

**Untersuchungen über die Filtration von
bakterien- und virushaltigem Wasser mit
Seitz-Entkeimungsschichten**

Von

H. v. SPROCKHOFF und H. WAITZ

B 70273

Sonderdruck aus Zentralblatt für Veterinärmedizin, Reihe B,
Band 12, Seite 231 bis 240 (1965), Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg

Untersuchungen über die Filtration von bakterien- und virushaltigem Wasser mit Seitz-Entkeimungsschichten

Von

H. v. SPROCKHOFF und H. WAITZ

Mit 5 Abbildungen

(Eingegangen am 3. März 1965)

Die keimfreie Filtration von Wasser zur Gewinnung von Trinkwasser erlangt in Krisen- und Notzeiten eine besonders große Bedeutung. Heute steht für den Ernstfall, wie beispielsweise bei Flut- und Hochwasserkatastrophen, eine Reihe von Verfahren für die Gewinnung keimfreien Trinkwassers zur Verfügung.

Im Rahmen einer Erprobung hatten wir Gelegenheit, Untersuchungen mit Seitz-Schichten der Typen EK und EKS durchzuführen. Im Vordergrund stand dabei die Frage nach der maximalen Filterbelastung durch spezifische Krankheitserreger. Hierüber liegt, was bakterielle Erreger anbelangt, im Schrifttum offensichtlich nur eine Angabe von KNÖLL vor. Er spricht sich in seiner umfangreichen Arbeit über die Bakterienfiltration hinsichtlich der Verwendung von Seitz-EK-Schichten lediglich dahingehend aus, „vor allem darauf zu achten, daß keine zu stark keimhaltigen Lösungen filtriert werden, da dann immerhin einmal mit dem Durchbruch von Keimen gerechnet werden muß“.

Auf dem Virusgebiet kennen wir aus den letzten Jahren die Untersuchungen von WILKE und ALBRECHT über die Adsorptionsfiltration von Coli-Bakteriophagen mit Seitz-Entkeimungsschichten und aus früherer Zeit diejenigen von WALDMANN und Mitarbeitern, welche die Gewinnung bakterienfreier Virussuspensionen mittels Seitzschichten-Filtration betreffen.

Material und Methoden

Die Versuche wurden mit einem Tornister-Filtergerät TOF 200 B (weiterhin als TOF-Gerät bezeichnet) der Firma Seitz-Werke, Bad Kreuznach, sowie mit zwei Seitz-Geräten „Laboratoriumsfilter Größe 6 nach Uhlenhuth“ aus Cr-Ni-Mo-Stahl mit 250 ml-Aufgußraum angestellt. Die Stundenleistung des TOF-Gerätes beträgt laut Angabe des Herstellers etwa 200 l; sie wurde aus technischen Gründen auf 100 l herabgesetzt. Das Gerät umfaßt acht Filterschichten von je 22 cm Durchmesser und 3,0—3,5 mm Dicke (lufttrocken). Die Schichten für die Uhlenhuth-Geräte hatten bei gleicher Dicke einen Durchmesser von 6 cm. Als Schichtensorten kamen die Typen EK (= Entkeimung) und EKS (der Buchstabe S ist die Abkürzung für Serum; EKS-Schichten werden vielfach für Serumfiltrationen benutzt) zur Anwendung. Beide Typen bestehen aus einer Mischung von Zellulosefasern mit fein fibrilliertem Asbest; bei den EKS-Schichten ist der Asbestanteil höher als beim EK-Typ. Sämtliche Filtra-

tionen erfolgten unter Anwendung von Druck. Dieser wurde beim TOF-Gerät in den Versuchen Nr. 1—10 mittels einer eingebauten Handpumpe und in den Versuchen Nr. 11—25 durch eine Labor-Motorpumpe erzeugt.

Die Sterilisation der Geräte einschließlich der Roh- und Reinwasserschläuche nahmen wir zumeist fraktioniert an drei aufeinander folgenden Tagen je eine Stunde bei 100° C in strömenden Dampf, in einigen Fällen für 15 Minuten bei 121° C im Autoklaven vor.

Als Testobjekte verwandten wir Bakterien und Virusarten. Die Bakterien umfaßten die Keime *Staphylococcus aureus* „ATCC 6538“, *Escherichia coli* der serologischen Gruppe O 26:B 6 sowie einen nicht näher klassifizierten *E. coli*-Stamm, *Salmonella typhimurium* „Münster 247/60“, *Salmonella gallinarum* „Münster“, *Brucella melitensis* „Erbach“ und *Bacillus cereus* var. *mycoides* „ATCC 9634“. Als Vertreter der Virusarten dienten uns der *Coli-Bakteriophage T₃* und das *Newcastle-Disease-Virus* (Erreger der atypischen Geflügelpest), Stamm „Ulrich“, vom Robert-Koch-Institut Berlin zur Verfügung gestellt.

Die Gewinnung der Testbakterien für die Beimpfung, d. h. für künstliche Verseuchung des Trinkwassers, erfolgte anfangs durch die Züchtung in Nährbouillon, später durch die Kultivierung auf festen Nährböden (Standard-I- und -II-Nähragar von Fa. Merck AG, Darmstadt, bzw. Albimi-Agar) mit anschließendem Abschwemmen und Suspendieren in m/90 phosphatgepufferter physiologischer Kochsalzlösung (abgekürzt m/90 PhNaCl) von pH 7,4.

