Nachweis pathogener Bakterien im Wasser durch Präcipitationsreaktion mittelst des unter Ansäuerung und Erhitzung hergestellten Antigens.

Von

Yuki Unoura

(鵜浦 有紀)

(Aus dem Bakteriologischen Institut der Kaiserlichen
Tohoku-Universität zu Sendai. Direktor:
Prof. Dr. M. Kuroya)

(Received for publication, October 2, 1943)

Explosive Epidemien akuter enteraler Ansteckungskrankheiten rühren oft von Verunreinigungen des Trinkwassers her. Wenn aber Trinkwasser einmal verschmutzt ist, ist es sehr schwierig, die pathogenen Bakterien unmittelbar aus dem Wasser nachzuweisen. Dafür wurden bisher folgende Gründe angegeben: 1) Die Zahl der Krankheitserreger ist im Wasser immer sehr gering. Folglich sind die wenigen vorhandenen in einer grossen Menge Wasser verteilt. 2) Im Wasser gibt es spezifische Wasser- und Begleitbakterien, wie z. B. die Kolibazillen, die mit den pathogenen zusammen vorkommen. Diese Bakterienarten haben grosse Widerstandskraft und übertrreffen die Krankheitserreger an Zahl bei weitem, sodass sie den Nachweis der letzteren erschweren wenn nicht sogar unmöglich machen können. 3) Wie Müller¹⁾ einst erwähnte, liegt in vielen Fällen ein Inkubationsstadium von 2-3 Wochen zwischen der Ansteckung mit Unterleibstypus und dem Auftreten seiner primordialen Symptome, und zwar sterben die meiste Typhusbazillen im Wasser erfahrungsgemäss gewöhnlich innerhalb 14 Tagen ab. Darum gelang ihr Nachweis aus Wasser bisher nur selten, obwohl unzählige Versuche dazu unternommen wurden.

Trotz dieser Schwierigkeiten versuchten ziemlich viele Autoren, wie Michaelis,²⁾ Dienert und Etrillard,³⁾ Akiba und Kazama,⁴⁾ Tabei und Minato,⁵⁾ und Kodama und Kawabe,⁶⁾ usw., die pathogenen Bakterien direkt aus dem Trinkwasser nachzuweisen. Sie bemühten sich fast alle, die wenigen spezifischen Bazillen, die in einer grossen Menge Wasser vorhanden waren, in eine kleine Menge Wasser überzuführen, d.h. sie suchten die Krankheitserreger durch Konzentrierung des mit ihnen verseuchten Wassers nachzuweisen. Zu diesem Zwecke wurden verschiedene

Methoden entwickelt: die Filtration, die Abdampfung bei niedrigen Temperaturen, die Kultur unter Zusatz einer dicken Kulturlösung, der Zusatz eines Präzipitationsmittel und des antibakteriellen Immunserums mit hohen Agglutinationstiter u. dergl.

Obwohl durch die obenerwähnten verschiedenen Methoden eine Ansammlung der Bakterien in gewissem Grade erreicht wurden, kann man doch nicht sagen, dass die selektive Ansammlung der pathogenen Bazillen gelang. Darum ist es denkbar, dass der Nachweis der Krankheitserreger aus den Bazillenmassen durch Züchtung oft durch andere Bakterienarten mit starker Widerstandskraft erschwert, wenn nicht sogar unmöglich gemacht wird.

Nakamura⁷⁾ hat aber in unserem Institut festgestellt, dass zwischen dem Antigen, das man aus Kot von Ruhrkranken bei pH 3,5 durch Erhitzung extrahiert und dem Immunserum der Ruhrbazillen die spezifische Präzipitationsreaktion bei jedem Typus positiv ausfällt. Kuroya und Goto⁸⁾ haben experimentell nachgewiesen, dass zwischen dem Antigen, das man aus Kot und Blut von Typhuskranken ebenfalls bei pH 3,5 durch Erhitzung extrahiert, und dem Immunserum der Typhusbazillen die spezifische Präzipitationsreaktion positiv ist.

