

# Untersuchungen zur Nachweisempfindlichkeit coliformer Keime neben *Escherichia coli* nach der Methodik der Trinkwasser-Verordnung

Studies on the sensitivity of detection coliform bacteria in a mixed population with *Escherichia coli* using the method of the Federal Drinking Water Regulation

Hans E. Müller

Staatliches Medizinaluntersuchungsamt Braunschweig, BRD

## Zusammenfassung:

*E. coli* und coliforme Keime lassen sich in 1%iger Laktose-Bouillon, wie sie in der Trinkwasser-Verordnung (TrinkwV) vorgeschrieben ist, zwar als Reinkulturen anreichern, doch wenn *E. coli* und coliforme Bakterien als Mischpopulation in einer Trinkwasser-Probe vorhanden sind, so wird in aller Regel zwar *E. coli* nachgewiesen. Dagegen sind die coliformen Keime bei Ausgangskonzentrationen in gleicher oder ähnlicher Größenordnung wie *E. coli* nur noch in weniger als einem Drittel aller Fälle selbst bei sehr sorgfältiger Prüfung der Subkulturen nachweisbar. Erst eine um den Faktor  $10^2$  bis  $10^3$  höhere Konzentration der Coliformen gegenüber *E. coli* ermöglicht ihren sicheren Nachweis. Dazu muß die Anreicherungsbouillon bereits nach eintägiger Bebrütung auf Endo- oder MacConkey-Nährböden ausgestrichen werden. Andererseits können die coliformen Bakterien, wenn sie in ähnlich hoher Konzentration wie *E. coli* in einer Trinkwasser-Probe vorhanden sind, erst nach zweitägiger Bebrütung nachgewiesen werden. Daraus folgt, daß die 1%ige Laktose-Bouillon, sofern sie Gas- und Säurebildung zeigt, sowohl nach ein- als auch nach zweitägiger Bebrütung auf geeignete Nährböden ausgestrichen werden muß. Danach sind die Subkulturen sorgfältig auf morphologisch unterschiedliche Kolonien zu prüfen.

Schlüsselwörter: Trinkwasser-Verordnung – Nachweisempfindlichkeit – Coliforme Keime

## Summary:

*E. coli* and coliform bacteria are detectable in a lactose broth of 1 percent as pure cultures, as it is prescribed by the Federal Drinking Water Regulation. However, only *E. coli* can be detected with adequate certainty from a mixed population of *E. coli* and coliform bacteria in a sample of drinking water. The coliform bacteria occurring in a similar concentration as *E. coli* in the drinking water are detectable only in less than a third part, even under careful investigation of the appropriate subcultures. A certain detection of coliform bacteria apart from *E. coli* is only possible if their concentration is hundred- up to thousandfold higher than that of *E. coli*. In such cases, coliform bacteria can be found on Endo- or MacConkey agar plates if they are inoculated after one day of incubation. On the other hand, if their concentration is similar to that of *E. coli*, the half of them needs two days of incubation in the enrichment broth. Hence it follows that appropriate agar plates are to be inoculated twice, i.e. after an incubation of one and after two days. The subcultures must be inspected carefully for morphologically different colonies.

Keywords: Federal drinking water regulation – sensitivity of detection – coliform bacteria

## Einleitung

Die Trinkwasser-Verordnung (TrinkwV) fordert in § 1, daß Trinkwasser keine Krankheitserreger enthalten darf (3). Als Gewähr dafür nennt sie zwei Grenzwerte: In 100 ml dürfen keine *E. coli* und keine coliformen Keime nachweisbar sein. Die mikrobiologische Bestimmungsmethode zum Nachweis der beiden Fäkalmarker sind in

Anlage 1 der TrinkwV festgelegt. Als erster Untersuchungsschritt erfolgt für beide Parameter eine Flüssigkeitsanreicherung in 1%iger Laktose-Bouillon. Dazu können 100 ml Trinkwasser entweder mit einer entsprechend konzentrierten Laktose-Bouillon auf eine 1%ige Endkonzentration gebracht oder durch eine Membran filtriert und das Filter in 50 ml einer 1%igen Laktose-Bouillon eingelegt werden. In beiden Fällen erfolgt eine

Bebrütung bei 36° ± 1° C über wenigstens 24 ± 4 Stunden. Wenn die Bouillon nach dieser Zeit noch negativ ist, wird die Bebrütungsdauer auf 44° ± 1° C verlängert und danach auf das Merkmal "Gas- und Säurebildung" geprüft. Im positiven Fall soll zur Abschätzung des Ausmaßes der Verunreinigung eine Quantifizierung von E. coli und der coliformen Keime vorgenommen werden. Außerdem müssen Sub- bzw. Reinkulturen auf Endo-, MacConkey-Agar oder einem anderen gleichwertigen Nährboden angelegt und die Kolonien auf die für E. coli bzw. für coliforme Keime charakteristischen Merkmale geprüft werden (3).