Für die Keimzählung wurden Verdünnungen des künstlich verseuchten Leitungswassers von 10⁻¹ ab bis 10⁻⁶ durch Membranfilter (Typ K) im Bakteriennachweisgerät „Coli 5“ der Membranfiltergesellschaft, Göttingen, filtriert. Die Filter kamen sodann auf Nährkartonscheiben vorgenannter Firma bzw. auf selbstgefertigte Agarnährböden. Nach ein- bis dreitägiger Bebrütung bei 37° C folgte die Auszählung der Kolonien. Durch (zwei-) dreimaligen Ansatz der jeweiligen Verdünnung ließen sich Mittelwerte errechnen.

Die chemische Kurzanalyse des Leitungswassers ergab folgende Werte: pH 6,2; Gesamthärte 4,1 dH°; Chloride 35,5 mg/l; Sulfate 52 mg/l; Phosphate 0,056 mg/l; Nitrite 0 mg/l; Ammoniak 0 mg/l; Eisen 0,16 mg/l; KMnO₄-Verbrauch 2,8 mg/l. In 100 ml Leitungswasser befanden sich 10—100 Gesamtkeime und O-Coli-Bakterien bzw. coliforme Keime.

Die Entnahme der Proben während eines TOF-Gerät-Versuches mit Bakterien erfolgte in Abständen von 15—30 Minuten. Bei einer Stundenleistung von 100 l wurden somit zwei bis vier Stichproben von je 200—500 ml getestet. In den Uhlenhuth-Versuchen wurden stets alle gewonnenen Filtrate geprüft.

Die Verarbeitung dieser Stichproben nahmen wir durch Filtration mittels Membranfilter und nachfolgendem Kontakt der Filtermembranen mit festen Nährböden vor. Die Bebrütung bei 37° C erstreckte sich über drei bis fünf Tage. Für die Identitätsprüfung etwaiger gewachsener Bakterienkolonien benutzen wir bei *Salmonellen*, *Coli*-Keimen und *Brucellen* spezifische agglutinierende Antisera.

Zur Gewinnung der Coli-T₃-Phagen benutzten wir mit dem Stamm *E. coli* B/an beimpfte Dextrose-Nährbouillon. Zu dieser kamen nach 1½stündiger Bebrütung bei 37° C 2 ml Phagenlösung. Sobald eine vollständige Lysis eingetreten war — nach drei bis vier Stunden bei 37° C —, wurde die Bouillon eine Stunde lang bei 30 000 U/min = 107 000 g im Rotor „Pferd“ der Phywe-Ultrazentrifuge P 30 K ausgeschleudert, der Bodensatz in 2—3 ml/Röhrchen sterilem Leitungswasser aufgenommen und für 30 Minuten bei 56° C

im Wasserbad gehalten. — In einigen Fällen gewannen wir die Phagen durch Abschwemmung lysierter Agarplatten.

Die Verarbeitung der Proben aus den Versuchen mit den Uhlenhuth-Geräten erfolgte durch Ausschleudern sämtlicher fraktioniert gewonnener Filtrate (je 15 ml) in der Ultrazentrifuge bei 90 000 g, Ausspülung der Röhrchenkuppen mit kleinen Mengen m/90 PhNaCl und Ausspatelung dieser Flüssigkeiten auf Wasserblau-Dextrose-Agarschalen, die kurz vorher mit einer vierstündigen Bouillonkultur des *Coli*-Wirtsstammes beimpft worden waren. Daran schloß sich eine Bebrütung bei 37° C für etwa 18 Stunden an. In einigen Versuchen ersetzten wir diese Art der Anreicherung der Viren durch das Verfahren der Alginatmembranfilter-Filtration. Die Alginat-MF wurden von der Membranfilter-Gesellschaft, Göttingen, geliefert. Nach Filtration der einzelnen Fraktionen wurde die Alginatschicht in 2 ml einer 3,8%igen Natriumzitratlösung gelöst. Diese Lösungen verimpften wir sodann auf mehrere, kurz vorher mit dem *Coli*-Wirtsstamm beimpfte Agarschalen. Der 18stündigen Bebrütung bei 37° C folgten die Auszählung der Plaques bzw. die Beurteilung der Lysis.

Für die Versuche mit dem Geflügelpest-Virus benutzten wir durch Ultrazentrifugation gewonnenes Konzentrat — 1 Stunde bei 25 000 U/min = 75 000 g, Sediment in insgesamt 30 ml Eiflüssigkeit von normalen, nicht infizierten Hühnerembryonen aufgenommen — von infizierten embryonierten Eiern. Diese Viruskonzentrate von jeweils 30 ml Volumen mischten wir kurz vor Versuchsbeginn mit 470 ml sterilem Leitungswasser und verteilten dieses gleichmäßig auf zwei Uhlenhuth-Geräte mit EK- bzw. EKS-Schicht. Die Filtrate wurden, analog zu den Versuchen mit den Phagen, fraktioniert in Mengen von je 15 ml aufgefangen. Daran anschließend folgten eine einstündige Ausschleudern bei 75 000 g, das Abgießen der Überstände und das Ausspülen der Röhrchenkuppen mit kleinen Mengen m/90 PhNaCl, pH 7,4. Diese Lösungen der (nicht sichtbaren) Bodensätze kamen sodann zur Verimpfung an zehntägige Hühnerembryonen (0,2—0,3 ml je Ei, Methode nach Traub und Miehler). Die inokulierten Embryonen unterlagen einer ggf. bis zu fünf Tage langen Beobachtungsfrist.