In der Meinung, dass, wenn man anstatt des kulturellen Nachweises diese Methode zum Nachweis der Erreger im Wasser anwendet, man die Einflüsse durch andere verschiedene Bazillen unschädlich machen und das Vorhandensein auch geringer Mengen pathogener Bakterien im Wasser nachweisen kann, haben wir darum die vorliegenden Untersuchung durchgeführt.

I. Versuchsmethode.

(1) Verwendetes Immunserum.

Die Immunsera der Typhus- und Ruhrbazillen wurden auf die Weise hergestellt, dass man *S. typhi* „S57“ und *B. dysenteriae* „Komagome“ B III „No. 6,“—beide in der Sammlung unseres Instituts befindlich—auf schrägem Agar 24 Stunden lang bei 37° kultivierte, in einer Kochsalzlösung so aufschwemmte, dass in 1ccm Lösung 1mg Erreger enthalten war, und mit dieser Suspension nach 30 Minuten langer Erhitzung bei 60° das Kaninchen immunisierte. Der Agglutinationstiter des Immunserums der Typhusbazillen betrug 22,000 fach und der „Komagome“ Ruhr B III-Bazillen 20,000 fach.

(2) Ausführungsmethode der Reaktion.

Die Reaktion wurde mit der Überschichtungsmethode ausgeführt. Näheres ist in der Arbeit Nakamura's⁷⁾ zu finden. Die Prüfung wurde

1–3 Stunden nach der Überschichtung durchgeführt. Bemerkenswert ist dass manchmal sofort nach der Schichtung des Antigens über das Immunsrum ein Ring auftritt, welcher wie eine echte Reaktion aussieht (diese Erscheinung scheint von der Menge der im Wasser enthaltenen anorganischen Salze abhängig zu sein). Nach Ablauf von ungefähr 1/2 oder 1 Stunde verschwindet aber dieser Ring vollständig und tritt die echte Reaktion allein deutlich auf. Bei der Präcipitationsreaktion wurden stets Kontrollversuche mit normalem Kaninchenserum ausgeführt.

(3) Herstellung des Antigens.

Die zur Präcipitationsreaktion angewendeten Antigene wurden hergestellt 1) direkt aus mit pathogenen Bakterien versetztem Leitungs- und Brunnenwasser, 2) aus durch Abdampfung konzentriertem, pathogene Bakterien enthaltendem Wasser, 3) aus Bakterienkulturen, nachdem man sie einmal in Gallenbouillon und gewöhnlicher Bouillon angereichert hatte und 4) aus Bakterienkulturen, nachdem man sie durch Asbestfiltrierplatten angesammelt und dann in Kauffmannschen Anreicherungs Nährböden und in Gallenbouillon kultiviert hatte. Aus den mehreren Versuchen konnte man aber erkennen, dass bei 2 ersteren unter oben erwähnten 4 Herstellungsmethoden des Antigens die Präcipitationsreaktion gegenüber der Kultur darin zurücksteht, dass viel mehr Bazillen vorhanden sein müssen, damit die Reaktion positiv ausfallen kann und dass besonders beim Brunnenwasser eine Pseudoreaktion, die durch das Vorhandensein des anorganischen Salzes hervorgerufen wird, schwer zu vermeiden ist. Da aber 2 letztere Methoden in verschiedenen Punkte der Kulture vorzuziehen sind, werden die Beschreibungen darüber unten gemacht werden.

II. Falls die Antigene nach Anreicherungskultur der Erreger im Wasser hergestellt werden.

(1) Wenn man Brunnenwasser mit Typhusbazillen versetzt.

(a) Brunnenwasser A.

