

**Gesellschaft für
Versuchstierkunde**

Society for Laboratory Animal
Science

GV SOLAS

Ausschuss für Ernährung der Versuchstiere

Trinkwasserversorgung von Versuchstieren

April 2003

Trinkwasserversorgung von Versuchstieren

1 Einleitung

Wasser ist lebensnotwendig. Akute Wasserverluste von etwa 5 % der Körpermasse können zur deutlichen Minderung der Leistungsfähigkeit, von über 10% zu ernsthaften bis lebensbedrohlichen Stoffwechselfysregulationen führen. Aus diesem Grunde ist über 24 Stunden des Tages eine artgerechte Versorgung der Versuchstiere mit Wasser zu garantieren. Die heute standardisierten Trockenfutterregime erfordern Tränkeinrichtungen, die jedem Tier zu jeder Zeit die Möglichkeit zur ausreichenden Flüssigkeitsaufnahme bieten. In Abhängigkeit von Tierart und Haltungform sind sowohl an die Qualität des Wassers, als auch an die Art und Weise der Verabreichung unterschiedliche Anforderungen zu stellen.

2 Qualität des Wassers

2.1 Trinkwasserqualität (gemäß „Trinkwasserverordnung“)

Versuchstieren, die unter konventionellen Bedingungen gehalten werden, kann in der Regel Trinkwasser aus zugelassenen Wasserversorgungsanlagen verabreicht werden. Ausnahmen bilden Untersuchungen, bei denen keinerlei Inhaltsstoffe mit dem Wasser zugeführt werden dürfen (z.B. Mineralstoffbilanzen).

Die Verordnung über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch TrinkwV 2001 – Trinkwasserverordnung – vom 21.05.2001 (BGBl. I Nr. 24 vom 28.05.2001 S.959) regelt in Deutschland Anforderungen, Richt- und Grenzwerte sowie zulässige Abweichungen. Die zu überwachenden hygienischen Angaben erstrecken sich auf:

- **mikrobiologische Parameter:** in 1 ml Wasser dürfen maximal 100 Keime nachgewiesen werden und in 100 ml Wasser dürfen entsprechend einer Grenzwertdefinition keine Escherichia coli, keine coliformen Bakterien und keine Enterokokken enthalten sein, (s. Anlage 1 TrinkwV 2001, Allgemeine Anforderungen an Wasser für den menschlichen Gebrauch)

und

- **chemische Parameter:** zulässige Grenzwerte chemischer Parameter im Verteilungsnetz einer Hausinstallation werden in Anlage 2 zur TrinkwV aufgeführt.

Die Überwachung erfolgt durch die Gesundheitsämter oder die von ihnen beauftragten Stellen. Untersuchungen führen zugelassene, für diese Untersuchung akkreditierte Laboratorien durch.

Hinweise:

- Die Verordnung lässt Abweichungen von der Norm zu, wenn z.B. geographische Besonderheiten eine veränderte Wasserqualität bedingen und die Abweichungen für die menschliche Gesundheit unbedenklich sind. In Notfällen sind befristete Abweichungen möglich. Deshalb ist es immer ratsam, sich vor Versuchsbeginn über die Wasserqualität informieren zu lassen.
- Die Qualität der Rohrleitungen im Gebäude ist zu beachten. Rohrleitungen können die Wasserqualität wesentlich beeinflussen, häufig im negativen Sinn. Bei alten Rohrleitungssystemen besteht die Gefahr der Einspeisung von Schwermetallen. Standzeiten des Wassers in den Rohrleitungen können daher Probleme bereiten. Vor Verwendung des Wassers aus diesen Leitungen ist ein Ablaufen lassen empfehlenswert (Zeitdauer entsprechend der Rohrleitungslänge abschätzen). Wird das Trinkwasser behandelt, um den hygienischen Status zu erhöhen, sind ebenfalls in Abhängigkeit vom angewandten Verfahren der Zustand und das Alter der Rohrleitungen zu beachten.
- In der Literatur gibt es Hinweise, dass die Wasserqualität ortsbedingt Unterschiede aufweisen kann (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, 1996; Newell, 1980). So sind z.B. im Trinkwasser aus Grundwasser mehr Mineralien zu erwarten als bei der Gewinnung von Trinkwasser aus Oberflächengewässern (Flüsse, Seen, Talsperren). Weiterhin bilden Rohrleitungen aus Metall eine potentielle Eintragsquelle für Mineralien, aber auch von organischen Chemikalien (Newell, 1980).
- Verschiedene Autoren geben in Abhängigkeit von der zu erreichenden Wasserqualität unterschiedliche Empfehlungen zur regelmäßigen Trinkwasseruntersuchung. Diese reichen von einer wöchentlichen Kontrolle des Wassers sowie der Wasserflaschen auf Coliforme und *Pseudomonas aeruginosa* (Thibert, 1980), bis hin zu einer Kontrolle der Wasserentnahmestellen ein- bis zweimal jährlich nach Kriterien der TrinkwV.

Vor Versuchsbeginn sollte sich die für die Tierhaltung verantwortliche Person von den örtlichen Wasserversorgungsunternehmen (Wasserwerken) die ortsübliche Wasserqualität dokumentieren lassen bzw. eine Untersuchung des Wassers an seinen Zapfstellen vornehmen.

2.2 Demineralisiertes Wasser/teilentsalztes Wasser („Weichwasser“)

Bei diesem Wasser handelt es sich nicht zwangsläufig um keimarmes Wasser. Hier wird der Mineralstoffgehalt des Wassers verändert, der u.U. eine nachträgliche Verkeimung eher begünstigt denn verhindert. Der Keimgehalt hängt vom hygienischen Zustand der Aufbereitungsanlage und der Standzeit des Wassers bis zur Nutzung als Tränkewasser ab. Eine weitere hygienische Aufbereitung (s. Punkte 2.3 und 2.4) ist je nach Einsatzzweck notwendig.

Die Demineralisierung/Teilentsalzung des Wassers kann andererseits auch eine wichtige Vorbehandlung für die nachfolgende Wasseraufbereitung sein, insbesondere bei sehr kalkhaltigem (sogenanntem harten) Wasser. In solch einem Fall empfiehlt sich die Demineralisierung vor dem Autoklavieren des Wassers bzw. vor dem Einsatz in automatischen Tränksystemen, um ein Verstopfen der Trinknippel zu verhindern.

