

Herrn Univ.-Prof.Dipl.-Ing.Dr. R. LIEPOLT zum 80. Geburtstag gewidmet.

## KLEBSIELLA UND ANDERE AUßERGEWÖHNLICHE COLIFORME BAKTERIEN IM WASSER

K.S. ORMEROD

### Der Ursprung der Klebsiella-Bakterien im Wasser

Seit mehr als zehn Jahren ist bekannt, daß sich *Klebsiella*-Bakterien im Prozeßwasser bestimmter Industriezweige vermehren (2) Damit gelangen sie in das Abwasser dieser Industrie. Einige dieser *Klebsiella* -Bakterien reagieren positiv auf Nachweismethoden für coliforme Bakterien und einzelne auch auf Methoden für thermotolerante coliforme Bakterien. In den meisten Koloniezählungsmethoden für coliforme Bakterien werden solche *Klebsiella*-Bakterien mitgezählt. Sie werden auch in Coli-Titer-Methoden (MPN-Methoden), die keinen Nachweis von Indolbildung enthalten, mitbestimmt.

*Klebsiella* findet sich im Darm von Warmblütern und ist demnach ein coliformer Organismus. Sie ist aber weitaus seltener unter den Enterobakterien als die häufigste Darmbakterie *Escherichia coli*. *Klebsiella* kommt bei 30 - 40 % aller Menschen im Stuhl vor, in Mengen von  $10^4$  -  $10^6$  Organismen pr.Gramm Stuhl (3) *Klebsiella* solcher und klinischer Proben wachsen oft gut bei Temperaturen bis 45 °C. Nach GELDREICH und RICE (3) sind 60 - 85 % solcher *Klebsiella* -Bakterien thermotolerant und werden bei Nachweismethoden für thermotolerante coliforme Bakterien mitbestimmt. Neben *E. coli* und *Enterobacter*-Arten muß auch *Klebsiella* als eine coliforme Bakterie betrachtet werden.

*Klebsiella*- Bakterien sind in der Natur weitverbreitet. Sie sind nachweisbar in Früchten, Gemüse, bei Gemüseprodukten, Molkereiprodukten, in aufgehender Saat, im Heu, in Baumwolle und Holzmaterialien. Abwasser von Holzveredlungsindustrien, Papierfabriken, Textilbearbeitungsfabriken und Rohrzuckerfabriken können Mengen von  $10^4$   $10^6$  solcher Bakterien pr.ml enthalten. In derartigem Abwasser können die *Klebsiella*-Bakterien zwischen 50 und 90 % des Gesamtanteils coliformer Bakterien ausmachen (3)

Bei persistentem Vorkommen von coliformen Bakterien im Leitungsnetz für Trinkwasser handelt es sich ebenfalls meist um *Klebsiella*-Bakterien (3) *Klebsiella* können auf dem Material von Wasserversorgungssystemen wachsen, wie z. B. in Lagertanks aus frischem Holz. In den USA wurden *K.pneumoniae* *K. pn. var oxytoca*, *K.ozaenae* und *K.rhinoscleromatis* in vielen Wasserversorgungssystemen nachgewiesen. Wegen der Schleimkapseln, mit denen sie sich umgeben, kann es schwierig sein sie mit einer normalen Dosis Desinfektionsmittel zu entfernen. GELBREICH und RICE (3) geben eine Übersicht über das Vorkommen und die Bedeutung der *Klebsiella* -Bakterien in der Natur.

Die *Klebsiella* -Bakterien haben besonders gute Entwicklungsmöglichkeiten in der Holzveredlungsindustrie, wo sie hochkonzentriert auf allen Produktionsstufen zu finden sind. Sie können als große Schleimklumpen in der Papiermasse wachsen, was zur Folge hat, daß das Papier während der Herstellung zerreißen kann. Aus derartigem Prozeß- und Abwasser wurden *K. pneumonia* und *K. ozaenae* isoliert, die erstgenannte am häufigsten (3,6,4,7) Ein großer Teil dieser Bakterien kann thermotolerant sein. In Finnland wurde beobachtet, daß auch *E. coli* sich im Prozeßwasser vermehren kann, wenn das Holzmaterial von Laubbäumen (Birke) stammt (MAARIT NIEMI, Helsinki; pers.Mtlg.).

