© Bundesamt für Wasserwirtschaft, download www.zobodat.at

Enterokokkenuntersuchungen in der Donau

Josef Weber

Die Einordnung hydrobakteriologischer Untersuchungsbefunde in das Gesamtergebnis einer Gewässergüteaufnahme, wie etwa bei der Erstellung eines Gewässergütekatasters, bietet in manchen Fällen Schwierigkeiten. So kommt es bei den Untersuchungen von Fließgewässern immer wieder vor, daß sich der Gehalt an typischen Fäkalcolibakterien auch weit unterhalb von Abwassereinleitungsstellen nur unwesentlich verringert, während andere Kriterien, wie mikroskopisch und kulturell ermittelte Keimzahlen, chemisch-physikalische und biologische Untersuchungsbefunde den Selbstreinigungsvorgang als weitgehend fortgeschritten erscheinen lassen.

Es wurde daher in jüngerer Zeit in England und in den USA als weiteres Verfahren zum Nachweis einer Fäkalverunreinigung im Wasser der Enterokokkentest auf breiterer Basis herangezogen.

Untersuchungen über Vorkommen und Verbreitung von Enterokokken, Fäkalstreptokokken, Darmstreptokokken usw., wie sie von den Autoren jeweils bezeichnet wurden, sowie erste Versuche, diese Mikroorganismen als Indikatoren für Verschmutzungen in die Wasseranalyse einzubeziehen, wurden bereits um die Jahrhundertwende von Laws und Andrewes (1894), Horrocks (1901) sowie Prescott und Parker (1904) durchgeführt. Neben Clemesha (1912), Savage und Read (1916), bewies besonders Houston, (1911, 1930) an umfangreichen Gewässeruntersuchungen die Beziehungen zwischen fäkaler Verschmutzung und dem Streptokokkenvorkommen. Das Fehlen einfach durchzuführender Nachweismethoden und Schwierigkeiten bei der Differenzierung der gefundenen Streptokokkenstämme verhinderte vorerst die routinemäßige Anwendung dieses Tests. Die Arbeiten von Sherman (1938) über die spezifischen Resistenzeigenschaften der Streptokokken gegenüber erhöhter NaCl-Konzentration und stärker alkalischen pH-Werten im Kultursubstrat, die sogenannten Sherman-Kriterien, sowie die serologische Einteilung der kulturell und biochemisch nicht einheitlichen Gattung

© Bundesamt für Wasserwirtschaft, download www.zobodat.at

Streptococcus von Lancefield (1933) vereinfachten die Identifizierung und gaben der mikrobiologischen Gewässeruntersuchung in dieser Richtung neue Impulse. Nach Seelemann und Nottbohm (1940) soll der Name Enterokokken nur für Streptokokken benützt werden, die zur serologischen Gruppe D Lancefield gehören und nach Sherman (1937), Ostrolenk und Hunter (1946) sowie Mallmann und Litsky (1951) ausschließlich beim Menschen und bei warmblütigen Tieren vorkommen. Seelemann (1954) u. a. rechneten zu den Enterokokken Sc. glycerinaceus (identisch mit Sc. faecalis nach Sherman), Sc. liquefaciens, Sc. zymogenes, Sc. faecium, Sc. durans, Sc. bovis. Winter und Sandholzer (1946) zeigten, daß sich Enterokokken im Gegensatz zu manchen coliformen Bakterien in der Außenwelt nicht vermehren. Ihr Auftreten in der freien Natur hängt daher unmittelbar mit fäkalen Verunreinigungen zusammen. Bestimmte Enterokokkenstämme als Unterscheidungsindikatoren für menschliche oder tierische Verunreinigung anzusprechen, ist nach Untersuchungen von Mieth (1960) nicht vertretbar, da die Enterokokkenflora von der Ernährung abhängt und nicht wirtspezifisch ist. So dominierten beim Menschen nach Cooper und Ramadan (1955) Sc. faecalis, nach Guthof (1958) und Buttiaux (1958) Sc. feacium.

