Viren im Klärschlamm : epidemiologische Gegebenheiten und praktische Bedingungen für eine effektive Hygienisierung

Autor(en): **Siegl, G.**

Objekttyp: **Article**

Zeitschrift: **Schweizer Archiv für Tierheilkunde SAT : die Fachzeitschrift für Tierärztinnen und Tierärzte = Archives Suisses de Médecine Vétérinaire ASMV : la revue professionnelle des vétérinaires**

Band (Jahr): **125 (1983)**

PDF erstellt am: **30.04.2024**

Persistenter Link: https://doi.org/10.5169/seals-593359

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.

Ein Dienst der *ETH-Bibliothek*
ETH Zürich, Rämistrasse 101, 8092 Zürich, Schweiz, www.library.ethz.ch

http://www.e-periodica.ch

Schweiz. Arch. Tierheilk. *125,* 661–666, 1983

Viren im Klärschlamm: Epidemiologische Gegebenheiten und praktische Bedingungen für eine effektive Hygienisierung

G. Siegl

Viren sind als Krankheitserreger beim Menschen, beim Tier und im Pflanzenreich bekannt. Sie bestehen im wesentlichen aus einem Genom aus DNS oder RNS, das von Schutzstrukturen aus Proteinen, Glykoproteinen und gelegentlich Lipiden umgeben ist. Da sie keinen eigenen Stoffwechsel besitzen, sind sie für ihre Vermehrung auf die Hilfe einer lebenden Zelle angewiesen. Im Klärschlamm sind Viren deshalb in der Regel nur dann zu finden, wenn sie mit menschlichen und tierischen Exkrementen bzw. mit Pflanzenbestandteilen in das Abwasser gelangen. Sie reichern sich in diesem Milieu nicht weiter an, sondern werden vielmehr verdünnt und unterliegen einer Vielzahl virus-adsorbierender und -inaktivierender Vorgänge.

1. Epidemiologische Überlegungen

Die Art und die Menge der im Abwasser vorhandenen Viren ist ein Spiegel der epidemiologischen und hygienischen Situation im Einzugsgebiet der Kanalisation. In Mitteleuropa werden im Klärschlamm deshalb vor allem menschenpathogene Viren nachgewiesen. Viren von spezifisch veterinärmedizinischer Bedeutung gelangen mit dem Kot kleiner Haustiere und gelegentlich mit dem Abwasser aus Schlachthöfen in die Kanalisation. Die wichtigsten bisher im Abwasser und Klärschlamm nachgewiesenen Virusarten sind in der Tabelle 1 zusammengefasst. Bei den aufgeführten Vertretern der Picornaviren, Reoviren, Parvoviren, Papovaviren, Adenoviren, Paramyxoviren und Coronaviren handelt es sich um Erreger, die in den Exkrementen infizierter, aber nicht notwendigerweise auch erkrankter Menschen und Tiere in grosser Zahl – im Einzelfall bis zu 10^{11} Partikel pro Gramm Stuhl – ausgeschieden werden. Viele dieser Viren sind in der Schweiz endemisch. Sie kommen deshalb regelmässig im Abwasser und Klärschlamm vor, ihre Konzentration unterliegt jedoch jahreszeitlichen Schwankungen. Andere – so z. B. das Hepatitis-A-Virus, die dem Norwalk-Agens verwandten Viren oder die Wildtypen der Polioviren werden nachweislich durch den Reiseverkehr aus Endemiegebieten importiert. Die so eingeschleppten Polioviren treffen dabei auf eine Bevölkerung, die als Ergebnis der allgemeinen Schutzimpfung in allen Altersgruppen weitgehend unempfindlich für eine Infektion ist. Völlig anders liegen dagegen die Verhältnisse bei der Hepatitis A. Hier haben serologische Studien gezeigt (*Frösner et al.,* 1974; *Siegl,* 1979), dass gerade jene Altersgruppen, die besonders reiseaktiv sind, in zunehmendem Masse keine Antikörper mehr gegen das Hepatitis-A-Virus aufweisen. Angehörige dieser Bevölkerungsgruppe können sich daher bei Reisen in Endemiegebiete der Hepatitis A – und diese beginnen bereits im Mittelmeerraum – leicht mit dem Virus infizieren. Der weitere Verlauf der Infektion begünstigt anschliessend die Einschleppung des Virus, denn die Hepatitis A weist mit 2–4

