

Br 1000 II, 33

M. Greeshoff



VERSLAG

VAN HET BACTERIOLOGISCH ONDERZOEK DER CHAMBERLAND-PASTEUR'SCHE VELD- FILTERS.

Van den Eerstaanw-Apotheker ontving ondergeteekende de opdracht nategaan, in hoeverre het voor den dienst hier te lande bestemden Chamberland-Pasteur'sche veldfilter in staat kan geacht worden micro-organismen terugtehouden.

Het onderzoek, dienbetreffend, is in de maanden Juni en Juli j. l. verricht in het laboratorium voor Pathologische Anatomie en Bacteriologie te Weltevreden.

De directeur dezer instelling, verschafte den ondergeteekende de hulpmiddelen voor de proefnemingen en heeft deze door zijne leiding en hulp ondersteund.

De beoordeeling der deugdelijkheid van deze filters werd aangevangen met het *qualitatief onderzoek* naar hun bacterien-terughoudend vermogen, (in dit verslag sub. I, II, en III beschreven).

Vervolgens werd een *quantitatief onderzoek* naar dezelfde eigenschap ingesteld, (sub IV beschreven) en ten slotte de *inrichting* en *waarde* der veldfilters van uit een bacteriologisch standpunt beschouwd (V).

I. Bij het qualitatief onderzoek werd gebruik gemaakt van eenige goed gedefiniëerde pigmentbacterien, wier eventueele aanwezigheid in het door de veldfilters gefiltreerde water betrekkelijk gemakkelijk en met groote zekerheid kon worden aangetoond.

Als eerste proefbacillus werd eene microbe gekozen, die uit het stof van plafonds, rijk aan plantaardigen afval, was gekweekt en die in eenige zijner belangrijkste eigenschappen overeenkomt met den cholera — bacillus, en bij het onderzoek dus als plaatsvervanger van dit gevreesde organisme kan dienen.

Het is eene kleine, dunne, zeer bewegelijke bacillus, die op glycerine-gelatine plaatculturen kringvormig vervloeiende, groen gekleurde kolonien vormt, en op agar agar strijkculturen eerst eene slijmige witte massa vertoont, daarna dien voedingsbodem groen kleurt en eindelijk doet vervloeien. Op albumine ⁽¹⁾ gekweekt, ontwikkelt, hij een gelijkmatige dichroïstisch groene kleur, aan bladgroen herinnerend. Hij deelt aan dezen voedingsbodem een walgelijken stank van rottende lijn mede. De kleurstof wordt donkerder groen aan de lucht (door zuurstof opname) en verandert in rood door zuren.

Ik bepaalde de lengte en breedte van den bacillus en vond voor de eerste afmeting gemiddeld 1.3 microns (duizendste millimeters), en voor de laatste van 0.2 tot 0.5 m.m. M.

De bacillus is pathogeen, marmotjes gaan na inspuiting eener reïncultuur binnen 24 uren aan septicaemie ten gronde. Uit het bloed van gestorven proefdieren kon de bacillus verder worden gekweekt.

Men mag aannemen, dat de hier beschreven microbe identisch is met den *Bacillus pyocyaneus*, het microorganisme der blauw-groene etter.

Van dezen groenkleurenden bacillus werd eene ruime hoeveelheid eener reïncultuur, in albumine, gevoegd bij 3 L. artesisch water, zoo dat na de vermenging het vocht zwak groen gekleurd was. Deze bacterienhoudende vloeistof werd in den filterbak gegoten en doorgepompt; toen bijna de helft het filter

(1) Deze voedingsbodem wordt bereid uit eenden-eieren. Het ei wordt na reiniging van de schaal met zeep en water, gedurende 24 uren geplaatst in eene 10% oplossing van KOH., daarna met Sublimaatoplossing 1 pro mille afgespoeld, geopend en in reageerbuisjes het wit uitgegoten. Bij ongeveer 75°C. coaguleert dit eiwit als een doorschijnend, licht gele massa. v. E.

was gepasseerd werd een een weinig van het gefiltreerde water in een behoorlijk gesteriliseerd en onmiddellijk vóór het gebruik geflambeerd helmkollje opgevangen ter bereiding der Koch'sche plaatculturen.

