



Wateronderzoek met een bacteriophagmethode

<https://hdl.handle.net/1874/359247>

A. g. m. 192, 1942

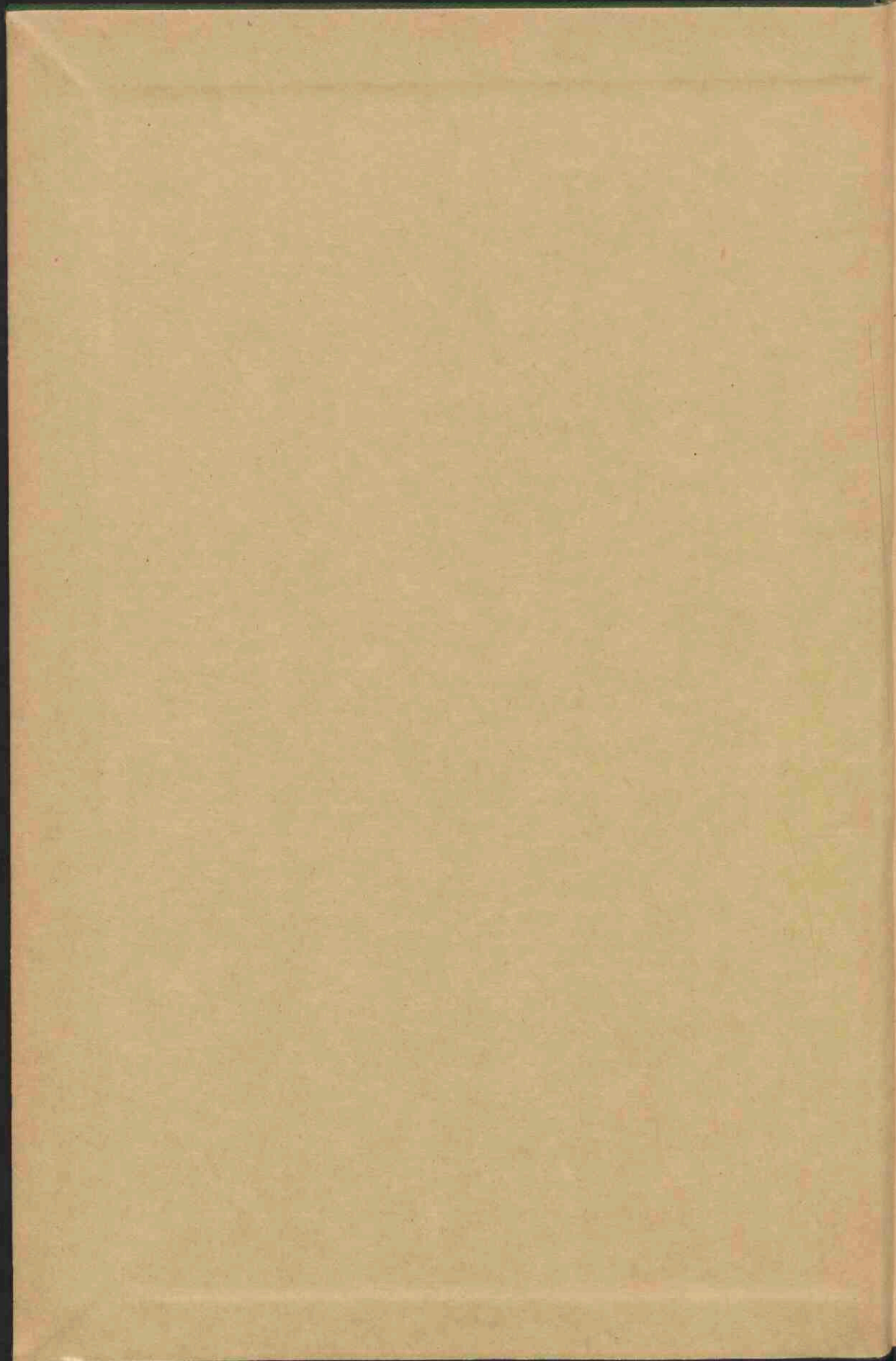
**WATERONDERZOEK MET EEN
BACTERIOPHAAGMETHODE**



R. ABDOELRACHMAN

s.
cht

2



WATERONDERZOEK
MET EEN BACTERIOPHAAGMETHODE



Diss Utrecht 1942

WATERONDERZOEK MET EEN BACTERIOPHAAGMETHODE.

P R O E F S C H R I F T

TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN DOCTOR
IN DE GENEESKUNDE AAN DE RIJKSUNIVERSITEIT
TE UTRECHT, OP GEZAG VAN DEN RECTOR-
MAGNIFICUS L. VAN VUUREN, HOOGLEERAAR IN
DE FACULTEIT DER LETTEREN EN WIJSBEGEERTE,
VOLGENS BESLUIT VAN DEN SENAAAT DER UNI-
VERSITEIT TEGEN DE BEDENKINGEN VAN DE
FACULTEIT DER GENEESKUNDE TE VERDEDIGEN OP
DINSDAG 15 DECEMBER 1942,
DES NAMIDDAGS TE 4 UUR

DOOR

RADEN ABDOELRACHMAN

GEBOREN TE KEBOEMEN (JAVA)

1942

DRUKKERIJ „LUCTOR ET EMERGO” — LEIDEN



Aan mijn Ouders.
Aan mijn Vrouw.

Bij deze gelegenheid betuig ik U, Oud-leeraren van de voormalige „School tot opleiding van Indische artsen” te Batavia mijn erkentelijkheid voor het van U genoten onderwijs.

Ook U, Hoog-leeraren, Lectoren en Privaat-docenten der Leidsche Universiteit, wier colleges ik gedurende mijn aanvullende studie heb gevolgd, zeg ik hierbij mijn oprechten dank.

Hooggeleerde Flu, U hebt mij in de gelegenheid gesteld, om onder Uw leiding in Uw laboratorium te mogen werken. Mijn oorspronkelijke bedoeling, om bij U te promoveeren, is door omstandigheden niet verwezenlijkt; doch U hebt door het verlenen van Uw tusschenkomst het mij toch mogelijk gemaakt, dit werk te voltooien. Hierbij betuig ik U mijn grooten dank.

Hooggeleerde Julius, Hooggeleerde Promotor, zonder U was dit proefschrift nog niet tot stand gekomen; ik betuig U mijn welgemeenden dank voor Uw bereidwilligheid, de leiding van mijn werk verder op U te hebben genomen en voor den grooten steun, die ik hierbij van U heb mogen ontvangen.

Tenslotte een woord van dank aan allen, die mij behulpzaam zijn geweest bij het bewerken van mijn proefschrift en aan het personeel van het Laboratorium voor Hygiëne, Bacteriologie en Tropische Hygiëne der Rijksuniversiteit te Leiden voor de door hen verleende hulp bij het verrichten van mijn proefnemingen.

De dienstige H. de Vries

ERRATA.

- Blz. 39, 2e regel van boven, staat: kentt, lees: kent
" 43, 6e " " " die gesteund,
" 47, 9e en 10e regel van boven moeten vervallen,
" 50, 24e, 26e en 32e regel van boven staat: kloakewater,
lees: cloakewater.
" 75, 18e regel van boven staat: weinig hooger,
lees: weinig lager.

1865
No. 1000
The undersigned
do hereby certify
that the within
copy is a true
and correct copy
of the original
as the same
exists in the
files of the
Department of
the Interior
at Washington
this 10th day
of June 1865
John P. Smith
Secretary of the
Interior

INHOUD

	Blz.
HOOFDSTUK I: De ontwikkeling der methoden voor het wateronderzoek	11
HOOFDSTUK II: De gistingsmethode van Eykman	23
HOOFDSTUK III: De methode van Clemesha	31
HOOFDSTUK IV: Het bacteriophagprobleem	39
HOOFDSTUK V: De beteekenis van den bacteriophag voor het wateronderzoek	44
HOOFDSTUK VI: De beteekenis van den bacteriophag voor de zelfreiniging van oppervlakte- water en voor de waterzuivering door zandfilters	58
HOOFDSTUK VII: Eigen onderzoek	63
HOOFDSTUK VIII: Samenvatting en conclusies	107
LITERATUUR.	109

HOOFDSTUK I

De ontwikkeling der methoden voor het wateronderzoek.

Was de mensch in het begin van zijn bestaan reeds tevreden met het water, zooals moeder natuur het hem gaf, was men vroeger reeds dankbaar, als men deze voor het leven onontbeerlijke vloeistof kon verkrijgen uit beekjes, rivieren, meren of bronnen, die, dank zij de dunne bevolking van dien tijd, niet verontreinigd waren en daarom geen gevaar opleverden voor de gezondheid, met het toenemen van het zielental en met de verdere ontwikkeling stelde men steeds meer eischen aan het leven en ook aan het water voor zijn dagelijksch gebruik.

Oorspronkelijk keurde men het water slechts met zijn zintuigen, voordat men het gebruikte als drinkwater, voor de bereiding van zijn voedsel of voor de reiniging van zijn lichaam, zijn kleeding en zijn omgeving; het moest helder zijn, reukloos en smakeloos en werd afgekeurd, als het troebel was of een onaangename reuk en smaak had.

Door de ondervinding, dat troebel, stinkend of onsmakelijk water den mensch weleens ziek kon maken, liet men het troebele water vóór het gebruik eenigen tijd staan en kookte men het onaangenaam riekende of smakende water of men trachtte, door een meer of minder diepe put in den grond te graven, beter en zuiverder water te bekomen of ook wel men verzamelde het schoone regenwater in grootere of kleinere bakken.

Zoo geschiedde dus het meest primitieve wateronderzoek met het bloote oog, met de reuk- en smaakorganen; zoo werd er een begin gemaakt met een eenvoudige kunstmatige watervoorziening.

Deze eenvoudigste vorm van waterhygiëne en watervoorziening komt ook nu nog voor in talrijke streken op aarde, streken met een nog primitieve en onontwikkelde bevolking met weinig behoeften en weinig eischen voor het leven.

In de loop der eeuwen hebben de volkeren zich langzamerhand verheven boven dit niveau van primitieve beschaving en ontwikkeling; de vooruitgang der hygiënische begrippen, ook omtrent het water, houdt gelijken tred met de toename der levensbehoefden en levenswensen.

Vooral gedurende de laatste twee eeuwen is de mensch geestelijk met groote sprongen vooruitgegaan en hebben techniek

en wetenschap een geweldige vlucht genomen. Begrippen over hygiëne zijn nu gebaseerd op wetenschappelijke grondslagen, hygiënische maatregelen en onderzoekingen maken gebruik van ervaringen op chemisch en bacteriologisch gebied; de technische wetenschap geeft bevrediging en voldoening aan de door den tegenwoordigen mensch gestelde eischen.

Een der eerste bekende hygiënisten uit de laatste helft der 18e eeuw was Frank; volgens hem moest goed drinkwater aan de volgende eischen voldoen:

„Het mag, in een koperen vat bewaard, geen vlekken veroorzaken,
 bij koken geen neerslag van klei of zand doen ontstaan,
 het moet helder en zuiver zijn,
 het mag geen voedingsbodem voor planten vormen.” [Flu (1921)].

Deze hygiënische eischen voor drinkwater waren niet bepaald wetenschappelijk geargumenteerd, doch sproten voort uit de dagelijksche ervaring.

Het was Pettenkofer, die voor de bestudeering van de waterhygiëne gebruik maakte van de kennis der chemie en die verklaarde, dat de aanwezigheid in een bepaalde waterbron van chloriden, ammoniak, nitrieten en nitraten, ontledingsproducten, die vrijkomen bij de rotting van faecaliën en urine, zou wijzen op een verontreiniging met deze beide afvalproducten. [Flu (1921a)].

Eerst in de laatste helft van de 19e eeuw, de tijd, waarin, dank zij Louis Pasteur, de bacteriologie in de medische wetenschap een belangrijke plaats begon te krijgen, werd voor het hygiënisch wateronderzoek een bacteriologische methode ingevoerd.

Robert Koch constateerde, dat verontreinigd water veel microben bevatte en stelde voor, om de bruikbaarheid van een bepaalde waterbron te laten afhangen van het aantal bacteriën, dat in 1 cc van het water door middel van de kweek kan worden aangetoond.

Waar men bij de bepaling van het kiemgetal slechts de aanwezigheid van bacteriën aantoonde, onverschillig van welke herkomst, zoo is het niet te ontkennen, dat deze wijze van onderzoek slechts een ruwe bacteriologische methode is, die niet te min haar waarde heeft. Immers, hoewel de aanwezigheid van een groot aantal waterbacteriën niet direct beteekent, dat het water ziektekiemen bevat en dus gevaarlijk is, toch is het gebleken, dat de bepaling van het kiemgetal voor een drinkwaterbedrijf van groot nut is.

Inderdaad zouden volgens sommige onderzoekers, o.a. Reincke in Hamburg en Meinert in Dresden, een verhoogde zuigelingensterfte in die steden in verband gebracht kunnen worden met een verhoogd bacteriëngehalte van het drinkwater, terwijl Praussnitz in 1907 in Grasz een epidemie van maagcatarrh zou hebben kunnen toeschrijven aan een sterke toename van het aantal bacteriën in het leidingwater. Daarentegen achten Gärtner en Houston het twijfelachtig, of een verhoogde morbiditeit wel verklaard kan worden door een stijging van het aantal kiemen in het gebruikte drinkwater [Gärtner (1915)].

De volgende stap in de goede richting is het zoeken naar en het vaststellen van de aanwezigheid van bacteriën, die een *pathogene* beteekenis hebben voor den mensch. Tot deze microben behooren de cholera-vibrio, de typhus- en paratyphus-bacterie, de dysenteriebacterie, de leptospira icterohaemorrhagiae etc., micro-organismen, die aanleiding kunnen geven tot het uitbreken van de zogenaamde „waterborne diseases”.

Bij verschillende cholera-epidemiën, o.a. de cholera-epidemie in Hamburg in 1892, de cholera-gevallen in de boerenhoeve „Langen Jammer” in Ottensen in 1893, de cholera-epidemie in de Weichsel- en Odergebieden in 1905, kon duidelijk worden aangetoond, dat ze hun oorsprong hadden in het gebruikte drinkwater [Gärtner (1915a)].

De telkens opflikkerende cholera-epidemiën in Batavia (Ned. Indië) gedurende de jaren 1909—1915, die voornamelijk onder de inheemsche bevolking heerschten, waren hoofdzakelijk te wijten aan de gebrekkige watervoorziening voor deze groep van menschen [Flu (1915)].

Ook van de typhus-epidemiën in Duitschland gedurende 30 jaar (1870—1900) kon Schüder in 70% der-gevallen vaststellen, dat ze verband hielden met minder goede toestanden der watervoorziening [Gärtner (1915 b)].

Gedurende den Russisch-Japanschen oorlog is het aan Korschewsky gelukt, om tijdens een dysenterie-epidemie uit een waterbron dysenteriebacteriën te kweken; toen deze bron gedempt was, verdween de dysenterie spoedig [Gärtner (1915 c)].

Onderzoekingen, op Sumatra (Ned. Indië) verricht, hebben geleerd, dat men amoeben-dysenterie kan verkrijgen door het gebruik van water, dat met hystolyticacysten is besmet [Flu (1921 b)].

Talrijk zijn de gevallen van Weilsche ziekte, geconstateerd bij personen, die in een open natuurzwembad hebben gezwommen of in een gracht zijn gevallen, bij welke gelegenheid ze water naar binnen hebben gekregen.

Trouwens statistieken, o.a. van Fuller in zijn werk „Sewage disposal”, voor enkele Noord-Amerikaansche steden en van Whipple voor verschillende landen in Europa, toonen aan, dat na de invoering van een goede watervoorziening het aantal typhusgevallen en de algemeene sterfte sterk dalen [Flu (1921c, 1921d)].

Zoodra de pathogene kiemen in het water terecht zijn gekomen, geraken ze in een ongeschikt milieu voor hun verdere groei; ze vinden hier onvoldoende voedsel en geen geschikte temperatuur, om zich verder te ontwikkelen; de directe zonnestralen blijken, vooral in de tropen, op hen een heel slechte invloed te hebben, bovendien speelt de zelfreiniging een rol, zoodat ze binnen een paar uur tot een paar dagen voor het grootste deel of geheel verdwenen zijn. Slechts enkele, die door faecaliëndeeltjes of darmslijm omhuld zijn, vinden hierin eenige bescherming en voeding, om althans voor eenige dagen te blijven leven. Hun aantal is dan zoo klein geworden, dat men ze moeilijk kan aantoonen.

Daarbij komt nog, dat de methoden, om pathogene bacteriën uit water te isoleeren, over het algemeen nog zeer onvolkomen zijn, alleen de cholera-vibrionen kunnen gemakkelijk uit het water gekweekt worden.

Het zoeken naar *pathogene* bacteriën wordt dan ook slechts in bepaalde gevallen verricht en is als zoodanig niet de methode om er een faecale verontreiniging van water mee aan te toonen.

De bacteriologische methoden voor wateronderzoek gebruiken als indicator voor een faecale verontreiniging *de nooit ontbrekende darmflora*, omdat met de ontlasting, tezamen met de normale darmbewoners, immers ook de veroorzakers van verschillende darmziekten in het water kunnen komen. Terecht zegt Gärtner in zijn handboek „Hygiëne des Wassers”: „Dorthin können Typhus-, Ruhr- und Cholerakeime gelangen, wohin die Kotbakteriën des Menschen vorzudringen vermögen.”

De bacteriënflora in de darm van gezonde volwassenen en zuigelingen bestaat uit *Bacterium coli commune*, *Bacterium proteus vulgaris*, *Bacterium faecalis alcaligenes*, *Bacterium lactis aërogenes*, *Bacterium acidophilus*, *Bacillus bifidus*, *Enterococcus*, *Streptococcus faecalis* en *Anaërobe sporevormers*, terwijl niet constant voorkomen: *Tetanusbacillen*, *Bacillen van het maligne oedeem*, *Vibrion Septique*, *Bacterium phlegmones emphysematosae*, *Bacillus botulinus* enz.

Van dit groote aantal bacteriën komen voor het beoogde doel slechts in aanmerking 3 *obligate of blijvende darmbewoners*: het *Bacterium coli commune*, de *Streptococcus faecalis* en de *Bacillus sporogenes enteritidis*, micro-organismen, die regelmatig en in groote hoeveelheden in de ontlasting te vinden zijn.

Blijkens onderzoekingen van Houston in 1902 kunnen uit 1 gram faeces gekweekt worden:

100.000.000 Bact. Coli
 100.000 Streptococcen
 1.000.000 B. Enteritidis Sporogenes

[Thresh and Beale (1925)].

In 1 cc rioolwater hebben Houston en Klein gevonden:

100.000—800.000 Bact. Coli
 1.000— 60.000 Streptococcen
 100— 2.000 B. Ent. Sporogenes.

De methode, volgens welke men voor het vaststellen van een faecale verontreiniging zoekt naar de aanwezigheid van B. Ent. Sporogenes, vindt slechts weinig toepassing. Het was Klein, die deze bacil het eerst beschreef en hem vond in rioolwater, paardenmest, in de aarde op bouwgrond etc. Hij heeft uit de faecaliën van gezonde menschen 3 groepen van anaërobe sporenvormers gevonden, n.l.:

B. Enteritidis Sporogenes (Klein)
 B. Butyricus (Botkin)
 B. Cadaveris Sporogenes,

waarvan de eerste groep het belangrijkste is.

De Bacil van Klein vormt resistente sporen, die tegen temperaturen van 80° C bestand zijn en, anaëroob gekweekt, melk doen stollen; van deze eigenschappen maakt men gebruik, om de bacil in het te onderzoeken water aan te toonen. Tot de weinige aanhangers van deze wijze van onderzoek behooren Thresh en Beale; ze hechten er zelfs zooveel waarde aan, dat ze een faecale verontreiniging pas zeker achten, indien ze naast de andere minder resistente ontlastingsbacteriën, het Bact. Coli en de Streptococcen, ook de B. Enteritidis Sporogenes hebben kunnen aantoonen [Thresh and Beale (1925a)]. Daarentegen wordt er in de „Hygiëne des Wassers” van Gärtner (1915) omtrent deze methode met geen woord gerept, terwijl Flu in zijn „Leerboek der Parasitaire Ziekten en der Hygiëne Deel III” slechts een paar regels aan wijdt.

De streptococcenmethode, door Houston ingevoerd, heeft meer ingang gevonden; hij was het, die in 1898 voor het eerst de streptococcen in de menschelijke ontlasting aantoonde en vaststelde, dat 1 gram faeces bevat: 100.000 van deze bacteriën. Behalve menschenfaeces heeft hij ook koemest, rioolwater uit septic tanks en water uit rivieren, meren en bronnen op de aanwezigheid van streptococcen onderzocht.

Clemesha deed in Britsch-Indië dezelfde onderzoekingen als

Houston in Engeland; beiden hebben ook zelfreinigingsproeven genomen, om na te gaan, hoe lang de faecale streptococcen in water kunnen blijven leven.

Voor het onderzoek op de aanwezigheid van deze micro-organismen neemt men 20 cc water, centrifugeert het gedurende $\frac{1}{4}$ uur en kijkt het sediment na, door het in lactosebouillon en op Conradi-Drigalski-platen uit te strijken. De fijne koloniën worden nader onderzocht, om na te gaan, of ze inderdaad van streptococcen afkomstig zijn.

De zelfreinigingsproeven van Houston en van Clemesha gaven verschillende resultaten; terwijl bij Houston de streptococcen na 9 weken nog in leven waren, waren ze bij Clemesha na 72 uur reeds verdwenen. Dit kwam, doordat de eerste onderzoeker voor zijn proeven gebruikte gefiltreerd water met laboratorium-streptococcenstammen en hij de waterflesschen in het donker bewaarde, terwijl de laatste rioolwater nam met versche uit faeces gekweekte streptococcen en hij de flesschen in het gewone daglicht in de kamer plaatste bij een temperatuur van 80° — 85° F.

Clemesha kwam na zijn proeven tot de conclusie, dat de aanwezigheid van streptococcen in water wijst op een faecale verontreiniging van recenten datum [Clemesha (1912)].

Door Gärtner wordt de streptococcen-methode in zijn handboek „Hygiëne des Wassers” (1915) heelemaal niet afdoemd.

Thresh and Beale achten deze methode niet afdoende en met hen ook hun landgenoot Horrocks, die zegt: „My experience does not support the contention, that streptococci probably indicate a dangerous contamination. The sewage-streptococci appear to maintain their vitality in sewage for a much longer time than Bact.Coli. Specimens of barrack sewage preserved in a laboratory cupboard for three months, and then diluted 1—100 or 1—1000 with tap water, show, when examined by the usual methods, large numbers of streptococci, but few or no Bact.Coli.” [Thresh and Beale (1925 b)].

Prescott en Baker zijn na hun onderzoekingen tot de volgende conclusie gekomen: „Our experience is that the presence of streptococci affords no evidence as to whether the contamination is recent or remote, and that their presence has no known significance unless they are associated with other bacteria of intestinal type [Prescott and Winslow (1904)].

Flu hecht aan de streptococcen-methode ook niet veel waarde, indien ze alleen wordt toegepast; slechts in combinatie met andere wijzen van onderzoek heeft ze eenige beteekenis [Flu (1921 e)].

Tot de Nederlandsche onderzoekers, die aan het streptococcen-vraagstuk ten dienste van het wateronderzoek meer aandacht schenken, behoort o.a. de Graaff. In 1922 heeft hij tezamen

met van Dongen vergelijkende proeven genomen met 4 verschillende methoden: de Eykman-, de lactosegisting-, de B. enteritidis- en de streptococconmethode en is tot de conclusie gekomen, dat de aanwezigheid van streptococcon wijst op een recente faecale verontreiniging [de Graaff (1922)].

Folpmers (1940/1941) maakt voor de controle van het Maaswater, bestemd voor de drinkwatervoorziening van Rotterdam, in zijn verschillende zuiveringsstadia ook gebruik van de aanwezigheid van de streptococcon en is over deze wijze van onderzoek tevreden. Zijn ervaring heeft hem de conclusie doen trekken, "that especially in winter, when Bact.coli and faecal Streptococci may appear in slow sand filtered water, indicating that the bacteriological situation is dangerous, properly applied and bacteriologically controlled chlorination of the water is essential".

Ook heeft hij voor de kweek der streptococcon nieuwe ophoopingmethoden ingevoerd, welke gebruik maken van de volgende voedingsmedia:

1. pepton 1% — lactose 1% — NaCl 0,5%.
2. pepton 1% — coffeine 1% — Liebig's Beef extract 0,3% — NaCl 0,5% — glucose 0,1%.

Van alle bacteriologische onderzoekingsmethoden is de *coli-methode* het meest populair; vrijwel in alle landen vindt ze haar toepassing, al doet elke onderzoeker het op zijn eigen manier. Ze is dan ook het meest bestudeerd geworden; het vraagstuk heeft men van verschillende kanten belicht en bekeken; telkens en telkens wordt het onderwerp actueel gemaakt.

Het Bact. Coli Commune is van alle darmbacteriën het eerst bekend geworden; het was Escherich, die deze bacterie in 1885 ontdekte en hem isoleerde uit de ontlasting van elk der individuen, die hij heeft onderzocht. Deze naar den ontdekker genoemde *Escheria Coli* blijkt te behooren tot een groote groep van bacteriën met overeenkomende eigenschappen:

Gram-negatief,
 geen kapsel,
 geen sporen,
 polymorphie,
 beweeglijkheid,
 zuur- en gasvorming in glucose en lactose,
 zuur- en gasvorming in maltose en manniet,
 indolvorming in pepton,
 geen splitsing van saccharose,
 geen acetyl-methyl-carbinolvorming,
 typische groei op Endo-plaat: roode kolonie met roode hof, soms met metaalglans.

De bacterie komt in een zeer groot aantal voor in het darmkanaal van menschen en talrijke dieren, ook, maar in mindere getale, in oppervlakkige grondlagen en in oppervlaktewater.

Het feit, dat hij in een groot kwantum in de ontlasting voorkomt en slechts in geringe hoeveelheden in de vrije natuur, heeft den bacterioloog-hygiënist ertoe geleid, om water, dat deze bacterie in een groot aantal herbergt, te kwalificeeren als te zijn verontreinigd met faecaliën van menschen en/of dieren. De methoden voor wateronderzoek beoogen dan ook niet alleen de vaststelling der aanwezigheid van het Bact. Coli, maar willen bovendien bepalen het aantal dezer microben, dat in een bepaalde hoeveelheid water voorkomt of ook wel de grootste verdunning, waarin de werking der bacterie nog kan worden aangetoond.

Voor deze doeleinden maakt men gebruik van de verschillende eigenschappen van genoemde microbe; weliswaar legt de eene onderzoeker meer de nadruk op de vorming van zuur en gas in glucose en lactose en hecht de andere bacterioloog meer waarde aan de indolvorming in pepton of aan een der andere biologische eigenschappen, terwijl weer andere meer letten op het uiterlijk der koloniën op een bepaalde voedingsbodem enz., maar in wezen bestaat er geen verschil tusschen al deze methoden van onderzoek; ze trachten alle de faecale colibacteriën op te sporen.

