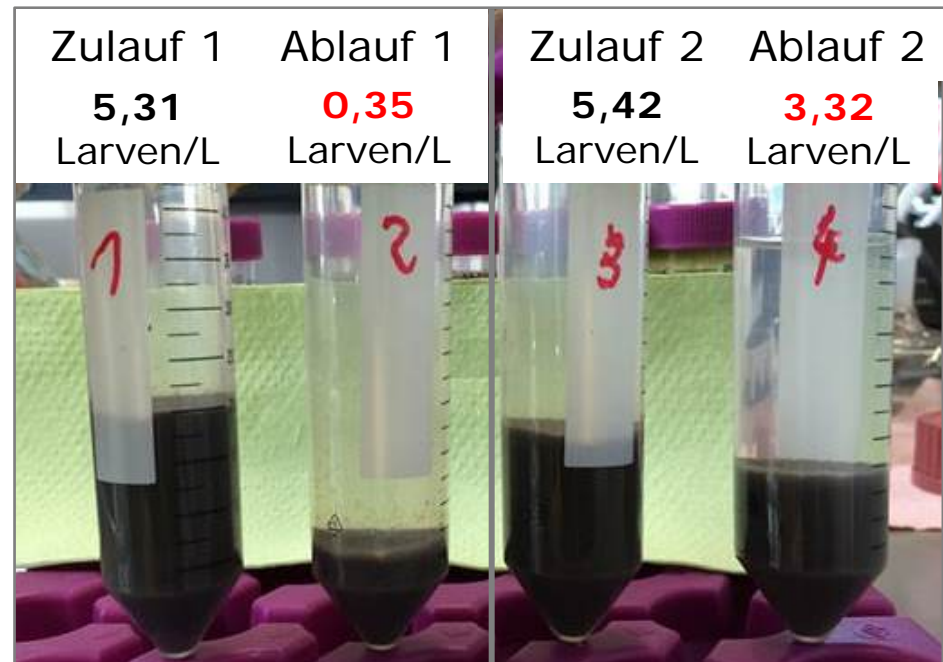
## 4. Lösungsansätze und bisherige Ergebnisse

### Schlussfolgerungen

- Rückhalt der Eier nur im Labormaßstab zu 100 % möglich
- Z.T. deutliche Abweichungen der Labordaten von Betriebsdaten der halbtechnischen / großtechnischen Anlagen
- **Ursache:** Leckagen im System

### Beispiel

- Zulauf 1 / Ablauf 1  
à fachgerechte Abdichtung
- Zulauf 2 / Ablauf 2  
à fehlerhafte Abdichtung



