

Vergleichende Untersuchungen über das Wachstum von *Escherichia coli* auf verschiedenen Endoagar-Nährböden mit Hilfe der Membranfilter-Methodik

Autor(en): **Emmenegger, T.**

Objektyp: **Article**

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

Band (Jahr): **47 (1956)**

Heft 6

PDF erstellt am: **12.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-983974>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Vergleichende Untersuchungen über das Wachstum von *Escherichia coli* auf verschiedenen Endoagar-Nährböden mit Hilfe der Membranfilter-Methodik

Von *T. Emmenegger*

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

Über die Brauchbarkeit, Vor- und Nachteile des Nachweises von Warmblüter-Colibakterien mit Hilfe des Membranfilterverfahrens sowohl in Trink- als auch in Flusswasser existiert bereits eine umfangreiche Literatur, so dass hier für Theorie und Methodik der Filtration auf folgende Publikationen verwiesen sei: *Fast*¹⁾, *Thomann*²⁾, *Beling* und *Maier*³⁾, *Karakasëvić*⁴⁾, *Buttiaux*, *Muchemble* und *Leurs*⁵⁾, Bericht der Regionalplanungsgruppe Nordwestschweiz⁶⁾ und *Emmenegger*⁷⁾.

Der Arbeitsausschuss für die Koordination der Untersuchungsmethodik am Hochrhein hat sich u.a. die Aufgabe gestellt, die von den beteiligten Laboratorien bei der Untersuchung des Hochrheins angewandten chemischen und bakteriologischen Methoden so weit zu vereinheitlichen, dass möglichst übereinstimmende Resultate erhalten werden. Beim Versuch, die Colibestimmung unter den verschiedenen Laboratorien zu vereinheitlichen, hat man feststellen müssen, dass sehr unterschiedliche Modifikationen des Membranfilterverfahrens angewandt werden; insbesondere zeigte es sich, dass fast jedes Laboratorium einen anderen Endoagar-Nährboden verwendet. Demzufolge wurden auch bei Vergleichsuntersuchungen unter den Laboratorien sehr unterschiedliche Resultate erhalten.

In der Zeit vom 21. 11. bis 28. 12. 1955 führten fünf Laboratorien an Proben aus Oberflächengewässern vergleichende Untersuchungen über das Wachstum von Colibakterien auf Membranfiltern mit den von ihnen und den übrigen Laboratorien hergestellten Endoagar-Nährböden durch. Sämtliche der zur Vergleichsuntersuchung beigezogenen Wasserproben wurden mit jedem der mit den übrigen Laboratorien ausgetauschten Nährböden untersucht. Neben industriell hergestellten Nährböden (Bacto Nutrient Agar dehydrated, Difco B₁) gelangten bei verschiedenen Laboratorien auch aus den einzelnen Komponenten selbst zubereitete Nährmilieus zur Anwendung.

Im allgemeinen können bei Flusswasseruntersuchungen auf den Membranfiltern folgende gewachsene Kolonietypen unterschieden werden:

- a) Oberflächenmetallglanz und durchscheinend (Durchwachsung des Filters)
- b) Dunkel (ohne Oberflächenmetallglanz) und durchscheinend (Durchwachsung des Filters)
- c) Dunkel (ohne Oberflächenmetallglanz) und nicht durchscheinend (ohne Durchwachsung des Filters).
- d) Hell und nicht durchscheinend.

Nach den bisher in der Literatur beschriebenen Befunden [*Kruse*⁸⁾, Membranfiltergesellschaft Göttingen⁹⁾, *Beling* und *Maier*³⁾, *Thomann*²⁾ und *Emmenegger*⁷⁾ u.a.m.] wächst das Warmblüter-Colibakterium auf den Membranfilteroberflächen, wenn auf Endoagar-Nährböden gelegt, zu tiefroten Kolonien mit grünlichem Oberflächenfuchsinglanz aus, und die gewachsenen Kolonien sind durch die von ihnen gebildeten roten Farbflecken auf der Membranfilter-Unterseite gut zu erkennen und zu zählen. *Märki*¹⁰⁾ glaubte auf Grund der Untersuchungen mit dem IMViC-Test behaupten zu dürfen, dass «... in den weitaus meisten Fällen die dunklen Kolonien auf Endoagar wirklich *Escherichia coli* waren». Er fasste die obgenannten Kolonietypen a und b als Colibakterien zusammen.

Der richtigen Erfassung von Warmblüter-Colibakterien mit Hilfe des Membranfilterverfahrens bei bakteriologischen Trink- und Flusswasseruntersuchungen kommt eine wichtige Bedeutung zu. Wir haben deshalb versucht, das Wachstum und den Aspekt der Kolonieförmigen von drei verschiedenen Stämmen von *Escherichia coli*-Reinkulturen und drei verschiedenen Stämmen von *Aerobacter aerogenes*-Reinkulturen (heute zu den Klebsiellen eingeteilt) auf Membranfiltern, die auf drei nachfolgend beschriebene Endoagars gelegt wurden, zu studieren.

Alle Reinkulturen bezogen wir im April 1956 von Herrn Prof. Dr. *F. Kauffmann*, Kopenhagen. Wir erhielten: «... test strains for *E. coli* O-groups 1, 2 and 3 and the test strains for *Klebsiella capsula* types 1, 8 and 9».

Da nach *Kauffmann*¹¹⁾ und *Fey*¹²⁾ sowohl die biochemischen als auch die serologischen Eigenschaften der verschiedenen *Escherichia coli*-Typen über Jahre hindurch konstant blieben (*Fey* zitiert wörtlich: «Die Konstanz des Colityps wird gestützt durch die Tatsache, dass die Stämme von *Kauffmann* heute noch bis ins Detail die gleichen Eigenschaften besitzen wie vor mehr als zehn Jahren, als sie isoliert wurden»), konnten wir von den verschiedenen Coli- und *Klebsiella*-Reinkulturen für unsere Versuche unbesorgt die hierfür notwendigen Subkulturen anlegen.

Mit Hilfe von Reinkulturen hofften wir die Frage zu lösen, ob nur die gleichzeitig Oberflächenglanz aufweisenden und durchgewachsenen Kolonien oder auch die lediglich durchwachsenen Kolonien als *Escherichia coli* aufzufassen wären.