Zur Bestimmung der LD₅₀ des virushaltigen Rohwassers injizierten wir zehntägigen embryonierten Hühnereiern Verdünnungen von 10⁻³ bis 10⁻¹² (je Verdünnung 4—5 Eier) in der Menge von 0,2 ml/Ei.

Als Kriterien für das Vorliegen einer NDV-Infektion der Embryonen galten das Absterben nach 1½—3 Tagen p.i., das Freisein von Bakterien, der positive Ausfall der Hämagglutinationsreaktion sowie ggf. die für die atypische Geflügelpest charakteristischen pathologisch-anatomischen Veränderungen (Rötung des ganzen Körpers, Blutungen an den Federfollikeln, Hämatom am Hinterkopf). Auf die letztgenannten organischen Veränderungen wurde jedoch nur ein begrenzter Wert gelegt, da von früheren Untersuchungen her derartige Befunde lediglich eine Wahrscheinlichkeitsdiagnose zulassen (v. SPROCKHOFF).

Ergebnisse

Die Ergebnisse der 12 Versuche mit dem TOF-Gerät sind in der Tabelle 1 enthalten und in den Abbildungen 1 und 2 noch einmal dargestellt. Bei *Salm. gallinarum* und *Salm. typhimurium* (Versuch 4—7) kam es nach Adsorption von Keimzahlen der Größenordnung 3×10^7 bis $3 \times 10^8/\text{cm}^2$ zum Bruch der EK-Schichten. *Brucella melitensis* wurde dagegen, wie der Versuch Nr. 12 zeigt, von der EK-Schicht mindestens in der Menge von $2 \times 10^9/\text{cm}^2$ zurückgehalten. Die EKS-Schicht im Versuch Nr. 9 adsorbierte sogar $1,6 \times 10^{10}$ Keime/cm².

Tabelle 1
Filtrationsversuche mit Bakterien im Tornister-Filtergerät
mit 2500 cm² effektiver Filterfläche

Ver- suchs- Nr.	Testkeim	Filter- typ	Keimgehalt des geimpf- ten Rohwas- sers in 1 ml	Durchbruch der Testkei- me erfolgt?	Filtratmenge bis zum Durchbruch bzw. - falls kein Durchbruch er- folgt - bis zum Versuchsende ml	Keimspezifische Filterbe- lastung*: bis zum Durch- bruch der Keime bzw. - falls ein Durchbruch nicht eintritt - bis zum Versuchs- ende, bezogen auf 1 cm ² Filterfläche	Bemerkungen
1	Staphylococcus	EK	$2,7 \times 10^7$	nein	1×10^5	1×10^7	im Rohwasser 200 ml Bouillon = 3,12 g Pepton
2	Bacillus cereus	EK	2×10^3	nein	$1,5 \times 10^6$	$1,2 \times 10^8$	
3	Salmonella typhimurium	EK	1×10^6	nein	1×10^5	4×10^5	im Rohwasser 100 ml Bouillon = 1,56 g Pepton
4	Salmonella gallinarum	EK	$1,4 \times 10^6$	ja	2×10^5	$1,7 \times 10^8$	im Rohwasser 400 ml Bouillon = 6,24 g Pepton
5	Salmonella gallinarum	EK	$1,4 \times 10^5$	ja	6×10^5	3×10^7	im Rohwasser 1200 ml Bouillon = 18,72 g Pepton
6	Salmonella gallinarum	EK	4×10^5	ja	4×10^5	7×10^7	im Rohwasser 2000 ml Bouillon = 31,2 g Pepton
7	Salmonella typhimurium	EK	4×10^6	ja	2×10^5	3×10^8	im Rohwasser 3500 ml Bouillon = 54,6 g Pepton
8	Brucella melitensis	EK	$2,7 \times 10^5$	nein	1×10^5	1×10^5	
9	Brucella melitensis	EKS	$1,9 \times 10^7$	nein	$2,1 \times 10^6$	$1,6 \times 10^{10}$	
10	Brucella melitensis	EK	7	nein	$1,5 \times 10^6$	$4,2 \times 10^3$	
11	Brucella melitensis	EKS	1×10^6	nein	$3,2 \times 10^6$	1×10^9	
12 **)	Brucella melitensis	EK	3×10^6	nein	2×10^6	2×10^9	

*) Keimspezifische Filterbelastung:

Keimgehalt des Rohwassers $\times$ Filtratmenge (bis zum Durchbruch bzw. Versuchsende)

**) Pumpendruck 6—7 m WS, Filtrierzeit 65—70 min

Filterfläche (= 2500 cm²)

