

# Viren als Erreger wasserbedingter Infektionen

Autor(en): **Botzenhart, Konrad**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchungen und Hygiene =  
Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **91 (2000)**

Heft 1

PDF erstellt am: **08.08.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-981852>

## **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

## **Haftungsausschluss**

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

# Viren als Erreger wasserbedingter Infektionen\*

Konrad Botzenhart, Hygiene-Institut der Universität Tübingen, Tübingen

## Biologische Eigenschaften

Die biologischen Eigenschaften der Viren machen sie zu obligaten Zellparasiten. Mit ihrem spezifischen Vermehrungszyklus, der als Eindringen und Vermehrung in lebenden Zellen charakterisiert werden kann, ist i.d.R. die Schädigung der Wirtszelle verbunden. Dadurch sind Viren obligate Krankheitserreger. Das Auftreten von Viren im Trinkwasser ist daher stets mit einer Infektionsgefahr verbunden, anders als beim Nachweis von *E. coli*, der nur als Indikator einer Infektionsgefahr zu werten ist. Die Festsetzung eines Grenzwertes für Viren in Wasser ist daher problematisch, sie dürfen im untersuchten Wasservolumen überhaupt nicht nachweisbar sein. Die US-amerikanische Surface Water Treatment Rule (1) nennt ein Maximum Contaminant Level Goal von 0.

Das Infektionsrisiko hängt wesentlich davon ab, wieweit der Mensch als Wirt für das Virus empfänglich ist und ob diese Viren geeignet sind, nach oraler Aufnahme über den Magen-Darmtrakt eine Infektion zu verursachen. Bei vielen gefährlichen menschen- und tierpathogenen Viren, z.B. Gelbfieber-, Tollwut-, Marnern- oder Q-Fieber-Viren, ist letzteres glücklicherweise nicht der Fall. Für andere Viren existieren Risikoabschätzungen, auf die später eingegangen wird. Die Übertragung von Erregern tierischer Herkunft über den Wasserweg auf den Menschen erscheint bei Rota- und Reoviren, Hepatitis E sowie Schweinepicornaviren nicht gänzlich ausgeschlossen. Dieser Infektionsweg ist aber bisher nicht schlüssig belegt.

Die Viren, von denen bekannt ist, dass sie nach oraler Aufnahme zu Erkrankungen führen, sind in der Tabelle 1 aufgeführt. Man bezeichnet sie als enterale Viren oder Darmviren, weil ihr Vermehrungsort das Eingeweidesystem und seine Anhangsgebilde, wie z.B. die Leber, ist. Eine Untergruppe bilden die Enteroviren, welche aber bei der Gastroenteritis eher selten gefunden werden. Einige von ihnen, wie z.B. die Coxsackie-, Echo- und Poliomyelitisviren, können die Grenzen des Eingeweidesystems überschreiten und schwere Allgemeinerkrankungen und Erkrankun-

\* Vortrag gehalten an der 32. Arbeitstagung der Schweiz. Gesellschaft für Lebensmittelhygiene, Zürich, 18. November 1999

Tabelle 1

**Humane enterale Viren (nach 2)**

<i>Virusgruppe</i>	<i>Nukleinsäuretyp</i>	<i>Anzahl der Serotypen</i>	<i>Krankheitsmerkmale</i>
Adenovirus	dsDNA	47	Pharyngitis, Konjunktivitis, Atemwegserkrankungen, Übelkeit, Diarrhoe
Astrovirus	ssRNA	5	Übelkeit, Diarrhoe
Calicivirus	ssRNA	2	Übelkeit, Diarrhoe
Coronavirus	ssRNA	1	Übelkeit, Diarrhoe
Hepatitis-E-Virus (Calicivirus?)	ssRNA	1	Hepatitis
Hepatovirus, früherer Hepatitis-A-Virus	ssRNA	1	Fieber, akute hämorrhagische Konjunktivitis, Hepatitis
Poliovirus	ssRNA	3	Paralyse, Meningitis, Fieber
Coxsackievirus A	ssRNA	24	Herpangina, Atemwegserkrankungen, Meningitis, Fieber
Coxsackievirus B	ssRNA	6	Myocarditis, congenitale Herzanomalien, Fieber, Vorexanthem, Meningitis, Atemwegserkrankungen, Pleurodynie
Echovirus	ssRNA	34	Meningitis, Atemwegserkrankungen, Fieber, Vorexanthem, Diarrhoe
«nummerierte» (68–71) Enteroviren	ssRNA	4	Meningitis, Encephalitis, respiratorische Erkrankung
Norwalkvirus (Calicivirus)	ssRNA	1	Epidemische Übelkeit, Diarrhoe
Parvovirus	ssDNA	2	Ein Typ wird mit enteralen Infekten in Verbindung gebracht noch unklar
Reovirus	dsRNA	3	Übelkeit, Diarrhoe
Rotavirus	dsRNA	4	Übelkeit, Diarrhoe
«Kleine, runde strukturierte Viren»		2	Übelkeit, Diarrhoe

gen des Zentralen Nervensystemes verursachen. Bei der Gastroenteritis werden vorwiegend Rotaviren (Gruppen A, B, und C), enterale Adenoviren, Norwalk-Virus und ähnliche «kleine runde strukturierte Viren» gefunden.

Den enteralen Viren ist gemeinsam, dass sie zu den am einfachsten aufgebauten und kleinsten Viren gehören. Als sog. nackte Viren besitzen sie auch keine gegen fettlösende Agenzien empfindliche Hülle (Envelope). Überwiegend liegt ihre Erbsubstanz als Einzelstrang-RNA vor. Die Poliomyelitisviren und die Hepatitis-A- und Hepatitis-E-Viren sind diejenigen Krankheitserreger, welche unter den durch Trinkwasser übertragbaren Viren die ernsthaftesten Krankheiten verursachen. Trinkwasserbedingte Hepatitisepidemien sind im Gegensatz zur Poliomyelitis (spinale Kinderlähmung) häufig dokumentiert worden.



## Epidemiologie

Die Weltgesundheitsorganisation (3) weist den Viren im Wasser eine hohe Bedeutung als Infektionserreger zu (Tabelle 2).

Als Ursache trinkwasserbedingter Epidemien ist besonders das Hepatitis-E-Virus hervorgetreten, vor allem in Indien, wo mehrere Epidemien mit vielen tausend Erkrankten beschrieben worden sind, sowie in Pakistan und Afrika (4). Es führte 1991 in Kanpur mit über 79 000 Fällen zu einer der grössten bisher dokumentierten wasserübertragenen Epidemien überhaupt. Das die Stadt versorgende Trinkwassersystem war mit Abwasser kontaminiert worden. Zur Desinfektion wurde das Wasser mit ca. 1,5 mg/l Chlor versetzt. Trotzdem waren im Verteilungsnetz bakterielle Fäkalindikatoren in Form von coliformen Bakterien nachzuweisen und die Chlorkonzentration war zeitweise auf Spuren zurückgegangen (5).