Tabelle 1: Relative Häufigkeit des Nachweises verschiedener Viren im Oberflächenwasser, Abwasser und Klärschlamm

Virus	Oberflächenwasser	Abwasser und Klärschlamm
Picornaviren		
Polioviren[a)]	++	+++
Coxsackie-Viren	++	+++
Orphan-Viren	+++	+++
Hepatitis-A-Virus	++	(+)
Reoviren	+	++
Rotaviren	(+)	++
Parvoviren	(+)	+
Norwalk-Agens	+	+
Papovaviren	(+)	+
Adenoviren	+	++
Paramyxoviren		
Parainfluenzaviren	(+)	+
Coronaviren	–	+

[a)] attenuierte Stämme und Wildtypen

Wochen eine relativ lange Inkubationszeit auf und das Virus wird in grossen Mengen bereits bis zu 10 Tage vor dem Auftreten der klinischen Erkrankung im Stuhl ausgeschieden. Wieweit die sich heute abzeichnende Möglichkeit einer Schutzimpfung der Einschleppung des Hepatitis-A-Virus in der Zukunft entgegenwirken kann, ist im Augenblick noch nicht abzusehen.

Bei der Diskussion der Verbreitung viraler Infektionen über das Abwasser und den Klärschlamm muss schliesslich den Rotaviren und den Parvoviren besondere Beachtung geschenkt werden. Nach den Angaben verschiedener Autoren sind Rotaviren beim Menschen weltweit für annähernd 50% aller im Kindesalter auftretenden und zum Teil schwer verlaufenden Diarrhoen verantwortlich (*Ward und Ashley*, 1980). Dem Rotavirus des Menschen serologisch sehr nahe verwandte Viren sind auch bei verschiedenen Tierarten, u.a. beim Kalb und beim Schwein als Erreger von Durchfallserkrankungen nachgewiesen worden. Infektionen verschiedener Spezies durch ein und dasselbe Virus sind nach den bisher verfügbaren Erkenntnissen zumindest sehr wahrscheinlich. Zudem sind Rotaviren durch ihre Genomstruktur (*Sato et al.*, 1982; *Schroeder et al.*, 1982) wie die Influenzaviren zur Bildung neuer Varianten prädestiniert. Die Bildung derartiger Varianten liess sich mit Hilfe der Methoden der Molekularbiologie bereits beobachten. Es scheint deshalb nur eine Frage der Zeit zu sein, bis Rotaviren mit einem neuen Wirtsspektrum und neuen Pathogenitätsmerkmalen aufgefunden werden.

Eine beachtenswerte genetische Variabilität ist schliesslich auch den Parvoviren eigen. Das beste Beispiel hierfür ist die Ausweitung des Wirtsspektrums des Virus der felinen Panleukopenie (des Erregers der Katzenseuche) auf den Hund. Die neue, offensichtlich in der Zeit um 1977 entstandene Virusvariante (*Tratschin et al.*, 1982), die heute als Hundeparvovirus bezeichnet wird, manifestierte sich innerhalb kürzester

Zeit in den Hundepopulationen auf allen Kontinenten und führte zumindest während der ersten Phase ihrer Ausbreitung zu beträchtlichen Verlusten in Zuchtbetrieben. Das Hundeparvovirus ist mit Sicherheit im Abwasser und Klärschlamm zu finden. Eine erneute Erweiterung seines Wirtsspektrums auf bisher nicht betroffene Tierarten oder gar auf den Menschen ist nicht auszuschliessen. Daneben sind Parvoviren bekannt, die sich sowohl in Zellen menschlicher Herkunft als auch in den Zellen verschiedener Tierarten vermehren können (*Siegl,* 1976). Es ist deshalb sicher angezeigt, Parvoviren mit ihrer bekannten Resistenz gegen Umwelteinflüsse in die Diskussion der durch Abwasser und Klärschlamm verbreiteten viralen Krankheitserreger einzubeziehen.