Der Gesetzgeber geht davon aus, daß E. coli und/oder coliforme Keime durch dieses Untersuchungsverfahren mit der notwendigen Sicherheit erfassbar und sogar obligat pathogene Darmbakterien erkannt werden können, wenn sie ausnahmsweise vorhanden sein sollten (9).

Inzwischen zeigten die seit 6 Jahren am Staatlichen Medizinaluntersuchungsamt Braunschweig durchgeführten Trinkwasser-Ringversuche (4), daß die Nach-

weisempfindlichkeit von coliformen Bakterien bei gleichzeitigem Vorkommen von E. coli sehr stark von ihrer Ausgangskonzentration und außerdem von der Vorgeschichte bzw. Vorschädigung der nachzuweisenden Bakterien abhängt.

Um derartige Rahmenbedingungen abzuklären, wurden verschiedene Modelluntersuchungen angestellt. Sie geben Auskunft über die Nachweisgrenze für die Konzentration coliformer Bakterien bei gleichzeitiger Anwesenheit von E. coli in einer Trinkwasserprobe.

### Material und Methoden

Die untersuchten coliformen Bakterienarten sind in Spalte 3 der Tab. 1 aufgeführt. Die verwendeten Stämme wurden aus Umweltproben isoliert. Sie wurden bereits andernorts beschrieben (2, 5, 6). Es handelt sich nicht nur um coliforme Keime nach der Definition der TrinkwV, sondern zusätzlich auch um Aeromonas-Arten. Sie unterscheiden sich lediglich durch das Merkmal einer posi-

Tabelle 1: Die Konzentrationen von E. coli und coliformen Keimen in 1%iger Laktose-Bouillon nach 20 ± 4 und nach 44 ± 4 Stunden Bebrütung bei 36° C ± 1° C als Reinkulturen und als Mischkulturen

