

E+87
E487

Research Institute for
Public Health Engineering T.N.O.
Publication Nr. 71

Bibliotheek Hoofdkantoor TNO
's-Gravenhage ^{12/8} 163

MICROBIOLOGIE *

door prof. dr. J. K. BAARS

*Hoofd van de Sectie Hygiëne van Water, Bodem en
Lucht van de Afd. Gezondheidstechniek T.N.O.*

* Publicatie Nr 71 van de Afdeling Gezondheidstechniek T.N.O.

TNO
10726

Microbiologie ¹⁾

Het belang van water voor onze samenleving behoeft in dit gezelschap nauwelijks nader aangetoond te worden; immers, het is niet alleen een eerste voorwaarde voor de landbouw, de veeteelt en de industrie, doch het menselijk lichaam bestaat voor niet minder dan 70-75% uit water. Wij kunnen dan ook de uitspraak van Abel Wolman, nestor der Amerikaanse waterhygiënisten onderschrijven, die zegt:

„After the passion of love, waterrights have caused more trouble than anything else to the human species”.

Ongetwijfeld bedoelde hij gezond water, geschikt voor aquatisch leven, zoals wij dat in de vrije natuur nog wel aantreffen en niet de met menselijke en industriële afvalstoffen verontreinigde vloeistoffen, die in steeds stijgende hoeveelheden daarvoor in de plaats treden. Söhnngen bracht in 1914 reeds een verslag uit over de stank der Haagse grachten, terwijl Mevr. Wibaut in 1916 een bijdrage leverde tot de kennis omtrent de vervuiling van water in en om Amsterdam. Het gebruik van water door de mens heeft ons sinds het begin dezer eeuw de zg. „waterborn diseases” doen kennen, zoals typhus, paratyphus en cholera, die veroorzaakt worden door besmet water.

Het kan zijn dat bv. een prise d'eau incidenteel geïnfecteerd raakt, zoals het geval was bij de cholera-epidemie in Hamburg in 1892, en de zuiverings-installatie niet in staat is om de infectie te niet te doen, terwijl ook gevallen bekend zijn waar door vorst de biologische filters in hun zuiverende werking te kort gingen schieten, dan wel dat door spoelen van melkbussen met verontreinigd water melk geïnfecteerd wordt. In dit vloeibare medium, dat uitermate geschikt is voor vermeerdering kan dan een sterke bacterie-groei optreden. Ook kan

¹⁾ Voordracht, gehouden in de 8e Vacantiecursus, jan. 1956, Delft.

drinkwater, dat zelf slechts enkele pathogene kiemen bevat, bij gebruik voor de bereiding van vast voedsel het uitgangspunt zijn voor een sterke vermeerdering dezer kiemen, zodat het voedsel een werkelijk gevaar voor de gezondheid wordt.

Het is wel typisch, dat nu verschillende wijzen van verspreiding dezer „waterborn diseases” bekend zijn, nieuwe gevallen toch practisch steeds tot de zelfde „slechte kansen” kunnen worden teruggebracht. De paratyphus-epidemie, die in 1950 in Waalwijk optrad, was weer van het gewone type: besmetting van het afvalwater met *Salmonella paratyphi* door lijdens aan paratyphus, onvoldoende verwijdering van dit afvalwater uit de gemeenschap, besmetting van de verdere omgeving en uiteindelijk 172 gevallen van paratyphus.

Het is daarom begrijpelijk dat men voor drinkwater, dat uiteraard niet alleen voor direct gebruik, doch ook voor bereiding van spijzen dient, chemische en bacteriologische eisen is gaan stellen waaraan het water moet voldoen. In Nederland kennen wij voor het bacteriologisch onderzoek het normblad N 1028, dat uit het jaar 1942 dateert en het nieuwe ontwerp-normblad, het zg. V-blad 3043 van October 1953.

Op de gedetailleerde eisen, die aan drinkwater gesteld worden, komen wij later nog terug, doch hier moge al vast het volgende opgemerkt worden:

Al naar de wijze van isoleren (op gelatine bij 20 °C of op agar bij 27 °C) wordt als toelaatbaar aantal kiemen 100 of 50 per cc vermeld. Zou nu door een of andere vooralsnog onbekende reden de uitslag van het bacteriologisch onderzoek belangrijk slechter worden, dan zou men naar een der vele desinfectiemiddelen kunnen grijpen en handelen volgens het principe: „just kill the bugs”.

