

Renata Kocwa-Haluch, Robert Michalec

## Występowanie rotawirusów w środowisku wodnym

Rozpowszechnione na całym świecie infekcje rotawirusowe, powodujące stwierdzoną w 1992 r. śmiertelność 4+5 milionów osób rocznie [1,2], są przyczyną zgonów niemowląt, małych dzieci, ludzi starszych i osób z upośledzoną odpornością, występują też w Polsce i z tego względu wymagają szerszej popularyzacji.

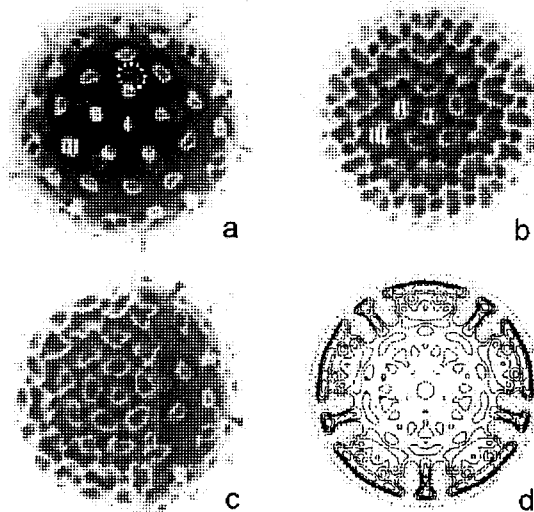
Rotawirusy zostały odkryte w 1973 roku przez J. M. Bishopa w toku badań, z zastosowaniem mikroskopu elektronowego, próbek pobranych z dwunastnicy dzieci chorych na ostre zapalenie żołądka i jelit. W latach osiemdziesiątych ukazało się już ponad 1000 publikacji zagranicznych opisujących wielokierunkowe badania nad rotawirusami. Późniejsze publikacje, których dziś nie sposób zliczyć, szeroko rozwinęły wiedzę o rotawirusach. W polskim piśmiennictwie problem wirusowego zapalenia błon śluzowych żołądka i jelit (*gastroenteritis*) został zaprezentowany już w latach 1979–1983, jednak pierwszym autorem, który opublikował obszernie prace poglądowe i doświadczalne na temat rotawirusów ludzkich był Z. Jarzabek, który je scharakteryzował, opisał metody diagnostyczne, możliwości ich hodowli, objawy kliniczne, epidemiologię zachorowań, serologię i immunologię, a także podsumował problemy wirusowych zakażeń przewodu pokarmowego i przeanalizował perspektywy wprowadzenia profilaktyki czynnej w tym zakresie [3].

W późniejszych badaniach, obejmujących 243 niemowląt w warunkach szpitalnych w ciągu roku, wykazano rolę rotawirusów w etiopatogenezie ostrych zespołów biegunkowych. Zachorowalność dzieci w wieku 10+12 miesięcy wynosiła 54,3% i występowała w okresie jesienno-zimowym [4]. W roku 1997 powstało w Polsce obszerne i nowoczesne opracowanie, w którym opisano między innymi budowę i fizyczno-chemiczne właściwości rotawirusów, objawy kliniczne, odpowiadź immunologiczną, immunoprofilaktykę, epidemiologię zakażeń rotawirusowych i diagnostykę laboratoryjną [5]. Dostarczyło ono bardzo cennych uwag w sprawie opracowywanych wówczas szczepionek, ponieważ w krajach na różnych szerokościach geograficznych występują rotawirusy z różnymi antygenami. Postawiono wówczas tezę, że dopiero szczepionka indukująca heterotypową odporność mogłaby zmniejszyć liczbę zgonów dzieci w wieku 6+24 miesięcy o 30%.