8 sterile Erlenmeyerkolben bekamen je 200 ccm Brunnenwasser A. In 7 Kolben davon wurden die Typhusbazillen in der Weise aufgeschwemmt, dass 1 ccm Brunnenwasser 1, 0,1, 0,01, 0,001, 0,0001, 0,00001, und 0,000001 mg Typhusbazillen enthielt; der letzte, der zum Kontrollversuch diente, blieb ohne Bazillen. Während die so hergerichteten Kolben 13 Tage lange bei Zimmertemperatur stehen gelassen wurden, wurden folgende Versuche durchgeführt.

Um die Präcipitationsreaktion auszuführen, entnahm man nach Ablauf einer jeweils bestimmten Zeit je 1 ccm der Aufschwemmungen und des

Kontrollwassers und kultivierte 48 Stunden lang bei 37° in 9 ccm 50% igen Gallenbouillon. Dann zentrifugierte man 30 Minuten lang mit 3000 Umdrehungen pro Minute, suspendierte den Niederschlag in ungefähr 0,5 ccm destilliertem Wasser und sterilisierte es 20 Minuten lang bei 100°, brachte es dann durch Zusatz von 2% HCl auf pH 3,5 und erhitzte es wiederum 1–2 Stunden lang bei 100°. Nachdem man es zentrifugiert hatte, brachte man die überstehende Flüssigkeit durch Zusatz von 2% NaOH auf pH 7,0 (Wenn dabei ein Niederschlag entstand, so entfernte man ihn durch Zentrifugieren, nachdem man 20 Minuten lang bei 100° erhitzt hatte) und verwendete die klare, überstehende Flüssigkeit zum Versuch. Die Präcipitationsreaktion wurde zwischen diesem Antigen und dem Immunserum der Typhusbazillen durchgeführt. Um die Kulturen anzusetzen, strich man (1) je 1 Öse aus jeder Aufschwemmung und aus dem Kontrollwasser direkt auf Endosche Agarplatten (2 Agarplatten für jede Aufschwemmung) und züchtete 24 Stunden lang bei 37°, entnahm man (2) je 1 ccm Versuchsmaterial von den Kolben und impfte sie in 9 ccm sterilisierte Kauffmannsche Nährböden und in 9 ccm 50% ige Gallenbouillon ein. Nach 24–48 Stunden langer Kultur bei 37° wurden sie nochmals auf Endosche Agarplatten (2 Platten für jede Aufschwemmung) umgeimpft, um wiederum 24 Stunden lang bei 37° kultiviert zu werden. Die herausgezüchteten Kolonien wurden durch Probeagglutinationsreaktion und Differentialkulturen geprüft.

Wenn man die Ergebnisse dieser Versuche (Tabelle 1) zusammenfasst, so zeigten die Kulturen sowie die Präcipitationsreaktion von der Zumischung der Erreger an bis zum Ablauf von 48 Stunden bis zu dem Brunnenwasser, das pro ccm 0,00001 mg Typhusbazillen enthielt, positiven Ausfall. Die Positivität der Kulturen wurde danach allmählich schwächer, und am 4 Tage nach der Bazillenzumischung zeigten die Kulturen nur noch bis 0,001 mg positiven Ausfall, während die Präcipitationsreaktion auch noch bei 0,00001 mg positiv ausfiel. Am 7. Tage zeigte nur die Kultur von 1 mg Bazillen pro ccm positiven Ausfall, während die Präcipitationsreaktion noch bei 0,0001 mg positiv war. Am 9., 10. und 11. Tage war der Nachweis der Erreger durch die Kultur bei jeder Menge zugemischter Bazillen unmöglich, während die Präcipitationsreaktion noch bis 0,1 mg und am 12. Tage nur bei 1 mg positiven Ausfalle zeigte, um am 13. endlich bei jeder Bazillenmenge negativ zu bleiben. Aus diesen Versuchsergebnissen konnte man erkennen, dass, wenn auch in der ersten Zeit nach der Bazillenzumischung die Ergebnisse der Kultur und der Präcipitationsreaktion beinahe gleich sind, der kulturelle Nachweis der Erreger später unmöglich wird, weil das Wachstum der Typhusbazillen durch die antagonistische Wirkung der Wasserbakterien des Brunnenwassers, insbesondere der widerstandskräftigen wie z.B. der Kolibazillen namentlich in Anreicherungskulturen gehemmt

TABELLE I.