Het water, hetwelk voor de overige proeven, als rolculturen, doosculturen en ter vermenging met bouillon is gebruikt, werd onmiddellijk aan de uitvloeioopening van het filter ontnomen. Door aan deze eene gesteriliseerde caoutchoucslang met glazen spits te verbinden, was het gemakkelijk het aantal druppels voor elke cultuur juist te doseeren.

Bij deze en bij alle volgende proefnameningen zijn de in het bacteriologisch laboratorium gebruikelijke voorzorgsmaatregelen tegen verontreiniging der culturen zorgvuldig in acht genomen. Het gefiltreerde water had de groene tint behouden. De kleurstof der bacterien was het filter onveranderd en onverminderd gepasseerd. — Ik wensch dit feit te releveeren, opdat men van dit filter niet verwacht, dat het *opgeloste* stoffen, ook die, welke tijdens het leven der bacterien gevormd worden, hetzij onschadelijke of schadelijke (gelijk er bijv. onder de rottings alcaloiden zijn) zal terughouden. De groene kleurstof, waarvoor hier het bewijs geleverd is, dat zij de filterwand passeert, nadert in hare verhouding tegenover alcaloidreagentia de ptomainen. Het is de pyocyanine, door FORDOS reeds vroeger onderzocht.

Bij de proeven, later door mij genomen om de bougies der veldfilters met antiseptische vloeistoffen te reinigen, is ook gebleken, dat boorsalicylzuur en sublimaat-chloornatrium onverminderd worden doorgelaten. *Onopgeloste* stoffen, blijven volledig terug en zelfs het troebele en lastig filtreerbare water der Tjiliwong verlaat dit filter kristalhelder.

Van het gefiltreerde water nu zijn de volgende culturen aangelegd:

vijf strijkculturen op agar-agar, resp. met 1, 5, 6, 12 en 24 druppels water, elk van 50 milligram.

twee strijkculturen op albumine, met 1 druppel water (50 miligram) elk.

(Waar in dit verslag van albumine sprake is, wordt bedoeld een in dit laboratorium vaak aangewende, glasheldere, vaste voedingsbodem, uit eendeneiwit bereid, en die vooral voor pathogene en ook voor niet pathogene schizomyceten een uitstekend substraat oplevert).

vijf culturen in glycerine-gelatine, waarvan drie als plaat-culturen en twee als rolculturen, elk met 25 milligram water.

De uitslag dezer proefneming was, dat in geen der culturen van gefiltreerd water bereid, de groenkleurende bacillus tot ontwikkeling is gekomen. Het gefiltreerde water was echter niet steriel, eene kwestie, die later in dit verslag uitvoeriger ter sprake komt.

Ware er onder de kolonien in plaat- en rolculturen slechts één enkele van den proefbacillus aanwezig geweest, dan zou zij ongetwijfeld door haar gemakkelijk herkenbaar uiterlijk en door de reactie harer kleurstof met zoutzuur, de aandacht niet ontgaan zijn.

In de contrôle-culturen, die met 25 milligram van het ongefiltreerde water aangelegd zijn, had de *Bacillus pijocijaneus* verreweg de overhand en deed door zijn talrijkheid de plaat-culturen binnen 24 uren tot ééne groene massa vervloeien.

II. Vervolgens werd het onderzoek voortgezet met den *Bacillus prodigiosus*, meer bekend als *Micrococcus prodigiosus*, de pigmentbacterie, die reeds door EHRENBURG in 1859 ontdekt en beschreven is, en die als oorzaak der bloedende hostie en der roode melk in wijden kring wel bekend is.