Alle drei Colitypen zeigten in den verwendeten Konzentrationen auf den drei verschiedenen Endoagars in Kolonieförmigen einen deutlichen Oberflächenfuchsinglanz mit einem schmalen, hellroten Säurehof (der aber auch von Aldehydbildung aus dem Milchzucker herrührt) und Durchwachsung des Filters. Lediglich durchwachsene Kolonieförmigen ohne Oberflächenfuchsinglanz traten keine auf. Die Kolonien der gewachsenen *Aerobacter aerogenes*-Reinkulturen konnten deutlich von Colikolonien unterschieden werden, weil erstere eine Konvexform aufweisen und meist mehr oder weniger schleimig wachsen, was vor allem bei frischen, ungetrockneten Kolonien auf der Membranfilteroberfläche ersichtlich war.

Ausserdem legten wir Mischkulturen von Coli- und Aerobacter-Reinkulturen an in verschiedener Konzentration. Colikolonien traten auch in Mischkulturen mit dem typischen Oberflächenfuchsinglanz und mit Durchwachsung des Filters auf. Während die verwendeten Aerobacter aerogenes-Kolonien auf den Endoagars Basel und Konstanz einen Oberflächenfuchsinglanz aufwiesen, zeigten die auf dem Endoagar Zürich gewachsenen Aerobacter aerogenes-Kolonien keinen Fuchsinglanz. Der Fuchsinglanz auf dem Endoagar ist nicht nur für die Gattung Escherichia spezifisch, wie auch aus den Erfahrungen von *Thomann* zu schliessen ist (Schreiben an den Verfasser vom November 1954): «Der Fuchsinglanz auf Endoagar ist bekanntlich nur bei Oberflächenlage der Kolonie feststellbar. Andernfalls muss die intensiv gefärbte Kolonie mit dem diffusen Säurehof entscheiden. Dieses Charakteristikum gilt nicht nur für die Gattung Escherichia, sondern z.B. bei Klebsiella oder gar bei Milchsäurebakterien. Immerhin besteht

Tabelle 1
Prüfung des IMViC-Testes mit Reinkulturen von E. coli und Klebsiellen
 (Versuch Nr. 4)

	Indol	Methylrot	Voges-Proskauer	Citrat	
Coli $\frac{0}{1}$	+	+	—	—	Reinkulturen
Coli $\frac{0}{2}$	+	+	—	—	
Coli $\frac{0}{3}$	+	+	—	—	
Klebs. 1	—	—	+	+	
Klebs. 8	—	—	+	+	
Klebs. 9	—	—	+	+	
Coli $\frac{0}{1}$ + Klebs. 1	+	+	+	+	Mischung von Reinkulturen in verschiedenem Verhältnis
Coli $\frac{0}{1}$ + Klebs. 8	+	+	+	+	
Coli $\frac{0}{1}$ + Klebs. 9	+	— !	+	+	
Coli $\frac{0}{2}$ + Klebs. 1	+	+	— !	+	
Coli $\frac{0}{2}$ + Klebs. 8	+	— !	+	+	
Coli $\frac{0}{2}$ + Klebs. 9	+	— !	+	+	
Coli $\frac{0}{1}$ + Klebs. 1	+	+	— !	+	
Coli $\frac{0}{2}$ + Klebs. 1	+	+	— !	+	
Coli $\frac{0}{3}$ + Klebs. 1	+	+	— !	+	
Coli $\frac{0}{1}$ + Klebs. 8	+	+	— !	+	
Coli $\frac{0}{2}$ + Klebs. 8	+	— !	+	+	
Coli $\frac{0}{3}$ + Klebs. 8	+	+	+	+	
Klebs. 8 + Coli $\frac{0}{1}$	+	— !	+	+	
Klebs. 8 + Coli $\frac{0}{2}$	+	— !	+	+	
Klebs. 8 + Coli $\frac{0}{3}$	+	— !	+	+	

Legende: || = reichlich Impfgut in die entsprechende Bouillon überimpft
 ! = Ausnahme vom natürlichen Verhalten (sog. „falsche“ Resultate)

dann ein Unterschied in der Kolonieforn. Die Milchsäurebakterien erweisen sich als kleine, punktförmige Kolonien, während Klebsiella eine Konvexform aufweisen kann. Nach meiner Ansicht lässt sich *Escherichia coli* trotzdem deutlich differenzieren.» (Siehe auch bei *Uüllers*¹⁴.)

Der IMViC-Test erwies sich bei Beimpfung der entsprechenden Bouillon sowohl mit *Escherichia coli*-Reinkulturen als auch mit Klebsiellatypen mit nur *einem* Typ als zuverlässig (siehe Tab. 1, Reinkulturen). Wenn hingegen mehrere Typen und eventuell in variierender Konzentration vorhanden waren, traten Störungen ein, d.h. die verschiedenen Typen ergaben durcheinander positive und negative Reaktionen. Diese Tatsache wurde mir auch durch *Ritter*¹³), Liebefeld, bestätigt (siehe Tab. 1, Mischung von Reinkulturen). Der IMViC-Test wurde nach den Vorschriften von *Kauffmann*¹¹) pag. 357/358 durchgeführt.

Während ungefähr eines halben Jahres wurden in unserem Laboratorium willkürlich eine Anzahl Trinkwasserproben verschiedenster Herkunft, die in Formiat-Ricinoleat-Bouillon Gasbildung, Trübung und Ansäuerung erzeugten, nach Überimpfung und Reinzüchtung auf Endoagar- und parallel auf Eosinmethylenblauagar-Nährböden mit dem IMViC-Verfahren geprüft. Als positiv nachgewiesen galt *Escherichia coli* dann, wenn auf Endoagar- und Eosinmethylenblauagar gewachsene typische Kolonien auftraten; als *Aerobacter aerogenes*-Formen wurden die in ihrer Art ebenfalls typischen Kolonien auf Simmons-Citratagar angesehen. In Tabelle 2 sind die während dieser Zeit mit dem IMViC-Test erhaltenen sog. «falschen» Resultate wiedergegeben.

Tabelle 2

Überprüfung von auf Endoagar und auf Eosinmethylenblauagar gewachsenen E.coli-Kolonien und auf Simmons-Citratagar gewachsenen Aerobacter aerogenes-Kolonien mit dem IMViC-Test

	Indol	Methylrot	Voges-Proskauer	Citrat
Total der Versuche	165	170	170	168
Mit dem IMViC-Test erhaltene Abweichungen	20	52	55	54
«Falsche» Resultate in %	12,1	30,6	32,4	32,1

Die immerhin beträchtlichen Abweichungen können meines Erachtens von den bei *E. coli* und *Aerobacter aerogenes* vorkommenden \pm Varianten (intermediäre und irreguläre Formen) herrühren, siehe in Tabelle 4.