Hoewel geen principieele tegenstanders der coli-methode, moet men de toonaangevende Duitsche onderzoekers toch rekenen tot diegenen, die het niet volkomen eens zijn met het begrip „faecale coli-bacteriën”. Tot hen behoort Gärtner; deze is van meening, dat de colibacterie niet uitsluitend in het darmkanaal en zeker niet uitsluitend in de darmen der warmbloedige dieren voorkomt, maar ook in de vrije natuur, in de aarde in bosschen, die zeker nooit door menschen betreden zijn geworden [Gärtner (1910)].

Ook de Graaff was oorspronkelijk om dezelfde redenen de meening toegedaan, dat een positieve Coli-proef niet beslist een faecale verontreiniging beteekende. Bovendien was het feit, dat men onder Colibacterie meer dan één soort organisme verstaat, voor hem nog een omstandigheid te meer, waarom hij de coli-methode niet zoo hoog aansloeg. Over de vraag, of het mogelijk zou zijn, de faecale coli-bacteriën te onderscheiden van de niet faecale had de Graaff geen positieve meening [de Graaff (1922 a)].

Tien jaren later kwam hij echter na een bestudeering der verschillende coli-methoden, t.w. de gistings-methode van Eykman, de methylrood-methode van Clar en Lubs, de methylacetyl-carbinol-methode van Voges en Proskauer, de indol-methoden van Gersbach, van Kopp en van Folpners, de

lactosegistings-methode van de Waal, Mac Conkey's gal- of taurocholzure-natrium-ophoopings-methode en de Graaff's lactose-vergiftings-methode bij 45° C tot de conclusie, dat hij het volkomen eens kon zijn met de inzichten van Eykman en de coli(gistings)methode van dezen onderzoeker ten zeerste kon aanbevelen.

De meeste onderzoekers der verschillende landen zijn ervan overtuigd, dat de aanwezigheid van coli-bacteriën in kleinere hoeveelheden water een betrouwbare aanwijzing is voor een verontreiniging met faecaliën. Onder deze aanhangers der colimethode zijn het voornamelijk de Amerikanen, die de meeste waarde hechten aan de opsporing van de *coli-bacterie als zoodanig*; de Engelschen, de Franschen, de Nederlanders en enkele Duitschers maken voor de aantooning der coli-bacterie gebruik van haar *vergiftende eigenschappen tegenover bepaalde suikers*.

De „*Standard Methods of Wateranalysis for the Examination of Water and Sewage 1920*”, uitgegeven door de „*American public Health Association*” schrijft voor:

A. *Presumptive test.*

Zuur- en gasvorming in lactosebouillon bij 37° C na 24 of 48 uur geeft het vermoeden voor de aanwezigheid van bacteriën van de coli-groep.

B. *Partially confirmed test.*

Het opkomen van roode koloniën na een kweek van de aldus verkregen bacteriën op een Endo- of lactoselakmoes-agar-plaat bij 37° C gedurende 18 tot 24 uur geeft een gedeeltelijke bevestiging van het vermoeden.

C. *Completed test.*

Dit vermoeden wordt zekerheid, indien deze roode koloniën in lactose-bouillon en op een schuine agar overgeënt bij 37° C bebroed na 48 uur respectievelijk gasvorming vertoonen en koloniën doen opkomen, die blijken te bestaan uit niet spore vormende bacteriën van de coli-groep.

Een nader onderzoek identificeert deze bacteriën als *Bact.Coli* van *faecale* of *niet faecale* origine. Hiervoor worden minstens 10 verdachte koloniën uitgezocht, die worden geënt op dextrosekaliumphosphaat-bouillon, op adonite-bouillon en gelatine en ook op tryptophaan- en saccharose-bouillon. Geen gasvorming in adonite- en saccharose-bouillon, indolvorming in tryptophaan-bouillon, een positieve methylrood-reactie, tevens een negatieve reactie volgens *Voges-Proskauer* met dextrose-bouillon en geen gelatinevervloeiing beteekenen: *Bact.Coli van faecale her-*

komst. Een negatieve methyloord-reactie, een positieve V o g e s—P r o s k a u e r, geen gelatinevervloeiing, wel adonite- en saccharose-omzetting en geen indolvorming zijn kenmerkend voor het *Bact. aërogenes eveneens van faecale origine*. Komen de reacties anders uit, dan zijn de bacteriën wel van de coli-groep, doch *vermoedelijk of stellig niet van faecalen oorsprong*.

De Engelschen volgen de coli-methode, die gebaseerd is op de uitkomsten der onderzoekingen van M a c C o n k e y, volgens wien de bacteriën, die in staat zijn, om glucose- en lactosebouillon met galzout (M a c C o n k e y 's vloeistof) bij 36°—37° C of nog beter bij 42° C te vergisten, van faecalen oorsprong zouden zijn. De organismen, die in deze media kunnen groeien, worden door dezen onderzoeker ingedeeld in 3 klassen:

- 1e groep, die zuur en gas vormt,
- 2e groep, die wel zuur doch geen gas vormt,
- 3e groep, die er slecht in groeit.

Alleen de bacteriën van de eerste groep acht M a c C o n k e y van belang, om er mee te kunnen aantoonen, dat het water al of niet verontreinigd is met faecaliën. Tot deze groep behooren: het *Bact.Coli Commune*, het *Bact.Coli Communior*, het *Bact. Lactis Aërogenes*, het *Bact.Acidi Lactici*, het *Bact.Enteritidis* (G ä r t n e r) en nog 9 andere. Later bleek deze opvatting niet geheel aan de practijk te beantwoorden en ging M a c C o n k e y deze proef slechts als een „*presumptive test*” beschouwen, zoodat de uitkomsten nog door een „*confirmatory test*” bevestigd moeten worden. [T h r e s h and B e a l e (1925 c)].

M a c C o n k e y deelt de coli-bacteriën, die in de eerste plaats moeten voldoen aan de voorwaarde, dat ze lactose vergisten, in 4 groepen in, al naar gelang ze daarnaast saccharose en dulcit al of niet vergisten:

- 1e groep vergist noch saccharose noch dulcit,
- 2e groep vergist saccharose niet, dulcit wel,
- 3e groep vergist en saccharose en dulcit,
- 4e groep vergist saccharose wel, dulcit niet.

[M a c C o n k e y (1905—1906)].

De coli-bacteriën van de 1e groep zijn het minst, die van de 4e groep het meest resistent, de 2e en de 3e groep staan er tusschen in.

Met deze coli-indeeling meent M a c C o n k e y de ouderdom der verontreiniging van het water vast te kunnen stellen; een recente verontreiniging zou gekenmerkt worden door het voorkomen van veel coli-bacteriën van de 1e groep; de minst re-

sistente bacteriën gaan het eerst te gronde en ten slotte blijven voornamelijk de bacteriën van de 4e groep over; de aanwezigheid dezer bacteriën in een groot aantal zou dus pleiten voor een verontreiniging van ouderen datum.

De Engelsche onderzoekers Houston en Clemesha hechten eveneens groote waarde aan de coli-methode en maken voor hun onderzoek ook gebruik van de suikervergistende eigenschappen der coli-bacteriën.

Ook de Franschen zijn voorstanders van de coligistingsmethode en volgen daarbij de door Vincent aangegeven werkwijze met gebruikmaking van de door dezen bacterioloog ingevoerde voedingsbodern, bestaande uit bouillon en carbolzuur.

In Duitschland zijn het Christian en Neuman, die wel waarde hechten aan de coligistingsmethode volgens Eykman.

In Nederland vindt de coligistingsmethode van Eykman veel aanhangers; in Nederlandsch-Indië wordt naast deze methode ook die van Clemesha veel toegepast (zie Hoofdstuk II en Hoofdstuk III).

Onder de Nederlandsche bacteriologen zijn er enkelen, die groote waarde hechten aan de *directe coli-methode, door het aantal coli-kiemen in het water te tellen*. Hiertoe behoort in de eerste plaats Massink; in 1929 gaf hij in het Nederlandsch Tijdschrift voor Hygiëne, Microbiologie en Serologie, deel III een overzicht van de oudere meer primitieve theoretisch minder juiste wijzen van berekening van het aantal coli-bacteriën in water, van de geleidelijke verbetering door verruimde inzichten en besprak aan het eind de door Wolman en Weaver gewijzigde in 1923 ingevoerde methodiek, welke gebaseerd is op de formule van Mac Crady.

Mom, directeur van het Waterproefstation van Manggarai bij Batavia, maakt voor zijn wateronderzoek graag gebruik van de Amerikaansche indeeling der Bact.Coli-groep volgens Levine en Koser, die een scherpe grens trekken tusschen de *citraat-negatieve als specifiek van menschen en dieren afkomstige en citraat-positieve als in de natuur* (aarde en water) voorkomende colistammen [Mom 1932)].

Bulir heeft de gistingsmethode van Eykman gemodificeerd, door in plaats van de vloeistof volgens Eykman neutraalroodmanniet-bouillon te gebruiken.

Verder verdient nog vermelding een coli-onderzoek volgens Ringeling, bestemd voor die gevallen, waarin men slechts weinig coli-bacteriën in het water verwacht. Hiervoor wordt een groote hoeveelheid water, bijv. 100 cc met 50 cc zure bouillon, 5 mg neutraalrood en 0,75 gram glucose gedurende 24 uur in een gistingskolf in een broedstoof van 37° C bewaard. Gisting en geelkleuring beteekenen positief coli-bacteriën; door enting op gelatineplaten wordt dit nader bevestigd.

Ten slotte moet nog de methode van Gärtner worden genoemd. Men maakt gebruik van Endo-platen, welke gedurende een uur met open deksel in een broedstoof van 37° C worden gedroogd. Nadat men een half tot één cc water op de platen heeft gedaan, komen ze, alweer met open deksel, voor $\frac{1}{4}$ uur opnieuw in de broedstoof, waarin ze, doch nu met het deksel er op, nog 24 uur blijven liggen. De coli-kolonies, die er op komen, worden geteld; op deze wijze beschikt men dus over een kwantitatieve coli-methode met gebruikmaking van een vaste voedingsbodem.

HOOFDSTUK II

De gistingsmethode van Eykman.

In 1904 heeft Eykman voor het onderzoek van water op een mogelijke faecale verontreiniging een methode uitgewerkt, die den bacterioloog-hygiënist in staat zou stellen, om uit te maken, of een bepaalde waterbron al of niet verontreinigd is met ontlasting van menschen of warmbloedige dieren [Eykman (1904)].

De toen reeds bekende gistingsmethode van Houston voor het aantoonen van Coli-bacteriën in water maakt gebruik van een broedstoom van 20° C [Houston (1902)]. Volgens deze methode neemt men een buisje met gesmolten gelatine met of zonder glucose, doet hierbij een bepaalde hoeveelheid van het te onderzoeken water, laat de gelatine door afkoeling stollen en brengt het geheel in een broedstoom van 20° C. Na 24 uur onderzoekt men, of er in de gelatine gasblazen zijn gevormd of niet; zijn er wel gasblazen opgekomen, dan wijst dit op de aanwezigheid van Coli-bacteriën, geen gasblazen beteekent geen Bact.Coli.

Ook Petruschky en Pusch hechten veel waarde aan de beteekenis van het Bact.Coli als indicator voor een faecale verontreiniging (1903). Deze onderzoekers nemen voor de „Anreicherung” gelijke hoeveelheden water en peptonbouillon en laten dit mengsel in een broedstoom van 37° C staan. Blijft de vloeistof na 24 uur helder, dan beteekent het, dat er geen Coli-bacteriën in zitten; wordt ze daarentegen troebel, dan wordt door middel van een plaatcultuur nader onderzocht, of er uit de vloeistof Coli-bacteriën gekweekt kunnen worden. De gewone waterbacteriën zouden dus volgens Petruschky en Pusch bij een temperatuur van 37° C niet meer kunnen groeien.

Rodet constateerde, dat bij een temperatuur van 44,5° C—45° C de typhusbacteriën de andere begeleidende kiemen overgroeiden en beval daarom aan, om de E.Typhi bij deze temperatuur te kweken.

Eykman kwam op het idee, om voor het wateronderzoek op een mogelijke faecale verontreiniging een kweektemperatuur van 46° C te gebruiken. Waar de gewone waterbacteriën volgens Petruschky en Pusch reeds bij een temperatuur van 37° C niet meer zouden kunnen groeien, zoo is het zeker te verwachten, dat ze het bij 46° C nog minder zullen doen. De faecale Coli-bacteriën kunnen bij 37° C goed groeien; daar ze nog sterker thermotolerant zijn dan de E.Typhi, die bij 46° C

kunnen blijven leven, zoo is het te begrijpen, dat Eykman voor de faecale Coli-bacteriën een temperatuur van 46° C uitkoos, om ze te kweken, een temperatuur, die de groei van andere niet faecale micro-organismen ten zeerste belemmert. Door gebruik te maken van een temperatuur van 46° C meende Eykman vast te kunnen stellen, dat een bepaald water verontreinigd is met faecaliën van menschen en/of warmbloedige dieren.

Talrijke watermonsters van verschillende herkomst, uit verschillende streken van Nederland werden in 1904 door Eykman onderzocht. Voor zijn onderzoekingen gebruikte hij als voedingsbodem een vloeistofmengsel, dat bestond uit: 10 % glucose, 10 % pepton en 5 % keukenzout, een oplossing, die bekend staat onder de naam „Eykman-oplossing”. Voor de Eykman-proef wordt van deze vloeistof een bepaalde hoeveelheid vermengd met ongeveer 9 maal zooveel van het te onderzoeken water, zoodat er gekweekt wordt in een milieu van 1 % glucose, 1 % pepton en $\frac{1}{2}$ % keukenzout. Het geheel komt in een gistbuis, die in een broedstoof van 46° C wordt geplaatst; na 24 uur kijkt men na, of er zich gas heeft gevormd of niet.

De resultaten van de onderzoekingen van Eykman zijn als volgt:

Herkomst der watermonsters	Resultaten v/h onderzoek
I. Waterleidingen van Alfen, Arnhem, Maastricht, Tiel. Putten van 20—50 M. diepte.	Geen gas, zelfs geen troebeling.
II. Hoogduinwater van Amsterdam.	Geen gas, wel troebeling.
III. Stadsgrachten, rivierwater van Amsterdam, den Haag, Utrecht, Rijn, Maas, Waal, Vecht, IJssel.	Zelfs $\frac{1}{100}$ cc grachtwater geeft gas. Rivierwater geeft bij 0,2—5 cc gasvorming.
IV. Door zandfilters gefiltreerd rivierwater.	Geen gas.
V. Regenwater.	Geen gas.

Bij microscopisch onderzoek bleken de gevonden glucose-vergisters bij 46° C niet alle echte Coli-bacteriën te zijn; soms

waren het coccen, een paar vormden geen indol in peptonwater en stolden geen melk en soms werden boterzuurbacillen aangetoond. Boterzuurbacillen kunnen ook van den menschelijken darm afkomstig zijn. (Zie Hoofdstuk I, blz. 15).

Uit de proefnemingen van E y k m a n is gebleken:

dat, hoewel een vergisting van glucose bij 46° C geen specifieke eigenschap van het Bact.Coli Commune is, afkomstig van faecaliën van menschen en warmbloedige dieren, doch ook toegeschreven kan worden aan de aanwezigheid van niet echte Coli-bacteriën of boterzuurbacillen, het voorkomen van al deze thermotolerante gistingsorganismen sterk pleit voor een faecale verontreiniging.

Spoedig na de verschijning van de mededeelingen van E y k m a n werd er van verschillende kanten critiek uitgeoefend op zijn methode.

Reeds in 1905 kwam er van Fransche zijde een ongunstige beoordeeling. Vincent (1905), eveneens een voorstander van de Coli-methode voor wateronderzoek, achtte het echter niet juist, om voor het kweken van het Bact.Coli een temperatuur van 46° C te gebruiken, omdat deze temperatuur ongunstig zou werken op hun groei, zoodat men allicht onjuiste conclusies zou kunnen trekken. De Franschen stellen meer vertrouwen in de methode van Vincent, die als voedingsbodem neemt bouillon met 0.075 % phenol in klimmende hoeveelheden van 1, 2, 5, 10 enz. druppels en die gebruik maakt van een broedstoof van 40° C.

Nadat de buisjes, gevuld met genoemde vloeistof en een hoeveelheid van het te onderzoeken water, 18 uur bebroed is geweest, worden de troebel geworden vloeistofmengsels op agar-agar overgeënt, waarna de opgekomen koloniën nader worden geïdentificeerd.

Daartegenover kwam in hetzelfde jaar een gunstige beoordeeling van den Duitschen onderzoeker Christian (1905). Deze bacterioloog-hygiënist onderzocht met de methode van E y k m a n verschillende watersoorten en nam waar, dat zeker verontreinigd water steeds een positieve proef volgens E y k m a n gaf; het water van de Spree vertoonde bij een verdunning van 1:100.000 nog gasvorming, terwijl rioolwater zelfs tot een verdunning van 1:1.000.000 nog gas vormde. Daarentegen was er zelfs in 300 cc leidingwater van Berlijn geen spoortje van gasvorming te ontdekken, zoodat Christian tot de conclusie kwam, dat onverdacht water nooit en verdacht water altijd een positieve E y k m a n gaf.

Een Duitsche bacterioloog, die het volkomen eens is met de inzichten van E y k m a n is N e u m a n; in 1906 publiceerde hij een stuk, waarin hij naar voren bracht de elektieve beteekenis

van de Eykman-methode, om de coli-bacteriën uit de darmen van menschen en warmbloedige dieren te determineeren.

Van de Hollandsche bacteriologen behoort Koning (1906—1907) tot diegenen, die niet geheel tevreden zijn met de methode van zijn landgenoot. In 1906 onderzocht hij faecaalwater en water uit een Amsterdamsche gracht, verder ook faecaalmassa's met de Eykman-vloeistof bij 46° C, echter met negatieve resultaten. Wel kreeg hij positieve uitkomsten, indien hij in plaats van glucose-pepton-NaCl-oplossing gebruikte een zwak alkalische glucose-bouillon-voedingsbodem.

Tot degenen onder de Duitsche onderzoekers, die de methode van Eykman niet gunstig beoordeelen, behoort Kruse. In 1908 vond hij het twijfelachtig, of de coli-proef, zooals ze wordt uitgevoerd door Eykman, wel een absolute maatstaf biedt voor de beoordeeling van de bruikbaarheid van het te onderzoeken water en een verbetering beteekent van de oudere coli-methoden. Kruse achtte bovendien de waarde der coli-methode slechts gering en vond de proef van Eykman nog minder gevoelig dan de andere bestaande coli-methoden.

De Duitsche hygiënist Federalf vindt de methode van Eykman eveneens ongevoelig; in 1909 deed hij vergelijkende onderzoekingen met de methode van Eykman, met die van Petruschky en met zijn eigen methode en kwam tot de conclusie, dat zijn „Fällungsmethode”, waarbij men de coli-bacteriën uit het water met ferrosulfaat en natriumcarbonaat neerslaat en het neerslag verder onderzoekt, betere resultaten geeft dan de twee andere [Federalf (1909)].

Evenals Kruse acht Gärtner (1910) de waarde van de proef van Eykman en trouwens alle colli-methoden voor het bacteriologisch-hygiënisch wateronderzoek gering en legt hij meer de nadruk op een plaatselijk onderzoek van de waterbron en de toestand van het materiaal van de waterleiding. Door hem verrichte onderzoekingen in Jena hebben aangetoond, dat het Bact.Coli in de natuur zeer verbreid voorkomt; zelfs in streken, die ver verwijderd zijn van het menschelijk verkeer, heeft hij in de aarde steeds coli-bacteriën gevonden (zie Hoofdst. 1, blz. 18).

Fromme is van meening, dat men aan de methode van Eykman een te hooge waarde geeft; in 1910 liet hij zich als volgt uit: „Die Eykman-sche Methode verdient nicht die Bedeutung für den Nachweis von Coli-bazillen in Wasser, die ihr vielfach beigelegt wird. Sie ausschlieslich für die Entscheidung über das Vorhanden sein von Coli-bazillen gelten zu lassen, ist unzuverlässig” [Fromme (1910)].

Hehewerth (1911) deed in Ned. Indië proefnemingen met ijswater en andere watermonsters, waarvan enkele waarschijnlijk, andere zeker met menschelijke faecaliën verontreinigd waren. Ook ging hij na, of echte colibacteriën uit menschenontlasting bij

46° C glucose altijd vergistten. Uit de resultaten van zijn onderzoekingen trok hij de conclusie, dat een negatieve proef volgens Eykman nog niet beteekent geen faecale coli-bacteriën en achttende methode van Eykman niet geheel en al betrouwbaar.

Nowack heeft eveneens veel bezwaren tegen de proef volgens Eykman. Evenals Vincent acht hij een temperatuur van 46° C van ongunstigen invloed op de groei van en op de glucose-vergisting door de coli-bacteriën. Deze onderzoeker voerde een z.g. "Secundaire Eykman" in, door eerst te kweken bij 37° C en ingeval er gisting optreedt, de vloeistof over te enten en te kweken bij een temperatuur van 46° C. Op deze wijze meent Nowack de methode van Eykman gevoeliger te kunnen maken en haar dus te verbeteren.

Hilgermann vindt het kweken bij 46° C gevoelig en zeer geschikt voor de „Anreicherung”; hij stelt echter voor, om ingeval de proef van Eykman negatief uitvalt, de „secundaire Eykman-proef”, zooals aanbevolen door Nowack, te verrichten en zoowel bij een positieve als bij een negatieve Eykman-reactie de vloeistof uit te strijken op Drigalsky- of Endo-platen, om de hierop opgekomen roode koloniën verder te identificeren als Bact.Coli. Verder is hij van meening, dat het verkeerd zou zijn, om de proef volgens Eykman *alleen* toe te passen en de beoordeeling van het al of niet verontreinigd zijn met faecaliën van menschen en/of warmbloedige dieren geheel van dit onderzoek af te laten hangen.

Flu (1917) is het volkomen eens met de uitspraak van Eykman, dat alleen de echte coli-bacterie uit den zoogdierdarm in staat is, om glucose bij 46° C te vergisten; de mindere gevoeligheid van de proef bij deze temperatuur dan bij 37° C geeft juist meer kracht aan de praemisse, waarvan Eykman oorspronkelijk uitging. Ook meent Flu uit de onderzoekingen van Kuenen in 1903 in Medan (Ned. Indië), waarbij de bronnen van „Roemah Soemboel” voor en na de capteering en den aanleg van een waterleiding werden nagekeken [Gryns (1907)] en uit zijn eigen waarnemingen met de bron van „Klakah” bij Djokja (Java), eveneens voor en na de vassing, de conclusie te mogen trekken, dat men met de Eykman-methode in staat is, om onbeduidende verontreinigingen van vooraf steriel bronwater aan het licht te kunnen brengen.

In 1921 hield de Graaff voor de Nederlandsche vereeniging voor Microbiologie een voordracht over „Het een en ander over het bacteriologisch wateronderzoek”, waarbij de gistingsmethode van Eykman ook ter sprake werd gebracht.

Tezamen met van Dongen had de Graaff vergelijkende onderzoekingen verricht met:

1. de gistingsmethode van Eykman bij 45° C,
2. de Coli-gistingsmethode met zure lactose-neutraal-rood-bouillon bij 35° C,
3. de boterzuurbacilmethode met melk bij 35° C,
4. de streptococconmethode met alcalische glucose-bouillon bij 35° C.

Bij deze proefnemingen constateerde hij, dat:

1. Een positieve Eykman-proef steeds samenging met een lactosevergisting bij 35° C.
2. Een negatieve proef volgens Eykman niet altijd parallel liep met een negatieve lactosevergisting bij 35° C.
3. Water van verdachten oorsprong zonder uitzondering gas vormde met de Eykman-vloeistof bij 45° C.
4. Soms uit een watermonster, dat een positieve Eykman-reactie gaf, geen streptococcon en geen boterzuurbacillen gekweekt konden worden.
5. De streptococcon- en de lactoseproef even gevoelig waren.

Uit deze resultaten trok hij de conclusie, dat „het vinden van alle 3 micro-organismen, die in de menschedarm als obligate darmbacteriën het meest op den voorgrond treden, n.l. het *Bact. Coli*, de *B. Butyricus* en de *Streptococcon*, een absoluut bewijs is voor een verontreiniging met menschelijke faecaliën.”

De Graaff achtte de Eykman-proef van groote beteekenis voor het vaststellen van een faecale verontreiniging, doch beval daarnaast ook aan: de lactose-vergisting bij 35° C, de streptococcon- en de boterzuurbacillenmethode (zie Hoofdstuk I, blz. 18).

Verder bleek uit de vergelijkende onderzoekingen van de Graaff, dat de gistingsproef van Eykman even gevoelig is als de Amerikaansche coli-methode met methylrood en met de reactie van Voges—Proskauer.

In 1929 beval de Graaff voor de Eykman-proef speciaal pepton „Witte” met een pH van 6,5 aan en achtte hij pepton „Poulenc” met een pH van 5,3 te zuur en niet geschikt.

In hetzelfde jaar meende Hoytema de resultaten van de proef van Eykman te kunnen verbeteren door aan de oorspronkelijke Eykman-vloeistof K_2HPO_4 toe te voegen, omdat hierdoor de groei der streptococcon zou worden geremd, waardoor de coli-bacterie beter zou opkomen en meer gas zou vormen [Hoytema (1929)].

Brown en Skinner hebben in 1930 vergelijkende onderzoekingen verricht van faecaliën en water met de methode van

Eykman en met lactose-vloeistof bij 37,5° C en zijn tot de volgende conclusies gekomen:

1. Only a small percentage of the Bact.Coli from human faeces produced gas in 48 hours in glucose-pepton-broth at 46° C.
2. Many strains produced gas in 24 hours in the Eykman-test, but 48 hours were necessary to include all the gasformers.
3. Many typical Bact.Coli from water from a polluted stream failed to grow in the Eykman-broth at 46° C.
4. The Eykman-test did not eliminate all positive test due to Bact. Aërogenes and citrate positive Bact. Coli.
5. Only Bact.Coli (never Bact.Aërogenes) was found in human faeces.

[Brown and Skinner (1930)].

Krugers Dagneaux constateerde bij een onderzoek van atypische coli-bacteriën met de methode van Eykman en op de Amerikaansche wijze met methylrood en met de reactie van Voges—Proskauer, dat de uitslagen niet steeds met elkaar overeen kwamen. [Krugers Dagneaux (1930)].

In 1932 besprak Smit in het Nederlandsch Tijdschrift voor Hygiëne, Microbiologie en Serologie Deel VI de moeilijkheden van het bacteriologisch drinkwateronderzoek en kwam tot de conclusie, dat het beter is, zich niet te verdiepen in een gedetailleerd onderzoek (zooals de Amerikanen dat doen), doch de practische bacteriologisch-hygiënische methode van Eykman te gebruiken, een methode, die voor de beoordeeling van de geschiktheid van drinkwater een onschatbaar hulpmiddel is.

Tot de tegenstanders van Eykman uit den lateren tijd behoort de Waal; deze is van meening, dat er verschillende oorzaken zijn, die de proef van Eykman minder betrouwbaar maken [de Waal (1932)].

In hetzelfde jaar gaf de Graaff in het Ned. Tijdschr. v. Hygiëne, Microb. en Serologie Deel VI een overzicht van de bestaande methoden voor bacteriologisch drinkwateronderzoek en constateerde, dat „ondanks aanvankelijk veel tegenkanting de methode van Eykman zich heeft weten te handhaven en in Nederland en Nederlandsch-Indië een voorname plaats inneemt. (Zie Hoofdstuk I, blz. 18).