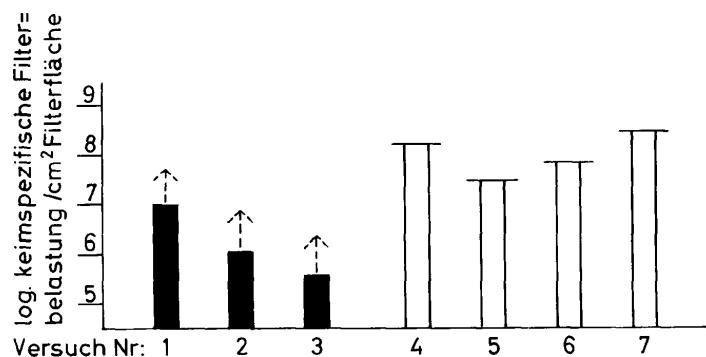


Abb. 1. Logarithmische Maximalwerte der keimspezifischen Filterbelastung, bezogen auf 1 cm² Filterfläche, der Tornistergerät-Versuche Nr. 1—7 mit EK-Schichten. Das Zeichen — am Säulengipfel bedeutet, daß der Keimdurchbruch kurz danach erfolgt ist. Die Pfeile zeigen den Nichteintritt des Keimdurchbruches an. Versuch Nr. 1 mit Staphyloc. aureus, Nr. 2 mit Bac. cereus var. mycoides, Nr. 3—7 mit Salmonella typhimurium bzw. gallinarum

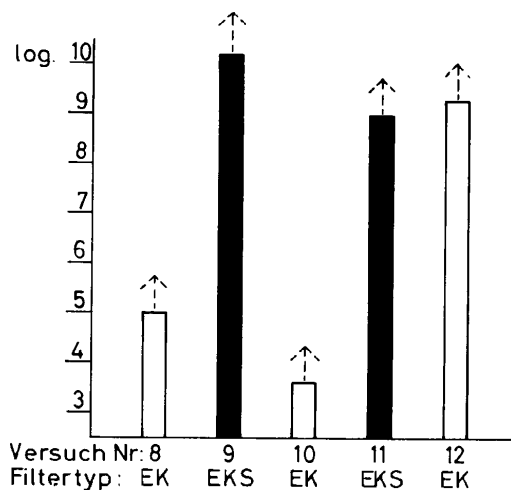


Tabelle 2 und die Abbildungen 3 und 4 enthalten die Resultate der Versuche mit den Uhlenhuth-Geräten. Hier war ein Durchbruch von *E. coli* durch EK-Schichten nach Adsorption von 5×10^8 bis $1 \times 10^9/\text{cm}^2$ und von *Salm. gallinarum* durch EK-Filter nach Adsorption von 2,6 mal 10^8 bis $4 \times 10^8/\text{cm}^2$ erfolgt.

Abb. 2. Logarithmische Maximalwerte der keimspezifischen Filterbelastung, bezogen auf 1 cm^2 Filterfläche, der Tornistergerät-Versuche Nr. 8–12 mit EK- bzw. EKS-Schichten
Testkeim: *Brucella melitensis*

Tabelle 2
Filtrationsversuche mit Bakterien in Uhlenhuth-Geräten
mit 20 cm^2 effektiver Filterfläche

Versuchs-Nr.	Testkeim	Filtertyp	Wasser	Pumpendruck in m (WS)	Filtrierzeit in Min. pro l	Keimgehalt des beimpften Rohwasser in 1 ml	Durchbruch der Testkeime erfolgt?	Filtratmenge bis zum Durchbruch bzw. falls kein Durchbruch erfolgt – bis zum Versuchsende ml	Keimspezifische Filterbelastung bis zum Durchbruch der Keime bzw. falls ein Durchbruch nicht eintritt – bis zum Versuchsende, bezogen auf 1 cm^2 Filterfläche
13	<i>Escherichia coli</i> (unbeweglich)	EKS	Aqua fontana			7×10^7	ja	3×10^3	1×10^{10}
14	<i>Salmonella gallinarum</i>	EK	Aqua fontana			8×10^6	ja	1×10^3	4×10^8
15	a <i>Escherichia coli</i> (unbeweglich)	EK	m/90 *) Ph H_2O		17,5 – 20	3×10^6	ja	$3,4 \times 10^3$	5×10^8
	b <i>Escherichia coli</i> (unbeweglich)	EKS	m/90 *) Ph H_2O		18 – 28	3×10^6	nein	1×10^4	$1,5 \times 10^9$
16	a <i>Escherichia coli</i> (unbeweglich)	EK	m/90 *) Ph H_2O	20 – 28	18 – 28	4×10^5	nein	6×10^3	$1,2 \times 10^8$
	b <i>Escherichia coli</i> (unbeweglich)	EKS	m/90 *) Ph H_2O	20 – 28	1,5 – 1,18 – 32 6,8 – 1,47 – 83 u. >	4×10^5	nein	$7,8 \times 10^3$	$1,6 \times 10^8$
17	a <i>Escherichia coli</i> (beweglich)	EK	Aqua fontana	21 – 33	12 – 85	1×10^7	ja	2×10^3	1×10^9
	b <i>Escherichia coli</i> (beweglich)	EKS	Aqua fontana	21 – 33	19 – 117	1×10^7	nein	$5,5 \times 10^3$	$2,8 \times 10^9$
18	a <i>Salmonella gallinarum</i>	EK	Aqua fontana	10 – 30	14 – 32	7×10^6	ja	$7,5 \times 10^2$	$2,6 \times 10^8$
	b <i>Salmonella gallinarum</i>	EKS	Aqua fontana	10 – 33	25 – 112	7×10^6	nein	8×10^3	$2,8 \times 10^9$
19	a <i>Brucella melitensis</i>	EK	Aqua fontana	13 – 32	17 – 75	5×10^7	ja	$7,5 \times 10^2$	$1,9 \times 10^9$
	b <i>Brucella melitensis</i>	EKS	Aqua fontana	13 – 32	27 – 97	5×10^7	nein	$7,25 \times 10^2$	$1,6 \times 10^{10}$
20	a <i>Brucella melitensis</i>	EK	Aqua fontana	13 – 22	12 – 25	6×10^6	ja	9×10^3	$2,7 \times 10^9$
	b <i>Brucella melitensis</i>	EKS	Aqua fontana	13 – 22	16 – 31	6×10^6	nein	9×10^3	$2,7 \times 10^9$
21	a <i>Brucella melitensis</i>	EK	Aqua fontana	15 – 20	19 – 37	7×10^7	ja	5×10^2	$1,6 \times 10^9$
	b <i>Brucella melitensis</i>	EKS	Aqua fontana	15 – 21	17 – 80	7×10^7	nein	9×10^3	$3,2 \times 10^{10}$