Da demineralisiertes Wasser einen starken „Drang“ hat Mineralstoffe aufzunehmen, wirkt es hochaggressiv auf Metalle und Legierungen. Das ausgewählte Material für Leitungen und Armaturen muss den Vorschriften für demineralisiertes Wasser entsprechen. Teilentsalztes Wasser besitzt eine geringere Aggressivität in Abhängigkeit vom Grad der Entsalzung.

2.2.1 Umkehrosmose

Die Umkehrosmose ist ein Verfahren zur Demineralisierung von Wasser. Mittels Umkehrosmoseverfahren kann kein steriles Trinkwasser erzeugt werden. Es bleibt immer, auch bei optimaler Funktion der Anlage, ein geringer Keimgehalt. Es empfiehlt sich die konsequente Trennung von Primär- und Sekundärkreislauf, da ansonsten die Gefahr des Eintritts von verunreinigtem Wasser aus dem Primärkreislauf in den sauberen Sekundärkreislauf besteht. Bei Nichtbeachtung der technischen Grundlagen und Wartung der Anlage können die Dichtungsringe eine Schwachstelle der Umkehrosmoseanlage bilden. Probleme entstehen dann in der Verkeimung nachgeschalteter Leitungssysteme, entweder retrograd oder durch „Sickerwasser“ aus dem Primärkreislauf. Meist tritt zuerst eine Besiedlung mit Pseudomonaden auf, die einen Biofilm bilden, der wiederum eine gute Grundlage für pathogene Keime ist.

Hauptanwendungsgebiet der Umkehrosmose ist der Dialysebereich. Von der Verwendung der Umkehrosmose als alleinigem Verfahren zur hygienischen Wasseraufbereitung für Tränkezwecke in SPF-Haltungen wird eindeutig abgeraten. Man sollte die Umkehrosmose mit anderen Wasseraufbereitungsverfahren kombinieren, z.B. mit einer Ionen-Austausch-Anlage und einer Methode zur Erzeugung keimarmen oder keimfreien Wassers (s. 2.3, 2.4). Es entstehen Kosten für mehrere Aufbereitungsanlagen (Brandstetter, 1998a).

Fazit: Die Umkehrosmose ist technisch aufwendig und kann zur Demineralisierung des Wassers eingesetzt werden, liefert aber kein steriles Trinkwasser. Daher sollte der Einsatz des Verfahrens der Kombination mit weiteren Methoden vorbehalten bleiben, z.B. Erhitzung bzw. Ansäuerung.

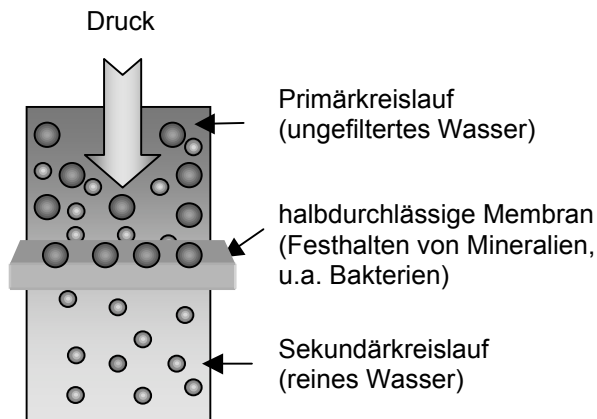


Abb. 1 Schematische Darstellung des Prinzips der Umkehrosmose

2.2.2 Ionenaustausch

Mittels Ionenaustauscher werden dem Trinkwasser verschiedene Mineralstoffe entzogen. In Abhängigkeit von den verwendeten Ionenaustauscher-Harzen können verschiedene Wasserqualitäten hergestellt werden, teilentsalztes Wasser („Weichwasser“) bis hin zu vollentsalztem Wasser (VE-Wasser/demineralisiertes Wasser).

Für die Enthärtung werden häufig Kationenaustauscher eingesetzt. Hierbei werden dem Trinkwasser Ca^+ - und Mg^+ -Ionen entzogen. Das Verfahren beruht auf einem Austausch von Ca^+ - und Mg^+ -Ionen gegen Na^+ -Ionen. Es entsteht sogenanntes „Weichwasser“ mit einem höheren Anteil an gebundenen Na^+ -Ionen als im Trinkwasser.

Der Vollentsalzung (Demineralisierung) liegt das gleiche Wirkprinzip zugrunde.

Die Entsalzung des Wassers erfolgt über Ionenaustauscher-Harze, die zwischen ionenselektive Membranen eingebettet sind. Diese Membranen wirken als anionenpermeable bzw. als kationenpermeable Membran. Diese Membranen wirken als Barriere gegenüber dem Hauptwasserstrom, ermöglichen aber die Passage der Ionen. Das heißt, die kationenpermeable Membran (meist H^+ als reaktive Gruppe) kann von Kationen, aber nicht von Anionen passiert werden. Entsprechend kann die anionenpermeable Membran (meist OH^- als reaktive Gruppe) von Anionen, aber nicht von Kationen durchdrungen werden. Dieser Prozess kann unter Einfluss eines elektrischen Feldes (z.B. auch bei der Wasseraufbereitung in speziellen Anlagen für den Laborbedarf) oder durch Anlegen eines Druckes erfolgen. Das eingespeiste Trinkwasser gibt dabei kontinuierlich Ionen ab, die sich in den Austauscher-Harzen bzw. in Konzentratkanälen ansammeln. Deren Kapazität bestimmt die Wirksamkeit der Anlage. Im Ergebnis des Austausches entsteht vollentsalztes Wasser (Millipore, ELIX, Wasseraufbereitungssysteme, 1996).

Fazit: Die Herstellung von teil- bzw. entsalztem Wasser ist mit zusätzlichen Kosten verbunden. In Tierhaltungen sind häufig derartige Wasserqualitäten vorhanden, da sie auch für andere Geräte benötigt werden (z.B. Käfigwaschanlagen, Autoklaven). Es würde dann für die Trinkwasseraufbereitung nur ein geringer Eigenkostenteil anfallen. Der Einsatz von demineralisiertem/teilentsalztem Wasser für Tränkezwecke hängt im Wesentlichen von der Qualität („Härte“) des Trinkwassers und den weiteren Verfahren zur hygienischen Aufbereitung (z.B. Erhitzung) und der Wasserverabreichung (z.B. automatische Tränke) ab. Mit diesem Verfahren wird nicht zwangsläufig steriles Trinkwasser erzeugt.