Der für die Wasserbakteriologie und speziell für die Membranfiltermethode mit geringfügigen Modifikationen abgeänderte Endoagar-Nährboden behält trotz dem Befund von *Uüllers*¹⁴), wonach von 287 auf Endoagar-Nährböden gewachsenen typischen Colikolonien nur deren 220 Stämme zur Familie der Enterobacteriaceae gehören, seinen diagnostischen Wert, wie auch aus Publika-

tionen von *Braune*¹⁶⁾, *Beger*¹⁷⁾, *Seelemann* und *Wegener*¹⁸⁾ u.a.m. hervorgeht. Eine Differenzierung zwischen den Gattungen *Escherichia* und *Aerobacter* ermöglicht die Endoplatte nicht, wogegen der IMViC-Test und weitere biochemische Differenzierungen hierfür geeignet sind. Nach *Müller*¹⁵⁾ lassen sich Warm- und Kaltblüter-Coli (letztere als Passage-Coli bezeichnet) durch Hitzeresistenz (5 Minuten währende Erhitzung auf 60° C soll Kaltblüter-Coli abtöten), durch die fehlende Indolbildung beim Kaltblüter-Coli und durch die negative Eijkman-sche Probe bei 46° C unterscheiden.

Tabelle 3

Prüfung des IMViC-Testes mit verschiedenen Reinkulturen von Aerobacter aerogenes und auf Membranfilter gewachsenen Kolonien aus verschiedenen Flusswasserproben
(Versuch Nr. 30)

Reinkulturen von <i>Aerobacter aerogenes</i>					Kolonien aus Flusswasserproben					
Membranfiltrierte Reinkultur-Suspension		Prüfung mit IMViC				Auf Membranfiltern differenzierte Kolonien gemäss unserer Einteilung auf Seite 1	Prüfung mit IMViC			
		J	MR	VP	C		J	MR	VP	C
Stamm 8	auf Endoagar	—	—	+	+	a	+	+	—	+!
Stamm 8	Zürich	—	—	+	+	c	—	—	—!	+
Stamm 9	gewachsene Kolonien	—	—	+	+	a	+	+	—	—
Stamm 8	auf Endoagar	—	—	+	+	c	—	—	—!	+
Stamm 8	Basel	—	—	+	+	a	+	+	—	—
Stamm 9	gewachsene Kolonien	—	—	+	+	a	+	+	—	—
Stamm 8	auf Endoagar	—	—	+	+	b	+!	—	—!	+
Stamm 8	Konstanz	—	—	+	+	b	+!	—	—!	+
Stamm 9	gewachsene Kolonien	—	—	+	+	c	—	—	—!	+
Stamm 8	auf Endoagar	—	—	+	+	a	+	+	—	—
Stamm 8	Zürich	—	—	+	+	a	+	—!	—	—
Stamm 8	gewachsene Kolonien	—	—	+	+	c	—	+!	—!	+
Stamm 9	Kolonien	—	—	+	+	a	+	+	+!	—
Stamm 9	auf Endoagar	—	—	+	+	a	+	+	—	—
Stamm 9	Konstanz	—	—	+	+	c	—	—	+	+
Stamm 9	gewachsene Kolonien	—	—	+	+	d	—	+!	+	+

Legende: ! = Abweichungen des IMViC-Testes
 J = Indolbildung
 MR = Methylrot-Probe
 VP = Voges-Proskauer-Reaktion
 C = Citrat-Test

Diese Unterscheidungsmöglichkeiten sind nach Müller¹⁵⁾ besonders wichtig, weil von Kaltblütern keine den Menschen krankmachende Bakterien in das Wasser ausgeschieden werden, eine nur Kaltblüter-Coli enthaltende Wasserprobe demnach keine Gesundheitsgefahr bedeutet.

In einer weiteren Versuchsserie filterten wir zwei Stämme von *Aerobacter aerogenes* und verschiedene Flusswasserproben in wechselnder Suspensionsdichte (mit verschiedenen Verdünnungen erhalten) durch Membranfilter und versuchten einige der nach 16 Stunden gewachsenen Kolonien mit dem IMViC-Test zu überprüfen. Die erhaltenen Resultate sind in Tabelle 3 zusammengestellt. Dabei zeigte es sich, dass die zum Typ a gerechneten Kolonien zur Gattung *Escherichia*, die zu den Typen b, c und d eingeteilten Kolonien oft zur Gattung *Aerobacter* gehören. *Reinkulturen* von *Aerobacter aerogenes* dagegen, die auf Membranfiltern gewachsen waren, bestätigten die Richtigkeit des IMViC-Testes (siehe auch Tab. 1) trotz des verschiedenen Aspektes der auf den drei Endoagar-Nährböden gewachsenen Kolonien.

Kauffmann¹¹⁾ (pag. 230) untersuchte das biochemische Verhalten von 100 *Escherichia coli*- und 100 *Klebsiella*-Stämmen. In bezug auf Indolbildung, Ammonium-Citrat-Verwertung, Voges-Proskauer-Reaktion und Methylrot-Test verhielten sie sich wie folgt:

Tabelle 4

Prüfung von 100 Stämmen von *Escherichia coli* und *Klebsiella* hinsichtlich des IMViC-Testes, nach Kauffmann (1954)

	100 Stämme von <i>Escherichia coli</i>	100 Stämme von <i>Klebsiella</i>
Indol	92 +, 8 —	100 —
Methylrot	100 +	7 +, 93 —
Voges-Proskauer	100 —	91 +, 9 —
Ammoniumcitrat	3 +, 97 —	98 +, 2 —

Es ist deshalb verständlich, dass die mit dem IMViC-Test allein erhaltenen Resultate eine sichere Einteilung zur Gattung *Escherichia* oder *Aerobacter* nicht zulassen.

Seelemann und Wegener¹⁸⁾ schreiben wörtlich zur Eignung der gebräuchlichen Nährmedien bei der Untersuchung von Milchproben: «Jeder erfahrene Untersucher ist nicht selten im Zweifel über die Richtigkeit der mit dem einen oder anderen Nährboden erhaltenen Resultat und sucht sich bei der Untersuchung von Milchproben auf coliforme Keime durch die Benutzung mehrerer Nährböden zu sichern, besonders wenn es sich um Untersuchungen amtlichen Charakters handelt.»