Aber auch das Hepatitis-A-Virus hat wiederholt Trinkwasserepidemien verursacht (4). Man hat vermutet, dass die Hepatitisviren gegen Desinfektionsmassnahmen, namentlich gegen die Chlorung, besonders resistent wären. Dies ist aber nur in begrenztem Umfang der Fall. Wiederholt war in der Vorgeschichte der beschriebenen Epidemien festzustellen, dass das Wasser der Versorgungssysteme durch starke Schmutzwassereinbrüche belastet worden war, z.B. durch Überschwemmungen oder gebrochene Abwasserleitungen und dass man durch Chlorzugabe das Wasser in einen bakteriologisch einwandfreien Zustand gebracht hatte, d.h. in 100 ml keine *E. coli* oder coliformen Bakterien, die gegen Chlor relativ empfindlich sind, mehr nachweisen konnte. Unter derartigen Umständen ist es leicht möglich, dass an Schmutzpartikel gebundene Hepatitisviren die Desinfektionsmassnahmen überdauern. Eine kleine Epidemie von Hepatitis A mit 21 Fällen in einem Militärlager ist von *Bosch* und Mitarbeitern (6) beschrieben worden. Unter der betroffenen Population traten auch mehrere Fälle von Gastroenteritis auf. Das Trinkwasser wurde einem Fluss entnommen, welcher das Abwasser eines flussaufwärts gelegenen Ortes aufnahm und eine erhebliche Belastung mit *E. coli* und anderen Fäkalindikatoren aufwies. Das Wasser wurde durch Aluminiumsulfatflockung, Sandfiltration und Chlorung aufbereitet. Nach den vorhandenen Aufzeichnungen war stets zwischen

Tabelle 2

### Gesundheitliche Bedeutung von Viren in Trinkwasser (aus 3)

Erreger	Gesundheitl. Relevanz	Persistenz	Chlorresistenz	Relative Infektionsdosis	Wichtige Tierreservoirs
Adenoviren	Hoch	?	Mässig	Niedrig	Nein
Enteroviren	Hoch	Lang	Mässig	Niedrig	Nein
Hepatitis A	Hoch	?	Mässig	Niedrig	Nein
Hepatitis E	Hoch	?	?	Niedrig	Möglich
Norwalk Virus	Hoch	?	?	Niedrig	Nein
Rotavirus	Hoch	?	?	Mässig	Möglich
Kleine runde Vir.	Mässig	?	?	Niedrig	Unbekannt



0,2 und 0,4 mg/l freies Chlor nachweisbar. Beim Versuch, die zum Zeitpunkt der Infektion gegebene Wasserqualität zu reproduzieren, ergab sich bei mehreren Versuchsansätzen die Situation, dass bakterielle Fäkalindikatoren negativ waren, aber Enteroviren oder Rotaviren noch nachgewiesen werden konnten. Die Autoren fordern aus diesem Grunde, dass bei Verwendung von fäkal belastetem Oberflächenwasser zur Trinkwasseraufbereitung auch Viren als Qualitätsindikatoren bestimmt werden.

**Virusbedingte Gastroenteritis:** Als Erreger kommen vor allem Rotaviren, Norwalkviren, Adenoviren, Astroviren und Caliciviren in Frage. Die Norwalk-, Astro- und Caliciviren gehören zu den kleinen (28–35 nm) runden unbehüllten Viren mit einsträngiger RNA als Erbsubstanz, während die Rotaviren und die Adenoviren grösser sind (72–75 nm) und eine doppelsträngige RNA bzw. DNA besitzen. Mit geeigneten Methoden können sie im Abwasser und belastetem Oberflächenwasser relativ häufig gefunden werden. Eine grössere Zahl von trinkwasserbedingten Klein epidemien ist auf sie zurückgeführt worden. Die Bedeutung des Trinkwassers für ihre Ausbreitung und Häufigkeit kann aber schwer abgeschätzt werden, da es hierzu keine grösseren epidemiologischen Untersuchungen gibt. Eis war als Bestandteil von Getränken an derartigen Ereignissen wiederholt beteiligt. Bei den beschriebenen Ausbrüchen war die Wasseraufbereitung fehlerhaft oder es handelte sich um nichtaufbereitetes oder nachweislich fäkal kontaminiertes Wasser. Die Übertragung kann ausser durch Trinkwasser auch durch Badewasser erfolgen.

Adenoviren sind ebenfalls im Abwasser und Oberflächenwasser häufig zu finden. Sie können ausser einer Gastroenteritis und anderen Erkrankungen die auch als Schwimmbad-Conjunctivitis bekannte Pharyngo-Conjunctivitis verursachen. In ordnungsgemäss aufbereitetem und gechlortem Schwimmbadenwasser ist damit aber nicht zu rechnen.

Enteroviren (Polio-, Coxsackie-, Echo-, und Entero(68–71)-virus-Arten) vermehren sich zwar, wie der Name besagt, im Darmepithel und sind dadurch im Stuhl und im Abwasser nachweisbar. Die verursachten Erkrankungen gehen aber über den Gastrointestinaltrakt hinaus und können als Meningitis, Enzephalitis und Poliomyelitis das zentrale Nervensystem oder andere Organsysteme betreffen, namentlich die Mundschleimhaut und die Konjunktiven, die Lungen, das Herz, die Haut und a.m. Sie können in kaltem Wasser viele Tage und Wochen überleben, so dass ihre Übertragung mit Trink- und Badewasser gut möglich ist. Verschiedene Epidemien sind beschrieben worden, jedoch nicht so viele, wie aufgrund der massiven Ausscheidung der Viren mit dem Stuhl und ihrer Umweltresistenz erwartet werden könnte. Wiederholt sind Polioviren im Oberflächenwasser als Indikator für die Verbreitung des Virus in der Bevölkerung verwendet worden. Es gibt aber nur eine gut beschriebene Polioepidemie mit epidemiologischer Verbindung zur Wasserversorgung. Sie ereignete sich 1982 in Taiwan (7). Neben trinkwasserbedingten Epidemien sind auch für die Enteroviren Ausbrüche durch Badewasser und vermutlich auch durch abwassergedüngtes Gemüse beschrieben worden.

Relativ häufig werden in Oberflächenwasser Reoviren (REO = respiratory enteric orphans) gefunden (8). Sie gelten als praktisch apathogen. Ihr häufiges Auftreten in Abwasser und Oberflächenwasser ist daher bisher ohne klinisches Korrelat.

### Übertragungswege

Enterale Viren werden oral aufgenommen, vermehren sich im Verdauungstrakt und werden mit dem Stuhl ausgeschieden. Sie können somit im Abwasser erscheinen und von dort über verschiedene Wege wieder zum Menschen gelangen. Die Abbildung 1 soll dies verdeutlichen. Die durch Trinkwasser übertragbaren Viren stammen in aller Regel aus menschlichen Ausscheidungen, meistens aus dem Stuhl. Der häufigste und einfachste Weg ins Trinkwasser verläuft über Abwasser, Oberflächenwasser und Übergang ins Trinkwasser nach unzureichender Trinkwasseraufbereitung. Auch oberflächliche Abschwemmungen von mit Jauche, Abwasser oder Klärschlamm gedüngten Flächen oder Sickerwässer von Deponien können zur weiteren Virusverschleppung führen. Hierdurch kann auch das Grundwasser kontaminiert werden.

Viren können im Untergrund viele Monate überdauern, z.B. Coliphagen (f2) bis zu zwei Jahre (9). Aufgrund der Absorption an Bodenpartikel kommt es jedoch zu einer Festlegung in den oberen Bodenschichten. Bei gut filtrierenden Schichten werden die Viren im Boden zurückgehalten und inaktiviert, so dass aus Grundwasser relativ selten Viren isoliert werden. Dies trifft aber nicht für Karstgrundwasser zu und auch nicht für Uferfiltrationsstrecken mit stark wechselnden Korngrößen, so dass unter ungünstigen Umständen auch Grundwasser mit Viren belastet sein kann.