*) m/90 phosphatgepuffertes Aqua bidest. pH 6,4.

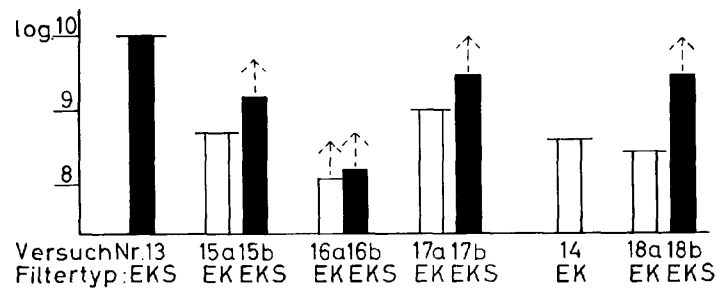


Abb. 3. Logarithmische Maximalwerte der keimspezifischen Filterbelastung, bezogen auf 1 cm² Filterfläche, der Uhlenhuthgerät-Versuche Nr. 13—18 mit EK- bzw. EKS-Schichten. Versuche Nr. 13, 15 und 17 mit *Escherichia coli*; Nr. 14 und 18 mit *Salmonella gallinarum*

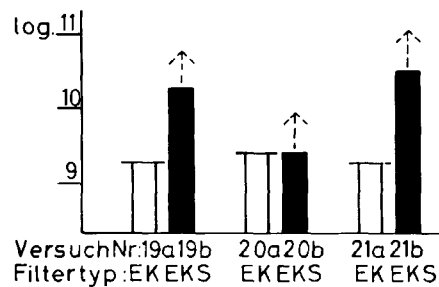


Abb. 4. Logarithmische Maximalwerte der keimspezifischen Filterbelastung, bezogen auf 1 cm² Filterfläche, der Uhlenhuthgerät-Versuche Nr. 19—21 mit EK- bzw. EKS-Schichten. Testkeim: *Brucella melitensis*

Tabelle 3
Ergebnisse der Versuche Nr. 22 und 23
mit Coli-T₃-Bakteriophagen in Uhlenhuth-Geräten

22 a mit EK - Schicht		22 b mit EKS - Schicht		23 a mit EK - Schicht		23 b mit EKS - Schicht	
Filtratmenge	Virus - nachweis	Filtratmenge	Virus - nachweis	Filtratmenge	Virus - nachweis	Filtratmenge	Virus - nachweis
75 ml (Filtrat 1 - 5)	positiv	75 ml (Filtrat 1 - 5)	positiv	75 ml (Filtrat 1 - 5)	negativ	75 ml (Filtrat 1 - 5)	negativ
60 ml (Filtrat 6 - 9)	positiv	60 ml (Filtrat 6 - 9)	positiv	45 ml (Filtrat 6 - 8)	negativ	45 ml (Filtrat 6 - 8)	negativ
60 ml (Filtrat 10 - 13)	positiv	45 ml (Filtrat 10 - 12)	positiv	15 ml (Filtrat 9)	negativ	15 ml (Filtrat 9)	negativ
15 ml (Filtrat 14)	positiv	15 ml (Filtrat 13)	positiv	15 ml (Filtrat 10)	negativ	15 ml (Filtrat 10)	negativ
15 ml (Filtrat 15)	positiv	15 ml (Filtrat 14)	positiv	je 15 ml der Filtrate 9 - 16	positiv	15 ml (Filtrat 11)	positiv
15 ml (Filtrat 16)	positiv	15 ml (Filtrat 15)	positiv	je 15 ml (Filtrat 12 - 16)	positiv	je 15 ml (Filtrat 12 - 16)	positiv
Filtrierzeit: 6,5' / 240 ml		9' / 225 ml		8' / 240 ml		12' / 250 ml	
Pumpendruck: 8 m WS		8 → 12 m WS		8 m WS		8 → 10 m WS	
Titration: 20 plaquebildende Teilchen in 0,2 ml der Verdünnung 10 ⁻⁶ , d. h. 1 · 10 ⁸ Teilchen / ml unverdünntem Rohwasser				Titration: ca. 50 plaquebildende Teilchen in 0,2 ml der Verdünnung 10 ⁻⁵ , d. h. ca. 2,5 · 10 ⁷ / ml unverdünntem Rohwasser			
Virusbelastung der Filterschicht: *) (1 - 3) 10 ⁸ / cm ²				Virusbelastung der Filterschicht bis zum Durch- bruch 1 · 10 ⁸ / cm ²			
(1 - 3) 10 ⁸ / cm ²				2 · 10 ⁸ / cm ²			

*) Infolge des schnellen Phagendurchbruches und der Mischung der ersten Filtrate (1—5) ließen sich hier Unterschiede zwischen EK- und EKS-Schicht nicht darstellen.