Bei Beachtung sowohl der morphologischen als auch der biochemischen Eigentümlichkeiten von auf Membranfiltern gewachsenen *E. coli*- und *Aerobacter aerogenes*-Reinkulturen und Kolonien von Flusswasserproben konnten die zum

Koloniety p a gerechneten Bakterien als *E. coli* diagnostiziert werden, während dem *Aerobacter aerogenes* dem morphologischen Wachstumsaspekte zufolge zum Koloniety p b hätte eingeteilt werden müssen. Aus Tabelle 3 ist jedoch zu entnehmen, daß bei Überprüfung der auf Membranfiltern gewachsenen Kolonien mit dem IMViC-Test (Flusswasserproben) *Aerobacter aerogenes*-Kolonien zu den Koloniety p b, c und d eingereiht werden konnten.

Die im Bericht vom 27. 2. 1956 der Regionalplanungsgruppe Nordwestschweiz von Herrn Dr. *H. Schmassmann* geäußerte Empfehlung, für weitere Colibestimmungen sowohl Nährböden als auch andere Versuchsbedingungen zu vereinheitlichen, schliesst mit folgendem Satz: «Um Anhaltspunkte über die geeignete Wahl der entsprechenden Vorschriften zu erhalten, wäre es erwünscht, mit dem gewählten Nährboden vergleichende Untersuchungen über den Einfluss der Bebrütungstemperatur, der Bebrütungsdauer und weiterer Faktoren auszuführen.»

In der vom Arbeitsausschuss für die Koordination der Untersuchungsmethodik am Hochrhein gehaltenen Sitzung vom 25. August 1956 in Rheinfelden wurde mir die Aufgabe zugewiesen, obgenannte Einflüsse mit drei im Versuch als geeignet befundenen Endoagars für die Membranfiltermethode vergleichend zu studieren.

Sowohl die optimale Bebrütungsdauer als auch die optimale Bebrütungstemperatur betreffend das Wachstum von *Escherichia coli* sind für die Membranfiltermethodik als Vorschlag für das Schweizerische Lebensmittelbuch gedacht.

Die in der Literatur für Colibestimmungen mit Hilfe der Membranfiltermethode empfohlenen Bebrütungstemperaturen variieren von 37° bis 41° C, und die Dauer der Bebrütung schwankt von 14 bis 18 Stunden, je nach Laboratorium. *Thomann*²⁾ erhielt bei 37° C eher eine höhere Colizahl als bei 44° C. *Beger*¹⁷⁾ schreibt wörtlich: «die günstigste (optimale) Wachstumstemperatur für das *Bacterium coli* ist entsprechend seiner Herkunft aus dem menschlichen und tierischen Darm 37° C». Meine durch den Versuch mit drei verschiedenen Endoagars sowohl mit oberflächlich gefassten Flusswasserproben als auch mit wohl definierten Reinkulturen von *Escherichia coli* ermittelten Werte gewachsener Kolonien ergaben unabhängig von den in der Literatur beschriebenen Ergebnissen die *Optimaltemperatur von 37° C* für das Wachstum von Colibakterien und sämtlicher auf Membranfiltern gewachsenen Bakterienkolonien, siehe Fig. 1 und 3. Eine Wiederholung unter denselben Versuchsbedingungen, jedoch mit einem anderen oberflächlich gefassten Flusswasser (siehe Fig. 2) ergab dasselbe Resultat. Die *optimale Bebrütungsdauer* für *Escherichia coli* wie auch für die auf Membranfiltern gewachsenen Bakterienkolonien war, abgesehen von einer Ausnahme, immer 24 Stunden, siehe Fig. 1, 2 und 3.

Die gewachsenen Kolonien wurden nach Versuchsabbruch unmittelbar frisch auf dem Endoagar ausgezählt und die gezählten Kolonien nach Trocknung der Filter nochmals überprüft. Abweichende Ergebnisse in der Zahl der gewachsenen Kolonien, ermittelt auf getrockneten Membranfiltern oder unmittelbar frisch nach Versuchsabbruch, traten keine auf. Hingegen ist die Beurteilung noch fri-