Lfd. Nr.	2	3	4	5				6					
				Bakterienkonzentration nach 20 stündiger Bebrütung bei 36° C		Bakterienkonzentration nach 44 stündiger Bebrütung bei 36° C		Bakterienkonzentration nach 20 stündiger Bebrütung bei 36° C		Bakterienkonzentration nach 44 stündiger Bebrütung bei 36° C			
Inokulum und Vorgeschichte von E. coli (KBE)	Art der untersuchten coliformen Keime	Inokulum der coliformen Keime (KBE)	E. coli (KBE/ml)	coliformen Keimen (KBE/ml)	E. coli + coliformen Keimen (KBE/ml)	E. coli (KBE/ml)	coliformen Keimen (KBE/ml)	E. coli + coliformen Keimen (KBE/ml)	E. coli (KBE/ml)	coliformen Keimen (KBE/ml)	E. coli + coliformen Keimen (KBE/ml)	E. coli (KBE/ml)	coliformen Keimen (KBE/ml)
01	25 B	Aeromonas caviae	02	2 x 10 <sup>8</sup>	2 x 10 <sup>7</sup>	3 x 10 <sup>8</sup>	NN <sup>2</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	6 x 10 <sup>7</sup>	3 x 10 <sup>10</sup>	NN		
02	25 B	"	06	2 x 10 <sup>8</sup>	4 x 10 <sup>8</sup>	3 x 10 <sup>10</sup>	NN	1 x 10 <sup>10</sup>	5 x 10 <sup>9</sup>	2 x 10 <sup>10</sup>	NN		
03	25 P	"	02	1 x 10 <sup>8</sup>	1 x 10 <sup>8</sup>	8 x 10 <sup>8</sup>	2 x 10 <sup>7</sup>	6 x 10 <sup>9</sup>	6 x 10 <sup>7</sup>	3 x 10 <sup>10</sup>	NN		
04	25 P	"	06	1 x 10 <sup>8</sup>	1 x 10 <sup>8</sup>	3 x 10 <sup>9</sup>	NN	5 x 10 <sup>9</sup>	2 x 10 <sup>10</sup>	2 x 10 <sup>10</sup>	NN		
05	24 B	"	10 <sup>1</sup>	1 x 10 <sup>7</sup>	2 x 10 <sup>7</sup>	8 x 10 <sup>7</sup>	6 x 10 <sup>9</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	5 x 10 <sup>9</sup>	3 x 10 <sup>10</sup>	3 x 10 <sup>9</sup>		
06	24 P	"	10 <sup>2</sup>	1 x 10 <sup>7</sup>	4 x 10 <sup>7</sup>	1 x 10 <sup>8</sup>	NN	2 x 10 <sup>10</sup>	8 x 10 <sup>9</sup>	3 x 10 <sup>10</sup>	3 x 10 <sup>9</sup>		
07	25 B	Aeromonas hydrophila	26	2 x 10 <sup>8</sup>	5 x 10 <sup>7</sup>	4 x 10 <sup>9</sup>	NN	1 x 10 <sup>10</sup>	3 x 10 <sup>7</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	NN		
08	25 P	"	26	1 x 10 <sup>8</sup>	3 x 10 <sup>8</sup>	2 x 10 <sup>9</sup>	NN	5 x 10 <sup>9</sup>	5 x 10 <sup>9</sup>	3 x 10 <sup>10</sup>	NN		
09	24 B	"	10 <sup>3</sup>	1 x 10 <sup>7</sup>	6 x 10 <sup>9</sup>	1 x 10 <sup>7</sup>	2 x 10 <sup>10</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	NN		
10	24 P	"	10 <sup>4</sup>	1 x 10 <sup>7</sup>	3 x 10 <sup>7</sup>	3 x 10 <sup>7</sup>	2 x 10 <sup>10</sup>	2 x 10 <sup>10</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	NN		
11	25 B	Aeromonas sobria	08	1 x 10 <sup>10</sup>	4 x 10 <sup>8</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	NN	1 x 10 <sup>10</sup>	8 x 10 <sup>10</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	NN		
12	24 P	"	08	1 x 10 <sup>7</sup>	1 x 10 <sup>7</sup>	8 x 10 <sup>8</sup>	4 x 10 <sup>7</sup>	2 x 10 <sup>10</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	9 x 10 <sup>10</sup>	NN		
13	90 B	Buttiauxella agrestis	34	2 x 10 <sup>10</sup>	1 x 10 <sup>8</sup>	4 x 10 <sup>10</sup>	NN	3 x 10 <sup>10</sup>	3 x 10 <sup>10</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	NN		
14	90 P	"	34	2 x 10 <sup>10</sup>	2 x 10 <sup>7</sup>	2 x 10 <sup>10</sup>	NN	2 x 10 <sup>10</sup>	5 x 10 <sup>10</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	NN		
15	25 B	Citrobacter freundii	10	2 x 10 <sup>8</sup>	5 x 10 <sup>8</sup>	3 x 10 <sup>8</sup>	1 x 10 <sup>7</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	2 x 10 <sup>10</sup>	5 x 10 <sup>9</sup>	NN		
16	25 B	"	13	2 x 10 <sup>10</sup>	2 x 10 <sup>9</sup>	2 x 10 <sup>10</sup>	NN	1 x 10 <sup>10</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	2 x 10 <sup>10</sup>	NN		
17	25 B	"	16	2 x 10 <sup>8</sup>	3 x 10 <sup>10</sup>	4 x 10 <sup>10</sup>	NN	1 x 10 <sup>10</sup>	2 x 10 <sup>10</sup>	2 x 10 <sup>10</sup>	2 x 10 <sup>7</sup>		
18	25 P	"	10	1 x 10 <sup>10</sup>	9 x 10 <sup>8</sup>	5 x 10 <sup>9</sup>	NN	1 x 10 <sup>10</sup>	8 x 10 <sup>10</sup>	3 x 10 <sup>10</sup>	NN		
19	25 P	"	13	1 x 10 <sup>8</sup>	1 x 10 <sup>8</sup>	9 x 10 <sup>8</sup>	NN	8 x 10 <sup>9</sup>	8 x 10 <sup>9</sup>	2 x 10 <sup>10</sup>	NN		
20	25 P	"	16	1 x 10 <sup>8</sup>	2 x 10 <sup>10</sup>	8 x 10 <sup>10</sup>	NN	5 x 10 <sup>10</sup>	9 x 10 <sup>9</sup>	7 x 10 <sup>10</sup>	8 x 10 <sup>9</sup>		