Demgegenüber hielt in Versuch Nr. 13 die EKS-Schicht noch 1×10^{10} *E. coli*/cm² zurück, ehe ein Durchbruch zustande kam. *Bruc. melitensis* ließ sich nach Filtration durch EK-Schichten erst nach Adsorption von (1,8—2,7) mal 10^9 /cm² im Filtrat nachweisen. Mit EKS-Filtern konnte der Endpunkt, d. h. der Keimdurchbruch, nicht ermittelt werden. Er lag mindestens zwischen $1,8 \times 10^{10}$ und $3,2 \times 10^{10}$ /cm².

Bei den Coli-T₃-Phagen traten die Durchbrüche, wie die Tabelle 3 zeigt, regelmäßig nach Adsorption von 10^8 Viruspartikeln/cm² auf. Die EKS-Schicht hielt doppelt so viel Phagen zurück als die EK-Schicht (s. Versuch Nr. 23 a und 23 b).

Das Newcastle-Virus (Tab. 4) wurde im EK-Filter bis zu einer Menge von $1,8—2,5 \times 10^{10}$ /cm² zurückgehalten. Die EKS-Schicht adsorbierte mindestens $2,5 \times 10^{10}$ /cm².

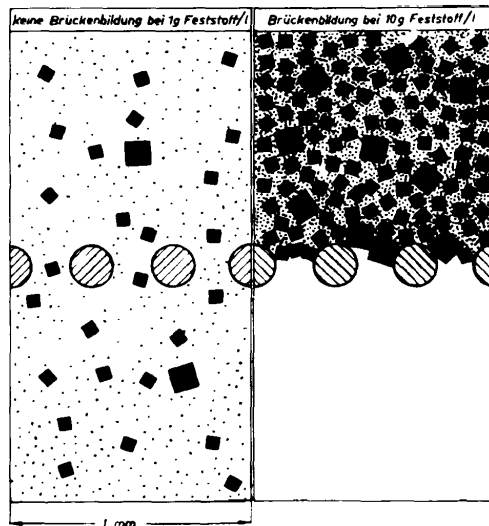
Tabelle 4
Ergebnisse der Versuche Nr. 24 und 25
mit Newcastle-Disease-Virus in Uhlenhuth-Geräten

24 a mit EK - Schicht		24 b mit EKS - Schicht		25 a mit EK - Schicht		25 b mit EKS - Schicht	
Filtratmenge	Virus - nachweis	Filtratmenge	Virus - nachweis	Filtratmenge	Virus - nachweis	Filtratmenge	Virus - nachweis
225 ml (Filtrat 1 - 15)	negativ						
15 ml (Filtrat 16)	positiv	250 ml (Filtrat 1 - 17)	negativ	250 ml (Filtrat 1 - 17)	negativ	225 ml (Filtrat 1 - 17)	negativ
15 ml (Filtrat 17)	positiv						
Filtrierzeit : 21' / 250 ml Pumpendruck : 4 → 10 m WS		41' / 250 ml 4 → 20 m WS		137' / 250 ml 10 → 40 m WS		227' / 225 ml 10 → 40 m WS	
- log LD ₅₀ des Rohwassers = 8,5 / 0,2 ml				- log LD ₅₀ des Rohwassers = 8,6 / 0,2 ml			
Virusbelastung der Filterschicht bis zum Durchbruch bzw Versuchsende				Virusbelastung der Filterschicht bis zum Versuchsende			
1,8 · 10 ¹⁰ / cm ²		2 · 10 ¹⁰ / cm ²		2,5 · 10 ¹⁰ / cm ²		2,5 · 10 ¹⁰ / cm ²	

Besprechung

Die Versuche ergaben eine maximale Filterbelastung des Typs EK mit Coli-Bakterien und Salmonellen in der Größenordnung von 10^8 bis 10^9 Keimen pro cm² Filterfläche. Für Brucellen lagen die Werte um eine Zehnerpotenz höher. EKS-Schichten adsorbierten, soweit sich hier der Endpunkt überhaupt ermitteln ließ, etwa 10mal mehr Keime. Diese Zahlen beziehen sich auf trübstofffreies Wasser (Trinkwasser). Bei trübstoffhaltigem Wasser (Oberflächenwasser aus Teichen, Flüssen, Bächen usw.) tritt erfahrungsgemäß schon vorher, ehe die für einen Keimdurchbruch erforderlichen Werte erreicht sind, eine Verstopfung der Filterschichten ein.