2. Struktur, Stabilität und Inaktivierung der Viren

Das Schicksal der mit den Exkrementen an das Abwasser und schliesslich über den Klärschlamm an die Umgebung abgegebenen Viren ist in der Vergangenheit wiederholt und eingehend untersucht worden (siehe Beitrag *D. Strauch*). In der Regel beschränken sich diese Analysen jedoch notgedrungen auf leicht züchtbare Viren, so z.B. auf die bekannten Vertreter der Picornaviren, die Reoviren und die Adenoviren. Das Hepatitis-A-Virus, Parvoviren und parvovirus-ähnliche Erreger und nicht zuletzt auch die Rotaviren blieben dagegen wegen der Schwierigkeiten, die ihr Nachweis aus Abwasser und Klärschlamm bietet, bisher weitgehend unberücksichtigt. Es sind aber gerade diese Viren, die sich durch eine ausserordentliche Stabilität auszeichnen und die daher hohe Anforderungen an die Verfahren zur Hygienisierung des Klärschlammes stellen.

Nach den bisher vorliegenden Beobachtungen (*Subrahmanyan,* 1977) schwankt die Konzentration der in der Tabelle 1 aufgeführten Viren im rohen Abwasser zwischen 100 und 1000 gewebekulturinfektiösen Einheiten pro ml. Im Laufe der Aufarbeitung des Abwassers nimmt diese Konzentration entsprechend der charakteristischen Stabilität der einzelnen Virusarten ab, so dass je nach Virus und je nach Behandlung im Klärschlamm noch zwischen 0 und 90% der ursprünglich vorhandenen infektiösen Einheiten nachgewiesen werden können. Die Stabilität eines Virus wird dabei im wesentlichen von seiner chemischen Zusammensetzung und von seiner Struktur bestimmt. So besitzen von den in Tabelle 1 erwähnten Viren lediglich die Paramyxoviren und die Coronaviren eine Lipidhülle. Bei allen anderen handelt es sich um Partikel mit einem Proteinkapsid, das mit Ausnahmen einiger hier nicht erwähnter Genera der Picornaviren über den Bereich von pH 3 bis pH 9 stabil ist. Diese Viren sind relativ resistent gegenüber der Einwirkung von Temperaturen > 20 °C. Mit Ausnahme des Hepatitis-A-Virus und der Parvoviren werden sie in verdünnten Pufferlösungen jedoch durch Erhitzen auf 56 °C während 30 min inaktiviert. Faktoren, die diese Inaktivierung in ihrem Ablauf beschleunigen oder verzögern können, sind ein von den physiologischen Verhältnissen abweichender pH-Wert sowie die Anwesenheit von Salzen, Detergenzien, und nicht zuletzt von Schutzkolloiden. Die Wirkung einiger dieser Faktoren lässt sich am Beispiel der Hitzeinaktivierung des Poliovirus und des Hepatitis-A-Virus verdeutlichen.

