

Beitrag zur Frage der Überlebenszeit von Salmonellen im Abwasser

W. KOHL und F. ZIBUSCHKA

In verschiedenen Abwässern — namentlich in städtischen — ist immer mit der Anwesenheit von Salmonellen und anderen krankheitsauslösenden Keimen zu rechnen. Werden derartige Abwässer in Fließgewässer eingeleitet, so ziehen sie oft als Abwasserfahnen weite Strecken — mitunter viele Kilometer — am Ufer hin, bevor es zu einer guten Durchmischung mit dem Vorfluter kommt. Dadurch bringen Entnahmen von Brauchwasser am Ufer eines Fließgewässers die Gefahren einer Verbreitung von Krankheitskeimen mit sich, wenn flußaufwärts größere Abwassereinleitungen bestehen. Ob Krankheitserreger durch eine längere Verweilzeit, durch niedrigere Temperaturen oder durch eine Belüftung des Abwassers beziehungsweise des stark abwasserbelasteten Vorfluters zugrunde gehen, ist nur teilweise untersucht und die durch verschiedene Untersuchungen gewonnenen Ergebnisse sind unterschiedlich. Die Überprüfung der Überlebenszeit von Salmonellen im Wasser ist auch für die Aufarbeitung von Proben wichtig. Es kann immer wieder vorkommen, daß Wasserproben nach einem längeren Transport über weitere Strecken erst ein bis zwei Tage nach der Entnahme am Untersuchungsort eintreffen. Diese Proben sind allgemein für eine bakteriologische Untersuchung ungeeignet, weil eine Veränderung des Bakteriengehaltes eingetreten ist, aber vielleicht lassen solche Proben doch eine Aussage zu, wenn der qualitative Nachweis von Salmonellen noch möglich ist.

Problemstellung

Am Beispiel der Salmonellen sollten zunächst in einem Laborversuch verschiedene Einwirkungen auf die Krankheitskeime überprüft werden. Konkret wurden Untersuchungen zu nachfolgenden Fragen durchgeführt.

1. Wie lange können aus einer Wasserprobe Salmonellen nachgewiesen werden und bestehen hinsichtlich der Tenazität Unterschiede zwischen verschiedenen Sero- und Lysotypen?

2. Hat die Temperatur, bei welcher die Probe gehalten wird, einen Einfluß auf die Nachweisbarkeit der Salmonellen?
3. Inwieweit wird die Überlebenszeit der Salmonellen durch Belüftung beeinflusst?

Methodik und Material

Für diese Untersuchung wurden 20 bzw. 40 Liter Wasser aus dem Wiener Donaukanal etwa 200 m oberhalb der Hafnbrücke am rechten Ufer entnommen. Diese Stelle wurde deshalb gewählt, weil erfahrungsgemäß das Donaukanalwasser in diesem Bereich eine starke Kontamination mit einigen verschiedenen Salmonella-Spezies aufweist.

Zur Beantwortung der ersten Frage, die wir uns gestellt hatten, wurde täglich aus dem bei Zimmertemperatur gehaltenen Wasserbehälter nach kräftigem Schütteln eine Probe von 225 ml entnommen. Die weitere Bearbeitung erfolgte für alle drei Fragestellungen in gleicher Weise.

Die entnommenen 225 ml wurden in graduierte Babyflaschen eingefüllt, die bereits 25 ml der zehnfach konzentrierten Anreicherungs Nährlösung nach HEINRICH und PULVERER (1959) enthielten, wodurch es wieder zu einer Verdünnung der Nährlösung kam. Nach einer Bebrütungszeit von 18 bis 24 Stunden bei 43 bis 44 ° C erfolgte die Überimpfung auf die Zweit-anreicherung. Dafür waren je Probe zwei Eprovetten mit 5 ml einer einfachen Nährlösung vorrätig. Nach einer 18- bis 24 stündigen Bebrütung der Zweit-anreicherung bei 37 ° C wurde auf vier Platten eines Brillantgrün - Phenolrot - Traubenzucker - Harnstoff - Nährbodens nach KOHL und ZIBUSCHKA (1966) überimpft. Die auf diesen Nährböden in typischer Weise gewachsenen Kolonien wurden biochemisch und serologisch weiter bestimmt. Die genaue Zusammensetzung aller Nährlösungen und methodischer Details ist aus der oben zitierten Arbeit zu entnehmen.

