Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 46 (1955)

Heft: 5

Artikel: Vergleichende Untersuchungen des Nachweises von Escherichia coli in Trink- und Flusswasser

Autor: Emmenegger, Titus

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-983105

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 16.07.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Vergleichende Untersuchungen des Nachweises von Escherichia coli in Trink- und Flusswasser

Von *Titus Emmenegger*

(Mitteilung aus dem kantonalen Laboratorium Basel, Vorstand: Dr. R. Müller)

Einleitung

Die Unzulänglichkeiten des Colinachweises nach den Methoden des Schweizerischen Lebensmittelbuches [1]) sind wohl jedem Praktiker bekannt, siehe auch bei *Thomann* [2]), *Ritter* [3]) und *Bosset* [4]). Anderseits wird dem Colinachweis im Trinkwasser immer grössere Beachtung geschenkt, ist doch mit dem Auftreten von Colibakterien eine Möglichkeit fäkaler Verunreinigungen und damit eine Gefährdung des Trinkwassers mit pathogenen Organismen gegeben.

Schon *Groetschel* [5]), *Singer* [6])[7])[8]), *Thomann* (1951) *u.a.m.* fiel es auf, dass bei den üblichen Methoden der Colimetrie nicht jede Gasbildung (= Vergärung des Milchzuckers) und Ansäuerung im Nährboden nur durch die Anwesenheit von Coli-Aerogenes-Organismen verursacht werden. Nach *Kauffmann* [9]) gibt es aber auch Stämme von Escherichia coli, die Lactose nicht spalten. Doch scheint nach *Kauffmann* (1954) das biochemische Verhalten der verschiedenen Escherichia coli-Stämme konstant zu sein.

Die grosse Zahl der Nährmedien, welche zum Nachweis angegeben wird, ist das beste Zeichen dafür, dass allen Verfahren Fehler anhaften. *Groetschel* (1924) glaubte, die fehlende Gasbildung sei auf den Gehalt an Nitraten im Untersuchungswasser zurückzuführen. *Suckling* [10]) schreibt, dass durch die Verwendung von Gallensalzen im Medium durch amerikanische Forscher die Abweichungen der «mutmasslichen Probe» (= presumptive coliform Test [nach den Amerikanischen Einheitsmethoden [11]]) zur endgültigen Identifikation höchstens 5—10 % betrugen, je nach Art des verwendeten Wassers.

Nachdem es sich gezeigt hatte, dass durch die von *Stark* und *England* [12]) empfohlene Ricinoleat-Formiat-Bouillon eine wesentliche Verbesserung in der Kultivierung der zur Escherichia-Aerobacter-Gruppe gehörenden Organismen eingetreten war, wurde das neue Nährmedium auch in unserem Laboratorium für Colibestimmungen im Trinkwasser eingeführt.

Seit Oktober 1953 bemühten wir uns, die Bestimmungen des Colititers nach *Eijkman* und *Bulir* der uns zur bakteriologischen Untersuchung eingesandten Wasser verschiedenster Herkunft in vier hiefür geeigneten Bouillons und hie und da von unfiltrierten Rohwässern mit Hilfe der Coli-Membranfiltermethode vorzunehmen. Die Membranfiltergesellschaft (Sartorius-Werke AG) Göttingen stellte uns die notwendigen Membranfilter «Coli 5» in verdankenswerter Weise zur Verfügung.

Es schien uns notwendig, während einer relativ längeren Untersuchungsdauer die bei der Routinebestimmung von Escherichia coli im Trink- und Flusswasser mit verschiedenen Kulturmedien gewonnenen Resultate und Erfahrungen — nach der Methode von *Eijkman* und *Bulir* — mit denjenigen der Membranfiltrationsmethode vergleichend zu studieren *). Nach *Stuart* et al.[14]) und den Mitteilungen des Committee, Ministry of Health [15]) ist die Gasbildung in Mac Conkey- und Eijkman-Bouillon während einer Bebrütungszeit von 48 Stunden bei 44° C für *fäkale* Typen von Escherichia coli (von menschlichen oder tierischen Organismen herrührend) spezifisch **). Nach *Topley* und *Wilson* [31]) scheint der 44° C Mac Conkey-Test sogar die beste Nachweismethode für fäkale Typen von Escherichia coli zu sein. Die Methylrotprobe, Voges-Proskauer Reaktion und Indolbildung sind nach *Ritter* (1952), *Thomann* (1951) und *Prescott-Winslow-McCrady* [16]) für das Vorhandensein echter Darmcoli bis heute als noch zu unsicher zu betrachten. Die entsprechenden Teste haben nach *Thomann* (1951) eher wissenschaftlichen als praktischen Wert. *Märki* [30]) verwendete zur Bestimmung der typischen Colibakterien nach vorheriger Reinkultivierung den IMViC-Test mit Erfolg. Bezüglich der Colitypisierung siehe auch bei *Fey* [17])[18]) und *Kauffmann* (1954).

Aus diesen angeführten Gründen und nach eigenen Erfahrungen haben wir auf obige Teste zur Unterscheidung von fäkalen und nichtfäkalen Typen von Escherichia coli verzichtet. Der Nachweis von Colibakterien mittels der angewandten Methoden gestattete lediglich die Aussage, ob es sich um Escherichia coli nach der Definition von *Kauffmann* (1954) handelte.

Winslow und *Phelps* [19]) beobachteten, dass die Zahl der «mutmasslichen Proben» (= presumptive Tests) von der Jahreszeit abhängig ist. Vor allem die Anaerobier, die Lactose unter Gasbildung spalten, stören den Colinachweis erheblich. Vielleicht könnten diese Befunde mit den Untersuchungsergebnissen von *Hesse* [20]) erklärt werden, der vor allem in den Sommermonaten Einschwemmungen von thermophilen Bakterien beobachtete.

