

## Voorkomen en eliminatie van Salmonella in oxydatiesloten\*)

### Inleiding

Bij voorgaande onderzoeken werd de capaciteit van een klassieke rioolwaterzuiveringsinstallatie om salmonellae te elimineren door middel van belastingsproeven gemeten (Kampelmacher en van Noorle Jansen, 1970). In het thans te beschrijven onderzoek werd getracht de eliminatiecapaciteit te bepalen van oxydatiesloten, welke in kleinere gemeenten voor de zuivering van afvalwater worden gebruikt. Reeds bij het begin der onderzoeken bleek, dat deze eliminatiecapaciteit ten opzichte van salmonellae niet exact is te meten. Dit heeft de volgende oorzaken. Ten eerste is de aanvoer van influent niet continu en ten tweede is de vijzel waarmee het influent naar de door ons onderzochte oxydatiesloten wordt gepompt, niet constant in werking. Tengevolge hiervan is de omlooptijd van de circuitvloei stof en de hoeveelheid effluent wisselend. Een berekening van een aantal ingebrachte en afgevoerde indicatorkiemen per hoeveelheid water is daardoor niet mogelijk. Ten derde bleken bij deze onderzoeken in het effluent der installaties, naast het ingebrachte type, vele andere Salmonellatypen aanwezig te zijn, waardoor het terugvinden van de ingebrachte Salmonellakiemen sterk bemoeilijkt werd. Wel gelukte het in een bepaalde tijds eenheid het aantal Salmonellakiemen per 100 ml influent, c.q. circuitvloei stof en effluent te bepalen. Op deze wijze konden schattingen betreffende het zuiverende vermogen der installaties worden verricht. Bij één installatie kon ook een bron van de Salmonellacontaminatie worden opgespoord.

### Materiaal en methoden

Er werden twee installaties gekozen, waarbij installatie A oxydatiesloot type Berkel en installatie B oxydatiesloot type Scherpenzeel vertegenwoordigt (Zeper en de Man, 1970). Installatie A bevindt zich in een plaats met 3200 inwoners, installatie B in een plaats met 6750 inwoners. Schetsen en beschrijvingen van deze installaties zijn op aanvraag door bemiddeling van de auteurs te verkrijgen.

In installatie A werd circuitvloei stof en

\*) Dit onderzoek werd uitgevoerd in opdracht van de Hoofdinspectie voor de Hygiëne van het Milieu.

1) Serologische typering werd verricht in de Afdeling Enterobacteriaceae (Hoofd dr. P. A. M. Guinée) van het Bacteriologisch-Serologisch Laboratorium van het RIV.

TABEL I - Salmonella-isolaties uit effluent van 2 oxydatiesloten

Installatie	geïsoleerd Salmonella type	31-10-67	14-11-67	28-11-67	20-2-68	5-3-68
A	S.brandenburg	+	—	—	—	—
	S.give	+	—	+	+	—
	S.livingstone	+	+	—	—	—
	S.panama	+	—	—	—	—
	S.typhi murium	+	+	+	+	—
	MPN/100 ml	3,3 kiemen	0,6 k	4,9 k	0,9 k	< 0,2 k
B	S.brandenburg	—	+	—	—	—
	S.livingstone	+	+	—	—	—
	S.manchester	+	+	—	—	—
	S.panama	—	—	+	+	—
	S.stanley	—	—	—	+	—
	S.thompson	—	—	—	+	—
	S.typhi mirium	—	+	+	—	—
	S.typhi murium V-	—	+	—	—	—
MPN/100 ml	350 kiemen	17 k	1,7 k	1,7 k	< 0,2 k	

effluent bemonsterd, in installatie B influent en effluent. Bij iedere bemonstering werd in een tijdsbestek van 30 minuten 5 maal 100 ml verzameld en vervolgens in een 1 l fles bij elkaar gevoegd.

De 500 ml mengmonsters werden vervolgens na goed schudden binnen 4 uur zowel kwalitatief alsook kwantitatief (MPN — most probable number — methode) op salmonellae onderzocht. Als ophopingsvloei stoffen werden gebruikt tetrathionaatbouillon volgens Muller-Kauffmann (MK) (Edel en Kampelmacher, 1968) en de geconcentreerde vorm hiervan (c MK). De samenstelling hiervan is als volgt: 100 ml 10-voudig geconcentreerde tetrathionaatbouillon, 54 ml rundergal, 10,8 ml briljantgroen 0,1 %, 108 ml thiosulfaat 50 %, 21,6 ml Jodiumoplossing, kalk.