Auch ist bei der Prüfung der Frage, ob die Nachweisbarkeit von Salmonellen aus einer Wasserprobe von der Temperatur abhängig ist, grundsätzlich derselbe Weg beschritten worden. Es wurde die Wassermenge gut gemischt, geteilt und die Hälfte bei jener Temperatur von 5,5 ° C gehalten, welche das Donaukanalwasser zum Zeitpunkt der Entnahme hatte, und die zweite Hälfte bei Zimmertemperatur aufgestellt. Nach Aufschütteln des Bodensatzes erfolgte die Entnahme der erforderlichen 225 ml aus den beiden bei verschiedenen Temperaturen gehaltenen Behältern.

Um feststellen zu können, inwieweit die Salmonellen durch Belüftung des Wassers geschädigt werden, wurden 40 Liter Donaukanalwasser gut

gemischt, je zur Hälfte in zwei Plastikballons gefüllt und bei Zimmertemperatur aufgestellt. Ein Ballon wurde mittels Aquarienpumpe durchlüftet. Die Luftblasengröße war auf zirka 5 mm Durchmesser eingestellt worden.

Tabelle 1

1. Tag	<i>S. derby</i> <i>S. manchester</i> <i>S. infantis</i>	13. Tag	<i>S. infantis</i> <i>S. abony</i>
2. Tag	<i>S. derby</i> <i>S. anatum</i> <i>S. manchester</i> <i>S. paratyphi B, L.: 1</i> <i>S. give</i>	14. Tag	<i>S. saint-paul</i>
3. Tag	<i>S. anatum</i>	15. Tag	<i>S. panama</i> <i>S. manchester</i>
4. Tag	<i>S. manchester</i> <i>S. bredeney</i>	16. Tag	negativ
5. Tag	<i>S. montevideo</i> <i>S. saint-paul</i> <i>S. brandenburg</i>	17. Tag	<i>S. abony</i>
6. Tag	<i>S. bredeney</i> <i>S. saint-paul</i> <i>S. duisburg</i>	18. Tag	negativ
7. Tag	<i>S. saint-paul</i> <i>S. duisburg</i> <i>S. abony</i> <i>S. brandenburg</i>	19. Tag	<i>S. saint-paul</i>
8. Tag	<i>S. panama</i> <i>S. manchester</i>	20. Tag	<i>S. abony</i>
9. Tag	<i>S. saint-paul</i> <i>S. abony</i> <i>S. manchester</i>	21. Tag	<i>S. saint-paul</i>
10. Tag	<i>S. manchester</i> <i>S. anatum</i>	22. Tag	negativ
11. Tag	<i>S. saint-paul</i> <i>S. abony</i> <i>S. manchester</i>	23. Tag	<i>S. abony</i>
12. Tag	<i>S. typhi murium, n. typ.</i> <i>S. abony</i>	24. Tag	negativ
		25. Tag	negativ
		26. Tag	<i>S. manchester</i>
		27. Tag	<i>S. manchester</i>
		28. Tag	<i>S. manchester</i>
		29. Tag	<i>S. manchester</i>
		30. Tag	<i>S. manchester</i>
		31. Tag	<i>S. emek</i> <i>S. manchester</i>
		32. Tag	<i>S. manchester</i>
		33. Tag	<i>S. manchester</i>
		34. Tag	<i>S. manchester</i>
		35. Tag	<i>S. manchester</i>
		36. Tag	<i>S. manchester</i>
		37. Tag	<i>S. manchester</i>
		38. Tag	<i>S. manchester</i>
		39. Tag	<i>S. manchester</i>
		40. Tag	bis
		50. Tag	negativ

