Studien an *Bacterium Coli*.

FELICIE KOTEK

Eine der anregendsten Fragen der Mikrobiologie ist die Lösung der Frage über die Herkunft von *Coli*. Dieses mikroskopische Wesen scheint überall vorzukommen: im Wasser, im Boden, im menschlichen und tierischen Darm. *Coli* passt sich an verschiedene Lebensbedingungen leicht an. (Ich habe aus Erde, die seit zehn Jahren ungedüngt war, einen typischen Colistamm isoliert). Es besitzt weite Temperaturgrenzen, es lebt ja noch bei 5°C, gut bei Zimmertemperatur, am besten bei 37°C, aber auch noch bei 46°C; es ist aërob oder anaërob, es besitzt 4—5 oder 8 Geisseln, es ist der Form nach oval, ein Kurz- oder ein Langstäbchen. Dank seiner Manigfaltigkeit und Anpassungsleichtigkeit ist *Coli* sehr oft in Mengen die für unsere Gesundheit schädlich sind, zu finden.

Es wird oft aus hygienischen Gründen die Frage zu entscheiden sein, woher ein bestimmter Colistamm herkommt, hauptsächlich wenn es sich um eine Verunreinigung von Trinkwasser oder um Darmkrankheiten handelt. Es ist darum leicht zu verstehen warum man *Coli* so viel Arbeit gewidmet hatte. Die meisten Untersuchungen haben zweierlei Zwecken gedient: das Auffinden einer sicheren Differentialmethode für *Coli* und *Aërogenes*, und für Colistämme verschiedener Herkunft. In dieser Arbeit habe ich mir als Ziel die Aufgabe gestellt, die bisherigen Methoden genau auf ihre Zuverlässigkeit mittels verschiedener Stämme zu prüfen. Wie ich oben erwähnt habe, verändert sich *Coli* entsprechend den Lebensbedingungen in morphologischer und in physiologischer Beziehung, weshalb eben sich so schwer eine genaue Einteilung durchführen lässt. Indolbildung, eine Eigenschaft, die als ein konstantes Merkmal für *Coli* gilt, kann doch, wie F a b r y gezeigt hat, durch Züchtung in phenolhaltiger Bouillon verloren gehen und nie wieder erlangt werden. Interessante Versuche über Neuerwer-

bung von Gärungsvermögen machte B u r r i; ein Lactose nicht vergärender *Coli*, durch B u r r i später *Bact. Coli mutabile* genannt, hat durch fortdauerndes Überimpfen auf Endoplatten die Eigenschaft, Lactose zu vergären, erworben. Diese Eigenschaft blieb in der Nachkommenschaft erblich. Denselben Versuch machte ich mit einem aus Mehl isoliertem Stamm, der anfänglich keine Lactose vergoren hat, auf Endo weisse Kolonien, nach mehrmaligem Überimpfen aber auf Endoplatten anstatt der bisherigen weissen rote Kolonien gab. Um mich davon noch auf andere Weise zu überzeugen, habe ich von den Platten in Agarröhrchen mit Pepton Witte und Lactose überimpft. Dieser Nährboden wurde nach dem Schmelzen auf etwa 45°C gekühlt und mit einer Nadelspitze voll Bakterien von einer Strichkultur versetzt und geschüttelt. Nach zwei Tagen zeigte sich eine Trübungszone. Es wurde Säure gebildet und einen Tag später erschienen Blasen und Risse, es gab also eine Gärung. Es kann hier natürlich kaum die Rede von einer neuerworbenen Eigenschaft sein, sondern es handelt sich wohl eher um ein Wiedererwerb einer einst besessenen Fähigkeit, die wahrscheinlich beim längerem Verweilen in Lactosefreien Substraten vorübergehend verloren gegangen war. Von vielen Forschern wird als ein ganz sicheres Merkmal für *Coli* seine Unfähigkeit zur Verflüssigung von Gelatine angegeben, woraus gefolgert werden dürfte, dass es auch echte Proteine nicht zu spalten vermag. Keiner meiner Stämme hat den klassischen Nährboden, Gelatine, verflüssigt, weder nach kurzer noch nach sehr langer Zeit. Ich versuchte auch Kaseinplatten. Es entstand niemals der helle Hof, der als Beweis für Kaseinauflösung dienen würde. Auch habe ich versucht Aminostickstoff nach der Methode von S ö r e n s e n (Formoltitration) zu bestimmen. Die zwei folgenden Versuche wurden ausgeführt: zwei verschiedene Nährböden a) Fleischwasser, 1% Blutfibrin, 0,2% Glucose, b) Fleischwasser, 1% Kasein. 50 cm³ der oben genannten Nährböden wurden mit *Coli* aus Menschenfaeces (5,6), aus Kanalwasser (7,8) und mit einem *Aërogenes* beimpft. Die Kolben standen drei Tage in einer Brutkammer bei 36° C. Nach drei Tagen wurde, nach oben genannter Methode der Aminostickstoff bestimmt. Das Resultat war völlig negativ. Auch diese Untersuchungen zeigen neuerlich, dass keine Zersetzung von Eiweissstoff stattfindet. Es wurde behauptet, verschiedene Colistämme zerlegen Glucoside. W e i n t r a u b hält diese Eigenschaft sogar für eine konstante Eigenschaft der ganzen Coligruppe. Ich versuchte Salicin; von

