

Mikrobiologische Belastung des Trinkwassers

In Trinkwasserfassungen ländlicher Regionen

Charge microbologique de l'eau potable

Dans les captages des régions rurales
Dans les régions rurales, l'eau captée est très peu traitée, voire pas du tout. Or, c'est précisément dans ces régions que les risques de contamination liés au purin et aux déjections fécales des animaux de pâture sont les plus aigus. Les virus à haute résistance environnementale et les oocystes de *Cryptosporidium* sont les principaux facteurs de risques pour l'hygiène de l'eau potable. Sur seize captages ruraux, 10 contaminations par *Cryptosporidium* ont été mises en évidence. De plus, l'analyse des entérovirus et des norovirus a donné des résultats positifs pour environ 10 % des échantillons. Il reste à déterminer dans quelle mesure les virus et *Cryptosporidium* représentent un danger pour la santé humaine.

Microbiological Contamination of Drinking Water

In Rural Supply Wells

Drinking water from rural supply wells is normally not, or only minimally treated. Though, exactly this water may be contaminated by manure or fecal contamination of pasturing animals. Particularly oocysts of *Cryptosporidia* and viruses, which are resistant in the environment, may cause hygienic problems in drinking water. In ten of sixteen analyzed rural supply wells, oocysts of *Cryptosporidium* spp. were detected, and entero- or noroviruses were found in 10 % of the water samples. It has to be clarified whether viruses or *Cryptosporidia* endanger human health.

Hans Peter Füchslin



Trinkwasser aus Fassungen in ländlichen Regionen wird in der Regel nicht oder nur minimal aufbereitet. Gerade dieses Wasser aber kann durch Gülle oder fäkale Ausscheidungen von Weidetieren verunreinigt sein. Dabei könnten vor allem die in der Umwelt resistenten Viren und die Dauerformen von Kryptosporidien ein Problem für die Trinkwasserhygiene darstellen. In zehn von sechzehn untersuchten Trinkwasserfassungen ländlicher Regionen konnten tatsächlich Kryptosporidien nachgewiesen werden und etwa 10% der Wasserproben wurden positiv auf Entero- oder Noroviren getestet. Es bleibt abzuklären, ob diese Viren oder Kryptosporidien eine Gefahr für den Menschen darstellen.

1. Einleitung

Die gemäss der Hygieneverordnung vorgeschriebenen Trinkwasserkontrollen beschränken sich auf den Nachweis von *E. coli* und Enterokokken sowie auf die Bestimmung der Gesamtkeimzahl. Resistente pathogene Keime wie Viren oder Kryptosporidien bleiben deshalb unerkant. Während *E. coli* relativ rasch in der Umwelt abstirbt, können Viren und die Dauerformen von Kryptosporidien während Wochen bis Monaten in der Umwelt überdauern. Ausserdem sind Viren und Kryptosporidien, im Gegensatz zu *E. coli*, wesentlich resistenter gegenüber gechlortem Trinkwasser. Besonders gefährdet sind kleine Trinkwasserversorgungen im ländlichen Raum (Abb. 1a und 1b). Ihre Trinkwasserfassungen sind oft-



1a



1b

Abb. 1 Die Vorschriften für Schutzzonen werden nicht immer eingehalten, so wurde Gülle bis an die Trinkwasserfassung ausgetragen (a). Das Bild von oben verdeutlicht wie grossflächig die Gülle ausgetragen wurde (b).

mals von Landwirtschaftszonen umgeben. Entsprechend kann Sickerwasser in Kontakt mit Gülle oder Ausscheidungen von Weidetieren kommen. In Gebirgsregionen können Steilhänge zu raschem Abfließen und verminderter Filterleistung des Bodens führen. Zudem können lockere Kluft- oder Karstaquifere Verunreinigungen kaum zurückhalten. Gerade aber in diesen gefährdeten kleinen Trinkwasserfassungen wird das gefasste Rohwasser minimal oder überhaupt nicht aufbereitet. Um die mögliche Gefährdung abzuschätzen, wurde eine Messkampagne in 16 ausgewählten, mehrheitlich kleineren Trinkwasserfassungen in ländlichen Regionen durchgeführt. Das Trinkwasser wurde nicht nur den im Lebensmittelgesetz vorgeschriebenen mikrobiologischen Analysen unterzogen, sondern zusätzlich auf Oozysten, Dauerformen von Kryptosporidien, und Entero-, Noro- und Rotaviren untersucht.

2. Durchführung der Messungen

2.1 Auswahl der Probeentnahmestellen

Es wurden bei 16 kleinen Trinkwasserversorgungen (< 700 zu versor-

gende Konsumenten) im ländlichen Raum verschiedene Wasserproben von der Quelle, dem Reservoir, dem Leitungsnetz wie auch von Bächen im Einzugsgebiet entnommen. Die Messkampagne wurde zwischen Mai und November 2003 durchgeführt. Nur eine Wasserprobe pro Standort wurde auf Kryptosporidien untersucht, währenddessen alle Wasserproben auf Viren analysiert wurden. Die ausgewählten Trinkwasserversorgungen entsprechen nicht einem Durchschnitt, sondern sind Standorte, bei deren Quellen oder Grundwasserfassungen mit fäkalischen Verunreinigungen aus Weidezonen oder mit Gülle gedüngten Landwirtschaftsflächen zu rechnen waren. Einzelne Trinkwasserversorgungen standen kurz vor einer Sanierung. Es wurde jeweils nur der Kanton angegeben, in der die Trinkwasserfassung liegt.