Het is een kleine bewegelijke bacillus, die zich in den strijd tegen andere microben zeer resistent toont, zich zeer snel vermenigvuldigt en door de op bloeddruppels gelijkende zoggloën, die hij vooral op zetmeelhoudenden bodem vormt, bijzonder kenbaar is.

De grootte bedraagt in de lengte-afmeting hoogstens 1 micro-millimeter.

Eene ruime hoeveelheid eener reincultuur op agar-agar werd

met artesisch water gemengd, dit gefiltreerd en van het gefiltreerde water de volgende culturen aangelegd.

twee op gesteriliseerde aardappels, elk met 25 milligram water.

negen op agar-agar, waarvan vijf strijkculturen met 1, 5, 6, 12 en 24 druppels water van 50 milligram elk, en vier als plaatculturen in gesteriliseerde glasdoozen.

vier als strijkculturen op albumine.

De glycerine-gelatine-culturen bleven ditmaal achterwege, daar deze bacillus dien voedingsbodem zeer snel doet vervloeien en men dus bij eventueelen groei toch niet het aantal kolonien zou kunnen tellen. Voor dit doel waren trouwens reeds de agar-agar doosculturen bestemd.

Ook nu werd van het nog ongefiltreerde water, in den filterbak aanwezig, eene serie contrôle-culturen aangelegd op aardappels, op agar-agar en op albumine, elk met 25 milligram water.

De uitslag dezer proefneming liet eveneens niet den minsten twijfel over aangaande het bacterien terug houdend vermogen der filters.

Hoewel de culturen ook ditmaal niet steriel gebleven zijn, kwam in geen van het 15 tal, die met gefiltreerd water zijn aangelegd, de *Bacillus prodigiosus* te voorschijn; daarentegen was in elk der contrôle-culturen met ongefiltreerd water, reeds na 24 uren eene zeer rijkelijke ontwikkeling der roode kleurstof en dus ook der baccillen aanwezig.

Terwijl alzoo in 25 milligram van het ongefiltreerde water voldoende kiemen aanwezig waren, om den proefbacillus tot nieuwe ontwikkeling te brengen, kwam hij in 2200 milligram van het gefiltreerde water niet meer voor. Men mag dus aannemen dat deze microbe volledig is teruggehouden.

III. De proefnemingen met een bepaald organisme werden besloten met het onderzoek eener sporenvormende bacterie uit de lucht verzameld en, *Bacterium rubescens* genoemd.

Het zijn korte, vrij dikke, onbewegelijke staafjes, aan beide zijden afgerond. De sporen zijn middenstandig, kleiner dan de breedte der staafjes, en komen ook op reïnculturen rijkelijk te voorschijn.

De koloniën van *Bacterium rubescens* vormen op glijcerine-gelatine kersroode druppels. Op agar-agar-strijkculturen ontstaat een zegellakrood oneffen beslag. De groei is tamelijk langzaam.

De gemiddelde grootte werd door mij bepaald op 2,2 m. m. M. voor de lengte en 0,7 m. m. M. voor de breedte-afmeting.

Eene ruime hoeveelheid eener oude reïncultuur, rijk aan vrije sporen, werd met artesisch water verdund, gefiltreerd en het gefiltreerd, zoowel als het ongefiltreerd water op de boven beschreven wijze onderzocht.

In geen der culturen van het gefiltreerde water, en in alle culturen van het ongefiltreerde water is de *Bacterium rubescens* voor den dag gekomen.

Het CHAMBERLAND'sche veldfilter is dus ook in staat bevonden de sporen eener bacterie terugtehouden. Of dit voor alle bacterien-sporen geldt, kon natuurlijk niet langs den qualitatieven weg onderzocht worden.

IV. De vraag kwam nu aan de orde, of dit veldfilter werkelijk in staat is, volkomen steriel, d. i. bacterien- en bacteriensporen-vrij water te leveren, dan wel hoe groot de invloed op het aantal microorganismen is.