Tabelle 2: Vergleich der Hitzestabilität des Poliovirus (Typ 2) mit der des Hepatitis-A-Virus

Inkubation	Poliovirus		Hepatitis-A-Virus	
	H_2O	+ 1 M $MgCl_2$	H_2O	+ 1 M $MgCl_2$
Zimmertemperatur	6×10^8 [a)]	6×10^8	4×10^5	6×10^5
60 °C, 10 min	<10	6×10^4	2×10^5	1×10^5
65 °C, 10 min	<10	6×10^2	2×10^4	4×10^5
80 °C, 10 min	n.d. [b)]	5×10^1	2×10^1	2×10^4

[a)] Gewebekultur – infektiöse Einheiten pro ml
[b)] nicht durchgeführt
(nach *Siegl et al.,* 1983, unveröffentlicht)

In einer verdünnten Pufferlösung (10 mM Tris/HCl, pH 7,2) beginnt der Zerfall der Polioviruspartikel bereits als Folge einer Inkubation während 10 min bei Temperaturen zwischen 40 und 50 °C (*Breindl,* 1971). Wird das Virus für die gleiche Zeitspanne bei 56 °C bzw. 60 °C inkubiert, so ist keine Infektiosität mehr nachweisbar (Tabelle 2). Unter den gleichen Versuchsbedingungen behält das Hepatitis-A-Virus jedoch seine volle biologische Aktivität und selbst nach 10 min bei 80 °C sind noch Spuren seiner Infektiosität nachweisbar. Durch Zugabe von Magnesiumchlorid bis zu einer Konzentration von 1 M in der Inkubationslösung lässt sich die Temperaturresistenz beider Viren drastisch steigern. Vom Poliovirus sind bei 60 °C unter diesen Verhältnissen noch 0,01% und selbst nach Inkubation bei 80 °C noch Spuren der Infektiosität nachweisbar. Beim Hepatitis-A-Virus bleiben nach Erhitzen auf 80 °C immerhin noch 10% der Infektiosität erhalten. Die ausserordentliche Stabilität des Hepatitis-A-Virus äussert sich auch dadurch, dass in einigen Versuchen selbst eine Behandlung von mehr als 12 Stunden bei 60 °C nicht ausreichte, um das Virus vollständig zu inaktivieren (*Scheid R. und Deinhardt F.,* unveröffentlicht). Eine vergleichbare Stabilität ist für die Parvoviren charakteristisch. Hier haben Versuche ergeben, dass Wildstämme dieser Viren erst durch Inkubation bei 80 °C während 10 min inaktiviert werden können (*Siegl,* 1976). Wie schwierig es ist, von den unter kontrollierten Laborbedingungen durchgeführten Inaktivierungsversuchen Rückschlüsse auf die tatsächliche Inaktivierung der Viren unter den Bedingungen der Abwasser- und Klärschlammaufbereitung zu ziehen, zeigen die Untersuchungen von *Ward und Ashley* (1978). Diese Autoren untersuchten den Verlauf der thermischen Inaktivierung verschiedener Picornaviren und des Reovirus in Klärschlammproben mit unterschiedlichem Feststoff-Gehalt. Dabei zeigte sich, dass z. B. das Poliovirus durch die Eindikkung des Schlammes eine bemerkenswerte Stabilisierung erfahren kann. Im Gegensatz dazu nahm die Resistenz des Reovirus mit zunehmender Konzentrierung des Schlammes in signifikanter Weise ab. Weitere Untersuchungen ergaben schliesslich, dass für die Zunahme der Labilität des Reovirus die mit der Eindickung des Schlammes einhergehende Konzentrierung von Detergenzien verantwortlich war. Für die Stabilisierung der Picornaviren scheinen dagegen biologische «Faktoren» verantwortlich zu sein, die sich durch Pasteurisierung des Schlammes inaktivieren lassen (*Eisenhardt et al.,* 1977).

Tabelle 3: Inaktivierung von Viren im Klärschlamm durch Gammastrahlen

Virus	Dosis[a)]
Hepatitis-A-Virus	1200 krad
Parvoviren	800 krad
Reoviren	550 krad
Enteroviren	425 krad
Poliovirus (Vakzine)	190 krad
Adenovirus	350 krad

[a)] Reduktion der Infektiosität um 90%
(nach *Epp und Metz,* 1980; *Stettmund von Brodorotti und Mahnel,* 1980; *Scheid und Deinhardt,* unveröffentlicht)