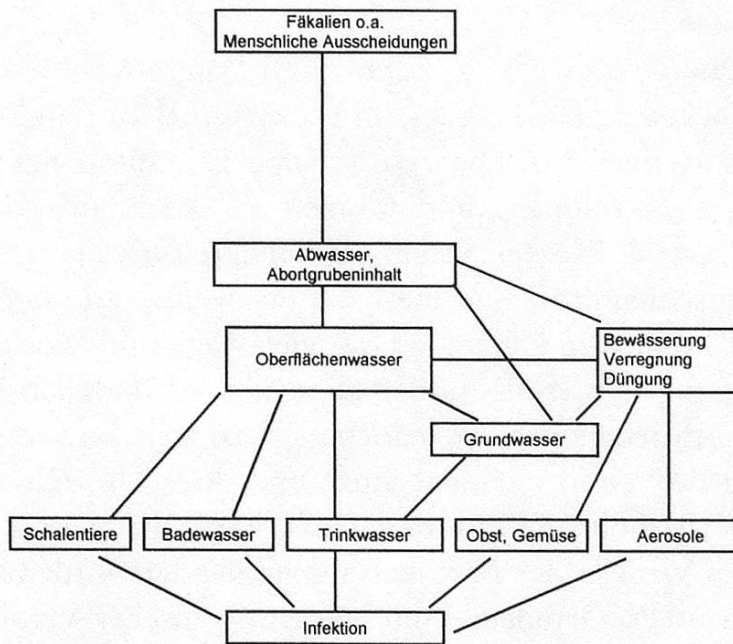


Abbildung 1 Fäkaloraler Kreislauf der enteralen Viren



Über Abwasserverregnung und andere Bewässerungstechniken, welche mit kontaminierten Wässern arbeiten, können landwirtschaftliche Erzeugnisse mit enteralen Viren kontaminiert werden. Bei der Verregnung, eventuell auch bei der Abwasserbehandlung, können viruskontaminierte Aerosole entstehen. Heng et al. (10) fanden bei Arbeitern, die mit Abwasser umgingen, 2,2-mal häufiger erhöhte Antikörpertiter als bei Kontrollpersonen. Über Abwassereinleitungen in Oberflächengewässer können natürliche Badegewässer mit Viren verunreinigt sein. In diesem Zusammenhang ist es interessant, dass es relativ viele Berichte über erhöhte Häufigkeit von Magen- und Darmerkrankungen sowie von Hepatitis nach dem Baden in natürlichen Gewässern gibt. Eine weitere bedeutende Quelle für wasserbedingte Hepatitis A und E resultiert aus der Verunreinigung von Schalentieren (Austern und Muscheln), welche durch die Verunreinigung der Gewässer, in denen sie gezüchtet und gesammelt werden, viruskontaminiert wurden. Der mit 292 301 Fällen grösste bisher beschriebene Hepatitisausbruch war in Schanghai 1988 auf diese Weise entstanden (11).

In jedem Fall steht aber am Ausgangspunkt des Übertragungsweges die fäkale Verunreinigung des Wassers. Die Verhinderung dieses Vorganges oder die Unterbrechung der beschriebenen Übertragungswege kann einen wirksamen Schutz bedeuten. Damit scheint auch logisch, dass Fäkalindikatoren grundsätzlich Hinweise auch für die Virusbelastung bringen können.

### **Infektionsdosis und Risikoabschätzung**

Die Aufnahme einzelner Krankheitserreger führt nicht immer zur Infektion. Man hat daher versucht, eine minimale Infektionsdosis für bestimmte Erreger zu definieren. Dies ist aber wegen der unberechenbaren Anfälligkeit der betroffenen Individuen nicht hilfreich. Einen besseren Ansatz bildet der Begriff der Attack Rate (Infektiosität  $\times$  Penetranz), das ist der Anteil der Menschen, die bei Aufnahme einer bestimmten Anzahl von Mikroorganismen erkranken. Werden sehr viele Menschen exponiert, so werden auch bei einer geringen Zahl von Mikroorganismen und einer niedrigen Attack Rate eine beträchtliche Anzahl erkranken.

Regli et al. (12) haben für fünf Virusarten und zwei Parasitenspezies mit Hilfe von Berechnungsverfahren die Konzentrationen der Krankheitserreger im Wasser ermittelt, welche dem Risiko von einer Infektion/10 000 Einwohner/Jahr bei täglicher Aufnahme von 2 l Trinkwasser entsprechen. Die Tabelle 3 gibt diese Zahlen sowie das korrespondierende Wasservolumen wieder, welches weniger als ein infektiöses Teilchen zu enthalten hat. Weiter wird die Wahrscheinlichkeit einer Infektion bei Zufuhr von einer infektiösen Einheit dargestellt. Mit Hilfe statistischer Verfahren lässt sich die Zahl der Kontrollproben und das Probenvolumen, die erforderlich sind, um mit einer definierten Wahrscheinlichkeit nachzuweisen, dass der in der Tabelle angegebene Grenzwert nicht überschritten wird, berechnen. Für eine Überschreitungswahrscheinlichkeit von  $< 5\%$  wären demnach 500 Proben von je 2000 l erforderlich.



Tabelle 3

**Maximale Konzentrationen  $K_{\max}$  (Anzahl pro l) für verschiedene Erreger im Trinkwasser bei einem akzeptierten Infektionsrisiko von 1/10 000 pro Einwohner und Jahr und 2 l Trinkwasserzufuhr/Tag, korrespondierende Wassermengen ( $m^3$ ), in denen Viren nicht nachweisbar sein dürfen, und die der Berechnung zugrunde liegenden Wahrscheinlichkeiten für eine Infektion bei Aufnahme von einem infektiösen Partikel ( $P_i$ ). Den Zahlen für Poliovirus I liegen verschiedene Berechnungsverfahren für das Infektionsrisiko zugrunde (nach 12)**

Erreger	$K_{\max}$	$m^3$ Wasser	$P_i$
Rotavirus	$2,22 \times 10^{-7}$	4504,4	0,2
Poliovirus III	$2,65 \times 10^{-7}$	3773,6	0,2
Entamoeba coli	$6,25 \times 10^{-7}$	1600,0	0,1
Giardia	$6,75 \times 10^{-6}$	148,1	0,02
Poliovirus I	$1,51 \times 10^{-5}$	66,2	0,009
Echovirus 12	$6,85 \times 10^{-5}$	14,6	0,002
Poliovirus I	$1,91 \times 10^{-3}$	0,5	0,00008

Gerba und Haas (13) haben für das Hepatitis-A-Virus und Poliovirus Typ I das Risiko für Infektion, Erkrankung und Todesfall differenziert. Geht man beispielsweise beim Hepatitis-A-Virus von einer infektiösen Einheit/10 l Trinkwasser aus, so liegt das tägliche Infektionsrisiko bei 2,9/1000 der Bevölkerung, das jährliche bei 6,6/10 und das lebenslängliche bei 1, d.h. jeder Mensch aquiritiert einmal im Leben eine Infektion an infektiöser Gelbsucht. Das Erkrankungsrisiko würde täglich bei 2,2/1000, jährlich 5,6/10 und lebenslänglich bei 1 liegen. Das Todesrisiko betrüge täglich 1,3/100 000, jährlich 4,9/1000 und lebenslänglich 2,9/10. Die Autoren kommen bezüglich der maximal zulässigen Viruskonzentrationen im Trinkwasser zu ähnlichen Richtwerten wie Regli et al. (12). Zum Schutz vor einer Infektion mit Poliomyelitis (spinale Kinderlähmung) darf in 1,1  $m^3$  Trinkwasser und zum Schutz vor der infektiösen Gelbsucht A in 78  $m^3$  Trinkwasser das Virus nicht nachweisbar sein. Aus diesen Berechnungen geht hervor, dass man durch stichprobenweise Untersuchung des aufbereiteten Trinkwassers nicht sicherstellen kann, dass das postulierte Grenzkrisiko von maximal einer Erkrankung auf 10 000 Einwohner pro Jahr eingehalten wird. Hierzu müssten ca. 180  $m^3$  Wasser untersucht und als virusfrei befunden werden.