Voor dit quantitatief bacterioscopisch onderzoek werd niet van de cultuur van één bepaalde microbe gebruik gemaakt, maar van »slecht» water gelijk het in de natuur voorkomt. Ik koos het rivierwater der *Tjiliwong*, achter het hospitaal, en het water der open put in de hospitaalkuken. Beide watersoorten waren mij met betrekking tot de micro-flora nader bekend, en zulks naar aanleiding van een in December 1887 aangevangen perio-

diek bacterioscopisch onderzoek (voor de contrôle der water-soorten, hier ter stede bij de ijs-bereiding in gebruik).

Een mengsel van rivierwater en putwater werd dagelijks in groote hoeveelheid (eenige uren lang, en dus ongeveer 400 Liter per dag) gefiltreerd, en iederen dag het gefiltreerde water onderzocht. Dit geschiedde aanvankelijk door middel van rolculturen, bij welke de kans op verontreiniging zeer gering is, maar het tellen der koloniën minder naauwkeurig dan bij plaatculturen kan geschieden.

Steeds werd in het gefiltreerde water nog een vrij groot aantal bacterien geconstateerd, tot op ongeveer $\frac{1}{10}$ van het oorspronkelijk gehalte. Eene juiste bepaling van het aantal kolonien in plaatculturen van ongefiltreerd en gefiltreerd water gaf de verhouding 45,000 tot 6,000 (per c. c. M.) dus eene vermindering tot 15,5 pCt.

De binnenzijde der bougies, noch de collecteur waren echter vooraf opzettelijk gesteriliseerd en de mogelijkheid bestond dus dat de in het gefiltreerde water gevonden bacterien afkomstig waren van verontreiniging in den toestel na filtratie. Om dit uit te maken werden de bougies, collecteur en afvloeibuis met eene boorsalicylzuur-oplossing doorgespoeld. Daar dit wel gedurende eenige dagen eene vermindering in het aantal bacterien van het gefiltreerde water toonde, maar geen steriliteit bewerkte, koos ik een nog krachtiger bacterien doodend middel. De bovengenoemde deelen van het veldfilter werden gedurende $\frac{1}{4}$ uur gedompeld in eene kwiksublimaat-chloornatrium-oplossing (HgCl_2 1 pCt., NaCl 1 pCt.) en vervolgens het kwikzout door krachtig doorpompen weder verwijderd. Dit geschiedde op den 14 Juli.

Eerst twee dagen later had ik gelegenheid eene quantitatieve bepaling in 50 milligram van het ongefiltreerde en gefiltreerde water (een mengsel van gelijke deelen rivier- en putwater) aantevangen.

De uitslag van 2 reeksen plaatculturen, elk van drie stuks, was als volgt:

I^e Reeks I. Ongefiltreerd water.
 16 Juli 1888. 1^e plaat $\pm$ 1890 bacterien koloniën.
 2^e „ $\pm$ 1760 „ „
 3^e „ $\pm$ 2210 „ „
 zijnde aldus gemiddeld 59.000 per c. c. M.

II. Gefiltreerd water.

1^e plaat 85 bacterien koloniën.
 2^e „ 74 „ „
 3^e „ 77 „ „

zijnde aldus gemiddeld 1380 per c. c. M.

II^e Reeks I. Ongefiltreerd water.
 19 Juli 1888. 1^e plaat $\pm$ 2250 bacterien koloniën.
 2^e „ $\pm$ 2270 „ „
 3^e „ $\pm$ 2450 „ „

zijnde aldus gemiddeld 46.500 per c. c. M.

II. Gefiltreerd water.

1^e plaat 92 bacterien koloniën.
 2^e „ 94 „ „
 3^e „ 120 „ „

zijnde aldus gemiddeld 2000 per c. c. M.

