

Parasiten

Andreas HASSL

Einführung

Die Angst vor den klassischen durch Wasser übertragenen Infektionskrankheiten wie Cholera oder Typhus ist in den industrialisierten Ländern in den vergangenen Dekaden verflogen, dank der Einführung und Einhaltung strikter Hygienemaßnahmen. Als Ziel solcher Hygienemaßnahmen wurde vorerst die absolute Freiheit von Trinkwasser von jeder Kontamination mit Pathogenen gefordert (41). Diese Forderung schien im Zeitalter der Entwicklung effektiver Dekontaminationsverfahren durchaus erfüllbar. Allerdings haben in den letzten Jahren grundlegende Veränderungen in der epidemiologischen Situation in den Industrienationen neue, bislang wenig beachtete oder gänzlich unbekannte Erreger von Infektionskrankheiten bei Mensch und Haustier auftauchen lassen, sogenannte „emerging pathogens“. Zu dieser Gruppe von Keimen zählen alle Wasser-assoziierten Parasiten des Menschen in den gemäßigten Breiten, mit Ausnahme von *Entamoeba histolytica*, dem Erreger der Amöbenruhr. **Parasiten** im strengen Sinne sind ein- oder mehrzellige, eukaryote Organismen, die auf Kosten eines anderen, artfremden Organismus, des Wirtes, leben und nicht den Reichen der Pflanzen oder der Pilze angehören (Definition durch Ausschluss). Dieses Leben ist häufig mit Energieraub in Form von Nahrungsbezug und/oder der Verletzung der körperlichen Integrität des Wirtes verbunden. Parasiten sind fast ausnahmslos phylogenetisch sehr hochentwickelte Formen, deren Lebensfunktionen manchmal sekundär auf die für ihr Überleben notwendigen reduziert wurden. Wasser-assoziierte Parasiten sind solche, die in ihrem Lebenszyklus zumindest ein Stadium besitzen, das über den Kontakt des Wirtes mit Trink-, Tränk- oder Brauchwasser zur Infektion oder Infestation (= Eindringen ohne Erregervermehrung und/oder ohne Immunreaktion) befähigt ist. Diese Definition umfasst die in der Englisch-sprachigen Literatur mit „waterborne“, „water-carried“ und „water-based“ umschriebenen Formen (38), im Deutschen sind dafür keine treffenden Begriffe verfügbar.

Bis jetzt sind im „Wasserfach“ nur Parasiten mit einer – zumindest potentiellen – Pathogenität für den Menschen von faktischer Bedeutung. Unter den humanpathogenen Erregern ist allerdings ein breites Spektrum an Virulenz (= krankmachende Potenz) zu finden: von obligatorisch parasitischen und immer krankmachenden Keimen wie *Entamoeba histolytica* (s. s.) über Parasiten, deren Virulenz von der Immunitätslage des Menschen und/oder von den Stammeigenschaften bestimmt wird (z.B. *Toxoplasma gondii*), bis hin zu solchen, die normalerweise frei leben sind, in bestimmten, manchmal durch den Menschen erst verursachten Situationen als Erreger wirken können (z.B. *Acanthamoeba sp.* unter Kontaktlinsen). Letztere sind sogenannte fakultative Parasiten; diese sind meist ubiquitär verbreitet, Kulturfolger und machen folglich einen erheblichen Teil der „emerging pathogens“ aus. Obligatorische, Wasser-assoziierte Parasiten weisen hingegen häufig ein Tierreservoir auf, sind manchmal sogar Erreger von Zoonosen (z.B. die Toxoplasmose, = Erkrankung hervorgerufen durch *Toxoplasma gondii*), wobei natürlich den in engem Kontakt mit dem Menschen lebenden Tieren (Haus-, Nutz- und Terrarientieren) die größte Bedeutung im Lebenszyklus des Parasiten zukommt (z.B. *Cryptosporidium parvum* (f.) „cal-

ve“ Reservoir: Rinder). Die hygienische Situation in den Industrienationen und die im Verhältnis zu Bakterien und Viren hohe Körpermasse der Infektionsstadien von Parasiten führen dazu, dass unter allen in Europa wichtigen, Wasser-assoziierten Parasiten des Menschen nur Einzeller (Protozoen) zu finden sind, mit einer Ausnahme, der Vogelbilharziose (Erreger der Badedermatitis). Die wichtigsten Taxa dieser Gruppe von Parasiten sind folgende (die Fragezeichen drücken unklare taxonomische Positionen aus, die Reihenfolge entspricht ihrer wahrscheinlichen Bedeutung als **Erreger**):

- *Cryptosporidium parvum* forma (?) „calf“ (Gregarinea ?, Apicomplexa), Reservoir: Rind (z.B. 14),
- *Cryptosporidium parvum* (f.) „human“ (Gregarinea ?, Apicomplexa), Reservoir: Mensch (29),
- *Giardia lamblia* (= *Lamblia intestinalis*, *Lamblia giardia*) (Diplomonadea, Retortamonada), Reservoir: unbekannt (Mensch) (25),
- *Toxoplasma gondii* (Coccidea, Apicomplexa), Reservoir: Katze (1, 3),
- *Entamoeba histolytica* (und *E. dispar*) (Lobosea ?, Rhizopoda), Reservoir: Mensch,
- Furkozerkarien, z.B. jener der Egelart *Trichobilharzia szidati* (Schistosomatidae, Plathelminthes), Reservoir: Wasservögel, Schnecken (8),
- Mikrosporidien, im speziellen *Enterocytozoon bieneusi* (Microsporea, Microspora), Reservoir: Schwein (5, 7, 36),
- die Gruppe der sogenannten freilebenden, fakultativ parasitischen Amöben, darunter *Naegleria fowleri* und *Acanthamoeba spp.* (Schizopyrenidae, Heterolobosa / Lobosea, Rhizopoda), diese Gruppe kann zusätzlich auch als Vektor fungieren,
- *Isospora belli* (Coccidea, Apicomplexa), Reservoir: Mensch (12) und
- *Cyclospora cayatenensis* (Coccidea, Apicomplexa), Reservoir: Mensch (39, 43), dieser Parasit ist möglicherweise in Europa nicht heimisch, sondern wird eingeschleppt.