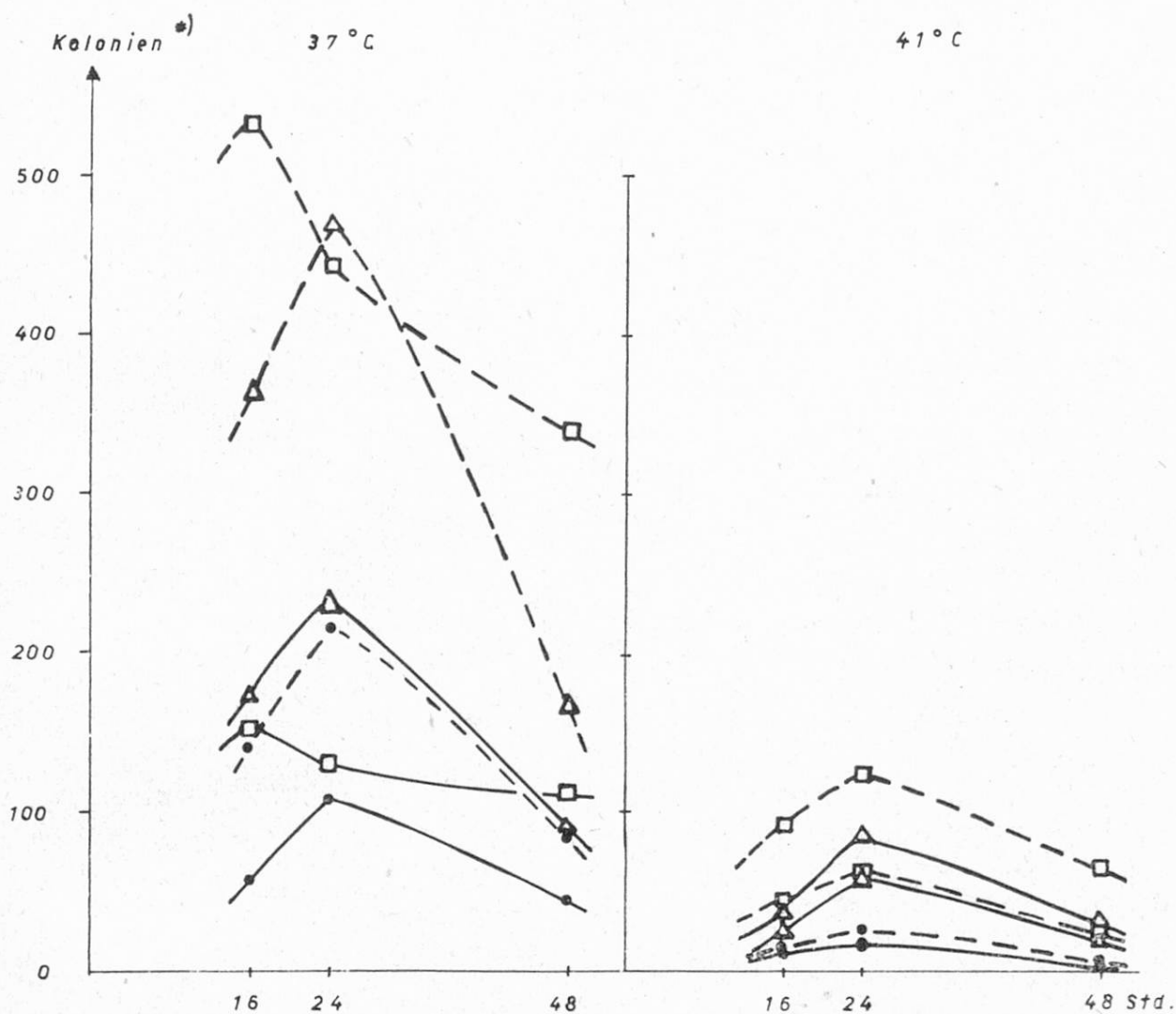


Fig. 1

Bestimmung der Optimaltemperatur für das Wachstum und der optimalen Bebrütungs-
dauer von Colibakterien und anderen unter denselben Versuchsbedingungen gewachsenen
Bakterienkolonien auf Membranfiltern bei Verwendung von drei verschiedenen Endo-
agars (Rheinwasser, unfiltriert)

- Colikolonien (Typ a)
- - - Gesamtkeime (Typ a, b, c und d)
- auf Endoagar Basel gewachsen
- △ auf Endoagar Konstanz gewachsen
- auf Endoagar Zürich gewachsen
- *) die auf drei Membranfiltern mit drei verschiedenen Verdünnungen gewachsenen Kolonien

scher, ungetrockneter Kolonien besonders hinsichtlich der Typeneinteilung b, c und d am vorteilhaftesten vorzunehmen, weil unter Umständen nach Trocknung des Filters das schleimige Wachstum von *Aerobacter aerogenes*-Kolonien nicht

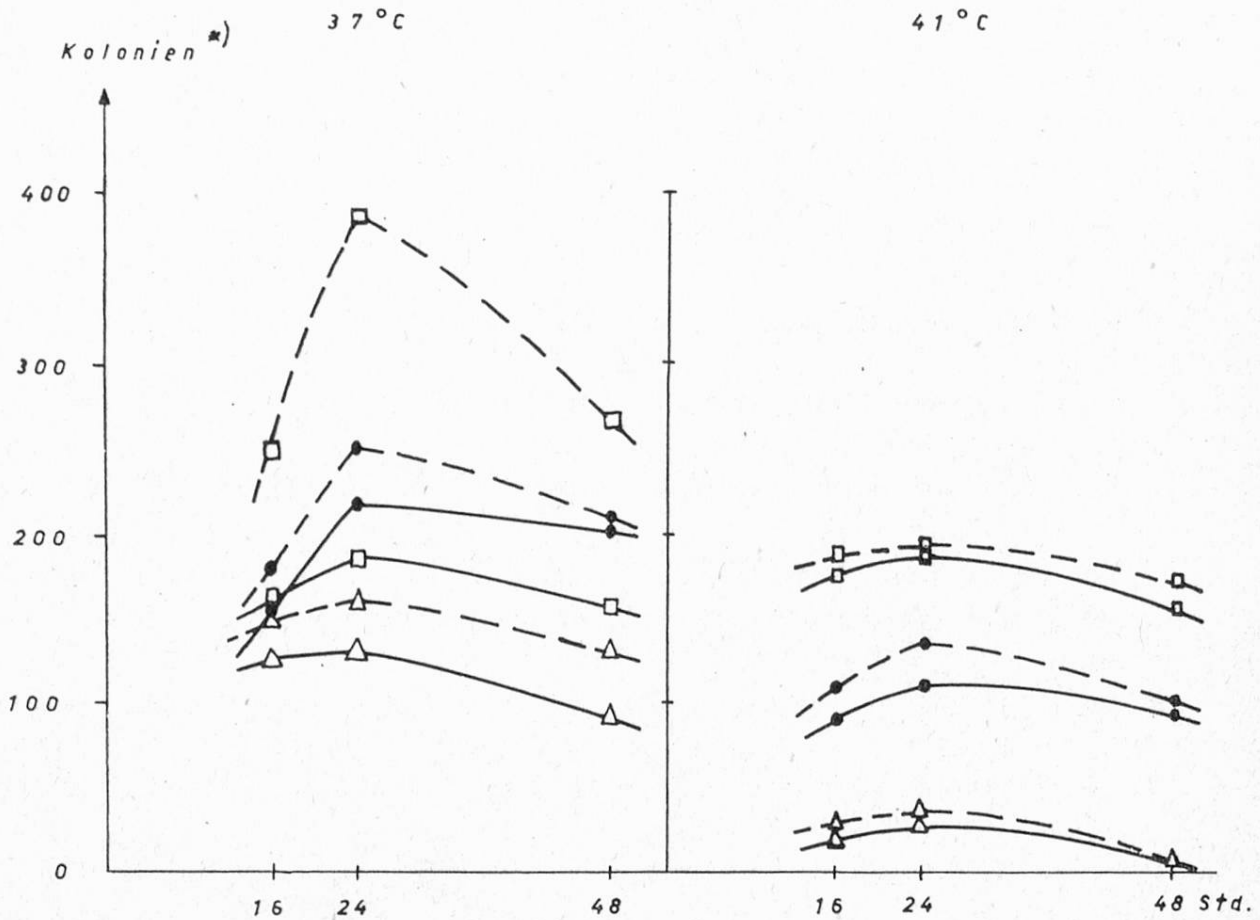


Fig. 2

Wiederholung der Versuche 23a und b mit einem anderen oberflächlich gefassten Flusswasser (Birsigwasser, unfiltriert)

- Colikolonien (Typ a)
- - - Gesamtkeime (Typ a, b, c und d)
- auf Endoagar Basel gewachsen
- △ auf Endoagar Konstanz gewachsen
- auf Endoagar Zürich gewachsen
- *) die auf drei Membranfiltern mit drei Verdünnungen (in 10er Potenz) gewachsenen Kolonien

mehr erkannt und entsprechend diagnostiziert wird und leicht ein schwacher Fuchsinglanz einzelner Kolonien vorgetäuscht wird.