Tabelle 2

Probe Nr. 96 bei + 5,5 ° C	Probe Nr. 97 bei + 22 ° C
26. 1. 71 <i>S. anatum</i>	26. 1. 71 <i>S. panama</i>
28. 1. 71 <i>S. give</i>	28. 1. 71 <i>S. infantis</i>
30. 1. 71 <i>S. panama</i>	<i>S. give</i>
31. 1. 71 <i>S. paratyphi</i> B, L.: 1	30. 1. 71 <i>S. anatum</i>
1. 2. 71 <i>S. paratyphi</i> B, L.: 3 a 1 var 2	<i>S. wien</i>
<i>S. paratyphi</i> B, L.: Beccles	31. 1. 71 <i>S. wien</i>
2. 2. 71 <i>S. paratyphi</i> B, L.: 1	1. 2. 71 <i>S. give</i>
<i>S. paratyphi</i> B, L.: Taunton	2. 2. 71 <i>S. paratyphi</i> B, L.: 3 a 1
<i>S. münchen</i>	<i>S. give</i>
<i>S. westerstede</i>	<i>S. newport</i>
<i>S. wien</i>	<i>S. panama</i>
<i>S. give</i>	3. 2. 71 <i>S. panama</i>
3. 2. 71 <i>S. typhi murium</i> , L.: 4	4. 2. 71 <i>S. emek</i>
<i>S. paratyphi</i> B, L.: 3 a	<i>S. enteritidis</i>
<i>S. paratyphi</i> B, L.: 1	5. 2. 71 negativ
4. 2. 71 <i>S. typhi murium</i> , L.: 4	6. 2. 71 <i>S. paratyphi</i> B, L.: 3 a 1
<i>S. paratyphi</i> B, L.: Taunton	<i>S. paratyphi</i> B, L.: 3 b
<i>S. stanley</i>	7. 2. 71 <i>S. paratyphi</i> B, L.: 1
5. 2. 71 <i>S. paratyphi</i> B, L.: Taunton	8. 2. 71 <i>S. anatum</i>
<i>S. wien</i>	9. 2. 71 <i>S. paratyphi</i> B, L.: 3 b
6. 2. 71 <i>S. paratyphi</i> B, L.: Taunton	<i>S. paratyphi</i> B, L.: 1
7. 2. 71 <i>S. paratyphi</i> B, L.: Beccles	10. 2. 71 negativ
8. 2. 71 <i>S. paratyphi</i> B, L.: degr.	11. 2. 71 negativ
<i>S. give</i>	12. 2. 71 negativ
9. 2. 71 <i>S. paratyphi</i> B, L.: 3 a	13. 2. 71 negativ
<i>S. paratyphi</i> B, L.: Beccles	14. 2. 71 S. B-Gruppe ohne H
<i>S. wien</i>	vom 15. 2. 71 bis 24. 2. 71 negativ
10. 2. 71 <i>S. paratyphi</i> B, L.: 3 a 1	
<i>S. paratyphi</i> B, L.: Dundee	
11. 2. 71 <i>S. paratyphi</i> B, L.: 3 a	
<i>S. paratyphi</i> B, L.: Beccles	
vom 12. 2. 71 bis 21. 2. 71 negativ	

Diskussion der Ergebnisse

Durch die erste Untersuchung sollte überprüft werden, wie lange sich Salmonellen aus einer stark kontaminierten Probe nachweisen lassen. Die Untersuchung erstreckte sich über einen Zeitraum von 50 Tagen. Positive

Ergebnisse ließen sich mit Unterbrechungen bis zum 39. Tag erzielen, wie Tabelle 1 zeigt. In diesen 39 Tagen konnten 15 verschiedene Serotypen isoliert werden, 13 von diesen 15 Serotypen wurden bis zum 8. Tag festgestellt. Auffallend war, daß in den letzten 14 Tagen mit einer Ausnahme nur *S. manchester* nachzuweisen war. Dieser Serotyp konnte auch am 1. Tag isoliert werden. Alle anderen Serotypen, die in den ersten Tagen nachzuweisen waren, konnten gegen Ende nicht mehr isoliert werden. Ob der Serotyp *manchester* an sich sehr widerstandsfähig ist gegenüber den Einflüssen der Umwelt, ob er etwa Ammoniumsalze als alleinige Stickstoffquelle verwenden kann, wie das andere Vertreter der serologischen O - Gruppe C auch können (HAUPT 1964), oder ob nur gerade dieser Stamm so vital war, sollen spätere Versuche klären. Wenn die Ergebnisse dieser Untersuchung für sich allein betrachtet werden, könnte man den Schluß ziehen, daß eine Wasserprobe aus einem stark belasteten Vorfluter noch einige Tage nach der Entnahme untersucht werden kann und trotzdem die Kontamination mit Salmonellen nachzuweisen ist.