In der neuen Auflage der Amerikanischen Standard Methods [21]) wird als positiver «presumptive Test» schon die geringste Bildung von Gas in Lactose-

---

*) Eine ähnliche Arbeit über vergleichende bakteriologische Wasser-Untersuchungen wurde von *B. Karakasevic* [13]) in Skopje (Jugoslawien) publiziert und ist mir erst neulich zugesandt worden.

**) Nach Mitteilung von Herrn PD. Dr. H. Fey, Veterinär-bakt. Institut der Universität Zürich, sei eine Einteilung von Escherichia coli in faecale und nicht faecale Typen grundsätzlich falsch, da alle Typen von Escherichia coli (von menschl. und tier. Organismen) faecalen Ursprung hätten. Da sowohl die biochem. als auch die serolog. Eigenschaften der verschiedenen Escherichia coli- Typen über Jahre hindurch konstant blieben, existierten deshalb keine Mutationen oder abgeschwächte Formen von Escherichia coli, die ihren ursprünglichen faecalen Charakter verloren hätten.

Wir sind Herrn PD. Dr. H. Fey, ehemal. Mitarbeiter von Herrn Prof. Dr. F. Kauffmann (Kopenhagen), zu Dank verpflichtet.

bouillon (0,5 % Pepton, 0,5 % Lactose, 0,3 % Fleischextrakt) angesehen, währenddem früher als Eijkman positiv erst die Bildung von mindestens 20 % Gas bewertet wurde.

Zweck und Aufgabe der vorliegenden Arbeit sind es, einige der zur Bestimmung von Escherichia coli geeignetsten Kulturmedien auf ihre Vergärbarkeit durch Coli-Aerogenes-Organismen des Trinkwassers zu prüfen und das Vergärungsvermögen als Masstab bei der endgültigen Identifizierung durch die entsprechenden selektiven Nährböden zu verwenden. Ausserdem sollte die Eignung der Membranfiltermethode für wasserbakteriologische Zwecke in unfiltrierten Rohwässern geprüft und mit den erhaltenen Resultaten der Eijkmanschen Gärprobe verglichen werden.

Methodisches

a) Gärprobe nach Eijkman und Bulir

Es wurden folgende Nährbouillons verwendet:

1. Modifizierte Eijkman-Bouillon (Pepton wird durch Tryptose Difco ersetzt)
2. Mac Conkey-Bouillon
3. Milchzucker-Bouillon nach den Vorschriften des Schweizerischen Lebensmittelbuches IV, pag. 213
4. Formiat-Ricinoleat-Bouillon.

Die Bouillons wurden nach den Vorschriften des Difco Manual [22]) zubereitet, wobei sie sich aus folgenden Komponenten zusammensetzten:

Modifizierte Eijkman-Bouillon

	Verdünnte Bouillon	Konzentrierte Bouillon
Tryptose Difco	15 g	30 g
Lactose	3 g	6 g
K_2HPO_4	4 g	8 g
KH_2PO_4	1,5 g	3 g
NaCl (jodfrei)	5 g	10 g

Die einzelnen Substanzen werden einzeln zu 1 Liter destilliertem Wasser gelöst, 1/2—1 Stunde im Dampftopf aufgekocht, durch Faltenfilter filtriert, auf pH = 6,8 eingestellt (Prüfung mit Lyphanpapier) und von der Gesamtlösung Portionen von 10 cm^3 in die Kulturröhrchen, welche ein Durham'sches Röhrchen enthalten, eingefüllt.

Sterilisation: je 1/2 Stunde im Dampftopf an 3 aufeinanderfolgenden Tagen.

Da die verschiedenen Bouillons zum Teil gepuffert sind, bestimmten wir das pH versuchsweise mit pH-Folien der Firma F. & M. Lautenschläger, München. Auf Grund von ca. 80 vergleichenden pH-Bestimmungen mittels der elektro-

metrischen Methode, pH-Folien und Lyphanpapier in den Kulturmedien zeigte es sich, dass die Unterschiede der erhaltenen pH-Werte von den elektrometrisch erhaltenen Werten sowohl in ungepufferten wie in gepufferten Medien recht klein waren.

Die Aussaat des zu untersuchenden Wassers betrug für Kulturröhrchen mit verdünnter Bouillon: 1 cm^3, für diejenigen mit konzentrierter Bouillon: 10 cm^3. Die Endkonzentration an Nährsalzen in den einzelnen Kulturröhrchen einer bestimmten Bouillon ist demnach nach Zusatz des Untersuchungswassers ungefähr gleich gross.

Mac Conkey-Bouillon

	Verdünnte Bouillon	Konzentrierte Bouillon
Pepton Witte	20 g	40 g
Lactose	10 g	20 g
Oxgall Difco	5 g	10 g
Brillantgrün *)	0,0133 g	0,0266 g

*) (0,1%ige Lösung, davon 13,3 cm^3 pro Liter)

Die Substanzen werden zu einem Liter destilliertem Wasser gelöst, auf pH = 7,3 eingestellt. Die Zubereitung und Ansätze geschehen wie bei a)1.

Milchzucker-Bouillon

	Verdünnte Bouillon	Konzentrierte Bouillon
Lactose	20 g	40 g
Liebigs Fleischextrakt	30 g	60 g
Pepton Witte	30 g	60 g
NaCl (jodfrei)	15 g	30 g
Dinatriumphosphat (Soerensen)	20 g	40 g
Monokaliumphosphat	10 g	20 g

Die Substanzen löst man in einem Liter destilliertem Wasser, pH-Einstellung auf 6,9. Gleiche Zubereitung und Ansätze wie bei a)1.