Ook gedurende de laatste 10 jaar heeft men nooit meer getornd aan de groote waarde, die men aan de methode van Eykman voor het wateronderzoek heeft gegeven. De Nederlandsche

Watercodex No. 3 van 1909 noemde reeds de gistingstest van Eykman als de voornaamste methode, om er faecale bacteriën mee aan te toonen; ook in het in Februari 1941 verschenen „Ontwerp voorschriften voor de bacteriologisch-hygiënische keuring van drinkwater”, uitgegeven door de Hoofdcodexcommissie voor de normalisatie in Nederland onder voorzitterschap van Prof. W. C. de Graaff is deze methode opgenomen*).

Eveneens schrijft de „Watercodex voor Nederlandsch-Indië” van 1930 deze methode voor.

Door de bacteriologen in Nederlandsch Indië, zooals Gryn s, Flu en Sardjito, wordt de methode van Eykman voor het onderzoek van water uit rivieren, bronnen en meren herhaaldelijk toegepast, en ze zijn er tevreden over.

*) Inmiddels in definitieven vorm verschenen.

HOOFDSTUK III

De methode van Clemesha.

De kwantitatieve coli-methode, op welke wijze ook uitgevoerd, stelt den bacterioloog-hygiënist in staat, om de graad van verontreiniging van het te onderzoeken water met faecaliën van menschen en/of dieren vast te stellen.

Terwijl de aanwezigheid van enkele coli-achtige of thermotolerante coli-bacteriën verwaarloosd kan worden (zie Hoofdstuk I, blz. 18), moet, volgens de tegenwoordig algemeen geldende opvattingen een bepaald water, dat deze bacteriën boven een zeker minimum bevat, als gevaarlijk worden beschouwd en ongeschikt worden geacht voor het huishoudelijk gebruik. (Ontwerp voorschriften voor de bacteriologisch-hygiënische keuring van drinkwater. Februari 1941 *).

Hoe grooter het aantal aanwezige coli-bacteriën per cc, des te sterker is de graad der besmetting en des te grooter is het gevaar, dat het gebruik van het water met zich zou kunnen meebrengen.

Behalve van de *graad der besmetting* met faecale bacteriën hangt de meer of mindere geschiktheid van het water ook ten zeerste af van het *tijdstip, waarop de faecaliën er in zijn gekomen*. Wij zagen reeds in hoofdstuk I, dat niet resistente pathogene kiemen, die met de ontlasting het lichaam van den zieken mensch verlaten en in het water geraken, hierin binnen een paar uur tot een paar dagen te gronde gaan (proeven van Calmette, van Grijns en van Flu hebben dit bewezen); ook de weinig resistente coli-bacteriën kunnen zich in het water niet lang handhaven en verdwijnen eveneens na eenige dagen [Proeven van Houston, van Fuller, van Fresh en van Flu (Flu. 1921g, 1921h)]. *Hoe minder coli-bacteriën men dus in het water aantreft, des te ouder is de besmetting en des te kleiner is de kans, dat er ook nog pathogene kiemen in voorkomen*.

Weliswaar zijn er enkele hygiënisten, die de meening zijn toegedaan, dat een oude faecale verontreiniging in bepaalde omstandigheden gevaarlijk zou kunnen zijn, en heeft de Graaff aangetoond, dat het Bact. Coli en de E.Typhi in den grond, in modder, in septic tanks en in stilstand water langen tijd in

*) Intusschen reeds definitief verschenen.

leven kunnen blijven [Holwerda (1928)], weliswaar ook zouden volgens Stiles en Crohurst de faecale bacteriën maanden lang in een kunstmatig met faecaliën besmette bodem kunnen blijven leven [Stiles (1922)], toch staat het ongetwijfeld vast, dat hierdoor de besmettingskans zeer sterk vermindert. Flu heeft dit aangetoond voor de Coli-, de Typhusbacterie en de Choleravibrio, terwijl Holwerda hetzelfde heeft nagegaan voor de Streptococcen.

Voor het bepalen van den ouderdom der faecale verontreiniging maakt Clemesha niet alleen gebruik van de aanwezigheid der bacteriën van de Coli-groep, maar ook van het gedrag van andere faecale bacteriën, nl. de Streptococcen en van de door hem genoemde *Bacillus P* (zie ook blz. 34).

Geholpen door zijn medewerkers Seethapathy Aijar en Covindaraja Mudalajar heeft hij gedurende eenige jaren in Britsch-Indië uitgebreide onderzoekingen verricht met faecaliën van menschen en runderen en met watermonsters uit kleine en groote rivieren, meren en bronnen en de resultaten vergeleken met de uitkomsten van de proefnemingen van Mac Conkey en van Houston in Engeland. [Clemesha (1912)].

Betreffende de aanwezigheid der streptococcen heeft Clemesha evenals Houston de volgende conclusie getrokken:

- 1e. Streptococcen komen in groote hoeveelheden in menschenontlasting voor.
- 2e. In zuiver water zijn faecale streptococcen afwezig of niet aan te toonen, zelfs niet in relatief groote volumina.
- 3e. Faecale streptococcen vermenigvuldigen zich niet in zuiver water.
- 4e. Sommige faecale streptococcen zijn weinig resistent en de aanwezigheid van zulke streptococcen in water schijnt, indien ze onderscheiden zouden kunnen worden van de meer resistente vormen, op een recente en daarom gevaarlijke verontreiniging te wijzen.

Clemesha stelde een nader onderzoek in naar de waarde van het schema van Mac Conkey, die de Coli-bacteriën onderverdeelt in 4 groepen (zie Hoofdstuk I, blz. 20) en kwam tot de conclusie, dat deze indeeling geen practische waarde heeft. In de eerste plaats is het een zuivere laboratoriumindeeling en ten tweede is de bacteriologische flora van de faeces zeer afhankelijk van de verschillende jaargetijden.

Clemesha acht het *wèl* mogelijk en practisch uitvoerbaar, om de faecale bacteriën, al naar gelang hun meer of mindere resistentie, vooral onder invloed van de werking van direct zonlicht, in te deelen in 3 groepen:

- 1e. de groep der „*delicate organisms*”, welke zeer vatbaar zijn voor de werking van zonlicht.

Hiertoe behooren:

- I. Het Bact. Coli Commune van Escherich, een bacteriëngroep, die practisch in de ontlasting van alle dieren voorkomt, zich in het water niet vermenigvuldigt en spoedig te gronde gaat, zoodat zijn aanwezigheid pleit voor een recente verontreiniging.
- II. De Oxytocus Perniciosus, die zonder twijfel frequent aanwezig is in de faecaliën van mensch en dier en die bijna altijd gevonden wordt in water, dat hoogstwaarschijnlijk versch verontreinigd is met zoogdierenontlasting, zoodat ook zijn aanwezigheid wijst op een versche faecale verontreiniging.
- III. Een aantal minder belangrijke bacteriën, waarvan er enkele vaker, andere minder vaak in de ontlasting en in verontreinigd oppervlaktewater zijn aan te toonen, n.l. bacillen Nos. 10, 35, 36, 39, 69, 70, 97 en 98.

- 2e. de groep der „*intermediate class*”, bestaande uit een groot aantal organismen, die minder vatbaar zijn voor de werking van zonlicht.

Hiertoe behooren:

- I. Het Bact. Lactis Aërogenes, een bacterie, die in versche ontlasting en in sterk verontreinigd water weinig voorkomt, 5 à 6 dagen na de verontreiniging in een grooter aantal is aan te toonen, die zich dus in een bepaald stadium van natuurlijke zelfreiniging vermeerdert, zoodat zijn aanwezigheid door Clemesha wordt beschouwd als een bewijs voor een beslist faecale verontreiniging van niet al te jonge datum.
- II. Verschillende bacteriën, door hem genoemd Bact. Pneumoniae, Neapolitanus, Coscoroba, Acidi-lactici en de bacillen Nos. 6, 9, 33, 38, 100 en 101.

- 3e. groep der „*resistent organisms*”, bacteriën, die in staat zijn, om gedurende een bepaalden tijd weerstand te bieden aan de werking van het zonlicht.

Hiertoe behooren:

- I. De B.Cloacae, de meest resistente lactosevergister, die zelfs 1 1/2 à 2 jaar na de faecale verontreiniging in opgedroogde of bijna opgedroogde rivieren is aan te toonen.

- II. Bacillen van de Grunthal-groep, waarvan de *B. Vesiculosus* het meest resistent is; als na een sterke faecale verontreiniging het *Bact. Lactis Aërogenes* begint te verdwijnen, is de *B. Vesiculosus* het eenige micro-organisme, dat aan de oppervlakte van het verontreinigde stilstaande water wordt gevonden; eerst later neemt de *B. Cloacae* in aantal toe.
- III. Bacillen No. 8, 73, 75 en de z.g. *Bacillus P.* De zeer resistente bacil, die door *Clemesha* genoemd wordt *Bacillus P.*, omdat hij in het begin meende, dat de bacil bijna identiek was aan de gewone riool-*Proteus*, speelt bij de beoordeeling van den ouderdom der verontreiniging met faecaliën van een bepaald water volgens de inzichten van dezen onderzoeker de belangrijkste rol. Hoewel het later bleek, dat het micro-organisme geen riool-*Proteus* was, liet *Clemesha* hem dien naam behouden. Deze bacil, volgens *Clemesha* zonder twijfel van faecale afkomst, vergist glucose wel doch lactose niet.

Voor de opsporing van de *Bacillus P.* maakt genoemde Engelse hygiënist gebruik van de vergistende eigenschappen der darmmicroben t.o.v. lactose en glucose.

Coli-bacteriën, die bij een kweektemperatuur van 37° C beide suikers vergisten, noemt hij „*true coli*”, in tegenstelling met „*non typical coli*”, die in glucose wel doch in lactose geen gas vormen. Volgens de door *Clemesha* verrichte onderzoekingen bevat versche ontlasting voor 95 % of meer „*echte coli*-bacteriën, tegenover 5 % of minder „*niet typische coli*”; met den dag verandert deze verhouding, het aantal „*echte colibacteriën*” neemt af, terwijl dat der „*niet typische coli*” steeds toeneemt, zoodat men binnen een week het omgekeerde krijgt, n.l. 5 % „*true*” en 95 % „*non typical coli*”.

Na een paar dagen bestaat er dus een toestand, waarbij er evenveel van beide colisoorten voorkomt, het water geeft dan in dezelfde verdunning zuur- en gasvorming in glucose en in lactose, de „*zuur- en gaslijn (titer)*” is dan voor beide suikers even hoog.

Aangezien de minder resistente „*echte coli*-bacteriën” daarna steeds meer te gronde gaan, terwijl de meer resistente „*niet typische coli*” veel langzamer in aantal afnemen, krijgen de „*niet lactose-vergisters*” steeds meer de overhand boven de „*lactose-vergisters*” en gaat dus de „*lactoselijn*” sterker dalen dan de „*glucoselijn*”. Terwijl dus bij een versche faecale verontreiniging beide titers dicht bij elkaar liggen, gaan ze met het ouder worden der faecale infectie steeds verder uit elkaar; een *divergentie der*

glucose- en lactoselijnen pleit dus voor een oudere faecale verontreiniging.

Terwijl de coli-bacteriën, eerst de „echte” en later de „niet typische”, langzamerhand uit het verontreinigde water gaan verdwijnen, gaat de bovengenoemde resistente „Bacillus P” van Clemesha zich ontwikkelen; als de gasvormende werking der „niet typische coli-bacteriën” gaat verminderen, wordt de glucose toch nog goed vergist en wel door de „Bacillus P”. Dien-tengevolge daalt de glucosetiter (lijn) in ouder verontreinigd water slechts langzaam. De „Bacillus P” houdt zich in het water staande, lang nadat de andere faecale microben, o.a. het Bact. Coli, verdwenen zijn en moet verantwoordelijk worden gesteld voor de gemakkelijheid, waarmee watermassa's glucose bij 37° C doen vergisten. [Flu (1921f)].

Terwijl Mac Conkey voor deze gistingproeven had aanbevolen glucose- en lactose-galzout-bouillon, gebruikte Clemesha voor zijn onderzoekingen in India glucose- en lactosebouillon.

Bij de Clemesha-proef wordt nagegaan de kleinste hoeveelheid of de sterkste verdunning van het te onderzoeken water, waarbij glucose en lactose bij een temperatuur van 37° C nog worden vergist. De titers voor beide suikers worden dus bepaald en bovendien met elkaar vergeleken, teneinde de graad en de ouderdom der faecale verontreiniging te kunnen vaststellen.

In Europa en in Amerika schijnen de opvattingen van Clemesha niet veel aanhangers te hebben gevonden, in Britsch-Indië en in Nederlandsch-Indië wordt zijn methode van onderzoek zoowel in de praktijk als voor laboratoriumproeven vaak toegepast.

Na Clemesha met zijn Indische medewerkers hebben ook Stewart en Cobinda Raju in India talrijke onderzoekingen verricht en zijn zij tot de conclusie gekomen,

- 1e. dat bij langdurige bewaring van water het Bact. Coli Commune een zeer zeldzaam voorkomend organisme is,
- 2e. dat er dan slechts 1 à 2 variëteiten van niet sporenvormende lactosevergifters voorkomen, terwijl bij een versche verontreiniging vrij veel variëteiten bestaan. [Holwerda (1928a)].

In 1917 deed Flu in Batavia (Java) verschillende proefnemingen met de Eykman- en de Clemesha-methode en kwam daarbij tot de conclusie, dat men met de proef van Eykman niet alleen in staat is, om er een faecale verontreiniging mee vast te stellen, maar ook de ouderdom der verontreiniging te bepalen [Flu (1917a)].

Bij waarschijnlijk verontreinigd water beteekent een negatieve Eykman-proef, dat deze verontreiniging reeds lang geleden

gebeurd moet zijn, dat dus de zelfreiniging reeds plaats heeft gehad. Bij de vergelijkende bespreking der methoden van Eykman en van Clemesha stelde Flu vast, dat de glucosetiter bij 46° C en de lactosetiter bij 37° C bij bewaren van het water naar omlaag gaan en dat de glucosetiter bij 37° C dat ook doet, maar in zeer veel geringere mate.

Evenals bij de proef van Clemesha kan men uit het verschil tusschen de glucosetitergrens bij 37° C en bij 46° C besluiten, dat, als dit verschil groot is, men met een oude verontreiniging te doen heeft.

Flu is tot deze conclusie gekomen door het onderzoek van Tjiliwoengwater, dat in een hoeveelheid van 0,00001 cc in glucose bij 37° C en 46° C en in lactose bij 37° C gisting gaf, die veroorzaakt bleek te zijn door uitsluitend Coli-bacteriën, welke een maand later onderzocht, bij 37° C wel, doch bij 46° C geen vergistende eigenschappen meer bezaten, en dat deze koloniën op een Endo-plaat geen fuchsineglans meer vertoonden. Hij stelde toen voor, om de recentheid van een verontreiniging te beoordeelen op grond van een verschil tusschen de glucosetiter bij 37° C en bij 46° C.

Houston constateerde een divergentie der glucose- en lactoselijnen slechts in de eerste phase van het reinigingsproces van rivierwater, van de zelfreiniging in reservoirs en bij de langzame zandfiltratie, in de tweede phase vond hij weer een convergentie.

Mom (1926) is van oordeel, dat de divergentie der glucose- en lactoselijnen niet als een kenmerk van zuivering genoemd kan worden en hecht bij het onderzoek van bronwater in zooverre waarde aan dit verschijnsel, dat een positieve divergentie beteekent, dat het water van diepen oorsprong is.

Evenals Flu heeft Mom bij een oudere verontreiniging wel een duidelijke divergentie geconstateerd der glucosevergisting bij 37° C en bij 46° C.

Taylor, Martin en Naidu, die in 1927 in Birma verschillende proeven hebben genomen, sluiten zich aan bij de opvattingen van Clemesha.

In 1928 deed Holwerda in Ned. Indië uitgebreide proefnemingen met de methode van Clemesha en kreeg daarbij niet steeds dezelfde uitkomsten als de Engelsche onderzoeker. De resultaten van zijn zelfreinigingsproeven gaan niet geheel parallel met die van Clemesha; in tegenstelling met de bevindingen in Britsch-Indië heeft Holwerda waargenomen, dat:

- 1e. *Met toetreding van zonlicht geen regelmatig titerverskil optreedt tusschen de glucose- en de lactosegisting, en dat de divergentie der glucose- en lactoselijnen slechts een enkele keer voorkomt.*

- 2e. Zonder direct zonlicht, dus bij een afgedekt reservoir, dit verschijnsel achterwege blijft.

Om deze reden acht Holwerda het niet geoorloofd, om het kenmerk „uiteenwijken der gistingsgrenzen voor glucose en lactose” als een algemeen biologisch verschijnsel te beschouwen; *dus niet in alle omstandigheden, doch slechts voor de tropen is hij het eens met de inzichten van Clemesha.*

De onderscheiding der organismen in oppervlaktewater in resistente en minder resistente soorten vindt Holwerda juist, daarentegen is hij van meening, dat de indeeling der organismen in die van faecale en van niet faecale oorsprong te scherp is doorgetrokken, omdat ook in zeker met ontlasting verontreinigd water citraat-positieve Colibacteriën worden gevonden, bacteriën dus, die volgens Koser vermoedelijk niet van faecalen oorsprong zijn.

Overigens is hij van oordeel, *dat het toepassen van het principe van Clemesha een waardevol hulpmiddel is bij het onderzoek en de beoordeeling van oppervlaktewater, mits de overige middelen, waarover men beschikt, daarnaast worden toegepast* [Holwerda (1928b)].

In 1932 besprak Smit in het Nederlandsch Tijdschrift voor Hygiëne, Microbiologie en Serologie Deel VI de moeilijkheden van het bacteriologisch drinkwateronderzoek en bracht daarbij naar voren, *dat volgens hem de methode van Clemesha de eenige manier is, om tot een juiste benadering van de ouderdom der faecale verontreiniging te geraken, vooral als men de Eykman-proef erin betreft.* (Zie ook Hoofdstuk II, blz. 29). Smit maakt voor de vaststelling van de ouderdom der faecale verontreiniging een scherpe classificatie als volgt:

- | | | |
|--------------|---------------------|--|
| 1e. Eykman + | Clemesha: glucose + | } beteekent versche faecale verontreiniging. |
| | lactose + | |
| 2e. Eykman — | Clemesha: glucose + | } minder versche faecale verontreiniging. |
| | lactose + | |
| 3e. Eykman — | Clemesha: glucose + | } oude faecale verontreiniging. |
| | lactose — | |
| 4e. Eykman — | Clemesha: glucose — | } zelfreiniging is volkomen. |
| | lactose — | |

Bij zijn zelfreinigingsproeven in Amsterdam met verontreinigd oppervlaktewater, in diffuus daglicht geplaatst, *vond hij in tegen-*

stelling met *Clemesha* zelden een duidelijke uiteenwijking der glucose- en lactoselijnen. De oorzaak der divergentie der glucose- en lactoselijnen ligt volgens Smit nog in het duister en de door *Clemesha* gegeven verklaring, dat het verschijnsel toegeschreven moet worden aan de aanwezigheid van de *Bacillus P*, acht hij niet houdbaar.

Hij had gehoopt, dat het verklaard zou kunnen worden door de verhoudingen, waarin de typische en atypische *Coli*-bacteriën in het verontreinigd water voorkomen; de proefnemingen van Jongbloed en Krugers Dagneaux hebben dit echter niet kunnen aantoonen (1928—1930).

De meeningen over de waarde van de proef van Clemesha met glucose- en lactosebouillon bij 37° C, om er de ouderdom van de verontreiniging van water met faecaliën mee vast te stellen, zijn dus eenigszins verdeeld. Slechts in bepaalde omstandigheden, n.l. in de tropen, waar het volle zonlicht op het water inwerkt, treedt er bij een oudere verontreiniging zeker een divergentie der glucose- en lactoselijnen op, in Europa en bij proefnemingen in diffuus daglicht hebben de verschillende onderzoekers dit verschijnsel niet kunnen bevestigen.

Als methode voor het aantoonen van een faecale verontreiniging, ongeacht de ouderdom daarvan, is ze echter zeer goed te gebruiken.

HOOFDSTUK IV

Het Bacteriophagaagprobleem.

Hoewel men den bacteriophagaag reeds langer dan een kwart eeuw kent, is men er nog niet in geslaagd, om zijn wezen en zijn plaats in de natuur vast te stellen. Weliswaar zijn de meeste onderzoekers van meening, dat hij beschouwd moet worden als een doode materie, als een product van groeiende bacteriën, doch een belangrijk aantal bacteriologen is de meening toegedaan, dat de bacteriophagaag gerekend moet worden tot de levende organismen en wel tot de groep der ultramicroben.

Het ligt niet in mijn bedoeling, om een volledig overzicht te geven van de talrijke opvattingen, die door de verschillende onderzoekers worden gehuldigd omtrent het wezen van den bacteriophagaag en om hun naar voren gebrachte argumenten te belichten; het onderwerp is te belangrijk en te uitgebreid, om het in een paar bladzijden te kunnen bespreken. Bovendien komt het er voor mijn onderzoekingen niet op aan, of de bacteriophagaag een levend organisme is dan wel een doode materie; de bacteriophagaag wordt door mij slechts gebruikt, om na te gaan, in hoeverre hij voor het onderzoek naar een faecale verontreiniging van water benut kan worden.

De grondlegger van de bacteriophagaag-theorie is d'Hérelle; in 1909 nam hij in Mexico onder de sprinkhanen een bacteriologische ziekte met sterke diarrhee waar, veroorzaakt door de „*Coccobacillus Acridorum*”. Bij deze gelegenheid verrichtte hij laboratoriumproeven met de darminhoud van kunstmatig geïnfecteerde sprinkhanen. Hij entte deze darminhoud op een voedingsbodem en zag, dat midden op de conflueerende koloniën „*taches vierges*” waren opgekomen. Ook nam hij experimenten met het filtraat van de darminhoud; hierbij bleek, dat dit filtraat niet virulent was voor de sprinkhanen. Uit deze waarnemingen trok hij de conclusie, dat de aanwezigheid van 't zichtbare en onzichtbare virus in combinatie noodzakelijk was voor het optreden van de sprinkhanenziekte. Na een serie van onderzoekingen stelde hij voor bepaalde ziekten van den mensch, n.l. de bacillaire dysenterie en de typhus abdominalis, de hypothese op, dat hierbij eveneens „visible” en „invisible” virussoorten een rol moeten spelen [d'Hérelle (1926)].

In Augustus 1916 nam hij zijn eerste proef met een volwassen

lijder aan bacillaire dysenterie, die in het hospitaal van het Instituut Pasteur te Parijs onder behandeling was. Dagelijks deed hij 12 druppels van de ontlasting van den patient in een buis met bouillon en plaatste deze in een broedstoof van 37° C. Na 24 uur filtreerde hij de faeces-emulsie door een Chamberland-kaars L 3, van dit filtraat deed hij 12 druppels in een bouillonbuis met Shiga-bacteriën en bewaarde de buis in een broedstoof van 37° C. Terwijl gedurende de ziekte de bouillon-filtraat-Shigasuspensie een normale troebele cultuur van Shiga-bacteriën gaf, werd hij, toen de patient beter ging worden, helder en steriel. Met de genezing van den patient kwam er dus in de ontlasting een „principe”, dat in staat was, om groeiende Shiga-bacteriën op te lossen.

Eén druppel van de helder geworden Shiga-bacteriënsuspensie, gebracht in een versche Shiga-bacteriëncultuur in bouillon, gaf na 15 uur weer een heldere cultuur, waarin de bacteriën opgelost waren. Werd van deze heldere vloeistof weer een druppel gebracht in een versche bouilloncultuur van Shiga-bacteriën, dan trad weer hetzelfde verschijnsel op. d'Hérelle herhaalde deze passages eenige keeren en constateerde daarbij, dat de lytische werking van het filtraat na elke volgende passage steeds krachtiger werd. Het „lytisch principe” (bacteriophage), oorspronkelijk afkomstig van de ontlasting van een genezende dysenteriepatiënt, werd dus bij aanwezigheid van groeiende Shiga-bacteriën telkens weer opnieuw gevormd. Aldus redeneerde d'Hérelle (1926a).

d'Hérelle schrijft het verschijnsel van bacteriophagie toe aan de aanwezigheid van een filtreerbare microbe, die in staat is, om bij zijn groei zich vermenigvuldigende bacteriën, die er voor gevoelig zijn, op te lossen. Zooals de bacteriën in staat zijn, om hogere levende wezens aan te tasten en ziek te maken, zoo zou de bacteriophage de eigenschappen bezitten om zich te vermenigvuldigen ten koste van de bacteriën, met wie hij in aanraking is gekomen, hij zou dus een parasiet der bacteriën zijn.

Op den 19en September 1917 maakte d'Hérelle op een vergadering van „l'Académie des Sciences” in Parijs zijn ontdekking bekend.

Later bleek, dat niet alleen uit de faeces van een dysenterie-lijder in zijn reconvalescentietijdperk zulk een bacteriolytisch principe verkregen kon worden, maar ook bij andere darm-ziekten kon hetzelfde verschijnsel worden waargenomen [d'Hérelle (1920)].

Reeds in 1899 hadden Emmerich en Löw het verschijnsel van bacteriolyse waargenomen bij de *B. Pyocyaneus*, die door een autolytische werking werd opgelost [Emmerich und Löw (1899)].

Ook Haffkine had reeds eerder een onverwacht snelle oplossing van pestbouilloncultures geconstateerd en in 1917 beschreef Gildemeister de z.g. „Flutterformen”, bacterie-kolonies op agar, die waren aangevreten.

In 1915 deed Twort in de „Lancet” mededeelingen omtrent een lytisch principe, dat door hem uit vaccinelymphe was geïsoleerd, hetwelk in staat was, om gelijktijdig daaruit gekweekte staphylococcon op te lossen en had hij dus in feite de staphylococconbacteriophage ontdekt. Hij schreef het bacteriolytische verschijnsel echter toe aan een autolytische werking en verwierp de mogelijkheid, dat hier een ultramicrobe in het spel zou kunnen zijn [Schuurman (1925a)].

Verschillende onderzoekers hebben dus hetzelfde verschijnsel geconstateerd, n.l. het feit, dat bacteriën, die bezig zijn, zich te vermenigvuldigen, door een „lytisch principe” opgelost kunnen worden; ze zijn het er echter niet met elkaar over eens, of dit lytische agens bestaat uit levende organismen, die jonge bacteriën vernietigen, of wel een dood product is, dat bij de groei der bacteriën wordt gevormd.

Tot op heden is men op dit punt nog steeds niet tot overeenstemming gekomen en bestaan er omtrent het wezen van dit lytisch principe (bacteriophage) nog steeds talrijke theoriën.

Men zou deze opvattingen als volgt kunnen groepeeren.

I. De opvatting van d'Hérelle en zijn aanhangers.

Zoals wij boven reeds gezien hebben, beschouwt d'Hérelle de bacteriophage als een „*levend organisme*”, als een filtreerbare microbe, als een ultramicrobe, als een parasiet der bacteriën.