Die Beantwortung der Frage, ob die Temperatur, bei der eine Probe gehalten wird, Einfluß hat auf die Nachweisbarkeit der Salmonellen, sollte auch dazu beitragen, ein Untersuchungsproblem zu lösen. Proben sollten sowohl beim Transport als auch im Labor, wenn sie nicht gleich aufgearbeitet werden können, kühl gehalten werden, damit es zu keiner Keimvermehrung in der Probe kommt und diese möglichst in jenem Zustand erhalten bleibt, in welchem sie entnommen wurde. Ob diese Kühllhaltung aber vielleicht den Salmonellen schadet, war nicht sicher, da es sich um Bakterien handelt, die sich bei Körpertemperatur im tierischen und menschlichen Organismus gut entwickeln können. Andererseits ist aus der Erfahrung bekannt, daß die Tenazität der Salmonellen gegenüber Temperaturschwankungen sehr groß ist. Dies zeigt auch der Umstand, daß die Keime sehr oft bei Kaltblütern zu finden sind. Die Autoren haben selbst die Erfahrung gemacht, daß sich aus Wasserproben, die im Winter auf dem Weg von Tirol nach Wien bis auf eine kleine Wassersäule in der Flaschenmitte zugefroren waren, auch noch Salmonellen nachweisen ließen.

Die Untersuchung der beiden Proben Nr. 96 bei 5,5 ° C und Nr. 97 bei 22 ° C dauerte von 26. 1. 1971 bis 21. bzw. 24. 2. 1971, wie in Tabelle 2 ersichtlich. Der Salmonellennachweis ließ sich bei 5,5 ° C bis zum 11. 2., also bis zum 17. Tag nach der Entnahme, führen und gelang bei 22 ° C mit Unterbrechungen bis zum 20. Tag. Die Gesamtuntersuchung erbrachte bei 5,5 ° C 16 und bei 22 ° C 12 unterschiedliche Sero- und Lysotypen. Nachstehend sind in zwei Rubriken die bei 5,5 ° C und 22 ° C gefundenen Sero- und Lysotypen

angegeben. In dieser Aufstellung sind jeweils nur bei einer Temperatur gefundene Spezies durch Unterstreichen gekennzeichnet.

5,5 ° C

S. paratyphi B, L.: 1
L.: 3 a
 L.: 3 a 1
L.: 3 a 1 var 2
L.: Taunton
L.: Dundee
L.: Beccles
L.: degr.

S. anatum
S. give
S. panama
S. münchen
S. westerstede
S. wien
S. stanley
S. typhi murium L.: 4

22 ° C

S. paratyphi B, L.: 1
 L.: 3 a 1
L.: 3 b
S. B-Gruppe ohne H
S. panama
S. infantis
S. give
S. anatum
S. wien
S. Newport
S. emek
S. enteritidis

Die Betrachtung der bei verschiedenen Temperaturen gewonnenen Untersuchungsergebnisse läßt erkennen, daß die Kontamination einer Wasserprobe mit Salmonellen festgestellt werden kann, gleichgültig bei welcher Temperatur die Wasserprobe gehalten wird. Die isolierten Ser- und Lysotypen sind allerdings sehr verschieden. Es scheint so, als ob sich bei niederen Temperaturen eine größere Ausbeute an *S. paratyphi B* erreichen ließe.