Formiat-Ricinoleat-Bouillon

	Verdünnte Bouillon	Konzentrierte Bouillon
Pepton Witte	5 g	10 g
Lactose	5 g	10 g
Na-Formiat	5 g	10 g
Na-Ricinoleat	1 g	2 g

pH = 7,4, Zubereitung und Ansätze wie bei a)1.

Da sich die Formiat-Ricinoleat-Bouillon in jeder Beziehung (einfache Zubereitung, gute Pufferung, unveränderte Haltbarkeit) auszeichnete, verwenden wir sie auch für die 100 cm³-Eijkman-Röhren zur Aussaat von 100 cm³ Untersuchungswasser. Die Röhren wurden mit 10 cm³ 2fach konzentrierter Formiat-Ricinoleat-Bouillon versehen.

Die *Bebrütungszeit* für alle Bouillons dauerte *48 Stunden.*

Die *Bebrütungstemperatur* für Mac Conkey-Bouillon, Milchzucker- und Formiat-Ricinoleat-Bouillon betrug *37° C*, für Eijkman-Bouillon *43° C.*

Nach 48 Stunden Bebrütungszeit ergaben sich in den Kulturröhrchen folgende Möglichkeiten:

a) keine Änderung
b) Trübung und Säuerung, keine Gasbildung
c) Trübung, Säuerung und Gasbildung.

Die Pufferung der verschiedenen Bouillons ergibt sich nach *Thomann* (1951) und eigenen Messungen am Beispiel Rheinwasser, unfiltriert (pH-Messung elektrometrisch mit Tena-Gerät), wie folgt:

Tabelle 1

Pufferung der verschiedenen Bouillons

nach Zusatz von unfiltriertem Rheinwasser nach 24- resp. 48 Stunden Kulturdauer

	Wassermenge in cm³	Mac Conkey		Milchzucker		Form.-Ric.		Eijkm.	
vor Kulturbeginn	1,0 0,5 0,1	7,3		6,9		7,3		6,9	
nach 24 Std. Kulturdauer	1,0	5,4	G+C	5,0	G+C	6,7	G+C	6,2	G+C
	0,5	5,1	G+C	5,1	G+C	6,8	G+C	5,8	G+C
	0,1	5,3	G+C	5,0	G+C	6,8	G+C	6,0	G+C
nach 48 Std. Kulturdauer	1,0	5,1	G+C	4,7	G+C	6,9	G+C	6,9	G+C
	0,5	5,1	G+C	4,5	G+C	6,8	G+C	6.7	G+C
	0,1	5,1	G+C	4,6	G+C	6,8	G+C	6,6	G+C

Legende: G = Gasbildung
+ = Trübung
C = Escherichia coli, identifiziert auf Endo-Agar

Die gute Pufferung der Bouillons ist für das Wachstum der coliformen Organismen von grossem Vorteil, ist doch eine starke Ansäuerung des Nährmilieus für verschiedene Typen von Escherichia coli für das weitere Wachstum verhängnisvoll.

Die Untersuchung auf Anwesenheit von Arten der coliformen Organismen wurde im Sinne der Amerikanischen Einheitsmethoden (1951) durchgeführt. Tritt nach 48 Stunden in den Kulturröhrchen Trübung oder Gasbildung auf, wird mittels einer Platinöse ein Tröpfchen Nährflüssigkeit nach vorherigem Schütteln der Kulturröhrchen auf vorgetrocknete Eosinmethylenblau- und Endoagar-Platten ausgestrichen. Dabei sind nach *Suckling* (1944) und eigenen Erfahrungen (siehe unten) Endo- und Eosinmethylenblauagar einander gleichwertig.

Die Herstellung des Eosinmethylenblau- und Endoagars geschah nach den Vorschriften des Difco-Manual (1953).

Jedes mit Untersuchungswasser beimpfte Lactose-Kulturröhrchen, das nach 48 Stunden Kulturdauer keine Gasbildung oder Trübung aufweist, wird als frei von coliformen Bakterien betrachtet.

Die Colidiagnostik auf Endo- und Eosinmethylenblauagar nach 24stündigem Wachstum ist bei *Thomann* (1951) beschrieben.

Eosinmethylenblauagar zeigt gegenüber Endoagar folgende Vorteile:

1. Unbeschränkte Haltbarkeit und keine Verfärbung, auch in ausgegossener Form.
2. Besseres Wachstum und Oberflächen-Metallglanz der Colikolonien.
3. Einfachere Herstellung des Nährbodens.

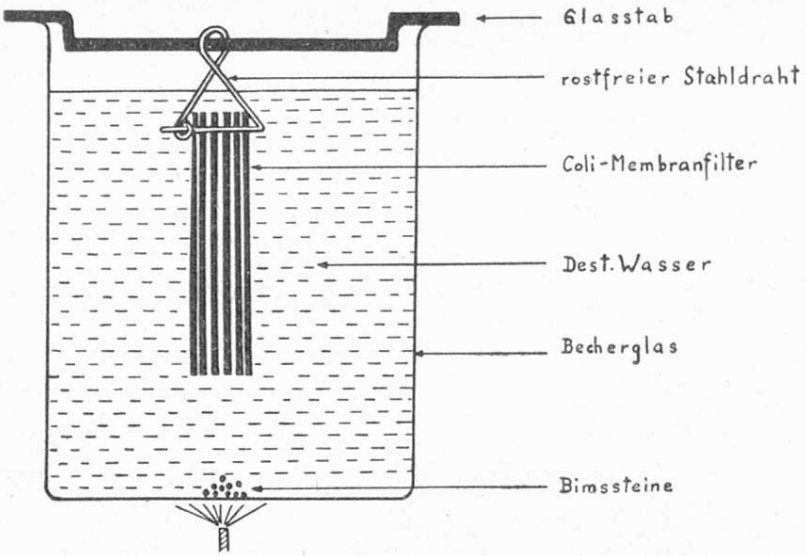
b) Methodik des Colinachweises mit Hilfe von Membranfiltern

Siehe auch bei *Thomann* [23]), *Kruse* [24]), *Beling* und *Maier* [25]), *Buttiaux* et al.[26]), *Bosset* (1955) und *Karakasevic* (1954).