Volgens deze opvatting zou de bacteriophage:

- 1e. zich gedragen als een autonoom organisme,
- 2e. het vermogen hebben, om te assimileren,
- 3e. een aanpassingsvermogen hebben,

eigenschappen, die zouden pleiten voor zijn levende natuur.

II. De opvatting van Bail.

Volgens Bail zouden de bacteriën in het bezit zijn van „*chromosomen*”, die het vermogen zouden hebben, om de bacteriën-substantie op te bouwen of af te breken. Overweegt de afbrekende functie, dan gaat het bacteriënlichaam te gronde, waardoor de „*chromosomen*” als „*splitters*” zouden vrijkomen. Deze „*splitters*” zouden het lichaam van gezonde bacteriën binnendringen en in overeenkomstige „*chromosomen*” dezelfde evenwichtsverstoring veroorzaken, dus de bacteriën uit elkaar

doen vallen. Op deze wijze zou de bacteriolyse volgens Bail plaats hebben.

III. De fermentopvattingen.

A. van Kabeshima.

Het was Kabeshima (1920), die d'Hérelle's opvatting het eerst bestreed. In de *Comptes Rendus de la Soc. de Biol.* van Februari—Maart 1920 gaf hij als zijn meening te kennen, dat de bacteriolyse veroorzaakt wordt door een *ferment*, dat door de zich ontwikkelende bacteriën wordt gevormd.

B. van Otto en Munter.

Otto en Munter beschouwen de bacteriophagen als *fermenten*, die naast de autolysinen en toxinen door de bacteriën worden gevormd; door *verkleving aan eiwitdeeltjes* krijgen deze fermenten een corpusculaire natuur. De lysis is een uiting van een *intern-secretorische bacterieziekte*.

C. van Bordet en Ciuca.

Een paar maanden na Kabeshima brachten Bordet en Ciuca hun opvatting naar voren, dat de bacteriophaga een *enzym is van endogene oorsprong* en dat het verschijnsel is een „autolyse microbienne transmissible”.

Bordet nam proeven met een cultuur van Colibacteriën, die hij intraperitoneaal inspoot bij een cavia; uit de etter, die toen optrad, kon hij een coliphaag verkrijgen; de phaag zou dus onder cellulaire invloed ontstaan.

D. van Seifert.

Volgens de theorie van Seifert is de bacteriophaga geen autolytisch ferment, maar een gewoonlijk snel afgebroken *intermediair stofwisselingsproduct*, dat als *katalysator* in dienst staat der dissimilatie. Door vertraging van de afbraak hiervan zou een normaal verlopend ouderdomsproces abnormaal worden versneld. De katalysator zou, vrijgekomen, van buiten af dezelfde stoornis teweeg brengen in gezonde microben, zoodat er gesproken moet worden van een „*exogene autolyse*”.

E. van Doerr.

In het begin verklaarde Doerr de bacteriophagie als volgt. Bij de normale membraanstofwisseling komt er een „*hormon*” vrij, bij een abnormaal sterke stofwisseling ontstaat er veel hormon, waardoor het membraan wordt vernietigd. Het verschijnsel treedt dus op door een *verhoogde stofwisseling*. Later is Doerr gaan overhellen tot de theorie van Bordet, doch

sprak hij niet van autolyse maar van een infectie met „enzym-virus”, waarvan hij echter de levende natuur nog niet bewezen acht; hier benadert hij dus meer de opvatting van d'Hérelle.

F. van Da Costa Cruz.

Da Costa Cruz baseert zijn opvatting op de oude theorie van Buchner, die gesteund door Emmerich en Löw, dat de *antilichamen* in het bloed ontstaan door een verbinding van de *bacteriënfermenten* met de *bloedglobulinen*. Deze fermenten zouden dus van buiten af, op de microben een stofwisselingsstoornis teweeg brengen, die tot lysis leidt, waarbij dezelfde fermenten weer vrij komen.

HOOFDSTUK V

De beteekenis van den bacteriophage voor het wateronderzoek.

Reeds vóór de ontdekking van den bacteriophage door d'Hérelle constateerde Hankin in 1896, dat het water van de Jumna en van de Ganges bactericide eigenschappen bezat; terwijl het Gangeswater *in het algemeen* bacteriolytisch werkte, zij het ook in het bijzonder tegenover de cholera-vibrio, ver- toonde het water uit de Jumna bij het verlaten van de stad Agra zijn lytisch vermogen *uitsluitend* ten opzichte van de cholera- vibrio.

Gedurende den vorigen wereldoorlog (1914—1918) onderzocht Eliova het water van de rivier Koura op de aanwezigheid van cholera-vibrionen; het met peptonoplossing gemengde rivierwater bleek deze microben inderdaad te bevatten, doch 12 uur later waren de vibrionen weer verdwenen; dit zou dus wijzen op de aanwezigheid van de cholera-bacteriophage.

Terwijl d'Hérelle bij zijn eerste proeven alleen in de ontlasting van darmpatiënten bacteriophagen kon vinden, is het aan Dumas in 1920 gelukt, om ook uit de faecaliën van gezonde personen, uit de aarde, uit het leidingwater van Parijs en uit de Seine Shiga- en Coli-bacteriophagen te verkrijgen. Dumas onderzocht 8 personen, die nooit een infectie van de darmen hadden doorgemaakt; daarbij bleek, dat de ontlasting van 5 hunner Coli- en Shiga-bacteriophagen bevatte.

Ook andere onderzoekers, t.w. Debré en Hagenau (1920), Beckerich en Hauduroy (1922), Da Costa Cruz en Tomaselli (1923) hebben in de faecaliën van normale menschen bacteriophagen gevonden; terwijl Da Costa Cruz in 3 van de 5 gevallen bacteriophagen vond, hadden alle 10 door Tomaselli onderzochte personen in hun ontlasting Shiga-bacteriophage en 6 hunner daarnaast ook Typhus-, Paratyphus-A-, of Paratyphus-B-bacteriophage.

In 1922 heeft Védèrenne aangetoond, dat bij een pas geboren kind tot den 4en levensdag geen bacteriophagen tegen Bact.Coli, Bact.Dys. Hiss, Staphylococcus albus, Enterococcus en Bact.Proteus in het meconium voorkomen.

Ook Suranyi en Kramar hebben bij pasgeborenen tot den 4en levensdag geen bacteriophagen in hun meconium gevonden. (1924).

Pierret en Bilouet konden pas op den 12en levensdag bacteriophagen in de ontlasting van een pasgeboren kind aantoonen (1925).

Beckerich en Hauduroy (1922a) hebben ook uit het water van de IJl en van de Rijn bacteriophagen geïsoleerd.

d'Hérelle (1926) heeft later ook in de ontlasting van gezonde personen en dieren (paarden, kippen, ganzen en verschillende andere dieren) naar de aanwezigheid van bacteriophagen gezocht met de ondervolgende resultaten.

Gedurende een jaar heeft hij om de 15 dagen, dus in totaal 23 keer, de ontlasting van een gezond persoon nagekeken met de volgende uitslagen:

Bacteriophagaag tegen	Bact. Coli	:	17	keer	positief.
"	"	Bact. Dysent. Shiga :	4	"	"
"	"	" Flexner :	2	"	"
"	"	" Hiss :	2	"	"
"	"	E. Typhi :	—	"	"
"	"	Bact. Paratyph. A :	1	"	"
"	"	" B :	2	"	"
"	"	Bact. Enteritidis :	1	"	"
"	"	Salmonella :	1	"	"

Bij 26 paarden, die hij heeft nagekeken, heeft hij het volgende gevonden:

Bacteriophagaag tegen	Bact. Coli	:	24	keer	positief.
"	"	Bact. Dysent. Shiga :	22	"	"
"	"	" Flexner :	22	"	"
"	"	" Hiss :	20	"	"
"	"	E. Typhi :	6	"	"
"	"	Bact. Paratyph. A :	6	"	"
"	"	" B :	11	"	"
"	"	Bact. Gallinarum :	3	"	"

Bij 14 kippen en ganzen heeft hij gevonden:

Bacteriophagaag tegen	Bact. Coli	:	11	keer	positief.
"	"	Bact. Dysent. Shiga :	12	"	"
"	"	" Flexner :	10	"	"
"	"	" Hiss :	12	"	"
"	"	E. Typhi :	6	"	"
"	"	Bact. Paratyph. A :	5	"	"
"	"	" B :	12	"	"
"	"	Bact. Gallinarum :	6	"	"
"	"	Bact. Borbone :	2	"	"

Bij 25 verschillende dieren (1 aap, 2 katten, 4 koeien, 2 kal-

veren, 6 ossen, 6 varkens, 2 konijnen en 2 geiten) is het volgende gevonden:

Bacteriophag tegen	Bact. Coli	:	20	keer	positief.
"	"	Bact. Dysent. Shiga	: 17	"	"
"	"	" Flexner	: 13	"	"
"	"	" Hiss	: 10	"	"
"	"	E. Typhi	: 2	"	"
"	"	Bact. Paratyph. A	: 1	"	"
"	"	" B	: 6	"	"
"	"	Bact. Gallinarum	: 4	"	"
"	"	Bact. Barbone	: 4	"	"

Ook heeft d'Hérelle geconstateerd, dat in water van een zeehaven wel, doch in de open zee geen bacteriophagen voorkomen.

Na zijn onderzoekingen en ook naar aanleiding van de resultaten der onderzoekingen van andere bacteriologen komt hij tot de volgende uitspraak:

„Des races de Bactériophages virulents pour le bacille dysentérique peuvent se rencontrer en un mot dans tout ce qui est susceptible d'être contaminé par des déjections”.

Zdansky kwam in 1924 na zijn proefnemingen betreffende het gedrag der bacteriophagen bij de zelfreiniging tot de volgende slotsom:

1. Uit experimenten is gebleken, dat bacteriophagen bij de zelfreiniging geen rol spelen.
2. In faecaal verontreinigd water schijnt zich met het toenemen van de afstand tot de plaats der faecaliëntoevoer de getalsverhouding tusschen lysosensibele en lysorefractaire coli ten ongunste van de eerste te verschuiven. Hetzelfde schijnt ook bij het ouder worden van water in vitro het geval te zijn.
3. Deze verschuiving ontstaat hoogstwaarschijnlijk, doordat de in water voorkomende saprophytische coli lysorefractair zijn, terwijl de in aantal snel afnemende darmcoli lysosensibel zijn.
4. De sensibiliteit dezer coli-bacteriën veroorlooft wellicht een onderscheiding tusschen darmcoli en saprophytische coli in de natuur.

Nakashima trachtte in 1925 na te gaan:

1. of bacteriophagenlysis constant in verontreinigd water voorkomt,
2. hoe dit lysine zich gedraagt in een kunstmatig aangelegd zelfreinigingsproces.

1.

Om de eerste vraag te kunnen beantwoorden, onderzocht hij:

1. afvoerwater van Groot-Hamburg,
2. afvoerwater van een klein landstadje.
3. afvoerwater, dat voor 50 % van industriële afkomst was (leer-, chemische en metaalfabrieken) en ging na, of deze verschillende oppervlaktewateren lytische eigenschappen vertoonden tegenover het Bact. Coli, het Bact. Paratyph. A en de V. Cholera.
pen vertoonden tegenover de B. Coli, de B. Paratyph. A en de V. Cholera.

Het bleek, dat:

- A. *het afvoerwater van Gr. Hamburg en dat van het kleine landstadje, welke dus zeker met faecaliën verontreinigd waren, bacteriophagen tegen Bact. Coli en Bact. Paratyphus A bevatten, doch geen lytische eigenschappen vertoonden t.o.z. van watervibrionen.*
- B. het afvoerwater van industriële afkomst geen bacteriophagenlysis tegen de 3 gebruikte bacterie-stammen vertoonde.

2.

Voor de bestudeering van het gedrag der bacteriophagen bij het zelfreinigingsproces onderzocht Nakashima de biologische reiniging door zandfilters. Hierbij constateerde hij, *dat de zandfilters de bacteriophagen doorlieten; de werking der bacteriophagenlysis bleef na passeering dezer filters onverminderd in kracht.* Ook door het biologisch reinigingsproces werd het colylisine niet veranderd.

Lloyd Arnold (1925) heeft in oppervlaktewater bacteriophagen tegen Typhus-, Coli-, verscheidene Dysenterie-stammen en Staphylococcon gevonden; de hoeveelheid bacteriophagaag zou evenredig zijn met de hoeveelheid huishoudelijk afvoerwater, dat in het oppervlaktewater terecht is gekomen.

Arloing, Sempé en Chavanne (1925) hebben verscheidene rivieren en bronnen in Frankrijk onderzocht en daarin Coli-, Shiga-, Typhus-, Paratyphus A of Paratyphus B-bacteriophagaag gevonden.

Ferreti (1926) heeft in Bologna verschillende waters onderzocht en het volgende gevonden:

- a. Afvoerkanalen in Bologna bevatten vaak bacteriophagen tegen Bact. Dysent. Flexner, bovendien ook tegen Typhus-, Paratyph. A- en Paratyph. B-bacteriën.
- b. Het leidingwater van Bologna bevat geen bacteriophagaag.
- c. Het aquaduct van Centro bevat bacteriophagen tegen Typhus- en Paratyphusstammen.

- d. Het water uit verscheidene bronnen in de provincie Bologna bevat bacteriophagen tegen Typhus-, Paratyph. A en B-bacteriën, Dysenterie-bacteriën, Cholera-vibrionen en Staphylococcen.

Sangiorgi en Vercellana (1926) hebben in de Italiaansche rivieren de Etsch, de Arno, de Po en de Tiber bacteriophagen tegen verschillende bacteriën aangetoond; alle vier rivieren bevatten Cholera-bacteriophaga; de sterkste lysis wordt vertoond tegenover Cholera-, Dysenterie- en Typhusstammen, de minste tegen Paratyphus en Proteus.

Bifulco (1927) heeft in het lagunenwater van Venetië Coli-, Typhus-, Shiga-, Flexner-, Paratyph. A- en Paratyphus B-bacteriophagen gevonden.

Fortunato (1928) heeft aangetoond, dat het water uit de haven van Messina Coli- en Shigabacteriophaga en geen bacteriophaga tegen Bact. Paratyphus A en Bact. Paratyphus B bevat, onafhankelijk van atmosferische en meteorologische schommelingen.

Ook Segre (1930) heeft in de rivier de Po en in andere Italiaansche rivieren Coli-, Typhus-, Shiga-, Flexner- en Cholerabacteriophaga gevonden [Gildemeister en Watanabe (1931)].

Gildemeister en Watanabe hebben in 1931 verschillende oppervlaktewaters in en bij Berlijn op de aanwezigheid van bacteriophagen onderzocht en het volgende gevonden:

1. Het bacteriophagagehalte van de Spree vóór en na de intrede in Berlijn is wisselend; boven Berlijn en ook in de stad bevat de rivier bij droog weer weinig, na zware regens en bij hoog water daarentegen veel bacteriophagen; door de regens zijn faecaalbestanddeelen van mensch en dier op de velden in het water terecht gekomen.
2. Verschillende kanalen bij Berlijn bevatten te allen tijde veel bacteriophagen; door de minder sterke stroom blijft de verontreiniging er langer in.
3. De „Krumme Lanke“, de „Schlachtensee“ en de „Wannsee“, meren, die midden in een bosch in de omgeving van Berlijn gelegen zijn en die weinig verbinding hebben met rivieren, die dus hygiënisch in een bijzonder gunstige positie verkeerden, blijken phaagarm of geheel phaagvrij te zijn.
4. Het afvoerwater van een pompinstallatie in Berlijn is rijk aan dysenterie- en paratyphusbacteriophaga.

Naar aanleiding van hun bevindingen en die van andere onderzoekers komen Gildemeister en Watanabe tot de volgende conclusies:

- I. *Uit de aanwezigheid van meer of minder bacteriophagen in een water kan men een zeker oordeel vormen over zijn gehalte aan faecale verontreiniging.*
- II. *Primaire verontreiniging komt direct, secundaire verontreiniging komt met het regenwater in de rivier; men kan aannemen, dat primaire verontreiniging afkomstig is van menschen en secundaire van dieren.*
- III. *De bacteriophagen, die in oppervlaktewater worden aangetroffen, zijn in de eerste plaats werkzaam tegen dysenteriebacillen en wel voornamelijk de Shiga, daarnaast komen ook Typhus-, Paratyphus- en Colibacteriophagen voor.*
- IV. *Bacteriophagen spelen hoogst waarschijnlijk geen rol bij de zelfreiniging van het verontreinigde water.*
- V. *De vraag, of bacteriophagen in oppervlaktewater voor de epidemiologie eenige beteekenis hebben, is nog niet opgehelderd.*

De Finsche bacterioloog Nyberg is de eerste onderzoeker, die van een „Anreicherungs-methode” gebruik maakte, om ook in kleine hoeveelheden water, faeces of aarde bacteriophagen aan te toonen [Nyberg (1931)].

Daarvoor nam hij bouillon met een pH van 7,8, beënte deze met de bacterie, naar welks bacteriophagaag wordt gezocht en mengde hem met een kleinere of grootere hoeveelheid van het te onderzoeken materiaal. Na een bebroeding gedurende 24 uur bij een temperatuur van 37° C ging hij de materiaal-bacterie-bouillonsuspensie filtreren. Een paar druppels van het filtraat werden gebracht in een buis met bouillon, die beënt was met een 24 uur oude bacteriestam. De buis kwam in een broedstoom van 37° C, om de lytische werking van den bacteriophagaag na te gaan.

Het is Nyberg later gebleken, dat het beter is, om in plaats van naar één naar meerdere bacteriophagen te zoeken.

De bruikbaarheid van deze methode heeft hij in verschillende richtingen gecontroleerd; op deze wijze heeft hij onderzocht:

1. zeewater uit de Zuidhaven van Helsinki,
2. water uit de Tölömeerbusen bij Helsinki,
3. zes verschillende andere watermonsters,

en daarbij gevonden, dat de met de betreffende bacteriën voorbehandelde filtraten tegenover deze bacteriën een beduidend sterkere werking vertoonen dan de niet voorbehandelde.

Voor de „Anreicherung” zijn kleine hoeveelheden bacteriën noodig, groote hoeveelheden werken remmend; Jansen, Wolff, Flu en anderen verklaren dit, door aan te nemen, dat veel bacteriophagen door de bacteriën worden geadsorbeerd.

Ten slotte zegt Nyberg:

„Nach diese Methode könnte man wahrscheinlich auch hygienische Wasseruntersuchungen ausführen.“

In 1933 onderzochten Nyberg en Forssman gedurende $\frac{1}{2}$ jaar het Cloakewater bij Helsinfors op de aanwezigheid van bacteriophagen.

Het onderzoek werd verricht met en zonder „Anreicherung“ met gebruikmaking van 5 verschillende Coli-stammen met verschillende biologische eigenschappen en met 5 pathogene bacteriën, n.l. Bact. Dysenterie Shiga-Kruse, Bact. Pseudodysenterie Flexner, E.Typhi, Bact. Paratyphi B. S-vorm en Bact. Paratyphi B. R-vorm, met verdunningen van het cloakewater van 1:500, 1:250.000 en 1:125.000.000. De watermonsters werden uit de cloake genomen, zowel vóór als na het passeeren van de reinigings-installatie.

Uit deze onderzoeken is het volgende gebleken:

1. dat de „Anreicherungsmethode“ meer positieve resultaten geeft dan de directe methode,
2. dat tegenover één resistente Colistam de bacteriophagewerking der verschillende monsters steeds negatief is uitgevallen,
3. dat tegenover de 4 andere Coli-stammen en de 5 pathogene bacteriën phagen aangetoond kunnen worden, zowel in het gereinigde als in het ongereinigde kloakewater,
4. dat in geen enkel watermonster Typhusphaag is gevonden.

Ook het kloakewater van de stad Koupio, waar toevallig typhus heerschte, werd op de aanwezigheid van typhusphaag nagekeken, doch ook met een negatief resultaat.

Nyberg en Forssman hebben naar aanleiding van hun onderzoeken de volgende conclusie getrokken:

- I. Colibacteriophagen komen voor zoowel in het ongereinigde als in het gereinigde kloakewater; de aard der voorkomende Coliphagen is zeer veranderlijk: terwijl de lytische werking tegen de eene Colistam sterk is, is ze tegenover een der andere gebruikte Coli's slechts zwak.
- II. Het meest komen voor phagen tegen Dysenterie-stammen, minder tegen Paratyphus, terwijl Typhusphaag niet wordt aangetroffen.
- III. Dysenteriephagen zijn regelmatig gevonden, terwijl er geen dysenterielijders in de stad zijn.
- IV. Paratyphusphaag is mogelijk afkomstig van paratyphuspatiënten in de stad.

Samenvattende komen ze tot de eindconclusie, dat het aantoonen van bacteriophagen geen beteekenis heeft voor het vast-

stellen van de aanwezigheid van een epidemische ziekte, met name ten opzichte van dysenterie-achtige ziekten en van paratyphus.

Schloszmann verrichtte in 1931 talrijke onderzoeken met gebruikmaking van de „Anreicherungs-methode” van Nyberg en titreerde de bacteriophagawerking zoowel volgens de bouillonmethode van Appelmanns-Bergstrands als met de Auftropfmethode (Plattenmethode). [Schloszmann (1933)].

Voor zijn proefnemingen koos hij een der grootste rivieren van Estland, de „Embach”, 3 meren, n.l. de „Wirzjårwsee”, de „Peipussee” en de „Grosze See”, 5 vijvers, 4 artesische en 8 gewone pompputten in en bij de stad Dorpat en de waterleiding van Dorpat.

De Embach, die uit de Wirzjårwsee ontspringt, door de stad Dorpat (Tartu) met zijn 70.000 inwoners stroomt en in de Peipussee uitmondt, werd boven, in en beneden de stad, dus vóór, gedurende en na de verontreiniging met faecaliën, nagekeken.

Terwijl de Wirzjårwsee hygiënisch gunstig is gelegen, de Peipussee zeker met faecaliën is verontreinigd, bevindt de Grosze See zich midden in een bosch en is faecale verontreiniging van dit meer geheel uitgesloten.

De 12 putten en de waterleiding zijn hygiënisch betrouwbaar.

De verschillende waters werden nagekeken op de aanwezigheid van bacteriophagen tegen Bact. Coli, E.Typhi, Bact. Paratyphus B, Bact. Dysent. Shiga, Bact. Dysenterie Flexner, Proteus X 2 en Proteus X 19.

Naar aanleiding van de verkregen resultaten heeft Schloszmann de volgende conclusies getrokken:

1. *Bacteriophagen komen overal voor in water, dat met faecaliën verontreinigd is.*
2. *De bepaling der primaire verontreinigingsgraad van water met de bacteriophagmethode heeft een practische betekenis.*
3. *Faecaliën van visschen schijnen bacteriophagen tegen Paratyphus A en Dysenterie te bevatten.*
4. *Het is nog niet zeker, welke bacteriënsoorten voor de practische toepassing het meest geschikt zijn. De meeste onderzoekers gebruiken Coli-, Typhus-, Paratyphus-A-, Dysenterie- en Cholerastammen.*
5. *Uit de proeven van de meeste onderzoekers is gebleken, dat bacteriophagarme waters voornamelijk dysenteriephaag bevatten.*

Ook Von Vagedes heeft in 1932 met de „Anreicherungs-methode” van Nyberg uitgebreide onderzoeken verricht, doch daarbij alleen naar de aanwezigheid van *Coli-bacteriophaga* gezocht.

Hij heeft 122 drinkwater-, 120 oppervlaktewater- en 58 afvoerwater-, dus in totaal 300 watermonsters onderzocht met de volgende resultaten:

1. Drinkwater.

Van de 122 drinkwatermonsters bleken er 19 Coliphaag te bevatten; deze 19 positieve gevallen waren afkomstig van 2 installaties. Voor de aanwezigheid van Colibacteriophaga gaf Von Vagedes de volgende verklaring: bij één drinkwaterinstallatie was het zandfilter defect; een ander monster bevatte Coliphaag, omdat het ruw water bleek te zijn, het reine water was wel phaagvrij, terwijl de andere positieve monsters ook een belangrijke hoeveelheid Coli-bacteriën bleken te bevatten; op de een of andere manier was het drinkwater dus verontreinigd geraakt. In één geval kon hij er geen verklaring voor vinden.

2. Oppervlaktewater.

De 120 monsters van oppervlaktewater waren afkomstig van 56 verschillende plaatsen, waarvan er 48 wel en 8 geen Coliphaag bevatten. Alle 48 positieve gevallen waren zeker verontreinigd met faecaliën; 0,001 cc van het water bevatte Coli-bacteriën.

De 8 geen Coliphaag bevattende watermonsters waren gehaald uit afgelegen vijvers en zuivere bronnen, die weinig kans hadden, om verontreinigd te worden.

3. Afvoerwater.

De 58 monsters van afvoerwaters waren genomen uit 34 plaatsen; 42 bevatten wel, 16 geen Coliphaag. De positieve gevallen waren afkomstig van afvoerwaters, die zeker verontreinigd waren met faecaliën, de 16 negatieve van afvoerwaters van fabrieken, spinnerijen, wasscherijen en van kleine plaatsen met een zeer sterk verdunde verontreiniging.

Von Vagedes is na zijn onderzoeken tot de volgende conclusies gekomen:

1. *Met de „Anreicherungs-methode” van Nyberg is het aantoonen van Colilysine in ongetwijfeld met faecaliën verontreinigd afvoerwater niet in alle gevallen gelukt.*
2. *Voor het onderzoek van afvoerwater is deze methode niet geheel geschikt.*
3. *Voor oppervlaktewater blijkt deze methode zeer geschikt te zijn.*

4. *Voor de beoordeeling van drinkwater kan deze Coliphaag-aantooning in zooverre goede diensten bewijzen, dat bij aanwezigheid van phaag iets hapert in het bedrijf.*
5. *Ondanks de onvolkomenheden, die het gebruik van Coli-lysine-aantooning, ook na de werkelijke verbetering van Nyberg aankleven, blijkt deze methode toch wel een zeer goede hulp te zijn voor de beoordeeling van waterproeven.*

Naar aanleiding van de onderzoekingen van Von Vagedes wees Gildemeister er in 1934 op, dat volgens zijn waarnemingen in bacteriophagarme waters de bacteriophagwerking overwegend of uitsluitend tegen dysenterie-bacteriën gericht is en onder deze speciaal tegen de Shiga-bacteriën.

Volgens hem zou men nog kunnen probeeren, om de methode te verbeteren, door voor de „Anreicherung” volgens Nyberg gebruik te maken van Shiga-bacteriën. Uitgaande van deze gedachte werden door hem gedurende 7 maanden waterproeven genomen; naast elkaar werden toegepast:

- 1e. de phaagmethode,
- 2e. bepaling van het kiemgetal,
- 3e. bepaling van het Coligehalte,
- 4e. zoo mogelijk chemische analyse.

In totaal werden onderzocht 107 watermonsters, waarvan 53 afkomstig van drinkwater, 43 van oppervlakte-, 8 van afvoeren 3 van badwater; het onderzoek had plaats in 2 laboratoria, n.l. in het Pr. Landesanstalt en in het Reichsgesundheitsamt.

Voor het aantoonen der bacteriophagen werd de „Auftropf-methode” toegepast; in het Pr. Landesanstalt werden voor de „Anreicherung” 2 Colistammen en 1 lysosensibele Shigastam, in het Reichsgesundheitsamt eerst 6 Shiga- en 6 Coli-, later 3 Shiga- en 4 Colistammen gebruikt.