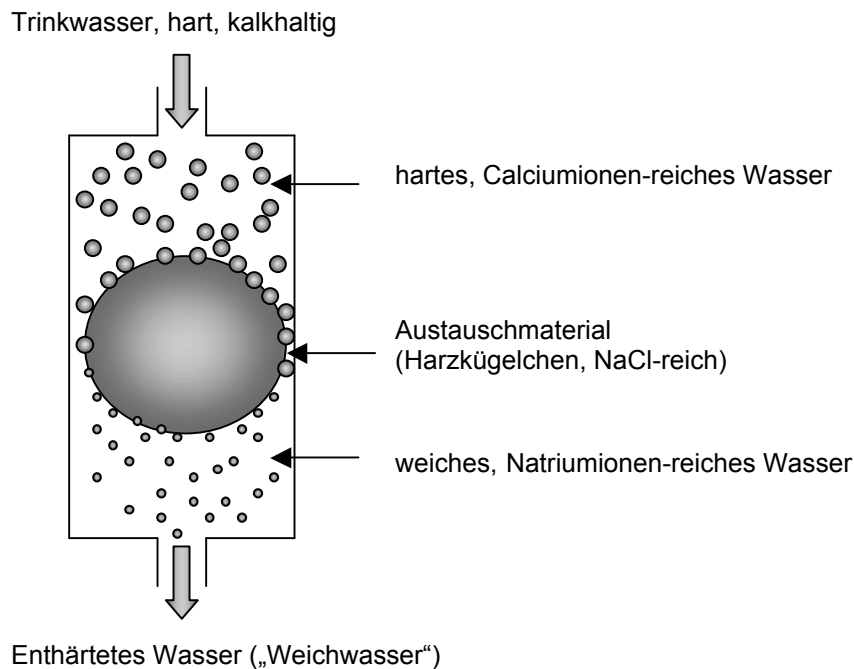


Abb. 2 Schematische Darstellung des Prinzips der Wasserenthärtung auf Ionenaustauschbasis

2.2.3 Destilliertes Wasser

Der Einsatz von destilliertem Wasser ist vor allem dort, wo autoklaviertes Wasser zum Trinken eingesetzt wird, gebräuchlich. Er bringt besonders bei sehr hartem Leitungswasser den technischen Vorteil, dass Vorratsgefäße und Tränkflaschen nicht „verkalken“. Es ist jedoch nicht zwingend keimarmes Wasser. Auch bei dieser Art der Wasseraufbereitung hängt der Keimgehalt von der Sauberkeit der Aufbereitungsanlage und der Standzeit des destillierten Wassers in Vorratsbehältern bis zur Nutzung als Trinkwasser ab. Eine weitere hygienische Aufbereitung entsprechend dem Einsatzzweck ist unumgänglich. Beim Einsatz in zentralen Tränkeinrichtungen müssen die Vorschriften für Leitungen und Armaturen in gleicher Weise, wie bei demineralisiertem Wasser beachtet werden. Auch bei lebenslanger Gabe von destilliertem Wasser wurden bei den Tieren, einschließlich deren Nachkommen, keine negativen Auswirkungen bzw. Mangelerscheinungen beobachtet. Der Mineralstoffbedarf wird hier offenbar ausreichend über das Futter abgedeckt, ebenso wie bei sehr mineralstoffarmem Leitungswasser. Der Einsatz von destilliertem Wasser ist mit erhöhten

Kosten verbunden und nur in speziellen Anwendungen, z.B. in der Isolatorhaltung, sinnvoll. Destilliertes und mittels Ionenaustauscher demineralisiertes Wasser sind als Tränkwasser für Versuchstiere gleichwertig (Lorenz, 2001).

Fazit: Destilliertes Wasser ist generell als Tränkwasser geeignet. Es ist gleichwertig mit mittels Ionenaustauscher demineralisiertem Wasser. Es ist kostenaufwendig und daher nur für spezielle Anwendungen zu empfehlen (s. auch 2.4.1 Hitzesterilisation). Mit diesem Verfahren wird nicht zwangsläufig steriles Trinkwasser erzeugt.

2.3 Keimarmes Wasser

Für Untersuchungen, bei denen die Keimbelastung des Trinkwassers (gem. 2.1) eine Störquelle sein könnte, andererseits der Einsatz von sterilisiertem Wasser zu kostenaufwendig und nicht erforderlich ist, bieten sich verschiedene Wasserbehandlungsmethoden an.

2.3.1 Chlorierung

Die Chlorierung des Trinkwassers ist eine einfache, preiswerte und erprobte Methode. Sie wird mit Abstand am häufigsten angewandt. Dabei werden über Dosierpumpenanlagen Chlorgas oder andere Chlorverbindungen (wie Natriumhypochlorit oder Chlorstärke mit hohem Reinheitsgrad) dem Wasser zugesetzt, wobei es zur Reaktion mit organischen Stoffen kommt (ein manueller Chlorzusatz ist ebenfalls möglich). Der dabei verbleibende Rest bzw. Überschuss von Chlorionen führt zur Desinfektion bis hin zur Sterilisation des Wassers. Chlor wirkt rasch keimtötend und hat durch seine allmähliche Bindung an in Wasser enthaltene Partikeln eine anhaltende Wirkung im Leitungsnetz. Eine zu starke Chlorierung kann zu Geruchsbelästigungen und Schleimhautreizungen bei Mensch und Tier führen (Thunert et al., 1975; Veröffentl. GV-SOLAS Nr. 5/6,1988).

In kommerziellen Zuchten wird häufig die Methode der Chlorierung zur Trinkwasseraufbereitung eingesetzt (meist in Kombination mit anderen Verfahren, z.B. Ansäuerung). Die Chlorierung kann mit Natriumhypochlorid erfolgen. Dabei besagen die Erfahrungen, dass bei einem pH-Wert von 5,0 das aktive Chlor wirksam wird. Die Konzentration an freiem Chlor soll 6-8 ppm betragen; in Kombination mit der Ansäuerung auf pH-Wert 5,0 kann dann bereits Wasser erhalten werden, das den Anforderungen an SPF-Haltungsbedingungen entspricht (Leblanc, 2002).

