

Moroz, O.G.

(Institut für Kolloidchemie und Wasserchemie der Akademie der Wissenschaften der Ukrainischen SSR)

ZUR UNTERSUCHUNGSMETHODE DER BAKTERIZIDWIRKUNG VON SILBER
UND ANDEREN DESINFEKTIONSMITTELN

Deutsche Vollübersetzung aus:

Vodopodgotovka i očistka promyšlennyh stokov.
Kiev, 10 (1973), S. 49 - 53.

Russ.: К МЕТОДИКЕ ИЗУЧЕНИЯ БАКТЕРИЦИДНОГО ДЕЙСТВИЯ
СЕРЕБРА И ДРУГИХ ДЕЗИНФЕКТАНТОВ

K metodike izučenija baktericidnogo dejstvija
serebra i drugich dezinfektantov

Bei der praktischen Wasserversorgung, insbesondere auf Hochseeschiffen, ist häufig eine lange Lagerung des Trinkwassers erforderlich. Von allen bekannten Konservierungsmitteln kann nur Silber den hohen hygienischen Standard über mehrere Monate oder sogar Jahre bezüglich des mit ihm behandelten Wassers einhalten. Deshalb ist eine ausführliche Untersuchung der antimikrobiellen Wirkung von Silber sowie anderer Desinfektionsmittel bei langer Lagerung von Trinkwasser notwendig.

Für eine aussagekräftige Durchführung der Untersuchungen über die lange Lagerung von Trinkwasser ist die richtige Wahl der Mikroben von großer Bedeutung. Sie sollte die Wasserverschmutzung unter natürlichen Bedingungen widerspiegeln. Als derartige Testkeime benutzten wir folgende Mikroorganismen: Escherichia coli, Streptococcus faecalis, Bacillus subtilis und Clostridium welchii. Darmbakterien und Streptokokken sind gewöhnlich geeignete Indikatoren für die fäkale Wasserverschmutzung [1, 3]. Cl. welchii ist ein sporenbildender Anaerobiont, der in Zweifelsfällen die fäkale Herkunft der Wasserverschmutzung erhärten kann. Bac. subtilis wurde von uns als Vertreter der sporenbildenden

Aerobionten gewählt, da er häufig im Wasser vorkommt, sich leicht unter aeroben Bedingungen auf Fleischagar züchten läßt, und man ihn deshalb ohne besondere Schwierigkeiten durch Auszählen der Kolonien bestimmen kann. All diese Bakterien besitzen eine unterschiedliche Morphologie, und man kann ihre Kolonien äußerlich leicht von einander unterscheiden. Es ist wichtig, daß die gewählten Testobjekte nicht antagonistisch sind. In der Literatur haben wir nichts über auffällige antagonistische Beziehungen zwischen *E. coli*, *Str. faecalis* und *Cl. welchii* gefunden. Nach [5] besitzt *Bac. subtilis* antibakterielle Eigenschaften hinsichtlich vieler Bakterien, insbesondere gegenüber *E. coli* und *Str. faecalis*. In der Heilkunde werden die antagonistischen Beziehungen zwischen *E. coli* und *Bac. subtilis* zur Heilung verschiedener Erkrankungen des Magen-Darm-Trakts benutzt.

Nach den Angaben mehrerer Verfasser [5] lassen sich die antibakteriellen Eigenschaften von *Bac. subtilis* dadurch erklären, daß die sporentragenden Formen von *Bac. subtilis*, die gegenüber allen eingenommenen Antibiotika resistent sind, leicht die Säurebarriere des Magensaftes überwinden und sich nach Transformation in die vegetative Form verstärkt im Darm vermehren, wobei sie eine große Zahl vielfältigster Antibiotika ausbilden, die nachhaltig auf *E. coli* und *Str. faecalis* einwirken.

Um die möglichen antagonistischen Beziehungen zwischen *Bac. subtilis* und den anderen experimentell verwendeten Mikroorganismen in Wasser zu untersuchen, wurden die Versuche in 1-Liter-Kolben mit sterilem Leitungswasser durchgeführt. Die gleiche Menge *E. coli*, *Bac. subtilis* und *Str. faecalis* in der Konzentration 10^5 Kolonien/l wurden auf drei Kolben verteilt: in den ersten Kolben wurde ein Gemisch aus drei Mikroorganismenarten gegeben, in den zweiten ein Gemisch aus *Bac. subtilis* und *E. coli* und in den dritten ein Gemisch aus *Bac. subtilis* und *Str. faecalis*. Beim Vergleich der Ergebnisse konnte zwischen *Bac. subtilis*, *E. coli* und auch *Str. faecalis* in einem einzigen Medium kein Antagonismus festgestellt werden. Offensichtlich kam es in dem sterilen Leitungswasser bei einer Lagerungstemperatur von 18 - 20°C zu keiner Vermehrung von *Bac. subtilis*, woraus man den Schluß ziehen kann, daß sich die genannten Mikroorganismen als Testobjekte verwenden lassen.