Bei allen genannten Keimen, mit Ausnahme der auch in ihrer Rolle als Wasserparasiten eine Sonderstellung einnehmenden freilebenden Amöben und der Zerkarien, handelt es sich durchwegs um parasitäre Durchfallerreger, und um, zumindest im Endwirt (= Wirt, in dem die sexuelle Vermehrung stattfindet), Sporen- oder Oozysten-formende Einzeller (12). Nicht in diese Übersicht aufgenommen wurden die ausschließlich in den Tropen vorkommenden Wasser-assoziierten Parasitosen (z.B. die klassischen Bilharziosen), reine Tierkrankheiten und all jene Infektionen, bei denen der Infektionsweg über das Wasser zwar möglich, aber unwahrscheinlich ist (z: B. die Echinokokkosen).

Prämissen

Aus der Feststellung, dass es sich bei fast allen dieser Parasiten um „emerging pathogens“ handelt, ergibt sich fast zwangsläufig, dass unsere Kenntnis über die Biologie dieser Keime nur sehr unzureichend ist. Besonders unangenehm machen sich diese Wissenslücken in unserem Zusammenhang in der Systematik und Taxonomie bemerkbar. Die Differenzierung von morphologisch nicht trennbaren Formen erfolgt häufig über physiologische Merkmale, über die Wirtsspezifität oder über die Virulenz. Gruppen, die so oder über die manchmal umstrittenen molekular-

biologischen Verfahren charakterisiert wurden, werden häufig als Stämme (strains), gelegentlich als Formen (forma) bezeichnet, obwohl diese Bezeichnungen keine gültige taxonomischen Einheiten sind (21). Eine definitive Festschreibung der relevanten Arten ist aber ohne eine präzise, dauerhafte Bezeichnung der Spezies und der nachvollziehbaren Festlegung von Abgrenzungskriterien nicht möglich. So hat die nachträgliche Teilung der ehemaligen Art *Entamoeba histolytica* in zwei Arten, der gewebiszerstörenden, hochvirulenten *E. histolytica* und der schwach pathogenen *E. dispar*, zu erheblichen Unsicherheiten bei der Interpretation von Befunden in älterer Literatur geführt. Aus dem Stamm Microsporida sind die meisten Arten vermutlich noch unbeschrieben, die biologischen Eigenschaften der bekannten Arten sind, bis auf wenige Ausnahmen, fast unbekannt. Viele Aussagen in der Wasserparasitologie stützen sich daher auf Analogieschlüsse. Die Unterscheidung zwischen Parasitologien von **Trink-, Tränk- und Badewasser** ist derzeit nicht notwendig, da keiner der genannten Erreger als Kontaminante im Wasser für den menschlichen Verbrauch tolerierbar ist.

Man kann immer noch davon ausgehen, dass Fäkalverunreinigungen von Trink- und Brauchwasser der entscheidende Faktor für die Gefährdung der Gesundheit des Menschen bei Wasserkontakt ist. Allerdings kann die These, dass solche Verunreinigungen mittels Fäkal**indikatorkeimen** aus der Gruppe der Eubakterien verlässlich zu erkennen sind, im Fachgebiet der Wasserparasitologie nicht aufrecht erhalten werden. Es hat sich gezeigt, dass einerseits freilebende Tiere als fakultative Erreger oder als Vektoren auch im fäkal nicht kontaminierten Wasser auftreten können, und dass andererseits viele durch Fäkalverunreinigung ins Wasser gelangte Parasiten keinerlei erkennbare gesetzmäßige Übereinstimmung mit dem Auftreten von üblichen Indikatorkeimen zeigen. Das Auftauchen von Kryptosporidien im Trinkwasser ist z. B. zwar immer ein Beweis einer Fäkalverunreinigung, wenn auch manchmal einer durch freilebende Säugetiere und Wasservögel (15), konnte aber bislang in keinen Zusammenhang mit einem anderen, bakteriologischen oder physikalischen Befund gebracht werden (z. B. 35). Die Ursache dafür liegt in der verhältnismäßig langen Verweil- und Lebensdauer der üblicherweise im Wasser zu findenden Parasitenstadien, die die Verweildauer der Indikatorbakterien um Wochen übersteigt (28). Die Diagnose des Vorkommens eines Parasiten im Wasser ist also immer nur durch einen Einzelnachweis möglich. Ein mehrere Parasitenarten umfassendes Screening basiert auf verfahrenstechnisch unterschiedlichen Nachweisen, es ist daher logistisch anspruchsvoll, zeitraubend und, relativ zu einer bakteriologischen Beurteilung, teuer. Anzeigepflichtige Erkrankungen sind unter den Wasser-assoziierten Parasitosen Europas nicht zu finden.

Methodik des Parasitennachweises

Auf Grund der besonderen biologischen Eigenschaften der Keime ist die Anwendung von Parasiten-spezifischen Nachweisverfahren unumgänglich. Diese Verfahren müssen teilweise konsekutiv durchgeführt werden, wobei sich in den letzten Jahren ein Prozedere der ersten Wahl herausgebildet, das in Abb. 1 schematisch dargestellt wird. Gemäss der Definition benötigen Parasiten immer lebende Wirtszellen für ihre Vervielfachung. Die für uns relevanten, infektionstüchtigen Vermehrungsstadien vieler Parasiten lassen sich sogar häufig nur in einem intakten Wirts-

organismus heranziehen (z.B. Oozystenbildung von Apicomplexa). Die Diagnostik mittels Anzucht in Zellkulturen ist in vielen Fällen undurchführbar, der in vivo Nachweis aus ethischen und tierschützerischen Gründen unmöglich. Der **Direkte Nachweis** des Parasiten in der Wasserprobe ist die Methode der Wahl. Aus der Forderung nach "Keimfreiheit" resultiert der Zwang, Nachweismethoden mit einer extrem hohen Empfindlichkeit (= analytische Sensitivität; richtiger wäre es allerdings, hier den Inzidenz-abhängigen, positiven Vorhersagewert anzuwenden) zu benutzen. Eine hohe Empfindlichkeit eines Tests geht aber aus theoretischen Gründen immer zu Lasten der Treffsicherheit (= analytische Spezifität). Es ist bei Verwendung eines Testverfahrens mit einer hohen Empfindlichkeit also immer mit einer hohen Anzahl falsch posi-