2.2 Probenahme

Die mikrobiologischen Proben wurden in sterile 500 ml Plastikflaschen abgefüllt, die Natriumthiosulfat enthielten. Die Proben wurden innerhalb von maximal acht Stunden lichtgeschützt und gekühlt (12 °C) ins Labor transportiert. Dort wur-

den sie im Kühlschrank bei 4 °C eingelagert. Wenn nicht speziell erwähnt, wurden sie innerhalb von 24 Stunden analysiert.

2.3 Nachweis von *Escherichia coli* und *Clostridium perfringens*

Hundert Milliliter Probenwasser wurden durch einen 0,45 µm Membranfilter von Millipore geleitet. Der Nachweis erfolgte im Falle von *E. coli* gemäss Lebensmittelbuch [1] und im Falle von *Cl. perfringens* gemäss EU-Trinkwasser-Richtlinie [2].

2.4 Nachweis von Kryptosporidien

Kryptosporidien wurden mit der von der amerikanischen Umweltbehörde (EPA) und der vom britischen Trinkwasserinspektorat (DWI) empfohlenen Methode 1623 nachgewiesen. Bei den Probenahmen wurde eine Menge von 100 bis 1000 Liter Wasser durch einen Filter mit 1 µm Porengrösse geleitet. Im Labor wurden die Partikel vom Filter gelöst und die Kryptosporidien mit Hilfe immunomagnetischer Methoden von den anderen Partikeln abgetrennt. Die mit spezifischen Oberflächenantikörpern angefärbten Kryptosporidien wurden schliesslich unter dem Fluoreszenzmikroskop ausgezählt (Abb. 2b). Die Verluste durch nicht vollständige Wiederfindungsraten wurden nicht korrigiert. Unter Annahme der für diese Methoden publizierten Wiederfindungsraten von 43 bis 95% müsste man die gemessenen Konzentrationen im schlechtesten Falle mit dem Faktor 2,35 und im besten Falle mit dem Faktor 1,05 multiplizieren.

2.5 Nachweis von Viren

Virenpartikel in Wasserproben wurden mittels Vakuumfiltration an eine Membran adsorbiert. Anschliessend wurden die Viren auf der Membran aufgebrochen und deren Erbsubstanz (virale RNA) isoliert (extrahiert). Damit die geringsten Erbsubstanz-Mengen nachgewiesen werden konnten, wurde die RNA durch zwei aufeinander folgende enzymatische Verfahren umgewandelt, vervielfältigt und mit Fluoreszenzfarbstoffen detektiert. Zuerst wurde die virale RNA durch Reverse Transkription (RT) in eine stabilere Form (cDNA) umgewandelt. Diese cDNA wurde anschliessend mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) spezifisch vervielfältigt (amplifiziert). Mit den eingesetzten Primern konnten ausschliesslich humanpathogene Viren nachgewiesen werden. Die nun grössere Menge an cDNA wurde anschliessend mit spezifischen Farbstoffen markiert und mittels Fluoreszenz

sichtbar gemacht. Durch das Mitführen von positiven und negativen Kontrollen konnte die Anwesenheit von viraler RNA in der Wasserprobe bestätigt werden. Für weitere Informationen wird auf die Publikation von Beuret und Baumgartner verwiesen [3].

3. Kryptosporidien

Kryptosporidien sind protozoische Darmparasiten, welche Oozysten als Dauerformen bilden. Sie gehören neben den Giardien zu den wichtigsten pathogenen Protozoen im Trinkwasser. Infektionen des Menschen mit Kryptosporidien wurden erstmals 1976 dokumentiert [4] und wasserbedingte Kryptosporidiosen sind erst seit 1984 bekannt. Seither sind mehrere Epidemien in USA, Grossbritannien und Japan aufgetreten [5], von denen der grösste Ausbruch derjenige von 1993 in Milwaukee (Wisconsin, USA) mit geschätzten 15000–400000 Erkrankten ist [6, 7]. Die Gattung der Kryptosporidien wird in 13 Arten unterteilt, wovon *Cryptosporidium parvum* und *Cryptosporidium hominis* die weitverbreitetsten für den Menschen pathogene Arten darstellen. Das Wirtsspektrum von *C. parvum* umfasst vermutlich alle Säugetiere [8], so dass von einer Zoonose gesprochen wird. Die mit dem Fäzes ausgeschiedenen Oozysten können in kühlem Wasser über Monate lebensfähig bleiben [9]. Am Beginn einer Erkrankung an Kryptosporidiose steht die Aufnahme von Oozysten, die eine Grösse von 5 µm haben (Abb. 2a und 2b). Erfahrungsgemäss muss bei einer Oozystenkonzentration von 0,1–0,3 Oozysten/ℓ mit dem Auftreten von epidemischen Krankheitsfällen gerechnet werden [10]. Nach einer Inkubationszeit von zwei bis zwölf Tagen führen bei immunokompetenten Personen die Oozysten der Kryptosporidien zu wässrigen Durchfällen mit Bauchkrämpfen, meist aber ohne Symptome wie Fieber, Krankheitsgefühl, Übelkeit oder Erbrechen. Der Verlauf ist variabel und wechselnd, die Krankheit heilt in der Regel aber innert weniger als 30 Tagen aus. Bei Personen mit geschwächtem Immunsystem, speziell bei solchen mit HIV-Infektionen, nimmt die Infektion einen chronischen oder fulminanten Verlauf und kann in Einzelfällen zum Tode führen. Es gibt momentan keine spezifischen Medikamente gegen Kryptosporidien für den Menschen [11]. Durch UV-Behandlung, Ozonisierung in hohen Konzentrationen, Abkochen (mind. 1 Min.) oder Filtern (mit einer maximalen Porengrösse von