den untersuchten Stämmen, die aus Kanalwasser (7,8), aus Rheinwasser (1, 2, 3) und Menschenfaeces (5,6) isoliert waren, haben alle Salicin zerlegt. Ein aus mehl isolierter Stamm, ein *Aërogenes* (unbeweglich), hat unter starker Gärung Salicin zerlegt.

COLIBESTIMMUNG IM WASSER.

Dank der sonderbaren Fähigkeit, sich den allerverschiedensten Lebensbedingungen leicht anzupassen, dank einer gewissen Anspruchslosigkeit des *Coli*, findet man es überall. Ich isolierte aus Erde, die seit zehn Jahren ungedüngt war, ein bewegliches Stäbchen, welches folgende Eigenschaften aufwies:

Hex.	Malt.	Man.	Xyl.	Dulc.	Lact.	Glyc.	Sacch.	Gas.	Vog.-Pr.
+	+	+	+	+	+	+	—	+	—
Methylrot.	Indol	Gelat	Drig.	Endo.	Mc. Conkey				
+	+	—	rot.	Metallglanz	+				

Es kann als typisches *Bact. Coli* gelten. Es gibt kaum ein natürliches Wasser, in dem kein *Coli* zu finden wäre, weshalb es auch so wichtig ist, die zulässige Anzahl Colikeime in unserem Gebrauchswasser anzugeben, bei welcher wir das Wasser für unsere Gesundheit als ungefährlich ansehen dürften. Es sind viele Methoden für die Wasseruntersuchung vorgeschlagen worden: die Amerikaner benutzen bei der Wasseruntersuchung eine Zählmethode auf Laktoselackmusplatten. Sie sind auch der Meinung, dass diese Methode es gleichzeitig ermöglicht, *Bact. Coli* von *Bact. typhi* zu unterscheiden. Ich habe z. B. aus Porée ein Bacterium isoliert, welches auf Drigalskiplatten blaufärbte Kolonien gab, also als *Bact. typhi* gelten müsste. Andre Merkmale aber, (es ist unbeweglich, zerlegt Glucose und bildet Indol) schliessen diese Möglichkeit aus. Die Methode ist also nicht ausreichend. Meine Untersuchungen haben mich zu der Überzeugung geführt, dass die Eijckmansche Methode (Glucose-Vergärung, anaërob bei 46° C) und auch die Methode von Mc. Conkey (Glucose-Natriumtaurocholat und Lackmus als Nährboden, Gasbildung und Rotfärbung in anaëroben Bedingungen bei 37° C) noch die sichersten sind. Konrich ist zwar der Meinung: „Gasbildung der Eijckmanschen Flüssigkeit beweist nicht immer die Anwesenheit von *Bact. Coli*, die Mc. Conkeysche dagegen

immer“. Ich habe die Beobachtung nach 4, 5, 6, 10, 16, 20 und 24 Stunden registriert und verschiedene Verdünnungen angewandt, und s t e t s habe ich bestätigen können, dass beim positivem Ausfall der E i j c k m a n p r o b e typische *Coli* anwesend waren, auch nach 24 Stunden und bei einer grossen Verdünnung (1:100000). Einer der vielen aus Rhein- und Grabenwasser isolierten Stämme möge als Beispiel dienen:

Hex.	Malt.	Man.	Xyl.	Dulc.	Lact.	Glyc.	Sacch.	Gas.	Vog.-Pr.
+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
Methylrot.	Indol.	Gel.	Drig.	Endo.	Mc. Conkey				
+	+	-	rote Kolon.	Metall- glanz	+				

K o n r i c h behauptet, dass: „die Brutwärme von 46°C den Nachweis des *Bact. Coli* nur dann ermöglicht, wenn es in grosser Menge vorhanden ist, während die Brutwärme von 37° C die Mikroben noch zur Entwicklung kommen lässt, wenn auch nur einzelne Keime vorhanden sind“. Ich habe es leider unterlassen, die Frage genau zu untersuchen, immerhin erhielt ich prompt die E i j c k m a n c h e Probe bei:

	0,5 cm ³	0,2 cm ³	0.1 cm ³
Rheinwasser	+	+	+
Grabenwasser	+	+	+

In den gleichzeitig geführten Untersuchungen von Grabenwasser mit der E i j c k m a n s c h e n und mit der Mac. C o n k e y — Methode bei grossen Verdünnungen zeigt sich, dass die erste viel schneller ein Resultat gibt:

	0,001	0,0001	0,00001	0,000003 cm ³
Eijckman, nach 6 Std	+	+	+	+
Mc.Conkey, nach 22 Std	+	+	+	+

Frau H o r o w i t z W l a s s o w a benutzt denselben Nährboden, nur anstatt Glucose nimmt sie Lactose und betrachtet das *Bact. Coli* in denjenigen Proben als nachgewiesen, wenn gleichzeitig Gas und Indol gebildet werden. Ich habe mehrmals ihre An-

gaben nachgeprüft mittels verschiedenen Wasserproben in verschiedenen Verdünnungen, sowohl bei 37°C wie auch bei 46°C und nie habe ich ihre Angaben bestätigen können: Gärung und Indolbildung können kaum zusammen schreiten. Gärung erfolgt viel früher und schneller.

DIE HERKUNFTBESTIMMUNG VON COLI.

Dank vielen Untersuchungen überzeugte man sich, dass *Coli* im Wasser sehr häufig ist, in manchen Wässern sogar in solchen Mengen, dass das Wasser nicht mehr trinkfähig ist. Dieser Zustand führte zur Frage nach der Herkunft von *Coli* und zum Suchen nach Mitteln gegen die Verunreinigung des Wassers. Zur Lösung der Herkunftsfrage muss eine Differentialmethode gefunden werden, die es ermöglichen würde, *Faeces-coli* von *Erdcoli* oder von dem *Infuscoli* zu unterscheiden. Es gibt aber leider keine Methode die nur für einen Stamm als spezifisch gelten dürfte; im Gegenteil, die bis jetzt geführten Untersuchungen überzeugen uns immer mehr davon, dass alle *Coli* einer Gruppe angehören. Ferreira, Horta und Peredes fanden keinen Unterschied zwischen *Coli* aus dem Tier und aus dem Menschen. Boltencourt und Borges bemühten sich durch Komplementbindung die verschiedenen Stämme auseinander zu halten. Es ist ihnen dies aber misslungen. Prescott und Mitarb. haben manche aus dem Getreide isolierten Colistämme mit pathogenen *Coli* verglichen, ohne einen Unterschied zu finden. Ich bemühte mich auf dem Wege von Hämolyse eine Differenzierung zu probieren. Gemäss den Angaben von Kruse, habe ich einen schwachsauren Nährboden benutzt und Kuhblut. Es fand wohl eine Entfärbung statt, die sich aber auf Säurenwirkung, nicht aber auf Colilysine zurückführen liesse. Von den 12 untersuchten Stämmen hat kein einziger Lysine gebildet.

DAS ABSTERBEN VON BACT. COLI UNTER DEM EINFLUSS VON VERSCHIEDENEN pH BEI 37°C.