Für die Haltung von Mäusen werden mitunter 15-20 ppm Chlor empfohlen, obwohl Bywater et al. (1977) bereits ab 5 ppm Chlor im Trinkwasser die Tränkflaschen über 7 Tage bakterienfrei halten konnten. Homberger et al. (1993) erzielten mit 6-8 ppm aktivem Chlor die Freiheit von *Pseudomonas aeruginosa* in Mäusen (fäkaler Nachweis). Die Tränkflaschen wurden einmal wöchentlich gewechselt. Bei einem häufigeren Flaschenwechsel oder einem automatischen Tränksystem in Verbindung mit einer automatischen Chlorgasanlage könnte die Chlorkonzentration auch geringer sein. Zum Zeitpunkt des Flaschenwechsels sollte die Chlorkonzentration nie unter 2 ppm liegen.

Fazit: Die Chlorierung des Trinkwassers ist eine gut wirksame, erprobte und preiswerte Methode. Sie ist mit vertretbarem Aufwand einzusetzen. Die Kombination mit anderen Methoden zur Steigerung der keimabtötenden Wirkung ist zu überdenken (Ansäuern, Filtration).

2.3.2 Ansäuerung

Eine andere Möglichkeit der Wasserbehandlung ist die Ansäuerung, die ein keimarmes Trinkwasser liefert. Es wird keine Sterilität erreicht! Fast alle Keimarten wachsen bei einem pH-Wert von 2,0 bis 3,0 verlangsamt. Eine messbare Vermehrung setzt erst spät ein (nach etwa 3 bis 5 Tagen). Der Erfolg, vor allem gramnegative Keimarten (besonders *Pseudomonas aeruginosa*) an der Ausbreitung zu hindern, ist gut, obwohl auch diese Keime nicht abgetötet werden.

Das Trinkwasser kann mit verschiedenen Säuren versetzt werden (Schwefelsäure oder Salzsäure, Hall et al., 1980; Peressigsäure, Juhr et al., 1978), am gebräuchlichsten ist die Ansäuerung mit Salzsäure.

Der Einfluss der Ansäuerung auf die Versuchstiere wird unterschiedlich bewertet. Hall et al. (1980) fanden in Abhängigkeit von der eingesetzten Säure einen Effekt auf den Keimgehalt im Dünndarm. Die Ansäuerung auf den pH-Wert 2,0 mittels Schwefelsäure reduzierte die Anzahl der aus dem terminalen Ileum isolierten Bakterien im Vergleich zur Ansäuerung mit Salzsäure stärker. Allerdings zeigten Mäuse, die angesäuertes Wasser erhielten, generell eine signifikant geringere Gewichtsentwicklung nach 6 Behandlungswochen im Vergleich zu Mäusen mit normalem Trinkwasser.

Karle et al. (1980) fanden, dass eine Ansäuerung des Trinkwassers mit Salzsäure auf pH-Werte von 2,0 - 3,0 den Zahnschmelz der Versuchstiere angreift, obwohl der Speichel der Ratte normalerweise pH-Werte zwischen 8,0 - 9,0 aufweist und eine hohe Pufferkapazität besitzt.

Clausing et al. (1989) empfehlen, den pH-Wert nicht unter den Wert 3,0 abzusenken (Ratte), beim pH-Wert 2,0 konnten sie eine schwache Proteinurie mit verringertem Urinvolumen beobachten.

Andere Autoren konnten keine gesundheitliche Beeinträchtigung nach der Gabe von angesäuertem Wasser ausmachen (Tober-Meyer et al., 1981; Ratten, Kaninchen).

Ein weiteres zu beachtendes Problem bei diesem Wasserbehandlungsverfahren ist die Auswahl der einsetzbaren Materialien. Nachteilig ist, dass eine Vielzahl von Materialien nicht beständig gegenüber den Säuren ist und korrodiert, so z.B. Trinknippel und Käfige aus verzinktem Blech. Daher muss mit rostfreiem Stahl bzw. Kunststoffmaterial gearbeitet werden. Nicht verwendbar sind Kupfer, Messing und die meisten Aluminiumlegierungen, da sie korrodieren (Veröffentl. GV-SOLAS Nr. 5/6, 1988).

Finden Flaschen mit Stopfen Verwendung, kann der Mineralienaustrag aus den Stopfen bei deionisiertem und angesäuertem Wasser größer sein im Vergleich zum unbehandelten Wasser.

Kennedy et al. (1991) empfehlen Kunststoffstopfen aus rotem Vinyl oder Silikon, welche teurer sind als die üblichen schwarzen Stopfen. Von neuen Stopfen ist der Mineralaustrag deutlich höher als von gebrauchten, mehrfach gewaschenen.

Kombinationen aus Ansäuern und anderen Verfahren bringen eine gute Wasserdesinfektion. So kann das Wasser mittels Dosierpumpen zunächst mit Salzsäure auf pH-Wert 5,0 angesäuert, anschließend ebenfalls über Dosierpumpen mit Chlor (6-8 ppm aktives Chlor) angereichert werden. Eine (meist automatische) Nachregelung des pH-Wertes ist erforderlich. Es gibt Firmen, die diese Technik anbieten.

Fazit: Die Ansäuerung ist eine geeignete Methode, um keimreduziertes Wasser zu erhalten. Sie erfordert den Einsatz korrosionsbeständiger Materialien und ist daher in den Folgekosten aufwendig. In Kombination mit anderen Methoden (wie Chlorierung) ist eine Keimfreiheit des Wassers zu erreichen.

2.3.3 UV-Bestrahlung

Die UV-Desinfektion ist zur Desinfektion von Trinkwasser zugelassen. Bei diesem Verfahren erzeugen UV-Strahler das desinfizierende ultraviolette Licht im durchfließenden Wasser. Die notwendige gleichmäßige Bestrahlung kann durch einen Turbolator erreicht werden. UV-Licht im Wellenlängenbereich von 200-280 nm besitzt eine keimtötende Wirkung, wobei das Wirkungsmaximum bei 260 nm liegt. Bei dieser Wellenlänge liegt auch das Maximum der Lichtabsorption der Nukleinsäuren des Erbmaterials der Mikroorganismen, so dass deren DNA und RNA durch UV-Licht verändert werden. Dadurch kommt es zum Verlust der Vermehrungsfähigkeit der Mikroorganismen. Zur UV-Desinfektion bedarf es keiner langen Verweilzeiten, da diese Vorgänge in Sekundenbruchteilen ablaufen. Die Bestrahlungsdosis sollte am Ende der Strahlerlebensdauer mindestens 40 mJ/cm₂ betragen; damit wird eine Keimreduktion um 10⁵ erreicht. Durch die UV-Strahler erzeugtes UV-Licht sollte nicht unterhalb von 240 nm liegen, um eine Ozonerzeugung und die Bildung schädlicher Nebenprodukte im zu desinfizierenden Wasser zu verhindern (BWT-Info, 1998).