### Charakterystyka rotawirusów

Rotawirusy, przynależne do rodziny *Reoviridae*, z gatunkiem *Rotavirus hominis* [6,7], są RNA-wirusami, których nazwa pochodzi od łacińskiego wyrazu *rota* – koło, ponieważ w negatywnie barwionych preparatach przypominają w mikroskopie elektronowym wygląd koła ze szprychami, piastą i obręczą [3,4]. Część środkową (genom) stanowi dwuniciowy

RNA, natomiast kapsyd otaczający (opłaszczający) genom złożony jest z jednostek białkowych zwanych kapsomerami. Łącznie części te stanowią nukleokapsyd. Wymiary rotawirusów wahają się w granicach 60+80 nm [8], nie mają osłonki lipidowej i wykazują symetrię ikosaedralną (kubiczną) (rys. 1).



Rys. 1. Trójwymiarowa struktura rotawirusów (a – cząstki dwuwarstwowe, b – cząstki jednowarstwowe, c – wcięcie w strukturze dwuwarstwowej pokazujące warstwę wewnętrzną, d – część cząstki dwuwarstwowej prostopadłej do ikosaedralnej, pięciokrotnej osi przebiegającej przez środek wirusa) [8]

Wskutek braku osłonki lipidowej nie ulegają zmianie pod wpływem rozpuszczalników lipidowych. Cząstki rotawirusów mogą być dwukapsydowe (charakteryzujące się różnicami antygenowymi w wewnętrznym i zewnętrznym kapsydie) i jednokapsydowe, a niekiedy też bez kapsydu. Tylko cząstki dwukapsydowe są zakaźne [3,4], powodując ostre zapalenia żołądkowo-jelitowe (*gastroenteritis*).

### Właściwości rotawirusów

Duże zainteresowanie rotawirusami oraz dążenia do popularyzacji wiedzy o nich spowodowane zostały wyjątkowo groźnymi ich cechami, a mianowicie [2]:

- są najpowszechniejszą przyczyną występującego na całym świecie wirusowego ostrego zapalenia żołądka i jelit (*gastroenteritis*), zwłaszcza u noworodków i dzieci do drugiego roku życia,
- są najczęstszą przyczyną śmiertelności z powodu tej choroby,
- wykazują najwyższą zdolność zakaźną wśród wirusów przenoszonych drogą wodną,
- powodują 100-krotnie większą śmiertelność wśród ludzi starszych, a także wyższą o 50% śmiertelność u osób z obniżoną odpornością,
- są najbardziej odporne, ze wszystkich RNA-wirusów, na działanie promieni ultrafioletowych.

## Przeżywalność, wrażliwość i oporność rotawirusów

W wodach powierzchniowych rotawirusy mogą się utrzymywać od kilku dób do kilku tygodni, w zależności od warunków środowiskowych, a w wodzie wodociągowej nawet przez 2 miesiące. Ponadto *Rotavirus* może przeżywać dłużej w różnych typach wód, niż *Poliovirus* znany z wytrzymałości na niekorzystne warunki zewnętrzne [2]. Rotawirusy dają się dobrze przechowywać w temperaturach poniżej  $-20^{\circ}\text{C}$ , przeżywają 1-godziną inkubację w temperaturze  $56^{\circ}\text{C}$ , są niewrażliwe na  $\text{pH}=3+10$  oraz odporne na eter, chloroform i enzymy proteolityczne. Wrażliwe są na działanie 95% etanolu, który zaleca się do dezynfekcji narzędzi medycznych, sprzętu i szkła laboratoryjnego, poza tym na fenole, formalinę, podchloryn i lizol. Jodyna okazała się mało skuteczna, szczególnie przy dezynfekcji materiału kałowego [3,4]. Badając wpływ środków dezynfekcyjnych wykazano, że rotawirusy są stosunkowo odporne na działanie chloramin, promieni UV i ozonu, ale wrażliwe na chlor i dwutlenek chloru [2].