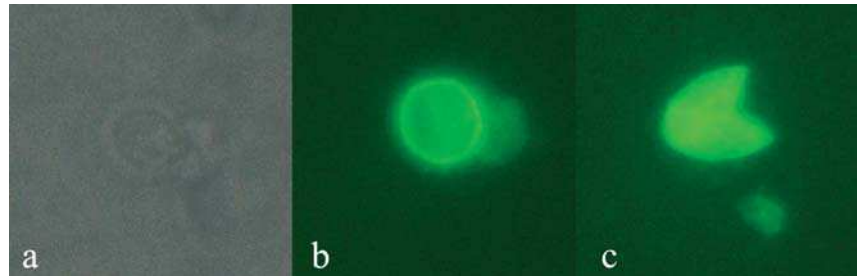


Abb. 2 Unter dem Durchsichtsmikroskop ist eine Kryptosporidienoozyste kaum sichtbar (a). Spezifische Antikörper mit Fluoreszenzfarbstoffen bringen die Oozystenoberfläche zum Leuchten (b). Im Dünndarm des Wirtes keimen die Kryptosporidienoozysten aus (c).

1 µm) können Kryptosporidien in verunreinigtem Trinkwasser abgetötet beziehungsweise eliminiert werden. Kryptosporidien sind aber weitgehend resistent gegenüber der Chlorierung des Trinkwassers [12, 13].

3.1 Resultate und Diskussion

Ausser gerade bei Probestelle BE 1, in der aus einem öffentlichen Brunnen Wasser entnommen wurde, ist in allen anderen Fällen jeweils eine Trinkwasserprobe aus dem Versorgungsnetz entnommen und auf Kryptosporidien analysiert worden. Gemäss *Abbildung 3* konnten in zehn von sechzehn untersuchten Wasserproben Oozysten von Kryptosporidien in zum Teil Besorgnis erregenden Konzentrationen nachgewiesen werden. Bereits bei einer Oozystenkonzentration von 0,1/ℓ oder mehr muss mit Krankheitsausbrüchen in der Bevölkerung gerechnet werden und bei Konzentrationen über 0,3 Oozysten/ℓ sind Kryptosporidiosefälle fast zwingend zu erwarten [10]. Wie aus *Abbildung 3* ersichtlich ist, liegen drei der gemessenen Wasserproben in oder über dieser definierten Aktionsschwelle. Zudem würde in zehn der sechzehn Messungen das in den USA definierte 10^{-4} -Restrisiko für Kryptosporidiosis (eine infizierte Person auf 10000 Personen pro Jahr, bei einer Oozystenkonzentration von 0,0000327 Oozysten/ℓ) überschritten.

Da Messungen immer Momentaufnahmen sind, kann davon ausgegangen werden, dass zum Beispiel nach grösseren Regenereignissen mit wesentlich höheren Konzentrationen an Kryptosporidien gerechnet werden muss. An keinem der Standorte wurde eine erhöhte Anzahl von Durchfallserkrankungen bei den Konsumenten und Konsumentinnen des Trinkwassers durch die lokalen Verantwortlichen beobachtet.

3.2 *Clostridium perfringens* – kein Indikator für Kryptosporidien

Da der Nachweis von Kryptosporidien aufwändig und zeitintensiv ist, wurde von der EU in der Trinkwasserrichtlinie *Clostridium perfringens* als Indikatororganismus für Kryptosporidien eingeführt [2]. Das Bakterium *Clostridium perfringens* ist ein Sporenbildner fäkalen Ursprungs, der längere Zeit in der Umwelt überdauern und somit einen Hinweis geben kann für das Vorhandensein anderer resistenter pathogener Mikroorganismen wie zum Beispiel Kryptosporidien. Die Tauglichkeit von *Clostridium perfringens* als Indikator wurde überprüft, indem die Wasserproben der sechzehn Trinkwasserfassungen zusätzlich auf Clostridien und *E. coli* untersucht wurde. Die in *Abbildung 4* dargestellten Messresultate zeigen jedoch keine Korrelation zwischen

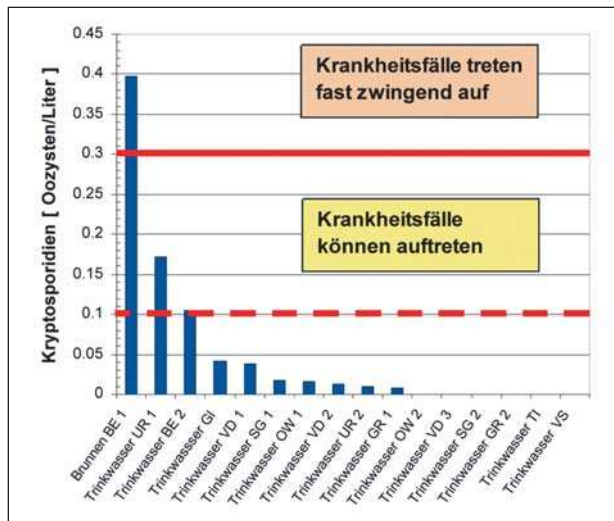


Abb. 3 Gemessene Kryptosporidienkonzentrationen in absteigender Reihenfolge der Oozystenkonzentration. Die Aktionsschwelle von 0,1 bis 0,3 Oozysten/l, bei der mit Krankheitsausbrüchen in der Bevölkerung zu rechnen ist, ist in der Grafik mit Begrenzungslinien markiert.