Der Nachweis der angereicherten Typhusbazillen im Brunnewasser "A."

Zeitdauer nach dem Zusatz der Typhus- bazillen	Präcipitation								Kulturmethode	Kulturversuch							
	Bakterienmenge (mg./ccm.)									Bakterienmenge (mg./ccm.)							
	1	0,1	0,01	0,001	0,0001	0,00001	0,000001	0		1	0,1	0,01	0,001	0,0001	0,00001	0,000001	0
Direkt n. d. Zusatz der Typhusbaz.	+	+	+	+	+	+	-	-	G	+	+	+	+	+	+	-	-
n. 24 h.	+	+	+	+	+	+	-	-	K	+	+	+	+	+	+	-	-
									D	+	+	+	+	+	+	-	-
									G	+	+	+	+	+	+	-	-
n. 48 h.	+	+	+	+	+	+	-	-	K	+	+	+	+	+	+	-	-
									D	+	+	+	+	+	+	-	-
									G	+	+	+	+	+	+	-	-
n. 72 h.	+	+	+	+	+	+	-	-	K	+	+	+	+	+	-	-	
									D	+	+	+	+	+	-	-	
									G	+	+	+	+	+	-	-	
n. 4 T.	+	+	+	+	+	+	-	-	K	+	+	+	+	-	-	-	
									D	+	+	-	-	-	-	-	
									G	+	+	-	-	-	-	-	
n. 5 T.	+	+	+	+	+	-	-	-	K	+	+	-	-	-	-	-	
									D	+	+	-	-	-	-	-	
									G	+	+	-	-	-	-	-	
n. 6 T.	+	+	+	+	+	-	-	-	K	+	+	-	-	-	-	-	
									D	+	+	-	-	-	-	-	
									G	+	+	-	-	-	-	-	
n. 7 T.	+	+	+	+	-	-	-	-	K	+	+	-	-	-	-	-	
									D	+	+	-	-	-	-	-	
									G	+	+	-	-	-	-	-	
n. 8 T.	+	+	+	+	-	-	-	-	K	+	+	-	-	-	-	-	
									D	+	+	-	-	-	-	-	
									G	+	+	-	-	-	-	-	
n. 9 T.	+	+	-	-	-	-	-	-	K	+	+	-	-	-	-	-	
									D	+	+	-	-	-	-	-	
									G	+	+	-	-	-	-	-	
n. 10 T.	+	+	-	-	-	-	-	-	K	+	+	-	-	-	-	-	
									D	+	+	-	-	-	-	-	
									G	+	+	-	-	-	-	-	
n. 11 T.	+	+	-	-	-	-	-	-	K	+	+	-	-	-	-	-	
									D	+	+	-	-	-	-	-	
									G	+	+	-	-	-	-	-	
n. 12 T.	+	-	-	-	-	-	-	-	K	+	+	-	-	-	-	-	
									D	+	+	-	-	-	-	-	
									G	+	+	-	-	-	-	-	
n. 13 T.	-	-	-	-	-	-	-	-	K	+	+	-	-	-	-	-	
									D	+	+	-	-	-	-	-	
									G	+	+	-	-	-	-	-	

Abkürzungen:—

h=Stunde T=Tage

G=Die mit gleichem Volumen Galle zugesetzte Bouillon

K=Kauflmannscher Anreicherungs-nährboden D=Direkte Impfung auf Endosche

Platte

wird, während man die Erreger immer noch durch die Präcipitationsreaktion nachweisen kann, weil diese relativ lange positiv ausfällt. Wenn im Wasser, wie z.B. im Brunnenwasser, verschiedene Bakterien nebeneinander vorhanden sind, vermehren sich die pathogenen Bakterien in der Anreicherungskultur der ersten Generation wohl, aber lassen sich schwer isolieren. Darum ist es unseres Erachtens ratsam, die Präcipitationsreaktion an der angereicherten Kultur auszuführen, statt eine Reinkultur daraus isolieren zu wollen.