21	24 B	"	10 <sup>4</sup>	1 x 10 <sup>7</sup>	1 x 10 <sup>9</sup>	1 x 10 <sup>7</sup>	1 x 10 <sup>6</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	3 x 10 <sup>9</sup>		
22	24 P	"	10 <sup>5</sup>	1 x 10 <sup>7</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	2 x 10 <sup>8</sup>	1 x 10 <sup>9</sup>	2 x 10 <sup>10</sup>	4 x 10 <sup>9</sup>	4 x 10 <sup>9</sup>	9 x 10 <sup>9</sup>		
23	90 B	Enterobacter cloacae	08	1 x 10 <sup>10</sup>	1 x 10 <sup>8</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	NN	5 x 10 <sup>10</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	NN		
24	90 B	"	15	2 x 10 <sup>10</sup>	7 x 10 <sup>8</sup>	2 x 10 <sup>10</sup>	NN	1 x 10 <sup>10</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	2 x 10 <sup>10</sup>	NN		
25	25 B	"	33	2 x 10 <sup>8</sup>	1 x 10 <sup>8</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	NN	1 x 10 <sup>10</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	NN		
26	25 P	"	08	1 x 10 <sup>7</sup>	7 x 10 <sup>8</sup>	4 x 10 <sup>10</sup>	NN	5 x 10 <sup>10</sup>	9 x 10 <sup>9</sup>	9 x 10 <sup>9</sup>	NN		
27	90 P	"	15	2 x 10 <sup>10</sup>	3 x 10 <sup>8</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	NN	1 x 10 <sup>10</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	2 x 10 <sup>10</sup>	NN		
28	25 P	"	33	1 x 10 <sup>8</sup>	5 x 10 <sup>8</sup>	4 x 10 <sup>8</sup>	NN	5 x 10 <sup>10</sup>	3 x 10 <sup>10</sup>	2 x 10 <sup>10</sup>	NN		
29	24 B	"	10 <sup>4</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	2 x 10 <sup>10</sup>	2 x 10 <sup>8</sup>	5 x 10 <sup>9</sup>	9 x 10 <sup>9</sup>	9 x 10 <sup>9</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	NN		
30	24 P	"	10 <sup>5</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	1 x 10 <sup>9</sup>	8 x 10 <sup>9</sup>	2 x 10 <sup>8</sup>	2 x 10 <sup>10</sup>	8 x 10 <sup>9</sup>	2 x 10 <sup>10</sup>	2 x 10 <sup>10</sup>		
31	90 B	Enterobacter intermedia	05	2 x 10 <sup>10</sup>	3 x 10 <sup>8</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	NN	2 x 10 <sup>10</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	NN		
32	25 B	"	18	2 x 10 <sup>8</sup>	3 x 10 <sup>8</sup>	4 x 10 <sup>8</sup>	NN	4 x 10 <sup>10</sup>	4 x 10 <sup>10</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	NN		
33	90 P	"	05	2 x 10 <sup>9</sup>	8 x 10 <sup>8</sup>	9 x 10 <sup>9</sup>	NN	2 x 10 <sup>10</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	2 x 10 <sup>10</sup>	NN		
34	25 P	"	16	1 x 10 <sup>10</sup>	5 x 10 <sup>9</sup>	2 x 10 <sup>9</sup>	NN	5 x 10 <sup>10</sup>	2 x 10 <sup>10</sup>	4 x 10 <sup>10</sup>	NN		
35	24 B	"	10 <sup>4</sup>	1 x 10 <sup>7</sup>	9 x 10 <sup>8</sup>	3 x 10 <sup>9</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	2 x 10 <sup>10</sup>	8 x 10 <sup>9</sup>	5 x 10 <sup>9</sup>		
36	24 P	"	10 <sup>5</sup>	1 x 10 <sup>7</sup>	7 x 10 <sup>8</sup>	1 x 10 <sup>8</sup>	8 x 10 <sup>9</sup>	2 x 10 <sup>10</sup>	4 x 10 <sup>8</sup>	5 x 10 <sup>9</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>		
37	25 B	Enterobacter sakazakii	01	2 x 10 <sup>8</sup>	6 x 10 <sup>7</sup>	2 x 10 <sup>8</sup>	NN	1 x 10 <sup>10</sup>	6 x 10 <sup>9</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	NN		
38	25 P	"	01	1 x 10 <sup>10</sup>	3 x 10 <sup>9</sup>	2 x 10 <sup>10</sup>	NN	5 x 10 <sup>10</sup>	3 x 10 <sup>10</sup>	2 x 10 <sup>10</sup>	NN		
39	90 B	"	10	2 x 10 <sup>8</sup>	3 x 10 <sup>8</sup>	3 x 10 <sup>10</sup>	NN	5 x 10 <sup>10</sup>	5 x 10 <sup>10</sup>	4 x 10 <sup>10</sup>	NN		
40	90 B	"	10	2 x 10 <sup>9</sup>	2 x 10 <sup>9</sup>	7 x 10 <sup>9</sup>	NN	2 x 10 <sup>10</sup>	3 x 10 <sup>10</sup>	3 x 10 <sup>10</sup>	NN		
41	24 B	Klebsiella pneumoniae	07	1 x 10 <sup>10</sup>	2 x 10 <sup>7</sup>	2 x 10 <sup>10</sup>	4 x 10 <sup>7</sup>	8 x 10 <sup>9</sup>	8 x 10 <sup>9</sup>	7 x 10 <sup>9</sup>	NN		
42	25 P	"	07	1 x 10 <sup>8</sup>	7 x 10 <sup>7</sup>	1 x 10 <sup>8</sup>	NN	1 x 10 <sup>10</sup>	7 x 10 <sup>7</sup>	9 x 10 <sup>7</sup>	NN		
43	25 B	Klebsiella oxytoca	31	2 x 10 <sup>8</sup>	2 x 10 <sup>8</sup>	5 x 10 <sup>8</sup>	NN	1 x 10 <sup>10</sup>	2 x 10 <sup>10</sup>	2 x 10 <sup>10</sup>	NN		