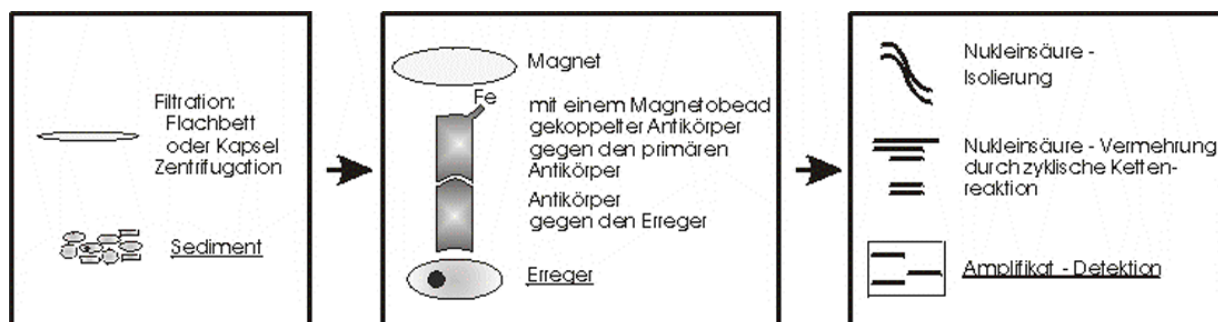


Abb. 1: Schema des Untersuchungsganges zum Nachweis von Parasiten in Wässern (verändert nach 18).

tiver Befunde zu rechnen. Diese Feststellung trifft selbstverständlich auch auf die heute in der Parasitologie allgemein üblich gewordene hochsensitive Diagnosetechnik, die **Polymerase-Kettenreaktion** (PCR) zu. Dieses gentechnologische, trotzdem aber direkte Nachweisverfahren mit seinen Abwandlungen (z.B. LCR) wurde zusehends zur Basis jedes Parasitennachweises im Wasser. Es basiert auf der Primer-induzierten, exponentiellen Vermehrung eines kurzen, Parasiten-spezifischen Nukleinsäurestücks. Trotz vieler labortechnischer Vorteile birgt dieses Verfahren auch eine Menge spezifischer Schwachstellen in sich: So ist es z. B. aus verfahrenstechnischen Gründen nicht möglich, eine beliebige Menge an vorgegebener Nukleinsäure (Template) auf die gesuchte Sequenz zu durchsuchen. Die Trefferwahrscheinlichkeit steigt also mit der Durchführung eines Voranreicherungsverfahrens (Parasitenkonzentrationsverfahren) erheblich an. Misslicherweise haben aber die Parasiten auf Grund ihrer Zugehörigkeit zu ganz unterschiedlichen Organismenreichen sehr unterschiedliche physikalische Eigenschaften. Konzentrationsverfahren nach der Größe (Filtration), der Dichte (Gradientenzentrifugation) oder der Oberflächenbeschaffenheit (Chromatographie) sind jeweils nur für eine Gruppe adaptierbar und trotzdem häufig mit einer sehr hohen Verlustrate verbunden. Mit deutlich weniger Aufwand an verschiedene Fragestellungen anpassbar und mit relativ geringen technischen Hilfsmitteln durchführbar ist hingegen die **Immungmagnetische Separation** (IMS, Schema in Abb. 1), die sich daher mehr und mehr als "gold standard" (= international übliches und weit verbreitetes Referenzverfahren) der Anreicherungsverfahren durchsetzt (16). Bei dieser Gelegenheit ist anzumerken, dass es beim Nachweis von Wasserparasiten bislang keine international oder national festgelegten Standardverfahren gibt, weder "gold standards" noch definitive. Ergebnisvergleiche

zwischen verschiedenen Laboratorien sind daher häufig unmöglich, die Verfahren werden innerhalb eines Laboratoriums auf die Bearbeitung der jeweiligen Problemstellung optimiert. Aus unserer Erfahrung mit der Detektion von Parasiten in Wässern lässt sich verallgemeinern, dass die Technik der IMS an chemisch nicht konservierten Proben von 1 bis 5 ml Schlamm und an Filtratsedimenten aus < 1000 l Wasser durchführbar ist. Derzeit ist diese Technik aber kommerziell nur für den Nachweis von *Cryptosporidium parvum* und Lamblien verfügbar. Die Wiederfindungsraten sind sehr unterschiedlich, hauptsächlich abhängig von der Partikelkonzentration im Wasser. Dies liegt an der Neigung von (Oo-)Zysten, sich untereinander und mit den Partikeln im Wasser zu verkleben. Experimentell ermittelt liegt die Wiederfindungsrate zwischen 0,2 und 75 % (4). Die Verluste eines nur im Rahmen bestimmter Fragestellungen notwendigen, **primären Sedimentgewinnungsverfahrens** - meist einer Membranfiltration, Zentrifugation oder Flockung, sind in diese Studie nicht mit einbezogen worden, können aber zusätzliche Sensitivitätsprobleme hervorrufen und konterkarieren die Bemühung um eine erhöhte Empfindlichkeit des Endverfahrens (13, 26). Die Kombination einer IMS mit einer qualitativ hochwertigen PCR kann unter günstigsten Bedingungen eine theoretische Nachweisbarkeitsgrenze von 0,125 Parasiten pro 100 l Wasser bei 100% iger Spezifität erreichen. In der Praxis der Trinkwasserüberwachung liegt das untere Detektionslimit allerdings bei ca. 10 Parasitenzellen in 100 l Wasser bei unbekannter Spezifität.