(b) Brunnenwasser B.

Wenn man die Resultate der Kulturen und Präcipitationsreaktionen zusammenfasst, welche mit dem Brunnenwasser B nach derselben Methode wie mit dem Brunnenwasser A durchgeführt wurden, so sieht man, dass sowohl die Kulturen als auch die Präcipitationsreaktion von der Zumischung der Erreger an bis nach Ablauf von 48 Stunden bis zum Brunnenwasser, das pro ccm 0,00001 mg Typhusbazillen enthielt, positiv ausfielen. Aber am 4. Tage nach der Bazillenbeimischung zeigten die Kulturen nur noch bis zu 0,01 mg pro ccm positiven Ausfall, während die Präcipitationsreaktion noch bis zu 0,00001 mg pro ccm positiv war. Am 6. Tage zeigte die Kultur allein bei 1 mg pro ccm positiven Ausfall, während die Präcipitationsreaktion noch bis 0,0001 mg pro ccm positiv war. Vom 8. Tage an war der kulturelle Nachweis der pathogenen Bakterien ganz unmöglich, während die Präcipitationsreaktion am 8. Tage bis 0,001 mg pro ccm, vom 9.-11. Tage bis 0,1 mg pro ccm, am 12. Tage bis 1 mg pro ccm positiven Ausfall zeigte und am 13. Tage endlich bei jeder Bazillenmenge negativ wurde. Wenn auch diese Resultat den an Brunnenwasser A gewonnenen sehr ähnlich sind, ist bei Brunnenwasser B die Präcipitationsreaktion doch noch vorteilhafter, da es etwas mehr Saprophyten enthält.

(c) Brunnenwasser C.

Mit dem noch mehr Wasserbakterien enthaltenden Brunnenwasser C wurden dieselbe Versuche durchgeführt. Es geht aus den Ergebnissen hervor, dass schon gleich nach der Zumischung von Typhusbazillen die Kultur nur bis zu 0,0001 mg pro ccm positiv war, während die Präcipitationsreaktion noch bei 0,00001 mg pro ccm. d.h. noch bei 1/10 der für positive Kulturen notwendigen Bazillenmenge positiv ausfiel. Am 5. Tage war die Kultur schon nur bei 1 mg pro ccm positiv, während die Präcipitationsreaktion noch bis zu 0,0001 mg pro ccm positiv ausfiel. Vom 6. Tage an war die Kultur ganz negativ, während die Präcipitationsreaktion vom 6.-8. Tage bis zu 0,001 mg pro ccm, vom 9.-11. Tage bis zu 0,1 mg pro ccm, am 12. Tage bis zu 1 mg pro ccm positiv und am 13. Tage endlich bei

jeder Bazillenmenge negativ ausfiel. Wir haben nämlich festgestellt, dass bei Brunnenwasser C schon in der ersten Zeit nach der Bazillenbeimischung die Präcipitationsreaktion besser als die Kultur war. Mit der Zeit wurde der kulturelle Nachweis der Typhusbazillen ganz unmöglich, während die Präcipitationsreaktion immer noch positiven Ausfall zeigte. Daraus konnte man erkennen, dass bei viel Wasserbakterien enthaltendem Brunnenwasser die Präcipitationsreaktion weit zuverlässiger als die Kultur ist. Dass die Kultur in der 50% igen Gallenbouillon stets negativ war, ist wahrscheinlich nicht auf die Ungeeignetheit des Nährbodens, sondern darauf zurückzuführen, dass das Wachstum der Typhusbazillen durch das starke Gedeihen der Kolibazillen in der Isolierungskultur gehemmt wurde.