Die Coli-Membranfilter «Coli 5» der Membranfiltergesellschaft Göttingen werden in einem mit kaltem destilliertem Wasser gefüllten Becherglas an einem rostfreien Stahldraht aufgehängt; alsdann wird Bimsstein ins Wasser gegeben und 2mal je ca. 20 Minuten leicht ausgekocht. Das destillierte Wasser wird nach dem ersten Auskochen erneuert; Reste organischer Substanzen (Lösungsmittel) und Luft, die sonst eine pH-Verschiebung des Nährbodens bedingen könnten, werden dabei aus den Filtern entfernt.

Vorteile des Aufhängens der Membranfilter:

1. Die Filter werden alle gleichmässig ausgekocht.
2. Ein Rollen der Filter tritt nur dann ein, wenn dem Kochvorgang der Filter zu wenig Beachtung geschenkt wird.
3. Die Filter können mit abgeflammter Pinzette gut einzeln dem Wasser entnommen werden.



Figur 1
Aufhängevorrichtung der Membranfilter zur Sterilisation

Nach der Sterilisation der Filter wird der Witt'sche Topf durch Abflammen mit einem Glasstab, welcher mit in 96 %igem Alkohol getränkter Watte umwickelt ist, sterilisiert.

Zur Prüfung, ob die Membranfilter und der Witt'sche Topf auf diese Art und Weise steril erhalten werden, wurde das Filtrat des Rohwassers mittlerer Verunreinigung während 48 Stunden in Eijkman-Gärröhren bebrütet. Die Sterilisation erwies sich jedesmal als einwandfrei.

Die Menge des zur Aussaat gelangenden Wassers ist einigermassen dem Bakteriengehalt anzupassen, damit die Keime nach ihrer Entwicklung auf den Membranfiltern leicht auszählbare, getrennte Kolonien ergeben.

Für *Trinkwasser* verwenden wir 1, 10 und 100 cm^3 Untersuchungswasser zur Filtration, für *Rheinwasser* mit einem Gesamtkeimgehalt von 7000 bis 15 000 im cm^3 0,01, 0,05, 0,1 und 1 cm^3.

Bei Filtrationen von kleineren Mengen Flusswasser wird in üblicher Weise mit sterilem destilliertem Wasser verdünnt. Für Fluss- und Abwasser empfehlen sich Vorversuche mit verschieden grossen Wassermengen, damit man den ungefähren Gehalt des fraglichen Wassers an Colibakterien abschätzen kann.

Nach Beendigung der Filtration werden die Membranfilter aseptisch auf Milchzucker-Fuchsinagar nach Endo und eine Parallelprobe auf Eosinmethylenblauagar nach *Levine* gelegt, $pH = 7{,}6$.

Da Vorversuche ergeben haben, dass mit gereinigten Agarprodukten (zum Beispiel Davis-Agar oder Difco-Agar) im Nährboden weniger Colibakterien wachsen als mit ungereinigtem Fadenagar, verwenden wir zur Herstellung der Nährböden *0,9 % Fadenagar*.

Beim Endoagar muss speziell darauf geachtet werden, dass nur *basisches* Fuchsin, wenn immer möglich derselben Herkunft, verwendet wird. Sowohl auf Endo- als auch auf Eosinmethylenblauagar treten gelegentlich atypische Colikolonien ohne Fuchsinglanz und ohne roten Fleck auf der Membranfilter-Unterseite auf. Als *typische* Colikolonien gelten nur die auf der Membranfilter-Oberfläche metallisch glänzenden Kolonien, die durch die Filter durchgewachsen sind und auf der Membranfilter-Unterseite erkenntlich sind.

Die Membranfilter werden bei *37° C* im Thermostaten bebrütet und *nach 16 bis maximal 24 Stunden* die gewachsenen Colikolonien ausgezählt. Da die Menge der Kolonien mit der Dauer der Bebrütung abnimmt (durch Zusammenwachsen mehrerer Kolonien), ist es ratsam, die Bebrütungsdauer nach maximal 24 Stunden abzubrechen. Die Zahl der dunkelrot-metallisch glänzenden Kolonien mit Säurehof, die die Membranfilter durchwachsen haben, wird der Zahl der im Wasser vorhandenen Colikeime gleichgesetzt.

Der Nährboden zur Züchtung von Colibakterien soll so flüssig wie möglich sein, damit die Diffusion der Nährstoffe durch die Filter leicht erfolgen kann. Wir erhielten von der Membranfiltergesellschaft Göttingen eine Anzahl Filterkartonscheiben mit dehydriertem Milchzucker-Fuchsin-Nährboden nach Endo zum Ausprobieren. Die Filterkartons wurden in Petrischalen im Autoklaven während einer halben Stunde bei 1 atü sterilisiert und bei Verwendung in sterilen Petrischalen mit dem flüssigen Endo-Nährboden getränkt. Eine bemerkenswerte Wachstumsbeschleunigung oder eine Verbesserung des Colinachweises konnte aber nicht festgestellt werden.