Misschien is het in bedrijf stellen van het chloordoseringstoestel tenslotte onvermijdelijk, doch men dient óók te zoeken naar de oorzaak en de aard der infectie, waarvoor uiteraard nadere kennis der bacteriën noodzakelijk is. Niet alleen heeft dit betrekking op de bacteriën, die in grondwater en in het oppervlaktewater voorkomen; ook omtrent de micro-organismen uit de bodem dienen wij geïnformeerd te zijn.

Voor de drinkwatervoorziening in Nederland wordt gebruik gemaakt van grondwater, duinwater en oppervlaktewater, en wel, wanneer wij een indeling maken naar de geproduceerde hoeveelheden water, voor

54% grondwater,
23% duinwater en
23% oppervlaktewater.

Wanneer wij nagaan welke soort oplossing men gekozen heeft in 203 gevallen, dan is dit in 82% van de gevallen grondwaterwinning, 12% van de gevallen duinwaterwinning en 6% van de gevallen winning van oppervlaktewater.

Het is nu van belang onze microbiologische beschouwingen niet alleen uit te strekken over organismen, die in het oppervlaktewater en het ondergrondse water voorkomen, doch ook de bodem als tussenliggend terrein te bezien.

Allereerst rijst de vraag, hoe wij de bacteriën moeten bestuderen. Zal dit zijn temidden van andere soorten in hun natuurlijke milieu, dat vaak minimale levensomstandigheden biedt of als reïncultuur in een beperkte omgeving, aanvankelijk rijk aan voedingsstoffen, doch waarin de stofwisselingsproducten zich meer en meer ophopen en slechts ten dele kunstmatig worden geneutraliseerd. Bacteriën, gegroeid in een dergelijk milieu beschouwde Winogradsky als circusleeuwen, die slechts zeer in de verte verwant zijn aan de wilde, virulente individuen in de natuur.

Toch heeft men uit praktische overwegingen tot de bestudering der bacteriën in reïncultuur onder optimale omstandigheden moeten besluiten, daarbij zoveel mogelijk rekening houdend met natuurlijke omstandigheden. Zo gebruikt men voor de isolatie van de nitrificerende bacteriën, waarvan de groei door organische stoffen belemmerd wordt een voedingsbodem van uitgewassen kiezelzuurgel met enkele voedingszouten, zodat na enting van dit medium groei van het gewenste micro-organismen mogelijk wordt.

De uitspraak van Beyerinck: „Alles is overal, het milieu selecteert”, geldt nog steeds. Wij kunnen via ophopingen uiteindelijk tot reïncultures komen en dan het onderzoek langs verschillende wegen voortzetten, nl. door bestudering van

1. de morphologische eigenschappen,
2. de physiologische eigenschappen;
3. de stofwisseling.

1. Voor de *morphologische eigenschappen* is het logisch om, zoals Antony van Leeuwenhoek omstreeks 1670 te dezer stede deed, een microscoop te gebruiken, zij het dat deze microscopen in de loop der jaren wel van een heel andere constructie zijn geworden. Werkte Leeuwenhoek met één enkel lensje, waarmede vergrotingen tot $270 \times$ konden worden bereikt, met een modern microscoop is het alleszins mogelijk tot $\pm 2000 \times$ te gaan. Het oplossend vermogen dezer lichtstralenmicroscopen is



Afb. 1 Elektronenfoto van *Sporovibrio desulfuricans* 40.000 $\times$
(opname dr. A. L. Houwink, Lab. v. Mikrobiologie, Delft)

echter afhankelijk van de golflengte van het gebruikte licht en de gang der lichtstralen in de microscoop. We kunnen dan ook met ultraviolet licht nog wel tot 3000 $\times$ komen.

De details van de bacteriestructuur zijn van veel belang en het is de verdienste van de Nobel-prijswinnaar Zernike ons het fase-contrastmicroscoop te hebben geschonken, waarmee veel meer details in het bacterie-lichaam zichtbaar kunnen worden gemaakt dan met de gewone helderveldmethodiek. De interpretatie van het verkregen beeld kan echter slechts met zeer veel bedachtzaamheid geschieden, want de scherpte der beelden verandert steeds bij variërende instelling en de lichtbreking in de verschillende celbestanddelen is vooralsnog zeer gecompliceerd. Met een variabel fase-contrast, dat beelden geeft van helder-veld tot donker-veld kan men nochtans zeer fraaie waarnemingen verrichten.