(2) *Wenn man Brunnenwasser mit Ruhrbazillen versetzt.*

Mit den gleichen Arten Brunnenwasser, welche zu den Versuchen mit Typhusbazillen dienten, wurden Versuche mit Ruhrbazillen durchgeführt. Dabei stellte man aber die Antigene auf die Weise her, dass man die Bazillen zuerst in gewöhnlicher Bouillon zwecks Anreicherung kultivierte und dann zentrifugierte. Aus dem dabei entstandenen Niederschlag wurden die Antigene hergestellt, und zwischen ihnen und dem Immunsérum der "Komagome" Ruhr B III-Bazillen wurde die Präcipitationsreaktion ausgeführt. Ähnlich wie in den vorangegangenen Versuchen mit Typhusbazillen waren die Resultate der Kultur sowie der Präcipitationsreaktion im Anfang fast gleich wohl, aber wurde mit der Zeit der kulturelle Nachweis der pathogenen Bakterien unmöglich, weil ihr Wachstum durch die antagonistische Wirkung der Wasserbakterien gehemmt wurde, während die Präcipitationsreaktion noch lange Zeit positiv ausfiel. Daraus konnte man erkennen, dass zum Nachweis der Ruhrbazillen auch die Präcipitationsreaktion der Kultur vorzuziehen ist.

In den entsprechenden Versuchen mit den Brunnenwasser B und C wurden fast dieselben Resultate gewonnen, ausgenommen dass bei ihnen, da sie mehr Wasserbakterien als das Brunnenwasser A enthielten, die Bazillen in den Kulturen verhältnismässig früh nicht mehr isolierbar und oft allein durch die Präcipitationsreaktion nachweisbar waren.

Aus den oben erwähnten Versuchen, welche an mit Typhusbazillen und "Komagome" Ruhr B III-Bazillen verschiedener Mengen versetztem Brunnenwasser durchgeführt wurden, konnte man feststellen, dass die Ergebnisse der Kulturen sowie der Präcipitationsreaktion hauptsächlich durch die Menge der verschiedenen, im Wasser vorhandenen Saprophyten beeinflusst werden. In der Kultur ist die Isolierung der Erreger desto schwieriger, je mehr Saprophyten im Wasser enthalten sind, während die Präcipitationsreaktion relativ lange positiv bleibt, wenn gleich sich auch die

Positivität der Präcipitationsreaktion selbstverständlich mit der Zeit allmählich herabsetzt. In dieser Hinsicht ist die Präcipitationsreaktion zuverlässiger als die Kultur.

III. Falls man, nachdem man die Erreger im Wasser durch Filtration angesammelt hat, zwecks Anreicherung kultiviert und die Antigene daraus herstellt.