Zur Bewertung des Grades der antimikrobiellen Wirkung von Silber sowie anderer Desinfektionsmittel sind quantitative Werte wichtig. Unbedingt notwendig ist eine genaue Dosierung der Mikroorganismen in einer bestimmten Menge des zu untersuchenden Wassers. Zur genauen quantitativen Infektion des Wassers mit Mikroorganismen verwendeten wir folgendes Verfahren: Zubereitung einer Bakteriensuspension nach der Norm mit gewissen Modifikationen.

Zur genaueren Bestimmung der Mikroorganismenmenge in der Bakteriensuspension wurde das Photoelektrokolorimeter FEK-56 benutzt. Zuerst wurde die optische Dichte der im Tarasevič-Unions-Kontroll- und Forschungsinstitut ermittelten Norm für Bakteriensuspensionen bestimmt: Sie entspricht 10^9 Zellen/ml und betrug 0,2. Zur Zubereitung der Bakteriensuspension mit einer Konzentration von 10^9 Zellen/ml in einer physiologischen Lösung wurde durch optischen Vergleich mit der Norm 10^9 Zellen/ml eine 24-Stunden-Kultur aus den entsprechenden Mikroorganismen hergestellt. Die optische Dichte der gewonnenen Suspension wurde mit dem FEK-56 bestimmt, und auf 0,2 eingestellt.

Die Genauigkeit der Versuchsergebnisse, bei denen die Bakteriensuspension mit dem Photoelektrokolorimeter eingestellt worden war, war wesentlich größer als bei den Versuchen, wo dieses Verfahren nicht angewendet wurde.

Zur Untersuchung der antimikrobiellen Wirkung von Silber sowie anderer Desinfektionsmittel muß unbedingt die Ausgangsmenge der Mikroorganismen in der zu untersuchenden Wasserprobe mit jener Konzentration verglichen werden, die übrigbleibt, nachdem Silber in dieses Wasser gegeben wurde.

Es gibt viele Methoden der quantitativen Berechnung von Wassermikroorganismen, am verbreitetsten und zuverlässigsten ist aber das Verfahren mit den Membranfiltern. Dieses Verfahren wurde von A.S. Razumova, S.V. Dianova und A.A. Vorošilova im Jahre 1932 vorgeschlagen, und die Bestimmung von E. coli unter Verwendung von Membranfiltern wurde im Laboratorium des Rublevsker Wasserwerks von K.K. Barsov entwickelt. Das Verfahren ist einfach, ausreichend genau und verlangt kei-

ne großen Mengen an Nährsubstrat. Die Membranenfilter-Methode hat durch GOST¹⁾ eine gesetzliche Grundlage erhalten.

Bei einer starken Wasserverseuchung durch Mikroorganismen, insbesondere durch Fäulnispflanzen, ist das Auszählen der Kolonien die geeignetste Methode. In unseren Versuchen wurde diese Methode zur Bestimmung der Mengen an *Bac. subtilis* und *Cl. welchii* in den Proben angewandt. Nach diesem Verfahren wird die Bakteriensuspension so berechnet auf den Nähragar gegeben, daß die Kolonien, die durch jede Bakterienzelle gebildet werden, voneinander etwas entfernt sind.²⁾ Nach ihrer Anzahl kann man die Zahl der lebenden Mikroorganismen in der Ursprungskultur bestimmen. Zum Zählen der Kolonien wurde eine automatische Kamera eingesetzt. *Cl. welchii* wurde unter anaeroben Bedingungen gezüchtet.

Am wichtigsten waren in unserer Arbeit die Versuche zur Klärung der Langzeitwirkung von anodenlöslichem Silber auf *E. coli*, *Str. faecalis*, *Bac. subtilis* und *Cl. welchii*. Um Anhaltspunkte über die Wirkung von Silber auf das genannte Mikrobenspektrum zu verfügen, wurden in Prüfgläsern und Kolben Versuche durchgeführt. Unter Verwendung des Photoelektrokolorimeters FEK-56 wurde eine Mikrobensuspension von 10^9 Zellen/ml hergestellt. Die nach der Norm hergestellte Mikroorganismensuspension wurde in Zehnerschritten auf 1 Zelle/ml verdünnt. Die Verdünnung wurde in einer Silberlösung mit der vorgegebenen Konzentration durchgeführt, und in den Kontrollprüfgläsern in sterilem Leitungswasser. Nach 1 und 2 Stunden Kontaktzeit wurden je 0,5 ml in ein Prüfglas mit sterilem Fleischboullion gebracht, beginnend mit dem Prüfglas mit der geringsten Mikrobekonzentration, und für 24 h bei 37°C bebrütet. Die Entkeimungswirkung wurde nach 24 Stunden Inkubation durch Abzählen der ungetrübten Prüfgläser mit der bekannten Probenmenge bestimmt. Parallel dazu wurden Versuche in 2-Liter-Kolben durchgeführt. In Wasser mit der vorgegebenen Silberkonzentration (in unseren Versuchen 0,05; 0,1 oder 0,2 mg/l) wurde eine bestimmte Menge *E. coli*, *Str. faecalis* und *Bac. subtilis* (im wesentlichen $10^3 - 10^5$ Indiv./ml) gegeben. Mit Hilfe der Membranfilter oder durch direktes Abzählen der Kolonien (für *Bac. sub-*