Die UV-Desinfektionsanlagen sind kompakt aufgebaute Edelstahl-Durchflussreaktoren mit einfacher Handhabung. Während einer Wasserstagnation sollten Gerätespülungen durchgeführt werden (möglichst automatisch). UV-Desinfektionsanlagen finden u.a. Einsatz in der Trinkwasserdesinfektion für kommunale und private Bereiche als auch in der Getränke-, Lebensmittel- und Pharmaindustrie (BWT-Info, 1998).

Publikationen aus den 70er und 80er Jahren gehen davon aus, dass eine erfolgreiche Sterilisation des Trinkwassers mit UV-Bestrahlung nicht zu bewerkstelligen ist (Thunert et al., 1975; Veröffentl. GV-SOLAS Nr. 5/6, 1988). Die Probleme werden in folgendem gesehen: die entkeimende Wirkung der Strahlen ist besonders von der Beschaffenheit des Wassers sowie von der Bestrahlungsdauer und

-intensität abhängig. Sind viele organische Stoffe und Salze im Wasser vorhanden, ist die Durchdringung der Strahlen nur gering. Keime, die in Schmutzteilchen eingebettet sind oder in Kolonien vorkommen, werden von den Strahlen nicht erreicht.

Fazit: Diese Methode empfiehlt sich zur Trinkwasserdesinfektion als umweltfreundliche Methode, die das Wasser auf keine Art und Weise verändert. Ob eine Sterilität erreicht wird, hängt von der Anlage und den aktuellen Bedingungen (Leitungsnetz, Trinkwasserqualität etc.) ab. Für SPF-Anlagen kann mit einer UV-Bestrahlung des Trinkwassers als alleinige Methode keine ausreichende Sicherheit gewährleistet werden.

2.3.4 Ozonbehandlung

Ozon ist eine besonders energiereiche Form des Sauerstoffs und wird direkt vor der Einspeisung in das Wasser produziert. Das Ozon (O_3) enthält ein Sauerstoffatom mehr als (normaler) Sauerstoff (O_2). Ozon wird als Desinfektions- und Oxidationsmittel eingesetzt, es wirkt bakterizid, viruzid und fungizid. Ozon oxidiert auch eingetragene organische und anorganische Verunreinigungen, ohne Bildung von störenden Reaktionsprodukten. Als Rückstand entsteht reiner Sauerstoff (O_2); (BWT-Info, 1998).

Zur Ozonbehandlung wird eine spezielle, meist mit hohen Anschaffungskosten verbundene Anlage benötigt. Das Prinzip der Anlagen besteht in der Ozonerzeugung aus Luft mittels Strom. Zum Einsatz müssen hochwertige Werkstoffe kommen, wie Gehäuse aus Edelstahl und Spezialglas (Bruchsicherheit). Die zugeführte Luft muss getrocknet werden, bei Bedarf auch über Absorber gereinigt werden (oder Einsatz von hochwirksamen, makroporösen Molekularsieben). Die Regeneration der Trockner beeinflusst die Lebensdauer der Ozonerzeuger. Die bei der Ozonerzeugung entstehende Wärme wird heruntergekühlt; durch indirekte Kühlung kann auch bei Glasbruch kein Wasser in den Hochspannungsraum eintreten.

Die erzeugte Ozonmenge lässt sich jederzeit dem Bedarf anpassen. Ozonproduktion und Transport erfolgen aus Sicherheitsgründen im Unterdruck (Vakuum). In speziellen Ozon-Wasser-Vermischungssystemen muss das Ozon mit dem zu behandelnden Wasser intensiv vermischt werden (Sichern der Ozonlöslichkeit und Vermeiden von Abgasverlusten, BWT-Info, 1998). Man kann das Ozon dem Wasser auch über sogenannte Impfstellen zuführen (Bieniek et al., 1981). Ein Maß für die Abtötungsgeschwindigkeit als auch für die Lebensfähigkeit der Keime im Wasser ist der Redoxwert; mit steigendem Redoxpotential steigt der Keimtötungseffekt. Bei Bieniek et al. (1981) schwankten die Redoxwerte zwischen 580 – 780 zur Erhaltung bakteriologisch keimfreien Wassers. Nach seinen Erfahrungen kann ozonhaltiges Wasser die Leitungssysteme bis zu den Tränknippeln desinfizieren. Trotz dieser Möglichkeiten empfehlen Bieniek et al. (1981) die Kombination mit einer weiteren Wasseraufbereitungsmethode (z.B. Ansäuern).

Restozon muss aus dem Wasser eliminiert werden, entweder durch Restozonumwandler (Aktivkohle oder Katalysatoren) oder auch durch UV-Bestrahlung (Thunert et al., 1975; Bieniek, et al., 1981; BWT-Info, 1998).

Fazit: Aufgrund der hohen Kosten für kleinere Tierhaltungen nicht zu empfehlen. Einsatz in Kombination mit anderen Methoden ist zu empfehlen.

2.4 Keimfreies Wasser

Die Versorgung gnotobiotischer und keimfreier Tiere darf nur mit keimfreiem Wasser erfolgen. Für spezifiziert pathogen freie Tiere ist ebenfalls der Einsatz keimfreien Wassers zu empfehlen. Zur Wassersterilisation sind Methoden anzuwenden, die eine nachgewiesene Sterilität des Wassers erzeugen.