Eine Verstopfung der Schichten kam jedoch auch hier, bei Verwendung von Trinkwasser, in verschiedenen Versuchen mit hohem Keimangebot zustande. Die Ursache kann wohl in einer Art von Brückenbildung, wie sie kürzlich WILKE beschrieb, auf der Filteroberfläche in Form eines „selbstfiltrierenden“ Belages aus den Testkeimen liegen (s. Abb. 5). Die aus einer Mischung von Zellulosefasern mit fein fibrilliertem Asbest bestehenden Seitz-Schichten stellen bekanntlich lockere Tiefenfilter mit nicht definierter Porenbildung dar. Die Filterwirkung beruht nach BERNOULLI, KNÖLL und DE VINCENTE JORDANA sowie WILKE und ALBRECHT in der Hauptsache auf adsorptiven Vorgängen; eine Siebung spielt im Gegensatz zu Membranfiltern eine nur untergeordnete



Rolle. Die vermutete Brückenbildung ließe dann auch eine Erklärung für die wiederholt festgestellte größere Filterbelastung durch die wesentlich kleineren Brucellen ($0,3\text{--}1,0\mu$ lang und $0,5\text{--}0,7\mu$ breit) im Gegensatz zu Salmonellen und Coli-Bakterien ($1\text{--}3\mu$ lang, etwa $0,5\mu$

Abb. 5. Maßstabgerechtes Modell eines Siebes mit 900 Maschen/cm^2 (Maschenweite $0,16\text{ mm}$, Drahtstärke $0,17\text{ mm}$) und der Fettstoffverteilung (je 25% der Feststoffe mit 100 bzw. 10μ , 50% der Feststoffe mit 50μ).
Nach WILKE, H.: Fette, Seifen, Anstrichmittel **65**, 470 (1963)

breit) zu. Ein Keimdurchbruch kann jedoch stets als Erschöpfung der adsorptiven Eigenschaften der Filterschicht beurteilt werden.

Die mit Coli- T_3 -Phagen erzielten Ergebnisse stimmen gut überein mit denjenigen aus Versuchen von WILKE und ALBRECHT, die bei einem T_3 -Phagengehalt von 10^5 bis $10^6/\text{ml}$ eine maximale Filterbelastung zwischen $(1,5\text{--}2) \times 10^7/\text{cm}^2$ und $(1,5\text{--}2) \times 10^8/\text{cm}^2$ fanden.

Auch die hier mitgeteilten Resultate mit dem Newcastle-Disease-Virus weisen eine zufriedenstellende Einheitlichkeit auf. Durch das Ausbleiben des EKS-Filterbruches ließ sich zwar die Grenze der Belastbarkeit dieses Schichtentyps nicht feststellen; sie dürfte aber, gemessen an den Phagenversuchen, mindestens doppelt so hoch liegen.

Die Frage, warum die Filterschichten etwa 100mal mehr Partikel des Newcastle-Virus als T_3 -Phagen zurückhielten, läßt sich schwer beantworten. Das Geflügelpestvirus ist $120\text{--}180\mu$ groß und, je nach den vorliegenden Versuchsbedingungen (Lösungsmedium, Zeitpunkt der Virusgewinnung, Züchtungsverfahren, Vorbehandlung), von variabler Gestalt. Man spricht hier auch von Plastizität. Der T_3 -Phage wiederum hat einen 50μ großen Kopf und einen $10 \times 15\mu$ großen stummelartigen Schwanz. Er ist somit wesentlich kleiner als das Newcastle-Virus. Inwieweit diese Faktoren — unterschiedliche Größe und Gestalt — und vielleicht andersartige elektrische Ladungsverhältnisse an der verschieden starken Adsorption durch die Filterschichten ursächlich beteiligt sind, ist mit Bestimmtheit nicht zu sagen. Unberücksichtigt mag hier auch die Frage bleiben, inwieweit Viruspartikel mit LD_{50} -Einheit identisch ist, aus wie vielen Teilchen sich also eine LD_{50} -Einheit zusammensetzt. Nach Untersuchungen von SCHÄFER, SCHRAMM und TRAUB beträgt die LD_{50} von reinsten Präparationen des Newcastle-Virus $10^{-14,9}\text{ gN/Ei}$, das entspricht einer Menge von sechs Viruspartikeln. Auf die T_3 -Phagen bezogen hieße diese Frage, ob ein Plaque durch ein einzelnes Phagenteilchen oder durch ein Konglomerat mehrerer Partikel gebildet wird. Ähnliche Fragen stellen sich auch bei der Keimzählung von Bakterien in flüssigen Substraten. Bei Virusarten läßt sich eine Klärung wohl nur durch elektronenmikroskopische Vergleichsuntersuchungen herbeiführen.

Zusammenfassung

Es wurden Untersuchungen über die maximale Belastbarkeit von Seitz-Entkeimungsfiltren durch Bakterien und Virusarten unter Verwendung des Tornister-Filtergerätes TOF 200 B und des Laboratoriumsfilters nach Uhlenhuth durchgeführt.

Die maximale Filterbelastung des Typs EK lag für Coli-Bakterien und Salmonellen zwischen 10^8 und 10^9 Keimen/cm², für Brucellen zwischen 10^9 und 10^{10} /cm². EKS-Schichten hielten etwa 10mal mehr Keime zurück. Diese Zahlen beziehen sich auf trübstoff-freies Wasser.

Gegenüber Viren verhielten sich die EK-Schichten je nach Art des Agens unterschiedlich. Newcastle-Disease-Virus aus der Parainfluenzagruppe wurde bis zur Menge von $(1-2) \times 10^{10}$ infektiösen Einheiten/cm², Coli-T₃-Bakteriophagen bis zur Menge von $(1-3) \times 10^8$ plaque-bildenden Einheiten/cm² zurückgehalten. Das Adsorptionsvermögen von EKS-Schichten lag bei den Phagenversuchen um das doppelte über demjenigen der EK-Filter. Bei den Versuchen mit dem Newcastle-Virus ließ sich die maximale Belastbarkeit des EKS-Typs nicht ermitteln.