1) GOST - Gosudarstvennyj obščesojuznyj standart - Staatlicher Unions-Standard (Anm. d. Übers.)

2) gemeint ist hier die Koch'sche Plattengußmethode (Anm. d. Übers.)

tilis) wurde die Menge der überlebenden Mikroben nach 1, 2, 24 h, 1 Woche und 1 Monat nach dem Versuchen bestimmt. Die Versuche zeigten, daß die Entseuchungs- und Konservierungswirkung der untersuchten Substanzen in der Regel bei der Untersuchung in den Kolben höher war als in den Prüfgläsern. Wahrscheinlich wirkt sich hier der Oberflächen- bzw. Volumeneffekt aus.

Somit zeigen die durchgeführten Untersuchungen, daß die Verwendung eines Photokolorimeters einer genauen Dosierung der Mikroorganismen förderlich ist. Die geeignetste Methode zur quantitativen Mikrobenbestimmung ist die Membranfilter-Methode mit nachfolgender Bebrütung auf selektiven Nährböden. Die Methoden der quantitativen Mikrobenbestimmung in Wasser sind jedoch noch ungenügend entwickelt und müssen weiter ausgearbeitet werden, besonders bei der Bestimmung von Werten für die Verseuchung des Wassers mit Keimen wie *Str. faecalis* oder *Cl. welchii*.

Schlußfolgerungen

1. Das Spektrum der Mikroorganismen, das aus *E. coli*, *Str. faecalis*, *Bac. subtilis* und *Clostridium welchii* besteht, drückt am vollständigsten die Bakterienverseuchung des Wassers aus und kann verwendet werden, um Desinfektions- und Konservierungsmittel für Wasser zu untersuchen.
2. Eine ausreichend genaue Dosierung der Mikroorganismen läßt sich mittels eines Photoelektrokolorimeters oder Trübungsmessers realisieren.
3. Die wirkungsvollsten Methoden zur quantitativen Berechnung für *E. coli* und *Str. faecalis*, die in Wasser gegeben wurden, ist die Membranfiltration und für *Bac. subtilis* und *Cl. welchii* die Methode des direkten Zählens der Kolonien an Petri-Schalen.

L i t e r a t u r

1. Рааумов А.С. Методы микробиологических исследований воды. Изд. ВОДГЕО, М., 1947.

Razumov, A.S.

Metody mikrobiologičeskich issledovanij vody.

Moskva: Verlag "VODGEO", 1947.

⟨Methoden der mikrobiologischen Wasseruntersuchung; russ.⟩

2. Рааумов А.С. - Микробиология, 1952, т.21, вып.4, 478.

Razumov, A.S.: Zamečanja k stat'e "Metod polučeniya membrannyh ul'trafil'trov dlja prjamogo sčeta, svobodnyh ot mikrobnym kletok" E.A. Rukinoj i V.I. Birjuzovoj [Mikrobiologija. M., 21 (1952), Nr 1, S. 60].

In: Mikrobiologija. Moskva, 21 (1952), Nr 4, S. 478 - 479.

⟨Bemerkungen zum Aufsatz "Methode zur Herstellung von mikrobe- und zellfreien Membranen-Ultrafiltern" von E.A. Rukina und V.I. Birjuzova; russ.⟩

3. Международные стандарты питьевой воды. Перевод. "Медицина", М., 1964.

Meždunarodnye standarty pitevoj vody.

Moskva: Verlag "Medicina", 1964.

⟨Internationale Trinkwasser-Normen; russ.⟩

4. Мейнелл Дж., Мейнелл Э. Экспериментальная микробиология. "Мир", М., 1967.

Mejnell, Dž., Mejnell, E.

Eksp'erimental'naja mikrobiologija.

Moskva: Verlag "Mir", 1967.

⟨Experimentelle Mikrobiologie; russ. - Übersetzung ins Russische⟩

5. Rocchietta, S.: Azione antidismicrobica, antibatterica, anti-allergica, antivirale e antitossica del Bacillus subtilis.

In: Minerva medica. Torino, 60 (1969), Nr 3 - 4, S. 108.

Stuttgart, den 14. September 1982

übersetzt von

Ottmar Pertschi

(Ottmar Pertschi)

Dipl.-Übersetzer