## Zachorowania i przebieg choroby

Zachorowania spowodowane przez rotawirusy występują na całym świecie i we wszystkich grupach wiekowych, najczęściej w okresie jesienno-zimowym. Atakowane są niemowlęta i dzieci, przeważnie w wieku 6+24 miesięcy, osoby dorosłe i w podeszłym wieku. Szczególnie podatni są ludzie po przeszczepach i z obniżoną odpornością. Badania przeprowadzone w Stanach Zjednoczonych w 1988 r. wykazały, że spośród miliona dzieci w wieku 1+4 lat, chorych na ostrą biegunkę rotawirusową, w ciągu jednego roku zmarło 150 dzieci. Autorzy podkreślili ogromne koszty leczenia, dokonano bowiem 500 tys. wizyt lekarskich i 67 tys. hospitalizacji [2,9]. W krajach Trzeciego Świata na rotawirusowe zapalenia przewodu pokarmowego każdego roku choruje 125 milionów dzieci [2].

Objawy chorobowe mogą wahać się od umiarkowanych do ostrych i śmiertelnych, ale zdarzają się także przypadki bezobjawowe. Zakażenie rozprzestrzenia się w organizmie przez 1+2 doby, choroba trwa zwykle 4+10 dób, wyjątkowo dłużej. Zaczyna się wymiotami i biegunką, przy temperaturze ciała  $37,6+38,5^{\circ}\text{C}$ , rzadko wyższej, trwającej 2 doby. W przypadkach ostrych dochodzi do silnego odwodnienia organizmu, wymagającego dożylnego nawodnienia [2,4]. W tabeli 1 podano przykładowe dane dotyczące zachorowań, hospitalizacji i zgonów spowodowanych ostrym zapaleniem przewodu pokarmowego [2].

Tabela 1. Procentowy udział infekcji objawowych, przypadków śmiertelnych i hospitalizowanych na skutek zakażeń rotawirusowych [2]

Infekcje objawowe	28+80
Przypadki śmiertelne:	
– w populacji USA	0,01
– hospitalizowane	0,12
– ludzi starszych	1,0
– pacjentów z przeszczepami	50
Hospitalizacja:	
– dzieci z chorobą kliniczną	3,6
– dzieci z wszystkimi rodzajami <i>gastroenteritis</i>	30+60
– dorośli z wszystkimi rodzajami <i>gastroenteritis</i>	5+10

## Szczepienia ochronne

Ze względu na występowanie różnych antygenów wśród wielu szczepów rotawirusów nie udało się dotąd przygotować uniwersalnej szczepionki. Jakkolwiek u wielu ludzi, dobranych losowo, wykazano odczynem wiązania dopełniacza obecność przeciwciał dla rotawirusów w surowicy krwi (powyżej 71%),

nie spowodowały one uodpornienia przed ponownym zakażeniem. Nawet gdy stwierdzono przeciwciała klasy IgA, które wykazują zdolność ochronną przed powtórny zakażeniem, to odporność utrzymywała się tylko przez kilka miesięcy. Obecne w surowicy przeciwciała stanowią immunologiczny ślad zakażenia i ich wykrywanie może być użyteczne w ocenie krążących w populacji rotawirusów. W ciągu ostatnich lat opracowano szczepionki, które testuje się klinicznie w wielu krajach [2,3].

## Rotawirusy w środowisku wodnym

### Ścieki

Wykrycie rotawirusów w ściekach surowych zostało opisane w roku 1981 [10], a w ściekach oczyszczonych – w roku 1984 [11]. Poszukując wirusów w ściekach, osadach ściekowych i w ostrygach, wykryto we wszystkich badanych materiałach rotawirusy, obok enterowirusów i wirusa żółtaczki zakaźnej typu A (HAV) [12], przy czym było to możliwe dopiero po zastosowaniu metody PCR (*Polymerase Chain Reaction* – łańcuchowa reakcja polimerazy). Jest to nowoczesna, bardzo czuła metoda, stosowana obecnie do wykrywania wirusów w różnych środowiskach, podczas gdy metoda rutynowa sprawia ogromną trudność w wykryciu rotawirusów. Metoda PCR polega na powieleniu *in vitro* swoistych fragmentów DNA lub RNA przy udziale enzymu polimerazy. Efektem tej metody jest zwielokrotnienie materiału genetycznego wirusa, dzięki czemu w próbie można wykazać obecność bardzo małych ilości DNA lub RNA przez namnożenie fragmentu kwasu nukleinowego, w liczbie kopii mogącej wynosić  $10^6$  [12–14]. Rezultaty ilościowych oznaczeń rotawirusów w ściekach surowych i oczyszczonych są bardzo różne, gdyż zależą między innymi od zastosowanej metody badań (tab.2), przy czym wiele krajów wyników nie podaje.