Gentechnologische und immunologische Verfahren haben üblicherweise den Nachteil, nicht zwischen lebenden (genauer: infektionsfähigen) und inaktiven oder toten Zellen unterscheiden zu können. Diese Unterscheidung ist aber bei der Beurteilung der Wirkung von Desinfektionsmaßnahmen notwendig. Daher wird manchmal versucht, mit einfachen, insensitiven und nur subjektiv beurteilbaren Lebendfärbungsverfahren (z.B. DAPI-Färbung) diesen Nachteil auszugleichen (34). Der überaus elegante theoretische Ansatz, die für die momentane Produktion von Proteinen notwendige, kurzlebige mRNS als Aktivitätsindikator nachzuweisen, kann in der Praxis kaum umgesetzt werden. Die im Wasser sich befindenden Parasitenstadien sind üblicherweise Zystenformen, die weitgehend inaktiv in der Bildung von Strukturproteinen sind. Die meisten basalen Stoffwechselfunktionen ähneln einander hingegen in allen tierischen Zellen so sehr, dass über solche Proteine ein Nachweis einer Art kaum geführt werden kann. Das Problem des Nachweises der Infektionsfähigkeit wurde bei Kryptosporidien auf einem sehr aufwendigen und nicht unumstrittenen Weg umgangen (6, 32): nach einer IMS werden die Parasitenzellen in vitro zum Schlupf aus der Oozyste bewegt und auf eine Schicht aus "feederzellen" aufgebracht. Nach zwei Tagen Inkubation sind alle infektionstüchtigen Parasiten in die Zellen eingedrungen und haben sich dort bis zum Achtfachen vermehrt. Nach gründlichem Waschen zum Entfernen allen toten Materials wird eine PCR zum Nachweis von Kryptosporidien mit dem Zellmaterial durchgeführt. Diese PCR zieht Vorteile aus der Anreicherung des Parasiten und der Säuberung des Materials, die Nachteile dieses Verfahrens liegen allerdings auch auf der Hand: die Befunderstellung dauert lange, die Technik ist sehr störungsanfällig durch Verunreinigungen, es werden selektiv bestimmte Typen an Oozysten erfasst, und die Kosten einer Untersuchung sind erheblich.

Signifikanz eines Nachweises

Während bakterielle Kontaminationen von Trink- und Brauchwässern lange bekannt sind weil sie früher zu gefürchteten Seuchenausbrüchen Anlass gaben, sind parasitäre Verunreinigungen weitgehend unbeachtet geblieben. Seit dem großen Kryptosporidiose-Ausbruch von Milwaukee in Wisconsin im Jahre 1993 mit ca. 400 000 Erkrankten und einigen Toten hat sich die Situation allerdings grundlegend geändert. Danach wurde weltweit nach Parasiten im Trink- und Brauchwasser gesucht. Vorerst wurde systematisch nur nach *Cryptosporidium parvum* gefahndet. Gleichzeitig erkannte man aber auch den hinter diesem Namen stehenden Komplex an Arten, sodass jetzt routinemäßig nach den beiden, wahrscheinlich gute Arten darstellenden Formen *C. parvum* „calf“ und *C. parvum* „human“ gesucht wird. Weitere 8 – 10 Kryptosporidienarten wurden aus dem Kot von Tieren, auch von Haustieren, beschrieben. Mindestens zwei weitere Arten können auch Menschen befallen. Obgleich in Zentraleuropa bei Screeninguntersuchungen immer wieder Kryptosporidien-Oozysten in erheblichen Mengen (bis 20 pro 100 ml) in regulär aufbereiteten Trinkwässern gefunden wurden, konnten bisher keine seuchenhaften Erkrankungszüge festgestellt werden (z.B. 23). In Österreich ist die jahreszeitliche Verteilung des Auftretens von Kryptosporidien im Wasser zweigipfelig (Abb. 2), die im Stuhl und im Kot folgt diesem Verlauf kaum (17). Dies liegt wohl daran, dass die Kryptosporidiose eine Erkrankung immunsupprimierter Wirte ist. Die Ausscheidung ist langdauernden und meist intermittierend, wohingegen die ausgeschiedenen Oozysten durch Ausspülung aus dem Untergrund in den Wasserkreislauf gelangen und die Inzidenz daher zeitverzögert den Niederschlagsmengen folgt.

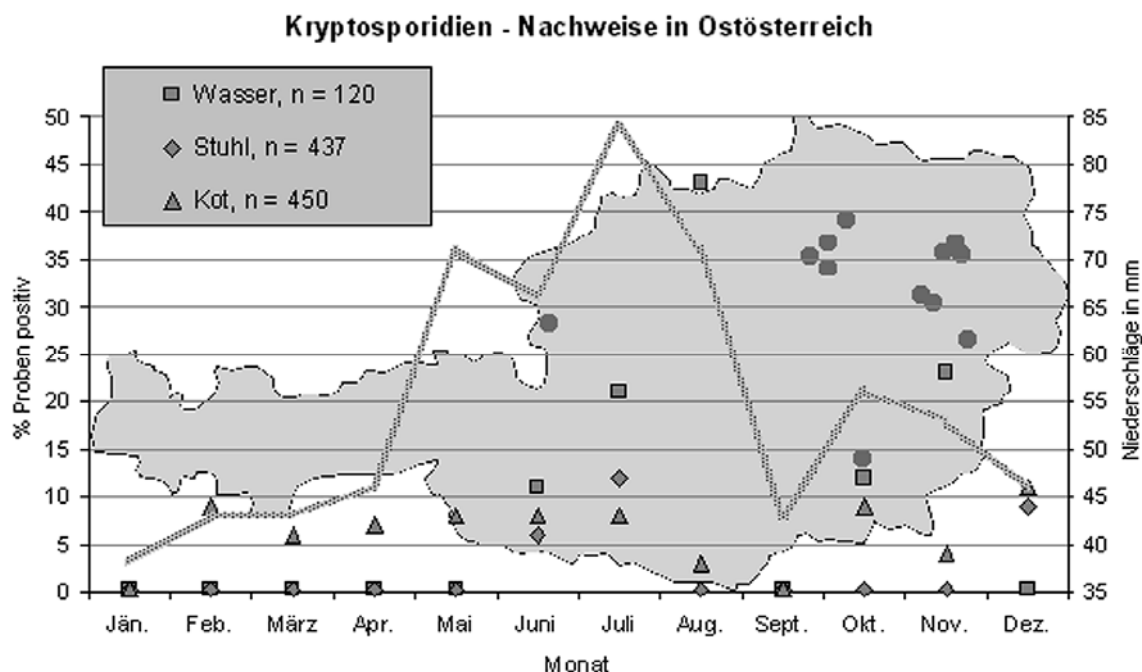


Abb. 2: Häufigkeit des Nachweises von Kryptosporidien in Wasser-, Stuhl- und Kotproben im Jahresverlauf in Ostösterreich (verändert nach 17, 37); Linie: durchschnittliche jährliche Niederschlagsmenge in mm; Österreichkarte: Kreise: Kryptosporidien-Fundstellen.

