

Verunreinigtes Trinkwasser aus Landwirtschaftszonen?

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 sind vor allem die in der Umwelt resistenten Dauerformen von Kryptosporidien relevant. In 9 von 15 untersuchten Trinkwasserfassungen ländlicher Regionen konnten wir tatsächlich Kryptosporidien nachweisen. Es bleibt abzuklären, ob sie eine Gefahr für den Menschen darstellen.

Die amtlich vorgeschriebenen mikrobiologischen Trinkwasserkontrollen beschränken sich auf den Nachweis von *E. coli* und Enterokokken sowie auf die Bestimmung der Gesamtkeimzahl. Resistente pathogene Keime wie Kryptosporidien (siehe Kasten Seite 10) bleiben deshalb unerkant. Während *E. coli* in der Umwelt relativ rasch abstirbt, bleiben die Dauerformen der Kryptosporidien, die so genannten Oozysten (Abb. 1), über Wochen bis Monate infektiös. Zudem überleben Kryptosporidien im Gegensatz zu *E. coli* auch in gechlortem Trinkwasser. Daher kann Wasser, das eigentlich die Qualitätskriterien für Trinkwasser erfüllt, trotzdem Krankheitserreger enthalten.

Besonders gefährdet sind Trinkwasserfassungen in Landwirtschaftszonen, weil das Wasser dort mit Gülle und den Ausscheidungen der Weidetiere in Berührung kommen kann. Tiere, die mit Kryptosporidien infiziert sind, scheiden infektiöse Keime aus, die dann in das Trinkwasser gelangen können. Da dieses Wasser meist gar nicht oder nur minimal aufbereitet wird, wollte die EAWAG abschätzen, wie gross das Risiko einer Kryptosporidieninfektion durch den Genuss von Trinkwasser in landwirtschaftlich genutzten Zonen ist.

Kryptosporidien sind relativ weit verbreitet

Dazu entnahmen wir Wasser aus 15 kleineren, über die ganze Schweiz verteilten Trinkwasserfassungen, die in Landwirtschaftszonen liegen. Das Trinkwasser wurde nicht nur der im Lebensmittelgesetz vorgeschriebenen Analyse unterzogen, sondern zusätzlich auf Kryptosporidien (siehe Kasten) un-

tersucht. 9 der 15 Wasserproben waren tatsächlich mit Kryptosporidien verunreinigt (Abb. 2). Bisher wurden in der Schweiz Kryptosporidienkonzentrationen von maxi-

mal 3,83 Oozysten/l in Oberflächengewässern [1], 1,6 Oozysten/l in Karstquellwasser [2] und 0,25 Oozysten/l im Trinkwasser [3] nachgewiesen. Unsere Messungen sind mit diesen Werten vergleichbar.

Darüber hinaus waren 4 der 9 kryptosporidienhaltigen Trinkwasserfassungen zudem mit dem Fäkalbakterium *E. coli* verunreinigt (Abb. 2). Das Wasser aus diesen Fassungen erfüllte damit per se nicht die Qualitätskriterien für Trinkwasser. Bei den restlichen 5 mit Kryptosporidien verunreinigten Trinkwasserfassungen hat der *E.-coli*-Indikator die fäkalisches Verunreinigung nicht ange-

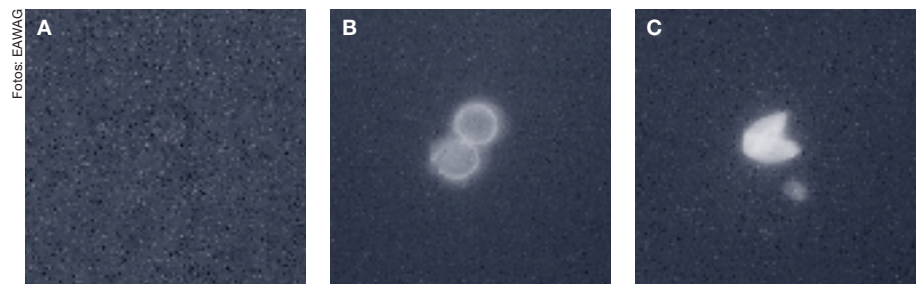


Abb. 1: Unter dem normalen Durchsichtsmikroskop ist eine Kryptosporidienoozyste kaum sichtbar (A). Spezifische Antikörpern mit Fluoreszenzfarbstoffen bringen die Oozystenoberfläche zum Leuchten (B). Im Dünndarm des Wirtes keimen die Kryptosporidienoozysten aus (C) und entlassen 4 Sporozysten, ein Vorgang, der als exzistieren bezeichnet wird; die Sporozysten befallen anschliessend die Zellen des Darmepithels und bilden dort neue Oozysten.