Tabela 2. Przykłady zawartości rotawirusów w  $1\text{ dm}^3$  ścieków [2]

Kraj*	Zakres	Średnia
Ścieki surowe		
Bolivia	100+250	163
Brazylia	99+650000	90700
Hiszpania	25+653	156
Hiszpania	1000+14000	5 407
Hiszpania	36+653	218
USA	150+374	75
USA	1+321	9,8
USA	14+2980	443
Ścieki oczyszczone		
Anglia	0+1500	750
USA	7+374	1687
USA	48+3228	1012

\* dane wg różnych autorów

## Wody naturalne

Wody powierzchniowe, głównie rzeki, są odbiornikami ścieków oczyszczonych w różnym stopniu, bądź nie oczyszczonych. Na temat występowania rotawirusów w wodach jest mało publikacji, jednakże dających konkretne dowody na obecność rotawirusów w wodach podziemnych (tab.3) [2,15].

To, że wody rekreacyjne i przybrzeżne często zanieczyszczone są wirusami jelitowymi, stanowiąc zagrożenie dla zdrowia kąpiących się, zostało już udowodnione [14,16]. Wśród tych wirusów stwierdzono obecność rotawirusów, ostrzegając przed niebezpieczeństwem infekcji ludzi w czasie kąpieli [17].

Tabela 3. Przykłady zawartości rotawirusów w 1 dm<sup>3</sup> wód naturalnych [2]

Kraj* lub Stan*	Zakres	Średnia
Wody powierzchniowe		
Arizona	0+2	–
Brazylia	3+45	3
Kanada	14+41	29
Kolumbia	4+6	5
Meksyk	0+35	4
Wody podziemne		
Arizona	–	4
Bolivia	0+4	1
Meksyk	0+6	–

\* dane wg różnych autorów

Takie samo ostrzeżenie wysunięto w 1993 r. w odniesieniu do małych dzieci [2]. W związku z tym, w przepisach Unii Europejskiej oraz polskich, określone zostały wymagania dotyczące jakości wody w kąpieliskach [18].

### Woda do picia

Obecność rotawirusów stwierdzono zarówno w wodzie surowej, jak też uzdatnionej [19]. Według informacji zawartych w Wytycznych Światowej Organizacji Zdrowia, dotyczących jakości wody przeznaczonej do picia [20,21] oraz doniesień krajowych [22], w wodzie surowej mogą występować następujące wirusy: rotawirusy, wirus zapalenia wątroby typu E, poliovirusy, kalciwirusy, koksakiwirusy, adenowirusy, eko-wirusy, astrowirusy, inne enterowirusy (łącznie z wirusem HAV), papilomawirusy. Obecność różnych wirusów w wodzie wodociągowej opisuje wiele publikacji [20–28], lecz bardzo mało z nich podaje wartości liczbowe (tab.4).

Tabela 4. Przykłady zawartości rotawirusów w 1 dm<sup>3</sup> wody do picia [2]

Kraj*	Zakres	Średnia
Kolumbia	0+5	0,1
Kolumbia	–	0,1
Meksyk	1+63	5
Meksyk	0+100	2

\* dane wg różnych autorów

Wynika z nich jednoznacznie, że woda do picia odgrywa bardzo ważną rolę w przenoszeniu infekcji rotawirusowych [2].

### Podsumowanie

Wędrówka rotawirusów w środowisku może przebiegać następująco: woda do picia → pokarm → chory człowiek → ścieki → oczyszczalnia ścieków → ścieki oczyszczone → odbiornik ścieków → ujęcie wody → uzdatnianie wody → woda do picia. W latach 90. znamienne było dążenie Światowej Organizacji Zdrowia do dostarczenia konsumentowi bezpiecznej wody do picia, wolnej od patogennych bakterii, wirusów i pasożytów. Jej wytyczne stanowią dla wielu krajów podstawę do ustalania norm jakości wody do picia. Należy podkreślić, że uzyskanie wody do picia wolnej od patogenów jest możliwe przez prawidłowe jej uzdatnienie, przy czym dezynfekcja jest ostatnią barierą, która powinna zapewnić ostateczne wyeliminowanie mikroorganizmów chorobotwórczych z wody.