44	90 P	"	31	1 x 10 <sup>8</sup>	8 x 10 <sup>8</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	1 x 10 <sup>7</sup>	5 x 10 <sup>10</sup>	3 x 10 <sup>10</sup>	3 x 10 <sup>10</sup>	2 x 10 <sup>9</sup>		
45	90 B	Klebsiella terrigena	04	2 x 10 <sup>10</sup>	2 x 10 <sup>9</sup>	2 x 10 <sup>10</sup>	NN	1 x 10 <sup>10</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	NN		
46	90 P	"	04	2 x 10 <sup>7</sup>	1 x 10 <sup>8</sup>	2 x 10 <sup>8</sup>	NN	2 x 10 <sup>10</sup>	5 x 10 <sup>10</sup>	3 x 10 <sup>10</sup>	NN		
47	25 B	"	22	2 x 10 <sup>10</sup>	1 x 10 <sup>7</sup>	3 x 10 <sup>8</sup>	NN	1 x 10 <sup>10</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	NN		
48	25 P	"	23	1 x 10 <sup>8</sup>	2 x 10 <sup>7</sup>	3 x 10 <sup>8</sup>	NN	1 x 10 <sup>10</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	3 x 10 <sup>10</sup>	1 x 10 <sup>9</sup>		
49	25 P	"	23	2 x 10 <sup>8</sup>	6 x 10 <sup>8</sup>	6 x 10 <sup>8</sup>	NN	1 x 10 <sup>10</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	NN		
50	24 P	"	10 <sup>4</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	5 x 10 <sup>8</sup>	6 x 10 <sup>8</sup>	8 x 10 <sup>9</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	9 x 10 <sup>9</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	NN		
51	24 B	Kluyvera species	24	1 x 10 <sup>10</sup>	5 x 10 <sup>8</sup>	2 x 10 <sup>10</sup>	NN	2 x 10 <sup>10</sup>	9 x 10 <sup>9</sup>	7 x 10 <sup>9</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>		
52	24 B	"	46	1 x 10 <sup>10</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	2 x 10 <sup>10</sup>	8 x 10 <sup>7</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	2 x 10 <sup>10</sup>	2 x 10 <sup>10</sup>	4 x 10 <sup>9</sup>		
53	24 B	"	46	1 x 10 <sup>10</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	2 x 10 <sup>10</sup>	NN	1 x 10 <sup>10</sup>	4 x 10 <sup>9</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	6 x 10 <sup>9</sup>		
54	25 P	"	44	1 x 10 <sup>10</sup>	9 x 10 <sup>9</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	NN	3 x 10 <sup>10</sup>	8 x 10 <sup>9</sup>	5 x 10 <sup>9</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>		
55	90 B	Moraxella wisconsinensis	40	2 x 10 <sup>10</sup>	3 x 10 <sup>7</sup>	6 x 10 <sup>10</sup>	NN	2 x 10 <sup>10</sup>	4 x 10 <sup>10</sup>	7 x 10 <sup>10</sup>	NN		
56	90 B	"	40	2 x 10 <sup>10</sup>	3 x 10 <sup>7</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	NN	1 x 10 <sup>10</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	7 x 10 <sup>10</sup>	NN		
57	25 B	Parvovirus agglomerans	08	2 x 10 <sup>8</sup>	5 x 10 <sup>8</sup>	2 x 10 <sup>10</sup>	NN	1 x 10 <sup>10</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	5 x 10 <sup>9</sup>		
58	25 B	"	17	2 x 10 <sup>8</sup>	3 x 10 <sup>7</sup>	3 x 10 <sup>9</sup>	NN	1 x 10 <sup>10</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	7 x 10 <sup>10</sup>	NN		
59	25 P	"	08	1 x 10 <sup>10</sup>	6 x 10 <sup>8</sup>	4 x 10 <sup>10</sup>	NN	1 x 10 <sup>10</sup>	5 x 10 <sup>10</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	NN		
60	25 B	"	17	2 x 10 <sup>8</sup>	6 x 10 <sup>8</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	NN	5 x 10 <sup>10</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	7 x 10 <sup>10</sup>	NN		
61	90 B	Rafaelia aquatilis	26	2 x 10 <sup>10</sup>	5 x 10 <sup>8</sup>	4 x 10 <sup>10</sup>	NN	2 x 10 <sup>10</sup>	8 x 10 <sup>7</sup>	2 x 10 <sup>10</sup>	NN		
62	90 P	"	26	2 x 10 <sup>9</sup>	8 x 10 <sup>7</sup>	2 x 10 <sup>9</sup>	NN	2 x 10 <sup>10</sup>	3 x 10 <sup>10</sup>	2 x 10 <sup>10</sup>	NN		
63	25 B	Serratia fonticola	05	2 x 10 <sup>8</sup>	1 x 10 <sup>8</sup>	6 x 10 <sup>8</sup>	3 x 10 <sup>7</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	< 10 <sup>5</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	NN		
64	24 P	"	05	1 x 10 <sup>8</sup>	1 x 10 <sup>8</sup>	1 x 10 <sup>8</sup>	NN	3 x 10 <sup>10</sup>	8 x 10 <sup>8</sup>	4 x 10 <sup>10</sup>	NN		
65	90 B	"	50	2 x 10 <sup>10</sup>	3 x 10 <sup>7</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	NN	2 x 10 <sup>10</sup>	3 x 10 <sup>10</sup>	2 x 10 <sup>10</sup>	1 x 10 <sup>9</sup>		
66	90 P	"	50	2 x 10 <sup>9</sup>	8 x 10 <sup>8</sup>	1 x 10 <sup>10</sup>	NN	2 x 10 <sup>10</sup>	2 x 10 <sup>10</sup>	2 x 10 <sup>10</sup>	NN		