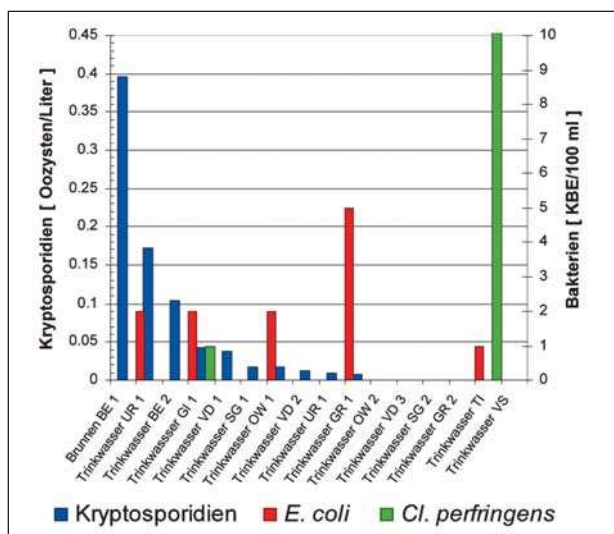


Abb. 4 Die Ergebnisse zeigen keine Korrelation zwischen Kryptosporidien und den bakteriellen Fäkalindikatoren *Cl. perfringens* / *E.coli*.

dem Auftreten von Kryptosporidien und den Fäkalindikatoren *C. perfringens* und *E. coli*. Es ist daher fraglich, ob *C. perfringens* als Indikator für Kryptosporidien dienen kann. Offenbar sind sich Clostridien und Kryptosporidien in ihrem Umweltverhalten nicht ähnlich genug.

3.3 Situation in der Schweiz

Weder in der Schweiz noch im Ausland gibt es gesetzliche Regelungen, die klare medizinische Grenzwerte für Kryptosporidien im Trinkwasser definieren. Die Richtlinie

der EU begnügt sich in ihren Anforderungen an die Trinkwasserqualität, dass in 100 ml nicht der Indikatororganismus *Clostridium perfringens* nachgewiesen werden darf. Es besteht deshalb allgemein eine Verunsicherung, wie die Gefahr von Kryptosporidien im Trinkwasser einzuschätzen ist. Trotz dieser bedenklichen Werte von Kryptosporidien in den untersuchten Trinkwässern wurde bisher keine Epidemie in der Schweiz beobachtet. Die Prävalenzrate bei Durchfallerkrankten, das heisst der prozentuale Anteil der an Kryptosporidiose erkrank-

ten Durchfallpatienten zu einem bestimmten Zeitpunkt, liegt in Deutschland und der Schweiz für die Allgemeinbevölkerung bei 0,4–1,9 %. Kinder sind stärker betroffen, hier liegt die Rate bei 1,1–4,8 %, und bei Aidspatienten steigt sie sogar auf 11,8 % an. Man rechnet in der Schweiz jährlich mit etwa nur 340 Kryptosporidiosefällen [14]. Verunreinigtes Trinkwasser ist dabei nur einer von möglichen Infektionswegen neben Schmierinfektion, Konsum von Rohmilchprodukten oder Austern, Auslandsreisen und anderem. Folgende Gründe könnten dafür verantwortlich sein, dass trotz der gemessenen hohen Oozystenkonzentrationen im Trinkwasser nicht mehr Kryptosporidiosefälle klinisch festgestellt werden konnten:

- An Kryptosporidiose erkrankte Personen konsultieren höchst selten einen Arzt. Zudem werden klinische Proben in der Regel nicht auf Kryptosporidien untersucht.
- Die einheimische Bevölkerung hat eine Immunität gegenüber den Kryptosporidien aufgebaut.
- Die von den Rindern ausgeschiedenen Kryptosporidien sind weniger infektiös als bisher angenommen. Mit der in der Studie angewendeten Nachweismethode werden auch solche Kryptosporidienarten nachgewiesen, die nicht oder wenig pathogen sind.
- Kryptosporidien im Trinkwasser sind nicht mehr vital beziehungsweise infektiös. Sie sind aber trotzdem mit der angewendeten Methode nachweisbar.
- Die Bevölkerung konsumiert sehr wenig nicht abgekochtes Trinkwasser.

Welcher der Faktoren ausschlaggebend ist, dass bis zum heutigen Zeitpunkt nicht ein lokaler Kryptosporidioseausbruch in der Schweiz beobachtet wurde, kann zum derzeitigen Wissensstand nicht angegeben werden. Vielleicht ist es auch ein Zusammenspiel verschiedener Faktoren.