An die theoretischen und praktischen Erfahrungen mit dem Enterokokken-Test bei Abwasser- und Gewässeruntersuchungen von Litsky, Rosenbaum und France (1953), Litsky, Mallmann und Fifield (1955), Slanetz und Bartley (1957), Guthof und Dammann (1958), Kjellander (1960) und G. Müller (1961) anknüpfend, wurde anläßlich der Wassergütekontrolle im Bereich der österreichischen Donau mit dem Enterokokken-Nachweis begonnen. Es sollte dabei geprüft werden, welche Vorteile diese Methode bringt und in welcher Beziehung sie zum üblichen Colitest steht. Im Rahmen der internationalen Zusammenarbeit wurde mit dem Institut der Slowakischen Akademie der Wissenschaften die Arbeitsmethodik bei den Untersuchungen am Donaustrom weitgehend vereinheitlicht. Die eigenen Donauntersuchungen umfaßten Längsprofile von Staatsgrenze zu Staatsgrenze, unterhalb von Großstädten (Wien und Linz) Probeentnahmen im Querprofil innerhalb von 12 und 24 Stunden und Verfolgung der fließenden Welle stromabwärts von Wien.

Der Enterokokken-Test wurde nach dem Membranfilter-Verfahren durchgeführt, das mit einem Minimum an Manipulation und

© Bundesamt für Wasserwirtschaft, download www.zobodat.at

Geräten ein zuverlässiges Arbeiten an Ort und Stelle, z. B. am Schiff oder im Feldlaboratorium ermöglicht. Gewisse Unsicherheitsfaktoren, wie etwa längere Aufbewahrungs- und Transportzeiten, Erwärmung oder Abkühlung der Proben u. ä. mehr, werden trotz der großen zu bewältigenden Untersuchungsstrecken weitgehend ausgeschaltet.

Von den zur Auswahl stehenden Enterokokken-Elektiv-Nährmedien wurde der Triphenyl-Tetrazoliumchlorid (TTC)-Natriumazidagar in Anlehnung an Slanetz und Bartley (1957) angewandt. Dieser Nährboden ist auch für die Membranfilter-Methode gut geeignet. Mit diesem Nährmedium haben Croft (1959) und G. Müller (1961) bei Vergleichsuntersuchungen mit anderen Substraten optimale Resultate erzielt.

Der Natriumazid TTC Agar für die Membranfilter-Methode hat folgende Zusammensetzung:

Pepton (Bacto Pepton)	2 %
Hefeextrakt (Cenovis)	0,5 %
Dextrose	0,2 %
K_2HPO_4	0,4 %
NaAzid	0,04 %
Triphenyl-Tetrazoliumchlorid	0,01 %
Agar	1 %
pH 7,5	

Bei der Herstellung des Nährbodens ist die Hitzeempfindlichkeit von TTC und Natriumazid zu berücksichtigen; der Zusatz dieser Reagenzien als frisch zubereitete keimfrei filtrierte Lösungen sichert erfahrungsgemäß gleichmäßige Nährbodenchargen.

Da bei Arbeiten unter feldmäßigen Bedingungen der Nährboden kaum frisch zubereitet werden kann, schien es notwendig, die Elektivwirkung des gebrauchsfertig gelagerten Nährbodens zu überprüfen. Hiebei zeigte sich auch nach 14-tägiger Lagerung im Kühlschrank und bei Zimmertemperatur kein nennenswerter Unterschied gegenüber dem frisch zubereiteten Kultursubstrat.

Die auf diesem Nährboden auf Membranen erbrüteten Kolonien wuchsen randscharf mit rosa bis dunkelrotbrauner Farbe. Nach 48- bis 72stündiger Bebrütung bei 37° C erreichten sie einen Durchmesser von 1 mm bis 2 mm. Bei den zumeist ziemlich gleichförmig aussehenden Kolonien handelte es sich — wie vielfach durchgeführte biochemische und serologische Kontrolluntersuchungen bestätigen — fast ausnahmslos um Streptokokken der Gruppe D. Eine wesentliche

© Bundesamt für Wasserwirtschaft, download www.zobodat.at

Arbeitserleichterung und Zeitersparnis wurde durch die Anwendung des Bestätigungs-Nährbodens nach Guthof und Dammann (1958) bei der routinemäßigen Identifizierung erreicht, da auf aufwendige Einzelreaktionen z. T. verzichtet werden konnte.