De verhouding van het aantal bacterien in het ongefiltreerde en gefiltreerde water is dus 59000 : 1380 en 46500 : 2000 zoodat ruim 4% van het in het ongefiltreerde water aanwezige aantal bacterien in het gefiltreerde water is teruggevonden.

Kort na deze proefneming werd een tweede veldfilter, dat defect was gearriveerd, doch sedert hersteld was, voor het onderzoek beschikbaar gesteld. Daar dit filter geheel ongebruikt was, kon worden nagegaan, hoe groot de verontreiniging in den toestel na filtratie oorspronkelijk kon geacht worden te zijn.

Weder werden de proeven gedaan met een mengsel van rivier- en putwater, en 30 milligram voor elke plaatcultuur gebruikt. De volgende cijfers werden verkregen.
 (24 Juli 1888). Ongefiltreerd water.

1^e plaat $\pm$ 2910 bacterienkolonien.

2^e " $\pm$ 2250 " "

5^e " $\pm$ 2540 " "

zijnde aldus gemiddeld 50.000 per c. c. M.

Gefiltreerd water (op dienzelfden datum).

1^e plaat 21 bacterienkolonien.

2^e " 16 " "

5^e " 18 " "

zijnde aldus gemiddeld 560 per c. c. M.

Bij dit nieuwe filter is dus eene vermindering van het aantal bacterien tot op 0,72% van het oorspronkelijk gehalte geconstateerd.

Voorwaar een schoon resultaat, en ik heb geen reden te twifelen aan de juistheid der verzekering van den uitvinder; dat dit systeem steriel water *kan* leveren. Mijn doel was echter nategaan, wat in de praktijk van deze filters te verwachten is. Vatten wij de cijfers van dit onderzoek, dat ik gaarne verder had uitgebreid, om den invloed van het uitgloeien der bougies nategaan, doch dat ik beperken moest, daar de veldfilters op 28 Juli 1888 voor de manoeuvres in Midden-Java beschikbaar moesten zijn, tezamen, dan is dus gebleken, dat het veldfilter aanvankelijk bijna steriel water levert (0.7%, maar dat het geleidelijk een grooter aantal bacterien doorlaat (tot op 15.5%) en dat eenige dagen na reiniging met sublimaat het bacteriengehalte weder daalt (tot op 4%). In het volgend deel van dit verslag wensch ik deze cijfers nader toe te lichten. Zij zijn natuurlijk slechts voor deze proeven en deze filters geldig, al mag men ze op grond der gelijke constructie der veldfilters in hoofdzaak generaliseeren.

V. Bij het gebruik der veldfilters heeft ondergeteekende nog de volgende opmerkingen gemaakt.

Er zet zich op den bodem van den filterbak en aan de buitenzijde der kaarsen reeds na eenige dagen eene groote hoeveelheid vuil af; het bewijs der deugdelijkheid dezer filters ten opzichte van onopgeloste stoffen.

Terwijl het vuil, dat zich op de bougies afzet de waterproductie merkbaar vermindert, brengt dat op den bodem van den filterbak nog andere bezwaren mede.

Het vuil is deels van organischen aard en bestaat o. a. uit de insectenlarven en de kleine wormen uit het ongefitreerde water. Gaat deze fauna in rotting over, dan deelt zich aan het gefiltreerde water eene zeer ongewenschte bijsmaak mede. Nu is het door eene kleine, maar gewichtige fout in de constructie der veldfilters, onmogelijk de filterbak op eenvoudige wijze te reinigen. Men moet den deksel loschroeven, den collecteur met bougies losmaken en uit den filterbak nemen, en de verbinding naar de perspomp losmaken, alvorens men den filterbak uit de voegen kan nemen en goed reinigen kan. Dit is eene operatie, die nog al tijdroovend is, die — even als het geheele gebruik der veldfilters — met groote zorg zal moeten geschieden, wil het toestel in goeden staat blijven. Toch zal men deze reiniging hoogstens om den anderen dag moeten herhalen. De bougies kunnen dan tegelijk met een borstel of spons schoongemaakt worden, wat geschieden kan zonder ze van den collecteur los te maken.