Wanneer wij i.p.v. lichtstralen gebruik maken van elektrisch gerichte elektronenstralen, die een 180.000 $\times$ kleinere golflengte hebben bij een werkspanning in het microscoop van 100.000 V, kunnen we in het elektronenmicroscoop nog weer veel sterkere vergrotingen verkrijgen (40-50.000 $\times$). Dit betekent, dat wanneer men een afvalwaterspirochaet van 100 μ ten voeten uit opneemt, dit een foto wordt van 4 m (een normale python).

De interpretatie van tot nu toe onbekende beelden is uiteraard eveneens moeilijk; toch zijn vele gegevens over celstructuur verkregen, waarbij de gewone vormen als coccen, vibrio's en spirillen zeer fraai afgebeeld worden en bij de laatste soorten ook de cilien en hun inplanting weergegeven worden (afb. 1).

Van de bacterieophaag werden met het E.M. voor het eerst beelden verkregen. Of het elektronenmicroscoop ons in staat stelt om, overigens na een ophoping in een se-

lectief medium, visueel bacteriën van faecale origine te herkennen naast anderen, is vooralsnog een open vraag, daar na de aanduiding van deze mogelijkheid door Bayliss in 1950 geen verdere publicaties zijn verschenen.

2. Bij de behandeling van de fysiologische eigenschappen beperken wij ons tot *de resistentie der bacteriën* en kunnen bv. hun afsterving in een natuurlijk milieu onderzoeken. Ook het al of niet voorkomen van sporenvormers is van belang en in Engeland wordt bij het wateronderzoek onder meer het voorkomen van *Clostridium Welchii* onderzocht. De spore-vorm is nl. een „Dauerform”, waarin de bacterie maandenlang kiemkrachtig kan blijven voortbestaan. Miltvuursporen kunnen zelfs jarenlang een reële kans op besmetting met deze zo gevreesde veeziekte geven.

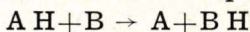
De resistentie tegen zout is vaak groter dan men wel aanneemt en de desinfecterende kracht van zeewater wordt dan ook vaak overschat. Daarnaast is ook het zelfreinigend vermogen van de zee geringer dan van zoetwater. De menging der verschillende watersoorten is hierbij van essentiële betekenis. De natuurlijke reiniging van het Amsterdamse afvalwater, dat bij het Pampus geloosd wordt, was, toen dit nog in de Zuiderzee geschiedde, geringer dan na de afsluiting, zoals uit de onderzoekingen van Dresscher is gebleken. Lozing van afvalwater op een zeer ondiepe zee kan dan ook onder ongunstige omstandigheden (aanlandige wind) een zeer sterke verontreiniging van de badstranden ten gevolge hebben.

De werking van desinfectiemiddelen, zoals actief chloor, chloordioxyde, chlooramine of ozon e.d. moet gezien worden als een irreversibel, oxydatief beschadigen van de fermenten, die essentieel zijn voor de stofwisseling, die wij in het bacterie-protoplasma aannemen. Naast deze fermenten treffen wij in de cel een grote verscheidenheid van verbindingen aan: thiamine (B_1), riboflavine, nicotinezuur, pantotheenzuur, (eveneens uit de B-vitaminen groep), pyrodoxine (B_6), biotine etc.

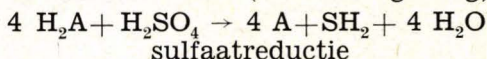
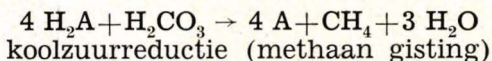
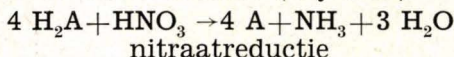
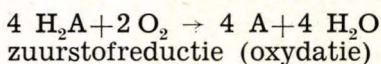
Wanneer wij bedenken, dat een cel zich onder gunstige omstandigheden in twee uur kan vermenigvuldigen en dat, hoewel de bovenbedoelde bestanddelen redelijkerwijs ten dele in de nieuwe cel overgaan, de jonge cel toch in staat is van al deze componenten voldoende aan te maken om op haar beurt weer tot reproductie te kunnen overgaan, zouden wij het proces der deling kunnen vergelijken met de geboorte van Minerva, die volgens de Griekse mythologie in volle wapenrusting uit het voorhoofd van Jupiter ontsproot.