Schließlich sollte überprüft werden, wie sich eine Belüftung auf die im Abwasser enthaltenen Salmonellen auswirkt. Dies vor allem deshalb, weil ein intensiver Luftkontakt wesentlich zur Reinigung von Abwässern beiträgt. Diese Erkenntnis ist schon sehr alt und kommt in der Volkswisheit zum Ausdruck, wenn es heißt: Verschmutztes Wasser, welches über sieben Steine (Gefällstufen) rinnt, wird wieder rein. Der Mensch war bestrebt, diese Vorgänge in der Natur zur Reinigung von Abwässern nachzuahmen und hat dazu verschiedene Belüftungssysteme gebaut (K. R. DIETRICH, 1960). Die in verschiedenen Kläranlagen wirksam werdende Belüftung trägt dazu bei, daß die Keime der TPE-Gruppe um zirka 90 Prozent verringert werden (KUMPF - MAAS - STRAUB 1965). Spezielle Untersuchungen über den Einfluß der Wasserbelüftung auf Enterobakteriazeen, die von MUCHA, DAUBNER und TRZILOVA (1969) durchgeführt wurden, zeigten, daß es bei Belüftung zu einem um 50 Prozent schnelleren Absterben der Enterobakteriazeen kam. Die Untersuchung der Proben Nr. 1 (belüftet) und Nr. 2 (unbelüftet) dauerte 17 bzw. 18 Tage. Sie verlief in der belüfteten Probe 7 Tage und in der

unbelüfteten 8 Tage mit einer Unterbrechung positiv. Während sich aus der belüfteten Probe insgesamt nur drei Serotypen nachweisen ließen, waren es in der unbelüfteten Probe acht Serotypen, wie in Tabelle 3 ersichtlich. Da in den früher besprochenen Untersuchungen der Salmonellennachweis viel länger positiv verlief, wurde der Versuch wenige Tage später mit den Proben Nr. 98 (belüftet) und Nr. 99 (unbelüftet) wiederholt. Leider ließen sich auch in diesem Versuch, der 15 bzw. 17 Tage dauerte, bei Belüftung nach 5 Tagen und ohne Belüftung nach 7 Tagen keine Salmonellen mehr nachweisen. Der Unterschied in der Anzahl der Serotypen war bei dieser Untersuchung, wie Tabelle 4 zu entnehmen ist, nur gering. Die Ursache dafür, daß sowohl in den Proben 1 und 2 als auch 98 und 99 der Salmonellennachweis viel kürzer positiv verlief als in den vorhergegangenen Proben, lag in dem starken Auftreten von *Pseudomonas aeruginosa*. Wiewohl dieser Keim in allen vier Proben enthalten war, führte er nur in der belüfteten Probe zu einem früheren Absterben der Salmonellen. Auf die gute Entwicklung von Pseudomonadazeen sowie deren antagonistische Wirkung auf Enterobakteriazeen in belüfteten Proben weisen auch MUCHA, DAUBNER und TRZILOVA (1969) hin. In den Proben Nr. 1, 2, 98 und 99 kam es offenbar deshalb zu einem schnellen Absterben der Salmonellen, weil der Gehalt an Pseudomonaskeimen hoch war. Der hohe Ausgangsgehalt an diesen Keimen ließ die fördernde Wirkung, die von der Belüftung auf die Pseudomonadazeen ausgeht, nicht erkennen. Weitere Versuche sollen klarstellen, ob es dann zu einem deutlich schnelleren Absterben der Salmonellen kommt, wenn das Untersuchungswasser wenig Pseudomonaskeime enthält.

Tabelle 3

Probe Nr. 1 belüftet	Probe Nr. 2 unbelüftet
1. Tag <i>S. anatum</i>	1. Tag <i>S. anatum</i>
2. Tag <i>S. anatum</i>	2. Tag <i>S. infantis</i>
3. Tag <i>S. anatum</i>	3. Tag <i>S. anatum</i>
4. Tag <i>S. panama</i>	<i>S. panama</i>
5. Tag negativ	4. Tag <i>S. infantis</i>
6. Tag <i>S. anatum</i>	<i>S. heidelberg</i>
7. Tag <i>S. enteritidis</i>	5. Tag <i>S. braenderup</i>
vom 8. bis 17. Tag Salmonella negativ	<i>S. paratyphi B</i> , / degr.
	6. Tag <i>S. wien</i>
	7. Tag negativ
	8. Tag <i>S. enteritidis</i>
	vom 9. bis 18. Tag Salmonella negativ