3.4 Weitergehende Untersuchungen

Im Rahmen des laufenden Projektes wurde begonnen, an drei der sechzehn Standorte mehrfach Wasserproben zu nehmen und zu analysieren. Es wurde unter anderem die Aktivität der Oozysten mit Hilfe der Exzystation-

methode bestimmt. Dabei werden die aktiven Oozysten aus den Trinkwasserproben mit geeigneten Medien und Temperaturen bei 37 °C in Laborkulturen zum Auskeimen gebracht. Unter dem Mikroskop können die ausgekeimten, aktiven Oozysten (Abb. 2c) sehr gut von den nicht aktiven, auch nach der Inkubation im Exzystationmedium noch geschlossenen Oozysten (Abb. 2b) unterschieden werden. Somit lässt sich der prozentuale Anteil von aktiven Oozysten im Trinkwasser bestimmen. Die bisherige Auswertung zeigt, dass ein bedeutender Anteil der Oozysten exzystiert und als aktiv betrachtet werden kann. Dies ist ein Hinweis, aber kein Beweis dafür, dass diese Oozysten auch infektiös sind. Bei einer Risikobewertung muss neben Konzentration und Aktivität der Oozysten zudem in Betracht gezogen werden, dass die verschiedenen Kryptosporidienarten sich in ihrer Pathogenität gegenüber dem Menschen unterscheiden. Deshalb soll abschliessend mit Hilfe von Genotyping, einer molekularbiologischen Methode, die Artzugehörigkeit bestimmt werden. Sobald die Arbeiten abgeschlossen sind, werden die Resultate publiziert.

4. Viren im Trinkwasser

Humanpathogene Viren können mit Trinkwasser übertragen werden. Trinkwasser ist jedoch nicht der wichtigste Übertragungsweg, sondern Schmier- und Tröpfcheninfektionen [11, 15]. Infektionen durch kontaminiertes Trinkwasser finden sich aber in der epidemiologischen Fachliteratur ausführlich belegt. In der Schweiz wird abgesehen bei technischen Störungen oder gravierenden Infrastrukturmängeln allgemein in Trinkwasseraufbereitungsanlagen nur wenige positive Virenbefunde erwartet [15]. In einer vom BUWAL organisierten Messkampagne konnten aber in den für Verunreinigungen besonders anfälligen Karst- und Kluftquellen Entero- und Rotaviren nachgewiesen werden [16]. Auch die hier beschriebene Messkampagne konzentrierte sich auf kontaminationsgefährdete Quellfassungen im ländlichen Raum. Aus den wenigen offiziell bekannten, durch Trinkwasser verursachten Virenerkrankungen zu schliessen, dass es sich bei den viralen Gruppenerkrankungen um ein seltenes Ereignis handelt, könnte sich als Irrtum erweisen. Die Zahl der tatsächlichen Ausbrüche dürfte weitaus grösser sein als die der gemeldeten. Dies liegt einerseits daran, dass virale Brechdurchfälle nicht der

Meldeverordnung unterstellt sind und andererseits, dass viele Leute wegen kurzfristigen Krankheitssymptomen nicht den Arzt konsultieren. Auch sind Viren gegenüber UV-Behandlung und Chlor resistenter als *E. coli* [17]. Die klassische Trinkwasseranalytik erfasst Viren nicht, und es kann momentan nur spekuliert oder grob abgeschätzt werden, wie hoch die Anzahl durch Trinkwasserviren verursachten Durchfallerkrankungen sein könnte. Alle Wasserproben wurden mit RT-PCR auf Entero-, Noro- und Rotaviren untersucht. Es wurden dabei Primer verwendet, die spezifisch für humanpathogene Viren sind. Die verschiedenen Viren seien kurz beschrieben:

Enteroviren

Diese sehr kleinen Viren mit einer Grösse von lediglich 22 bis 30 nm haben eine hohe Persistenz und können auch bei ausserordentlichen Umweltbedingungen über einen längeren Zeitraum infektiös bleiben [18]. Im Grundwasser wurden Überlebenszeiten bis zu 81 Tagen gemessen [19]. Der Mensch bildet das einzige bekannte Reservoir für Enteroviren [11]. Die Übertragung erfolgt neben verschmutztem Trinkwasser hauptsächlich fäkal-oral oder respiratorisch [20]. Ergebnisse aus verschiedenen Studien zeigen, dass die minimale infektiöse Einheit bei Enteroviren bei fünf bis zehn Viren liegen [17].

Noroviren

Die Noroviren, ehemals Norwalk-like Viren (NLV) genannt, verursachen die klassische Magen-Darm Grippe. Sie können in Gemeinschaften schnell zu «lawinen-artigen» Ausbrüchen führen. Der Übertragungsweg verläuft neben der direkten fäkal-oralen Route auch über Wasser und ungekochte Lebensmittel [11]. Die Infektionsdosis ist

sehr gering, so reichen bereits ein bis hundert Viren aus, um eine Erkrankung auszulösen [21–23]. Gemäss Schätzungen des Bundesamtes für Gesundheit muss in der Schweiz mit jährlich zwischen 400 000 und 600 000 Infektionen durch Noroviren gerechnet werden [15].

Rotaviren

Rotaviren verursachen weltweit am häufigsten schwere Durchfallerkrankungen und werden jährlich für eine Million Todesfälle verantwortlich gemacht [17]. Praktisch jedes Kind bis zum Alter von vier Jahren erkrankt einmal an dem Virus. Die Infektionsdosis ist sehr tief, ein einziges Viruspartikel kann bei einem empfänglichen Individuum eine Infektion auslösen. Die Viren haben eine Grösse von 65 bis 75 nm und können für mehrere Wochen im Wasser überleben [24]. Der Mensch scheint das einzige Reservoir derjenigen Stämme zu sein, die Erkrankungen beim Menschen auslösen [11].