*

Die kürzlich in fünf verschiedenen Laboratorien mit den entsprechenden 5 verschiedenen Endo-Agars durchgeführten Paralleluntersuchungen zum Nachweis von Escherichia coli mit Hilfe der Membranfiltermethode zeigten, dass der Wahl des hiefür verwendeten Nährbodens besondere Aufmerksamkeit zu schenken ist. Namentlich dürften auf das Resultat die Verwendung von verschiedenen Peptonen (mit mehr oder weniger freien und essentiellen Aminosäuren) einen variierenden Einfluss haben.

Experimentelles

Die seit Oktober 1953 in unserem Laboratorium eingegangenen Trink- und Flusswasserproben verschiedenster Herkunft wurden mit Hilfe der vier erwähnten Bouillons in Eijkman- und Kulturröhrchen auf Gasbildung und Trübung innerhalb 48 Stunden Kulturdauer geprüft. Dabei zeigte es sich, dass nicht jede Vergärung des Milchzuckers durch Escherichia coli verursacht wird, wie auch *Thomann* (1951), *Prescott-Winslow-McCrady* (1950), *Karakasevic* (1954) u.a.m. festgestellt haben.

Die endgültige Identifizierung der Escherichia coli-Bakterien geschah auf Endo- und parallel auf Eosinmethylenblauagar. Dabei sind die beiden Nährböden in der Diagnostik von Escherichia coli einander ungefähr gleichwertig, wie aus Tabelle 2 ersichtlich ist:

Tabelle 2

Abweichungen bei der Escherichia coli-Bestimmung auf Endo- und Eosinmethylenblauagar

Aufgetretene Gasbildungen	363	
Darin Escherichia coli bestimmt	auf:	
	Endo-Agar	Eosinmethylen-blau-Agar
	332	329
Abweichung:	1 %	

Prescott-Winslow-McCrady (1950, pag. 107) berichten von ähnlichen Versuchsergebnissen bei der Isolierung von coliformen Organismen mit Hilfe der beiden Differentialnährböden.

Der Nachweis von zuckervergärenden Mikroorganismen aus der Gruppe des Bacteriums Coli geschieht nach den Vorschriften des Schweizerischen Lebensmittelbuches, pag. 213, durch Kultivieren in verschiedenen Nährbouillons, wobei *lediglich auf die Gasbildung* nach 24stündiger Bebrütung bei 37° C geachtet wird. *Ritter* (1952, pag. 11—12) schreibt, dass beim Nachweis der Coli-Aerogenes-Bakterien in der Milch mit dem Formiat-Ricinoleat-Medium nach *Stark* und *England* (1935) die Zahl der anderen Mikroorganismen als Coli-Aerogenes, die mit diesem Nährboden Gasbildung hervorrufen und daher fälschlicherweise für solche gehalten werden können, verhältnismässig gering sei. Er empfiehlt zum Nachweis ebenfalls nur auf die Gasbildung in der Formiat-Ricinoleat-Bouillon abzustellen, ohne Ausstrich auf Endoagar. Wie gross der Prozentsatz der auf diese Art und Weise (Colinachweis nur auf Grund der Gasbildung) gefundenen «falsch positiven» Resultate sein kann, zeigt uns *Karakasevic* (1954).

Bei bakteriologischen Trinkwasseruntersuchungen empfiehlt es sich, nicht nur auf die Gasbildung (auch bei Verwendung der Formiat-Ricinoleat-Bouillon) abzustellen, wie aus Tabelle 3 zu entnehmen ist, sondern eine Überimpfung auf feste Differentialnährböden, wie Endo- oder Eosinmethylenblauagar, durchzuführen.

Tabelle 3

Bestimmung von Escherichia coli in Trink- und Flusswasser mit der Gärröhrchenmethode nach Eijkman und Bulir

Colidiagnostik auf Endoagar. Brauchbarkeit verschiedener Bouillons für die Bestimmung von Escherichia coli.

	Bouillons			
	Eijkman	Form.-Ric.	Milchzucker	Mac Conkey
Total der Aussaaten (Okt. 1953-Juni 1955)	3102	2937	2431	704
Gasbildung und Trübung	487	678	554	85
Escherichia coli identifiziert auf Endoagar	368	649	432	63
«Fasch positive» Resultate	24,8 %	4,3 %	22.0 %	25,9 %
Escherichia coli vortäuschend *)	139	97	142	37
Escherichia coli unterdrückend **)	18	67	20	18
Total der Abweichungen	32,2 %	24,2 %	29,2 %	64,7 %

*) Auftreten von Gasbildung und Trübung in der Bouillon, Escherichia coli aber nicht nachweisbar auf Endo- oder Eosinmethylenblauagar.

**) Keine Gasbildung, aber Trübung in der Bouillon. Trotzdem Escherichia coli identifiziert auf Endo- oder Eosinmethylenblauagar.

Die Untersuchungen von *Karakasevic* (1954) ergaben für Milchzucker- und Mac Conkey-Bouillon ungefähr die gleich grossen Abweichungen in der Identifizierung von Escherichia coli, zieht man nur den Prozentsatz der «falsch positiven» Resultate in Betracht.

Wie Tabelle 3 beweist, gibt es bis heute keine Bouillon zum Nachweis von Escherichia coli im Wasser, welche unter allen Umständen fehlerfreie Resultate liefert, wollte man nur auf Gasbildung, Trübung und Ansäuerung im Milieu abstellen. Die Überlegenheit der Formiat-Ricinoleat-Bouillon für den Nachweis von Escherichia coli ist aus Tabelle 3 ersichtlich.