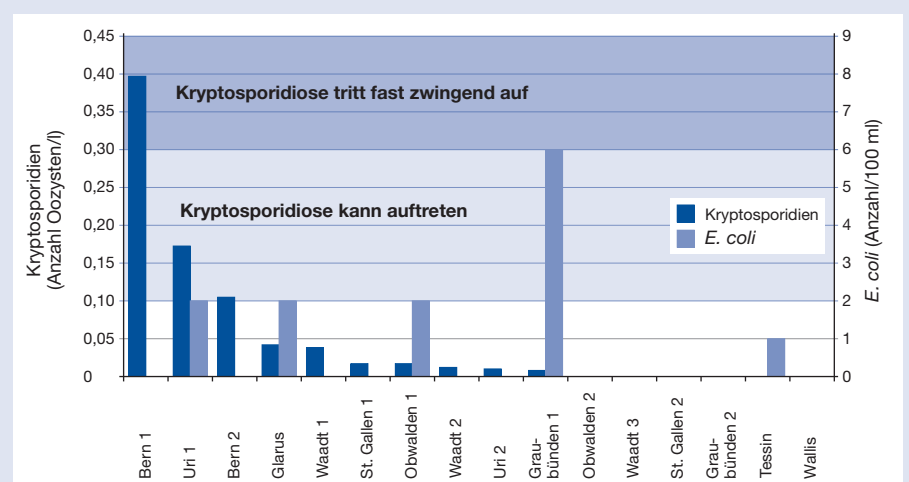


Abb. 2: Gemessene Kryptosporidien- und *E.-coli*-Konzentrationen in 15 Trinkwasserfassungen ländlicher Regionen in absteigender Reihenfolge der Oozystenkonzentration. Bern 1 ist ein öffentlicher Brunnen. Im Bereich von 0,1–0,3 Oozysten/l ist mit Krankheitsausbrüchen in der Bevölkerung zu rechnen, oberhalb von 0,3 Oozysten/l sind sogar Epidemien möglich.

zeigt. An einer weiteren Fassung wiesen wir zwar *E. coli* jedoch keine Kryptosporidien nach.

Clostridium ist kein Indikator für Kryptosporidien

Die Trinkwasserrichtlinie der Europäischen Union [4] deklariert das Bakterium *Clostridium perfringens*, das mit Hilfe seiner Sporen längere Zeit im Boden überdauern kann, als resistenten Fäkalindikator und geht von folgendem Zusammenhang aus: Sind in 100 ml Trinkwasser keine Clostridien nachweisbar, sollte das Wasser auch keine anderen Parasitendauerformen wie beispielsweise Kryptosporidienoozysten enthalten. Stimmt dieser Zusammenhang, sollten umgekehrt Wasserproben, die mit Kryptosporidien verunreinigt sind, auch Clostridien

enthalten. Dies wollten wir überprüfen, indem wir die Wasserproben der 15 Trinkwasserfassungen zusätzlich auf Clostridien untersuchten. Dabei fanden wir jedoch keine Korrelation zwischen dem Auftreten von Kryptosporidien und dem resistenten Fäkalindikator *C. perfringens*. Lediglich zwei Trinkwasserfassungen waren mit Clostridien verunreinigt: in Glarus kamen sowohl Kryptosporidien als auch Clostridien (1 Spore in 100 ml Wasser) vor, wogegen die im Tessin untersuchte Trinkwasserfassung keine Kryptosporidien jedoch 96 Clostridien sporen in 100 ml Wasser aufwies. Es ist daher fraglich, ob *C. perfringens* als Indikator für Kryptosporidien dienen kann. Wahrscheinlich sind sich Clostridien und Kryptosporidien in ihrem Umweltverhalten nicht ähnlich genug.

Foto: EAWAG



Abb. 3: Gülleaustragung und ...

Kryptosporidien

Was sind Kryptosporidien?

Kryptosporidien sind protozoische Darmparasiten von beachtlicher Grösse (5 µm Durchmesser), die Oozysten als Dauerformen bilden (Abb. 1). Sie gehören zu den wichtigsten pathogenen Protozoen im Trinkwasser. Die Gattung der Kryptosporidien wird in 13 Arten unterteilt. *Cryptosporidia parvum* ist am weitesten verbreitet und auch für den Menschen pathogen. Das Wirtsspektrum von *C. parvum* umfasst vermutlich alle Säugetiere [5].

Wie äussert sich eine Infektion mit Kryptosporidien?