1 B = E. coli aus Bouillon frisch angezüchtet; P = Stoffwechsellaktative E. coli aus Puffer-Lösung nach 2-3-jähriger Lagerung  
2 NN = nicht nachweisbar

tiven Oxidase-Reaktion von den übrigen coliformen Keimen. Doch ebenso wenig wie viele andere coliforme Bakterien können sie als Fäkalindikatoren angesehen werden. Sie wurden in 0,1%iger Pepton-Bouillon bei 20° C kultiviert.

*E. coli* wurde teils direkt nach ihrer Anzüchtung und entsprechender Verdünnung in die Versuche genommen (in Spalte 2 der Tab. 1 mit B bezeichnet), teilweise waren sie zunächst zentrifugiert, in Britton-Robinson-Puffer, pH 7,2, gewaschen und im Kühlschrank über 2-3 Jahre aufbewahrt worden (in Spalte 2 der Tab. 1 mit P bezeichnet). Es handelte sich also um Stoffwechsel-inaktive Zellen, wie das auch für Bakterien im nährstoff-armen Trinkwasser anzunehmen ist.

Der Britton-Robinson-Puffer wird hergestellt, indem zu 100 ml der Stammlösung (6,01 g Citronensäure, 3,892 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 1,769 g  $\text{H}_3\text{BO}_3$ , 5,268 g Barbitol und 28,6 ml 0,1 n  $\text{HCl}$  ad 1000 ml  $\text{H}_2\text{O}$ ) 52,7 ml 0,2 n NaOH-Lösung zugegeben werden.

Alle Bakteriensuspensionen wurden mit den entsprechenden Medien so weit verdünnt, daß Konzentrationen von 1-100 Koloniebildende Einheiten (KBE) pro ml resultierten. Ein Teil der Suspensionen wurde auch in höheren Konzentrationen angesetzt, wie das aus Spalte 4 der Tab. 1 hervorgeht.