Summary

Studies on Seitz filtration of water containing bacteria and viruses

Studies were carried out on the maximal capacity of Seitz filters for bacteria and viruses, using the Tornister filter apparatus TOF 200 B and the laboratory filter of Uhlenhuth.

The maximal capacity of the E.K. filter for *E. coli* and salmonella was between 10^8 and 10^9 organisms/sq.cm. and for brucella between 10^9 and 10^{10} /sq.cm. E.K.S. filters held back about 10 times as many organisms. These figures apply to water free from turbidity.

The behaviour of the E.K. filter with viruses depends on the particular virus concerned. For Newcastle disease virus, in the para-influenza group, amounts of $(1-2) \times 10^{10}$ infectious units/sq.cm. and *E. coli*-T₃-bacteriophage $(1-3) \times 10^8$ plaque-producing units/sq.cm. were retained.

The absorption ability of E.K.S. filters was double that of the E.K. in respect of the bacteriophage. Experiments with Newcastle disease virus did not yield a maximal retention for the E.K.S. filter.

Résumé

Recherches sur la filtration d'eau contenant des bactéries et des virus au moyen des membranes stérilisantes de Seitz (Seitz-Entkeimungsschichten)

On effectua des recherches concernant la charge maximum que peuvent supporter les filtres de Seitz en bactéries et en virus lors de l'emploi de l'appareil de filtration Tornister TOF 200 B et du filtre de laboratoire d'Uhlenhuth.

La charge maximum se trouvait pour le type EK entre 10^8 et 10^9 germes par cm² pour les colibacilles et les Salmonella, et entre 10^9 et 10^{10} germes par cm² pour les Brucella. Les membranes EKS retinrent environ dix fois plus de germes. Ces chiffres se rapportent à une eau exempte d'impuretés.

Envers les virus la membrane EK se comporta d'une manière différente selon l'agent. Le virus de la maladie de Newcastle du groupe parainfluenza fut retenu jusqu'à $(1-2) \times 10^{10}$ unités infectieuses par cm²; les bactériophages Coli T₃ jusqu'à $(1-3) \times 10^8$ unités formant des plaques par cm².

La force d'adsorption des membranes EKS fut dans les essais concernant les phages environ de double de celle des filtres EK. Dans les essais avec le virus de la maladie de Newcastle on ne put déterminer la charge maximum pour le type EKS.

Resumen

Estudios sobre la filtración de agua que contiene bacterias y virus con placas esterilizantes Seitz

Efectuáronse experimentos sobre la capacidad de recarga máxima de los filtros esterilizantes Seitz por medio de bacterias y especies virósicas empleando el aparato-mochila de filtración TOF 200 B y el aparato de laboratorio según Uhlenhuth.

La sobrecarga máxima de la placa de tipo EK se hallaba para colibacterias y salmonelas entre 10^8 y 10^9 gérmenes/cm², para brucelas entre 10^9 y 10^{10} gérmenes/cm². Las placas EKS retenían unas 10 veces más gérmenes. Estas cifras se refieren a agua desprovista de sustancias de enturbiamiento.

Frente a los virus, las placas DK se comportaron de forma diversa, según el tipo del agente. El virus de la enfermedad de Newcastle, del grupo para-influenza, se retuvo hasta la cantidad de $(1-2) \times 10^{10}$ dosis infecciosas/cm², mientras que bacteriófagos coli-T₃ hasta la cantidad de $(1-3) \times 10^8$ unidades formadoras de placas/cm².

La fuerza de adsorción de las placas EKS se encontraba duplicada en las pruebas con fagos con relación a la de los filtros EK. En los ensayos con el virus de Newcastle no se pudo determinar la capacidad máxima de sobrecarga del tipo EKS.

Literaturverzeichnis

1. BERNOULLI, R., 1943: Arch. Virusforsch. 2, 533. • 2. KNÖLL, H., 1941: Erg. Hyg. 24, 266. • 3. SCHÄFER, W., G. SCHRAMM und E. TRAUB, 1949: Z. Naturforsch. 4b, 157 zit. nach SCHRAMM, G., 1954: Biochemie der Viren; Springer, S. 241. • 4. v. SPROCKHOFF, H., 1960: Deutsche tierärztl. Wschr. 67, 14. • 5. DE VINCENTE JORDANA, R., 1959: Appl. Microbiol. 7, 239. • 6. WALDMANN, O., G. PYL, O. HOBOM und H. MÖHLMANN, 1941: Zbl. Bakt. I Orig. 148, 1. • 7. WILKE, H., 1963: Fette, Seifen, Anstrichmittel 65, 470. • 8. WILKE, H., und J. ALBRECHT, 1961: Arch. Hyg. 145. und 1962: Arch. Hyg. 146.

Anschrift der Verfasser: Reg.-Rat Dr. med. vet. H. v. Sprockhoff, 3042 Munster, Brucknerstraße 15; Reg.-Rat Dr. rer. nat. H. Waitz, 3042 Munster, Hermann-Billing-Straße 22.