Gildemeister is naar aanleiding van de door hem en door Von Vagedes verrichtte onderzoekingen tot de volgende conclusies gekomen:

1. *De Anreicheringsmethode van Nyberg is voor het aantoonen van bacteriophagen in water aan te bevelen.*
2. *Hoe grooter het aantal te gebruiken geschikte culturen, met des te grooter zekerheid kunnen de bacteriophagen aangetoond worden.*
3. *Voor het beënten van watermonsters volgens Nyberg is het aan te bevelen, om behalve Colistammen ook Shiga-culturen te gebruiken.*

4. *De vraag, of het beter is voor de ophooping een bacteriemengsel of slechts één bacteriestam te gebruiken, kan na de genomen proeven niet positief worden beantwoord.*

Gildemeister en Von Vagedes bevelen voor de Anreicherung zoowel de enkelvoudige als de mengcultuurmethode aan.

De bacteriophagmethode wordt door beide onderzoekers betrouwbaar en dus geschikt geacht voor de praktijk ter beoordeling van de hygiënische geschiktheid van drinkwater.

Bertarelli is van meening, *dat het Bact. Coli niet behoort tot de kiemen, voor welke het gemakkelijk is, om er een volledige of zelfs duidelijke lysis met een bacteriolytische vloeistof mee te verkrijgen*; de lytische werkzaamheid van bacteriophaghoudende waters is gewoonlijk gericht tegen Bact. Shiga en Bact. Flexner. Bij zijn proefnemingen vertoonden verschillende door hem gebruikte Colistammen tegen dezelfde bacteriophag een geheel verschillende gevoeligheid. [Bertarelli (1933)].

Nick heeft zich in 1936 de vraag gesteld, of het bacteriophaggehalte een criterium is voor de graad van verontreiniging van oppervlaktewater.

Om deze vraag te kunnen beantwoorden, heeft hij onderzocht:

1. de „Lahn“ (Vorfluter) op de aanwezigheid van bacteriophagen,
2. de invloed van meer of minder regen op deze phagen,
3. het voorkomen en de beïnvloeding van bacteriophagen in afvoerwater,
4. de verhouding der bacteriophagen in een oude waterzuiveringsinstallatie, die met grove mechanische middelen werkt,
5. de invloed op de bacteriophagen van een goede biologische reiniging en van chloor en koper, die gebruikt worden, om de bacteriën te doden.

De resultaten van deze proefnemingen zijn als volgt samengevat:

1. In het water van de Lahn bevinden zich bij droog weer in hoofdzaak bacteriophagen tegen Bact. Coli, Bact. Dysenterie Y en Bact. Dysenterie Flexner; het bacteriophaggehalte van deze „Vorfluter“ houdt gelijken tred met de toe- en afname der verontreinigingen, die van de aardoppervlakte in de rivier komen.

2. Uit het Lahnwater gekweekte bacteriën kunnen ook door deze phagen opgelost worden; de phagen doen dus mee aan de zelfreiniging.
3. Mechanische zuivering door middel van roosters en bezinkingsbassins en biologische reiniging hebben geen invloed op de phaagwerking.
4. Chloor vernietigt de phaagwerking wel, koper doet dit niet.

In Nederland behoort Flu (1934) tot de weinigen, die oppervlaktewaters op de aanwezigheid van bacteriophagen hebben onderzocht; in verschillende grachten van Leiden heeft hij bacteriophagen gevonden tegen Bact. Coli, Bact. Dysenteria Shiga en Past. Pestis.

In 1936 heeft Schuurman in de Tjiliwoeng, een rivier in Ned. Oost-Indië, Typhusbacteriophaga aangetoond; deze lytische werking op Typhusbacteriën is volgens hem slechts een functie van het nog veel hogere totale phaaggehalte van het rivierwater; deze rivierphagen zouden volgens Schuurman bij de zelfreiniging een rol spelen.

Gedurende de laatste jaren hebben enkele onderzoekers zich weer beziggehouden met het zoeken van bacteriophagen in de ontlasting van gezonde en zieke mensen en dieren.

Shunkichi Ohashi heeft in 1932 er op gewezen, dat de hoeveelheid bacteriophagen, die met de dierlijke ontlasting worden afgescheiden, duidelijk van de jaargetijden afhankelijk is, en in 1940 heeft hij aangetoond, dat de hoenders, die als phagenuitscheiders bekend staan, in den winter geen phagen in hun afval vertoonen.

In 1941 hebben Gildemeister en Ahlfeld van een groot aantal gezonde en zieke mensen en dieren de ontlasting onderzocht op de aanwezigheid van verschillende bacteriophagen.

Volgens hun publicatie heeft Sartorius de volgende gegevens uit de Russische literatuur verzameld:

Naam van den onderzoeker	Onderzochte personen	Positieve resultaten op dysenteriebacteriophag
Krestovnikova	Dysenterielijders	64,5 %
Feemster	Dysenterielijders	53 %
Ruckowski	Aan het eind van een dysenterie-epidemie	43,8 %
Sartorius en Kristen	Dysenterielijders met Dysent. bact.	40 %
	Dysenterielijders zonder Dysent. bact.	40 %

De resultaten van Gildemeister en Ahlfeld zelf zijn als volgt:

Onderzochte personen	Positieve resultaten
100 verdachte typhuslijders	Typhusbacteriophag 22 %
200 typhusbacteriënuitscheiders	" 14 %
100 gezonde personen	" 5 %
100 " "	Paratyph. bacteriophag 17 %
100 " "	Cholera bacteriophag —
100 " "	Dysenteriebacteriophag 77 %
	waarvan tegen Shigabact. 1 %
	andere Dys. b. 50 %
	giftarme Dys. b. 26 %

Uit de experimenten der verschillende onderzoekers is dus gebleken:

1. dat de Dysenteriebacteriophag voorkomt in de ontlasting van een belangrijk percentage van de gezonde menschen en warmbloedige dieren,
2. dat hij eveneens aanwezig is in water, dat hoogstwaarschijnlijk verontreinigd is met faecaliën van menschen en warmbloedige dieren,
3. dat de Anreicheringsmethode van Nyberg ons in staat stelt, om de bacteriophag ook in kleine hoeveelheden van het te onderzoeken water aan te toonen,

4. *dat men van de aanwezigheid van de Dysenterie-bacteriophaga gebruik kan maken, om er een faecale verontreiniging mee aan te toonen,*
5. *dat de bacteriophaga-methode betrouwbaar en dus voor de praktijk geschikt is voor de hygiënische beoordeeling van drinkwater.*

De bacteriophaga-methode voor wateronderzoek verkeert nu nog in een experimenteel stadium en heeft nog geen praktische toepassing gevonden; het blijft de moeite waard, om na te gaan, of zij naast de bestaande bacteriologische methoden kan worden aangewend, om er een faecale verontreiniging mee vast te stellen en wat of hiervan dan de beteekenis kan zijn.

HOOFDSTUK VI

De beteekenis van den bacteriophage voor de zelfreiniging van oppervlaktewater en voor de waterzuivering door zandfilters.

Door de z.g. *zelfreiniging*, die veroorzaakt wordt door verschillende factoren, z.a. verdunning, mechanische verdeeling, neerslagvorming, zonlichtwerking en biologische processen, verdwijnen langzamerhand de in verontreinigd oppervlaktewater opgeloste organische en anorganische stoffen, de zwevende anorganische partikeltjes en de aanwezige levende bacteriën.

Reeds in 1904 hebben Emmerich en Gemund het belangrijke feit aangetoond, dat de vernietiging der bacteriën door flagellaten geschiedt en later hebben ze bewezen, dat behalve flagellaten ook amoeben en ciliaten daarbij van belang zijn [Emmerich en Gemund (1904)].

Ook Flu's proeven, in 1914 in Nederlandsch-Indië verricht met het water uit de Tjiliwoeng en de Kroekoetrivier, hebben het bewijs geleverd, dat de protozoa bij de zelfreiniging een belangrijk aandeel hebben [Flu (1914)].

Schönwerth heeft bij onderzoekingen naar de uitbreiding van „kippencholera” door bronwater een toename der Crustaceeën bij een afname der bacteriën geconstateerd; ook uit de interessante proefnemingen van Hörhammer, die de vernietigende werking van 3 soorten Crustaceeën, n.l. de *Cyclops strenuus*, de *Canthocamptus minutus* en de *Cypris fasciata*, op bacteriën naging, is gebleken, dat de crustaceeën in het water gebrachte typhusbacteriën en choleravibrionen opeten [Hörhammer (1911)].

Kruse is van meening, dat behalve de protozoën ook de waterbacteriën verantwoordelijk zijn voor de verdwijning der niet in het water thuis hoorende microben [Kruse (1908)].

Stokvis en Swellengrebel (1911) hebben geconstateerd, dat *Colpoda cucullus* en *Boda ovatus* in staat zijn, om typhusbacteriën en choleravibrionen binnen een paar dagen geheel te vernietigen.

Stokvis, Kisskalt en Müller hebben onafhankelijk van elkaar aangetoond, dat KCN in een bepaalde concentratie de protozoa doodt, terwijl de bacteriën in leven blijven; doordat KCN de protozoën onderdrukt en niet op de bacteriën werkt, heeft men hierdoor kunnen aantonen, dat het inderdaad de

protozoën zijn, die de bacteriën opruimen [Stokvis (1909), Kiskalt (1915), Müller (1912)].

Betreffende het gedrag van Paratyphus-B-bacteriën heeft de Graaff in 1920 proeven genomen en geconstateerd, dat deze aan de Coli-bacteriën nauw verwante, dus meer saprophytisch levende organismen, gedurende langeren tijd dan typhus-bacteriën buiten het dierlijk lichaam kunnen blijven leven. In zuiver en steriel water gebracht, kunnen ze na drie maanden er nog uit gekweekt worden en pas na 5 maanden zijn ze alle verdwenen [de Graaff (1920)].

Na de ontdekking van den bacteriophage waren er spoedig onderzoekers, die nagingen, welke beteekenis dit lytische principe voor de zelfreiniging van oppervlaktewater heeft.

Reeds d'Hérelle zelf heeft er beteekenis aan toegekend.

In 1923 hebben Arloing en Sempé in de Seine, de Saône en de Deule, rivieren met een sterke faecale verontreiniging, veel en in zeewater geen bacteriophage gevonden; ze achten het waarschijnlijk, dat de bacteriophage aan de zelfreiniging aandeel heeft [Arloing et Sempé (1923)].

In 1926 onderzocht Bilouet het water van de Deule, een rivier, die door de stad Lille stroomt; de concentratie van de phage steeg bij zware regenval, dus bij een vermeerdering van de verontreiniging; ook deze Fransche onderzoeker is van meening, dat de bacteriophage bij de zelfreiniging een actieve functie heeft.

De Italiaansche bacterioloog Tatunato, die in de lagunen van Venetië en in de haven van Messina Coli- en Dysenteriephage heeft aangetoond, is ook van opinie, dat bij de zelfreiniging de bacteriophage de bacteriën helpt vernietigen.

Ook Bujanowski deed in 1929 proeven, om na te gaan, welk aandeel de bacteriophage bij de zelfreiniging heeft [Bujanowski (1929)]. In gefiltreerd Donwater, dat dus bacteriophage bevatte, bleken bacteriën, die erin gebracht werden, na 2 à 3 weken niet meer aantoonbaar te zijn; was het water echter gesteriliseerd, dus bacteriophagevrij, dan konden bacteriën er 6 maanden in blijven leven. Bujanowski schrijft de bacteriolytische werking van het gefiltreerde Donwater toe aan de aanwezigheid van bacteriophagen.

In 1930 hebben Beckwith en Rose de beteekenis nagegaan van bacteriophagen voor de zelfreiniging van rioolwater, dat dus veel darmbacteriën bevat [Beckwith and Rose (1930)]. Bij deze proefnemingen hebben ze het volgende waargenomen:

1. De bacteriophagen in riolen zijn effectief tegenover veel bacteriën in het rioolwater zelf.
2. De aanwezigheid van bacteriophagen varieert met de

seizoenscondities, na den regenval neemt de hoeveelheid toe, bij droog weer neemt ze af.

3. Veel bacteriophagen zijn resistent tegenover chloor, dat gebruikt wordt voor de desinfectie van rioolwater.
4. Hoewel de condities in de riolen niet optimaal zijn voor de vermeerdering en aanpassing van bacteriophagen, schijnen de aanwezige bacteriophagen effectief te werken, niet alleen tegen de groei der rioolbacteriën doch ook tegenover de erin gebrachte darmbacteriën.

Schuurman deed in 1936 op Batavia onderzoekingen met Tjiliwoengwater op de aanwezigheid van Typhusbacteriophagen; hij kwam hierbij tot de conclusie, dat de rivierphagen een zelfreinigingsmechanisme vormen van des te hooger efficientie, naarmate de faecale verontreiniging sterker is. [Schuurman (1936)].

Flu heeft in 1926 proeven genomen, om de bewering van d'Hérelle, dat de bacteriophag bij de zelfreiniging een factor zou zijn, te testen; hierbij constateerde hij, dat uit water, dat alleen Shiga-bacteriophag bevatte, erin gebrachte Shiga- en Typhusbacteriën in denzelfden tijd verdwenen. Ook bleek bij zijn proeven, dat er na het verdwijnen van Shiga-bacteriën geen stijging van de phaagtiter kon worden aangetoond. Uit deze proefnemingen trekt Flu de conclusie, dat de bacteriophag bij de zelfreiniging slechts een onbelangrijke rol speelt.

In 1941 deed hij weer proefnemingen, om te bewijzen, dat bacteriophagen bij de zelfreiniging van oppervlaktewater geen actieve rol spelen [Flu (1941)]. Bij deze proeven, verricht met Rijnwater te Leiden (Galgenwater), waarin protozoën en Shiga-phag voorkwamen en geen Typhus- en Choleraphag, werd de phaagwerking tegenover het Bact.Shiga, de E.Typhi en de V.Cholera nagegaan met en zonder toevoeging van een voor de protozoa doodelijke hoeveelheid KCN. Dezelfde proeven werden genomen zonder toevoeging van KCN, doch inplaats daarvan werden de watermonsters gedurende 2 uur bij 52° C verwarmd, een temperatuur, waarbij de protozoa worden gedood, doch waarbij de bacteriophagen hun activiteit niet verliezen.

De resultaten van deze experimenten waren van dien aard, dat Flu daaruit geen andere conclusie heeft kunnen trekken, dan dat de bacteriophagen bij de zelfreiniging van water geen actieve rol spelen.

Een der methoden, om oppervlaktewater te zuiveren, is de filtratie door middel van langzame zandfilters, een methode, die in 1829 door den Engelschman Simpson voor het eerst werd toegepast. Het filtratieproces in een zandfilter is niet alleen een mechanische functie der tusschen de zandkorrels gevormde

capillairen, die de bacteriën tegenhouden, doch het is, zooals Van Harting in 1874, Piefke in 1887 en andere onderzoekers hebben aangetoond, in hoofdzaak een biologische reiniging. In de oppervlakkige zandlagen ontwikkelt zich een filtervlies, bestaande uit algen, die bij hun ademhaling zuurstof leveren, waardoor de organische stoffen worden geoxydeerd en ontleed en protozoën kunnen blijven leven; het zijn deze protozoa, die zich van de bacteriën meester maken en zodoende het water reinigen.

In 1889 hebben Fränkel en Piefke proeven genomen, om de werking van zandfilters na te gaan; ze gebruikten 2 zandfiltermodellen, één met een filtratiesnelheid van 300 mm en het andere met een filtratiesnelheid van 100 mm per uur en gingen hun werking na t.o.z. van Bact. Violaceus, E. Typhi en V. Cholera. Deze proeven hebben geleid tot de volgende conclusies:

1. Het water, dat een zandfilter heeft doorlopen, is niet kiemvrij; noch de gewone waterbacteriën, noch typhusbacteriën en cholera-vibrionen worden er met zekerheid door tegengehouden.
2. Het aantal microorganismen in het filtraat is afhankelijk van het aantal kiemen in het ongefiltreerde water en van de filtratiesnelheid [Fränkel und Piefke (1889)].

Flu heeft in 1922 proefnemingen gedaan met langzaam filterende zandfilters en heeft uit de resultaten de volgende conclusies getrokken:

1. Het zandfilter is, ook indien het niet door direct zonlicht wordt beschenen, in staat, cholera-vibrionen tegen te houden.
2. Prodigiosus- en typhusbacteriën passeeren wel de zandfilters.
3. Door de zon beschenen zandfilters werken beter [Flu (1922)].

In Antonie van Leeuwenhoek 7. 1940/1941 verscheen van de hand van Folp m e r s een verhandeling over het verdwijnen van colibacteriën en faecale streptococcen als het resultaat van de werking van langzame zandfilters in verschillende jaargetijden. Folp m e r s is tot de volgende conclusies gekomen:

1. Zoowel in voorgefiltreerd water als in water, dat de langzame zandfilters heeft gepasseerd, stijgt het aantal Bact. Coli- en faecale streptococcen bij lage temperatuur (2° — 3° C).
2. De streptococcen verschijnen in het door de langzame zandfilters gefiltreerde water later in het jaar dan het Bact. Coli en zoodra het ijs in de filters is gesmolten, verdwijnen ze veel eerder dan het Bact. Coli.

3. Kleine hoeveelheden van door langzame zandfilters gefiltreerd water (5 cc) bevatten streptococcen alleen gedurende perioden van heel sterke vorst, wanneer de temperatuur van het water daalt tot beneden 0° C.
4. In voorgefiltreerd en in door zandfilters gefiltreerd water komen de streptococcen in een kleiner aantal voor dan het Bact.Coli.

Bij de zelfreinigingsproeven van Nakashima is gebleken, dat de zandfilters de bacteriophagen doorlaten en dat de werking der bacteriophagenlysinen na passeering der zandfilters onverminderd in kracht blijft [Nakashima (1925)].

Nick is de meening toegedaan, dat mechanische zuivering en biologische reiniging geen invloed hebben op de phaagwerking doch dat chloor, dat voor de waterzuivering zoo veel wordt gebruikt, de bacteriophagen wel vernietigt [Nick (1936)].

HOOFDSTUK VII

Eigen Onderzoek.

We zagen, dat de ontwikkelingsgeschiedenis der methoden voor het wateronderzoek ons leert, dat geen enkel van de bekende methoden afzonderlijk ons in staat stelt, om met 100 % zekerheid een faecale verontreiniging vast te stellen.

Slechts ingeval men de menschelijke of dierlijke ontlasting met het bloote oog in het water ziet rondrijven, heeft men het onomstootelijke bewijs, dat dit water verontreinigd is en dat de verontreiniging zeer versch is.

Al heel spoedig vallen de faecaliën echter uiteen, de organische en anorganische bestanddeelen worden grootendeels door het water opgelost en slechts onoplosbare fijnere en grovere partikeltjes en faecale bacteriën blijven voor korteren of langeren tijd in het water zweven.

Met het ongewapende oog is het dan niet meer mogelijk, om de aanwezigheid van faecaliën te constateeren, evenmin kunnen onze andere zintuigen, zooals het reuk- en het smaakorgaan, ons dan van dienst zijn.

Het gebruik van verschillende instrumenten, zooals de thermometer voor de bepaling van de temperatuur, de toepassing van verschillende methoden van Hazen en Whipple voor de bepaling van de troebelheid en van de intensiteit van de kleur van het water, de nauwkeurige bepalingen van de reuk, zooals de Amerikanen dat voorschrijven, zijn alle slechts ruwe hulpmiddelen, om de physische eigenschappen van het te onderzoeken water vast te stellen en daarmee de reinheidsgraad te bepalen.

Het scheikundige onderzoek, zooals de bepaling van het vrije, niet gebonden koolzuur, van opgeloste nitrieten, van ammoniak enz. geeft zonder twijfel zeer waardevolle gegevens betreffende de hoedanigheden van het water, doch levert ons niet voldoende zekerheid voor de beoordeeling, of het al of niet geschikt is voor het gebruik.

De verschillende bacteriologische methoden verstrekken ons nauwkeuriger en betrouwbaarder gegevens omtrent de hygienische toestand van het te onderzoeken water; de aanwezigheid van minder dan 100 kiemen per cc bijv. geeft ons eenige garantie, dat het water betrouwbaar is, doch omtrent de faecale verontreiniging zelf zegt ze niet veel. Alleen het aantoonen van in normale ontlasting voorkomende bacteriën geeft ons een

direct bewijs, dat het water met faecaliën in contact is geweest; het feit echter, dat deze faecale bacteriën zoo moeilijk zijn te onderscheiden van hun soortgenooten, die in de vrije natuur voorkomen, geeft ons veel moeilijkheden.

Hoewel men op verschillende manieren getracht heeft, om de normale darmbewoners van menschen en warmbloedige dieren, zooals de colibacteriën, te kunnen onderscheiden van de coliachtige bacteriën uit de vrije natuur, is men hierin toch nog niet volkomen geslaagd en alleen het rijkelijk aanwezig zijn van bacteriën van de coligroep heeft eenige beteekenis; wanneer ze in een hoeveelheid van 10 cc of minder van het te onderzoeken water voorkomen, wordt dit water afgekeurd.

Ook de streptococcon kunnen zoowel vanuit den menschelijken darm als van buiten afkomstig zijn; de aanwezigheid van streptococcon alleen zonder andere gegevens kan ook moeilijk beteekenen, dat er een faecale verontreiniging in het spel is.

Dezelfde moeilijkheden hebben wij bij de aantooning van de in normale ontlasting eveneens veel voorkomende *B. enteritidis sporogenes* van Klein.

Al deze methoden hebben dan ook op zich zelf slechts een relatieve waarde en *alleen gecombineerd* hebben ze groote beteekenis voor de beoordeeling van de reinheid van het water.

Daarnaast mogen wij echter niet vergeten, om gegevens te verzamelen omtrent de plaatselijke toestand van de waterbron, de wijze, waarop het water wordt verkregen, het materiaal, dat voor het watervervoer wordt gebruikt en de hygiënische toestand van het gebruiksmateriaal bij de consumptie zelf, z.a. glazen, vaatwerk enz.

Bij mijn beoordeeling van de resultaten van de door mij verrichte proefnemingen ga ik uit van de premisse, dat geen enkele bestaande methode voor wateronderzoek ideaal is, dat van de bacteriologische methoden de Coliproef het meest wordt toegepast en dat van deze Coli-methoden de proef van E y k m a n in Nederland en in Nederlandsch-Indië een der belangrijkste plaatsen inneemt, terwijl de methode van C l e m e s h a voor het vaststellen van een faecale verontreiniging zeer goed te gebruiken is. (Zie hoofdstukken II en III).

Na de ontdekking van den bacteriophag heeft men spoedig waargenomen, dat er in de ontlasting van gezonde menschen en warmbloedige dieren verschillende bacteriophagen voorkomen en dat de lytische werking dezer phagen in de meeste gevallen gericht is tegen het *Bact. Coli* en het *Bact. Dysenterie*. De bacteriophagen komen tezamen met de faecaliën en de darmbacteriën in het water en kunnen zich, evenals de bacteriën, daarin voor eenigen tijd staande houden, zoodat ze in verontreinigd water

aangetoond kunnen worden. Uit de aanwezigheid van meer of minder bacteriophagen in oppervlaktewater kan men een oordeel vormen over zijn gehalte aan faecale verontreiniging.

In het water geraakt, worden de bacteriophagen sterk verdund; de Coli- en de Shiga-bacteriophagen, die het meest in de ontlasting voorkomen, kunnen uit het verontreinigde water het gemakkelijkst geïsoleerd worden.

Vooraf door de invoering van de „Anreicherungs-methode” door Nyberg in 1931 (zie Hoofdstuk V, blz. 49) wordt het aantoonen van bacteriophagen in water ten zeerste gemakkelijk.

Hoewel in normale ontlasting de Coliphaag vaker voorkomt dan de Dysenterie-bacteriophaga, blijken volgens verschillende onderzoekers bacteriophagarme waters voornamelijk of uitsluitend Dysenteriephaag te bevatten en onder deze speciaal tegen Shiga-bacteriën. Bovendien leent het Bact. Coli zich niet voor een volledige of zelfs maar gedeeltelijke lysis door bacteriolytische vloeistoffen; daarbij komt nog, dat de aard der voorkomende Coliphagen zeer veranderlijk is: terwijl de lytische werking tegen de eene Colistam sterk is, is ze tegenover andere Coli's slechts zwak.

Om bovengenoemde redenen komt het mij voor, dat, hoewel men het er nog niet met elkaar over eens is, welke bacteriesoorten voor de praktische toepassing der bacteriophaga-methode voor het hygiënisch wateronderzoek het meest geschikt zijn, het gebruik van Dysenterie-stammen en hiervan speciaal de Shiga-bacteriën daarvoor het meest in aanmerking komt.

De door mij verrichte proeven zijn dan ook in de eerste plaats bedoeld, om te onderzoeken, of de Shigaphaga-methode voor het hygiënisch wateronderzoek betrouwbaar en eenvoudig is en dus naast de bestaande bacteriologische methoden aangewend zou kunnen worden, om er een faecale verontreiniging van water mee aan te toonen.

Daarvoor werden door mij watermonsters van verschillende oorsprong gelijktijdig volgens de Eykman-, de Clemesha- en de Shigaphaga-methode onderzocht en werden de resultaten met elkaar vergeleken.

Met deze drie methoden werden ook watermonsters, afkomstig van de drinkwaterinstallatie van Rotterdam onderzocht, om na te gaan, hoe de aanwezige Coli-bacteriën (glucose- en lactosevergisters) en de Shigabacteriophaga zich in de verschillende stadia van zuivering gedragen.

Verder werden zelfreinigingsproeven genomen met watermonsters uit verschillende grachten van Leiden, eveneens met gebruikmaking der drie bovengenoemde methoden.

Tenslotte werden van een aantal gezonde en zieke personen

van beide geslachten, van verschillende leeftijden en van verschillende landaard de ontlasting op de aanwezigheid van Shiga-bacteriophag onderzocht.

Voor de proef van Eykman werd voor de kleinere hoeveelheden water gebruikt een verdunde Eykman-oplossing, welke bestaat uit 1% glucose, 1% pepton en $\frac{1}{2}$ % keukenzout; voor de grotere hoeveelheden gebruikte ik de geconcentreerde Eykman-vloeistof, bestaande uit 10% glucose, 10% pepton en 5% keukenzout, die in een zoodanige hoeveelheid werd bijgevoegd, dat er een voedingsmilieu werd verkregen, bevattende ongeveer 1% glucose, 1% pepton en $\frac{1}{2}$ % keukenzout.

Er werd steeds gewerkt met pepton „Witte”.

Voor de proef van Clemesha werden gebruikt glucose- en lactosepeptonwater van dezelfde concentratie als voor het onderzoek volgens Eykman.

Voor het bacteriophagonderzoek werd met de gewone bacteriologische bouillon met een pH van 7,6 gewerkt.

De onderzoekingen volgens Eykman en volgens Clemesha werden voor de kleinere hoeveelheden water verricht met gewone reageerbuisjes met een Durham-gasbuisje erin, voor de grotere hoeveelheden werden Einhorn-vergistingsbuisjes en voor de nog grotere kwanta Eykman-vergistingsbuizen gebruikt.