Zysten von *Giardia lamblia* werden gelegentlich als Kontaminanten im Wasser gefunden (25), Wasser-assoziierte Seuchenausbrüche wurden bislang aber nicht nachgewiesen. Im Falle der Lamblien ist die Artabgrenzung und die Feststellung der Wirtsspezifität noch schwieriger als bei den Kryptosporidien (27). Daher liegen verlässliche epidemiologische Daten aus Mitteleuropa nicht vor, auch in den eigenen Studien wurden nur in einer Probe einige nicht näher definierte Lamblien-Zysten gefunden. Eine ungewöhnliche Situation ergibt sich im Falle der Kontamination von Wasser mit *Toxoplasma gondii*-Oozysten. Wurde vor wenigen Jahren noch dem Infektionsweg über das Wasser kaum ein Stellenwert zugewiesen, so belegen neuere Publikationen die Existenz dieses Weges (1, 22). In Österreich liegen dank des Schwangeren-Screenings Daten zur epidemiologischen Situation der Toxoplasma-Infektion bei Erwachsenen vor. Studien zur Belastung von Wasser mit Toxoplasma-Oozysten gibt es jedoch weltweit kaum. Solche Studien, die auch mithelfen könnten, die festgestellten Ungewissheiten im Infektionsweg aufzuklären, sind meines Erachtens eine dringende, brisante Aufgabe in der Wasserparasitologie. Erste Erfahrungen mit den speziellen Eigenheiten eines Nachweisverfahrens, das u.a. die Eigenheit der Autofluoreszenz von Toxoplasma-Oozysten nutzt, liegen seit kurzem vor (31).

Eine Sonderstellung unter den Wasser-assoziierten Parasitosen nimmt die Badedermatitis ein, hervorgerufen durch das Eindringen von ozellaten (beäugten) Furkozerkarien (Larvenstadien mit einem Gabelschwanz) von Bilharzieren (Pärchenegeln) mit Vögeln als Endwirt, insbesondere von solchen der Art *Trichobilharzia szidati* (8). Dabei handelt es sich um ein relativ harmloses Geschehen, das aber zu großen wirtschaftlichen Folgeschäden führen kann. Obwohl es sich nur um kurz andauernde, juckende Ausschläge bei Badenden handelt, mussten schon Badeseen zur Sommerferienzeit gesperrt werden und die betroffenen Gemeinden erhebliche Einnahmehausfälle in Kauf nehmen. Der Nachweis des Erregers in den als Zwischenwirten fungierenden Wasserschnecken (insbesondere in *Lymnea stagnalis*) ist zwar technisch recht einfach (lichtinduzierter Zerkarienschlupfversuch), gleichzeitig aber wegen der geringen Trefferwahrscheinlichkeit recht unzuverlässig. Zudem ergibt sich nach einem erfolgreichen Nachweis das Problem der Konsequenzen. Besitzern von kleinflächigen Badetümpeln ist jedoch die regelmäßige Kontrolle ihrer Schneckenpopulationen ans Herz gelegt, da ein Abfischen und Vernichten der Schnecken zu einer Reduktion der Belästigung führt.

Als selten erwogene Eigentümlichkeit von manchen freilebenden, in allen Biofilmen zu findenden Amöben - früher: Limax-Amöben - soll, neben ihrer gelegentlichen sehr hohen Humanpathogenität (*Naegleria fowleri*), erwähnt werden, dass sie ingestierte Futterbakterien und Mikrosporidien unzerstört wieder ausscheiden können (30). Da diese Exkretion Stunden, manchmal Tage nach der Aufnahme erfolgt und die Amöben recht mobil sind, können sie die Keime aktiv verschleppen. Diese Problematik trifft erwiesen auf das Vertragen von *Pseudomonas aeruginosa* im Wasserversorgungssystem von Krankenhäusern und Pflegeanstalten zu (42). Die Verteilung der Amöben mit ihren intrazellulären Mitreisenden kann als Zystenstadium auch über Luftströme erfolgen. Eine Kontamination von aufbereitetem, auch entkeimtem Wasser ist daher bei Luftzutritt immer möglich.