Zunächst haben wir, nachdem wir eine grosse Menge des Typhusbazillen enthaltenden Brunnenwassers C mit Hilfe einer Asbest-EK-Filterplatte (Toyo-Filterplatte Nr. 85, 6 cm) filtriert und die pathogenen Bakterien angesammelt hatten, Anreicherungskulturen ausgeführt und Antigene daraus hergestellt, um Präcipitationsreaktionen auszuführen. In 2 Reihen von je 9 sterilen Bechergläsern wurden je 2 l Brunnenwasser C eingebracht. In 8 Bechergläsern jeder Reihe wurden die Typhusbazillen in der Weise suspendiert, dass in 1 l Brunnenwasser 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} mg Bazillen enthalten waren; die 2 letzten Bechergläser dienten ohne Zusatz von Bazillen zu Kontrollversuchen. Die eine Reihe Bechergläser wurde gleich nach der Bazillenbeimischung und die andere nach 48 Stunden langem Stehenlassen bei Zimmertemperatur zu folgenden Versuchen herangezogen. Um die Präcipitationsreaktion durchzuführen, entnahm man je 1 l jeder Aufschwemmung und der Kontrollwasser und filtrierte durch die Asbest-EK-Filterplatte unter Anwendung der Wasserpumpe. Die Filtration von 1 l Wasser dauerte ungefähr 2 Stunden. Dann nahm die Filterplatte keimfrei heraus, schnitt sie in kleine Stückchen, warf diese dann in 40 ccm Kauffmannschen Nährboden zwecks Anreicherung und züchtete 24 Stunden lang bei 37° . Eine Öse dieser Kultur strich man auf eine Endosche Agarplatte und kultivierte wiederum 24 Stunden lang bei 37° . Fand man auf der Platte Kolonien, welche denen der Typhusbazillen ähnlich waren, so impfte man diese und, wenn man keine solchen Kolonien fand, einen Teil der auf der Platte vorhandenen Kolonie in eine 50%ige Gallenbouillon um, um sie nochmals 48 Stunden lang bei 37° zwecks Anreicherung zu züchten. Nachdem man das Versuchsmaterial mit 3000 Umdrehungen pro Minute 30 Minuten lang zentrifugiert hatte, schwemmte man den dadurch erhaltenen Niederschlag in ungefähr 0,5 ccm destilliertem Wasser auf und stellte den Antigen unter Ansäuerung und Erhitzung nach der gewöhnlichen Methode her, um die Präcipitationsreaktion zwischen ihm und dem Immunsrum der Typhusbazillen durchzuführen. Um die Kultur anzulegen, behandelte man die Aufschwemmungen gleich nach der Bazillenbeimischung und diejenigen, die nach der Bazillenbeimischung 48 Stunden lang stehen gelassen wurden, ebenfalls nach demselben Verfahren. Wenn man auf den Endoschen Agarplatten (2 Platten für jede Aufsch-

wemmung) Kolonien fand, welche denen der Typhusbazillen ähnlich waren, so isolierte man sie, und wenn man keine solchen fand, so impfte man einen Teil der vorhandenen Kolonien in 10 ccm Kauffmannschen Nährboden um, um sie 24 Stunden lang bei 37° zu kultivieren. Dann strich man sie wieder auf Endosche Agarplatten. Die herausgezüchteten Kolonien wurden mittelst Probeagglutinationsreaktion und Differentialkulturen geprüft.

Wenn man die Versuchsergebnisse (Tabelle 2) zusammenfasst, so fiel die Präzipitationsreaktion sowohl bei den Suspensionen gleich nach der Bazillenbeimischung als auch bei denjenigen, welche nach der Bazillenbeimischung 48 Stunden lang bei Zimmertemperatur stehen gelassen wurden, bis 10^{-8} Bazillen in 1 l Brunnenwasser C positiv aus, während die Kulturen einen viel niedrigeren Prozentsatz der positiven Ausfälle zeigten; sie fielen nämlich nur bis 10^{-5} mg positiv aus. Noch bei 1/1000 der durch Kultur nachweisbaren Bazillenmenge, war also die Präzipitationsreaktion positiv.

TABELLE II.

Der Nachweis der durch Filtration angesammelten und angereicherten Typhusbazillen im Brunnenwasser "C."

Zeitdauer nach dem Zusatz der Typhus- bazillen	Präzipitation							Kulturversuch						
	Bakterienmenge (mg./l.)													
	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁹	0	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁹	0
Direkt n.d. Zusatz der Typhusbaz.	+	+	+	+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	0
n. 48 h.	+	+	+	+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—

Wenn man also die Typhusbazillen, nachdem man sie durch Filtration angesammelt hat, zwecks Anreicherung kultiviert, so werden nicht nur die pathogenen sondern auch die Wasserbakterien in grossen Mengen angesammelt. Wenn auch die Erreger in der Kultur bis zu einem gewissen Grad nachgewiesen werden können, wird ihre Isolierung doch desto schwieriger, je weniger sie im Brunnenwasser enthalten sind, weil sie von den Wasserbakterien, insbesondere von den Kolibazillen überdeckt werden. Die Präzipitationsreaktion dagegen fällt selbst bei geringen Mengen zugemischter Typhusbazillen positiv aus und zeigt damit einen Vorzug im Nachweis der pathogenen Bakterien. Aus den Resultaten wurde geschlossen, es sei zu empfehlen, dass man, wenn eine grosse Anzahl Saprophyten beigemischt vorhanden ist, wie z.B. beim Brunnenwasser, die Krankheitserreger durch Filtration ansammelt, zwecks Anreicherung kultiviert und dann die Präzipitationsreaktion daran durchführt.