Voor het bacteriophagonderzoek werd voor de kleine hoeveelheden gebruik gemaakt van gewone bouillonbuisjes en voor de grotere van gewone flesschen met meer voedingsbouillon erin.

Terwijl voor de proef volgens Eykman de vergistingsbuizen in een broedstoof van 45° C werden geplaatst, kwamen de vergistingsbuizen voor de Clemesha-proef en de bouillonbuisjes en flesschen voor het bacteriophagonderzoek gedurende 24 uur in een broedstoof van 37° C.

Voor de ophooping der bacteriophagen uit het water paste ik toe de „Anreicherungsverfahren von Nyberg” (zie blz. 49), een methode, die ook door andere onderzoekers, zooals Schloszmann, von Vagedes en Gildemeister wordt aanbevolen.

Voor deze Anreicherung maakte ik slechts van één Shiga-stam gebruik, n.l. Shiga-stam 17, welke bij een vooronderzoek van eenige dysenteriestammen bleek het beste lyseerbaar te zijn door met zekerheid verontreinigd water uit een der grachten van Leiden.

Met dezelfde stam werd ook de bacteriophagwerking der filtraten van de water-bouillon-Shiga-suspensies nagegaan en

wel volgens de bouillonmethode van „Appelmans-Bergstrand”.

De filtratie der suspensies geschiedde eerst door steriel met infusoriënaarde doordrengd filtreerpapier en daarna door een Chamberland-filterkaars L 3.

Ook voor het onderzoek der faecaliën op de aanwezigheid van bacteriophage werd in den eersten tijd slechts van Shiga-stam 17 gebruik gemaakt. Toen het later bleek, dat er van de 65 ontlastingen slechts 2 een positief resultaat gaven, werd er een tweede lysosensibele Shigastam bij genomen, n.l. Shiga 151. De resultaten werden gunstiger en gedachtig aan de uitspraak van Gildemeister, dat hoe grooter het aantal te gebruiken geschikte culturen, met des te grooter zekerheid de bacteriophagen aangetoond kunnen worden, werd daarna met nog twee andere lysosensibele Shigastammen gewerkt, zoodat bij de laatste faeces-onderzoekingen de phaagwerking tegenover 4 verschillende Shigastammen werd nagegaan.

I.

Onderzoek van watermonsters van verschillende oorsprong.

Onderzocht werden watermonsters uit:

- A. 9 grachten en 1 rivier, die zeker verontreinigd water bevatten,
- B. 6 waterleidingen met betrouwbaar water,
- C. 24 Nortonputten, die tevens werden onderzocht op hun geschiktheid, betrouwbaar drinkwater te verschaffen.

A.

Negen verschillende grachten van de stad Leiden, n.l. Rapenburggracht, Doelengracht, Galgenwater, Rijn en Schiekade, Middelstegracht, Uiterstegracht, Oranjegracht, Heerengracht en Langegracht en de Rijn bij Leiderdorp werden voor het onderzoek uitgekozen.

Al deze grachten stroomden door bewoonde stadsgedeelten, terwijl uit de Rijn een watermonster werd genomen op een plaats met veel huizen aan den kant en met veel rivierschepen op het water. Al het rioolwater van de stad wordt in de grachten geloosd, zoodat het grachtwater zeer sterk met faecaliën verontreinigd moet zijn; ook het Rijnwater is op de plaats van monsternamen behoorlijk verontreinigd. Door de langzame stroom van het water, dat op verschillende plaatsen een welige algengroei aan de oppervlakte vertoont, wordt de verontreiniging niet al te snel afgevoerd.

Dit onderzoek werd verricht gedurende de maanden October-November 1941.

Voor het onderzoek van deze verontreinigde watersoorten werden voor alle drie de proeven (volgens de Eykman-, de Clemesha- en de Shigaphaag-methode) hoeveelheden van 1, 0.1, 0.01, 0.001 en 0.0001 cc onderzocht. Voor het verkrijgen van hoeveelheden, minder dan 1 cc werden van het water telkens tienvoudige verdunningen gemaakt met physiologische keukenzoutoplossing.

De uitslagen van deze onderzoekingen zien we in tabel I vermeld (zie blz. 69).

Deze tabel toont ons het volgende:

- a. Van de 10 watermonsters vertoonen er een positieve Eykman-reactie:

3	tot een verdunning van	10^{-1}	(Nos. 4, 5, 10)
2	" "	" "	10^{-2} (Nos. 8, 9)
4	" "	" "	10^{-3} (Nos. 1, 3, 6, 7)
1	" "	" "	10^{-4} (No. 2)

Alle 10 onderzochte watermonsters blijken dus tot in hooge verdunningen glucose bij 45° C te vergisten, zonder uitzondering bevatten ze thermotolerante glucosevergisters in een hoeveelheid minder dan 10 cc; volgens de tegenwoordig geldende opvattingen is de kwaliteit van al deze grachtwaters slecht.

Van de monsters is er slechts één, dat een positieve Eykman geeft (tot een titer van 10^{-4} (No. 2), dit water is dus bijzonder sterk verontreinigd; de 9 andere geven een positieve reactie tot in verdunningen, die variëren van 10^{-1} tot 10^{-3} en zijn dus eveneens vrij sterk verontreinigd.

Uit deze resultaten zien wij, dat van de grachten van Leiden, waarin al het rioolwater van de stad wordt geloosd en welke dus sterk verontreinigd moeten zijn, met de Eykman-methode gemakkelijk bewezen kan worden, dat het water inderdaad sterk met faecaliën besmet is.

- b. Het onderzoek volgens Clemesha laat ons het volgende zien:

Van de 10 watermonsters vergisten er:

1	zoowel glucose als lactose bij een verdunning van	10^{-1}	(No. 9)
1	" " " " " " " "	" "	10^{-2} (No. 5)
2	" " " " " " " "	" "	10^{-3} (Nos. 3, 7)
2	gluc. bij een verd. v. 10^{-3} en lactose bij een verd. v.	10^{-2}	(Nos. 4, 8)
2	" " " " " " " "	10^{-4}	" " " " " " " " 10^{-3} (Nos. 2, 10)
1	" " " " " " " "	10^{-2}	" " " " " " " " 10^{-3} (No. 6)
1	" " " " " " " "	10^{-3}	" " " " " " " " 10^{-4} (No. 1)

Tabel I.

g = gasvorming.
gl. = glucose.
lc. = lactose.

+ = duidelijke opheldering, dus Shigaphaag aanwezig.
- = geen gasvorming.
- = geen opheldering, dus geen Shigaphaag aanwezig.

Datum van onderzoek	No.	Water afkomstig uit:	Eykmanmeth.	Clemeshameth.	Shigaphaagmeth. volgens Nyberg
27/10	1	Rapenburggracht	1000'0 100'0 10'0 1'0 1	1000'0 100'0 10'0 1'0 1	1000'0 100'0 10'0 1'0 1
"	2	Doelengracht	gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc.	gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc.	gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc.
28/10	3	Galgewater	gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc.	gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc.	gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc.
"	4	Rijn en Schiekade	gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc.	gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc.	gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc.
29/10	5	Middelste gracht	gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc.	gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc.	gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc.
"	6	Uiterste gracht	gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc.	gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc.	gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc.
30/10	7	Oranje gracht	gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc.	gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc.	gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc.
"	8	Heerengracht	gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc.	gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc.	gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc.
2/11	9	Lange gracht	gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc.	gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc.	gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc.
"	10	Rijn	gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc.	gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc.	gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc. gl. lc.

Het onderzoek naar de aanwezigheid van glucose- en lactosevergisters bij 37° C toont aan, dat alle 10 watermonsters deze bacteriën tot in sterke verdunningen bevatten, verdunningen, welke varieeren van 10^{-1} tot 10^{-4} .

In 4 gevallen liggen de glucose- en lactosetiters even hoog (Nos. 3, 5, 7, 9), bij de 6 andere monsters liggen ze vlak bij elkaar (Nos. 1, 2, 4, 6, 8, 10); hiervan zijn er 4 Nos. 2, 4, 8, 10), waarbij de glucosetiter hooger is dan de lactosetiter, terwijl bij 2 (Nos. 1, 6) de glucose-titer lager is dan de titer voor de lactose.

*Dus ook met de Clemesha-methode kan duidelijk be-
wezen worden, dat de grachtwaters en het water van de
Rijn bij Leiderdorp sterk verontreinigd zijn met faecaliën.*

*Bovendien blijkt uit het feit, dat de glucose- en lactose-
titers (lijnen) even hoog of bijna even hoog zijn, dat de
verontreiniging van heel recenten datum is.*

Deze uitslag was van te voren wel te verwachten, immers den heelen dag door stroomt het rioolwater in de grachten en in de Rijn en blijft de faecale verontreiniging dus op elk tijdstip steeds even versch.

- c. Vergelijken wij nu de uitkomsten van de Eykman- en de Clemesha-proef, wat betreft de glucosevergisting, met elkaar, dan zien wij het volgende:

In 4 gevallen is de glucosetiter bij 45° C even hoog als die bij 37° C (Nos. 1, 2, 3, 7),

In 2 gevallen is de glucosetiter bij 45° C iets hooger dan die bij 37° C (Nos. 6, 9),

In 4 gevallen is de glucosetiter bij 45° C iets lager dan die bij 37° C (Nos. 4, 5, 8, 10).

De glucosetiters (lijnen) bij 45° C en 37° C zijn dus even hoog of bijna even hoog. *Beoordeelen wij de recentheid van de verontreiniging volgens het principe van Flu, dan blijkt ook uit deze vergelijking der resultaten, dat de verontreiniging der grachten en van de Rijn van heel verschen datum is.*

- d. Laten wij nu de uitkomsten van het Shigaphaag-onderzoek in beschouwing nemen.

Van de 10 watermonsters vertoonen er 10 een lytische werking tegen Shigabacteriën:

2 tot een hoeveelheid van 1 cc (Nos. 5,9)

5 " " verdunning " 10^{-1} (Nos. 3, 4, 6, 8, 10)

3 " " " " 10^{-2} (Nos. 1, 2, 7).

In hogere verdunningen hebben wij geen bacteriophagewerking kunnen aantoonen.

Wij zien hieruit, dat alle 10 watermonsters tot in tamelijk hooge verdunningen een positieve Shigaphaag-reactie vertoonen; de Shigaphaag is aan te toonen tot in hoeveelheden, welke varieeren van 1 cc tot 0,01 cc (verdunning van 10^{-2}).

Vergelijken wij de resultaten van de bepaling der Shigaphaag-titer met de uitkomsten van het onderzoek volgens E y k m a n, dan constateeren wij:

- 1e. dat alle watermonsters zoowel een positieve E y k m a n- als een positieve Shigaphaagreactie vertoonen,
- 2e. dat in 2 gevallen de E y k m a n- en de Shigaphaagtiter even hoog zijn (nos. 4, 10),
- 3e. dat in 4 gevallen de E y k m a n-reactie 1 verdunning sterker positief is dan de Shigaphaag-reactie (nos. 1, 5, 7, 8),
- 4e. dat in 4 gevallen de E y k m a n-reactie 2 verdunningen sterker positief is dan de Shigaphaagproef (nos. 2, 3, 6, 9).

Uit de resultaten dezer onderzoekingen kunnen wij de eindconclusie trekken, dat de Shigaphaagmethode, hoewel zij iets minder gevoelig is dan de methode van E y k m a n, toch nauwkeurig genoeg is, om er een faecale verontreiniging van oppervlaktewater mee aan te toonen.

B.

Na het onderzoek van grachten met verontreinigd water werden watermonsters genomen uit waterleidingen van Leiden, den Haag, Amsterdam, Delft, Rotterdam en Utrecht. Terwijl in de eene stad het leidingwater uit de duinen wordt gehaald, wordt in een andere gemeente gezuiverd rivierwater gedronken. Door meer of minder intensieve zuivering en reiniging is het water voor de consumptie en voor andere doeleinden geschikt gemaakt. De hygiënische diensten zorgen ervoor, dat het gebruikswater geregeld wordt gecontroleerd op zijn deugdelijkheid, het leidingwater is dus zonder eenige twijfel hygiënisch betrouwbaar.

Het is dan ook gebleken, dat alle 6 watermonsters, zoowel met de E y k m a n- als met de C l e m e s h a- en met de Shigaphaagmethode negatieve uitkomsten geven tot hoeveelheden van 100 cc (zie hieronder tabel II, blz. 72).

Tabel II.

Datum van onderzoek	No.	Water afkomstig v/d waterleiding van :	Eykmanmethode	Clemeshamethode	Shigaphaagmethode volgens Nyberg
10/11	1	Leiden	100 cc 50 cc 25 cc 10 cc 5 cc 1 cc	100 cc 50 cc 25 cc 10 cc 5 cc 1 cc	100 cc 50 cc 25 cc 10 cc 5 cc 1 cc
12/11	2	Den Haag	—	gl. lc.	—
17/11	3	Amsterdam	—	gl. lc.	—
19/11	4	Delft	—	gl. lc.	—
25/11	5	Rotterdam	—	gl. lc.	—
5/12	6	Utrecht	—	gl. lc.	—

C.

De Shigaphaag-methode heb ik naast de methoden van Eykman en van Clemesha in de praktijk toegepast voor het onderzoek van 24 Nortonputten.

Toen men 2 jaar geleden voor de mogelijkheid werd geplaatst, dat men de drinkwaterinstallatie van Leiden tengevolge van een beschadiging door oorlogsgeweld niet zou kunnen gebruiken, keek men uit naar andere waterbronnen, die in geval van nood als waterleverancier gebruikt zouden kunnen worden.

Een 25-tal Norton- en 5 gewone welputten, in verschillende gedeelten van de stad gelegen, in gebruik bij wasscherijen, fabrieken en melkerijen en sommige buiten werking, zouden daarvoor in aanmerking kunnen komen en werden destijds op hun hygiënische geschiktheid nagekeken.

Nagegaan werden: de diepte van de boring, de capaciteit van de bron, kleur, geur, smaak en helderheid van het water en verder werden ook chemische onderzoekingen verricht op de aanwezigheid van ammoniak, nitrieten en chloor, terwijl het bacteriologisch onderzoek geschiedde volgens de Eykman- en de Mac Conkey-methode met hoeveelheden van 10 cc.

Het resultaat van deze onderzoekingen was van dien aard, dat van de 30 onderzochte putten er 14 als betrouwbaar werden aangemerkt, terwijl de andere 16 werden afgekeurd. Van deze 16 werden 5 ondiepe, dus gewoon zakwater bevattende, welputten met bovendien weinig capaciteit, zonder verder onderzoek direct ongeschikt verklaard; de afkeuring der 11 andere putten geschiedde op grond van de verkregen minder gunstige resultaten.

De 14 goedgekeurde putten zouden met een totale capaciteit van 1400 M³ per dag, in geval van nood de inwoners van de stad Leiden voldoende drinkwater kunnen leveren.

Deze putten zijn:

No.	1.	capaciteit	24 m ³	per uur.
"	2.	"	10	" " "
"	3.	"	5	" " "
"	4.	"	5	" " "
"	5.	"	10	" " "
"	6.	"	30	" " "
"	7.	"	?	" " "
"	8.	"	?	" " "
"	9.	"	?	" " "
"	10.	"	7	" " "
"	11.	"	2	" " "
"	12.	"	60	" " "
"	13.	"	15	" " "
"	14.	"	10	" " "

Totale capaciteit 178 m³ per uur.

Met 8 uur pompen per dag hebben de 14 putten een dagelijksche capaciteit van 1400 m³.

Verschillende van de toen onderzochte Nortonputten zijn nu reeds buiten werking gesteld, andere, toen niet gebruikte, zijn nu in gebruik genomen en zodoende heb ik voor mijn doel in totaal slechts 24 putten onderzocht. Bij één put werd het onderzoek herhaald, zoodat dus 25 onderzoekingen zijn verricht met de Eykman-, de Clemesha- en de Shiga-phaagmethode. Tabel III (pag. 76—77) geeft het resultaat van deze onderzoekingen weer.

Uit genoemde tabel III zien wij, dat de watermonsters uit de Nortonputten werden onderzocht in hoeveelheden van 100, 50, 25, 10, 5 en 1 cc; bleken er in 1 cc Colibacteriën of Shiga-phaag voor te komen, dan werden ook kleinere hoeveelheden nagekeken, n.l. 0,1, 0,01 cc enz. Hiervoor werden met physiologische keukenzoutoplossing tienvoudige verdunningen van telkens 1 cc gemaakt en van deze verdunningen werden hoeveelheden van 1 cc onderzocht.

Van de 24 watermonsters zijn er:

- 19 (Nos. 2, 4, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 en 25) tot in een hoeveelheid van 100 cc Coli- en bacteriophagvrij;
- 1 (No. 7) vergist glucose bij 37° C in een hoeveelheid van 100 cc, de Eykman- en de Shigaphaagproef geven tot 100 cc negatieve resultaten;
- 1 (No. 5) vergist glucose bij 37° C in een hoeveelheid van 25 cc, de Eykman- en de Shigaphaagproef geven tot 100 cc negatieve resultaten;
- 1 (No. 13) vergist glucose en lactose bij 37° C, beide tot in een hoeveelheid van 25 cc, de Eykman- en de Shigaphaagproef geven tot 100 cc negatieve resultaten;
- 1 (No. 3) geeft een positieve Eykman tot in een hoeveelheid van 5 cc, vergist glucose bij 37° C tot in een hoeveelheid van 1 cc en lactose tot in een hoeveelheid van 10 cc en bevat Shigabacteriophag tot in een hoeveelheid van 25 cc;
- 1 (No. 1) geeft een positieve Eykman tot in een hoeveelheid van 0,1 cc, vergist glucose bij 37° C tot in een hoeveelheid van 0,001 cc en lactose tot in een hoeveelheid van 0,1 cc en bevat Shigabacteriophag tot in een hoeveelheid van 0,1 cc.

Volgens de resultaten van dit onderzoek zijn er dus 19 putten betrouwbaar; voor een juiste hygiënische beoordeeling van een waterbron is één onderzoek natuurlijk niet voldoende, daar-

voor zou het water nog eenige keeren onderzocht moeten worden, tenzij het eenmaal onbetrouwbaar wordt bevonden.

Ook de resultaten van het onderzoek van waterputten Nos. 5, 7 en 13 zijn bevredigend, immers de Eykman- en de Shigaphaagproef zijn tot in een hoeveelheid van 100 cc negatief uitgevallen, terwijl de vergisting van glucose en lactose bij 37° C tot in een kwantum van 100 of 25 cc nog geen reden is, om het water af te keuren; ook hier dient het onderzoek natuurlijk nog herhaald te worden, voordat men een positief oordeel kan vormen over de betrouwbaarheid van de putten.

Slechts 2 watermonsters dienen afgekeurd te worden, n.l. Nos. 1 en 3.

No. 1 geeft een positieve Eykman- en een positieve Shigaphaagreactie, beide tot in een hoeveelheid van 0,1 cc, terwijl de Clemesha-proef een glucosevergisting geeft tot 0,001 cc en een lactosevergisting tot 0,1 cc, en dus vertoont „niet ver van elkaar liggende glucose- en lactose-titers (lijnen)”. De glucoselijijn bij 45° C ligt ook slechts een weinig hoger dan de glucoselijijn bij 37° C (principe van Flu).

De resultaten van het onderzoek van watermonsters No. 1 pleiten dus volgens alle 3 methoden voor een faecale verontreiniging, die zoowel volgens het principe van Clemesha als van Flu van verschen datum moet zijn.

No. 3 geeft een positieve Eykman-reactie tot in een hoeveelheid van 5 cc en een positieve Shigaphaagreactie tot in een hoeveelheid van 25 cc, terwijl de Clemesha-proef een glucosevergisting geeft tot 1 cc en een lactosevergisting tot 10 cc en dus vertoont „niet ver van elkaar liggende glucose- en lactoselijijnen”. Ook de glucoselijijn bij 45° C ligt tamelijk dicht bij de glucoselijijn bij 37° C (principe van Flu).

Ook van dit watermonster zijn de resultaten van het onderzoek volgens de Eykman-, de Clemesha- en de Shigaphaagmethode van dien aard, dat men een faecale verontreiniging mag aannemen, die zoowel volgens het principe van Clemesha als van Flu van tamelijk recenten datum is.

De verontreiniging van watermonster No. 3 is van minder sterke graad dan die van watermonster No. 1.

De put, waaruit watermonster No. 1 was genomen, werd voor een tweede keer nagekeken (watermonster No. 15), doch hierbij bleek het water tot in een hoeveelheid van 100 cc Coli- en Shigaphaagvrij te zijn; het watermonster was dus deze keer niet verontreinigd.

Watermonsters Nos. 1 en 3 zijn op dezelfde wijze, uit dezelfde put, doch op verschillende tijdstippen genomen en blijken bac-

teriologisch absoluut verschillend te zijn; het is mij helaas niet gelukt, hiervoor een verklaring te vinden.

De put is \pm 20 m diep, ligt op 15 m afstand van de Singel, de gebouwen en de werkplaatsen van de wasserij verkeerden in een niet al te zindelijke toestand. Het watermonster werd beide keeren steriel opgevangen direct uit de buisopening uit de put. Terwijl het aldus verkregen water de eerste keer helder en licht bruin van kleur was, geen bepaalde reuk had en macroscopisch reeds zichtbare levende crustaceeën bevatte, was het bij de tweede monsternamen eveneens helder en licht bruin van kleur, met een eigenaardige aardelucht, doch zonder zichtbare organismen. Waarom deze Nortonput de eene keer water levert met heel andere eigenschappen dan op een anderen dag, blijft voor mij onverklaarbaar; voor ons is echter van belang het feit, dat bij het onderzoek van het eerste monster de resultaten van de Eykman-, de Clemesha- en de Shigaphaag-proef elkaar zoo mooi dekken, dat men volgens de uitkomsten van alle drie methoden een faecale verontreiniging moet aannemen.

Put No. 3 werd niet voor een tweede keer onderzocht; ook bij het onderzoek van het water uit deze Nortonput moet geconstateerd worden, dat de Eykman-, de Clemesha en de Shigaphaagproeven eveneens parallel met elkaar loopende uitkomsten geven, die alle drie pleiten voor een faecale verontreiniging.

Op welke wijze deze verontreiniging van het putwater geschiedt en of de verontreiniging te allen tijde aanwezig is, laten wij in het midden.

De verkregen resultaten van het onderzoek der Nortonputten, van welke wij van te voren niet wisten, of ze wel of niet met faecaliën verontreinigd zijn, leiden tot de volgende conclusies.

- 1e. In 1 positief geval (No. 1) is de Shigaphaagtiter even hoog als de Eykman-titer; de Shigaphaagmethode is dus in dit geval even gevoelig als de methode van Eykman.
- 2e. In het 2e positieve geval (No. 3) is de Shigaphaagmethode iets minder gevoelig dan de methode van Eykman.
- 3e. In beide positieve gevallen blijkt de faecale verontreiniging zoowel uit de uitslagen van de Eykman- als van de Clemesha- en de Shigaphaagproef.
- 4e. In beide gevallen loopt het principe van Clemesha parallel met dat van Flu.

- 5e. *In de praktijk toegepast voor het hygiënisch onderzoek van Nortonputten blijkt dus de Shigaphaagmethode even of iets minder gevoelig te zijn dan de methode van Eykman. Waar de Eykman-methode in de rij der bacteriologische methoden een belangrijke plaats inneemt, zoo zou men de Shigaphaagmethode gerust in deze rij kunnen opnemen.*

II.

Onderzoek van watermonsters, afkomstig van de drinkwaterinstallatie van Rotterdam.

De drinkwaterinstallatie van Rotterdam voorziet Rotterdam, Delft, Schiedam, Vlaardingen, Hoek van Holland en enkele andere kleine gemeenten, met een totaal aantal inwoners van 750.000, van het noodige drink- en gebruikswater.

Rotterdam ligt voornamelijk aan de Noordelijke oever van de Maas; aan dezelfde oever, stroomopwaarts even buiten de stad is de watercentrale gelegen.

Bij vloed ontstaat er in de Maas een opwaartsche stroom tot voorbij de stad Rotterdam, met deze stroom wordt het in de rivier geloosde rioolwater van deze groote handelsplaats opwaarts gevoerd tot voorbij de watercentrale.

Vóór 1939 stroomde het Maaswater bij hooge waterstand door middel van een kanaal in de bassins van de waterinstallatie, waarbij tevens veel Rotterdamsch rioolvocht werd meegevoerd.

Na 1939 werd hieraan een eind gemaakt, door het benoedigde water voor de watercentrale bij lage waterstand van de Maas uit de rivier op te pompen.

Twee groote bassins worden om de beurt met dit water gevuld, binnen 1 à 2 uur is één bassin volgepompt, het water blijft er 10 à 12 uur in, om te bezinken, waarna het door Paterson-snelfilters wordt gevoerd met een snelheid van 5 m per uur. Door deze snelfilters wordt voor de reiniging schoon leidingwater met kool geperst. Na deze voorfiltratie komt het water langs kanalen in de langzame zandfilters, 25 stuks in aantal, welke met een snelheid van 5 à 20 cm per uur worden gepasseerd. Het door de zandfilters biologisch gereinigde water wordt gechlloreerd, zoo, dat er 0,55 mg chloor in 1 liter water voorkomt. Het gechlloreerde water wordt in reinwaterkelders bewaard, van hieruit wordt het naar de watertoren opgepompt, om verder langs buizenstelsels in Rotterdam en in de andere gemeenten gedistribueerd te worden. Als het water voor het gebruik de waterkraan verlaat, bevat het geen restchloor meer.

Het water wordt in zijn verschillende stadia van zuivering geregeld bacteriologisch onderzocht, daarvoor worden watermonsters genomen uit:

1. de Maas bij hoge waterstand,
2. de Maas bij lage waterstand,
3. het bassin, nadat het water bezonken is,
4. na passeering der snelfilters,
5. na passeering der zandfilters vóór de chlooreering,
6. na de chlooreering.

De heer Folpmers, het hoofd van de bacteriologische afdeling van de drinkwatercentrale, heeft mij de hierboven vermelde gegevens verstrekt; ook is hij zoo vriendelijk geweest, om mij deze serie watermonsters voor mijn onderzoek eenige keeren toe te zenden. Het onderzoek werd verricht in verschillende jaargetijden (vanaf 26 November 1941 tot 15 Maart 1942); in totaal werden er 7 series watermonsters onderzocht met de ondervolgende resultaten. (Tabellen IV, V, VI, VII, VIII, IX en X).

Tabel IV.

g = gasvorming.
 gl. = glucose-pepton.
 lc. = lactose-pepton.

+ = Shigaphaag aanwezig.
 — = geen gasvorming of geen Shigaphaag aanwezig.
 . = geen Shigaphaag aanwezig.