Van de eigenschappen van de celwand t.o.v. kleurstoffen wordt in de diagnostiek gebruik gemaakt bij de kleuringen. Wij kennen bv. Gram-positieve en Gram-negatieve bacteriën (zoals bv. E.coli) en wij weten heden ten dage dat het al of niet aannemen van de Gram-kleuring, welke met methylviolet en safranine geschiedt, berust op de aanwezigheid van ribonucleïne-zuur op het oppervlak van de bacterie. Door inwerking van een oplozend ferment, de ribonucleïnase, kan deze verbinding gehydrolyseerd en van de celwand verwijderd worden, zodat deze Gram-negatief wordt. Men kan zelfs weer een Gram-positieve laag op de bacterie herstellen en noemt dit „replating” van het Gram-negatieve cytoskelet.

3. Wij komen nu tot *het onderzoek der stofwisselingsproducten* en mogen hier wel van een Delftse school spreken, die onder leiding van Prof. Kluyver bij een groot aantal bacterie-geslachten de stofwisseling onderzocht. Het is een geniale gedachte geweest, de fundamentele reacties, die aan de meest uiteenlopende dissimilatorische reacties ten grondslag liggen, te zien als een waterstof-activering in het substraat of donor, die deze waterstof afstaat aan een acceptor.



Als acceptor kunnen verschillende verbindingen dienst doen, zoals



Vele verbindingen kunnen door de bacteriën gedehydrodreerd worden; zij zullen daardoor geleidelijk meer en meer zuurstof gaan bevatten. Hier zal niet nader in detail worden nagegaan hoe een bacterie-dissimilatie eigenlijk geanalyseerd wordt, het zij voldoende te vermelden dat men een zg. balans opstelt waarbij aan de ene zijde de hoeveelheid omgezet substraat en aan de andere zijde de gevormde omzettingsproducten worden genoteerd. Uit de verhouding der verschillende producten kunnen dan vaak conclusies worden getrokken over het verloop van de afbraak, waarbij de gevormde verbindingen steeds minder waterstof gaan bevatten. Als de eindproducten koolzuur en water zijn kan men ook zeggen, dat zij geheel geoxydeerd zijn. Als dit gebeurt door medewerking

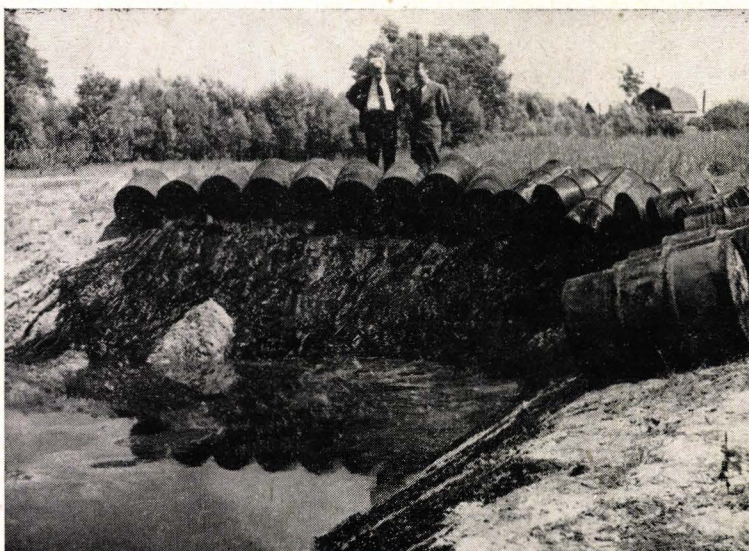
van de vrije zuurstof, dus aeroob, zal daarbij meer energie vrijkomen dan bij een anaerobe wijze van omzetten, zodat meer nieuw celmateriaal kan worden gevormd en de omzetting met hernieuwde intensiteit kan voortschrijden.

Zodoende is zelfs bacteriële afbraak van verzadigde koolwaterstoffen mogelijk, zoals in het eerste proefschrift, dat in 1906 aan de Technische Hogeschool werd verdedigd door Söhngen overtuigend werd aangetoond. Deze koolwaterstof-oxyderende Mycobacteriën, waaraan wonderlijk genoeg Mycobacterium tuberculosis zeer nauw verwant is, zorgen er voor, dat de dagelijkse verontreiniging van onze openbare wateren met petroleumproducten door de motorscheepvaart ongedaan wordt gemaakt.