Risikobewertung

Die Bewertung des menschlichen Gesundheitsrisikos durch die Aufnahme von Wasser-assoziierten Parasitenstadien fällt sehr differenziert aus. Während der Einfluss von *Isospora belli*, einem seltenen, AIDS-assoziierten Erreger, auf die Gesundheit zumindest in unseren Breiten wohl nur gering sein dürfte, kann die wasserübertragene Kryptosporidiose auch beim augenscheinlich Immunkompetenten einen schweren Durchfall hervorrufen und beim AIDS-Patienten zum Tod führen. Daher liegen für die Kryptosporidiose und die Lambliose etliche fundierte Risikoabschätzungen vor (z.B. 2, 10). Die Frage erhebt sich, ob der routinemäßige Nachweis von Parasiten in Wässern einen wirtschaftlichen und/oder volksgesundheitlichen Nutzen bringt. Ausgangspunkt der Überlegungen ist, dass - theoretisch - eine einzige aufgenommene, infektiönstüchtige Zyste oder Oozyste einiger Parasiten zur Erkrankung führt. In der Praxis liegt die Infektionsdosis - abhängig von der Parasitenart, der Reife und dem Invasionsmechanismus - zwischen 10 und 150 Einheiten (nicht gleich der Zellzahl). In Abwässern wurden allerdings Konzentrationen von 330 Kryptosporidien-Oozysten pro 100 ml festgestellt. Aber auch in Oberflächengewässern wurden durchaus Oozystenmengen gefunden, die bei üblichen Trinkgewohnheiten zur Infektion führen (z.B. 44 in 100 ml (10)). Beim Verdacht auf das Vorliegen einer Fäkal-kontamination ist eine Überprüfung des Wassers sinnvoll. Schwieriger liegen die Dinge im Falle eines Screenings von Trinkwässern: ausgehend von den EU-Empfehlungen eines tolerablen Restinfektionsrisikos (European Union Council Directive 98/83/EC), das bei Kryptosporidien mit einer Infektion pro 100 000 Wasserkonsumenten und Jahr angesetzt wird (40), und der üblichen Annahme des Konsums von 2 l Wasser pro Person und Tag, liegt die tolerierbare Parasitenmenge bei etwa $10E-7$ pro 100 ml (= 1 Oozyste pro $10E6$ l) Wasser. 1000 m³ Wasser muss also auf das Auftreten von nur einer Oozyste untersucht werden. Die geforderte Sensitivität des Nachweisprozederes liegt um etliche Größenordnungen unterhalb der derzeitig technisch machbaren unteren Grenze (ca. 15 Oozysten in 1000 l). Daraus ergeben sich zwei zwingende Schlussfolgerungen: Sind in einer Wasserprobe Parasiten unter Verwendung welcher Nachweisttechnik auch immer feststellbar, ist das Wasser zum menschlichen Gebrauch ungeeignet, weitere Analysen sind nicht mehr erforderlich. Zweitens sind die verfügbaren Testverfahren im Rahmen einer **routinemäßigen parasitologischen Trinkwasser-Überwachung** derzeit nicht in der Lage, die verlangten Anforderungen an die Sensitivität zu erfüllen und daher dafür unbrauchbar (9). Selbst als hochsensitiv angesehene Verfahren wie der PCR haften unter diesen Bedingungen intolerabel niedrige negative Vorhersagewerte an. Diese Feststellung soll aber keinesfalls als Aufforderung missverstanden werden, in jedem Fall auf einen Parasitennachweis im Wasser zu verzichten. Im Falle des Verdachtes einer Kontamination einer Quelle mit parasitenhaltigem Material muss immer ein Erregernachweis versucht werden, da – wie oben dargelegt – keine verlässlichen Indikatoren für eine Kontamination mit Parasiten existieren.

Entkeimung

Wiederum mit Ausnahme von *Cryptosporidium sp.* und *Giardia lamblia* ist über die Widerstandskraft der Wasserparasiten gegen Desinfektionsverfahren und Entfernungstechniken sehr

wenig bekannt. Im Analogieschluss kann aber davon ausgegangen werden, dass auch andere Zysten und Oozysten sehr hohe Widerstandskräfte aufweisen (z.B. 23, 24). Aus den Studien zu diesem Thema lässt sich zusammenfassend feststellen, dass zwar alle üblichen Wasseraufbereitungsverfahren die Überlebensdauer von Parasiten verkürzen, eine effektive Rückhaltung oder Abtötung findet aber erst bei in der Praxis unüblichen oder nicht praktikierbaren Kräften oder Konzentrationen statt (z.B. UV-Bestrahlung mit 5 kJ/m^2 ; 3% Wasserstoffperoxid; Filtration durch $0,2 \mu\text{m}$ Membranen). Derzeit kann ein funktionstüchtiges Wasserversorgungssystem mit „state of the art“ Aufbereitungsanlagen nicht vor einem Kryptosporidiose-Ausbruch schützen (11). Der effizienteste Schutz vor Wasser-assoziierten Parasitosen ist folglich die Benutzung von kontaminationsfreien Quellen und ein lückenfreies Wasserversorgungssystem (19).

Ausblick und Resumè

Wasser-assoziierte Parasitosen werden in den industrialisierten Ländern vorwiegend als "emerging diseases" betrachtet. Das Auftauchen dieser "neuen" Erkrankungen hat seine Ursachen hauptsächlich in der zunehmenden Bevölkerungsdichte, der immer intensiveren Landwirtschaft mit ihren hohen Beständen an Nutz- und Haustieren, dem steigenden Wasserverbrauch und dem daraus resultierenden Mangel an unkontaminierten Wasservorräten, aber auch in einer Sensibilisierung der Wahrnehmung und in den Veränderungen in der Immunitätslage der Bevölkerung. Die genannten Entwicklungen sind aber alle weiter fortschreitend und unumkehrbar, weshalb einerseits mit einer Intensivierung und einer Vermehrung der Zahl solcher Erkrankungsausbrüche zu rechnen ist, und andererseits mit dem zusätzlichen Auftauchen ganz neuer, bislang - zumindest beim Menschen - unbekannter Keime. Als Paradebeispiel dafür gilt die Kryptosporidiose, die vor dem Auftreten des AIDS für den Menschen als völlig harmlose Infestation galt, meist sogar als reine Tierkrankheit angesehen wurde. Nun hingegen haben Wasser-assoziierte Protozoen-Infektionen einen messbaren Einfluss auf den Verlauf und die Dauer des menschlichen Lebens, zumindest auf die von AIDS-Patienten (20). Die Altersstruktur der Bevölkerung in den Industrienationen und die Zunahme von Immunsuppressionen, auch andere als durch eine HIV-Infektion, legen es allerdings nahe, dass diese "opportunistischen" Parasitosen signifikanten Einfluss auf die Gesundheit der gesamten Bevölkerung gewinnen werden. Dazu kommen noch Überlegungen über den Einfluss einer globalen Klimaänderung, ausgehend von der Annahme einer Erwärmung der industrialisierten, teilweise dichtbesiedelten Nordhalbkugel. Mit einer Verschärfung der epidemiologischen Situation und spektakulären seuchenhaften Ausbrüchen aus diesem Grund muss in den nächsten Dekaden gerechnet werden (33). Trotzdem kann mit der Einführung erweiterter oder mit der strikten Durchführung bestehender Hygienemaßnahmen im Bereich des Wasserwesens und einer klugen, nachhaltigen Nutzung der Wasserreserven den Auswirkungen und der Häufigkeit solcher Ausbrüche entgegen gewirkt werden.