Obecnie w wyniku zakażenia wody, częściej niż epidemie, występują zachorowania typu zapaleń żołądkowo-jelitowych [29], przy czym ostre zapalenia przewodu pokarmowego występowały głównie w rejonach zaopatrywanych przez wodociągi ujmujące wody podziemne, uznawane często za pewne pod względem sanitarnym [30]. Nie można wykluczyć, iż

przyczyną tego typu zachorowań, których etiologii nie ustalono, były właśnie rotawirusy. Wskazuje to na znaczenie ochrony ujęć wód podziemnych, sprawności uzdatniania wody oraz celowości jej dezynfekcji.

### LITERATURA

1. C. BERN, J. MARTINES, I. de ZOYSA, R. I. GLASS: The magnitude of the global problem of diarrheal disease: a ten year update. Bull. WHO, 1992, Vol. 70, pp. 705–714.
2. C. P. GERBA, J. B. ROSE, C. N. HAAS, K. CRABTREE: Waterborne rotavirus: A risk assessment. Water Research, 1996, Vol. 30, No. 12, pp. 2929–2940.
3. Z. JARZĄBEK: Wirusy biegunek człowieka. Post. Mikrobiol., 1984, nr 1(23), ss. 55–73.
4. E. SADURSKA: Badania nad rolą rotawirusów w etiologii ostrych zespołów biegunkowych u niemowląt. Ped. Pol., 1981, nr 1(64), ss. 2–8.
5. Z. SZCZEPANIAK, Z. JARZĄBEK: Rotawirusy i ich rola w stanach biegunkowych ludzi. Post. Mikrobiol., 1997, nr 2(36), ss. 167–184.
6. E. JAWETZ, J. L. MELNICK, E. A. ADELBERG: Medical Microbiology. Apleton & Lange, Stanford, Connecticut 1998.
7. M. T. MADIGAN, J. M. MARTINKO, J. PARKER: Brock Biology of Microorganisms. Southern Illinois University, Carbondale 2000.
8. B. N. FIELDS, D. N. KNIPE: Fundamental Virology. Raven Press, New York 1991.
9. M. S. HO, R. I. GLASS, P. F. PINSKY, L. L. ANDERSON: Rotavirus as a cause of diarrheal morbidity and mortality in the United States. Journal Infect. Dis., 1988, Vol. 158, pp. 1112–1116.
10. J. STEINMANN: Detection of rotavirus in sewage. Appl. Environ. Microbiol., 1981, Vol. 41, pp. 1043–1045.
11. J. BATES, M. R. GODDARD, M. BUTLER: The detection of rotavirus in products of wastewater treatment. Journal Hygiene Camb., 1984, Vol. 93, pp. 639–643.
12. D. H. GREEN, G. D. LEWIS: Comparative detection of enteric viruses in wastewater, sediment and oysters by reverse transcription – PCR and cell culture. Wat. Res., 1999, Vol. 33, No. 1, pp. 1195–1200.
13. H. KOPECKA, S. DUBROU, J. PREVOT, J. MARECHAL, J. M. LOPEZ-PILA: Detection of naturally occurring enteroviruses in waters by reverse transcription, polymerase chain reaction and hybridization. Appl. Environ. Microbiol., 1993, Vol. 59, pp. 1213–1219.
14. A. C. VANTARAKIS A, M. PAPAPETROPOULOU: Detection of enteroviruses and adenoviruses in coastal waters of SW Greece by nested polymerase chain reaction. Wat. Res., 1998, Vol. 32, No. 8, pp. 2365–2372.
15. M. V. YATES, C. P. GERBA, L. M. KELLY: Virus persistence in groundwater. Appl. Environ. Microb., 1985, Vol. 49, pp. 778–781.
16. S. M. GOYAL, C. P. GERBA, J. L. MELNICK: Prevalence of human enteric viruses in coastal communities. Journal Wat. Pollut. Contr. Fed., 1978, Vol. 50, pp. 2247–2250.
17. J. B. ROSE, R. L. MULLINAX, S. N. SINGH, M. V. YATES, C. P. GERBA: Occurrence of rotaviruses and enteroviruses in recreational waters of Oak Creek, Arizona. Wat. Res., 1987, Vol. 21, pp. 1375–13821.
18. M. ROMAN: Standardy jakości śródlądowych wód powierzchniowych w przepisach Unii Europejskiej i w przepisach polskich. Monografie PZITS, Seria Wodociągi i Kanalizacja, Warszawa 1998.
19. R. A. RAPHAEL, S. A. SATTAR, V. S. SPRINGTHORPE: Long-term survival of human rotavirus in raw and treated river water. Can. Journal Microbiol., 1985, Vol. 3, pp. 124–128.