Söhngen bestudeerde niet alleen het verdwijnen van koolwaterstoffen in de natuur, doch ook enkele vormingswijzen, zo bv. de methaangisting. Later is het onderzoek door Barker c.s. voortgezet met substraten, zoals azijnzure-zouten, waarin bepaalde koolstofatomen isotopen waren van de gewone C_{12} , nl. C_{11} . Men kon dan nagaan uit welk stuk van het molecuul het methaan was gevormd. Wanneer zich eenmaal in de bodem koolwaterstofafzettingen bevinden, zullen de lichtere componenten zich door de aarde omhoog begeven en in de oppervlakkige bodemlagen zal microbiële koolwaterstof-oxydatie mogelijk worden. Traggart maakt in het hem verleende U.S.-Patent hiervan gebruik om die voorkomende gevallen op te sporen.

Ontbreekt de zuurstof echter, dan kunnen koolwaterstoffen jarenlang onveranderd in de bodem aanwezig blijven (afb. 2). In 1945 werd bij Wezel door de Amerikanen een groot tankstation opgericht voor hun oprukkende leger. Uiteraard werd ook veel benzine gemorst, die in de bodem wegzakte. De gemeente Wezel heeft nu verschillende waterwinplaatsen buiten bedrijf moeten stellen, omdat het water ondrinkbaar werd door benzinesmaak. In de afgelopen jaren heeft deze benzine 700 m afgelegd. Bij München bleken bodemverontreinigingen met benzine in matig droge bodem na $4\frac{1}{2}$ jaar wel geoxydeerd te zijn; benzine eenmaal in het grondwater beland, kan daarin echter jarenlang onveranderd aanwezig blijven.

Uit het proefschrift van Den Dooren de Jong weten wij welk een veelvuldigheid van organische verbindingen door de microben aeroob kan worden afgebroken, waarbij uiteraard ook verbindingen moeten zijn, die zij voor het eerst in hun kortstondig leven als substraat opgediend krijgen; een bewijs temeer voor de universaliteit



Afb. 2 Bodemverontreiniging door teerproducten.

van de waterstofactiveringstheorie. Het is zelfs zo, dat sommige volkomen nieuwe „man-made” verbindingen als alkyl-sulfaten, die een belangrijk deel der moderne synthetische wasmiddelen uitmaken, bacterieel afgebroken kunnen worden.

Helaas geldt dit slechts voor de alkylsulfaten en niet voor de andere grote groep der „detergents”, nl. de alkylaryl-sulfonaten, die men bv. reeds in het Londense drinkwater in concentraties van ± 1 mg/l kan aantonen.

Het feit, dat het effluent van een afvalwaterzuiveringsinstallatie, waar gebruik wordt gemaakt van de actief slib methode met perslucht, tegenwoordig vaak minder ver gezuiverd is dan vroeger, moet toegeschreven worden aan de verminderde oplossing van de zuurstof in het detergents-bevattende afvalwater, waardoor de oxydatie der organische stoffen bemoeilijkt wordt. Daarnaast treedt nog het inconvenient der schuimvorming aan het vloeistof-oppervlak in de beluchtings-tank op. (afb. 3). Met dit slib krijgen we ook een soort flotatie der bacteriën; deze concentreren zich in het schuim en in de omgeving der zuiverings-installatie resulteert een vettig neerslag, dat iedere plantengroei verstikt.

Men zoekt momenteel naar sulfonaten, die biologisch wel afgebroken kunnen worden, zodat wij de restanten der synthetische wasmiddelen niet met het drinkwater „behoeven te slikken”.



Afb. 3 Moeilijkheden bij de afvalwaterzuivering in de installatie Amsterdam-West door schuimvorming tengevolge van de aanwezigheid van kunstmatige wasmiddelen in het afvalwater.

Ofschoon we bacteriën kennen, die in belangrijke mate het vermogen bezitten of kunnen verwerven om phenolen af te breken, zoals het geslacht *Nocardia* (tot 1600 mg/l), gelden de in het water onzer grote rivieren niettemin nog resterende sporen phenolen als een belangrijke bron van slechte smaak voor het uit rivierwater geproduceerde drinkwater; er zijn waarnemingen, dat ook andere organische verbindingen ernstige smaakbezwaren kunnen veroorzaken. Vast staat, dat het zelfreinigend vermogen in het ontvangende water in deze gevallen te kort schiet.