Van ieder mengmonster werd 5 maal 10 ml, 5 maal 1 ml en 5 maal 0,1 ml in respectievelijk 3 ml c MK, 9 ml MK en 9 ml MK onderzocht. Zowel na 18 als ook na 48 uur incubatie bij 43° C werd uitgestreken op briljantgroen-fenolrood-agarplaten (BGA) met een doorsnede van 14 cm (Edel en Kampelmacher, 1968). De platen werden gedurende 20 uur bij 37° C bebroed. Per plaat werden tenminste 3 verdachte kolonies biochemisch en serologisch onderzocht<sup>1)</sup>.

De zojuist beschreven isolatieprocedure heeft in voorafgaande proeven, waarbij verschillende media en temperaturen werden vergeleken, de beste resultaten opgeleverd (niet gepubliceerde gegevens).

### Resultaten

Bij onderzoeken van oktober 1967

tot maart 1968 werd getracht een indruk te verkrijgen omtrent de kwalitatieve en kwantitatieve aspecten van een eventuele lozing van salmonellae met het effluent in de beide installaties. Bemonstering vond plaats 5 maal gedurende de wintermaanden van eind oktober tot begin maart. De resultaten van deze onderzoeken zijn in tabel I samengevat.

Samenvattend kan op grond van deze resultaten worden gezegd, dat in beide installaties een wisselend aantal Salmonellatypen in het effluent voorkomt en dat het aantal salmonellae per 100 ml op één uitzondering na (350 kiemen/100 ml) minder dan 20 kiemen bedraagt.

TABEL II - Onderzoek rioolwaterzuiveringsinstallatie A

tijd	Circuitvloei stof MPN/100 ml	Effluent MPN/100 ml
9.00	12	4,5
9.30	6,1	
10.00	4	2
10.30	8,2	2
11.00	240	7,8
11.30	140	46
12.00	130	22
12.30	79	
13.00	46	33
13.30	11	79
14.00	14	17
14.30	21	27
15.00	79	33

  

Geïsoleerd Salmonella type	Geïsoleerd Salmonella type
S.give	S.infantis
S.infantis	S.panama
S.panama	

TABEL III - Onderzoek installatie A

datum	tijd	Kippenslachterij		Rioolwaterzuiveringsinstallatie			
		Afalwater		Circuitvloeistof		Effluent	
		MPN/100 ml	geïsoleerd Salmonella type	MPN/100 ml	geïsoleerd Salmonella type	MPN/100 ml	geïsoleerd Salmonella type
4 juni	10.00	< 2	—	540	S.panama S. III, X	23	S. VI, VII S. III, X
	12.00						
	13.00						
11 juni	10.00	< 2	—	140	S.infantis S.panama S.tennessee	4	S.infantis S.tennessee
	12.00						
	13.00						
18 juni	10.00	< 2	—	920	S.panama S.tennessee	14	S.panama
	12.00						
	13.00						

TABEL IV - Onderzoek installatie B

datum	tijd	Varkensslachterij		Rioolwaterzuiveringsinstallatie			
		Afalwater		Influent		Effluent	
		MPN/100 ml	geïsoleerd Salmonella type	MPN/100 ml	geïsoleerd Salmonella type	MPN/100 ml	geïsoleerd Salmonella type
4 juni	9.30	430	S.derby S.tennessee	79	S.derby S.tennessee	< 2	—
	11.30						
11 juni	9.30	9,3	S.infantis S.panama	130	S.bredeney S.infantis S.panama S.typhi murium	< 2	—
	11.30						
18 juni	9.30	1600	S.panama S.tennessee	1600	S.panama S.tennessee S.typhi murium	11	S.tennessee
	11.30						
	12.30						

TABEL V - Tweede onderzoek installatie B

datum	tijd	Varkensslachterij		Rioolwaterzuiveringsinstallatie			
		Afalwater		Influent		Effluent	
		MPN/100 ml	geïsoleerd Salmonella type	MPN/100 ml	geïsoleerd Salmonella type	MPN/100 ml	geïsoleerd Salmonella type
27 juli	15.00	34	S.binza S.infantis S.panama S.typhi murium	23	S.typhi murium	2	S.typhi murium
29 juli	15.00	> 2400	S.binza S.infantis S.typhi murium S.typhi murium var. copenhagen	1600	S.infantis S.typhi murium	11	S.infantis S.typhi murium
31 juli	9.30	> 2400	S.infantis S.typhi murium S.typhi murium var. copenhagen	> 2400	S.infantis S.typhi murium	2	S.typhi murium
3 aug.	7.30	70	S.infantis S.typhi murium	920	S.infantis S.typhi murium	7,8	S.infantis

In een volgende proef werd getracht bij één der installaties (A) het voorkomen van *Salmonellae* in circuitvloeistof en effluent gedurende een langere aaneengesloten periode te bepalen en wel door tussen 9 uur en 15 uur om het half uur monsters te verzamelen. De gegevens van deze proef zijn in tabel II samengevat. Er blijkt hieruit een overeenstemming van typen en een reductie van één decimaal bij een aantal metingen, rekening houdende met het feit dat een deel van de circuitvloeistof van vóór 12.00 uur, vanaf 13.00 uur effluent is.