Obwohl bezogen auf die Viruskonzentration im Abwasser die 1000- bis 10 000-fache Menge an *E. coli*, coliformen Bakterien oder Enterokokken enthalten ist, reicht diese Konzentration bei dem traditionellen Untersuchungsvolumen von 100 ml nicht für eine zuverlässige Indikation von Viren in den o.g. Konzentrationsbereichen aus. Man müsste für diesen Zweck die Menge des zu untersuchenden Wassers auf 18 l steigern, womit dieser Weg ziemlich umständlich wird. Deshalb schreibt die Surface Water Treatment Rule der U.S.A. (1) keine Untersuchung auf Viren vor, fordert aber den Nachweis, dass die angewandten Chlorkonzentrationen und -einwirkungszeiten (das sog. CT-Produkt) für eine Reduktion der Viruskonzentration im Wasser um den Faktor 99,99% ausreichen.

Die WHO (3) hat virologisch effiziente Verfahrenskombinationen für unterschiedliche Rohwasserqualitäten zusammengestellt (Tabelle 4).

Tabelle 4

**Empfohlene Verfahren der Aufbereitung für verschiedene Wasserressourcen**  
(aus 3, gekürzt)

<i>Type der Ressource</i>	<i>Empfohlene Behandlung</i>
Grundwasser	
Geschützte Tiefbrunnen, essentiell frei von Fäkalkontaminationen	Desinfektion
Ungeschützte Flachbrunnen	Filtration und Desinfektion
Oberflächenwasser	
Geschützte Talsperren, gänzlich frei von Abwassereinleitungen	Desinfektion
Ungeschützte Talsperren oder Hochlandflüsse mit Fäkalkontamination	Desinfektion oder Lagerung, Filtration, Desinfektion
Ungeschützte Tieflandflüsse; Fäkalkontamination	Desinfektion
Ungeschützte Einzugsgebiete; starke Fäkalkontamination	Vordesinfektion oder Lagerung, Filtration, ergänzende Behandlung und Desinfektion
Ungeschützte Einzugsgebiete, sehr starke Fäkalkontamination	Für die Trinkwasserversorgung nicht empfohlen

**Viruskonzentrationen in Oberflächengewässern**

Die höchste Viruskonzentration ist nächst den Fäces im Abwasser zu erwarten. Sie kann hypothetisch berechnet werden: Geht man davon aus, dass pro Tag und Person ca. 150 g Stuhl abgegeben und ca. 150 l Wasser verbraucht werden, ergibt sich eine Fäkalienkonzentration im Abwasser von 1 g/l. Bei einer Viruskonzentration im Stuhl infizierter Personen von  $10^9$ /g wird sich bei einer Infektion unter 100 000 Einwohnern eine Viruskonzentration im Abwasser von  $10^4$ /l einstellen. Rotaviren werden sogar in Konzentrationen bis zu  $10^{12}$ /g Stuhl ausgeschieden (14). Es könnte daher je nach Altersstruktur und Gesundheitszustand der Bevölkerung sowie der Art der zirkulierenden Infektionen mit Viruskonzentrationen um  $10^5$ /l– $10^6$ /l gerechnet werden. Tabelle 5 enthält eine Zusammenstellung von Daten über Viruskonzentrationen in Oberflächenwasser und Abwasser.

Bei der Bewertung solcher Angaben sind stets methodische Aspekte des Virusnachweises zu beachten. Bei den derzeit verwendeten Virusanreicherungsverfahren liegen die Wiederfindungsraten häufig unter 10 %. Die berichteten Viruskonzentrationen geben daher wahrscheinlich kaum den vollen Umfang der Belastung der Gewässer wieder. Auch die nachgewiesenen Virustypen entsprechen infolgedessen keineswegs dem Spektrum der im Oberflächengewässer möglicherweise vorhandenen Virusarten. Dieses kann wesentlich vielfältiger sein, als man es im Labor nachweisen kann. Generell schwanken die Viruskonzentrationen in Abhängigkeit von der Abwasserbelastung. Nach Literaturangaben divergiert die Virusdichte in



Tabelle 5

**Viruskonzentrationen in Oberflächenwasser und Abwasser, in MPN oder PFU/l, ohne Berücksichtigung der Wiederfindungsraten**

Abwasser roh	Abwasser gereinigt	Oberflächenwasser	Autor/Jahr
		0,2–60 (0–180)	Hughes (15)
		7,5 (0,3–52,3)	Johl (16)
		13–192	Tani (17)
		13,3	Hahn (18)
		1,2 (0–14,4)	Walter (19)
	89+/-188		Hahn (18)
	41+/-79		Hahn (18)
	0–9,6		Schwartzbrod (20)
36–4600			Schwartzbrod (20)
120–9140			Slade (21)

Oberflächengewässern zwischen  $10^0$  i.E./l und  $10^2$  i.E./l. In anthropogen stark belasteten Gewässern und dichter besiedelten Regionen sind 10 Viruspartikel/l zu erwarten.

Bei Kenntnis der Konzentration im Abwasser kann man die im Zusammenhang mit Verunreinigungen wahrscheinlichen Viruskonzentrationen abschätzen und Nachweisverfahren und/oder Aufbereitungs- und Desinfektionsmassnahmen anpassen. Die Konzentration der Viren in fäkal verunreinigtem Wasser ist viel niedriger als die der Fäkalbakterien, da Viren nur im Stuhl virusinfizierter Personen vorkommen, während die Bakterien natürlicher Bestandteil von Fäkalien sind. In einer von *Hahn* (18) untersuchten Kläranlage lag die Dichte der coliformen Bakterien im Mittel (Median) mit 700 000/l und damit hunderttausendfach höher als diejenige der nachgewiesenen Viren. *Hartemann et al.* (22) fanden in Flüssen von N.-O.-Frankreich zwischen 0 und 300 Enteroviren/l. Die Relation von Viren zu coliformen Bakterien betrug 1 zu  $2 \times 10^6$ , zu fäkalcoliformen Bakterien 1 zu  $5 \times 10^5$  und zu Enterokokken 1 zu  $5 \times 10^4$ .