Der von Guthof und Dammann an Stelle der Selenit-Platte verwendete Bestätigungs-Nährboden hat folgende Zusammensetzung:

Bacto-Trypton (Difco)	2 %
Hefe-Extrakt	1 %
Dextrose	0,75 %
K_2HPO_4	0,3 %
KH_2PO_4	0,15 %
Na-Azid	0,04 %
NaCl	4,5 %
Agar	3 %
Wasserblau VI extra P (Hollborn)	0,003 %
pH 8,3	

Die Bruttemperatur von 45° C hemmt die unerwünschten Begleitbakterien einschließlich Diplococcus I, einem harmlosen Luftkeim, der aber gewisse ähnliche biochemische Eigenschaften mit den Enterokokken hat. Diplococcus I kommt nämlich — nach den Erfahrungen von Guthof und Dammann in Oberflächenwässern häufig vor.

Der Colinachweis wurde mittels der Membranfiltermethode vorgenommen und zwar wurden die sogenannten Colizahlen ermittelt, im Wesentlichen nach den von Thon und Beling (1959) angegebenen Arbeitsverfahren. Als Nährboden diente ein modifizierter Endoagar. Als Colizahlen — auf die Problematik der Coliuntersuchung kann hier nicht näher eingegangen werden — wurden die auf Membranfiltern aus 1 ml Probe angewachsenen für Coli typischen Kolonien aufgefaßt, fraglich aussehende Kolonien nach dem IMVIC-Schema bestimmt.

Entsprechend den Angaben in der Literatur sollen die Ergebnisse der Coli- und Enterokokkenuntersuchungen in Verhältniszahlen ausgedrückt werden. Die Relation von Colizahl zur Enterokokkenzahl (die aus 1 ml Probe angewachsenen Kolonien) war bei 160 Donauproben sehr unterschiedlich. An Entnahmestellen, die im unmittelbaren Einleitungsbereich städtischer Abwässer, zum Teil noch im Abwasserband, lagen und deren saprobiologische Befunde der Güteklasse III (System I—IV nach Liebmann) entsprachen, betrug der Quotient: Colizahl/Enterokokkenzahl 2,8 1. Dieses Verhältnis verschob sich deutlich nach gleichmäßiger Einmischung des Ab-

© Bundesamt für Wasserwirtschaft, download www.zobodat.at

wassers im Strom (Durchmischungszone mit Wassergüteklasse II bis III) auf 4 1. 20 km bis 30 km unterhalb der Abwassereinleitungsstellen in ungestörten Flußabschnitten, in denen auf Grund chemisch-physikalischer Analysen und biologischer Befunde (Güteklasse II) der Selbstreinigungsvorgang als weitgehend fortgeschritten beurteilt wurde, ergab sich im Durchschnitt ein Verhältnis von 14,3 : 1.

Unmittelbar unterhalb der Großstädte Wien und Linz zeigte der Enterokokken-Test im Tagesgang mit zweistündigem Entnahmeintervall in seiner Tendenz ähnliche Ergebnisse wie die Colizahl-Serien. Die Relation Colizahl zu Enterokokkenzahl lag zwischen 2,1 1 und 4,3 1. Etwa 40 km flußabwärts der Abwassereinbringungsstellen betrug die Relation der Coli- und Enterokokkenzahlen im Tagesgang im Mittel 15 1.

G. Müller (1961) fand in den Abläufen mechanisch-biologisch arbeitender Kläranlagen ein Verhältnis von 2,5 1 von Colibakterien zu Enterokokken, wir stellten im Bereich der Abwassereinleitungsstellen im Vorfluter die Beziehung 2,8 1 fest. In Vorfluterproben ermittelte G. Müller ein Coli-Enterokokkenverhältnis von 17,5 : 1, während unsere Untersuchungen ein Ergebnis von etwa 15 : 1 aufwiesen. Die bei den Donauuntersuchungen gefundenen Verhältniszahlen kommen also den von G. Müller publizierten ziemlich nahe. Andere Relationen stellte interessanterweise Croft (1959) fest, der ein Coli-Enterokokken-Verhältnis für Flußwasser von 5 1 und für Abwasser von 10 : 1 ermittelte.