Um die Brauchbarkeit der *Coli-Membranfiltermethode* zu prüfen und die erhaltenen Resultate mit denjenigen der Gärröhrchenmethode von *Eijkman* und *Bulir* zu vergleichen, setzten wir innerhalb 8 Monaten 85 vergleichende Versuche an, wobei jeweils vom gleichen Wasser nach gutem Durchmischen durch Schütteln der Proben für beide Methoden die gleichen Aussaaten zur Anwendung gelangten: 1, 10 und 100 cm^3 Untersuchungswasser. 17mal war der Colititer, mit der Membranfiltermethode bestimmt, eine Stufe höher als mit der Gärröhrchenmethode. In 6 Versuchen war die Gärröhrchenmethode zum Nachweis von Escherichia coli um eine Stufe empfindlicher als die Membranfiltermethode. Diese Abweichungen könnten unter Umständen nach *Jannasch* [27]) durch ungleichmässige Verteilung der Bakterien in den Proben herrühren (Adsorption organischer Stoffe an feste Partikel wie Detritus, anorganische Teilchen usw.).

Alle anderen durchgeführten Versuche ergaben, dass die beiden Nachweismethoden (Gärröhrchen- und Membranfiltermethode) *für Escherichia coli-Bestimmungen ungefähr gleich empfindlich sind,* wie auch *Buttiaux* et al. (1953) bestätigen.

Die Vorteile der Membranfiltermethode sind folgende:

1. Geringer Verbrauch an Nährboden.
2. Der zeitliche Aufwand mit der Membranfiltermethode ist geringer als mit der Gärröhrchenmethode.
3. Es können beliebige Mengen von verunreinigtem Wasser filtriert und die gewachsenen Colikolonien ausgezählt werden.

Um die Empfindlichkeit des Nachweises für Escherichia coli nach beiden Methoden unter Ausschaltung eventueller Fremdfaktoren (unterschiedliche Adsorption fester Partikel auf die Verteilung der Bakterien in nährstoffreichem und nährstoffarmem Wasser [nach *Jannasch,* 1954]) zu prüfen, wurde eine Escherichia coli-Suspension in sterilem, destilliertem Wasser hergestellt, von der gleiche Mengen zur Aussaat gelangten. Es konnte der Beweis erbracht werden, dass der Colititer beider Methoden gleich hoch war.

Die von der Bakteriologischen-Hygienischen Anstalt Basel bezogene Escherichia coli-Reinkultur zeigte dieselben Wuchsformen auf Endo- und Eosinmethylenblauagar wie die aus Trinkwasser isolierten Kolonien. Damit ist bewiesen, dass wir jeweils Escherichia coli-Kolonien identifizierten. *Märki* (1955) bestätigt, dass in weitaus den meisten Fällen die dunklen Kolonien auf Endoagar mit Fuchsinglanz wirklich Escherichia coli waren. Hellere und nicht eindeutig fuchsinglänzende Keime entpuppten sich als Intermediusformen oder als Aerobacter aerogenes, schreibt *Märki* (1955).

Den kleinsten Prozentsatz an «falsch positiven» Resultaten verdankt die Formiat-Ricinoleat-Bouillon sowohl der hemmenden und fördernden Wirkung von Formiat und Ricinoleat im Nährboden gegenüber den zur Escherichia coli-Aero-

bacter-Gruppe gehörenden Organismen, als auch der guten Pufferung. Von allen untersuchten Bouillons reagierte die Formiat-Ricinoleat Bouillon *zuerst* mit Gasbildung und Trübung.

Es ist genügend bekannt, dass durch die Ansäuerung des Nährbodens infolge der Vergärung des Milchzuckers eventuell ein Teil der Coli-Bakterien absterben kann. Aus diesem Grunde könnte die gute Pufferung der Formiat-Ricinoleat-Bouillon (siehe Tabelle 1) bewirken, dass die Colibakterien trotz intensiver Gasbildung lebend erhalten bleiben und bei der nachfolgenden Überimpfung auf Endo- oder Eosinmethylenblauagar noch nachgewiesen werden können. Es wäre zu untersuchen, ob nicht eventuell darin auch ein Grund der zum Teil recht unterschiedlichen Abweichungen liegt (siehe auch bei *Prescott-Winslow-Mc Crady,* 1950, pag. 98/99).

Bei *Rheinwasser-Untersuchungen* kam die Überlegenheit der Formiat-Ricinoleat-Bouillon besonders gut zum Vorschein, wie Tabellen 4 und 5 zeigen:

Tabelle 4

Bestimmung von Escherichia coli mit der Gärröhrchen-Methode im unfiltrierten Rheinwasser

Identifizierung von Escherichia coli auf Endoagar. Abweichungen verschiedener Bouillons vom Normalfall, wobei mit Gasbildung Escherichia coli-Bakterien nachweisbar sind.

	Verwendete Bouillons		
	Eijkman	Milchzucker	Formiat-Ricinoleat
Total der Aussaaten	79	44	82
Gasbildungen und Trübungen	63	42	82
Escherichia coli-Bakt. identifiziert auf Endoagar	43	33	82
«Falsch positive» Resultate	31,8 %	21,4 %	0 %

Tabelle 5

Escherichia coli-Bestimmung im unfiltrierten Rheinwasser mit der Gärröhrchen-Methode in verschiedenen Bouillons

Unterschiedliches Verhalten der einzelnen Bouillons in Bezug auf Gasbildung und Trübung bei gleichen Aussaaten des Wassers.