Die drei für sämtliche Versuche verwendeten Endoagars unterschieden sich sowohl in der Zusammensetzung als auch hinsichtlich ihrer Herstellungsart. Der Endoagar des kantonalen Laboratoriums Basel wurde nach den Vorschriften des Difco-Manuals¹⁹⁾ aus den einzelnen Komponenten zubereitet und setzt sich wie folgt zusammen:

5 g Liebigs Fleischextrakt
 10 g Pepton Witte
 10 g Lactose
 9 g Fadenagar, der den Anforderungen der Pharm. Helv. V entsprach
 1000 cm³ destilliertes Wasser
 12,5 cm³ einer 2%igen alkoholischen, basischen, Fuchsinlösung (Difco DF₁₂)
 0,65 g wasserfreies Natriumsulfit
 pH 7,6

Der Endoagar des Chemischen Untersuchungsamtes der Stadt Konstanz enthält folgende Bestandteile:

10 g Probacit (Maggi-Paste) an Stelle von Pepton
 12 g Standard II-Nähragar Merck
 10 g Lactose
 1000 cm³ destilliertes Wasser
 5 cm³ einer 10%igen alkoholischen Fuchsinlösung (Diamant-Fuchsin Merck, Nr. 1356)
 1,3 g Natriumsulfit
 pH 7,5

Versuch Nr. 28 a

Versuch Nr. 28 b

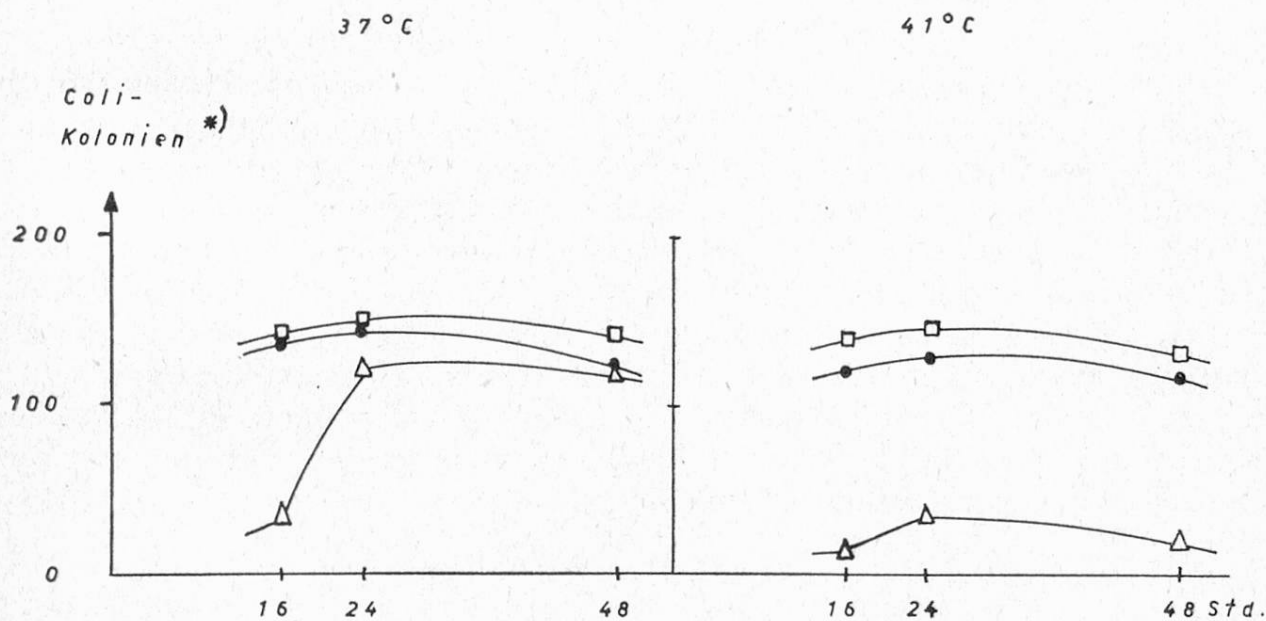


Fig. 3

Bestimmung der Optimaltemperatur für das Wachstum und der optimalen Dauer der Bebrütung einer Coli-Reinkultur (Coli 0/3) bei Verwendung von Membranfiltern bzw. drei verschiedenen Endoagars

- auf Endoagar Basel gewachsen
- △—△ auf Endoagar Konstanz gewachsen
- auf Endoagar Zürich gewachsen
- *) die auf drei Membranfiltern mit drei verschiedenen Verdünnungen (in 10er Potenz) gewachsenen Coli-Kolonien

Der zur Hauptsache industriell hergestellte Nährboden für die Zubereitung des verwendeten Zürcher Endoagars (Städtisches Laboratorium Zürich) enthielt 23 g Bacto Nutrient Agar dehydrated (Difco B₁) pro Liter destilliertes Wasser. Sterilisation: 15 Minuten bei 121° C. Zugabe von 10 Endotabletten Merck 738/10 pro 1 Liter fertigen Endoagars. Sterilisation des fertigen Nährbodens bei 121° C 15 Minuten.

Die auf den drei Endoagars bei Verwendung von unfiltriertem Flusswasser gewachsenen Kolonien verteilten sich wie folgt in die Typen a, b, c und d, siehe Tabelle 5.

Aus Fig. 1 und 2 und aus Tabelle 5 ist zu entnehmen, dass der Endoagar-Nährboden Zürich sowohl für das Wachstum von *Escherichia coli* als auch vor allem für die Bakterien der Kolonietypen c und d sehr geeignet ist. Die starke Förderung des Wachstums für die Bakterien der Kolonietypen c und d prädestiniert den Endoagar Zürich geradezu für Flusswasseruntersuchungen bei Bestimmungen des Selbstreinigungsvermögens eines Flusses, weil damit eine möglichst grosse Anzahl von im Flusswasser vorhandenen Bakterien erfasst wird. Ein weiterer Vorteil dieses Endoagars liegt darin, dass nur Kolonien von *Escherichia coli* auf den Membranfiltern den typischen Oberflächenfuchsinglanz hervorbringen, währenddem die Kolonien der untersuchten *Aerobacter aerogenes*-Reinkulturen nach 24stündiger Bebrütungsdauer bei 37° C kein richtiges Durchwachsen der Filter ergeben haben und den Fuchsinglanz vermissen liessen.