## 4. Lösungsansätze und bisherige Ergebnisse

à **Leckagen** resultieren durch

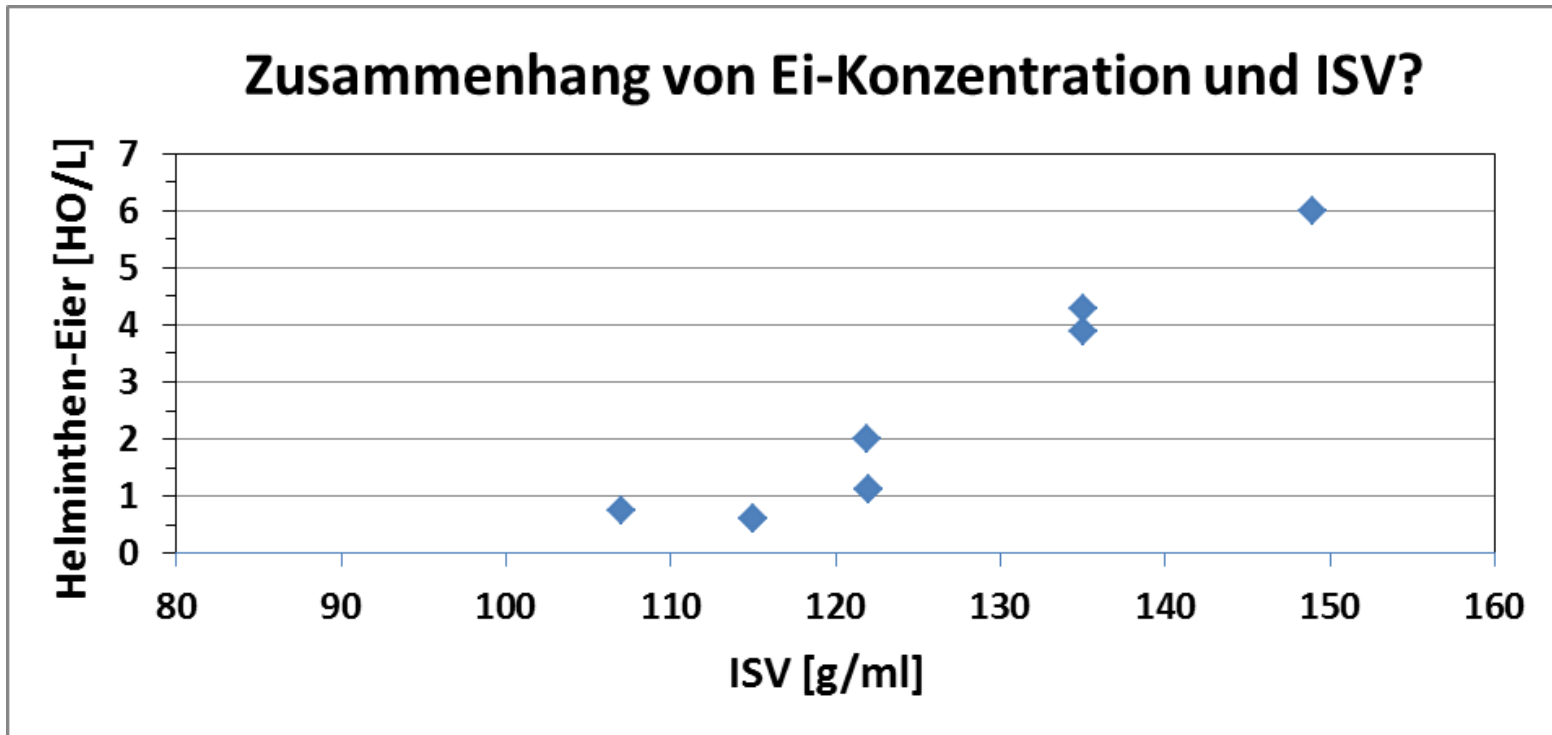
- Fehler in **Betrieb** und **Wartung**
- fehlende / defekte **Abdichtung**,
- möglicher **Überlauf** in der Zulaufrinne durch Überlastung der Anlage und
- **Löcher / Risse** im Siebmaterial.



à Bei Beachtung der **Anlagen-Abdichtung** sowie **ordnungsgemäßigem Betrieb** und **regelmäßiger Wartung** können nach den vorläufigen Ergebnissen übliche Grenzwerte eingehalten werden (gültig für Gewebe mit einer Maschenweite von 10 µm und dem eingesetzten Nadelfilz).

## 4. Lösungsansätze und bisherige Ergebnisse

- **Exkurs:** Abhängigkeit der Ei-Konzentration von **ISV (AFS)** → KA-Ablauf



→ Schlammaustrag / hohe AFS-Konzentration → hohe Ei-Konzentration

## 5. Fazit und Ausblick

### **Filtration** als vielversprechende Möglichkeit!

- Sehr hoher bis vollständiger Rückhalt am Filtermedium möglich
- Helminthen-Eier befinden sich im Rückspülschlamm
  - à geringes Volumen und hohe Konzentration à separate Behandlung

### **Aber:**

- Z.T. Leckagen / Undichtigkeiten in Systemen (Großtechnik) feststellbar
- Defizite bei Wartung und Betriebsweise (Großtechnik)
- Übertragung der Eier vom Wasser- auf den Schlammweg!  
(z.B. ca. 100 bis 1.000 HO/L im Rückspülschlamm)

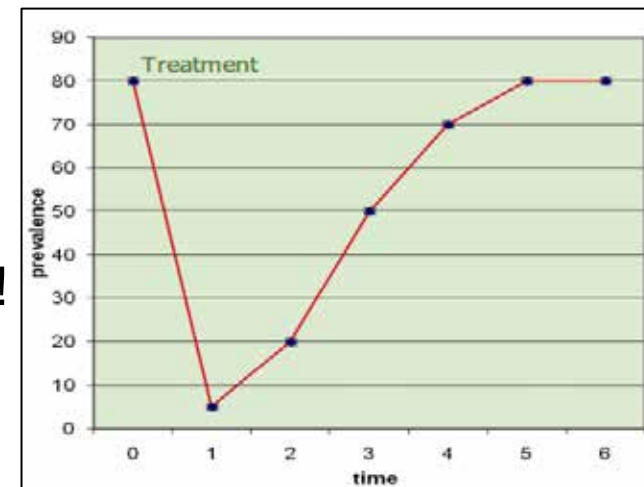
à Weiterer Forschungsbedarf (u.a. Detektion von Leckagen,  
Ersatzpartikel, Analyseverfahren, Schlammbehandlung)