Sowohl die Ergebnisse der Inaktivierungsversuche unter kontrollierten Laborbedingungen, als auch die Resultate der mit Abwasser und Klärschlamm unter praxisnäheren Verhältnissen durchgeführten Studien weisen darauf hin, dass am Ende der Abwasser- und Klärschlammaufarbeitung infektionstüchtige Viren vorhanden sind, die mit dem Klärschlamm auf die Felder verbracht werden können. Der grösste Teil dieser Viren ist dabei an die Feststoffe adsorbiert. *Derbyshire und Brown* (1978) konnten zeigen, dass derartige adsorbierte Enteroviren für Schweine selbst 8 Tage nach Ausbringung noch infektiös sein können. Grundsätzlich scheint die Dauer der Infektiosität der mit dem Klärschlamm auf die Felder verbrachten Viren von der Umgebungstemperatur, von der Luftfeuchtigkeit und von der Sonneneinstrahlung abzuhängen. So liessen sich infektiöse Viren im Winter noch 180 Tage nach Ausbringung nachweisen, während die Nachweisbarkeit im Sommer auf 25 Tage beschränkt war (*Eisenhardt et al.,* 1977; *Lund,* 1971). Viren sind, wie erwähnt, auch im adsorbierten Zustand bei Ingestion infektiös. Sie können aber in Abhängigkeit des pH-Wertes des Bodens (*Subrahmanyan,* 1977; *Derbyshire und Brown,* 1978) durch Regenwasser eluiert werden und finden sich dann im Oberflächenwasser.

3. Schlussfolgerungen

Die Frage, welche Viruskonzentration in dem zu Düngezwecken verwendeten Klärschlamm unbedenklich ist bzw. welche Konzentration für Mensch und Tier ein erhöhtes Infektionsrisiko bedeutet, kann anhand der vorliegenden Befunde nicht eindeutig beantwortet werden. Wenn immer jedoch eine effektive Hygienisierung des Klärschlammes angestrebt werden soll, darf sich die Planung nicht wie bisher in erster Linie an der relativ geringen Stabilität des Poliovirus orientieren, sondern muss die Stabilität des Hepatitis-A-Virus, möglicherweise sogar die Stabilität der Parvoviren in Betracht ziehen. Für die effektive Inaktivierung dieser Viren bieten sich in Ergänzung bestehender Verarbeitungsverfahren des Abwassers und des Klärschlammes grundsätzlich drei Möglichkeiten an: Einmal eine Pasteurisierung des Schlammes bei wenigstens 70 °C, weiterhin eine Verschiebung des pH-Wertes in den alkalischen Bereich (> pH 11) durch Zusatz von $Ca(OH)_2$ und schliesslich noch die Inaktivierung von Viren durch Bestrahlung mit Gammastrahlen. Die Ergebnisse von Bestrahlungsversuchen (Tabelle 3) zeigen jedoch, dass – vergleichbar den Verhältnissen bei der

Thermoinaktivierung – für eine erfolgreiche Vernichtung der Infektiosität des Hepatitis-A-Virus und der Parvoviren etwa die doppelte Strahlendosis notwendig ist, die ansonsten ausreicht, um Reoviren bzw. die bekannten Picornaviren zu inaktivieren (*Epp und Metz,* 1980; *Stettmund von Brodorotti und Mahnel,* 1980; *Scheid R. und Deinhardt F.,* unveröffentlicht).

Zusammenfassung

Am Beispiel der Polioviren, des Hepatitis-A-Virus, der Rotaviren und der Parvoviren werden Faktoren aufgezeigt, die bei der Diskussion der Klärschlammhygienisierung zu berücksichtigen sind. Zu diesen Faktoren gehören die epidemiologische Situation (Vorkommen der Viren, Immunitätslage der Bevölkerung, Schutzmöglichkeiten durch Vakzination, Variabilität der Viren) und die Stabilität der ins Abwasser abgegebenen Viren gegenüber Umwelteinflüssen. Ein Vergleich der Thermostabilität und der Resistenz von verschiedenen Viren gegenüber Gammastrahlen unterstützt die Feststellung, dass Verfahren zur Hygienisierung des Klärschlammes sich in Zukunft zumindest an der Stabilität des Hepatitis-A-Virus orientieren müssen.