Tegen radio-actieve verontreinigingen zijn uiteraard geen bacteriën opgewassen, tenzij men hier door het vastleggen van de radio-actieve substanties in het microbenlichaam een verwijdering van deze verontreinigingen uit het water zou willen bereiken. Het bezwaar is dat dit slechts voor enkele elementen mogelijk is. Boven werd reeds het gebruik van radio-actieve C in substraten gememoreerd; ook radio-actieve P (P 32) wordt wel gebruikt. Bij een onderzoek over de verspreiding van bacteriënsporen door de lucht is zelfs gebruik gemaakt van sporen, die gevormd waren uit bacteriën, die P 32 bij hun voedingszouten hadden gekregen. Het aantonen van de P 32 met een Geiger-Müller teller was dan zeer eenvoudig.

Wanneer de verontreinigingen in de natuur niet terecht komen in water, een betrekkelijk homogeen milieu, doch op de bodem, zal daar eveneens een min of meer vèrgaande oxydatieve afbraak kunnen plaatsvinden met behulp van de luchtzuurstof, doch de regen kan als spelbreker optreden en de, nog niet volledig omgezette verbindingen, de bodem inspoelen. Wanneer in de bovenste grondlagen de luchtzuurstof opgebruikt wordt, kan de dehydrering worden voortgezet met nitraat-zuurstof en we spreken dan van denitrificatie; deze kan zeer ver gaan en het zal duidelijk zijn dat, wanneer de organische substraten langzamerhand opgebruikt raken door de, in de bodem aanwezige en de met de verontreiniging in de bodem gebrachte bacteriën, hun levensomstandigheden minder gunstig worden. Bij een onderzoek in een toeristenkamp, waar men in een droge bodem gewone boor-latrines gebruikte, was deze oxydatie zeer effectief; hoewel naar de ondergrond weliswaar wat nitraten konden worden afgevoerd met regen, vond toch verder in deze droge doorluchte bodem een volledige mineralisatie plaats. In de infiltratiebassins van de Leidse duinwaterleiding zien wij dan ook in de droge (zomer) periode een afname van de aan de zandkorrels geadsorbeerde organische stof. Dit brengt eveneens met zich mede een afname van het aantal aan deze zandkorrels geadsorbeerde bacteriën. Dat deze afname behalve door een voedseltekort ook in belangrijke mate beïnvloed wordt door andere milieufactoren is wel waarschijnlijk, doch moeilijk te bewijzen. Overbekend is de werking van bv. penicilline en streptomycine op pathogene bacteriën. In hoeverre ook de bacteriofaag een belangrijke rol speelt bij het verdwijnen der in de bodem gebrachte bacteriën is niet te zeggen. Wel is bekend, dat het opzettelijk enten van putwater in India met cholera-phaag géén aantoonbare invloed heeft gehad op het voorkomen van cholera.

Wanneer de bodem weliswaar geen nitraten doch nog wel sulfaten bevat en organische stof wordt op een of andere wijze toegevoerd, kan sulfaatreductie optreden, die tot ernstige corrosie van buisleidingen kan leiden. Door Von Wohlzogen Kühr is dit proces op fraaie wijze geanalyseerd.

In de natuurlijke bodem, waarbij wij in het bijzonder aan onze duinenreeks denken is de sulfaatreductie nauwelijks van belang. Anders wordt dit bv. in streken waar aardolie voorkomt. Het water in de olieafzettingen is veelal geheel anaeroob en bevat naast veel sulfaatreducerende bacteriën aanmerkelijke hoeveelheden H_2S . Het

verwijderen van dit water geeft dan ook vaak grote complicaties.

Onder de abnormale omstandigheden, die zich na de overstromingen in 1953 in Zeeland voordeden kon eveneens de sulfaatreductie sterk op de voorgrond treden. In de meeste dorpen werden de schuren, waarin veel organische stoffen lagen, dagelijks 2 × doordrenkt met vers zeewater, dat zeer veel sulfaat bevat. De bacteriële omzettingen, die vrij spoedig optraden, schiepen een zuurstofvrij milieu zodat, na verbruik van de nitraatzuurstof, het sulfaat als waterstofacceptor ging fungeren. Bij het schoonmaken van Kruiningen moesten hier en daar pikzwarte modderlagen van meer dan $\frac{1}{2}$ m dikte, worden opgeruimd, die een sterke H_2S -geur van zich gaven (afb. 4).