## 5. Fazit und Ausblick

**Medizinischer Sektor:** Hohes Bewusstsein für gesundheitliche Relevanz der Helminthiasis → Einsatz von Anthelminthika

- Beispiel „WHO“ für das Jahr 2013:  
→ Behandlung von 368 Mio. Schulkindern
- Ziel der WHO:  
Elimination der Helminthen bei Kindern bis 2020!

**Aber:** Hoher Anteil an erneuten Infektionen  
→ Problem nicht allein durch medikamentöse  
Behandlung lösbar



[„Childrens without Worms“, 2010]  
(Abb.: Zeitangabe in Monaten)

**Abwasserbehandlung kann Beitrag zur Reduktion der Prävalenz leisten!**



**Prof. Dr.-Ing. Peter Cornel**  
**Stefan Kneidl, M.Sc.**

p.cornel@iwar.tu-darmstadt.de  
s.kneidl@iwar.tu-darmstadt.de

TU Darmstadt, Institut IWAR  
Franziska-Braun-Straße 7  
64287 Darmstadt  
www.iwar.tu-darmstadt.de



GEFÖRDERT VOM



Bundesministerium  
für Bildung  
und Forschung



- **Ash L.R. und Ortel T.C.:** „*Ash & Ortel's Atlas of Human Parasitology.*“ Los Angeles/New Orleans: American Society for Clinical Pathology - Press, 2007.
- **Aspöck und Hiepe, T.:** „*Allgemeine Parasitologie mit den Grundzügen der Immunbiologie, Diagnostik und Bekämpfung.*“ MVS Medizinverlage. Vol. 1. Stuttgart: Theodor Hiepe, Richard Lucius, Bruno Gottstein, 2006.
- **Children Without Worms:** “*WASH in Schools for Comprehensive Control of Intestinal Worms*”. von Meklit Berhan, 2007. [http://www.unicef.org/wash/schools/files/CWW\\_SWW\\_Presentation.pdf](http://www.unicef.org/wash/schools/files/CWW_SWW_Presentation.pdf)
- **Feachem, R., Bradley T., Garelick H., und Mara D.D.:** „*Sanitation and Disease - Health Aspects of Excreta and Wastewater.*“ Washington D.C.: John Wiley & Sons, 1983.
- **Hindiye M.Y.:** „*Integrated Guide To Sanitary Parasitology.*“ Amman, 2004.
- § **Jimenez B.:** “*Helminth ova removal from wastewater for agriculture and aquaculture reuse.*” *Water Science & Technology* (IWA Publishing), 2007, Vol. 55 (2007): 485-493.
- § **Jimenez B. und Chavez A.:** “*Water Science and Technology.*” 2002, 95.
- § **Jimenez B. und Maya-Rendon C.:** „*Helminths and Sanitation.*“ Environmental Engineering Department , Universidad Nacional Autónoma de México , Coyoacan: Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology, 2007.
- § **Pullan R.L., Smith J.L., Jasarasaria R. und Brooker S.J.:** “Global numbers of infection and disease burden of soil transmitted helminth infections in 2010”. *Parasites & vectors.* 2014; 7, Vol. 37.
- **Sengupta ME, Thamsborg SM, Andersen TJ, Olsen A, Dalsgaard A.:** „Sedimentation of helminth eggs in water.“ *Water Research*, Vol. 45 (2011) :4651–4660.
- **Sengupta M.E.:** “*Sedimentation and resuspension of helminth eggs in water.*” Dissertation, Faculty of Life Science, University of Copenhagen, Copenhagen, 2012.
- **WHO:** “Soil-transmitted helminth infections”. Fact sheet N°366, Updated May 2015. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs366/en/>