### Persistenz

Die Tabelle 6 gibt einige der in der Literatur zur Persistenz veröffentlichten Werte wieder, welche in dezimale Reduktionszeiten  $t_D$  umgerechnet wurden. Eine dezimale Reduktionszeit ist jene Zeit, welche erforderlich ist, um die Viruskonzentration um 1 log des Ausgangswertes zu vermindern. Sie wird nach Formel 1 und 2 berechnet.

$$(1) t_D = 1:K \text{ (aus: } t_D = -1:K \times \log(1:10) \text{)}$$

$K$  ist die Absterberate gemäss Formel (2)

$$(2) K = -1:t \times \log N_t:N_0 \text{ oder } t = -1:K \times \log N_t:N_0$$



Tabelle 6

**Daten zur Viruspersistenz in Grundwasser**  
**Dezimale Reduktionszeiten  $t_D$  in Tagen bei verschiedenen Temperaturen und Bodenarten**

Virustyp	Untersuchungsergebnisse verschiedener Autoren			
	Matthess (23)	Yates (24)	Bitton (25)	Keswik (26)
Coxsackie B3				5,3
Coxsackie B1	25–81			5,3
Coxsackie A9	32–53			
Echo 7	26–81			
Echo 1		1,6–20		
Polio 1	31–97	1,5–28,5	21,9	4,8
MS2-Bakt.-Phage		1,7–83,3		

Die geringsten hier abgegebenen Absterberaten wurden bei 10° C gemessen, bei niedrigerer Temperatur ist noch längeres Überleben zu erwarten

### Massnahmen zum Schutz der Trinkwasserressourcen

Ursprünglich erschien es unproblematisch, viruskontaminiertes Rohwasser mit konventionellen Wasserbehandlungsverfahren so zu reinigen, dass das verbleibende Gesundheitsrisiko vernachlässigt werden könnte. Die erste Umweltvirologen-WHO-Expertengruppe (27) ging 1979 noch von der Möglichkeit der Eliminierung und Inaktivierung aller Viren durch Aufbereitung und Desinfektion aus. Die Auswahl der Ressourcen wurde 1979 folglich noch nicht als Schwerpunkt angesehen.

Bald musste man jedoch feststellen, dass hierdurch die gewünschte und notwendige Sicherheit häufig nicht erbracht wurde. Konsequenterweise wurde in den Internationalen Richtlinien für Trinkwasserqualität der WHO von 1984 die Erkenntnis zugrunde gelegt, dass der beste Ansatz zum Schutz der Konsumenten in einer problembewussten Auswahl der Rohwasservorkommen besteht. Diese sollten idealerweise völlig frei von jeglicher Abwasserbelastung sein. In den 1993 überarbeiteten WHO-Richtlinien wird dieser Gedanke betont und damit die Notwendigkeit eines Schutzzonenkonzeptes für Wasserquellen auch aus virologischer Sicht bestätigt. Die Vorstellungen einer ca. 60 Tage dauernden Persistenz von standortfremden Erregern im Grundwasser (28) hatten in Deutschland zur Festlegung der 50–60 Tagegrenze für den Schutz von Wassereinzugsgebieten geführt. Diese Schutzzonen sind oft in Fassungsbereich (Schutzzone I), engeres Schutzgebiet (Schutzzone II) und weiteres Schutzgebiet (Schutzzone III) gegliedert.

In Deutschland umschreibt die 50-Tagegrenze entsprechend dem Arbeitsblatt W 101 des Deutschen Vereins für das Gas- und Wasserfach (29) die Schutzzone II, in der z.B. keine Gülle oder Klärschlamm ausgebracht werden dürfen. Der konkrete geografische Verlauf der Schutzzonen richtet sich nach den lokalen hydrogeologischen Bedingungen und wasserwirtschaftlichen Verhältnissen. Der Ressourcenschutz durch Trinkwasserschutzgebiete hat sich auch in virologischer Hinsicht

bewährt, obwohl die Viruspersistenz im Grundwasser 50 Tage um ein Mehrfaches übersteigen kann. Die dennoch gegebene praktische Wirksamkeit der 50-Tagegrenze beruht auf dem Zusammenwirken von Rückhaltung durch Adsorption und Absterben im Untergrund und Schutzvorschriften gegen die von der Oberfläche einwirkenden Verschmutzungsrisiken.

### **Virusreduktion durch Desinfektion**

Viren sind der Desinfektion durch Chlor, Chlordioxid, Ozon und UV-Strahlen zugänglich. Enterotrope Viren sind als unbehüllte Strukturen gegenüber den meisten Desinfektionsmitteln relativ resistent. Sie erweisen sich im allgemeinen als resistenter als die meisten der im Wasser auftretenden Bakterien, namentlich *E. coli*, Salmonellen, Shigellen und Cholera-Vibrionen. Es gibt aber auch Bakterien im Wasser, wie z.B. Legionellen und Mykobakterien, die resistenter sind als die meisten der bislang überprüften Viren. Erst recht gilt das für bakterielle Sporen und für Dauerformen (Zysten) von Parasiten, wie z.B. von Cryptosporidien. Eine Zusammenstellung zahlreicher experimenteller Daten ist von *Sobsey* (30) vorgenommen worden. Diese Übersicht verdeutlicht, dass bei optimalen Bedingungen (pH-Wert: neutral bis leicht sauer, Fehlen von organischen Substanzen und Trübstoffen) eine schnelle Virusinaktivierung zu erreichen ist. Die Abtötungszeiten und -konzentrationen können aber ins Unkalkulierbare steigen, wenn die Wasserqualität sich verändert. Untersuchungen mit dem Hepatitis-A-Virus, anderen Virustypen oder Phagen bestätigen, dass sich mit Chlor, Chlordioxid und Ozon eine sehr zuverlässige und schnelle Abtötung erzielen lässt, wenn die massgeblichen Bedingungen der Wasserqualität eingehalten werden (19, 31). Durch Anwendung von Chlor mit CT-Werten (C in mg/l, T in min) von <5 und von Ozon mit CT-Werten von <1 lässt sich eine Reduktion um 99,99 % für behüllte, unbehüllte Viren und Enterobakterien erreichen (32). Die Aktivitätsrelation von Chlor: Chlordioxid: Ozon verhält sich etwa wie 1: 10: 30. Die Surface Water Treatment Rule (1) schreibt für die Reduktion von Viren und Giardiazysten bei 10°C und pH 7,0 folgende CT-Werte vor: Ozon: 1,4; Chlordioxid: 23; Chlor: 130.

Für UV-Strahlen wird angenommen, dass Viren im allgemeinen wesentlich resistenter sind als Bakterien (33). Die dabei beobachtete Photoreaktivierung der Bakterien ist ein Phänomen, das bei Viren bisher nicht bekannt ist. Für das Hepatitis-A-Virus wird bei 180 J/m<sup>2</sup> eine Reduktion um 4 log erreicht, womit unter den gegebenen Versuchsbedingungen für HAV keine wesentlich erhöhte Resistenz gegenüber *E. coli* beobachtet wurde. Polioviren benötigen für diese Reduktion etwa 300 J/m<sup>2</sup> (34). Bei einem Praxisversuch zur UV-Desinfektion von Abwasser zeigte sich eine Zunahme der UV-Resistenz in der Reihenfolge: *E. coli*, coliforme Bakterien, Gesamtkeimzahl 22°C, Bakteriophagen, enterale Viren (18). Die stärkere Reduktion der Bakteriophagen im Vergleich zu den humanpathogenen Viren kann damit erklärt werden, dass die in Kläranlagenabläufen natürlicherweise überwiegend vorhandenen somatischen Bakteriophagen relativ empfindlich sind.



Eine Übersicht über die Rückhaltung von Viren in den einzelnen Stufen von acht verschiedenen Wasserwerken der Niederlande haben van *Olphen* u.a. (35) vorgelegt. Das Oberflächenwasser, welches als Rohwasser für die Trinkwassergewinnung verwendet wurde, war überwiegend viruspositiv. Nach Flockung, Sedimentation und Schnellfiltration, z.T. auch nach Transportchlorung, waren noch 11 von 55 untersuchten Wasserproben viruspositiv. Erst nach Abschluss der Aufbereitung und Desinfektion waren in allen Wasserwerken alle von den insgesamt untersuchten 100 Proben (Probenvolumen 500 l) frei von Viren. Dies belegt eine hohe Wirksamkeit der eingesetzten Aufbereitungs- und Desinfektionsprozesse. Für eine zuverlässige Vorhersage des Erfolges ist jedoch die Endkontrolle allein nicht ausreichend, sondern jeder Schritt sollte im Hinblick auf die Effizienz der Viruselimination quantitativ beschreibbar sein.