2.4.1 Hitzesterilisation

Für die Sterilisation von Trinkwasser im Autoklaven sind folgende Punkte zu beachten:

- Die Sterilisation des Trinkwassers kann in den Tränkflaschen erfolgen.
- Je nach Art der verwendeten Tränkekappen (Größe der Öffnung) kann es, wenn die Flaschen mit aufgesetzten Tränkekappen autoklaviert werden, durch die bei der Sterilisation herrschenden Druckverhältnisse zum Abspringen der Kappen oder Beschädigung der Tränkflaschen kommen. Es wird deshalb empfohlen, das Wasser in den Flaschen ohne Tränkekappen zu autoklavieren und die ebenfalls sterilisierten Kappen erst nach der Sterilisation aufzusetzen.
- Ein Teil der im Trinkwasser gelösten Salze fällt bei der Erhitzung aus (Carbonate). Die ausgefallenen „Kalkflocken“ können die Öffnungen in den Tränkekappen verstopfen. Das Trinkwasser sollte deshalb vor der Sterilisation enthärtet werden; gut geeignet sind auch demineralisiertes oder destilliertes Wasser. Eine Ausnahme bildet natürlicher Weise sehr weiches Wasser.
- Das Material der verwendeten Tränkflaschen kann die Sterilisationstemperatur beeinflussen. Makrolonflaschen können nach Herstellerangabe bei maximal 120-125°C autoklaviert werden. Da das Erreichen der Sterilität von Druck, Zeit und Temperatur abhängig ist, kann durch Variation der Parameter auch bei Temperaturen unter 121°C steriles Material erhalten werden. Erfahrungen zeigen, dass der Verschleiß von Makrolon bei niedrigeren Temperaturen deutlich reduziert werden kann. Makrolonflaschen werden deshalb häufig bei Temperaturen von nur 116-118°C und dafür längeren Einwirkzeiten autoklaviert. Gute Erfahrungen für die Sterilisation von Trinkwasser in Makrolonflaschen wurden mit 116°C und einer Einwirkzeit von 40 Minuten sowie 118°C und einer Einwirkzeit von 20 Minuten gemacht. Diese Angaben beziehen sich auf einen bestimmten Gerätetyp (MMM Vivilab 14L14) und sind für jedes andere Gerät zu überprüfen (s. auch GV-SOLAS, Ausschuss für Ernährung der Versuchstiere, Gelbes Heft „Hygienische Behandlungsverfahren für Futtermittel, Dampfsterilisation von Futter im Autoklaven“, 1998).

- Bei einer Sterilisation von Trinkwasser in Flaschen muss in Abhängigkeit von der Gesamtmenge Flüssigkeit im Autoklaven die relativ lange Aufheizzeit und vor allem der lang andauernde Kühlvorgang nach erfolgter Sterilisation berücksichtigt werden. Größere Wassermengen (200 Liter und mehr) werden daher am besten über Nacht autoklaviert. Die Gesamtprogrammdauer hängt natürlich auch von den Gerätespezifikationen des jeweiligen Dampfsterilisators selbst und den Dampf- und Kühlkapazitäten im Hause ab. Vor Entnahme des sterilisierten Gutes aus dem Dampfsterilisator ist unbedingt auf eine ausreichende Abkühlung des Systems zu achten. Die Autoklaven-Innenraumtemperatur muss unter 80°C liegen, bevor das System geöffnet werden kann, sonst kann ein Siedeverzug auftreten (Brandstetter, 1998b).

Fazit: Diese Art der Wasserbehandlung empfiehlt sich bei Tierhaltungen in Isolatoren, zumal dafür generell ein Autoklav benötigt wird. Aufgrund der langen Zeitdauer des Sterilisationsvorganges ist diese Methode nur für begrenzte Flüssigkeitsmengen einsetzbar und ungeeignet für automatische Tränksysteme.

2.4.2 Sterilfiltration

Für die Filtergeräte werden kleinstporige Filter benutzt. Zum Erreichen von Sterilität wird ein Filterporendurchmesser von 0,2 µm benötigt (Thunert et al., 1983; Brandstetter, 1998c).

Um eine rasche Verschmutzung der Filter zu verhindern, ist ein Vorfiltersystem empfehlenswert. In Abhängigkeit von der Wasserqualität werden mehrere Stufen vorgeschaltet. Dadurch können die meisten Partikel (anorganische, wie organische, insbes. Bakterien) bis zu einer Größe von 2 µm abgetrennt werden, ohne die Sterilfilter zu belasten (z.B. Pall- oder Hoschfilter). Zusätzlich ist der Einsatz von über Ionenaustauscher enthärtetem oder vollentsalztem Wasser möglich (s. 2.2.2). Neuere Filtersysteme können direkt an der Wasserentnahmestelle montiert werden und verhindern durch spezielle Technologien ein Durchwachsen der Keime durch die Filtermembran (Warncke, 1998).

Die Filter sind nur dann wirksam, wenn sie sorgfältig und richtig gewartet werden. Geschieht das nicht, richten sie eher Schaden an, da sie dann zu einem Keimreservoir werden (Herstellerangaben beachten).

Voraussetzung für die erfolgreiche Anwendung von Filtergeräten ist ein sicheres Sterilisieren der Filter sowie der hinter dem Filter befindlichen Rohrsysteme. Diese sollten möglichst kurz gehalten werden. Bei kontinuierlichem Gebrauch sollen die Filter mindestens zweimal wöchentlich sterilisiert werden. Bei einer nicht kontinuierlichen Wasserabnahme sollte der Filter vor jeder Benutzung sterilisiert werden (im Autoklaven). Je nach Filtertyp können diese zwischen 3- und 30-mal autoklaviert werden, danach muss der Filter auf seine Funktion hin jedes Mal getestet werden (spezielle Tests verfügbar, Durchführung der Filtersterilisation und Tests nach Herstellerangaben). Für einen diskontinuierlichen Einsatz ohne ständige Kontrolle sind Filter nicht geeignet.

Neben einer Kontrolle der Filter ist in Abständen (wöchentlich bis 14tägig) eine Untersuchung des Trinkwassers auf Keimfreiheit zu empfehlen (Raynor et al., 1982).

Aufgrund der feinporigen Filter muss das Wasser mit entsprechendem Druck die Filteranlage passieren. Alle Filter haben einen sich verstärkenden Druckabfall im Leitungsnetz zur Folge (Thunert, 1975). Für das Erreichen eines ausreichend hohen Wasserdrucks ist eventuell (abhängig vom vorhandenen Druck im Trinkwassernetz) eine zusätzliche Druckerhöhungsanlage erforderlich (Brandstetter, 1998c).

Fazit: Die Sterilfiltration ist nur dann sinnvoll und wirksam, wenn sich die Filter am Ende des Leitungssystems befinden. Eine derartige Anlage ist wartungsintensiv, bei regelmäßiger Wartung aber sicher und kostengünstig.

2.4.3 Kombinierte Demineralisations-/Dekontaminationsverfahren

Die Kombination von Wasserenthärtung (Ionenaustauscher/Umkehrosmose), anschließender Sterilisation durch Erhitzen auf 134°C und nachfolgender Ansäuerung mit HCl auf pH-Wert 2,7 ist eine effiziente Methode für größere Anlagen. Allerdings erfordert diese Art der Wasseraufbereitung einen hohen technischen Aufwand (Tanks und Dosieranlagen), das Vermeiden von zu langen Standzeiten in den Rohrleitungen (z.B. automatisches Durchspülen nachts) sowie eine regelmäßige Kontrolle der Parameter.