No.	Monsters uit:	Datum van onderz.	Eykmanmethode										Clemeshamethode										Shigaphaagmethode volgens Nyberg									
1	Maas, hoog water	26/11	100 cc	50 cc	25 cc	10 cc	5 cc	1 cc	0,1 cc	—	0,01 cc	0,001 cc	100 cc	50 cc	25 cc	10 cc	5 cc	1 cc	0,1 cc	—	0,01 cc	0,001 cc	100 cc	50 cc	25 cc	10 cc	5 cc	1 cc	0,1 cc	—	0,01 cc	0,001 cc
			g	g	—	—	.	gl.	g	g	—	—	.	gl.
2	Maas, laag water	"	100 cc	50 cc	25 cc	10 cc	5 cc	1 cc	—	—	—	0,001 cc	100 cc	50 cc	25 cc	10 cc	5 cc	1 cc	—	—	—	—	100 cc	50 cc	25 cc	10 cc	5 cc	1 cc	—	—	—	—
			g	—	—	—	.	gl.	g	—	—	—	—	.	gl.
3	Bassin, bezonken	"	100 cc	50 cc	25 cc	10 cc	5 cc	1 cc	—	—	—	0,001 cc	100 cc	50 cc	25 cc	10 cc	5 cc	1 cc	—	—	—	—	100 cc	50 cc	25 cc	10 cc	5 cc	1 cc	—	—	—	—
			g	g	g	g	g	g	—	—	—	.	gl.	g	g	g	g	—	gl.
4	Na snelfilter	1/12	100 cc	50 cc	25 cc	10 cc	5 cc	1 cc	—	—	—	0,001 cc	100 cc	50 cc	25 cc	10 cc	5 cc	1 cc	—	—	—	—	100 cc	50 cc	25 cc	10 cc	5 cc	1 cc	—	—	—	—
			g	g	g	g	g	g	—	—	—	.	gl.	g	g	g	g	—	gl.
5	Na zandfilter	"	100 cc	50 cc	25 cc	10 cc	5 cc	1 cc	—	—	—	0,001 cc	100 cc	50 cc	25 cc	10 cc	5 cc	1 cc	—	—	—	—	100 cc	50 cc	25 cc	10 cc	5 cc	1 cc	—	—	—	—
			—	—	—	—	—	—	—	—	—	.	gl.	—	—	—	—	—	.	gl.
6	Na chloreering	"	100 cc	50 cc	25 cc	10 cc	5 cc	1 cc	—	—	—	0,001 cc	100 cc	50 cc	25 cc	10 cc	5 cc	1 cc	—	—	—	—	100 cc	50 cc	25 cc	10 cc	5 cc	1 cc	—	—	—	—
			—	—	—	—	—	—	—	—	—	.	gl.	—	—	—	—	—	.	gl.

Tabel V.

No.	Monsters uit:	Datum van vanz onderz.	Eykmanmethode										Clemeshamethode										Shigaphaagmethode volgens Nyberg									
1	Maas, hoog water	22/1	100 cc	50 cc	25 cc	10 cc	5 cc	1 cc	0,1 cc	0,01 cc	0,001 cc	100 cc	50 cc	25 cc	10 cc	5 cc	1 cc	0,1 cc	0,01 cc	0,001 cc	100 cc	50 cc	25 cc	10 cc	5 cc	1 cc	0,1 cc	0,01 cc	0,001 cc			
2	Maas, laag water	"	100 cc	50 cc	25 cc	10 cc	5 cc	1 cc	0,1 cc	0,01 cc	0,001 cc	100 cc	50 cc	25 cc	10 cc	5 cc	1 cc	0,1 cc	0,01 cc	0,001 cc	100 cc	50 cc	25 cc	10 cc	5 cc	1 cc	0,1 cc	0,01 cc	0,001 cc			
3	Bassin, bezonken	26/1	100 cc	50 cc	25 cc	10 cc	5 cc	1 cc	0,1 cc	0,01 cc	0,001 cc	100 cc	50 cc	25 cc	10 cc	5 cc	1 cc	0,1 cc	0,01 cc	0,001 cc	100 cc	50 cc	25 cc	10 cc	5 cc	1 cc	0,1 cc	0,01 cc	0,001 cc			
4	Na snefilter	"	100 cc	50 cc	25 cc	10 cc	5 cc	1 cc	0,1 cc	0,01 cc	0,001 cc	100 cc	50 cc	25 cc	10 cc	5 cc	1 cc	0,1 cc	0,01 cc	0,001 cc	100 cc	50 cc	25 cc	10 cc	5 cc	1 cc	0,1 cc	0,01 cc	0,001 cc			
5	Na zandfilter		flesch door bevroezen van het water gebroken.																													
6	Na chloreering		flesch door bevroezen van het water gebroken.																													

Tabel VI.

No.	Monsters uit:	Datum van onderz.	Eykmanmethode								Clemeshamethode								Shigaphaagmethode volgens Nyberg											
1	Maas, hoog water	29/1	100 cc	50 "	25 "	10 "	5 "	1 "	0,1 "	0,01 "	0,001 "	100 cc	50 "	25 "	10 "	5 "	1 "	0,1 "	0,01 "	0,001 "	100 cc	50 "	25 "	10 "	5 "	1 "	0,1 "	0,01 "	0,001 "	
2	Maas, laag water	"	.	.	g	g	g	g	g	gl.	lc.	g	g	g	g	gl.	lc.
3	Bassin, bezonken	2/2	g	g	g	g	g	g	.	.	.	g	g	g	g	g	g	g	g	gl.	lc.
4	Na snelfilter	"	g	g	g	g	g	g	.	.	.	g	g	g	g	g	g	g	g	gl.	lc.
5	Na zandfilter	4/2	—	—	—	—	—	—	.	.	.	gl.	cl.	—	—	—	—	—	—	gl.	cl.
6	Na chloreering	6/2	—	—	—	—	—	—	.	.	.	gl.	lc.	—	—	—	—	—	—	gl.	lc.

Den 22en Januari was het water in de Maas bij de lage buitentemperatuur van -20° C bevroren; voor het verkrijgen van watermonsters moest er een bijt in het ijs gehakt worden.

Den 12en Maart was de buitentemperatuur om en bij 0° C en begon het te dooien en 3 dagen later was er na een flinken regen van 2 dagen een zonnigen dag, waarop het ijs grootendeels was gesmolten.

De watermonsters werden zooveel mogelijk op denzelfden dag van monsternamen onderzocht; lieten de omstandigheden dit niet toe, dan werden ze in de ijskast bewaard.

De resultaten van deze onderzoeken toonen ons het volgende:

- 1e. In tabel IV zien wij, dat het Maaswater bij de watercentrale bij hooge waterstand genomen (No. 1), volgens alle onderzoekingsmethoden inderdaad versch en sterk verontreinigd is met faecaliën; immers de Eykman-proef geeft een positieve uitslag tot in een hoeveelheid van 0,1 cc, de Shigaphaagproef is positief tot 0,1 cc, terwijl de Clemesha-proef een glucosevergisting geeft tot 0,001 cc en een lactosevergisting tot 0,1 cc.
- 2e. Het watermonster, bij laag water genomen (No. 2), is, zooals te verwachten, minder sterk verontreinigd dan het vorige; alle 3 proeven toonen dit duidelijk aan: Eykman is + tot 1 cc, Shigaphaag is + tot 1 cc, Clemesha-glucosevergisting is + tot 10 cc en lactosevergisting + tot 1 cc.
- 3e. In het bassin gaan geen Coli-bacteriën en geen Shigaphaag verloren; zoowel de Coli- als de Shigaphaagtiter van het water, uit het bassin gehaald, is even hoog gebleven.
- 4e. Na passeering der snelfilters zijn de Eykman- en de Shigaphaagtiteren gedaald tot 5 cc en de Clemesha-titer, zoowel voor de glucose als voor de lactose, tot 25 cc.
- 5e. De zandfilters blijken in de maand November—December uitstekend te functioneeren, zoowel de Coli-bacteriën als de Shigabacteriophag worden in dezen tijd door de langzame zandfilters tegengehouden; tot in hoeveelheden van 100 cc vallen alle drie proeven negatief uit.
- 6e. De chloreering maakt de zuivering van het water nog meer volkomen, in het gechloreerde water komen in hoeveelheden van 100 cc noch Coli-bacteriën, noch Shigaphaag voor.

Tabel V laat ons, wat betreft de Colibacteriën, bijna hetzelfde zien; alleen blijkt het bassin wel in staat te zijn, om wat Coli-bacteriën tegen te houden.

De Shiga-phaag gedraagt zich hier echter geheel anders; na passeering van het bassin en van de snelfilters komt de bacteriophag nog in dezelfde hoeveelheid (n.l. in 0,1 cc) voor als in het ruwe, ongefiltreerde Maaswater.

Volgens tabel VI zijn de resultaten van het onderzoek volgens Eykman en volgens Clemesha wat onregelmatig; het bassin en de snelfilters blijken de Coli's weinig of niet tegen te houden.

De Shigaphaag gedraagt zich op dezelfde wijze als bij het vorige onderzoek (tabel V) en schijnt zich niet om het verblijf in het bassin en de snelfilters te bekommeren; in het voorgefiltreerde water komt hij in dezelfde hoeveelheid voor als in het oorspronkelijke Maaswater (n.l. in 0,1 cc).

Hierbij constateeren wij bovendien het belangrijke feit, dat ook de langzame zandfilters in dezen tijd van het jaar door den Shigabacteriophag worden gepasseerd (de phaag komt nog in een hoeveelheid van 5 cc water voor), terwijl de Coli-bacillen wel worden tegengehouden en in een hoeveelheid van 100 cc niet zijn aan te toonen.

Op den 18en Februari (Tabel VII) bevat het water, bij hoog water genomen, meer Shigabacteriophag dan bij de vorige onderzoeken. Terwijl de vorige keeren de Shigaphaag slechts tot in een hoeveelheid van 0,1 cc voorkomt, is hij hier zelfs nog in een hoeveelheid van 0,001 cc aan te toonen. In het watermonster, bij laag water genomen, is de phaagtiter gedaald tot 5 cc.

De zandfilters blijken alweer, evenals de bassins en de voorfilters, zoowel door de Coli-bacteriën als door de Shigaphaag te worden gepasseerd; beide komen in het gefiltreerde water nog in een hoeveelheid van 1 cc voor. Bij heel lage temperaturen (eenige graden beneden 0) schijnt de biologische reiniging der zandfilters tegenover de Coli-bacteriën zoo goed als niet plaats te hebben en wordt de bacteriophag eveneens bijna geheel ongehinderd doorgelaten.

Alleen het chloor geeft ons in den winter de eenige garantie, dat het drinkwater Coli- en bacteriophagvrij wordt, dat de Coli-bacteriën en de Shigaphaag althans in een hoeveelheid van 100 cc niet kunnen worden aangetoond. Dit klopt met de onderzoeken van Folpners, genoemd op blz. 61.

Tabellen VIII, IX en X toonen ons, dat de zandfilters vanaf eind Februari weer beter gaan functioneeren; volgens het laatste onderzoek, verricht op den 18en Maart, vertoont het water, dat de zandfilters heeft gepasseerd, een positieve Eykman in 100 cc, een glucosevergisting volgens Clemesha tot 10 cc en een lactosevergisting tot in een hoeveelheid van 25 cc. De Shiga-bacteriophag kan nog in een hoeveelheid van 1 cc aangetoond worden.

Alleen de chloreering blijkt weer het eenige onderdeel in het zuiveringssysteem te zijn, dat in staat is, om de Coli-bacteriën en de Shigaphaag te vernietigen.

Hieronder worden de uitslagen der onderzoekingen van het Rotterdamsche water in zijn verschillende zuiveringsstadia, op de verschillende data, weergegeven.

Tabel XI.

1. Water uit de Maas, bij hoog water genomen.

Data	26/11	22/1	29/1	18/2	27/2	12/3	20/3
Eykmantiter	10^{-1}	10^{-2}	10^{-1}	1 cc	1 cc	1 cc	1 cc
Clemeshatiter:							
glucose	10^{-2}	10^{-2}	1 cc	10^{-2}	10^{-1}	1 „	1 „
lactose	10^{-2}	10^{-2}	1 „	10^{-3}	10^{-1}	1 „	1 „
Shigaphaagtiter	10^{-1}	10^{-1}	10^{-1}	10^{-3}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}

Tabel XII.

2. Water uit de Maas, bij laag water genomen.

Data	26/11	22/1	29/1	18/2	25/2	11/3	18/3
Eykmantiter	1 cc	10^{-1}	10 cc	5 cc	25 cc	10^{-1}	10^{-2}
Clemeshatiter:							
glucose	10 „	10^{-2}	5 „	1 „	10^{-1}	10^{-1}	10^{-2}
lactose	1 „	10^{-2}	10^{-1}	5 „	10^{-1}	10^{-1}	10^{-1}
Shigaphaagtiter	1 „	10^{-1}	10^{-1}	5 „	10^{-2}	10^{-1}	1 cc

Tabel XIII.

3. Water uit het bassin, nadat het bezonken is.

Data	26/11	26/1	2/2	23/2	27/2	12/3	20/3
Eykmantiter	1 cc	1 cc	10 cc	5 cc	10 cc	1 cc	5 cc
Clemeshatiter:							
glucose	1 „	1 „	10 „	5 „	1 „	5 „	1 „
lactose	1 „	1 „	1 „	10 „	5 „	5 „	1 „
Shigaphaagtiter	1 „	10^{-1}	10^{-1}	5 „	5 „	10^{-1}	1 „

Tabel XIV.

4. Water na passeering der snelfilters.

Data	1/12	26/1	2/2	23/2	27/2	16/3	20/3
Eykmantiter	5 cc	1 cc	5 cc	10 cc	10 cc	5 cc	10 cc
Clemeshatiter:							
glucose	25 "	1 "	1 "	10 "	1 "	10 "	25 "
lactose	25 "	1 "	5 "	10 "	5 "	5 "	1 "
Shigaphaagtiter	5 "	10 ⁻¹	10 ⁻¹	1 "	1 "	1 "	1 "

Tabel XV.

5. Water na passeering der zandfilters.

Data	1/12	26/1	4/2	18/2	25/2	11/3	18/3
Eykmantiter	—	flesch door be- vriezen van het water gebroken	—	1 cc	25 cc	25 cc	100cc
Clemeshatiter:							
glucose	—		—	1 "	25 "	10 "	10 "
lactose	—		—	5 "	25 "	10 "	25 "
Shigaphaagtiter	—		5 cc	1 "	5 "	1 "	1 "

Tabel XVI.

6. Water na de behandeling met chloor.

Data	1/12	26/1	6/2	23/2	27/2	16/3	23/3
Eykmantiter	—	flesch door be- vriezen van het water gebroken	—	—	—	—	—
Clemeshatiter:							
glucose	—		—	—	—	—	—
lactose	—		—	—	—	—	—
Shigaphaagtiter	—		—	—	—	—	—

Resumeerende komen wij na de vergelijkende onderzoekingen van de watermonsters, afkomstig van de watercentrale van Rotterdam, in hun verschillende zuiveringsstadia, tot de volgende conclusies:

- 1e. *Voor het onderzoek van het ruwe, nog niet behandelde rivierwater is de Shigaphaagmethode:*
 - a. *vaak even gevoelig,*
 - b. *soms iets minder gevoelig,*
 - c. *in verschillende gevallen gevoeliger dan de methoden van Eykman en van Clemesha. (Tabellen XI, XII).*

- 2e. *Voor de contrôle op de zuiverheid van het voor de consumptie geschikt gemaakte water is de Shigaphaag-methode even betrouwbaar als de methoden van Eykman en van Clemesha (Tabel XVI): in het gechloreerde water zijn in een hoeveelheid van 100 cc noch Coli-bacteriën, noch Shigabacteriëphaag aan te toonen.*

- 3e. *Voor de contrôle van de werkzaamheid der zandfilters is de Shigaphaagmethode in sommige tijden van het jaar (aan het eind van den winter) gevoeliger dan de Eykman- en de Clemesha-methode. (Tabel XV).*
Het onderzoek op den 1en December verricht, toont aan, dat de zandfilters op dien dag goed functioneerden; de Coli-bacteriën en de Shigaphaag werden door de zandfilters tegengehouden, konden althans in een hoeveelheid van 100 cc niet aangetoond worden.
Uit de resultaten der onderzoekingen, gedaan op 4 Febr., 18 Febr., 25 Febr., 11 Maart en 18 Maart kunnen wij duidelijk zien, dat tegen het einde van den winter de zandfilters slecht gingen functioneeren, de Coli-bacteriën werden in groote hoeveelheden en de Shigaphaag in nog grootere kwanta doorgelaten.
Volgens het onderzoek op den 4en Februari kon er in 100 cc gefiltreerd water geen Coli aangetoond worden, doch bevatte het water wel Shigabacteriëphaag tot in een hoeveelheid van 5 cc; met de Shigaphaag-methode kan dus een minder goede werkzaamheid der zandfilters eerder geconstateerd worden.

- 4e. *In de andere stadia van zuivering, na de passage van het bassin en van de snelfilters. (Tabellen XIII, XIV), is de Shigaphaagproef gebleken even gevoelig of vaak gevoeliger te zijn dan de methoden van Eykman en van Clemesha.*

- 5e. *Het gebruik van de Shigaphaag-methode kan dus voor de contrôle van de werking van zandfilters naast de toepassing van andere bacteriologische methoden aanbevolen worden.*

De uitkomsten van mijn onderzoekingen met de watermonsters, afkomstig van de watercentrale van Rotterdam, komen, wat betreft de minder goede werking der zandfilters in de laatste wintermaanden, overeen met de resultaten van de door Folp-mers verrichte contrôles, waarbij worden nagegaan de Colititer, de streptococentiter en het aantal bacteriën bij een kweektemperatuur van 22° C (persoonlijke correspondentie).

III.

Zelfreinigingsproeven met water uit verschillende grachten van Leiden.

Om na te gaan, hoe de Shiga-bacteriophag zich bij de zelfreiniging van met faecaliën verontreinigd water gedraagt, heb ik eenige zelfreinigingsproeven genomen met water uit verschillende grachten van Leiden.

Terwijl Schuurman meent, dat de bacteriophag bij de vernietiging der in verontreinigd water voorkomende bacteriën een actieve rol speelt, heeft Flu met zijn proeven bewezen, dat de activiteit van den bacteriophag bij de zelfreiniging slechts van weinig beteekenis is (zie Hoofdstuk VI).

Behalve van de Shiga-bacteriophag werd bij mijn proeven ook het gedrag van de Coli-bacteriën, met de Eykman- en de Clemesha-methode, nagegaan.

De proeven werden verricht met watermonsters uit 6 verschillende grachten van Leiden, t.w. Doelengracht, Galgenwater, Uiterste gracht, Oranjegracht, Rapenburggracht en Rijn- en Schiekade.

Een schoone, witte flesch van 8 L inhoud werd voor $\frac{2}{3}$ met het grachtwater gevuld en in de kamer in het gewone daglicht, geplaatst. Het onderzoek geschiedde in de maanden December, Januari en Februari; de temperatuur in de verwarmde kamer schommelde tusschen 14° C en 20° C, terwijl de buitentemperatuur aan het eind van de maand Januari tot -20° C daalde.

De watermonsters werden een of twee dagen, nadat zê uit de gracht waren gehaald, onderzocht; ongeveer om de week werd het onderzoek herhaald, totdat de Coli-bacteriën en de Shigaphaag geheel of bijna geheel uit het water verdwenen waren, althans in een hoeveelheid van 100 cc niet meer aangetoond konden worden.

Hieronder volgen de resultaten van deze proefnemingen:

Tabel XX.

4. Oranjebracht.

Datum van monstername: 16/12.

Datum van onderz.	Eykmanmethode									Clemeshamethode									Shigaphaagmethode volgens Nyberg									
	100 cc	50 cc	25 cc	10 cc	5 cc	1 cc	0,1 cc	0,01 cc	0,001 cc	100 cc	50 cc	25 cc	10 cc	5 cc	1 cc	0,1 cc	0,01 cc	0,001 cc	100 cc	50 cc	25 cc	10 cc	5 cc	1 cc	0,1 cc	0,01 cc	0,001 cc	
18/12	g	g	g	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
15/1	g	g	g	g	—	.	.	.	gl. lc.	g	g	g	g	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
28/1	—	—	—	—	—	.	.	.	gl. lc.	g	g	g	g	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Alle watermonsters waren bij het begin van het onderzoek niet heelemaal helder, doch bevatten geen zichtbare levende organismen. Na een dag staan waren ze helder geworden en na eenige dagen gingen ze zichtbare levende organismen vertoonen, die bleken te zijn: protozoën, flagellaten, ciliaten, vorticella en crustaceeën, welke met den dag duidelijk in aantal toenamen. Bovendien kwamen er langzamerhand algen in steeds grootere hoeveelheid in het water voor, die aanleiding gaven tot het ontstaan van opborrelende luchtbelletjes. Daarna ging het water in de flesschen troebel en troebeler worden; aangezien er dan geen of bijna geen Coli-bacteriën en geen Shigaphaag in voorkwamen, werd het water niet verder onderzocht.

Tabel XVII toont ons het volgende.

Het water van de Doelengracht vertoont op 18 December, 2 dagen na de monsternamen, een positieve Eykman tot 0,01 cc, een glucosevergisting volgens Clemesha tot 0,01 cc en een lactosevergisting tot 0,001 cc en een positieve Shigaphaagproef tot 0,1 cc; de versche verontreiniging van het water wordt dus door alle 3 proeven duidelijk bewezen.

Een week later (15 December) is de Eykman-titer gedaald tot 1 cc, de Clemesha-titer voor de glucose en de lactose beide gedaald tot 5 cc en de Shigaphaagtiter naar beneden gegaan tot 1 cc; de Coli-bacteriën en de Shigaphaag zijn dus gedeeltelijk reeds uit het water verdwenen.

Op den 22en December is de Eykman-proef in 100 cc negatief, de Clemesha-proef voor de lactose positief tot 25 cc en voor de glucose tot 100 cc negatief, terwijl de Shigaphaag nog aanwezig is tot 5 cc.

De thermotolerante Coli-bacteriën en de glucosevergisters bij 37° C verdwijnen dus het eerst uit het water, de lactosevergisters bij 37° C en de Shigaphaag het laatst.

Den 12en Januari zijn ook de lactosevergisters en de Shigaphaag in 100 cc niet meer aan te toonen.

Tabel XVIII laat ons het volgende zien.

Drie dagen, nadat het grachtwater in de kamer heeft gestaan, is Eykman positief tot 5 cc, Clemesha voor beide suikers positief tot 0,1 cc en de Shigaphaag positief tot 0,1 cc.

Zes dagen later is de Eykman-reactie nog steeds positief tot 5 cc, de Clemesha-titer voor beide suikers gedaald tot 5 cc, terwijl de Shigaphaag in 100 cc niet meer is aan te toonen.

Nog een week later (22 December) is de Eykman-titer nog steeds constant gebleven (bij 5 cc), de Clemesha-glucosevergisting is eveneens gebleven bij 5 cc, terwijl de Clemesha-lactose-reactie tot in 100 cc negatief is geworden.

Pas op den 12en Januari zijn de glucosevergisters bij 45° C en bij 37° C in 100 cc niet meer aan te toonen.

Volgens dit onderzoek verdwijnt dus de Shigaphaag het eerst, daarna de lactose-vergisters en tenslotte pas de glucose-vergisters bij 45° C en bij 37° C.

Bekijken wij Tabel XIX, dan zien wij het volgende.

Twee dagen na de monstername is Eykman positief tot 0,01 cc, Clemesha-glucose positief tot 0,001 cc, Clemesha-lactose positief tot 0,01 cc en de Shigaphaag positief tot 0,1 cc.

Twee weken later is de Eykman-titer gedaald tot 1 cc, de Clemesha-titer voor beide suikers gedaald tot 1 cc en de Shigaphaagtiter gedaald tot 10 cc.

Op den 15en Januari is de Eykman-titer nog meer naar beneden gegaan en wel tot 5 cc, de Clemesha-titer is voor beide suikers tot 5 cc geworden, de Shigaphaagtiter eveneens tot 5 cc.

Eerst op den 16en Februari is de Eykman-reactie in 100 cc en de Clemesha-proef voor de glucose ook in 100 cc negatief geworden, de Clemesha-lactose-vergisting is tot 25 cc positief gebleven.

Bij deze proef is dus de Shigaphaag het eerst verdwenen, daarna de glucose-vergisters bij 45° C en bij 37° C en tenslotte gaan de lactose-vergisters pas weg.

Volgens Tabel XX verdwijnt de Shigaphaag ook het eerst, dan volgen de thermotolerante Coli-bacteriën, terwijl de glucose- en lactosevergisters bij 37° C het laatst in het water blijven.

Tabel XXI toont aan, dat de thermotolerante Coli-bacteriën en de Shigaphaag het eerst vernietigd worden en dat de glucose- en lactosevergisters bij 37° C tegelijk uit het water verdwijnen.

Het laatste onderzoek (Tabel XXII) geeft weer een ander resultaat; twee weken na de monstername zijn de thermotolerante Coli-bacteriën, de niet thermotolerante glucose- en lactose-vergisters en de Shigaphaag alle in concentratie verminderd en 6 dagen later zijn ze tegelijk uit het water verdwenen, althans niet meer in 100 cc aan te toonen.

Resumeerende komen wij tot de volgende conclusies:

- 1e. *Versch verontreinigd water wordt gekenmerkt door even hoge of bijna even hoge Eykman-, Clemesha- en Shigaphaagtiteren; de Clemesha-proef is het meest gevoelig, dan volgt de Eykman-proef en daarna het Shigaphaagonderzoek.*
- 2e. *In 4 van de 6 gevallen verdwijnt de Shigaphaag het eerst, in 1 geval tezamen met en in 1 geval later dan de Coli-bacteriën.*

Dit spoedig verdwijnen van den bacteriophag, vaak eerder dan de Coli-bacteriën, maakt het waarschijnlijk, dat de bacteriophag bij de zelfreiniging geen actieve rol speelt.

- 3e. *Bovendien zou men uit dit verschijnsel de gevolgtrekking kunnen maken, dat een positieve Eykman en een positieve Clemesha naast een negatieve Shigaphaagproef pleiten voor een faecale verontreiniging van niet zeer jongen datum.*
- 4e. *In 4 van de 6 gevallen verdwijnen de lactose-vergisters bij 37° C het laatst, in 1 geval tezamen met de glucose-vergisters bij 37° C en bij 45° C en in 1 geval het eerst. In 3 van de 6 gevallen verdwijnen de glucose-vergisters bij 37° C eerder dan, in 2 gevallen tezamen met en in 1 geval later dan de lactose-vergisters bij 37° C. Deze resultaten komen veel overeen met de door Clemesha geconstateerde feiten, welke hem aanleiding hebben gegeven, om zijn meening naar voren te brengen, dat een uiteenwijken der glucose- en lactoselijnen bij 37° C pleiten voor een verouderde verontreiniging.*
- 5e. *Slechts in 2 van de 6 gevallen verdwijnen de glucosevergisters bij 45° C eerder dan de glucose-vergisters bij 37° C. in 3 gevallen verdwijnen ze tegelijk en in 1 geval worden de thermotolerante Coli's eerder vernietigd. De uiteenwijking der glucoselijnen bij 45° C en bij 37° C bij een verontreiniging van ouderen datum, welke door Flu is waargenomen, wordt door mijn proeven in minder dan de helft der gevallen bevestigd.*

IV.

Onderzoek van menselijke faecaliën op de aanwezigheid van Shigabacteriophag.

Uit de experimenten van verschillende onderzoekers is gebleken, dat de dysenterie-bacteriophag voorkomt in de ontlasting van een belangrijk percentage der gezonde menschen. (Zie hoofdstuk V, blz. 44—45).