Op sommige plaatsen werd door deze H_2S mogelijk gemaakte groei van rode purperbacteriën geconstateerd. Hierbij wordt aan de lucht deze H_2S weer geoxydeerd tot zwavel. Een eventuele verdere oxydatie tot zwavelzuur is een daarbij weer aansluitende omzetting, die door het gevormde zuur ernstige corrosie aan beton kan veroorzaken. De bacteriën zelf hebben daar niet veel last van: Thiobacillus thiooxydans zou zelfs 5% zwavelzuur nog kunnen verdragen.



Afb. 4 Door sulfaatreductie zwart geworden modder bij Kruiningen (Oct. 1953).

Hoe het zij; het is in de loop der jaren niet alleen gebleken, dat het natuurlijke duin uitstekend drinkwater kan opleveren, doch ook dat door middel van kunstmatige infiltratie een gelijkwaardig product kan worden verkregen. Wel zijn de omstandigheden in het duin wel wat verschillend van die in een biologisch filter, waarmee zij zo vaak vergeleken worden, doch ook hier is de oxydatieve zuivering het belangrijkste.

Wij willen nu echter nog een ogenblik stilstaan bij de eisen, die aan drinkwater officieel worden gesteld.

Sinds het Kaiserliche Gesundheitsamt in 1898 voor het eerst voorschreef, dat het afgeleverde water per cc niet meer dan 100 kiemen, geteld na twee dagen bebroeden op gelatine bij 22 °C mocht bevatten, hebben vele beschaafde landen eisen of normen vastgelegd, waaraan het water, dat door de overheid of met toestemming van de overheid door anderen wordt verstrekt, behoort te voldoen. Het principe, dat thans hieraan ten grondslag ligt, gaat veel verder dan het criterium van het kiemgetal zonder enige differentiatie. Het is als volgt.

Wanneer lijders aan een infectieziekte pathogene kiemen, die voor hun omgeving gevaar op kunnen leveren, uitscheiden, geschiedt dit practisch altijd met de faeces. De pathogene kiemen zijn dus steeds vergezeld van *E. coli*, en hoewel men tegenwoordig ook rechtstreeks naar pathogene bacteriën, zoals bv. *Salmonella*'s kan zoeken, zoals in de onderzoeken van Schaeffer in Bandoeng en Mom en Broek bij de Waalwijk-epidemie geschied is, is de algemene praktijk tegenwoordig toch nog geheel ingesteld op in de eerste plaats het onderzoek naar de aanwezigheid van *E. coli*, daar waterleidingbeleid moet berusten op het nemen van veiligheden en het vermijden van enig risico.

Biemond zegt in zijn rapport 1948 over de drinkwatervoorziening van Amsterdam duidelijk: „De hygiënische kwaliteit van een wateronttrekking wordt immers in laatste instantie niet bepaald door het gemiddelde, hoe fraai dit moge zijn, doch door het risico, dat men onder de ongunstigste omstandigheden lopen kan”. Men zou nu evenwel de vraag kunnen stellen, wat wij verstaan onder *Escherichia coli* of wel onder een colibacterie. Het antwoord moet luiden; een Gram-negatief, niet sporevormend staafje, meestal beweeglijk door peritriche cilien, van $0,5 \times 1,0$ — $3,0 \mu$ afmeting, dat lactose bij 37° kan vergisten onder vorming van zuur en gas binnen 48 uur en dat in de zg. invic-test indol vormt, methylerood positief verkleurt, daarentegen de reactie van Vo-

ges-Proskauer niet vertoont en niet in staat is om met citraat als enige koolstofbron te leven.

Wij krijgen na de eerste hoofdeigenschappen (groei in MacConkey of groei in glutaminezuur-medium en, daaruit afgestreken op Endo of Eosinemethyleenblauw agar, een positieve kleurreactie) dan voor de imvic-karakteristieken de formule $++--$. Er zijn echter vele bacteriën, die de eerste hoofdeigenschappen eveneens bezitten, doch bij de imvic een ander patroon vertonen, bv. $+--+$ of $+-+ +$. Naast *E.coli* kennen we dan ook nog een plantaardige soort *Aerobacter aerogenes*, welke $--++$ is en enkele min of meer vaak voorkomende varianten. De Engelse commissie onderscheidt niet minder dan *E.coli*, *A.aerogenes*, 2 „intermediates” en 3 „irregular types”. Het onderscheid tussen de faecale en de plantaardige coli is van essentieel belang. Terecht zegt Rippel: Die Systematik der Bakterien ist das unerfreulichste was es auf dem Gebiete der Bakteriologie gibt.