4.1 Resultate und Diskussion

Die positiven Resultate sind in der *Tabelle 1* nach Art der Wasserproben angegeben. Es konnten in einer Reihe von Proben Noro- wie Enteroviren nachgewiesen werden, jedoch keine Rotaviren. Im schweizerischen Vergleich muss von einem erhöhten Vorkommen gesprochen werden, auch wenn es zu beachten gilt, dass

	Fliessgewässer	Quellfassungen	Filterbrunnen	Reservoir	Leitungswasser	Total
Anzahl Proben	2	38	7	10	44	101
Enteroviren	1	1	0	1	0	3
Noroviren	1	3	0	3	4	11
Rotaviren	0	0	0	0	0	0

Tab. 1 Überblick positiver Viren-PCR-Nachweis aufgeteilt nach Art der Wasserproben.

nicht nur Trinkwasser, sondern verschiedene Arten von Wasser analysiert wurden. Bemerkenswert ist, dass in vier von zehn Wasserproben aus Trinkwasserreservoirs Viren nachgewiesen werden konnten. Gelangen Virenpartikel in ein Reservoir, so können sie unter diesen kühlen, dunklen Bedingungen über Monate, wenn nicht Jahre mit der sehr sensitiven RT-PCR-Methode nachgewiesen werden.

In der *Tabelle 2* sind die Entnahmorte der Wasserproben mit positiven Virenbefund kurz beschrieben. An verschiedenen Standorten (GL), (OW1), (SG1), (UR2) konnte eine Häufung festgestellt werden. Erstaunlich ist, dass im Falle der Trinkwasserversorgungen (SG1) und (VD2) Viren auch nach der UV-Behandlung nachgewiesen werden konnten. Dies kann dadurch erklärt werden, dass eine einmalige UV-Bestrahlung die Viren zwar beschädigt, deren Erbsubstanz (RNA) aber trotzdem durch RT-PCR nachgewiesen werden kann. Zudem ist es möglich, dass in stark ionenhaltigem oder schwebstoffhaltigem Wasser Viren (durch die eigene Ladung der Proteinhülle) mit z. B. mineralischen Partikeln verklumpen und so vor den UV-Strahlen geschützt werden. Es konnte keine Korrelation mit den Fäkalindikatoren *E. coli* oder *Cl. perfringens*, auch nicht mit anderen gemessenen Parametern festgestellt werden. Über die Konzentration der gemessenen Viren kann keine direkten Aussagen gemacht werden. Es kann aber bemerkt werden, dass jeweils ein Liter für den Virennachweis verarbeitet wurde und die RT-PCR-Methode eine Nachweisgrenze von zehn bis fünfzig Virenpartikel hat. Entsprechend kann angenommen werden, dass in den positiven Trinkwasserproben mindestens eine Konzentration von zehn bis fünfzig Viren pro

Liter zu finden war. Ein positiver Virennachweis mittels RT-PCR bedeutet, dass zwar behüllte RNA-Viren über der Nachweisgrenze in der genommenen Probe vorliegen. Er sagt aber nichts über die Infektionsgefahr dieser Viren aus. Es kann also sein, dass beschädigte, nicht virale Viren nachgewiesen wurden, die für den Menschen keine Gefahr darstellen. Es kann aber bei einem positiven Befund gefolgert werden, dass das analysierte Wasser mit Viren in Kontakt gekommen ist. Dies ist bedenklich, da die nachgewiesenen Viren zwingend einen menschlichen Ursprung haben müssen und die positiven Resultate deshalb auf humanfäkalische Verunreinigungen schliessen lassen. In abgelegenen Gebieten ist es unter bestimmten Bedingungen erlaubt häusliche Abwässer in die Güllegruben einzuleiten [25]. Durch die Auswaschung ausgetragener Gülle im Einzugsgebiet könnten somit auch humanpathogene Viren ins Trinkwasser gelangen.

4.2 Gesetzliche Grundlagen

In der Schweiz wurden bislang keine Grenzwerte für Viren im Trinkwasser festgelegt. Allerdings kann bei der Ergreifung von möglichen Massnahmen bei Virennachweis im Trinkwasser mit dem Artikel 1 des Lebensmittelgesetzes argumentiert werden. Darin wird im Zweckartikel gefordert, dass die Konsumenten und Konsumentinnen vor Lebensmitteln zu schützen sind, welche die Gesundheit gefährden können. Bemerkenswert ist, dass nicht nur der Schutz der Gesundheit verlangt wird, sondern bereits die Möglichkeit einer gesundheitlichen Gefährdung ausgeschlossen werden soll. Bei Virennachweis mittels PCR ist eine potenzielle Gefährdung des Konsumenten gegeben und entsprechend könnten Massnahmen

Enteroviren	Noroviren
	Trinkwasserversorgung (BE 2) (5) - Leitungswasser aus Pumpwerk mit möglicher Infiltration durch die Aare
	Trinkwasserversorgung (GL)(5) - Trinkwasser-Reservoir - Endpunkt der Wasserleitung
Trinkwasserversorgung (OW 1)(8) - Bach im Einzugsgebiet der Quelfassung - Trinkwasser-Reservoir	Trinkwasserversorgung (OW 1)(8) - Bach im Einzugsgebiet der Quelfassung - Quelfassung
	Trinkwasserversorgung (SG 1)(6) - Quelfassung (UV-behandelt) - Trinkwasser-Reservoir (UV-behandelt)
Trinkwasserversorgung (UR 2)(7) - Quelfassung	Trinkwasserversorgung (UR 2)(7) - Quelfassung - Leitungswasser
	Trinkwasserversorgung (VD 2)(8) - Leitungswasser (UV-behandelt)
	Trinkwasserversorgung (VS)(8) - Trinkwasser-Reservoir