## Nachweisverfahren

Der Virusnachweis kann nach heutigem Kenntnisstand durch Vermehrung der Viren in Zellkulturen oder durch den Einsatz molekularbiologischer Verfahren erfolgen. Bei letzteren kann die Molekulare Hybridisierung (MH) und die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) in verschiedenen Verfahrensvarianten eingesetzt

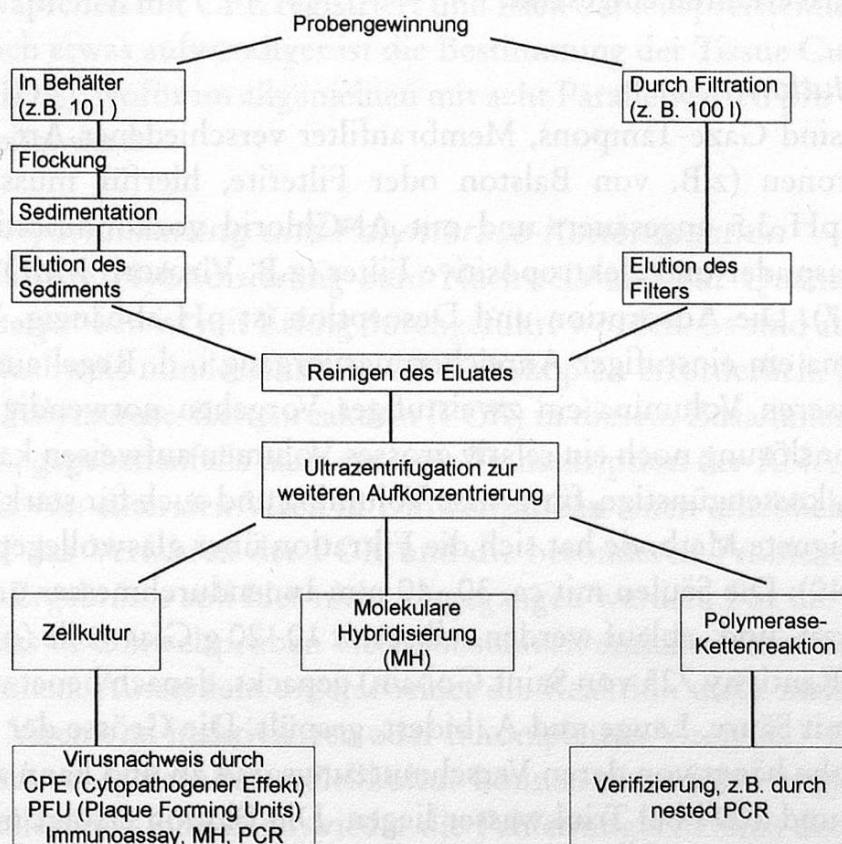


Abbildung 2 Virusnachweis aus Wasserproben



werden. Für alle drei Verfahren muss das Ausgangsvolumen auf wenige ml eingengt und von Substanzen gereinigt werden, welche die Nachweisreaktion stören. Der Virusnachweis in Trinkwasser und Rohwasser wird daher stets die Schritte: Gewinnung eines grossen Probevolumens, Anreicherung der Viren in einem kleinen Volumen, Reinigen des Konzentrates und Anwendung eines Virus-Nachweisverfahrens umfassen (Abb. 2).

Für diese Schritte sind zahlreiche verschiedene Methoden eingesetzt worden. Methodisch detaillierte Darstellungen der Untersuchungsverfahren von Wasser auf Viren sind in den US-amerikanischen Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (36), bei *Block u. Schwartzbrod* (37) sowie bei *Schulze* (Hrsg.) (38) enthalten. Bei der Auswahl der Methoden sind Untersuchungsmaterial und -ziel entscheidende Kriterien. Die Adaptierung an das jeweilige Labor erfordert Validierungsmassnahmen auf Spezifität, Sensibilität und Reproduzierbarkeit. Der Proben-durchsatz wird häufig durch den meistens notwendigen letzten Schritt der Aufkonzentrierung, die Ultrazentrifugation, begrenzt werden.

### *Fällungsverfahren*

Bei den Fällungsverfahren wird ein bestimmtes Wasservolumen, z.B. 10 l, mit einem Flockungsmittel versetzt. Das entstehende Sediment wird eluiert oder aufgelöst, ein zweiter Konzentrierungsschritt angeschlossen und das Konzentrat in ein Virus-Nachweisverfahren eingesetzt.

### *Filtration – Elution*

Als Filter sind Gaze-Tampons, Membranfilter verschiedener Art, elektronegative Filterpatronen (z.B. von Balston oder Filterite, hierfür muss das Wasser zunächst auf pH 3,5 angesäuert und mit Al-Chlorid vorkonditioniert werden), Glaswolle, Glaspuder und elektropositive Filter (z.B. Virosorb I MDS) verwendet werden (36, 37). Die Adsorption und Desorption ist pH-abhängig. Während für kleine Volumina ein einstufiger Anreicherungsverfahren i. d. Regel ausreichend ist, kann bei grösseren Volumina ein zweistufiges Vorgehen notwendig sein, da die primäre Elutionslösung noch ein relativ grosses Volumen aufweisen kann. Als technisch einfache, kostengünstige, für grosse Volumina und auch für stark verschmutztes Wasser geeignete Methode hat sich die Filtration über glaswollegepackte Säulen erwiesen (39, 40): Die Säulen mit ca. 30–40 mm Innendurchmesser und Anschlüssen für Wasserzu- und -ablauf werden selbst mit 10–20 g Glaswolle (oiled sodoacetic glass wool Rantigny 725 von Saint Gobain) gepackt, danach benetzt und vor der Probenahme mit Säure, Lauge und A. bidest. gespült. Die Grösse der zu filtrierenden Wasserprobe hängt von deren Verschmutzungsgrad ab und kann zwischen 10 l bei Abwasser und 200 l bei Trinkwasser liegen. Die Elution erfolgt mit 50–100 ml Beef-Extrakt in Glycin-Puffer, pH 9,5. Die weitere Reinigung und Aufkonzentrierung erfolgt je nach Ausgangsmaterial durch Abzentrifugieren und Ausschütteln der Feststoffe (s.o.) und anschliessende Ultrazentrifugation.

### **Quantifizierung auf Zellkultur**

Für die meisten enteralen Viren lassen sich Zelllinien finden, auf denen eine Vermehrung und Nachweis aufgrund der Zellschädigung möglich ist. Für die Rotaviren und für die Norwalkviren sind noch keine geeigneten Zellkulturen etabliert. Die Reoviren wachsen relativ langsam und benötigen daher eine längere Bebrütungszeit. Das Hepatitis-A-Virus kann zwar auf fötalen Affennierenzellen (frhk) vermehrt werden, macht aber keinen eindeutigen zytopathogenen Effekt (CPE), so dass ein weiterer diagnostischer Schritt, z.B. ein Immunoassay, erforderlich ist. Wegen der geringen Einsaatdichte kommt ein CPE auch bei gut wachsenden Viren manchmal erst bei einer zweiten oder dritten Passage zur Ausbildung.