Die Erkrankung an Kryptosporidien, die Kryptosporidiose, ist eine Zoonose, d.h. eine Tierkrankheit, die auch auf den Menschen übertragen werden kann. Infektionen des Menschen wurden erstmals 1976 dokumentiert und wasserbedingte Kryptosporidiosen sind seit 1984 bekannt. Seither sind mehrere Epidemien in den USA, Grossbritannien und Japan aufgetreten, die Grösste mit schätzungsweise mehr als 400 000 Erkrankten 1993 in Milwaukee (Wisconsin, USA) [6]. Die mit dem Fäzes ausgeschiedenen Oozysten bleiben in kühlem Wasser mehrere Monate lebensfähig. Eine Kryptosporidiose beginnt mit der Aufnahme der Oozysten, (Abb. 1A + B). Nach einer Inkubationszeit von 2 bis 12 Tagen, in denen die Oozysten im Dünndarm auskeimen (Abb. 1C) und sich vermehren, kommt es zu wässrigen Durchfällen mit Bauchkrämpfen, meist aber ohne Fieber, Krankheitsgefühl, Übelkeit oder Erbrechen. Der Verlauf ist variabel und wechselnd, die Krankheit heilt aber in der Regel in 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. Bis jetzt gibt es keine medikamentöse Behandlung gegen Kryptosporidien.

Wie werden Kryptosporidien nachgewiesen

Die amerikanische Umweltbehörde und das britische Trinkwasserinspektorat empfehlen die Nachweismethode 1623 zum Nachweis von Kryptosporidien im Trinkwasser. Dabei wird im Feld die enorme Menge von 100 bis 1000 l Wasser durch einen Filter mit 1 µm Porengrösse geleitet. Im Labor werden die Partikel vom Filter gelöst und die Kryptosporidien mit Hilfe immunomagnetischer Methoden von den anderen Partikeln abgetrennt. Die mit spezifischen Oberflächenantikörpern angefarbten Kryptosporidien werden schliesslich unter dem Fluoreszenzmikroskop ausgezählt (Abb. 1B).

Aktive Oozysten aus Umweltproben können mit geeigneten Medien und Temperaturen bei 37 °C in Laborkulturen zum Auskeimen gebracht werden. Auf diese Weise kann der prozentuale Anteil von aktiven Oozysten im Trinkwasser bestimmt werden.

Situation in der Schweiz

Weder in der Schweiz noch im Ausland gibt es gesetzliche Regelungen, die klare medizinische Grenzwerte für Kryptosporidien im Trinkwasser definieren. Es besteht deshalb allgemein eine Verunsicherung, wie die Gefahr von Kryptosporidien im Trinkwasser einzuschätzen ist.

Bereits bei einer Kryptosporidienkonzentration von 0,1 Oozyste/l muss mit Krankheitsausbrüchen in der Bevölkerung gerechnet werden und bei Konzentrationen von über 0,3 Oozysten/l sind Kryptosporidiosefälle fast zwingend zu erwarten [7]. In 20% der von uns untersuchten Trinkwasserproben liegt die Kryptosporidienkonzentration tatsächlich über 0,1 Oozyste/l und in einem Fall sind sogar mehr als 0,3 Oozysten/l enthalten (Abb. 2). In 9 der 15 Trinkwasserfassungen wird das in den USA definierte 10^{-4} -Restrisiko für Kryptosporidiose (1 infizierte Person auf 10 000 Personen pro Jahr, bei einer Oozystenkonzentration von mehr als 0,0000327 Oozysten/l) überschritten. Da unsere Messungen lediglich Momentaufnahmen sind, muss man zudem davon ausgehen, dass die Kryptosporidienkonzentration nach grösseren Regenereignissen noch erheblich ansteigt.

Bisher keine Kryptosporidienepidemie in der Schweiz

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



... Weidebewirtschaftung bis an Trinkwasserfassungen heran können zu tierfäkalischen Verunreinigungen führen.

erkrankten 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 340 Kryptosporidiosefällen [8]. Tatsächlich werden aber nur sehr wenige Fälle klinisch festgestellt. Dies könnte folgende Gründe haben:

- Die von den Rindern ausgeschiedenen Kryptosporidien sind weniger infektiös als bisher angenommen. Mit der von uns angewendeten Nachweismethode werden auch solche Kryptosporidienarten nachgewiesen, die nicht oder wenig pathogen sind.
- Kryptosporidien im Trinkwasser sind nicht mehr vital beziehungsweise infektiös. Die Oozysten können je nach Umweltbedingungen mehrere Monate in der Umwelt überleben. Sie sterben mit der Zeit ab, sind aber trotzdem noch nachweisbar.
- An Kryptosporidiose erkrankte Personen konsultieren höchst selten einen Arzt. Zudem werden klinische Proben in der Regel nicht auf Kryptosporidien hin untersucht.
- Die Bevölkerung konsumiert sehr wenig ungekochtes Trinkwasser.