Literatur

1. Aramini, J. J.; Stephen, C.; Dubey, J. P.; Engelstoft, C.; Schwantje, H.; Ribble, C. S.: Potential contamination of drinking water with *Toxoplasma gondii* oocysts. *Epidemiology and Infection* 122 (1999), 2: 305-315.

2. Barrell, R. A. E.; Hunter, P. R.; Nichols, G: Microbiological standards for water and their relationship to health risk. *Comm Dis Public Health* 3 (2000), 1: 8-13.
3. Benenson, M. W.; Takafuji, E. T.; Lemon, M.; Greenup, R. L.; Sulzer, A. J.: Oocyst-transmitted toxoplasmosis associated with ingestion of contaminated water. *NEJM* 307 (1982): 666-669.
4. Bukhari, Z.; McCuin, R. M.; Fricker, C. R.; Clancy, J. L.: Immunomagnetic separation of *Cryptosporidium parvum* from source water samples of various turbidities. *Applied and Environmental Microbiology* 64 (1998), 11: 4495-4499.
5. Cotte, L.; Rabodonirina, M.; Chapuis, F.; Bailly, F.; Bissuel, F.; Raynal, C.; Gelas, P.; Persat, F.; Piens, M. A.; Trepo, C.: Waterborne outbreak of intestinal microsporidiosis in persons with and without human immunodeficiency virus infection. *Journal of Infectious Diseases* 180 (1999), 6: 2003-2008.
6. DiGiovanni, G. D.; Hashemi, F. H.; Shaw, N. J.; Abrams, F. A.; LeChevallier, M. W.; Abbaszadegan, M.: Detection of infectious *Cryptosporidium parvum* oocysts in surface and filter backwash water samples by immunomagnetic separation and integrated cell culture-PCR. *Applied and Environmental Microbiology* 65 (1999), 8: 3427-3432.
7. Dowd, S. E.; Gerba, C. P.; Pepper, I. L.: Confirmation of the Human-Pathogenic Microsporidia *Enterocytozoon bienersi*, *Encephalitozoon intestinalis*, and *Vittaforma comeae* in Water. *Applied and Environmental Microbiology* 64 (1998) 9: 3332-2235.
8. Dvorak, J.; Sattmann, H.; Horak, P.; Konecny, R.: Bird schistosomes from freshwater snails in Austria, with some notes on current problems (Digenea, Schistosomatidae). *Mitt. Österr. Ges. Tropenmed. Parasitol.* 21 (1999): 69-76.
9. Fairley, C. K.; Sinclair, M. I.; Rizak, S.: Monitoring not the answer to cryptosporidium in water. *Lancet* 354 (1999), 9183: 967-969.
10. Gibson, C. J.; Haas, C. N.; Rose, J. B.: Risk assessment of waterborne protozoa: current status and future trends. *Parasitology* 117 (1998): 205-212.
11. Goldstein, T.; Juranek, D. D.; Ravenholt, O.; Hightower, A. W.; Martin, D. G.; Mesnik, J. L.; Griffiths, D.; Bryant, A. J.; Reich, R. R.; Herwaldt, B. L.: Cryptosporidiosis: An outbreak associated with drinking water despite state-of-the-art water treatment. *Annals of Internal Medicine* 124 (1996), 5: 459.
12. Goodgame, R. W.: Understanding intestinal spore-forming protozoa: Cryptosporidia, Microsporidia, Isospora, and Cyclospora. *Annals of Internal Medicine* 124 (1996), 4: 429-441.
13. Graczyk, T. K.; Cranfield, M. R.; Fayer, R.: Recovery of waterborne oocysts of *Cryptosporidium* from water samples by the membrane-filter dissolution method. *Parasitology Research* 83 (1997), 2: 121-125.
14. Graczyk, T. K.; Fayer, R.; Cranfield, M. R.: Zoonotic transmission of *Cryptosporidium parvum*: Implications for water-borne cryptosporidiosis. *Parasitology Today* 13 (1997), 9: 348-351.

15. Graczyk, T. K.; Fayer, R.; Trout, J. M.; Lewis, E. J.; Farley, C. A.; Sulaiman, I.; Lal, A. A.: Giardia sp. cysts and infectious Cryptosporidium parvum oocysts in the feces of migratory Canada geese (Branta canadensis). *Applied and Environmental Microbiology* 64 (1998), 7: 2736-2738.
16. HallierSoulie, S.; Guillot, E.: Detection of cryptosporidia and Cryptosporidium parvum oocysts in environmental water samples by immunomagnetic separation-polymerase chain reaction. *Journal of Applied Microbiology* 89 (2000), 1: 5-10.
17. Hassl, A.; Benyr, G.; Sommer, R.: Occurrence of Cryptosporidium sp. in feces and water samples in Austria. *Acta Tropica* (2001), in press.
18. Hassl, A.; Vorbeck-Meister, I.; Sommer, R.; Rotter, M.: Nachweis und Identifikation von Kryptosporidien in Kot-, Stuhl- und Umweltproben: Entwicklung einer Modultechnik. *Mitt. Österr. Ges. Tropenmed. Parasitol.* 21 (1999) 45-50.
19. Havelaar, A.; deHollander, G.; Teunis, P.; Evers, E.; Versteegh, A.; vanKoten, J.; Slob, W.: Balancing the risks of drinking water disinfection: DALY's on the scale. *HRWM 1, IAWQ 19th Biennial International Conference, 21-26 June 1998, Vancouver, Canada* (1998): 2-9.
20. Hicks, J.N.: Pollutants in our water: Effects on human health and the environment. *Otolaryngol. Head Neck Surg.* 119 (1998): 502-505.
21. Hyde, J. E.: *Molecular Parasitology*. (1990) Open University Press, Milton Keynes.
22. Isaac-Renton, J.; Bowie, W. R.; King, A.; Irwin, G. S.; Ong, C. S.; Fung, C. P.; Shokeir, M. O.; Dubey, J. P.: Detection of Toxoplasma gondii Oocysts in Drinking Water. *Applied and Environmental Microbiology* 64 (1998), 6: 2278-2280.
23. Karanis, P.; Schoenen, D.; Seitz, H. M.: Distribution and removal of Giardia and Cryptosporidium in water supplies in Germany. *Water Sci. Technol.* 37 (1998): 9 – 18.
24. Karanis, P.; Schoenen, D.; Seitz, H. M.: Waterborne parasites Cryptosporidium, Giardia and Acanthamoeba spp: inactivation by UV irradiation, distribution in water supplies in Germany and removal by water treatment. *HRWM 32, IAWQ 19th Biennial International Conference, 21-26 June 1998, Vancouver, Canada* (1998): 129-133.
25. Mahbubani, M. H.; Schaefer, F. W.; Jones, D. D.; Bej, A. K.: Detection of Giardia in environmental waters by immuno-PCR amplification methods. *Current Microbiology* 36 (1998), 2: 107-113.
26. McCuin, R. M.; Bukhari, Z.; Clancy, J. L.: Recovery and viability of Cryptosporidium parvum oocysts and Giardia intestinalis cysts using the membrane dissolution procedure. *Canadian Journal of Microbiology* 46 (2000), 8: 700-707.
27. McIntyre, L.; Hoang, L.; Ong, C. S. L.; Lee, P.; Isaac-Renton, J. L.: Evaluation of molecular techniques to biotype Giardia duodenalis collected during an outbreak. *Journal of Parasitology* 86 (2000), 1: 172-177.
28. Medema, G. J.; Bahar, M.; Schets, F. M.: Survival of Cryptosporidium parvum, Escherichia coli, faecal Enterococci and Clostridium perfringens in river water: influence of temperature and autochthonous microorganisms. *Wat. Sci. Tech.* 35 (1997), 11/12: 249-252.