Die Quantifizierung kann am einfachsten durch einen Plaquetest auf Zellmonolayern erfolgen. Die vorbereiteten Gewebekulturschalen werden nach Absaugen des Mediums mit 0,5–1 ml Probematerial beschickt und ca. eine Stunde inkubiert und vorsichtig geschwenkt. Danach wird die Probe wieder abgezogen und ein Overlaymedium mit 0,5 % Agar darübergegeben. Nach Bebrütung kann man ausgebildete Plaques gut sichtbar machen, indem man die erhalten gebliebenen Kulturzellen mit Kristallviolett anfärbt.

Ebenfalls häufig gebraucht ist die Most-Probable-Number-Methode (MPN). Hierbei wird eine Verdünnungsreihe des Konzentrates angefertigt und in fünf Parallelreihen auf Zellen in Multiwell-Platten gegeben. Nach der Inkubationszeit werden die Näpfchen mit CPE registriert und nach der entsprechenden Formel ausgewertet. Noch etwas aufwendiger ist die Bestimmung der Tissue Culture Infective Dose 50 (TCID<sub>50</sub>), wofür im allgemeinen mit acht Parallelwerten pro Verdünnungsschritt gearbeitet wird.

### **Molekulare Hybridisierung und Polymerase-Kettenreaktion**

Die molekulare Hybridisierung zum Nachweis und zur Quantifizierung von Viren in Wasserproben ist mit Erfolg durchgeführt worden. Es sind aber für den zuverlässigen Nachweis mindestens  $10^3$ – $10^4$  Viruskopien erforderlich. Das Verfahren ist daher der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) in diesem Zusammenhang unterlegen. Die PCR, gegebenenfalls nach reverser Transskription der RNA-Viren, hat für den Nachweis von enteralen Viren in Umweltproben einen erheblichen Fortschritt gebracht. Auf das Verfahren der PCR und die besonderen Probleme der Quantifizierung der Ergebnisse soll hier nicht eingegangen werden. Für die Bewertung ist es wichtig, dass in Umweltproben viele Substanzen enthalten sein können, welche die PCR hemmen. Ausserdem unterscheidet die Reaktion nicht zwischen vermehrungsfähigen Viren und inaktivierten oder inkompletten Viren (41). Durch Kombination mit einer vorgeschalteten Zellkultur können diese Schwierigkeiten umgangen werden, allerdings sind dann wieder die Fehlermöglichkeiten der Zellkultur zu beachten.



## Zusammenfassung

Viren im Trinkwasser haben häufig zu Erkrankungen und grösseren Epidemien geführt. Die dazu befähigten Viren lassen sich als enterale Viren zusammenfassen. Zu dieser Gruppe gehören neben den Enteroviren vor allem die Hepatitisviren A und E, Adenoviren, das Norwalkvirus sowie Reo- und Rotaviren. Sie sind überwiegend gegen Umwelteinflüsse relativ resistent und können in Wasser mehrere Tage, zum Teil jahrelang überleben. Der Nachweis im Wasser in den Konzentrationen, die hygienisch relevant sind, d.h. ein Virus pro 100 l oder pro 1000 l, ist aufwendig und für Routinezwecke nicht ausreichend zuverlässig. Die konventionelle Abwasserreinigung führt nur zu einer Reduktion um ca. 95 %, so dass in Oberflächengewässern häufig Viruskonzentrationen um 10/l gefunden werden. Bei der Aufbereitung zu Trinkwasser kann der Verfahrensschritt Flockung/Filtration zu einer nennenswerten Reduktion führen, durch die Behandlung mit Chlor oder Ozon lässt sich nach ausreichender Vorreinigung eine sichere Desinfektion erzielen.

## Résumé

Les virus dans l'eau potable ont souvent transmis des maladies et des épidémies. De tels virus font partie des virus entéraux. On trouve dans ce groupe les entérovirus mais surtout les virus de l'hépatite A et E, les adénovirus, le virus de Norwalk ainsi que les réo- et rotavirus. Ils sont résistants en milieu naturel et peuvent survivre plusieurs jours, voir plusieurs années dans l'eau. La mise en évidence des virus dans l'eau, à des concentrations qui ont une importance en matière d'hygiène (1 virus par 100 ou 1000 l), est difficile et n'est pas réalisable dans une surveillance de routine. L'épuration conventionnelle des eaux usées ne réduit la concentration des virus que d'environ 95 % et on dénombre jusqu'à 10 virus/l dans les effluents de surface. La floculation et filtration de ces eaux superficielles réduit la charge virale considérablement. Un traitement additionnel au chlore ou à l'ozone permet d'assurer la désinfection des eaux potables.

## Summary: «Waterborne Infections Caused by Viruses»

Viruses in drinking water have frequently caused sporadic cases and large outbreaks of diseases. The viruses which can be transmitted by this route may be comprised into the group of «enteric viruses». Beneath the various Enterovirus species mainly the hepatitisvirus A and E, Adenovirus, Rota-, Reo- and Calicivirus species belong into this group. They are resistant against environmental stress and are able to survive in water for several days or weeks, in groundwater even for more than a year. Their detection in drinking water in health relevant concentrations, i.e. one infectious particle in 100 l or 1000 l, needs much time and labour and is for various reasons not suitable for the continuous surveillance of drinking water. Conventional sewage treatment reduces the virus concentration for about 95 % to 99 %, therefore the receiving surface waters frequently show virus concentrations of 10 infectious particles per liter. During the preparation of drinking water from surface water, the



step of flocculation/sedimentation/filtration will lead to a considerable retention of viruses from the water. A safe disinfection is possible by chlorine or ozone after a careful pretreatment.

### Key words

Waterborne infections, Enteric viruses, Water treatment, Virus detection, PCR, Cell culture

### Literatur

- 1 *Anonymus*: Surface water treatment rule. Federal Register **54**, 27486–27541 (1989).
- 2 *Tougianidou, D. und Botzenhart, K.*: Neue Verfahren zur Virusdetektion in Wasser. GWF Wasser-Abwasser **134**, 653–659 (1993).
- 3 WHO: Guidelines for drinking water quality, II ed., Vol. 1. World Health Organisation, Geneva 1993.
- 4 *Hunter, P.R.*: Waterborne disease: epidemiology and ecology. J. Wiley & Sons, Chichester 1997.
- 5 *Naik, R.R., Aggarwal, R., Salunke, P.N. and Mehrotra, N.N.*: A large waterborne viral hepatitis E epidemic in Kampur, India. Bull. WHO **70**, 567–604 (1992).
- 6 *Bosch, A., Lucena, F., Diez, J.M., Gajardo, R., Blasi, M. and Jofre, J.*: Waterborne viruses associated with hepatitis outbreak. J. Am. Water Works Assoc. **83**, 80–83 (1991).
- 7 *Kim-Farley, R.J., Rutherford, G., Lichfield, P., Hsu, S-T., Orenstein, W.A., Schonberger, L.B., Bart, K.J., Lui, K-J. and Lin, C-C.*: Outbreak of paralytic poliomyelitis. Taiwan. Lancet *ii*, 1322–1324 (1984).
- 8 *Milde, N., Tougianidou, D. und Botzenhart, K.*: Occurrence of reoviruses in environmental water samples. Wat. Sci. Tech. **31**, 363–366 (1995).
- 9 *Althaus, H. und Jung, K.D.*: Feldversuche im mittelsandigen Grundwasserleiter Haltern zur Feststellung der Lebensdauer und des Transportverhaltens von Bakterien und Viren in Grundwasserleitern. Umweltforschungsplan des Bundesministers des Innern: Wasser, Forschungsbericht 10202202/10. UBA Berlin, 1985.
- 10 *Heng, B.H., Bob, K.T., Doraisingham, S. and Quek, G.H.*: Prevalence of hepatitis A virus infection among sewage workers in Singapore. Epidemiol. Infect. **113**, 121–128 (1994).
- 11 *Halliday, M.L., Kang, L.-Y., Zhou, T.-K., Hu, M.-D., Pan, Q.-C., Fu, T.-Y., Huang, Y.-S. and Hu, S.-L.*: An epidemic of hepatitis A attributable to the ingestion of raw clams in Shanghai, China. J. Infect. Dis. **164**, 852–859 (1991).
- 12 *Regli, S., Rose, J.B., Haas, C.N. und Gerba, C.P.*: Modeling the risk from Giardia and viruses in drinking water. Journal AWWA **83**, 76–84 (1991).
- 13 *Gerba, C.P. und Haas, C.N.*: Assessment of risks associated with enteric viruses in contaminated drinking water. In: Lichtenberg, J.J., Winter, J.A., Weber, C.I. and Fradkin, L. (ed.), Chemical and biological characterization of sludges, sediments, dredge, spoils, and drilling muds, ASTM STP 97. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, 489–494 (1988).
- 14 *Walter, R.*: Eliminationsmöglichkeiten von Viren in Kläranlagen. Wasser, Abwasser **24**, 161–182 (1981).
- 15 *Hughes, M.S., Coyle, P.V. und Connolly, J.H.*: Enteroviruses in recreational waters of northern Ireland. Epidemiol. Infect. **108**, 529–536 (1992).
- 16 *Johl, M., Kerkmann, M.-L., Kramer, U. und Walter, R.*: Virological investigation of the river Elbe. Wat. Sci. Tech. **24**, 205–208 (1991).