Im Jahre 1924 erschien eine Arbeit von Sierakowski und Milejowska und im Jahre 1926 von François Tekelenburg, die den Einfluss von verschiedenem pH auf das Absterben von *Coli* und anderen Bakterien schilderten. Der Einfluss von pH auf das Absterben von Bakterien ist sehr

eigenartig. Ich hoffte, die Anwendung dieser Methode würde vielleicht diagnostisch zur Unterscheidung verschiedener *Colistämme* sich verwerten lassen. In meiner Arbeit benutzte ich die Methode der Vorgänger. Das Absterben von *Coli* habe ich untersucht abhängig von der Wasserstoffionenkonzentration innerhalb pH = 1,93 bis pH = 5,11. Als Pufferlösungen habe ich benutzt:

Mengen von 0,1 mol. Glykokoll mit 0,1 norm. HCl. pH bei 37°C		
5 cm ³	5 cm ³	1,93
7 "	3 "	2,61

Mengen von 0,1 mol.(secundär) Na-citrat mit 0,1norm. HCl pH bei 37°C		
5,5 cm ³	4,5 cm ³	3,95
7,0 "	3,0 "	4,75
9,0 "	1,0 "	5,11

Meine Versuche führte ich mit verschiedenen *Colistämmen* aus. Die benutzten *Colistämme*, verschiedener Herkunft, bezeichne ich in allen hier mitgeteilten Tabellen mit laufenden Nummern u. zw.:

Rheinwassercoli	Stamm 1	Nr. 1	} aus Wageningen
" "	" 2	" 2	
" "	" 3	" 3	
Erde	" 1	" 4	
Faeces	" 1	" 5	
" "	" 2	" 6	
Kanalwasser	" 1	" 7	
" "	" 2	" 8	
Hühnerkot	" 1	" 9	
Infus	(Reseda)	" 10	
" "	(Porreé)	" 11	} aus Warschau
Hämolysierender Coli	Stamm 1	" 12	
Nicht "	" 1	" 13	
Faeces —	(erwachs. Mensch)	" 14	
" "	(Kind)	" 15	
" "	(Säugling)	" 16	
Milchsäurebakterien		" 17	
Proteus		" 18	

Die Proben wurden in den Thermostat bei 37° C gestellt und davon wurden alle 15' auf Agarplatten Striche ausgeführt. Die Resultate der Untersuchung sind in der folgende Tabelle zusammengestellt.

TABELLE I.

pH											
1,93	+	+	+	—							
2,61	+	+	+	+	—						
3,95	+	+	+	+	+	+	—				
4,45	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
5,11	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Zeit.	15'	30'	45'	60'	2 Std.	5 Std.	12 Std.	24 Std.	2 Tage	3 Tage	5 Tage

Die Tafel gibt nur ein Bild des typischen Vorgangs, den wir bei den meisten Colistämmen beobachten, daneben aber wiesen einige Stämme Abweichungen auf, die ich hierunter bespreche. B r ü n n untersuchte die toxische Wirkung von pH und fand, dass *Coli* nach 24 Stunden bei pH = 4,69 getötet wird. Meine Untersuchungen zeigen, dass *Coli*, gleichgültig welcher Herkunft, bei 37° die Konzentration zwischen pH = 4,45 und pH = 5,11 am besten verträgt. M i c h a e l i s und M a r c o r a liessen *Coli* in milchzuckerhaltiger Nährboullion wachsen und fanden, dass die Milchsäurebildung stets nur bis zu einem pH = 1,1. schreitet. Das ich auch, wie die Forscher behaupten, die höchste Konzentration, die *Coli* auf die Dauer ohne Schaden vertragen kann. Ich habe die verschiedenen *Coli* auf einem Nährboden mit 0,25% Pepton Witte, 1% Glucose, 0,1% K₂HPO₄, 0,05% MgSO₄ und Leitungswasser gezüchtet. Die Säurebildung schreitet fast bei allen nur bis zu einem pH = 4,33 bis 4,7 fort. Eine Ausnahme zeigten zwei Stämme: einer aus dem Ackerboden (pH = 3,5) und einer aus dem Hühnerkot (pH = 3,7). Dabei blieb ein Colistamm, welcher aus Erde (4) isoliert war, bei pH = 2,61 vier Stunden lang am Leben, also länger als die vorigen. Bei pH = 3,9, eine Konzentration die er sich selbst bildet, blieb es nur 12 Stunden lebend. Eine merkwürdige Ausnahme unter den untersuchten *Coli* bildete ein Stamm aus Hühnerkot (9) bei pH = 1,93, in einer Konzentration die alle übrigen Stämme innerhalb einer Stunde tötet, lebte es 26 Stunden. T e k e l e n b u r g behauptet dass: „*Bact. Coli* binnen het uur afsterft bij een pH=1,93“ Im allgemeinen stimmt es aber doch nicht, weil es vielleicht mehrere Colistämme gibt, die eine solche Wasserstoffionenkonzentration vertragen können wie das erwähnte *Coli* aus Hühnerkot (9). Oder ist es eine Ausnahm, die die Regel bestätigt?