29. Meinhardt, P. L.; Casemore, D. P.; Miller, K. B.: Epidemiologic aspects of human cryptosporidiosis and the role of waterborne transmission. *Epidemiologic Reviews* 18 (1996), 2: 118-136.
30. Michel, R.; Schmid, E. N.; Boker, T.; Hager, D. G.; Muller, K. D.; Hoffmann, R.; Seitz, H. M.: Vannella sp harboring Microsporidia-like organisms isolated from the contact lens and inflamed eye of a female keratitis patient. *Parasitology Research* 86 (2000), 6: 514-520.
31. Netzl, S.; Hassl, A.; Vorbeck-Meister, I.; Sommer, R.: Nachweis von Toxoplasma gondii-Oozysten in Sedimenten von experimentell aufbereiteten Trinkwässern . Vortrag & abstract *ÖGHMP Tagung Goldegg* (2000).
32. Rochelle, P. A.; Ferguson, D. M.; Handojo, T. J.; Deleon, R.; Stewart, M. H.; Wolfe, R. L.: Development of a rapid detection procedure for Cryptosporidium, using in vitro cell culture combined with PCR. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 43 (1996), 5: S72.
33. Rose, J. B.; Epstein, P. R.; Lipp, E. K.; Sherman, B. H.; Bernard, M.; Patz, J. A.: Climate variability and change in the United States: Potential impacts on water- and foodborne diseases caused by microbiologic agents. *Environmental Health Perspectives* 109 (2001): 211-221.
34. Simmons, O. D.; Sobsey, M. D.; Heaney, C. D.; Schaefer, F. W.; Francy, D. S.: Concentration and detection of Cryptosporidium oocysts in surface water samples by method 1622 using ultrafiltration and capsule filtration. *Applied and Environmental Microbiology* 67 (2001), 3: 1123-1127.
35. Sommer, R.; Hassl, A.; Rotter, M.: Untersuchungen über das Auftreten von Cryptosporidien-Oocysten bzw. anderen ausgewählten Parasiten in einigen niederösterreichischen Wasservorkommen. *Projektbericht & Gutachten*; Klinisches Institut für Hygiene, (2000), 27pp.
36. Sparfel, J. M.; Sarfati, C.; Liguory, O.; Caroff, B.; Dumoutier, N.; Gueglio, B.; Billaud, E.; Raffi, F.; Molina, J. M.; Miegerville, M.; Derouin, F.: Detection of microsporidia and identification of Enterocytozoon bienersi in surface water by filtration followed by specific PCR. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 44 (1997), 6: 78-78.
37. Stauffer, F.; Makristathis, A.; Hassl, A.; Nowotny, S.; Neudorfer, W.: Microbiological irrigation water quality of the Marchfeld Canal system. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 203 (2001), 5-6: 445-450.
38. Steiner, T. S.; Thielman, N. M.; Guerrant, R. L.: Protozoal agents: What are the dangers for public water supply?. *Annu Rev Med* 48 (1997): 329-40.
39. Sturbaum, G. D.; Ortega, Y. R.; Gilman, R. H.; Sterling, C. R.; Cabrera, L.; Klein, D. A.: Detection of Cyclospora cayentanensis in wastewater. *Applied and Environmental Microbiology* 64 (1998), 6: 2284-2286.
40. Szewzyk, U.; Szewzyk, R.; Manz, W.; Schleifer, K.-H.: Microbiological Safety of Drinking Water. *Annu. Rev. Microbiol.* 54 (2000): 81-127.
41. United States Environmental Protection Agency: National primary drinking water regulations: interim enhanced surface water treatment final rule. (1998) Url: <http://www.epa.gov/ogwdw000/mdbp/ieswtrfr.html>.

42. Walochnik, J.; Picher, O.; Aspöck, Ch.; Ullmann, M.; Sommer, R.; Aspöck, H.: Syntopes Vorkommen und humanmedizinisch relevante Interaktion von "Limax-Amöben" und Bakterien in Feuchthabitaten im Krankenhaus. *Mitt. Österr. Ges. Tropenmed. Parasitol.* 20 (1998): 93-100.
43. Wurtz, R.: Cyclospora - A Newly Identified Intestinal Pathogen of Humans. *Clinical Infectious Diseases* 18 (1994), 4: 620-623.

Univ.-Prof. Dr. Andreas Hassl
Klinisches Institut für Hygiene
Kinderspitalgasse 15
A-1095 Wien

Micro-Biology Consult Dr. Andreas Hassl
Ameisgasse 63/4/12
A-1140 Wien