Probe	Aussaat	Verwendete Bouillons			
		Eijkman	Milchzucker	Mac Conkey	Formiat-Ricinoleat
A 895	1 cm³	O+ ---	O+ ---	O+ ---	G+C, A
	10 cm³	O+ ---	G+C, A	G+C	G+C, A
P 508	0,001 cm³	O—			O+ ---
	0,01 cm³	O—			G+C, A
	0,1 cm³	O+C			G+C, A
	1,0 cm³	G+C, A			G+C, A

Legende: O = Keine Gasbildung in der Bouillon
G = Gasbildung
+ = Trübung der Bouillon
— = keine Trübung
C = Echerichia coli, identifiziert auf Endoagar
A = Aerobacter aerogenes, identifiziert auf Simmons-Citrat-Agar

Keimzahl- und Colibestimmungen verlaufen meistens gleichsinnig, wie *Thomann* [28]) und *Hoffmann* [29]) bestätigen, indem negativer Colibefund zur Hauptsache an niedrige Keimzahlen gebunden ist. Wie Tabelle 6 zeigt, können aber auch entgegengesetzte Befunde vorkommen: (siehe auch bei *Prescott-Winslow-McCrady*, 1950, pag. 193).

Tabelle 6

Trinkwasserproben mit negativem Coli- und Aerobacter aerogenes Befund

trotz hohen Keimzahlen und umgekehrt.

Probe	Escherichia coli und Aerobacter aerogenes	Keimzahl auf Gelatine nach 72 Stunden, bei 20° C
A 1080	nicht nachweisbar	190
A 912	nicht nachweisbar	120
A 588	nicht nachweisbar	250
A 301	in 1 cc	22

Milchzucker und Formiat-Ricinoleat-Bouillon eigneten sich von den vier untersuchten Nährmedien zur Kultivierung und zum Nachweis von Escherichia coli auf Grund der Gasbildung in der Bouillon am besten, indem von 46 coli-

haltigen Trinkwasseraussaaten mit Hilfe von Eijkman-Bouillon Escherichia coli 26 mal nicht nachgewiesen werden konnte, mit Milchzucker-Bouillon hingegen nur 9 mal nicht nachweisbar war, wie aus Tabelle 7 ersichtlich ist:

Tabelle 7

Spezifität des Escherichia coli-Nachweises der vier untersuchten Bouillons;

Escherichia coli-Nachweis auf Grund der Gasbildung und nachfolgender Überimpfung auf Endoagar.

Anzahl der mit Escherichia coli befallenen Untersuchungswasser (bestimmt mit Hilfe der Formiat-Ricinoleat-Bouillon)	46			
	Verwendete Bouillons			
	Eijkman	Milchzucker	MacConkey	Formiat-Ricinoleat
Escherichia coli nicht nachweisbar (Anzahl der Fälle)	26	9	27	0
Escherichia coli nachgewiesen in gleicher Konzentration wie mit Hilfe der Form.-Ric. Bouillon	11	20	13	
Escherichia coli in kleinerer Konzentration nachgewiesen als mit der Hilfe der Form.-Ric. Bouillon	9	17	6	

Nach diesen Versuchen zu schliessen, würden sich Milchzucker-Bouillon in Kombination mit Formiat-Ricinoleat Bouillon zur Bestimmung von Escherichia coli im Trinkwasser am besten eignen, wenn eine Überimpfung der Nährflüssigkeit nach erfolgter Trübung und Gasbildung in den betreffenden Bouillons auf Endo- und Eosinmethylenblauagar durchgeführt wird.

Zusammenfassung

1. Gasbildung in Lactose enthaltenden Bouillons ist keineswegs mit Anwesenheit von Escherichia coli identisch. Es wurden bei Trübungen der Bouillons nach 48-stündigem Wachstum oder bei positiven Gärproben ein Tröpfchen Nährflüssigkeit auf Endo- oder Eosinmethylenblauagar ausgestrichen und auf Grund dieser Colidiagnostik die Abweichungen verschiedener Bouillons bestimmt. Dabei trat die Überlegenheit der Formiat-Ricinoleat Bouillon deutlich hervor.
2. Zur Colidiagnostik sind Endo- und Eosinmethylenblauagar einander gleichwertig.
3. Anhand von vergleichenden Versuchen wurde die Empfindlichkeit des Nachweises von Escherichia coli der Gärröhrchen-Methode nach Eijkman und Bulir mit derjenigen der Membranfiltrationsmethode verglichen. Abgesehen von wenigen Ausnahmen war der Colititer der untersuchten Trinkwasser nach beiden Methoden er-

mittelt, derselbe. Die Membranfiltrationsmethode kann aber bei Bestimmungen von Escherichia coli in Flusswasser unter Umständen einen um eine Stufe höheren Colititer ergeben als mit Hilfe der Eijkman'schen Gärprobe. Damit ist die Überlegenheit der Membranfiltrationsmethode gegenüber der Gärröhrchen-Methode bestätigt.

4. Von den vier untersuchten Nährbouillons eignen sich Milchzucker-Bouillon in Kombination mit Formiat-Ricinoleat-Bouillon zur Escherichia coli-Bestimmung am besten.

Unserer Laborantin, Fräulein Elisabeth Buser, danke ich bestens für ihre Mithilfe.