# Sinkgeschwindigkeit der Helminthen-Eier

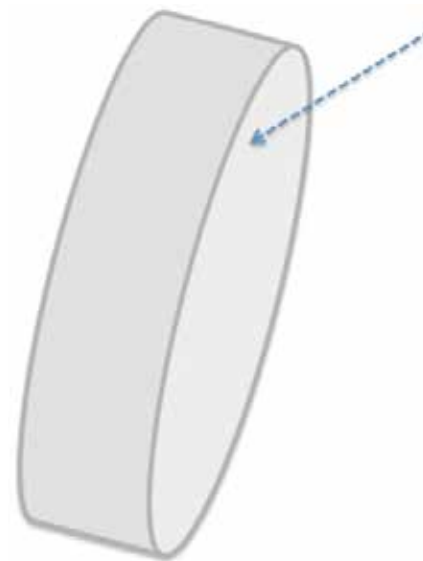
	Experimentelle Sinkgeschwindigkeit		Theoretische Sinkgeschwindigkeit (Stokes)	
	Mittel	95% CI	Mittel	95% CI
Ascaris	0,0612 [0,22]	0,0565-0,0658	0,2749 [0,99]	0,2686-0,2813
Trichuris	0,1487 [0,54]	0,0959-0,2015	0,1292 [0,47]	0,1270-0,1314
Oesophagostomum	0,1262 [0,45]	0,1069-0,1454	0,1581 [0,57]	0,1504-0,1613

nach [Sengupta, 2011]

CI = confidential interval

# Analyseverfahren – Teil 1

## A) Siebung durch verschiedene Analysensiebe mit den Maschenweite 160 $\mu\text{m}$ , 100 $\mu\text{m}$ und 20 $\mu\text{m}$ / 10 $\mu\text{m}$