SCHLUSS.

In der Meinung, den Nachweis der Leibessubstanz der Bazillen auf Krankheitserreger im Wasser anzuwenden, haben wir die Antigene aus mit pathogenen Bakterien (Typhusbazillen und "Komagome" Ruhr B III-Bazillen) versetztem Brunnenwasser unter Ansäuerung und Erhitzung hergestellt und die Präcipitationsreaktion zwischen ihnen und dem antibakteriellen Immuneserum durchgeführt. Indem wir die Ergebnisse der Präcipitationsreaktion mit denen der Isolierungskulturen, welche aus Erreger enthaltendem Wasser nach der gewöhnlichen Methode angelegt wurden, verglichen, gelangten wir zu folgendem Schluss:

(1) Die Methode, in der man das pathogenen Bakterien enthaltende Wasser auf einem geeigneten Nährboden zwecks Anreicherung kultiviert und das Antigen aus dem durch Zentrifugieren entstandenen Niederschlag herstellt, ist vor allem bei solchem Wasser zu versuchen, in dem, wie bei vielen Brunnenwasser der Fall ist, lebende Krankheitserreger vorhanden sind und doch ihre Isolierung durch das Vorhandensein verschiedener Saprophyten verhindert wird, denn durch diese Methode kann man die pathogenen Bakterien während einer relativ längeren Zeit nachweisen, wenn sie auch nur in einer verhältnissmässig kleinen Menge im Wasser enthalten sind, und diese Methode wird gar nicht beeinflusst, wenn auch viele nicht pathogene Bakterien im Wasser vorhanden sind.

(2) Die Methode, in der man die Krankheitserreger durch Filtration durch Asbest-EK-Filterplatten ansammelt, auf einem geeigneten Nährboden anreichert und dann das Antigen aus dem durch Zentrifugieren entstandenen Niederschlag herstellt, ist die vorzüglichste; denn durch sie kann man die pathogenen Bakterien auch dann nachweisen, wenn sie nur in sehr geringer Menge vorhanden sind, und dabei wird diese Methode gar nicht beeinflusst, wenn viel Wasserbakterien beimischt sind. Darum ist sie besonders in einem solchen Falle zu versuchen, wenn man, obgleich die lebenden Erreger in einer grossen Menge Brunnenwasser vorhanden sind, diese nicht isolieren kann, weil sie in einer zu geringen Menge mit viel Saprophyten zusammen vorkommen.

Die obenerwähnten Versuche wurden alle an künstlich mit pathogenen Bakterien versetztem Brunnenwasser durchgeführt. Wir hoffen aber sie bei einer wirklichen Epidemie prüfen zu können.

Literatur.

- 1) Muller, Z. Hyg., 1905, 51, 1.
- 2) Michaelis, Berlin. klin. Wsch., 1918, 55, 740.
- 3) Dienert u. Etrillard, Ann. Inst. Pasteur, 1931, 46, 277.
- 4) Akiba, u. Kazama, Eisei Sikenzyo Iho, 1935, 45, 43.

- 5) Tabei u. Minato, Tokyo Ijisins, 1937, 2847, 8056.
 - 6) Kodama, Kawabe u. Hata, Izikoron, 1942, 1568, 41.
 - 7) Nakamura, Tohoku Igaku Zassi, 1941, **28**, 1041.
 - 8) Kuroya, u. Goto, Nippon Igaku u. Kenkohoken, 1942, 3276, 60.
-