Tab. 2 Kurzbeschreibung der Probeentnahmestellen mit positivem Viren-PCR-Nachweis. In Klammer wurde jeweils die Anzahl Wasserproben pro Standort angegeben.

eingefordert werden. Die vom Verband der Kantonschemiker der Schweiz publizierte Standortbestimmung bezüglich human pathogener Viren im Trinkwasser hält fest, dass der Nachweis von Nukleinsäurebruchstücken von humanpathogenen Viren im Trinkwasser mit PCR als Anhaltspunkt für eine mögliche Verunreinigung zu betrachten ist. Der Nachweis kann als ein Element unter anderen zur gesamtheitlichen Beurteilung eines Trinkwassers verwendet werden. Allein auf Grund der Feststellung von Viren mittels PCR ist eine Beanstandung des Trinkwassers nicht angezeigt [26].

5. Schlussfolgerungen

Viren wie auch Kryptosporidien im Trinkwasser kleiner Versorgungssysteme im ländlichen Raum konnten nachgewiesen werden. Die Auswahl der Trinkwasserversorgungen entspricht nicht einem Durchschnitt, sondern es wurden spezifisch Trinkwasserversorgungen ausgewählt, die in Gefahr stehen, durch Abflüsse aus Landwirtschaftsflächen kontaminiert zu werden. Die Resultate sind vergleichbar mit den auch in dieser Ausgabe publizierten Resultaten, der vom BUWAL organisierten Messkampagne [16]. Im Gegensatz zu diesen Messungen konnten Noroviren nachgewiesen, dafür keine Rotaviren in den analysierten Wasserproben festgestellt werden. Gemäss den durchgeführten Messungen muss davon ausgegangen werden, dass resistente Mikroorganismen fäkalen Ursprungs ihren Weg in Trinkwasserfassungen ländlicher Regionen finden. Es können aber keine Angaben über die Infektionsgefahr für den Menschen angegeben werden. Im Falle der Viren ergibt der RT-PCR-Nachweis nur den Beweis für das Vorhandensein von Viren-

RNA nicht aber Informationen, ob die Viren überhaupt infektiös sind. Im Falle der Kryptosporidien fehlen Informationen über die genaue Artzugehörigkeit der Kryptosporidien. Es muss aber bedenklich stimmen, wenn Mikroorganismen fäkalen Ursprungs im Trinkwasser nachgewiesen werden können. Umso mehr, wenn sie, wie im Falle der Noro- und Enteroviren, humanen Ursprungs sind. Auch wenn an allen Standorten keine erhöhten Fälle von Durchfallserkrankungen beobachtet wurden, muss von einem Restrisiko ausgegangen werden. So könnten lokal begrenzt insbesondere nach starken Niederschlägen, fäkalisches Verunreinigungen aus den Landwirtschaftszonen in die Trinkwasserfassungen eingeschwemmt werden. Dies könnte zu häufigeren Fällen an Durchfallserkrankungen bei den Konsumenten und Konsumentinnen des Trinkwassers führen. Neben den nachgewiesenen Noroviren, Enteroviren und Kryptosporidien könnten auch Bakterien wie pathogene *E. coli*, Salmonellen, Shigellen, *Yersinia enterocolitica*, *Camphylobacter jejuni* oder Protozoen wie *Giardia lamblia* oder Rotaviren und andere noch unbekannte Virenspezies eingeschwemmt werden. Als Konsequenzen für die beprobten Trinkwasserfassungen wurden gezogen, dass die Auflagen für die Grundwasserschutz-zonen verstärkt beachtet werden sollten. In unmittelbarer Nähe der Trinkwasserfassungen, in der so genannten Grundwasserschutzzone I, ist jegliche Weidebewirtschaftung und Düngung untersagt [27]. Nicht immer jedoch wurden diese Auflagen befolgt, wie *Abbildung 1* zeigt. Eventuell müssen aber auch die Grundwasserschutz-zonen I und II ausgeweitet oder neu angelegt werden. Zudem könnte es für gewisse Standorte mit einer schlechten Bodenfiltration notwendig sein, beispielsweise durch UV-Desinfektionsanlagen sicherzustellen, dass pathogene Keime abgetötet werden.

6. Ausblick

Im weiteren Verlauf des Projektes werden an drei Standorten Mehrfachmessungen durchgeführt werden. Neben der Konzentration sollen die Vitalität wie die genaue Artzugehörigkeit der Kryptosporidien durch Genotyping bestimmt werden. Aufgrund der Resultate wird eine Risikoabschätzung für Kryptosporidien im Trinkwasser durchgeführt werden.

Verdankungen

Der Dank der Autoren gilt dem Labor Spiez für die Finanzierung des Projektes. Für kritische Kommentare sind wir Herrn Dr. *Emil Greber*, magma AG, dankbar.