Thermotolerante coliforme Bakterien sind ein guter Anzeiger für die Belastung des Vorfluters mit Fäkalien, wie z. B. in kommunalen Abwässern. In Vorflutern für Abwässer der Holzveredlungsindustrie können thermotolerante coliforme Bakterien auftauchen, die aus diesem Abwasser und nicht aus Fäkalien stammen. Bei der Interpretation von Kontrollmessungen der hygienischen Wasserqualität ist diese Beobachtung sehr wichtig. Deshalb besteht das Bedürfnis nach einer Analysenmethode, die zwischen *Klebsiella* und anderen coliformen Bakterien unterscheidet. Mehrere solcher Methoden sind unter anderem von NIEMELÄ und VÄTÄNEN (6) sowie von GELDREICH und RICE (3) ausgearbeitet worden.

*Klebsiella* ist ein potentiell pathogener Organismus. Nach GELDREICH und RICE (3) ist *K.pneumoniae* die Ursache bei 18 % aller Harnwegsinfektionen in den USA. Dieser Erreger verursacht auch andere Krankheiten, z. B. Atemwegserkrankungen (Lungenentzündung) und Magenbeschwerden. Die Ansteckung kann beim Baden in Whirlpools erfolgen, da die Temperatur dort oft bei 37 °C liegt und die Bakterien gute Überlebens- und Vermehrungsmöglichkeiten finden.

Bis jetzt ist es nicht erwiesen, daß Arbeiter in der Holzveredlungsindustrie mehr Krankheiten infolge von *Klebsiella*-Infektionen haben als andere. Untersuchungen in den USA (4) zeigten aber, daß die Arbeiter solcher Betriebe die gleichen Biotypen von *Klebsiella* in ihren Atemwegen (Nase, Hals) hatten, die auch im Prozeßwasser nachgewiesen wurden. Man weiß noch wenig über das hygienische Risiko, das mit dem Vorhandensein von *Klebsiella* am Arbeitsplatz, im Trinkwasser und im Badewasser bei einer Temperatur unter 37 °C verbunden ist.

Beobachtete Störungen der Bestimmung "thermotoleranter coliformer Bakterien" zur Überwachung der hygienischen Wasserqualität in einem norwegischen Fjord

Der Iddefjord liegt an der norwegischen Südgrenze gegen Schweden und ist stark von dem Abwasser der norwegischen Holzveredlungsindustrie verunreinigt. Außerdem wird das Wasser auch mit kommunalen Abwässern von beiden Seiten des Fjords belastet. Die hygienische Wasserqualität wird durch Analysen für thermotolerante coliforme Bakterien überwacht. Dazu wird eine Membranfiltermethode mit Bebrütung auf Endo Agar, 24 Stunden bei 44 °C, benützt. Die Anzahl thermotoleranter coliformer Bakterien im meist belasteten Teil des Fjords liegt selten unter 1000 pr. 100 ml. Weitere Untersuchungen der Kolonien auf den Membranfiltern zeigten, daß in Zeiten normalen Betriebes der Holzindustrie, 30 50 % der thermotoleranten coliformen Kolonien *Klebsiella*-Bakterien enthielten. Der Rest war *E. coli* thermotolerante *Enterobacter* und einige Kolonien von *Aeromonas hydrophila*. Nach einer dreiwöchigen Einstellung des Betriebes in den Sommerferien waren *Klebsiella*-Kolonien nicht mehr auf den Filtern nachweisbar (6)

Der Anteil der verschiedenen *Klebsiella* -Arten wechselte zwischen den Probenahmezeitpunkten. Im Durchschnitt enthielten die *Klebsiella* -Kolonien 60 % *K. ozaenae* 38 % *K. pneumoniae*, und 2 % *K. pn.var oxytoca*. Die Differenzierung wurde nach der LASSEN-Methode vorgenommen (5)

Die Konzentrationen von coliformen Bakterien und *Klebsiella* in norwegischen Flüssen, die mit industriellem und kommunalem Abwasser belastet sind

Der Gehalt von *Klebsiella*-Bakterien in zwei norwegischen Flüssen, die Abwässer aus Industrie- und Wohngebieten erhalten, wurde mit einigen direkten Membranfiltermethoden für *Klebsiella* bestimmt. Teils wurde M-FC-IC-Agar (Inositol-Carbenicillin-Medium, beschrieben von NIEMELÄ et al. (6)) und teils m-Kleb-Agar (Adonitol-Carbenicillin-Medium beschrieben von GELDREICH et al. (3)) verwendet.