Het regelmatig voorkomen van salmonellae leidde tot verdere onderzoekingen met betrekking tot de aanvoer van de diverse typen. Uit informaties van de Geneeskundige Hoofdspectie van de Volksgezondheid bleek, dat noch gedurende de onderzoeksperiode, noch gedurende 6 maanden daarvoor in de plaatsen, waar de installaties A en B zich bevinden, patiënten met een *Salmonella*-infectie, veroorzaakt door één der gevonden typen, waren gemeld. In de plaats van installatie A bevond zich echter een grote pluimveeslachterij en in de plaats van installatie B een exportvarkensslachterij, die beide op de plaatselijke riolering zijn aangesloten en welke als potentiële bronnen van *Salmonella*-besmetting beschouwd kunnen worden (Edel en Kampelmacher, 1970; Van Schothorst et al., 1965). Op 3 verschillende data werden vervolgens onderzoekingen op het voorkomen van salmonellae uitgevoerd, zowel met betrekking tot het afvalwater van de beide zojuist genoemde bedrijven, alsook van het influent, c.q. circuitvloeistof en effluent der installaties. Laatsgenoemde bemonstering geschiedde 2 uur na de bemonstering bij de bedrijven. De resultaten van deze onderzoekingen zijn in de tabellen III en IV samengevat. Op grond van de verkregen resultaten werd het onderzoek bij de varkensslachterij en installatie B nog 4 maal herhaald, vooral nadat was gebleken, dat door deze onderzoekingen een indruk omtrent de zuiverende werking der installatie ten opzichte van *Salmonellakiemen* kon worden verkregen. De resultaten van de tweede reeks onderzoekingen zijn in tabel V samengevat.

#### Discussie

Op grond van de hierboven beschreven resultaten kan worden geconcludeerd, dat met het effluent van oxydatiesloten regelmatig *Salmonellakiemen* worden geloosd, indien via het rioolstelsel aanvoer van dergelijke kiemen plaatsvindt. Er blijkt verder, dat deze aanvoer kan geschieden ook zonder dat in de betreffende woongebieden patiënten, lijdende aan een *Salmonella*-infectie, bekend zijn.

Het niet aangeven van ziektegevallen behoeft overigens niet te betekenen, dat er geen patiënten zijn. Er kunnen gevallen voorkomen, die te licht zijn om me-

dische hulp in te roepen, terwijl — indien dit wel het geval is — niet door middel van kweek de diagnose *Salmonellosis* zal worden gesteld. Bovendien kunnen mensen korte tijd *Salmonellakiemen* uitscheiden zonder ziekteverschijnselen te vertonen, al moet worden gesteld, dat het aantal *Salmonellakiemen* per gram faeces bij dergelijke personen wisselend en klein is. Gezien de betekenis van *Salmonella*-infecties bij dieren en de mogelijkheid van contaminatie, vooral van water tijdens het slachtproces, werd naar slachterijen als bron van aanvoer van *Salmonella* gezocht. In de plaats van installatie A blijkt de kippen-slachterij tijdens deze proef niet als zodanig gefungeerd te hebben, waarbij echter moet worden bedacht, dat het hierbij om momentopnamen gaat en dat bekend is, dat *Salmonella*-infecties bij pluimvee zich sterk op bepaalde koppels kunnen concentreren. Dit neemt niet weg, dat op de door ons gekozen dagen salmonellae in niet onaanzienlijke hoeveelheden in installatie A werden aangevoerd. Men zou hierbij alsnog aan niet herkende patiënten of aan mensen, die korte tijd *Salmonellakiemen* uitscheiden, kunnen denken, zoals hierboven uiteengezet, maar ook aan de drie zelf slachtende slagers binnen de gemeente, die op de riolering zijn aangesloten.

In de plaats van installatie B is de invloed van de varkensslachterij wel duidelijk. Bij alle 7 onderzoekingen werden dezelfde *Salmonellatypen* in het afvalwater van het bedrijf en in het in- en effluent van de installatie gevonden. Dat er niet een volledig parallelisme bestaat — er worden typen bij de slachterij gevonden, die niet uit in- en effluent werden gekweekt en omgekeerd — is gemakkelijk te verklaren.