Literaturverzeichnis

- [1] Bundesamt für Gesundheit BAG (2000): Schweizerisches Lebensmittelbuch SLMB.
- [2] EG-Trinkwasserrichtlinie (1998): Richtlinie 98/83/EG des Rates über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch.
- [3] Beuret, C.; Baumgartner, A. (2002): Empfohlenes Verfahren für den Nachweis von «Norwalk-like» Viren (NLV) und Enteroviren in Wasser. Lebensmitteluntersuchung und Hygiene (Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène) 93(2), p. 91–103.
- [4] Nime, F.A. et al. (1976): Acute enterocolitis in a human being infected with the protozoan *Cryptosporidium*. Gastroenterology 70, p. 592–598.
- [5] Smith, H.V.; Rose, J.B. (1998): Waterborne Cryptosporidiosis: Current status. Parasitology Today 14(1), p. 14–22.
- [6] MacKenzie, W.R. et al. (1995): Massive outbreak of waterborne *cryptosporidium* infection in Milwaukee, Wisconsin: recurrence of illness and risk of secondary transmission. Clin Infect Dis. 21(1), p. 57–62.
- [7] Hunter, P.R.; Syed, Q. (2001): Community surveys of self-reported diarrhoea can dramatically overestimate the size of outbreaks of waterborne cryptosporidiosis. Water Sci Technol. 43(12), p. 27–30.
- [8] Xiao, L. et al. (2004): *Cryptosporidium* taxonomy: recent advances and implications for public health. Clin Microbiol Rev. 17(1), p. 72–97.
- [9] Metzler, A.; Tabisch, A. (1998): Fakten und Spekulationen über die Kontamination der Umwelt mit *Cryptosporidium*-Oozysten. Gas Wasser Abwasser 78(1), p. 32–36.
- [10] Haas, C.N.; Rose, J.B. (1995): Developing an action level for *Cryptosporidium*. Journal AWWA 87(9), p. 81–83.
- [11] Kayser, F.H. et al. (1998): Medizinische Mikrobiologie 9 ed. Stuttgart: Thieme.
- [12] Auckenthaler, A.; Huggenberger, P. (2003): Pathogene Mikroorganismen im Grund- und Trinkwasser. Basel: Birkhäuser Verlag.
- [13] Juranek, D.D. et al. (1995): Cryptosporidiosis and public health: workshop report. Journal AWWA 87(9), p. 69–80.
- [14] Baumgartner, A. et al. (2000): Frequency of *Cryptosporidium* spp. as cause of human gastrointestinal disease in Switzerland and possible sources of infection. Schweiz Med. Wochenschr. 130(36), p. 1252–8.
- [15] Bundesamt für Gesundheit BAG (2001): «Norwalk-like»-Viren (NLV) und Lebensmittel – eine Situationsanalyse für die Schweiz.
- [16] Greber, E.; Cornaz, S.; Herold, T.; Kozel, R.; Metzler, A.; Traber, D. (2005): Viren und Protozoen

in schweizerischen Grundwasservorkommen. Gas Wasser Abwasser 10/05, p. 867–877.

- [17] Walter, R. (2000): Umweltvirologie – Viren in Wasser und Boden. Slovenia: Springer-Verlag.
- [18] AWWA (1999): Committe Report: Emerging Pathogens – viruses, protozoa and algal toxins. Journal AWWA 91(9), p. 110–121.
- [19] Botzenhart, K. (2000): Viren als Erreger wasserbedingter Infektionen. Mitt. Lebensm. Hyg. 91, p. 26–43.
- [20] Gerba, C.P. (1999): Enteroviruses, in Manual of Water Supply Practices. American Water Works Association, p. 235–239.
- [21] Hobbins (1999): An assessment of the presence and relevance of HuCV in Switzerland through a newly installed RT-PCR detection method – A first step., in Swiss tropical Institute. Basel, p. 82.
- [22] Gerba, C.P.; Rose, J.B. (1990): Viruses in source and drinking water., in Drinking Water Microbiology: Progress and recent developments, G.A. Mc Feters, Editor. Springer Verlag: New York, p. 380–396.
- [23] Kukkula, M. et al. (1999): Outbreak of viral gastroenteritis due to drinking water contaminated by Norwalk-like viruses. J Infect Dis. 180(6), p. 1771–6.
- [24] Nadal, D. (2001): Virusinfektionen beim Menschen, Infektketten, Auswirkungen und Prophylaxe. Gas Wasser Abwasser 5/01, p. 299–303.
- [25] Bundesrecht (1991): Gewässerschutzgesetz. Artikel 12.
- [26] Kantonschemiker (2002): Humanpathogene Viren im Trinkwasser – Standortbestimmung. Verband der Kantonschemiker der Schweiz.
- [27] Bundesrecht (1998): Gewässerschutzverordnung. 1998.

Keywords

Trinkwasser – Viren – Kryptosporidien – mikrobiologische Verunreinigung – Landwirtschaft

Adresse der Autoren

Füchslin Hans Peter, Dr. sc. nat. ETH
Trinkwassermikrobiologe
EAWAG Dübendorf
Überlandstrasse 133
CH-8600 Dübendorf
Tel. +41 (0)44 823 51 93
Fax +41 (0)44 823 50 28
hans-peter.fuechslin@eawag.ch

Christian Beuret, Dr.
Virologe
Labor Spiez, Sektion Biologie
CH-3700 Spiez
christian.beuret@babs.admin.ch

Egli Thomas, Prof. Dr.
EAWAG Dübendorf
thomas.egli@eawag.ch