Ohne Entsalzungseffekt hat sich die Kombination Erhitzung des Trinkwassers (auf ca. 80 - 95°C) gekoppelt mit der anschließenden Ansäuerung (pH-Wert 2,5 - 3,0) bei der Aufrechterhaltung des SPF-Status über mehrere Jahre bewährt (Thunert et al., 1975).

Fazit: Die Kombination von Verfahren ist für größere Tierhaltungen in Abhängigkeit von den verfügbaren Mitteln (technisch und finanziell) sowie in Abhängigkeit von der benötigten Wasserqualität zu wählen.

3 Art und Weise der Wasserverabreichung

Wasser wird entweder über einzeln zu bedienende Tränkgefäße oder über automatische Tränksysteme verabreicht. Neben der technischen Adaptation der Gefäße an das Haltungssystem gilt als einzige Bedingung, dass die Tiere freien Zugang zur Tränkeinrichtung haben. Muss versuchsbedingt der Wasserverbrauch registriert werden, sind graduierte Tränkgefäße einzusetzen.

3.1 Tränkgefäße

Als Tränkgefäße, die häufig noch per Hand einzeln zu füllen sind, können Eimer und Schalen (für größere Versuchstiere wie Schaf, Ziege, Schwein, Hund, Katze) oder Flaschen verwendet werden.

Tränkflaschen eignen sich nahezu für alle Versuchstiere (bis zu ca. 3 kg Körpergewicht), Unterschiede gibt es bei der Gestaltung der Trinknippel.

Für Ratten, Meerschweinchen und Mäuse werden Tränkflaschen mit kurzen und/oder langen Nippeln verwendet. Die langen Nippel haben den Vorteil, dass auch frisch abgesetzte Tiere das Wasser erreichen können. Die kurzen Nippel sind für größere Tiere (Ratten) geeigneter, da sie von den Tieren nicht so oft unbeabsichtigt berührt werden (Wasserverlust). Der Füllzustand der Tränkflaschen muss regelmäßig kontrolliert werden. Der Experimentator erhält dadurch Informationen über das Trinkverhalten (Wohlbefinden der Tiere) bzw. über die Funktion der Tränkflaschen. Wenn sie nicht richtig verschlossen sind, aber auch bei Druckschwankungen im Tierraum, ist es möglich, dass das Wasser ausläuft. Nasse junge Mäuse unterkühlen dann sehr schnell, erkranken und verenden. Es kann aber auch vorkommen, dass Tiere vor einer vollen Tränkflasche verdursten. Neue Trinknippel können scharfe Kanten aufweisen, welche die Tiere am Trinken hindern, oder das Wasser fließt nicht, weil die Nippel nicht richtig entfettet wurden. Einstreumaterial und Futterreste können die Wasseröffnung verstopfen. Ist in einer vollen Flasche keine Luftblase vorhanden, so haben kleinere Mäuse Schwierigkeiten, Wasser aus der Flasche aufzunehmen.

Ein Wechsel inklusive Reinigung von Flaschen und Tränkekappen ist mindestens 1x wöchentlich zu empfehlen (Veröffentl. GV-SOLAS Nr. 5/6,1988).

3.2 Automatische Tränksysteme

Automatische Selbsttränken können für alle Versuchstierarten eingesetzt werden. Je nach Tierart bieten sich Schalen- oder Nippeltränken an.

Die Tränkenippel sind regelmäßig auf ihre Funktionsfähigkeit manuell zu prüfen. Ständig tropfende Tränkenippel können über Nacht die Kunststoffkäfige mit Wasser volllaufen lassen und zum Tod der Tiere durch Ertrinken führen. Eine Reinigung der Nippel eines automatischen Tränksystems im laufenden Betrieb ist kaum möglich. Hierzu muss die generelle Reinigung von Raum oder Regal abgewartet werden (Veröffentl. GV-SOLAS Nr. 5/6,1988).

3.3 Feuchtfutter

In besonderen Situationen hat sich die Gabe von Feuchtfutter bewährt. Beispielsweise kann frisch abgesetzten Mäusen die Wasseraufnahme erleichtert werden, wenn zusätzlich Feuchtfutter (eingeweichte Pellets) gegeben wird, z.B. in einer Petrischale oder direkt in die Käfigeinstreu. Zu beachten ist die Möglichkeit der Schimmelbildung bei nicht rechtzeitiger Entfernung der Futterreste. Ebenso empfiehlt sich die Zugabe von feuchten Materialien, wenn Tiere über mehrere Stunden transportiert werden. Die einfachste Methode ist, Versuchstierfutter (keimarme/keimfreie Pellets) über Nacht in einem Gefäß einzuweichen und anschließend dem Transportbehälter beizulegen. Einige Züchter verwenden in Plastikhüllen sterilisiertes Feuchtfutter (wurstähnliche Form) bzw. in Plastik eingeschweißte Gelatine, die auch als "Solid Drink" kommerziell angeboten wird. Diese Plastikhülle ist unbedingt beim Einsatz anzureißen, um den Tieren den Zugang zu ermöglichen.

Von der Verwendung roher Kartoffeln, Möhren, Äpfeln für SPF-Tiere ist abzuraten. Eine Alternative bildet die Gabe von in Konservengläsern sterilisierten Kartoffeln (Hagelschuer, 1998).

Selbst zubereitete Gelatine (Wasser + Gelatine, quellen lassen, Erhitzen bis 70°C und anschließendes Abkühlen) ist ebenfalls gut geeignet, Tiere während längerer Transporte zu versorgen (Thomae, 2001).

4 Empfehlungen des Ausschusses

Für die Versorgung konventioneller Tiere reicht meist die gemäß Trinkwasserverordnung festgelegte Qualität des aus Wasserversorgungsanlagen gelieferten Trinkwassers. Für die Haltung von SPF-Tieren in einer Zucht bzw. für bestimmte Experimente (z.B. Messungen des Mineralstoffeintrags) ist eine Behandlung des Trinkwassers zur Demineralisierung und/oder Keimreduzierung/Keimfreiheit erforderlich.

Für gnotobiotische und keimfreie Tiere muss das Wasser keimfrei sein.