## B) Rückgewinnung des Rückstandes von den Analysensieben mit den Maschenweiten 20 $\mu\text{m}$ und 10 $\mu\text{m}$

## Analyseverfahren – Teil 2

### C) „Aufkonzentrierung“ des Rückstandes durch Zentrifugation

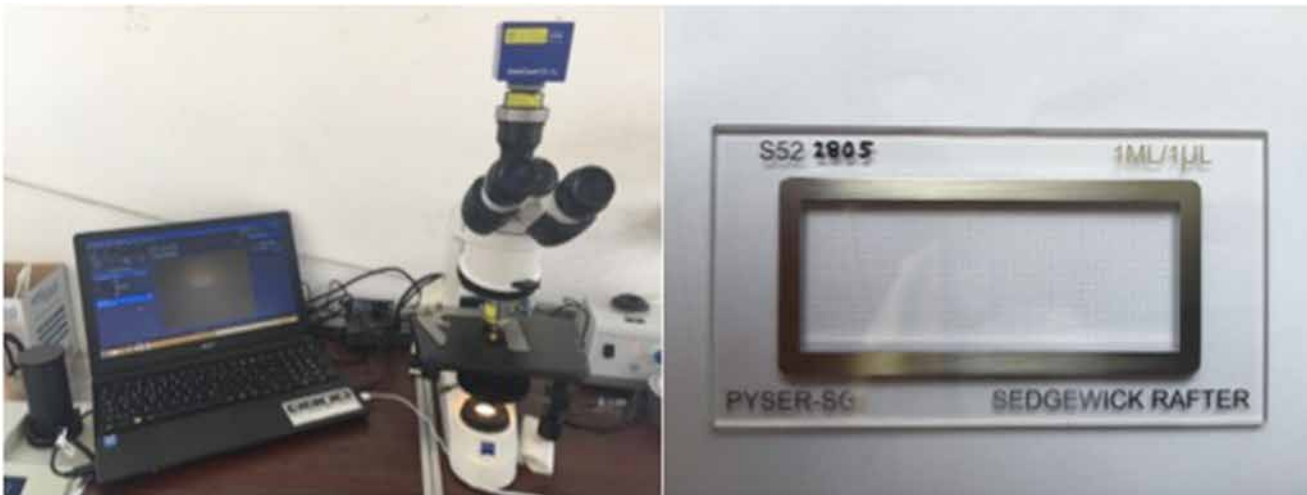


### D) Abtrennung der Eier von den sonstigen Bestandteilen anhand ihrer spezifischen Dichte

# Analyseverfahren – Teil 3

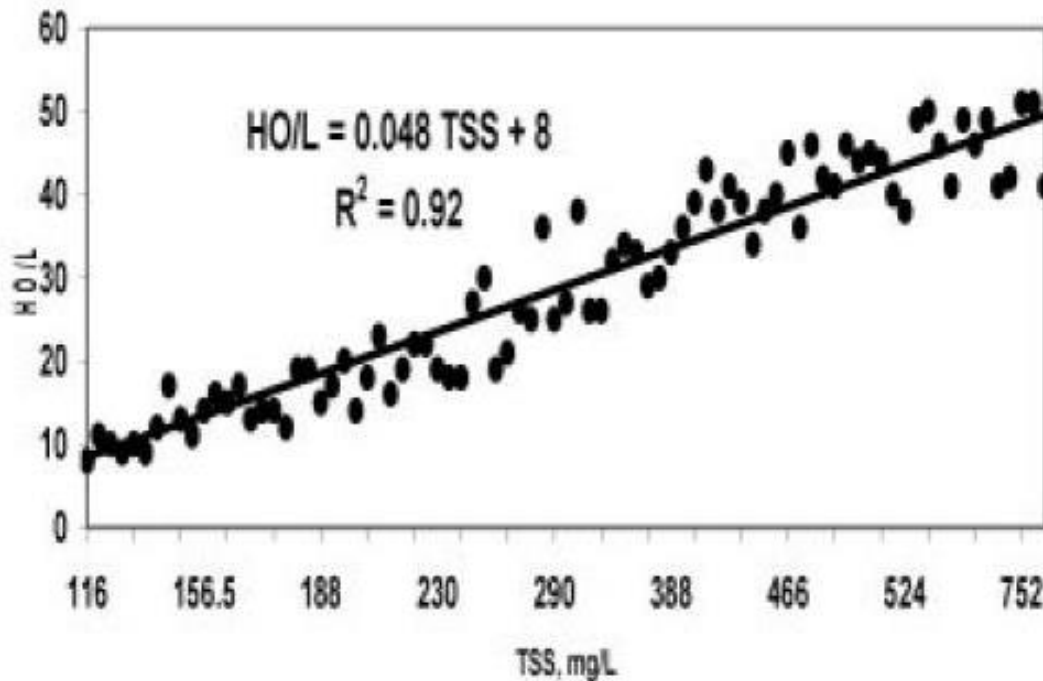
E) Erneute „Aufkonzentrierung“ bis zum Restvolumen von ca. 2-5 mL