Der Gehalt von coliformen Bakterien wurde mit der Membranfilter (MF)-Methode mit m-Endo-Medium (37 °C, 24 St.) und der Gehalt von thermotoleranten coliformen Bakterien mit M-FC-Medium (44,5 °C, 24 St.) bestimmt.

Das Flußwasser hatte bei der Probenahme eine Temperatur von unter 10 °C. Es zeigte sich, daß die Konzentration von thermotoleranter *Klebsiella* (44,5°C) weniger als 1 % der Konzentration von coliformen Bakterien (37 °C) betrug. Wenn der Anteil thermotoleranter coliformer Bakterien 50 % der Konzentration von coliformen Bakterien überstieg, betrug die Konzentration von *Klebsiella* (37 °C) mindestens 10 % (12 – 48 %). Es ist daher nicht ungewöhnlich, normale *Klebsiella*-Bakterien in Vorflutern zu finden, die mit frischen Fäkalien verunreinigt sind.

Die *Klebsiella* -Kolonien einer der Flüsse wurden weiter untersucht mit Oxidaseprüfung, Beweglichkeitsprüfung, Säurebildung von Mannitol, IMViC-Prüfung und das Wachstum auf Inositol (M-FC-IC)- und Adonitol (m-Kleb)-Agar. Von 43 Kolonien zeigten 27 Reaktionen, die nach der letzten Ausgabe von "BERGEY's Manual" (1) der *K. pneumoniae pneumoniae* entsprechen und 1 von 43 entsprach der *K. oxytoca*. Bei 5 Kolonien könnte es sich um *Providencia rettgeri* handeln und bei 4 um *E. coli*, wenn man davon absieht, daß beide Typen in der Beweglichkeitsprüfung negativ waren.

#### Andere Vorkommen von außergewöhnlichen coliformen Bakterien

Coliforme Bakterien sind auch im natürlichen Quellwasser nach dem Abfüllen in Flaschen für den Verkauf nachgewiesen. Das Quellwasser selbst enthält keine Darmbakterien wenn es in den Betrieb kommt. Während der Entfernung von Schwefelwasserstoff und des Abfüllens in Flaschen gelangen jedoch Bakterien hinein. Einige dieser Bakterien wachsen als typische coliforme Bakterien auf den Membranfiltern nach 24 Stunden Bebrütung bei 37 °C auf m-Endo MF-Medium. Sie wachsen nicht bei der Membranfilteranalyse für thermotolerante coliforme Bakterien (M-FC-Medium)

Die Kolonien einiger dieser Filter wurden zur näheren Charakterisierung weiter untersucht. Von 24 Kolonien mit Metallglanz, dem Merkmal typischer coliformer Kolonien, waren 23 auch bei der MPN-Methode für coliforme Bakterien positiv. Sie reagierten jedoch nicht positiv auf den MPN-Nachweis für thermotolerante coliforme Bakterien. Eine Kolonie vermehrte sich nicht in Lactosebouillon. Auf dem Filter waren auch einige dunkelrote Kolonien ohne Metallglanz, viele hellrote und viele nicht gefärbte Kolonien zu finden. Eine hellrote Kolonie und alle dunkelroten wurden ebenfalls weiter

untersucht. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 1 zusammengefaßt. Die Mehrheit der metallglänzenden Kolonien sehen gärungstypisch wie *Citrobacter* aus, sind aber nicht beweglich und wachsen sowohl auf Adonitol als auf Inositol (bilden blaue Kolonien). Bei der nächst häufigeren Gruppe von 8 Kolonien kann es sich um *K. oxytoca* (1) handeln.

Die Herkunft dieser Bakterien ist noch nicht geklärt. Selbst wenn die Anwesenheit solcher Bakterien höchst wahrscheinlich nicht bedeutet, daß das Wasser mit Fäkalien verunreinigt ist, darf das abgefüllte Wasser solange nicht verkauft werden, wie die Analyse coliforme Bakterien nachweist.

Die meisten dieser außergewöhnlichen coliformen Bakterien wachsen, im Gegensatz zu *E. coli* mit blauen Kolonien auf *Klebsiella* Medien. *E. coli* vermehrt sich auf solchen Medien schlecht oder langsam und dann mit rotfarbigen Kolonien. Eine einfache Prüfung, ob es sich bei den coliformen Kolonien um diese außergewöhnlichen Bakterien handelt, kann mittels Ausstrich auf *Klebsiella* - Agar und Beweglichkeitsprüfung durchgeführt werden. *Enterobacter aerogenes* ergeben blaue Kolonien wenn sie wachsen (Carbenicillin soll das Wachstum hemmen), sind aber in der Beweglichkeitsprüfung positiv. Große blaue Kolonien und eine negative Beweglichkeitsprüfung deuten manchmal auf eine andere Quelle als Fäkalien hin.