Had nu de fabrikant aan de onderzijde van den filterbak slechts een kraan aangebracht, dan ware dit euvel grootendeels verholpen. Men kon dan met een paar dozijn pompslagen in eenige minuten den filterbak van grove onzuiverheden reinigen door slechts de kraan te openen.

Er bleef dan alleen de periodieke inspectie en *totale reiniging* der bougies over, die ook nu *betrekkelijk vaak*, bijv. eens per week zal moeten plaats grijpen.

Ik heb hier zeer bepaaldelijk het oog op het volgend feit, tijdens het bacteriologisch onderzoek geconstateerd:

Ongeveer 14 dagen na de proefneming met *Bacillus pyocyaneus* is deze bacterie weder te voorschijn gekomen in eenige culturen van gefiltreerd water, die voor een ander doel waren aangelegd. Dit verschijnsel, en het groot aantal bacterien na voortgezet gebruik der filters zonder reiniging wijst er op:

dat de bacterien zich na verloop van tijd in den poreuzen wand der bougies verder ontwikkelen en zich weder bij het gefiltreerde water kunnen mengen.

Daarom zal het noodig zijn de bougies op gezette tijden afdoend te reinigen.

Dit te doen met sublimaat is niet wenschelijk om de zeer giftige eigenschappen dezer stof en omdat de ervaring leert, dat men niet zeker is bij eenvoudig indompelen de binnen-vlakte voldoende te bevochtigen.

De aanwezigheid van 4% bacterien, twee dagen na de desinfectie waargenomen, bewijst dit m. i. Men mag niet aannemen, dat zij door den wand der bougies geperst zijn, daartegen deze meening de positieve resultaten der kwalitatieve proeven, en het gering aantal bacterien bij een nieuw filter gevonden, strijden.

Dat de deugdelijkheid der bougies bij het gebruik is vermindert, acht ik zeer onwaarschijnlijk.

Als afdoend middel om de bougies hun oorspronkelijk vermogen te doen behouden, blijft m. i. slechts een periodieke sterilisatie door uitgloeien der vooraf sterk gedroogde bougies boven een gas of spiritus lamp.

Waar dit ondoenlijk is, houde men de schoongeborstelde bougies gedurende $\frac{1}{2}$ uur in een ketel met kokend, liefst zwak aangezuurd water. Zij zijn daartegen geheel bestand.

Terwijl ondergeteekende zich van een oordeel over de praktische bruikbaarheid der filters te velde moet onthouden, wil hij toch opmerken, dat ook volgens zijne overtuiging de Chamberland'sche filters in bacteriologisch opzicht voortreffelijk moeten geacht worden, al is door dit systeem het vraagstuk der sterilisatie van drinkwater door mechanische zuivering niet geheel opgelost.

Een gebrek der veldfilters acht hij het, dat zij niet in staat zijn, de kleurende en kwalijk riekende verontreinigingen terug te houden.

Het eindresultaat kan als volgt geformuleerd worden:

I. Het gehalte van drinkwater aan microorganismen en daarmede het gevaar voor infectie door pathogene bacterien, wordt door het Chamberland-Pasteur'sche veldfilter zeer aanzienlijk verminderd, doch niet geheel weggenomen.

II. Troebel en door onopgeloste bijmengselen verontreinigd water wordt door deze filters voor het gebruik als drinkwater geschikt gemaakt.

Daarentegen heeft dit filter geen invloed op de opgeloste, somwijlen nadeelge, stoffen, die in water kunnen voorkomen, en is het evenmin in staat, water dat door kleur of reuk verwerpelijk is, te verbeteren.

WELTEVREDEN, 4 Augustus 1888.

M. GRESHOFF.