Want hoe moet ons standpunt zijn? Moeten wij een scherpe afscheiding maken tussen de model *E.coli* en bv. de intermediates? Men neigt tegenwoordig tot de opvatting, dat het voorkomen van enige coli-achtige bacterie tot waakzaamheid moet leiden, terwijl het voorkomen van de echte *E.coli* tot onmiddellijke actie moet voeren.

Bij de isolatie van de coli-achtigen in het algemeen heeft men steeds gezocht naar zeer specifieke methoden en hoewel wij daaronder bepaald klassieke werkwijzen kennen (de proef van Voges-Proskauer werd voor het eerst in 1898 gepubliceerd) heeft men, vooral bij het gebruik van kleurstofhoudende voedingsbodems en media waaraan specifieke remmende stoffen waren toegevoegd, tot op heden nog steeds naar verbetering gezocht.

Naast het medium volgens *Endo* kennen we de *eosinemethyleenblauw*- en de *lakmoidagar*-platen. Het medium volgens Wilson-Blair, dat ons in staat stelt rechtstreeks paratyphus-bacteriën te isoleren, is een belangrijke vooruitgang geweest.

Wij worden soms wel gedwongen de bacteriën toch nader te preciseren, bv. door de financiële consequenties. Zo lijkt *V.cholera* op *V. ElTor*, doch deze laatste veroorzaakt géén cholera, de eerste wel. Wordt in een haven aan boord van een van de schepen dus *V.cholera* aangetroffen, dan treden alle quarantaine-bepalingen in werking, hetgeen zeer grote kosten met zich brengt. Vooral in tropische havenplaatsen is het dan ook van belang om behalve de eventuele haemolyse van geitenbloed-agar ook met behulp van de Voges-Proskauer-

reactie een verschil te kunnen maken tussen deze beide vibrio-soorten.

Een van de nieuwste methodieken bij het wateronderzoek wil ik tot slot nog kort bespreken, nl. het gebruik van membraan filters. Hierbij worden door een filterschijfje van cellulose of cellulose-esters de bacteriën uit een niet gelimiteerde hoeveelheid water afgefiltreerd. Dit is bepaald een groot voordeel boven de gebruikelijke methode, waarbij de te onderzoeken hoeveelheid water met de voedingsstoffen wordt gemengd. Meer dan 50 cc wordt meestal niet ingezet. Bij de m.f. kunnen we echter zonder bezwaar de coli-titer van 1 l water bepalen.

Na de filtratie wordt het schijfje op bv. een Endo-voedingsbodem gelegd, bij 37 °C bebroed en na 18 uur onderzocht op de al of niet aanwezigheid van koloniën met metaalglans.

Het laat zich echter aanzien, dat ook hier nog geruime tijd intensief onderzoek nodig zal zijn om de meest efficiënte methodiek te vinden, waarbij uiteraard de water-soort, die onderzocht moet worden ook van veel invloed kan zijn. Door het vermijden van allerlei selectieve ophopingsmedia en door direct te cultiveren op Endo of andere media treft men bv. bij oppervlaktewater vaak naast de gezochte kolonie met metaalglans een groot aantal, de E.coli belemmerende, andere micro-organismen aan. Een vraag blijft nog open nl.: wat te doen indien het water behalve door bacteriën, ook nog door zwevende stoffen zoals ijzer, is verontreinigd. Het kweken geeft dan grote moeilijkheden. Ook aan de diagnostische methoden wordt intensief gewerkt, teneinde zo snel mogelijk een eventuele kwaliteitsverandering van het water te kunnen bemerken.

De eigenschappen der bacteriën worden met de allernieuwste hulpmiddelen verder geanalyseerd. Daarnaast is het echter alleszins gemotiveerd de hulpkrachten in de natuur, die ons verontreinigde water weer in zijn oorspronkelijke toestand kunnen terugvoeren, beter te leren kennen, te weten, het zelfreinigend vermogen van oppervlaktewater en de zuiverende werking van de bodem, teneinde deze kostbare gift van de natuur nog beter te kunnen benutten voor ons aller welzijn.