Die angegebene Inokulationsmenge wurde in 100 ml einer 1%igen Laktose-Bouillon einerseits als Monokultur and andererseits als Mischkultur mit *E. coli* insgesamt zwei Tage bei  $36^\circ \pm 1^\circ \text{C}$  bebrütet, wie das die TrinkwV vorschreibt. Nach  $24 \pm 4$  Stunden sowie nach  $44 \pm 4$  Stunden wurden die Bakterienkonzentrationen quantitativ nach üblicher Art bestimmt.

## Ergebnisse

Die Ergebnisse der Untersuchung sind in Tab. 1 zusammengefaßt. Daraus ist zu ersehen, daß *E. coli* in der 1%igen Laktose-Bouillon wesentlich besser wächst als alle untersuchten coliformen Bakterien. Wenn die Inokula von gleicher Größenordnung sind, vermehrt sich *E. coli* in aller Regel rascher und erreicht höhere Zellkonzentrationen als die übrigen Bakterienarten. Dabei spielt die Vorgeschichte von *E. coli* offensichtlich nur eine untergeordnete Rolle. Zwar erreichen *E. coli*-Kulturen, die mit Stoffwechsel-inaktiven Zellen inokuliert waren, nach eintägiger Bebrütung nicht immer die gleich hohen Konzentrationen, doch in der Konkurrenz mit coliformen Bakterien spielt dieser anfängliche Nachteil der Stoffwechsel-inaktiven Inokula von *E. coli* keine entscheidende Rolle. Unabhängig von ihrer Stoffwechsel-Aktivität überrundete *E. coli* die coliformen Begleitkeime gleich oft. Von den hohen Inokula von  $10^4$  KBE coliformer Bakterien einmal abgesehen, gelang der Nachweis der coliformen Bakterien parallel neben *E. coli* nur in 17 von 58 Fällen (= 29%). Sie wurden achtmal nach 20 und neunmal nach 44 Stunden nachgewiesen. Nur in zwei Fällen waren sie nach 20 und nach 44 Stunden nachweisbar.

Erst ein um den Faktor  $10^2$  bis  $10^3$  höheres Inokulum der coliformen Bakterien führte nach eintägiger Bebrütung regelmäßig zum gleichzeitigen Nachweis der beiden

Bakterienarten. Aber bereits nach zwei Tagen waren sie in einem Drittel dieser Ansätze von *E. coli* überwachsen und nicht mehr nachweisbar.

## Diskussion

Die TrinkwV mißt zwar dem Nachweis von *E. coli* eine höhere Bedeutung bei als dem der coliformen Keime. Deshalb ist der *E. coli*-Nachweis für sich allein bereits Grund genug, ein Trinkwasser zu beanstanden. Doch die relative Häufigkeit von *E. coli* in Trinkwasser-Proben beeinträchtigt ihre Warnfunktion sehr erheblich.

Eine verantwortungsbewußte Überwachung des Trinkwassers muß daher versuchen, mögliche Infektionsgefahren durch pathogene Darmkeime nicht nur über den Nachweis von *E. coli*, sondern auch durch die anderen gramnegativen Stäbchenbakterien zu konkretisieren. Dazu nennt die TrinkwV die Laktose-positiven, sogen. coliformen Keime als geeignete Markerbakterien, wengleich sie dafür zweifelsohne untauglicher sind als die Laktose-negativen Enterobacteriaceae und Vibrionaceae (7, 8).

Deshalb wurde in der vorliegenden Arbeit die Nachweisempfindlichkeit von coliformen Bakterien bei gemeinsamem Vorhandensein mit *E. coli* im Trinkwasser untersucht. Die Ergebnisse zeigen, daß ihr Nachweis in den meisten Fällen nur dann gelingt, wenn die Ausgangskonzentration wesentlich höher ist als die von *E. coli*. Das ist erst bei einer um den Faktor  $10^2$  bis  $10^3$  höheren Konzentration der Fall. Ähnliche Befunde konnten auch an Badegewässern erhoben werden, wenn sie in BRILA-MUG-Bouillon untersucht werden, wie das durch die EG-Richtlinie 76/160 EWG vom 8.12.1975 über die Qualität der Badegewässer festgelegt und in Länderverordnungen konkretisiert ist (5). Sowohl in der 1%igen Laktose-Bouillon, wie sie die TrinkwV vorschreibt, als auch in der BRILA-MUG-Bouillon, die zur quantitativen Bestimmung von *E. coli* und coliformen Bakterien angewandt wird (1, 2, 5), wachsen *E. coli* rascher und überdecken damit andere gramnegative Stäbchenbakterien, die teilweise eine wesentlich höhere gesundheitliche Relevanz besitzen als *E. coli* oder die coliformen Keime nach der Definition der TrinkwV.