- 17 Tani, N., Shimamoto, K., Ichimura, K., Nishii, Y., Tomita, S. and Oda, Y.: Enteric virus levels in river waters. *Wat. Res.* **26**, 45–48 (1992).
- 18 Hahn, T. und Botzenhart, K.: Virologische Untersuchungen. In: Bayrisches Landesamt für Wasserwirtschaft (Hrsg.), Untersuchungen zur Keimreduktion im gereinigten Abwasser durch UV-Bestrahlung. Bayrisches Landesamt für Wasserwirtschaft. Informationsberichte 3/91, München 1991.
- 19 Walter, R., Macht, W., Dürkop, J., Hecht, R., Hornig, U. and Schulze, P.: Virus levels in rivers waters. *Wat. Res.* **23**, 133–138 (1989).
- 20 Schwartzbrod, L., Lucena, F. et Finance, C.: Etude quantitative de la pollution virale dans l'affluent et l'effluent d'une station d'épuration d'eaux résiduares. *J. Fr. Hydrol.* **10**, 7–20 (1979).
- 21 Slade, J.S.: Virus removal by a modern sewage treatment works. In: Butler, M. et al. (eds), *Viruses and disinfection of water and wastewater*. Univ. Surrey Press, Surrey U.K. 1982.
- 22 Hartemann, Ph., Block, J.C., Jeret, J.C. und Foliguet, J.M.: Enteroviren in Ab- und Oberflächengewässern. *Gesundheits-Ingenieur* **102**, 110–113 (1981).
- 23 Matthess, G. (Federführung): Lebensdauer von Bakterien und Viren in Grundwasserleitern – Zusammengefasster Abschlussbericht – Materialien 2/85 Umweltbundesamt. Erich Schmidt Verlag, Berlin 1985.
- 24 Yates, M.V., Gerba, C.P. and Kelley, L.M.: Virus persistence in groundwater. *Appl. Environm. Microb.* **49**, 778–781 (1985).
- 25 Bitton, G. and Gerba, P.: *Groundwater pollution microbiology*. John Wiley & Sons, New York 1984.
- 26 Keswick, B.H., Gerba, C.P., DuPont, H.L. and Rose, J.B.: Detection of enteric viruses in treated drinking water. *Appl. Environ. Microbiol.* **47**, 1290–1294 (1984).
- 27 WHO, Report of a WHO Scientific Group: Human viruses in water, wastewater and soil. WHO technical report series 639, World Health Organization, Geneva 1979.
- 28 Knorr, M.: Zur hygienischen Beurteilung der Ergänzung und des Schutzes grosser Grundwasservorkommen. *GWF* **92**, 104–110, 151–155 (1951).
- 29 Anonymus: Richtlinien für Trinkwasserschutzgebiete; I. Teil: Schutzgebiete für Grundwasser. DVGW Regelwerk, Arbeitsblatt W 101. Wirtschafts- und Verlagsgesellschaft Gas und Wasser m.b.H., Bonn 1995.
- 30 Sobsey, M.D.: Inactivation of health related microorganisms in water by disinfection processes. *Wat. Sci. Tech.* **21**, 179–185 (1989).
- 31 Herbold, K., Flehmig, B. and Botzenhart, K.: Comparison of ozone inactivation, in flowing water, of hepatitis A virus, Poliovirus I and indicator organisms. *Appl. Environ. Microbiol.* **55**, 2949–2953 (1989).
- 32 Botzenhart, K., Tarcson, G.M. and Ostruschka, M.: Inactivation of bacteria and coliphages by ozone and chlorine dioxide in a continuous flow reactor. *Wat. Sci. Tech.* **27**, 363–370 (1993).
- 33 Chang, J.Ch., Ossof, S.F., Lobe, D.C., Dorfman, M.H., Dumais, C.M., Qualls, R.G. and Johnson, D.: UV inactivation of pathogenic and indicator organisms. *Appl. Environm. Microbiol.* **49**, 1361–1365 (1985).
- 34 Wiedenmann, A., Fischer, B., Straub, U., Wang, C.-H., Flehmig, B. and Schoenen, D.: Disinfection of hepatitis A virus and MS-2 coliphage in water by ultraviolet irradiation: comparison of UV-susceptibility. *Wat. Sci. Tech.* **27**, 335–338 (1993).
- 35 van Olphen, M., Kapsenberg, J.G., Baan, E. and Kroon, W.A.: Removal of enteric viruses from surface water at eight waterworks in the Netherlands. *Appl. Environ. Microbiol.* **47**, 927–932 (1984).
- 36 Greenberg, A.E., Clesceri, L.S., Eaton, A.E. and Franson, M.A.H. (Hrsg.): *Standard methods for the examination of water and wastewater*. American Public Health Association, Washington DC 1992.



- 37 Block, J.C. and Schwartzbrod, L.: Viruses in water systems: Detection and identification. VCH Publ. Inc., New York 1989.
- 38 Schulze, E. (Hrsg.): Hygienisch-mikrobiologische Wasseruntersuchungen. G. Fischer Verlag, Jena 1996.
- 39 Vilaginès, Ph., Sarrette, B., Husson, G. and Vilaginès, R.: Glass wool for virus concentration at ambient water pH level. Wat. Sci. Tech. 27, 299–306 (1993).
- 40 Botzenhart, K. und Fleischer, J.: Enterale Viren. In: Schulze, E. (Hrsg.), Hygienisch-mikrobiologische Wasseruntersuchungen. G. Fischer, Jena 1996.
- 41 Maier, A., Tougianidou, D., Wiedenmann, A. and Botzenhart, K.: Detection of Poliovirus by cell culture and by PCR after UV disinfection. Wat. Sci Tech. 31, 141–146 (1995).

Prof. Dr. med. Konrad Botzenhart,  
Abteilung für Allgemeine Hygiene und Umwelthygiene,  
Hygiene-Institut der Universität Tübingen,  
Wilhelmstrasse 31, D-72074 Tübingen