Der auf den beiden Endoagars Basel und Konstanz für Colibakterien typische Fuchsinglanz und das Durchwachsen der Membranfilter konnten leider auch beim Wachstum von *Aerobacter aerogenes*-Reinkulturen konstatiert werden, so dass eine Colidiagnose aus Rohwässern z.B. ohne Beachtung des für Coli- und *Aerobacter aerogenes*-Bakterien spezifischen Wachstumsunterschiedes (Konvexform, schleimig-kapselbildende Kolonieränder der *Aerobacter aerogenes*-Bakterien) viele Fehler in sich schliessen könnte. Andererseits kann aber auch *Aerobacter aerogenes* im Darm von Mensch und Tier vorkommen (fakultativer Darmbewohner) und dient nach *Seelemann* und *Wegener*¹⁸⁾ und *Braune*¹⁶⁾ bei Wasseruntersuchungen als Indikator einer fäkalen Verunreinigung (Warnungszeichen für eine mögliche Infektion mit pathogenen Keimen, insbesondere mit *Salmonellen*).

Tabelle 5

Gewachsene Kolonien aus oberflächlich gefassten Flusswasserproben auf Membranfiltern bei Verwendung von drei verschiedenen Endoagars

Temperatur 37° C, Bebrütungsdauer 24 Stunden

(Versuch Nr. 26)

Verdünnungen	Endoagar Basel				Endoagar Konstanz				Endoagar Zürich			
	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d
Unfiltriertes Rheinwasser												
1,0 cm ³	78	0	2	5	53	5	8	1	62	15	8	12
0,1 cm ³	8	0	3	0	7	2	1	0	10	5	3	1
0,01 cm ³	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Summe	86	0	5	5	60	7	9	1	72	20	11	13
Total gewachsene Kolonien	96				77				116			
Unfiltriertes Birsigwasser												
1,0 cm ³	158	4	13	6	138	2	5	8	153	7	45	8
0,1 cm ³	43	10	1	2	24	0	1	2	74	7	4	7
0,01 cm ³	8	0	0	0	4	0	0	0	13	0	0	0
Summe	209	14	14	8	166	2	6	10	240	14	49	15
Total gewachsene Kolonien	245				184				318			
Unfiltriertes Birswasser												
1,0 cm ³	137	12	5	42	122	4	81	5	158	6	78	18
0,1 cm ³	35	7	3	5	21	4	10	1	49	2	5	4
0,01 cm ³	5	1	2	0	1	0	0	0	3	0	0	3
Summe	177	20	10	47	144	8	91	6	210	8	83	25
Total gewachsene Kolonien	254				249				326			

Zusammenfassung

1. Bei Flusswasseruntersuchungen können im allgemeinen auf Membranfiltern vier gewachsene Kolonietypen unterschieden werden.
2. Mit Reinkulturen von *Escherichia coli* konnte die Frage, ob nur gleichzeitig Oberflächenfuchsinglanz und Membranfilter durchwachsende Kolonien oder auch lediglich durchwachsende Kolonien als *E. coli* aufzufassen wären, gelöst werden. Lediglich durchwachsende Kolonieförmungen von *E. coli* ohne Oberflächenfuchsinglanz traten bei Verwendung von drei verschiedenen Endoagars auf Membranfiltern nicht auf.
3. Die Kolonien von *Aerobacter aerogenes*-Reinkulturen konnten in frischem Zustand deutlich von Colikolonien unterschieden werden, obwohl erstere auf zwei verwendeten Endoagars ebenfalls einen deutlichen Oberflächenfuchsinglanz erzeugten. Beachte die Kolonieförmung!
4. Der IMViC-Test erwies sich bei Beimpfung mit nur *einem* Typ von Coli- und Klebsiella-Reinkultur als zuverlässig; beimpft man die entsprechende Bouillon gleichzeitig mit mehreren Stämmen, treten Störungen ein.
5. Die auf Membranfiltern gewachsenen Kolonietypen a sind mit *E. coli* identisch, wenn man den Wachstumsaspekt der Kolonieförmung mit in Betracht zieht. Die Kolonietypen b, c und d konnten meist mit *Aerobacter aerogenes* identifiziert werden.
6. Die *optimale Bebrütungstemperatur* für das Wachstum von *E. coli* auf Membranfiltern wurde sowohl für Kolonien von verschiedenen Flusswasserproben als auch für Reinkulturen von *E. coli* mit 37° C ermittelt.
7. Die *optimale Bebrütungsdauer* für *E. coli*-Kolonien auf Membranfiltern beträgt 24 Stunden.
8. Der Endoagar des Städtischen Laboratoriums Zürich (Bacto Nutrient Agar dehydrated, Difco B₁ mit Endotabletten Merck 738/10) förderte vor allem die Kolonietypen c und d und erlaubte eine sichere Unterscheidung von Coli- und *Aerobacter aerogenes*-Kolonien, indem nur Colikolonien mit typischem Oberflächenfuchsinglanz wuchsen.

Résumé

1. Dans les analyses des eaux de rivières on peut en général différencier sur membranes filtrantes quatre types de colonies.
2. En employant trois Endo-agars différents sur membranes filtrantes, il ne se forma pas de colonies d'*Escherichia coli* sans brillant de fuchsine en surface (cultures pures d'*Escherichia coli*).
3. On a pu différencier facilement des colonies de cultures pures à l'état frais d'*Aerobacter aerogenes*, de colonies d'*Escherichia coli*, malgré que les premières aient produit en surface un brillant de fuchsine sur les deux Endo-agars employés. Il faut bien observer la forme des colonies!
4. Le test d'IMViC donne des résultats satisfaisants seulement par inoculation d'un seul type de culture pure de Coli et de Klebsiella, en inoculant simultanément les bouillons correspondants avec plusieurs souches, on obtient des résultats douteux.
5. Les colonies type «a» développées sur membranes filtrantes sont identiques avec *Escherichia coli*, si l'on considère la forme des colonies. En général on peut identifier les colonies types b, c et d avec *Aerobacter aerogenes*.