20. Guidelines for drinking water quality. Recommendations. Vol. 1, WHO, Geneva 1993.
21. Guidelines for drinking water quality. Health criteria and other supporting information. Vol. 2, WHO, Geneva 1996.
22. M. ROMAN: Dezynfekcja wody w świetle wytycznych Światowej Organizacji Zdrowia, dotyczących jakości wody do picia. Gaz, Woda i Technika Sanitarna, 1999, nr 6, ss. 214–218.
23. R. KOCWA-HALUCH: Występowanie wirusów w wodach i ściekach. Mat. symp. „Hydroprezentacje III 2000”, Wisła 2000, ss. 223–232.
24. R. KOCWA-HALUCH: Wirusy i ich występowanie w wodach i ściekach. Politechnika Świętokrzyska, Kielce 2001, ss. 1–116.
25. M. PAWLACZYK-SZPIŁOWA: Jakość zdrowotna wody przeznaczanej do picia. Ochrona Środowiska, 1993, nr 3(50), ss. 11–15.
26. J. B. ROSE, C. P. GERBA, S. N. SINGH, G. A. TORANZOS, B. KESWICK: Isolating viruses from finished drinking water. Journal Am. Wat. Wks. Ass., 1986, Vol. 78, pp. 56–61.
27. G. TORANZOS, C. P. HANSEN, C. P. GERBA: Occurrence of enteroviruses and rotaviruses in drinking water in Columbia. Water Research, 1986, Vol. 18, pp. 109–114.
28. C. P. GERBA, C. WALLIS, J. L. MELNICK: Application of photo-dynamic oxidation to disinfection of tap water, seawater and sewage contaminated with poliovirus. Photochem. Photobiol., 1997, Vol. 26, pp. 499–504.
29. A. L. KOWAL: Bezpieczeństwo sanitarne wody w wodociągach publicznych. Ochrona Środowiska, 2001, nr 4(83), ss. 3–4.
30. J. B. ROSE et al.: Climate and waterborne disease outbreaks. Journal Am. Wat. Wks. Ass., 2000, Vol. 92, No. 9, pp. 77–87.

---

### Occurrence of Rotaviruses in Water Environment

*Rotaviruses are amongst the most dangerous enteric microorganisms. The mortality rate due to rotaviral infections all over the world varies from four to five million deaths every year. Rotaviruses are responsible for the occurrence of severe diarrhea, which is particularly dangerous in infants, young children, elderly subjects and transplant patients. The reported study concentrates on two major items: the environment where rotaviruses are detected (untreated and treated sewage, sewage sludge, surface water, groundwater, water used for recreational*

*needs, drinking water), and the pathway of rotavirus migration from the source of contamination to the system of tap water supply. Of the waterborne enteric viruses, rotaviruses are characterized by the highest infectivity. And this calls for special precautions and safety measures, primarily for a strict hygiene regimen, for efficacious disinfectants, and for the application of efficient sewage treatment trains. A prerequisite to achieve these goals is to make the public alert to any possible dangers resulting from rotaviral infections.*