F) Mikroskopische Auswertung mit einer Zählkammer



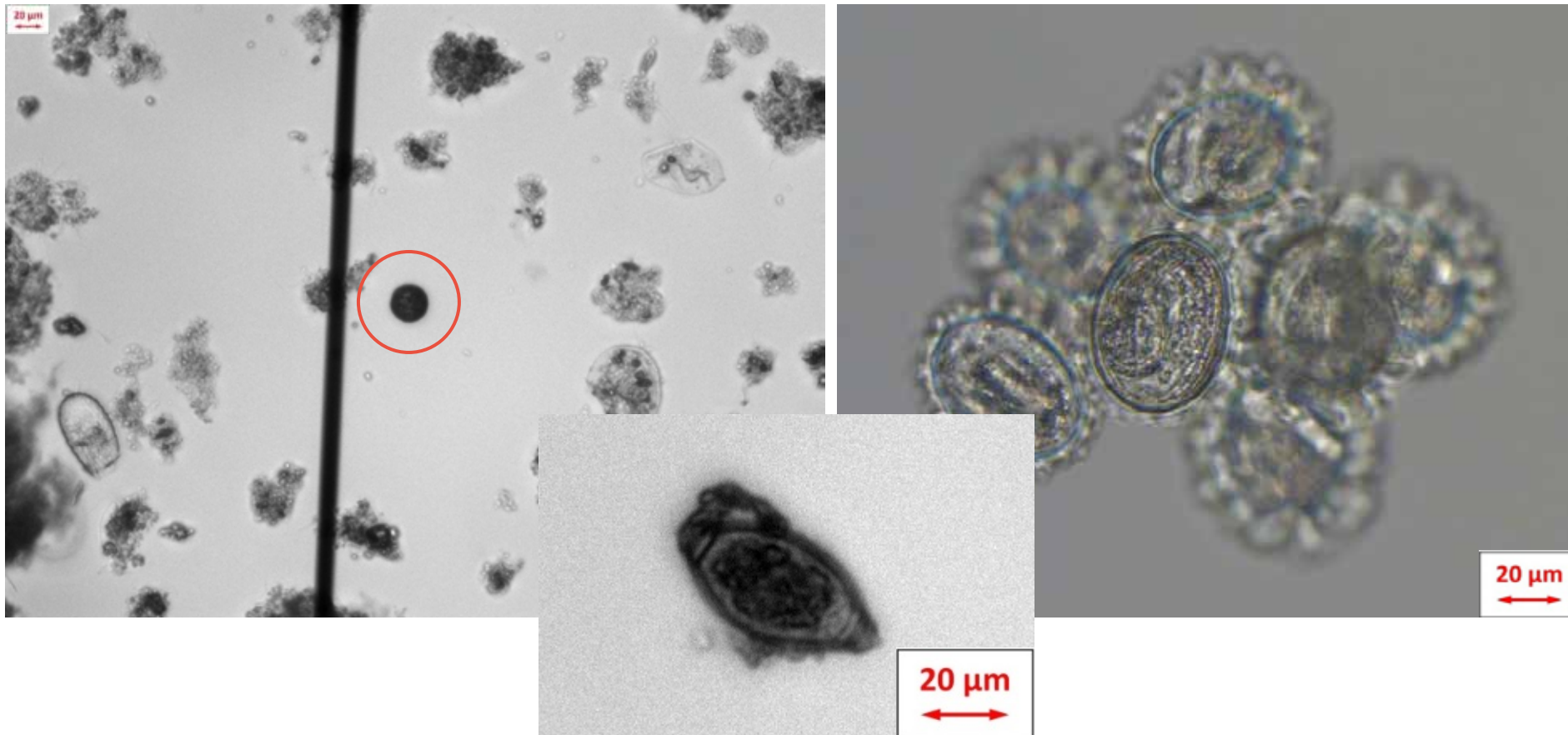
# Helminthen-Eier und AFS-Konzentration

- Abhängigkeiten der **Ei**-Konzentration von der **AFS**-Konzentration im Zulauf einer Kläranlage



[Jimenez und Chavez, 2002]

- Mikroskopische Aufnahmen von Eiern / Partikel





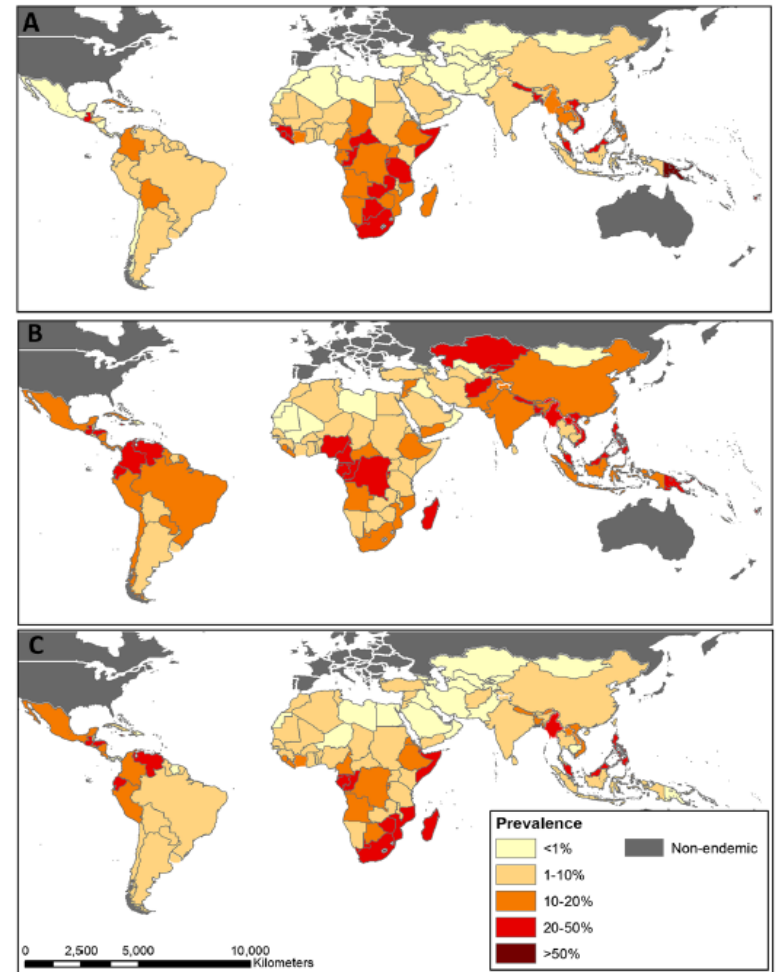
# Prävalenz

Prävalenz der bodenübertragbaren  
Helminthen nach Spezies:

(A) Hakenwürmer

(B) *Ascaris lumbricoides*

(C) *Trichuris trichiura*



[Pullan et al., 2014]