Konsequenzen für die Praxis

Die Auflagen für die gemäss heutigem Gesetz für jede Trinkwasserfassung vorgeschriebenen Grundwasserschutzzonen müssen verstärkt beachtet werden. In unmittelbarer Nähe der Trinkwasserfassungen, in der so genannten Grundwasserschutzzone I, ist jegliche Weidebewirtschaftung

und Düngung untersagt [9]. Nicht immer jedoch werden diese Auflagen befolgt, wie Abb. 3 zeigt. Periodische Kontrollen sind deshalb nötig. Vor allem nach Schlechtwetterereignissen besteht die Gefahr, dass fäkalisches Verunreinigungen in die Trinkwasserfassungen eingeschwemmt werden. Daher wird es für gewisse Standorte mit einer schlechten Bodenfiltration notwendig sein, beispielsweise durch UV-Desinfektionsanlagen sicherzustellen, dass pathogene Keime abgetötet werden.

Konsequenzen für die weitere Forschung

Es besteht eine allgemeine Unsicherheit, ob periodisch erhöhte Kryptosporidienkonzentrationen, wie sie nach starken Niederschlägen zu erwarten sind, für die Trinkwasserkonsumenten und -konsumentinnen eine Gefahr darstellen. Zu wenig ist bekannt über die genaue Artzugehörigkeit der in der Schweiz auftretenden Kryptosporidien und über die Vitalität der Oozysten im Trinkwasser, als dass eine klare Antwort auf diese Frage gegeben werden kann. Im weiteren Verlauf des Projektes möchten wir diese Wissenslücken schliessen. Dazu sollen an drei Standorten mit erhöhten Oozystenkonzentrationen die Vitalität durch den Sporulationstest (siehe Kasten) und die genaue Artzugehörigkeit der Kryptosporidien durch Genotyping bestimmt werden. Zusätzlich soll anhand der erhobenen Daten eine Risikoabschätzung durchgeführt werden. Ausserdem wollen wir die lokalen Behörden und Ärzte befragen, ob es in den letzten Jahren zu einer erhöhten Zahl von

Kryptosporidiosefällen in der Bevölkerung gekommen ist.

Kryptosporidien, auch wenn sie sich in den weiteren Untersuchungen als schwach pathogen erweisen, sind umweltresistente Fäkalindikatoren, die in jedem Fall aus dem Trinkwasser ausgeschlossen werden sollten.

Unser Dank gilt dem Labor Spiez für die Finanzierung des Projektes.



Hans Peter Fuchsli, Umweltwissenschaftler, ist Postdoktorand in der Gruppe «Trinkwassermikrobiologie» der Abteilung «Umweltmikrobiologie». Forschungsschwerpunkte: Trinkwassermikrobiologie, Nachweis von Pathogenen.

Koautor: Thomas Egli

- [1] Regli W. (1994): Verbesserte Methoden für die Isolierung und den Nachweis von Giardia-Zysten und Cryptosporidien-Oozysten in Oberflächengewässern: Flockung mit $Al_2(SO_4)_3$ und fluorescence-activated cell sorting (FACS). Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Zürich 70 S.
- [2] Auckenthaler A., Raso G., Huggerberger P. (2002): Particle transport in a karst aquifer: natural and artificial tracer experiments with bacteria, bacteriophages and microspheres. *Water Science & Technology* 46, 131–138.
- [3] Svoboda P., Ruchti S., Bissegger C., Tanner M. (1999): Occurrence of *Cryptosporidium* spp. oocysts in surface, raw and drinking water samples. *Mitteilungen auf dem Gebiete der Lebensmittelhygiene*, 553–563.
- [4] Richtlinie 98/83/EG des Rates über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch: <http://europa.eu.int/scadplus/leg/de/lvb/l28079.htm>
- [5] Xiao L., Fayer R., Ryan U., Upton S.J. (2004): *Cryptosporidium* taxonomy: recent advances and implications for public health. *Clinical Microbiology Reviews* 17, 72–97.
- [6] Smith H.V., Rose J.B. (1998): Waterborne Cryptosporidiosis: Current status. *Parasitology Today* 14, 14–22.
- [7] Haas C.N., Rose J.B. (1995): Developing an action level for *Cryptosporidium*. *Journal American Water Works Association* 87, 81–83.
- [8] Baumgartner A., Marder H.P., Munzinger J., Siegrist H.H. (2000): Frequency of *Cryptosporidium* spp. as cause of human gastrointestinal disease in Switzerland and possible sources of infection. *Swiss Medical Weekly* 130, 1252–1258.
- [9] Gewässerschutzverordnung (1998): www.admin.ch/d/sr/c814_201.html