In den vorliegenden Untersuchungsergebnissen fällt in Übereinstimmung mit anderen Autoren die Diskrepanz im Zahlenverhältnis Coli/Fäkalstreptokokken auf. Bei unseren Untersuchungen bewegten sich die Zahlen von 2,5 1 bis 15 1. Diese Diskrepanz könnte möglicherweise dazu verleiten, den einen Test besonders aufzuwerten und den anderen zu vernachlässigen. Dies scheint jedoch in keiner Weise berechtigt, da sich in dem Zahlenverhältnis eine Gesetzmäßigkeit ablesen läßt.

Nach massiven Fäkalverunreinigungen kommt es zu massenhaftem Auftreten von Colibakterien im Gewässer. Diese Keime weisen auch außerhalb des ihnen nicht adäquaten Milieus eine gute Haltbarkeit auf und gehen daher nur relativ langsam zu Grunde, ja sogar eine Vermehrung ist nicht auszuschließen. Anders hingegen verhalten sich die Enterokokken. Obwohl sie — wie die Colibakterien — in reicher Menge mit den Fäkalien ausgeschieden werden (Taylor

© Bundesamt für Wasserwirtschaft, download www.zobodat.at

1949), nimmt ihre Zahl rasch ab, da sie eine viel geringere Anpassungs- und Überlebensfähigkeit in fremdem Milieu besitzen.

Verschiebt sich also — bei absoluter Abnahme beider Größen — das Zahlenverhältnis zu Gunsten der Colizahl, so deutet dies darauf hin, daß es sich um eine schon länger zurückliegende Verunreinigung handelt und bereits Selbstreinigungsvorgänge eingesetzt haben, was auch mit den übrigen Untersuchungsergebnissen im Einklang steht.

Diese Überlegungen scheinen uns jedoch auch für die hygienische Gewässerbeurteilung von Bedeutung. Das Verhältnis der Coli- zur Enterokokkenzahl im Zusammenhang mit den übrigen Untersuchungsbefunden dürfte eine weit größere Sicherheit bei der Beurteilung von Fäkalverunreinigungen eines Gewässer, vor allem im Hinblick auf den Zeitpunkt der Kontamination des Gewässers gestatten. Bei Berücksichtigung von Haltbarkeit und Infektionsfähigkeit der in Betracht kommenden Krankheitserreger könnte der Enterokokken-Test die Wasserbeurteilung für Wassersport, Freibadebetrieb und sonstigen Gemeingebrauch bedeutend erleichtern.

Zusammenfassend ergibt sich: Auf Grund unserer Untersuchungen sind wir der Meinung, daß dem Enterokokken-Test im Rahmen der Gewässergütekartierung noch wesentliche Bedeutung zukommen wird und daß es sich der Mühe lohnt, weitere Untersuchungen vorzunehmen und die noch offenen Fragen abzuklären.

Literatur

Buttiaux, R.: Les streptocoques fécaux des intestins humains et animaux. Ann.Inst.Past. Paris, 94, 778, 1958.

Clemensha, W. W.: The Bacteriology of Surface Waters in the Tropics. E. and F. N. Spon Ltd., London 1912 (zit. n. Taylor, 1949).

Cooper, K. E. und Ramadan, F. M.: Studies in the differentiation between human and animal pollution by means of faecal streptococci. J. gen. Microbiol., 12, 180, 1955.

Croft A comparative study of media for dedection of enterococci in water. Am. J. Publ. Health 49, 1379, 1959 (zit. n. Müller, 1961).

Guthof, O. und Dammann, G.: Über die Brauchbarkeit von Enterokokken-Testen zur Beurteilung von Trinkwasser und Oberflächenwasser. Arch. Hyg. 142, 559, 1958.

© Bundesamt für Wasserwirtschaft, download www.zobodat.at

Horrocks, W. H.: An Introduction to the Bacteriological Examination of Water. J. and A. Churchill Ltd., London 1901 (zit. n. Taylor, 1949).