Résumé

1. La formation de gaz dans les bouillons lactosés ne signifie pas nécessairement la présence d'Escherichia coli. Dans les cas où les bouillons se troublaient après 48 h d'incubation ou dans ceux dans lesquels la fermentation était positive on a étalé une gouttelette du milieu nutritif sur une plaque d'agar selon Endo ou d'agar à l'éosine-bleu de méthylène. C'est sur la base de ce diagnostic du Coli qu'on a examiné le comportement de divers bouillons et qu'on a constaté la supériorité évidente du bouillon au formiate-ricinoléate.
2. L'agar selon Endo et l'agar à l'éosine-bleu de méthylène sont équivalents pour le diagnostic du coli.
3. On a examiné la sensibilité comparative de la méthode d'Eijkman et Bulir (petit tube à fermentation) et de celle de la membrane filtrante pour la recherche d'Escherichia coli. A l'exception de peu de cas le titre en coli des eaux potables examinées a été trouvé le même par les deux méthodes. Dans l'examen des eaux de rivières la méthode de la membrane filtrante peut, suivant les circonstances, conduire à un titre en coli supérieur d'une dilution à celui obtenu par la méthode d'Eijkman. Ceci confirme la supériorité de la membrane filtrante sur le tube à fermentation.
4. Des 4 bouillons examinés le bouillon lactosé combiné avec le bouillon au formiate-ricinoléate est celui qui se prête le mieux au dosage d'Escherichia coli.

Summary

1. The coli titer of various samples of drinking water and of river water has been determined according to Eijkman and Bulir (fermentation tube) and by the membrane filter method. For drinking water the titers found by both methods are practically the same; for river water the membrane filter method is better.
   Fermentation of lactose-containing bouillon does not necessarily mean that E. coli is present; to make sure of the coli diagnostic a small amount of the bouillon is spread on Endo agar or on eosnie-methylene blue agar.
2. Four different kinds of bouillon have been tested, the best one being a mixture of lactose bouillon with formiate-ricinoleate bouillon.

Literatur

[1]) Schweizerisches Lebensmittelbuch, IV. Auflage, 1937

[2]) *O. Thomann,* Mitt. **42**, 517-525, 1951

[3]) *W. Ritter,* Schweiz. Milchzeitung **26**, Wiss. Beilage Nr. 9, 1954

[4]) *E. Bosset,* «Considérations sur la colimétrie des eaux», Mitt. **46**, 355-361, 1955
[5]) *O. Groetschel,* Zbl. f. Bakt., Parasitenk. u. Infekt. Abt. I, Orig. **92**, 470-475, 1924
[6]) E. Singer, Zbl. f. Bakt., Parasitenk. u. Infekt. Abt. I, Ref. 95, 385-405, 1929
[6]) *E. Singer,* Zbl. f. Bakt., Parasitenk. u. Infekt. Abt. I, Ref. **95**, 385-405, 1929
[7]) *E. Singer,* Zbl. f. Bakt., Parasitenk. **95**, 433-449, 1929
[8]) *E. Singer,* Zbl. f. Bakt., Parasitenk. «Die Bakt. Untersuchung des Trinkwassers», Gustav Fischer, Jena, 1931
[9]) *F. Kauffmann,* «Enterobacteriaceae» 2. Edit., Ejnar Munksgaard Publisher, Copenhagen, 1954
[10]) *E. V. Suckling,* «The Examination of Waters and Water Supplies» London: Churchill, 1944
[11]) Die Amerikanischen Einheitsmethoden zur Untersuchung von Wasser und Abwasser, übersetzt von *F. Sierp,* 1951
[12]) *N. C. Stark* und *C. W. England,* Journ. of Bact., **29**, 26, 1935
[13]) *B. Karakasévic,* «Bakteriologische Untersuchungen des Trinkwassers mit Hilfe der Membranfiltration» Zschr. f. Hyg., **140**, 457-463, 1954
[14]) *C. A. Stuart, A. Zimmermann, M. Baker* und *R. Rustigian,* Journ. of. Bakt. **43**, 557, 1942
[15]) Committee, Ministry of Health, «The Bacteriological Examination of Water Supplies» 1934 und 1939
[16]) *S. C. Prescott, C. E. A. Winslow* und *M. H. Mc Crady* «Water Bacteriology» New York: John Wiley u. Sons, 1950
[17]) *H. Fey,* «Coliprobleme bei Mensch und Tier» Schweiz. Archiv für Tierheilkunde **97**, Heft 3, 1955
[18]) *H. Fey,* «Serologische, biochemische und biologische Untersuchungen an Stämmen aus boviner Colimastitis mit spezieller Berücksichtigung der Coli-Säuglingsenteritis» Erg. Hyg. **29**, 394-474, 1955
[19]) *C. E. A. Winslow* und *E. B. Phelps,* Technolog. Quaterly **20**, 387, 1907
[20]) *W. Hesse,* Zeitschr. Unters. Nahrungsmittel, **92**, 113, 1916
[21]) Standard Methods of Water Analysis, VIII ed. Americ. Public Health Assoc., New York, 1936
[22]) Difco Manual, IX. edit., 1953
[23]) *O. Thomann,* Mitt., **45**, 62-65, 1954
[24]) *H. Kruse,* «Gas- und Wasserfach», **24**, 1952
[25]) *A. Beling* und *K. H. Maier,* Vom Wasser, XXI. Band, 118-128, 1954
[26]) *R. Buttiaux, G. Muchemble, Th. Leurs,* Annales de l'Institut Pasteur, 1010-1025, 1953
[27]) *H. W. Jannasch,* Die Naturwissenschaften, Heft 2, 41. Jahrgang, pag. 42, 1954
[28]) *O. Thomann,* Mitt., **43**, 236-259, 1952
[29]) *S. Hoffmann,* Mitt., **38**, 64-80, 1947
[30]) *E. Märki,* «Zweck und Methodik der Colibestimmung», Referat, gehalten an der Sitzung des Arbeitsausschusses für Koordination der Untersuchungsmethodik am Hochrhein in Badenweiler, April 1955.
[31]) *Topley* und *Wilson,* Principles of Bacteriology and Immunity, 3. edit., 1947 London: Edward Arnold & Co.