Weitere Arbeit mit diesen Bakterien ist notwendig, um die Quelle ihres Vorkommens im Wasser und die Bedeutung ihrer Existenz zu finden.

Tab. 1:

Biochemische Reaktionen für Kolonien auf m-Endo-Membran-  
filtern

Anzahl Kolo- nien	Aussehen auf Filter m-Endo MF	MPN-Coliform Analyse Lact. BGG BGG			Oxi- dase	I M V C	Bew. Mann. 37 °C	Bew. Ado. 37 °C
		37	37	44				
14	Metall- glanz	+	+	0		+(+)- +	+	+ +
8	"	+	+	0		+(+)+ +	+	+ +
1		+	+	0		+(+)- -	+	+
1		0	0	0		0 0 0 0	0 0	0
2	Dunkelrot	S	W	0		+(+)- -	+	
1	"	W	W	0		- - + -		
1	"	0	0	0		0 0 0 -	0* 0*	0
1	Rot	+	+	0	+	+(+)- -	+	

0 = Kein Wachstum. 0\*: Negativ bei 37, aber positiv bei 20 °C.

S = Nur Säure. (+) = Schwache Säurebildung. W = Nur Wachsen.

BGG = Brilliantgrün Gallesalz Bouillion

Ist nichts angegeben, ist die Analyse nicht ausgeführt worden.



## SUMMARY

### Klebsiella and other extraordinary coliform-bacteria in water

A summary of published knowledge about the presence and sources of *Klebsiella* bacteria in industrial process waters, natural waters, bathing water and drinking water is given. Investigations in a Norwegian fjord polluted by urban effluents and effluents from paper and cellulose industries, proved that up to 50% of thermotolerant coliform bacteria found in the water was *Klebsiella*. Investigations in two Norwegian rivers, polluted by urban and industrial effluents, showed that *Klebsiella* bacteria capable of growth at 37°C were commonly found when the water contained fresh fecal pollution. In such cases, very few thermotolerant *Klebsiella* were present. Unusual coliform bacteria has also been found in bottled natural mineralwater. Some of these were identified as *Klebsiella*, as shown in Table 1. References to membrane filter methods for direct analysis of *Klebsiella* from water samples are given.

## Literatur

- (1) BERGEY'S MANUAL of Systematic Bacteriology, Vol.1 (1984) Eds. Holt, N.G., Krieg, N.R.; Vlg. Williams & Wilkins, Baltimore-London.
- (2) BORDNER, R.H., CARROL, B.J. (1972): Proceedings, seminar on the significance of fecal coliforms in industrial wastes.- EPA Techn.Rep. 3, Denver, USA.
- (3) GELDREICH, E.E., RICE, E.W. (1985): *Klebsiella* occurrence significance and detection in water systems. A progress report. Presented at the AWWA Water Quality Technology Conference, December 3 1984, Denver, USA; EPA

- (4) KARANEK, M.S., CAPLENAS, N.R. (1981): Epidemiological study of *Klebsiella pneumoniae* among Pulp and Paper Mill Workers.- Project Summary EPA-600/S1-81-023.
- (5) LASSEN, J. (1975) Rapid identification of gram-negative rods using a three-tube method combined with a dichotomic key.- Acta Path.Microbiol.Scand.Sect.B 83, 525-533.
- (6) NIEMELÄ, S.I., VÄÄTÄNEN, P (1982): Survival in Lake Water of *Klebsiella pneumoniae* Discharged by a Paper Mill.- Appl. and Environm. Microbiol. 44, 264-269.
- (7) ORMEROD, K. (1983): Testing av iddefjordens termotolerante coliforme bakterieflora for innhold av termotolerante *Klebsiella*. - Statling program for forurensningsovervakning. Rapport Nr.140/84, Overvaking i Iddefjorden (norweg.)

Anschrift des Verfassers: Dipl.-Ing. Kari S. ORMEROD, Norwegisches Institut für Wasserforschung, P.O.Box 333, Blindern, N-0314 Oslo.

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

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

Jahr/Year: 1986

Band/Volume: [1986](#)

Autor(en)/Author(s): Ormerod K. S.

Artikel/Article: [Klebsiella und andere außergewöhnliche Coliforme Bakterien in Wasser. 205-214](#)