Tabelle 4

Probe Nr. 98 belüftet	Probe Nr. 99 unbelüftet
29. 9. 70 <i>S. anatum</i>	29. 9. 70 <i>S. anatum</i>
30. 9. 70 <i>S. B</i> — Stamm	30. 9. 70 <i>S. anatum</i>
<i>S. anatum</i>	1. 10. 70 <i>S. abony</i>
<i>S. eastborne</i>	<i>S. eastborne</i>
1. 10. 70 <i>S. anatum</i>	<i>S. manchester</i>
<i>S. manchester</i>	2. 10. 70 <i>S. derby</i>
2. 10. 70 <i>S. manchester</i>	<i>S. enteritidis</i>
<i>S. agona</i>	3. 10. 70 <i>S. eastborne</i>
3. 10. 70 <i>S. enteritidis</i>	4. 10. 70 negativ
<i>S. paratyphi B</i> , L.: Dundee	5. 10. 70 <i>S. paratyphi B</i> , L.: BAOR
vom 4. 10. 70 bis 13. 10. 70 negativ	vom 6. 10. 70 bis 15. 10. 70 negativ

Zusammenfassung

1. Die Überlebenszeit der Salmonellen im Abwasser sollte unter der Einwirkung verschiedener Temperaturen sowie bei Belüftung festgestellt werden.
2. Durch den ersten Versuch, der sich über 50 Tage erstreckte, konnten bis zum 39. Tag Salmonellen isoliert werden.
3. Die Temperaturen von 5,5 ° C und 22 ° C, bei welcher die Proben gehalten wurden, brachten keine wesentlich unterschiedlichen Überlebenszeitspannen.
4. Die Belüftung führte zu einer Verkürzung der Überlebenszeit.
5. Alle Versuche, über welche berichtet wurde, lassen erkennen, daß Salmonellen in einer Probe nicht schnell absterben und daher auch noch die Möglichkeit besteht, ein bis zwei Tage alte Proben zum Nachweis zu verwenden.
6. Weitere Versuche, durch welche die Nährstoffansprüche der Salmonellen in Proben geklärt werden und die Wirkung der Belüftung bei einem verschiedenen Ausgangsgehalt an Pseudomonaskeimen überprüft werden sollen, müssen durchgeführt werden.

LITERATUR

- DIETRICH, K. R. (1960): Ablaufverwertung und Abwasserreinigung in der biochemischen Industrie. Biochemie und Technologie. — Dr. Alfred Hüthig Verlag GmbH Heidelberg.
- HAUPT, H. (1964): Medizinisch-bakteriologische Diagnostik für Ärzte und Tierärzte. — Ferdinand Enke Verlag Stuttgart.
- HEINRICH, S., PULVERER, G. (1959): Ein Beitrag zur Methodik des Salmonella-Nachweises im Abwasser, Flußwasser und Schlamm. — Zeitschrift für Hygiene, 145, 529–542.
- KOHL, W., und ZIBUSCHKA, F. (1966): Eine Nachweismethode für Salmonellen in der hydrobakteriologischen Routineuntersuchung. Wasser und Abwasser, Bd. 1966, 9–17.
- KUMPF, W., MAAS, K., und STRAUB, H. (1965): Müll- und Abfallbeseitigung. Kennzahl 5112, S. 3, Erich-Schmidt-Verlag, Berlin-Bielefeld-München.
- MUCHA, V., DAUBNER, I., TRZILOVA, B. (1969): Der Einfluß der Belüftung des Wassers auf Bakterien der Familie Enterobacteriaceae und ihre Artenzusammensetzung. — Arch. Hydrobiol. / Suppl. XXXVI, H. 1, 36–44.

Anschrift der Verfasser: Ob-Koär. Tzt. Dr. Werner KOHL, Leiter der Abteilung Bakteriologie, techn. Insp. Friedrich ZIBUSCHKA, beide Bundesanstalt für Wasserbiologie und Abwasserforschung, Schiffmühlenstraße 120, A-1223 Wien.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Wasser und Abwasser](#)

Jahr/Year: 1970

Band/Volume: [1970](#)

Autor(en)/Author(s): Kohl Werner, Zibuschka Franziska

Artikel/Article: [Beitrag zur Frage der Überlebenszeit von Salmonellen im Abwasser 51-59](#)