Doch ihr Nachweis kann nur gelingen, wenn Subkulturen sowohl nach ein- als auch nach zweitägiger Bebrütung auf Endo-Agar oder ähnlich gut geeigneten Nährböden angelegt werden und nach Bebrütung sehr sorgfältig auf unterschiedliche Koloniemorphologie geachtet wird. Dennoch gewährleistet auch dieses Verfahren keine allzu große Sicherheit. Daraus wird deutlich, daß die gesetzlichen Vorschriften zur Überwachung des Trinkwassers zwar eine sehr empfindliche Methode zum Nachweis von *E. coli* beschreiben. Aber sie ermöglichen nur einen mäßig empfindlichen Nachweis von coliformen Keimen neben *E. coli*.

Die Frage bleibt daher offen, ob und wie häufig obligat-pathogene Darmbakterien wie Salmonellen, Shigellen oder Yersinien neben *E. coli* überhaupt nachweisbar sind, falls sie in einem Trinkwasser einmal vorhanden sind.

## Literatur:

1. Aleksic, A., Bockemühl, J., Havemeister, G., Heinemeyer, E. A., Müller, H. E., von Pritzbuer, E. (1991): Badegewässerüberwachung nach der Richtlinie des Rates der EG vom 08. 12. 1975 über die Qualität der Badegewässer. Zbl. Hyg. 192, 57-75.
2. Aleksic, S., Bockemühl, J., Schulze, G., Havemeister, G., Heinemeyer, E. A., Müller, H. E., von Pritzbuer, E. (1990): Reaktionen verschiedener Enterobacteriaceae- und Vibrionaceae-Spezies in BRILA-MUG (Fluorocult®)-Bouillon. Zbl. Hyg. 190, 395-403.
3. Anonymus (1990): Verordnung über Trinkwasser und über Wasser für Lebensmittelbetriebe (Trinkwasserverordnung - TrinkwV) Vom 5. Dezember 1990. BGBl. I. 2612-2629.
4. Attenberger, J., Müller, H. E. (1989): Erfahrungen aus Trinkwasser-Ringversuchen und Konsequenzen für Beurteilung und Beanstandung von Trink- und Badewasser. Öff. Gesundheitswes. 51, 362-365.
5. Müller, H. E., Aleksic, S., Bockemühl, J., Havemeister, G., Heinemeyer, E. A., von Pritzbuer, E. (1990): Die Bestimmung der gesamtcoliformen und faekalcoliformen Bakterien zur Qualitätsüberwachung von Badegewässern nach der EG-Richtlinie 76/160/EWG mit Hilfe der BRILA-MUG-Bouillon. Zbl. Hyg. 189, 543-553.
6. Müller, H. E., Steigerwalt, A. G., Brenner, D. J. (1986): Isolation of *Serratia fonticola* from birds. Zbl. Bakt. Hyg. 261, 212-218.
7. Müller, H. E. (1982) Über die Zuverlässigkeit von *E. coli* und coliformen Keimen als Marker in der Trinkwasserhygiene. Öff. Gesundheitswes. 44, 374-381.
8. Müller, H. E. (1990): Kritik und Verbesserungsvorschläge an der Trinkwasser-Verordnung und an der EG-Richtlinie 80/778/EWG. Öff. Gesundheitswes. 52, 585-591.
9. Schumacher, W. (1976): Der Wert der Trinkwasser-Verordnung für die Überwachung der Wasserversorgung durch den Amtsarzt, 11-19. In: Die Trinkwasser-Verordnung. Einführung und Erläuterungen für Wasserversorgungsunternehmen und Überwachungsbehörden. Herausgegeben von K. Aurand, U. Häßelbarth, Gertrud Müller, W. Schumacher, W. Steuer. E. Schmidt Verlag, Berlin 1976.

## Danksagung:

Ich danke Frau Sabine Warmbold für die exakte und gewissenhafte Durchführung der Experimente.

## Anschrift des Verfassers:

Prof. Dr. med., Dr. rer.nat. Hans E. Müller, Dipl.-Chem.  
Staatliches Medizinaluntersuchungsamt  
Hallestraße 1  
38124 Braunschweig