Bei allen Verfahren zur Wasserbehandlung muss auf eine regelmäßige Säuberung bzw. Erneuerung der Tränkgefäße geachtet werden, da diese durch die Mundflora der Tiere, welche bei der Wasseraufnahme in Kontakt mit dem Tränkgefäß kommt, verkeimen!

In Abhängigkeit von der vorhandenen Technik (z.B. Rohrleitungen) und den finanziellen Mitteln sind folgende Methoden zu empfehlen:

Zur Erzielung von Keimarmut des Wassers:

1. Chlorierung (kostengünstigste Methode)
2. Ansäuerung auf pH-Wert 2,5 – 3,0 (teurer, da nur bestimmte Materialien säurebeständig sind)
3. Kombination mehrerer Methoden (oft sehr aufwendig)

Zur Erzielung von Keimfreiheit des Wassers:

1. Hitzebehandlung (sicherste Methode, setzt aber einen Dampfsterilisator voraus)
2. Filtration

Zur Demineralisierung von Wasser:

Ionenaustausch

Zu empfehlen ist vor Einrichtung der eigenen Wasserversorgung, sich Anlagen zur Wasseraufbereitung in anderen Versuchstierhaltungen anzusehen, um Herstellerangaben und praktische Tipps zu erhalten. Aufgrund der Kenntnis der Methoden sollte die Wasseraufbereitung mit dem Hersteller auf die individuellen Bedürfnisse zugeschnitten werden.

Literaturverzeichnis

Bienieck, H.J.; Remmers, Ch.; Ozonierung des Tränkwassers für das Versuchstier. GIT Fachz. Lab. 25, 383-386, 1981

Brandstetter, H.; persönliche Mitteilung über „Umkehrosroseverfahren zur Aufbereitung von Trinkwasser für Tiere“ - nach Herstellerbefragung, 1998a

Brandstetter, H.; persönliche Mitteilung über „Sterilisation von Trinkwasser für kleine Nager im Dampfsterilisator“, 1998b

Brandstetter, H.; persönliche Mitteilung über „Filtration zur Aufbereitung von Trinkwasser für Tiere“, Informationen der Firma Millipore, 1998c

BWT-Information unter www.bwt.de, 1998

Bywater, J.E.; Kellett, B.S.; Inhibition of bacteria in mouse drinking water by chlorination. Laboratory Animals 11, 215-217, 1977

Clausing, P.; Gottschalk, M.; Effects of drinking water acidification restriction of water supply and individual caging on parameters of toxicological studies in rats. Zeitschrift für Versuchstierkunde 32, 129-134, 1989

Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. National Academy Press, Washington D.C., 1996

GV-SOLAS, Ausschuss für Ernährung der Versuchstiere, Gelbes Heft „Hygienische Behandlungsverfahren für Futtermittel, Dampfsterilisation von Futter im Autoklaven“, 1998

Hagelschuer, I.; persönliche Mitteilung über „Eigene Erfahrungen bei Versand und Empfang von Nagern über längere Transportzeiten“, 1998

Hall, J.E.; White, W.J.; Lang, C.M.; Acidification of drinking water: ist effects on selected biologic phenomena in male mice. Laboratory Animal Science 30, 643-651, 1980

Homberger, F.R.; Pataki, Z.; Thomann, P.E.; Control of Pseudomonas aeruginosa infection in mice by chlorine treatment of drinking water. Laboratory Animal Science 43, 635-637, 1993

Juhr, N.C.; Klomburg, S.; Haas, A.; Drinking water sterilization with peracetic-acid. Zeitschrift für Versuchstierkunde 20, 65-72, 1978

Karle, E.J.; Gehring, F.; Deerberg, F.; Trinkwasseransäuerung und ihre schmelzschädigende Wirkung auf Rattenzähne. Zeitschrift für Versuchstierkunde 22, 80-88, 1980

Kennedy, B.W.; Beal, T.S.; Minerals leached into drinking water from rubber stoppers. Laboratory Animal Science 41, 233-236, 1991

Leblanc, R.; Chlorination of Water, Poster No. 33, 8th felasa Symposium 2002, 17.-20.06.2002, Aachen

Lorenz, A.; persönliche Mitteilung, 2001

Millipore, Elix, Wasseraufbereitungssysteme, 1996

Newell, G.W.; The quality, treatment and monitoring of water for laboratory rodents. Laboratory Animal Science 30, 377-384, 1980

ProMinent Dosiertchnik GmbH, www.prominent.de, 2001

Raynor, T.; White ,E.; Cheplen, M.; Sherrill, M.; Hamm T. JR.; An evaluation of a room specific water purification system for use in animal facilities. Laboratory Animal Science 32, 416-417, 1982

Thibert, P.; Control of microbial contamination in the use of laboratory rodents. *Laboratory Animal Science* 30, 339-351, 1980

Thomae, H.-J., persönliche Mitteilung über „Eigene Erfahrungen bei der Versorgung von Versuchstieren beim Versand“, 2001

Thunert, A, Zur Trinkwasserversorgung von SPF-Tierhaltungen. I. Methoden zur hygienischen Verbesserung des Trinkwassers. II. Über die Eignung verschiedener Filtersysteme für die Wasserentkeimung. Eigene Untersuchungen und Beobachtungen. *Zeitschrift für Versuchstierkunde* 17, 41-49, 1975

Thunert, A.; Heine, W., Zur Trinkwasserversorgung von SPF-Tieranlagen. III. Erhitzung und Ansäuerung von Trinkwasser. *Zeitschrift für Versuchstierkunde* 17, 50-52, 1975

Thunert, A.; Sickel, E.; Breeding and maintenance of nu-nu mice without loss. *Zeitschrift für Versuchstierkunde* 25, 73-77, 1983

Tober-Meyer, B.; Bienek, H.J.; Kupke, I.R.; Studies on the hygiene of drinking water for laboratory animals. 2. Clinical and biochemical studies in rats and rabbits during long-term provision of acidified drinking water. *Laboratory Animal* 15, 111-117, 1981

Trinkwasserverordnung – TrinkwV vom 21.05.2001, BGBl. I Nr. 24 vom 28.05.2001, 959

Veröffentlichung der Gesellschaft für Versuchstierkunde Nr.5/6; Hygiene-Empfehlungen für Versuchstierbereiche, deutsche Ausgabe, 2. überarb. Auflage, 1988

Warncke, G.; persönliche Mitteilung über „Pall Aqua safe, Einwandfreie Wasserhygiene in kritischen Krankenhausbereichen