Terwijl volgens de vroegere onderzoekingen van deze dysenteriebacteriophagen de Shigaphaag heel vaak (volgens d'Hérrelle 17%, volgens Dumas 62%, volgens Tomaselli 100%)

in de menselijke ontlasting aangetoond kon worden (zie hoofdstuk V, blz. 44—45), konden Gildemeister en Ahlfeld in 1941 hem slechts bij 1% der onderzochte personen aantreffen (zie hoofdstuk V, blz. 56).

Deze tegenstrijdige bevindingen hebben mij er toe gebracht, om zelf na te gaan, hoe frequent de Shigabacteriophaga in de menselijke ontlasting voorkomt.

In totaal heb ik 140 ontlastingen van 110 gezonde en zieke personen van verschillenden landaard (100 Nederlanders, 6 Indonesiërs en 4 Chineezen), van beide geslachten en van verschillende leeftijden onderzocht; bij 30 menschen geschiedde het onderzoek 2 keer.

In het begin werkte ik slechts met 1 Shigastam, eerst met Shiga 17, daarna met Shiga 151, later met 4 Shigastammen, n.l. Shiga 16, Shiga 17, Shiga 22 en Shiga 151, alle afkomstig van het bacteriologisch en hygiënisch laboratorium van de Leidsche universiteit.

Het onderzoek met 1 Shigastam geschiedde als volgt.

Een kleine hoeveelheid ontlasting, ter grootte van een erw, wordt geëmulgeerd met 10 cc bouillon; de aldus verkregen licht troebele vloeistof wordt gevoegd bij 10 cc bouillon, die met een platinalus van de Shigastam is beënt. Het geheel wordt in een broedstoof van 37° C geplaatst; na 24 uur wordt de faeces-Shigabouillon-suspensie gefiltreerd, eerst door filtreerpapier, dat met infusoriënaarde is geïmpregneerd en daarna door een Chamberland-kaars L 3. Van het aldus verkregen filtraat worden 3 druppels gedaan in bouillon, die beënt is met een platinalusje van een 24 uur oude Shigacultuur van de bovengebruikte stam. Deze buis komt in een broedstoof van 37° C; een bouillonbuis met dezelfde Shigacultuur, echter zonder filtraat, wordt voor de contrôle erbij genomen. Na 6 uur wordt de bacteriophagawerking nagegaan; indien de lytische werking nog niet duidelijk te zien is, wordt de proef den volgenden dag, dus na 18 uur, afgelezen.

Bij dit onderzoek geschiedt de „Anreicherung” dus met één Shigastam en wordt de faeces onderzocht op de aanwezigheid van één Shigabacteriophaga.

Op deze wijze werden onderzocht de ontlasting van 43 gezonde en 22 zieke personen (niet dysenterielijders), dus in totaal 65 ontlastingen; slechts bij 2 ontlastingen is het onderzoek positief uitgevallen (zie Tabel XXIII).

Daarna werden met Shiga 151 onderzocht 11 ontlastingen, bij 3 was de uitslag positief (zie Tabel XXIII).

Tabel XXIII

Anreicherung met	Aantal onderzochte ontlastingen	Positieve uitslagen
Shiga 17	65	2
Shiga 151. . . .	11	3

Bij het onderzoek met 4 Shigastammen wordt in de faecesbouillon-emulsie van alle 4 culturen een platinalusje gedaan; de „Anreicherung” geschiedt hier dus met 4 stammen. Nadat de buis gedurende 24 uur in een broedstroof van 37° C gestaan heeft, wordt de faeces-Shiga-bouillon-suspensie op dezelfde wijze als boven gefiltreerd. Nu worden 4 buizen bouillon beënt met de verschillende Shigaculturen en in elke buis worden 3 druppels van het filtraat gedaan. Bouillon-culturen van alle 4 Shigastammen zonder filtraat dienen als contrôle. Op dezelfde wijze als met 1 Shigastam wordt de bacteriophagwerking nagegaan.

Op deze wijze werden 64 verschillende ontlastingen nagekeken (zie onderstaande Tabel XXIV).

Tabel XXIV

Faeces No	Bacteriophag tegen				Tezamen +
	Shiga 16	Shiga 17	Shiga 22	Shiga 151	
1	+		+		+
2					
3					
4	+				+
5					
6					
7					
8					
9	+	+	+	+	+
10	+	+		+	+
11	+			+	+
12		+	+		+
13	+				+

Faeces No	Bacteriophag tegen				Tezamen +
	Shiga 16	Shiga 17	Shiga 22	Shiga 151	
14		+	+	+	+
15		+	+		+
16					
17	+		+	+	+
18	+				+
19	+		+		+
20					
21					
22	+		+	+	+
23					
24					
25	+				+
26	+	+			+
27	+				+
28					
29					
30	+	+			+
31			+		+
32					
33	+	+	+	+	+
34	+				+
35					
36	+		+	+	+
37					
38		+	+	+	+
39	+		+	+	+
40				+	+
41		+		+	+
42		+			+
43	+				+
44			+	+	+
45		+		+	+
46	+		+	+	+
47		+			+

Faeces No	Bacteriophag tegen				Tezamen +
	Shiga 16	Shiga 17	Shiga 22	Shiga 151	
48	+				+
49		+		+	+
50		+		+	+
51	+		+		+
52	+	+	+	+	+
53			+	+	+
54					
55	+	+	+	+	+
56	+		+	+	+
57	+		+		+
58					
59					
60					
61		+	+	+	+
62	+			+	+
63	+		+		+
64		+	+		+
Totaal	28	19	24	23	44

Uit deze resultaten kunnen wij de volgende gevolgtrekkingen maken.

1. Voor het onderzoek van ontlasting op de aanwezigheid van Shigabacteriophag geeft de „Anreicherung” met 4 Shigastammen beter resultaten dan met de ophooping met 1 Shigastam.
2. Met de toepassing van een „Anreicherung” met 4 Shigastammen blijkt bij 68 % der onderzochte gezonde en zieke personen Shigabacteriophag in de ontlasting voor te komen; van de 64 faecaliën zijn er 20 vrij van Shigaphag, terwijl de overige 44 een lytische reactie vertoonen tegenover één of meer Shigastammen.

HOOFDSTUK VIII

Samenvatting en Conclusies.

In de voorafgaande hoofdstukken werd behandeld, hoe geleidelijk de methoden voor het wateronderzoek zich langzamerhand hebben ontwikkeld, gelijken tred houdende met de vooruitgang der wetenschap en met de toename der behoeften van den mensch en dat de tegenwoordig meest toegepaste onderzoekingsmethoden, om er de hygiënische geschiktheid van water mee vast te stellen, erop gericht zijn, om bepaalde faecale bacteriën op te sporen.

Verder is naar voren gebracht geworden, dat de gistingsmethode van Eykman ondanks aanvankelijk veel tegenkanting zich heeft weten te handhaven en in Nederland en in Nederlandsch-Indië een voornamelijk plaats inneemt, en dat de methode van Clemesha voor het aantoonen van een faecale verontreiniging, ongeacht de ouderdom, zeer goed te gebruiken is.

Na de ontdekking van den bacteriophag door d'Hérelle heeft men aangetoond, dat het mogelijk is, om met een bacteriophagmethode een faecale verontreiniging op te sporen en dat de methode, die naar de aanwezigheid van Shigabacteriophag zoekt, de meeste kans op succes oplevert.

Onderzoekingen, door mij verricht, hebben bewezen,

1. dat in overeenstemming met de bevindingen van verschillende onderzoekers de ontlasting van een belangrijk percentage der gezonde en niet aan dysenterie lijdende zieke menschen Shigabacteriophag bevat,
2. dat de Shigaphaagmethode voor het onderzoek van verontreinigd oppervlaktewater vaak even gevoelig, soms iets minder gevoelig en in verschillende gevallen gevoeliger is dan de methoden van Eykman en van Clemesha,
3. dat voor het onderzoek van leidingwater de Shigaphaagmethode even betrouwbaar is als die van Eykman en van Clemesha,
4. dat voor de contrôle van de werkzaamheid van zandfilters de Shigaphaagmethode in sommige tijden van het jaar (aan het eind van den winter) gevoeliger is dan die van Eykman en van Clemesha,

5. dat in de andere stadia van zuivering, n.l. na de passage van de bassins en van de snelfilters van een drinkwaterinstallatie, de Shigaphaagproef even gevoelig of vaak gevoeliger is dan die van Eykman en van Clemesha,
6. dat bij zelfreinigingsproeven de Shigabacteriophag eerder verdwijnt dan de coliachtige en de thermotolerante Colibacteriën, waaruit volgt, dat de Shigabacteriophag voor de zelfreiniging van het water niet meer dan een ondergeschikte plaats inneemt.

Uit de resultaten der experimenten van verschillende onderzoekers en uit mijn eigen bevindingen meen ik de conclusie te mogen trekken,

dat voor wateronderzoek de Shigabacteriophagmethode, die nu nog in een experimenteel stadium verkeert, even of bijna even gevoelig is als de methoden van Eykman en van Clemesha en dus naast de andere bestaande methoden in de praktijk toegepast zou kunnen worden.

LITERATUUR

- American public. Health Association. 1920. Standard Methods of Wateranalysis for the Examination of Water and Sewage.
- Arloing, F. en Sempé. 1925. Bull. Soc. Sc. Vét. de Lyon. 28, 238.
- Arloing, F., Sempé en Chavanne. 1925. Bull. Ac. Méd. Paris. 93, 184.
- Beckerich en Hauduroy. 1922. Compt. Rend. de la Soc. Biol. 86, 168.
- 1922a. Compt. Rend. Soc. Biol. 86, 168.
- Beckwith, T. D. en Rose, E. J. 1930. Journ. of Bact. 20, 151.
- Bertarelli, E. 1933. Zentr. f. Bact. Par. u. Inf. I. Bd. 128, 36.
- Bifulco. 1927. Ann. Igiene mod.
- Bordet en Ciuca. 1920. Compt. Rend. de la Soc. Biol. 83.
- Brown, J. W. en Skinner, C. E. 1930. Jour. of Bact. Vol. XX. 139.
- Buyanowski, D. 1929. Zentr. f. Bact. 1. 110, 120.
- Christian, D. 1905. Arch. f. Hygiène Bd. LIV. 386—395.
- Clemesha, W. W. 1912. The Bacteriology of Surface Waters in the Tropics. 37.
- Codex Alimentarius No. 3. Water. 1909.
- Da Costa Cruz en Tomaselli. 1923. 1. Brochure A. Cardiani Milan. 53.
- Debré en Hagenau. 1920. Compt. Rend. de la Soc. Biol. 83, 1348.
- Dumas, J. 1920. Compt. Rend. de la Soc. Biol. 1314.
- Emmerich, R. en Low. 1899. Zeitsch. f. Hygiène u. Inf. Bd. 31.
- Emmerich, R. en Gemund, W. 1904. Münch. Med. Wochenschr.
- Eykman, C. 1904. Zentr. f. Bakt. 1. Abt. Orig. XXXVII. Heft 5.
- Eykman, C. en Gyns, G. 1904. Mededeelingen v. d. B.G.D. in Ned. Indië. Dl. I, 1.
- Federalf. 1909. Archief f. Hygiène. LXX. 311—328.
- Ferreti. 1926. Boll. Inst. sierat. Milan. 5, 385.
- Flu P. C. 1914. Mededeelingen Gen. Lab. Weltevreden. 2e serie A. 15, 22.
- 1915. Gen. Tijdschr. v. Ned. Indië. dl. LV. 865—925.
- 1917. Mededeelingen v. d. B.G.D. in Ned. Indië. dl. III.
- 1917a. Mededeelingen v. d. B.G.D. in Ned. Indië. dl. III.
- 1921. Leerb. der Par. ziekte. en der Hygiène. dl. III. 211.

- Flu, P. C. 1921a. *Leerb. der Par. Ziekt. en der Hygiëne.* dl. III. 211.
- 1921b. *Leerb. der Par. Ziekt. en der Hygiëne.* dl. III. 222.
- 1921c. *Leerb. der Par. Ziekt. en der Hygiëne.* dl. III. 215.
- 1921d. *Leerb. der Par. Ziekt. en der Hygiëne.* dl. III. 219.
- 1921e. *Leerb. der Par. Ziekt. en der Hygiëne.* dl. III. 396.
- 1921f. *Leerb. der Par. Ziekt. en der Hygiëne.* dl. III. 390.
- 1921g. *Mededeelingen v. d. B.G.D. in Ned. Indië.* 288.
- 1921h. *Mededeelingen v. d. B.G.D. in Ned. Indië.* 298.
- 1922. *Mededeelingen v. d. B.G.D. in Ned. Indië.* 147.
- 1934. *Acta Leidensia.* 69.
- 1941. *Antonie v. Leeuwenhoek.* 7.
- Folp mers, T. 1940/1941. *Antonie v. Leeuwenhoek.* 7.
- 1933. *Ned. Tijdschr. v. Hyg. Microb. en Ser.* dl. VII.
- 1936. *Natura, Orgaan der Ned. Natuurh. ver.* 15 Juni.
- Fortunato. 1928. *Ann. Igiene.* 544.
- Fränkel, C. en Piefke, C. 1889. *Zeitschr. f. Hygiëne.* Bd. 8. 1.
- Fromme, W. 1910. *Zeitschr. f. Hyg. u. Inf.* Bd. LXV. 251—304.
- Gärtner, A. 1910. *Zeitschr. f. Hygiëne u. Inf.* Bd. LXVII. 56—110.
- 1915. *Hygiëne des Wassers.* 14.
- 1915a. *Hygiëne des Wassers.* 2.
- 1915b. *Hygiëne des Wassers.* 3.
- 1915c. *Hygiëne des Wassers.* 13.
- Gildemeister, E. en Watanabe, H. 1931. *Zentr. f. Bact. Par. u. Inf. Abt. I.* Bd. 122. 556.
- Gildemeister, E. en Ahlfeld. 1941. *Zentr. f. Bact. Par. u. Inf.* Bd. 147. Heft 7/8.
- de Graaff, W. C. 1920. *Tijdschr. v. Verg. Gen. Gez. Par. en Inf.* dl. V. 173.
- 1922. *Tijdschr. v. Verg. Gen. Gez. Par. en Inf.* dl. VII. 108.
- 1922a. *Tijdschr. v. Verg. Gen. Gez. Par. en Inf.* dl. VII. 108.
- 1929. *Ned. Tijdschr. v. Hyg. Micr. en Ser.* dl. III. 22.
- 1932. *Ned. Tijdschr. v. Hyg. Micr. en Ser.* dl. VI. 41.
- Gryns, G. 1907. *Gen. Tijdschr. v. Ned. Indië* dl. XLVII.
- Hankin. 1896. *Ann. de l'Inst. Pasteur.* Vol. X. 175, 511.
- Hehewerth, F. H. 1911. *Geneesk. Tijdschr. v. Ned. Indië.* Feestbundel. 218—238.
- d'Hérelle, F. 1926. *Le Bactériophage et son comportement.* 5—6.
- 1926a. *Le Bactériophage et son comportement.* 7.
- 1920. *Compt. Rend. de la Soc. Biol.* 247.
- Hilgermann, R. *Klinisches Jahrbuch* Bd. 22. H. 2. D. 315—338.

- Holwerda, K. 1928. Mededeelingen v. d. D.V.G. in Ned. Indië. 410—455.
- 1928a. Mededeelingen v. d. D.V.G. in Ned. Indië. II.
- 1928b. Mededeelingen v. d. D.V.G. in Ned. Indië. II.
- Hörhammer, C. 1911. Archief. f. Hygiëne. Bd. 73, 183.
- Houston, A. C. 1902. 2e Report of the Royal Comm. on Sewage disposal.
- Hoytema, A. J. 1929. Ned. Tijdschr. v. Hyg. Micr. en Ser. dl. III. 164.
- Jongbloed, 1928. Proefschrift.
- Kabeshima, M. 1920. Compt. Rend. de la Soc. Biol. Febr./Maart.
- Kisskalt, K. 1915. Zeitschr. f. Hygiëne u. Inf. 80, 57.
- Koning, C. J. 1906—1907. Pharmaceut. Weekbl. van Nederland.
- Krugers Dagneaux. 1930. Proefschrift.
- Kruse, W. 1908. Zeitschr. f. Hygiëne u. Inf. Bd. LIX. 6—94.
- 1908a. Zeitschr. f. Hygiëne u. Inf. 59, 6.
- Lloyd Arnold. 1925. Amer. J. publ. Health. 950.
- Mac Conkey. 1905—1906. Journal of Hygiëne. 19 Juli.
- Massink, A. 1929. Nederl. Tijdschr. v. Hyg. Micr. en Ser. dl. III.
- Mom, C. P. 1926. Mededeelingen v. d. D.V.G. in Ned. Indië. 309.
- 1932. Nederl. Tijdschr. v. Hyg. Micr. en Ser. 182.
- Müller, P. Th. 1912. Arch. f. Hyg. 75, 321.
- Nakashima, T. 1925. Zentr. f. Bakt. Par. u. Inf. Abt. I. Bd. 94. Orig.
- Nederlandsche Watercodex No. 3. 1909.
- Neumann, D. 1906. Arch. f. Hygiëne. Bd. LIX. 174.
- Nick, J. 1936. Zentr. f. Bakt. Par. u. Inf. Abt. I. Bd. 136. 397.
- Nowack. Mitteilungen aus des Königl. Prüf. f. Wasservers. u. Abwass zu Berlin LIX. 197.
- Nyberg, C. 1931. Zentr. f. Bakt. u. Inf. Abt. I. Bd. 122. Orig.
- Nyberg, C. en Forssman, W. 1933. Act. Path. et Micr. Scand. Suppl. XVI. 269.
- Ontwerp voorschriften v. d. bact. hyg. keuring v. drinkwater. 1941. Februari.
- Petruschky en Pusch. 1903. Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. Bd. LIII. 304.
- Pierret en Bilouet. 1925. Compt. Rend. de la Soc. Biol. 93, 635.
- Prescott en Winslow. 1904. Water Bacteriology. 102.
- Sangiorgi en Vercellana. 1926. Ann. Igiene. 425.
- Schloszmann, K. 1933. Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. 114. 65—76.

- Schuurman, C. J. 1925. De Bacteriophage, een ultramicrobe. 5.
 — 1925a. De Bacteriophage, een ultramicrobe. 6.
 — 1936. Gen. Tijdschr. v. Ned. Indië. dl. LXXVI. Afl. 40—52, 2529.
- Segre. 1930. Boll. Inst. sierot. Milan. 9, 22.
- Shunkichi Ohashi. 1932. Shanghai Sc. Inst. Sect. IV. 141.
 — 1940. Zentr. f. Bakt. Par. u. Inf. I. Or. Bd. 146. Heft 51.
- Smit, J. 1932. Ned. Tijdschr. v. Hyg. Micr. en Ser. dl. VI.
- Stiles en Crohurst. 1922. Public Health. Rep. 1350.
- Stokvis, C. S. 1909. Arch. f. Hyg. 71. 46.
- Stokvis, C. S. en Swellengrebel. N.H. 1911. Journ. of Hyg. II, 481.
- Suranyi en Kramar. 1924. Monatschr. f. Kinderheilk. 28, 330.
- Thresh, J. C. en Beale, J. F. 1925. The examination of Waters and Watersupplies. 442.
 — 1925a. The examination of Waters and Watersuppl. 443.
 — 1925b. The examination of Waters and Wayersuppl. 438.
 — 1925c. The examination of Waters and Watersuppl. 445.
- Twort, E. W. 1915. The Lancet. 4 December.
- Vincent, M. H. 1905. Ann. de l'Inst. Pasteur. Tome XIX. 233—248.
- Von Vagedes, K. 1932. Zentr. f. Bakt. Par. u. Inf. I. Or. Bd. 126.
- Von Vagedes, K. en Gildemeister, E. 1934. Zentr. f. Bakt. Par. u. Inf. Bd. I. 131, 414.
- de Waal, J. W. 1932. Ned. Tijdschr. v. Hyg. Micr. en Ser. dl. VI.
- Watercodex v. Nederlandsch-Indië. 1930.
- Zdansky, E. 1924. Zeitschr. f. Hygiëne u. Inf. Bd. 103, 164.

STELLINGEN

I.

Een bezwaar van de sulfapyridinekuur bij pneumonie is de mogelijkheid van het ontstaan van verschijnselen van anaphylaxie.

J. Zeldenrust en J. D. Verlinde,
1942, N. T. V. G. 86, IV, 41, blz. 2520.
1942, N. T. V. G. 86, IV, 42, blz. 2574.

II.

Voor een doeltreffende therapie stelle men zich niet tevreden met het constateeren van een congenitale hartaandoening, doch trachte de diagnose nader te definieeren.

S. van Praag, 1942, N. T. V. G. 86, I, II, blz. 633.

III.

De electriche krampbehandeling van de endogene melancholie heeft veel voordeelen boven de andere vormen van shockkuren en de slaapkuur.

A. Hutter, 1941, N. T. V. G. 85, III, 32, blz. 3317.
1942, N. T. V. G. 86, I, 5, blz. 250.

IV.

In gevallen van syringomyelie, waarbij de Röntgen-therapie geen succes geeft, verrichte men een laminectomie.

W. F. Suermondt, 1942, N. T. V. G. 86, I, 4, blz. 189.

V.

De pneumonectomie (lobectomie) is zoo'n ernstige ingreep, dat ze alleen worde verricht door een chirurg, die er zich speciaal op heeft toegelegd.

L. D. Eerland, 1941, N. T. V. G. 85, II, 16, blz. 1642.

VI.

Hoewel het niet te ontkennen valt, dat een actieve leiding gedurende het ontsluitings- en het uitdrijvingstijdperk den duur van een normale bevalling belangrijk kan bekorten, is dit principe van verloskundige hulpverlening in de praktijk niet steeds door te voeren.

H. C. Koch Jr., 1941, Proefschrift, Leiden.

VII.

Ter voorkoming van een chronische ontsteking der traanzakken op den bodem van een mogelijk aangeboren stenose der traanwegen is het noodzakelijk, dat de arts of de vroedvrouw gedurende de eerste weken van het leven bij elken pasgeborene geregeld druk uitoefent op de traanzakstreek.

J. van der Hoeve, 1929, N. T. V. G. 73, Eerste Helft, N^o. 19.

VIII.

Het „syndroom van Ménière” is geen ziekte, doch slechts een ziektebeeld.

H. Burger, 1942, Oor-, Neus- en Keelziekten.

IX.

Het verdient aanbeveling, om in dezen tijd een kortdurende scabieskuur toe te passen.

H. Hermans, 1942, N. T. V. G. 86, I, II, blz. 626.

X.

De leptospirosis grippotyphosa blijve, ook na de ontdekking van de veldmuis als drager van den ziekteveroorzaker, in het Nederlandsch als „modderkoorts” (Schlammfieber) aangeduid.

W. Rimpau, 1940, Ergebnisse der inneren Med. u. Kinderh., Bd. 59, blz. 140.

W. A. Schüffner en H. Böhlender, 1942, Z. f. Bakt. 442, Bd. 148, 264.

XI.

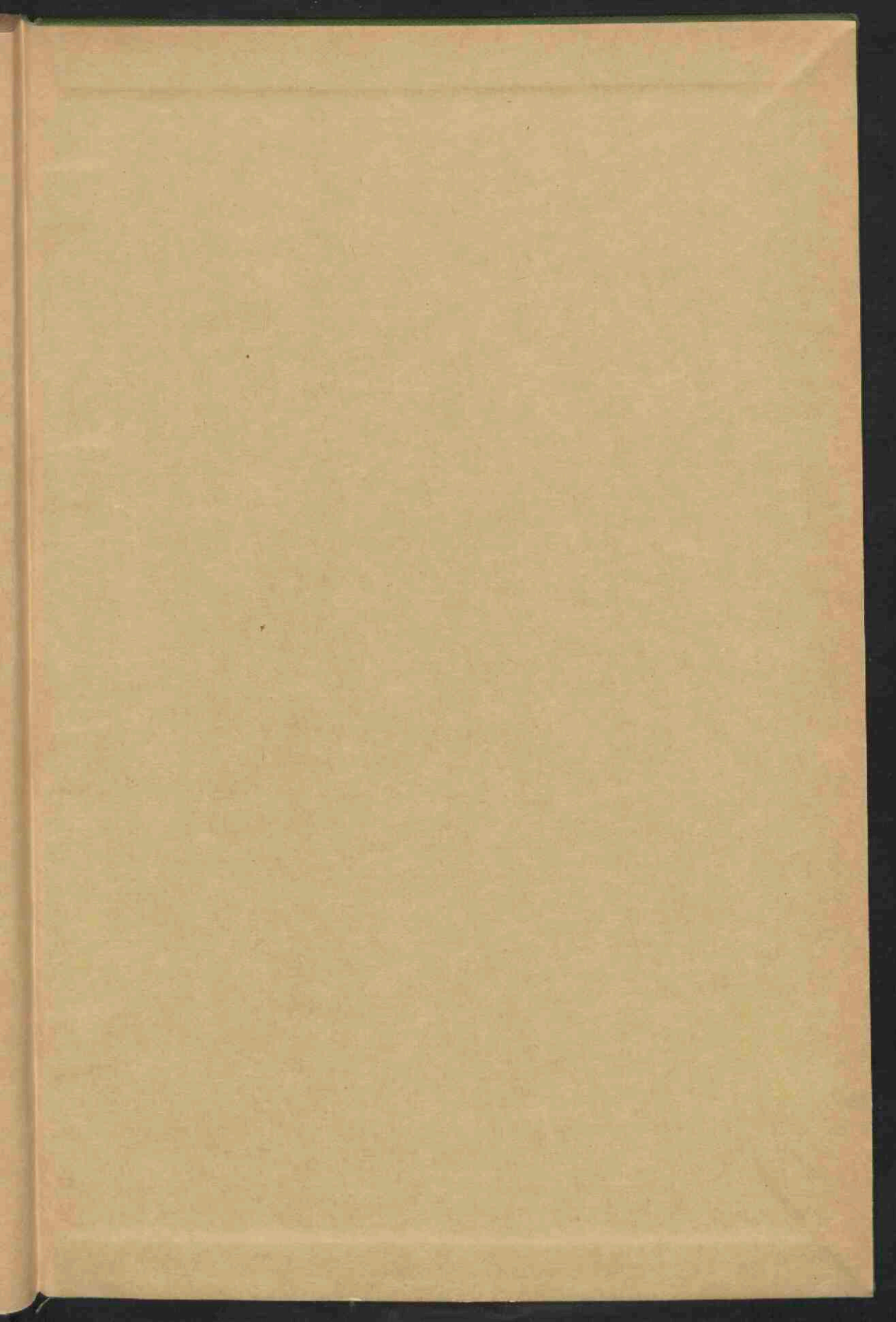
Er kunnen zich omstandigheden voordoen, die den medicus niet toelaten, om een waterbron, waaruit El Tor-vibrionen gekweekt zijn, voor het verder gebruik af te keuren.

F. H. Meyer, 1941, Proefschrift, Amsterdam.

XII.

Bij het treffen van maatregelen ter verbetering van den gezondheidstoestand van het Javaansche volk volge men het recept van Dr. Willem Bosch: „Geef vóór alles een behoorlijke huisvesting, voldoende kleeding en voldoende voeding.”

A. H. Borgers, 1941, Proefschrift, Utrecht.



1