6. *La température optimum est de 37° C pour le développement d'Escherichia coli sur membranes filtrantes, soit pour des cultures pures de colonies d'Escherichia coli soit pour des colonies provenant de différents échantillons d'eaux de rivières.*
7. *La durée optimale du développement pour colonies d'Escherichia coli sur membranes filtrantes est de 24 heures.*
8. *L'Endo-agar du laboratoire de la ville de Zurich (Bacto Nutrient Agar dehydrated, Difco B₁ avec de tablettes d'Endo Merck 738/10) favorise principalement le développement des colonies types c et d et permet une différenciation sûre entre Coli et Aerobacter aerogenes, puisque seulement les colonies de Coli se développent avec, en surface, un brillant de fuchsine typique.*

Summary

1. Bacteriological examination of river water; 4 types of bacteria colonies may be differentiated on filtering membranes.
2. By using Difco B₁ Agar (Bacto Nutrient Agar dehydrated) and Merck Endo tablets 738/10 a sure differentiation between E. Coli and Aerobacter aerogenes is possible, since only the Coli colonies grow on its surface with a typical fuchsine coloration.
3. 37° C is the optimum temperature for the growth of E. Coli on filtering membranes; the optimal growth is observed after 24 hours.

Literatur

- 1) *H. Fast*, «Zur bakteriologischen Trinkwasser-Untersuchung und -Beurteilung», Schweiz. Verein von Gas- und Wasserfachmännern Nr. 9 (1953).
- 2) *O. Thomann*, «Das Membranfilter in der Wasserbakteriologie», Mitt. **45**, 62—65 (1954).
- 3) *A. Beling und K. H. Maier*, «Die Wasserversorgung und ihre Überwachung mit Hilfe der Membranfiltration», Vom Wasser, XXI. Bd., 118—128 (1954).
- 4) *B. Karakasëvić*, «Bakteriologische Untersuchungen des Trinkwassers mit Hilfe der Membranfiltration», Ztschr. f. Hyg. **140**, 457—463 (1954).
- 5) *R. Buttiaux, G. Muchemle, Th. Leurs*, Annales de l'Institut Pasteur, 1010—1025 (1953).
- 6) Bericht der Regionalplanungsgruppe Nordwestschweiz vom 27. 2. 1956, «Vergleichende Untersuchungen über das Wachstum von Coli-Bakterien auf verschiedenen Endoagar-Nährböden mit Hilfe des Membranfilterverfahrens», zu beziehen bei Dr. H. Schmassmann, Liestal.
- 7) *T. Emmenegger*, «Vergleichende Untersuchungen des Nachweises von Escherichia coli in Trink- und Flusswasser», Mitt. **46**, 415—430 (1955).
- 8) *H. Kruse*, «Das Membranfilter», Gas- und Wasserfach **93**, Heft 24 (1952).
- 9) Membranfilter-Gesellschaft Sartorius Werke, Göttingen, «Bakterienfiltrationsgerät Coli₅» (1954).
- 10) *E. Märki*, «Zweck und Methodik der Colibestimmung», Referat, gehalten an der Sitzung des Arbeitsausschusses für Koordination der Untersuchungsmethodik am Hochrhein in Badenweiler, 29./30. April 1955.
- 11) *F. Kauffmann*, «Enterobacteriaceae», 2. Edit., Ejnar Munksgaard, Copenhagen (1954).
- 12) *H. Fey*, «Coliprobleme bei Mensch und Tier», Schweiz. Archiv für Tierheilkunde **97**, Heft 3 (1955).

- 13) *W. Ritter*, «Die Kontrolle von Milch und Milchprodukten auf Bakterien der Coli-Aerogenes-Gruppe», *Schweiz. Milchzeitung* **26**, Wiss. Beilage Nr. 9 (1954).
- 14) *R. Uüllers*, «Über die Zuverlässigkeit der Colidiagnose auf Endoagar», *Zbl. Bakt. I*, Orig. **163**, 85/86 (1955).
- 15) *A. Müller*, «Escherichia coli im Kaltblüter», *Zbl. Bakt. I*, Orig. **162**, 32—37 (1955).
- 16) *J. F. Braune*, «Zur Technik der Differenzierung zwischen Escherichia coli und Aerobacter aerogenes», *Zbl. Bakt. I*, Orig. **164**, 338—343 (1955).
- 17) *H. Beger*, «Leitfaden der bakteriologischen Trinkwasseruntersuchung», Urban & Schwarzenberg, Berlin und München (1948).
- 18) *M. Seelemann* und *K. H. Wegener*, «Zum Nachweis von Escherichia-Aerobacter-Keimen in Milchproben», *Milchwiss.* **11**, 51—61 (1956).
- 19) *Difco Manual*, IX. edit. (1953).

Dosage du bromure de méthyle adsorbé dans les denrées traitées par cet insecticide

Par *P. Desbaumes* et *J. Deshusses*

(Laboratoire cantonal de chimie, Genève)

Introduction

Les propriétés insecticides du bromure de méthyle furent découvertes en 1942 par *Le Goupil*¹⁾.

Dès 1935, l'étude systématique du pouvoir toxique à l'égard des insectes et de la résistance des plantes vivantes aux vapeurs de ce nouvel insecticide, fut entreprise par *Francolini*²⁾ (1935), *Mackie* et *Carter*³⁾ (1937), *Fisk* et *Shepard*⁴⁾ (1938), *Donohoe* et *Johnson*⁵⁾ (1939).

En déterminant la toxicité (dl/50) du bromure de méthyle pour le *Tribolium confusum*, *Sitophilus granarius* et *Sitophilus orizae*, *Shepard* et ses collaborateurs⁶⁾ (1937), démontrèrent que le nouvel insecticide pouvait se comparer avantageusement aux insecticides puissants tels que l'acide cyanhydrique, la chloropicrine ou l'oxyde d'éthylène.

Outre sa haute toxicité, le bromure de méthyle possède l'avantage d'avoir un pouvoir de pénétration élevé et d'être peu soluble dans l'eau (0,09 g dans 100 g d'eau à 0°). De plus, l'absorption du bromure de méthyle dans les graines de céréales est plus faible que celle des autres gaz insecticides.

*Page*⁷⁾ a calculé le coefficient qs/qf dans lequel qs représente la quantité de gaz absorbé dans 100 g de froment et qf , celle du gaz dans 1 litre d'espace libre.

Alors que ce coefficient n'est que de 0,16 pour le bromure de méthyle, il est de 0,33 pour le trichloracétonitrile, de 0,90 pour l'oxyde d'éthylène et de 2,74 pour l'acide cyanhydrique.