Résumé

Les facteurs qui doivent être pris en considération dans l'hygiénisation des boues d'épuration sont discutés en prenant comme exemples le Poliovirus, le virus de l'hépatite A, le Rotavirus et le Parvovirus. Ces facteurs concernent entre autre la situation épidémiologique (présence des virus, immunité de la population, possibilités de vaccination, diversité des virus) et la stabilité des virus dans les eaux d'égouts vis-à-vis des influences de l'environnement. Une comparaison de la stabilité thermique et de la résistance contre les rayons gamma de différents virus montre qu'à l'avenir, les méthodes d'hygiénisation des boues d'épuration doivent être adaptées aux conditions de stabilité du virus de l'hépatite A.

Literatur

Breindl M.: The structure of heated poliovirus particles. J. gen. Virol. *11,* 147–156 (1971). – *Derbyshire J. B. and Brown E. G.:* Isolation of animal viruses from livestock waste, soil and water. J. Hyg. Camb. *81,* 295–302 (1978). – *Eisenhardt A., Lund E. and Nissen B.:* The effect of sludge digestion on virus infectivity. Water Res. *11,* 579–581 (1977). – *Epp Ch. und Metz H.:* Virologische Untersuchungen an bestrahlten Klärschlämmen. Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B *171,* 86–95 (1980). – *Frösner G. G., Papaevangelou G., Bütler R., Iwarson S., Lindholm A., Couroucephauty A., Haas H. and Deinhardt F.:* Antibody against Hepatitis A in 7 European countries. 1. Comparison of prevalence data in different age groups. Amer. J. Epidemiol. *110,* 63–69 (1979). – *Lund E.:* Observations of the virus binding capacity of sludge. in: Adv. Water Pollut. Res. (S.H. Jenkins, ed) Pergamon Press New York, London, Vol. 1, 241–245 (1971). – *Sato K., Inaba Y., Miura Y., Tokuhisa S. and Matumoto S.:* Antigenic relationship between rotaviruses from different species as studied by neutralization and immunofluorescence. Arch. Virol. *73,* 45–50 (1982). – *Schroeder B. A., Street J. E., Kalmakoff J. and Bellamy A. R.:* Sequence relationship between the genome segments of human and animal rotavirus strains. J. Virol. *43,* 379–385 (1982). – *Siegl G.:* The Parvoviruses. In «Virology Monographs» (S. Gard and C. Hallauer, eds.) Vol. 15, Springer Verlag, Wien, New York (1976). – *Siegl G.:* Reisehepatitis. Therapeutische Umschau *36,* 228–232 (1979). – *Stettmund von Brodorotti H. und Mahnel H.:* Inaktivierung von Viren und Bakterien im Klärschlamm durch Gammastrahlen. Zbl. Bakt. I. Orig. B. *170,* 71–81 (1980). – *Subrahmanyan T. P.:* Persistence of enteroviruses in sewage sludge. Bull WHO *55,* 431–434 (1977). – *Tratschin J.-D., McMaster G. K., Kronauer G. and Siegl G.:* Canine parvovirus: Relationship to wild-type and vaccine strains of feline panleukopenia virus and mink enteritis virus. J. gen. Virol. *61,* 33–41 (1982). – *Ward R. L. and Ashley C. S.:* Identification of detergents as components of wastewater sludge that modify the termal stability of reoviruses and enteroviruses. Appl. Environ. Microbiol. *36,* 889–897 (1978). – *Ward R. L. and Ashley C. S.:* Effects of wastewater sludge and its detergents on the stability of rotavirus. Appl. Environ. Microbiol. *39,* 1154–1158 (1980).