Ten eerste zal de varkensslachterij niet de enige bron van *Salmonellatoevoer* zijn, ten tweede is het zeer onwaarschijnlijk, dat gezien de werking van de oxydatiesloot, een continue doorstroming van afvalwater vanuit het bedrijf via de installatie plaatsvindt, te meer daar de door ons gekozen tijd van 2 uur slechts een willekeurig gekozen tijdsperiode is en ten derde is het bij de gebruikte isolatietechniek van *Salmonellakiemen* praktisch niet doenlijk verschillende *Salmonellatypen* uit één kweek te isoleren. Desalniettemin ondersteunen de resultaten, verkregen bij het onderzoek van installatie B, de hypothese betreffende de kringloop van salmonellae in de na-

tuur. Via het effluent worden oppervlaktewateren besmet, waardoor direct of via vogels, knaagdieren en insecten de infectie op de slachtdieren kan worden overgebracht, waardoor de kring wordt gesloten. Gezien de hoge infectiegraad van slachtdieren en tengevolge daarvan de sterke contaminatie van vleesoppervlakten, moet bij slachterijen en vleesverwerkende bedrijven bijzondere aandacht worden geschonken aan de decontaminatie van afvalwater, wanneer dit de slachterij verlaat, of moet decontaminatie van het effluent bij de rioolwaterzuiveringsinstallatie plaatsvinden, bijvoorbeeld door middel van chlorering.

Uit de resultaten is bovendien een goed inzicht te verkrijgen omtrent de kwantitatieve verhoudingen in afvalwater, influent en effluent en de salmonellae eliminerende werking der installatie. Terwijl de verschillen tussen het aantal salmonellae in het afvalwater der bedrijven en in het influent bij de installatie niet wijzen in de richting van een *Salmonella* eliminatie, wordt bij een vergelijking van influent c.q. circuitvloeistof en effluent in alle effluenten een 1- tot 2-decimalige reductie waargenomen, een enkele maal (31 juli) zelfs een 3-decimalige reductie. Hieruit blijkt, dat het reducerende vermogen ten opzichte van salmonellae in de door ons onderzochte installatie niet minder is dan bij een „klassieke” rioolwaterzuiveringsinstallatie, zoals eerder beschreven.

#### Samenvatting

Nadat was gebleken, dat de zuiverende werking van oxydatiesloten ten opzichte van *Salmonellakiemen* in tegenstelling tot klassieke rioolwaterzuiveringsinstallaties niet exakt kon worden bepaald, werden onderzoekingen verricht, waarbij het mogelijk was in een bepaalde tijds-eenheid het aantal *Salmonellakiemen* per 100 ml influent, c.q. circuitvloeistof en effluent te bepalen. Op deze wijze was het mogelijk schattingen betreffende het zuiverende vermogen der installatie ten opzichte van *Salmonellakiemen* te verrichten. Uit de resultaten is gebleken, dat het reducerende vermogen van de hier onderzochte installatie niet minder is dan bij een klassieke rioolwaterzuiveringsinstallatie, zoals eerder beschreven. Tijdens de onderzoekingen kon bij één der installaties een bron van *Salmonella*-contaminatie worden opgespoord. Deze onderzoekingen ondersteunen de hypothese over de kringloop van salmonellae in de natuur.

#### Literatuur

- Edel, W. and Kampelmacher E. H. (1968). *Comparative studies on Salmonella isolation in eight European laboratories*. Bull. Wild Hlth. Org., 39, 487-491.  
Edel, W. en Kampelmacher E. H. (1970). *Salmonella in mesenteriale en portale lymfklieren in faeces van normale slachtvarkens*. Tijdschr. Diergeneesk., 95, 283-288.  
Kampelmacher, E. H. en Noorle Jansen, L. M. van (1970). *Voorkomen van salmonellae in in- en effluent en de eliminatie van Salmonellae tijdens de zuivering in een rioolwaterzuiveringsinstallatie*. H<sub>2</sub>O, 3 124-126.  
Schothorst, M. van, Guinée, P. A. M., Kampelmacher, E. H. en Keulen, A. van (1965). *Onderzoek naar het voorkomen van Salmonellakiemen bij slachtkippen en -kuikens in Nederland*. Tijdschr. Diergeneesk., 90, 1523-1531.  
Zeper, J. en Man, A. de (1970). *Grote oxydatiesloten type carousel*. H<sub>2</sub>O, 19, 467-473.