Houston, A. C.: Seventh Report on Research Work. Metropolitan Water Board, London 1911 (zit n. Prescott, Winslow, McCrady, 1950).

Houston, A. C.: Twenty-fifth Annual Report. Metropolitan Water Board, London, 1930 (zit. n. Prescott, Winslow, McCrady, 1950).

Kjellander, J.: Enteric streptococci as indicators of fecal contamination of water. Acta Path. et Microbiol. Scandinavica, Suppl. 136, 48, 1960.

Lancefield, R. C.: A serological differentiation of human and other groups of hemolytic streptococci. J. exper. Med., 57, 571, 1933 (zit. n. Kolle-Hettsch, Experimentelle Bakteriologie und Infektionskrankheiten, München-Berlin, 1952).

Litzky, W., Mallmann, W L. und Fifield, C. W Comparison of the Most Probable Numbers of Escherichia coli and Enterococci in River Waters. Am. J. Pub. Health, 45, 1049, 1955.

Litzky, W., Rosenbaum, M. J. und France, R. L.: A Comparison of the Most Probable Numbers of Coliform Bacteria and Enterococci in Raw Sewage. Applied Microbiol. 1, 247, 1953.

Laws, J. P., und Andrewes, F. W Report on the Result on Investigations of the Microorganisms of Sewage. Report to London Country Council, December 13, 1894 (zit. n. Prescott, Winslow, McCrady, 1950).

Mallmann, W L. und Litzky, W Survival of Selected Enteric Organisms in Various Types of Soil. Am. J. Pub. Health, 41, 38, 1951.

Mieth, H.: Untersuchungen über das Vorkommen von Enterokokken bei Tieren und Menschen. Zbl. Bakt. I Orig. 179, 456, 1960.

Müller, G.: Der Enterokokkennachweis bei bakteriologischen Wasseruntersuchungen. Zbl. Bakt. I Orig. 180, 253, 1961.

Ostrolenk, M. und Hunter, A. C.: The distribution of enteric streptococci. J. Bact. 51, 735, 1946.

Prescott, S. C. und Parker, S. K.: The cultural relations of Bacillus coli and Houston's sewage streptococci, and a method for the detection of these organisms in polluted waters. J. infect. Dis., 1, 193, 1904 (zit. n. Kjellander, 1960).

Savage, W. G. und Read, W. J.: The Signification of streptococci in Water Supplies. J. Hyg. 15, 334, 1917 (zit. n. Prescott, Winslow, McCrady, 1950).

© Bundesamt für Wasserwirtschaft, download www.zobodat.at

Seelemann, M. und Nottbohm, H.: Untersuchungen über die Unterscheidung des Sc. lactis von den Enterokokken. Zbl. Bakt. I Orig. 146, 142, 1940.

Seelemann, M.: Biologie der Streptokokken. Nürnberg, 1954.

Sherman, J. M., Mauer, J. C. und Stark, P.: Streptokokkus faecalis. J. Bact. 33, 275, 1937.

Slanetz, L. W. und Bartley, C. H.: Numbers of enterococci in water, sewage and feces, determined by membrane filter technique with an improved medium. J. Bact. 74, 591, 1957 (zit. n. Müller, 1961).

Taylor, E. W.: The Examination of Water and Water Supplies. Philadelphia, 1949.

Thon, D. und Beling, A.: Beitrag zur Methodik bakteriologischer Flußwasseruntersuchungen. Zbl. Bakt. I Orig. 176, 542, 1959.

Winter, C. E. und Sandholzer, L. A.: Isolation of enterococci from natural sources. J. Bact. 51, 588, 1946 (zit. n. Guthof und Dammann 1958).

Anschrift des Verfassers: Josef Weber, Leiter der Abteilung Bakteriologie der Bundesanstalt für Wasserbiologie und Abwasserforschung, Wien-Kaisermühlen.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Wasser und Abwasser

Jahr/Year: 1962

Band/Volume: 1962

Autor(en)/Author(s): Weber Josef

Artikel/Article: Enterokokkenuntersuchungen in der Donau 55-62