COLI UND AEROGENES.

Seit dem Jahre 1885, als Escherich, der Entdecker von *Bact. Coli*, diese in bewegliche *Coli* und unbewegliche *Bact. Aërogenes* teilte, sind Bemühungen zur systematischen Präzisierung des überallverbreiteten *Coli* geführt worden. Rogers, Clark und Davis unterscheiden die beiden Gruppen unter sich nach dem Unterschied im Verhältnis des gebildeten CO_2 und H_2 . *Bact. Coli* eine ständige „Ration“ von H_2 und CO_2 im Verhältnis 1:1 und *Aërogenes* von ungefähr 1,4:1, wie es die genannten Forscher sagen: „usually 2:1 or more“. Th. Smith gibt gerade das Gegenteil als Merkmal an, also: *Coli commune* $\text{H}_2 : \text{CO}_2 = 2:1$, *Aërogenes* $\text{H}_2 : \text{CO}_2 = 1:1$. In meinen diesbezüglichen Versuchen erhielt ich in manchen Fällen Ziffern, die den Angaben von Rogers, Clark und Davis, in anderen Fällen dagegen Ziffern, die mit den Resultaten Smith übereinstimmen, wie es aus der unterstehenden Tabelle zu ersehen ist:

T A B E L L E II.

№ 9	$\text{H}_2 : \text{CO}_2 = 2 : 1,3.$
„ 5	$\text{H}_2 : \text{CO}_2 = 2,5 : 1$
„ 6	$\text{H}_2 : \text{CO}_2 = 2 : 1$
„ 7	$\text{H}_2 : \text{CO}_2 = 2 : 1$
„ 8	$\text{H}_2 : \text{CO}_2 = 2 : 0,5$
„ 1	$\text{H}_2 : \text{CO}_2 = 2 : 1,5$
„ 2	$\text{H}_2 : \text{CO}_2 = 2 : 1$
„ 3	$\text{H}_2 : \text{CO}_2 = 1 : 1$
Aërog.	$\text{H}_2 : \text{CO}_2 = 2 : 1.$

Obendrein aber hat dasselbe *Coli* nicht immer beim Wiederholen des Versuches unter gleichen Aussenbedingungen dieselben Quantitäten von H_2 und CO_2 gegeben. Von grossem Einfluss schien es zu sein ob es ein frisch isoliertes *Bact.* oder ein mehrfach überimpftes untersucht wurde. Also auch das Gärungsgaseverhältnis $\text{H}_2 : \text{CO}_2$ ist nicht konstant. In dieser Arbeit habe ich mir als Ziel gestellt eine Antwort zu finden auf die Frage, ob es möglich wäre mit Hilfe der bisherigen Methoden einen Stamm von *Bact. Coli* von einem anderen zu unterscheiden. Ich muss leider bekennen, dass wir keine Methode besitzen, die es ermöglichen würde, einen Stamm von einem anderen genau zu unterscheiden. Die folgenden Tafeln geben eine Übersicht über

alle bekannten diagnostischen Methoden, mittels deren ich meine 12 *Colistämme* verschiedener Herkunft geprüft habe.

TABELLE III.

Vergärung von Zucker und Alkohol bei 36°C.

Coli stamm	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	Aërog.
Gluc.	++	++	++	++	++	++	++	++	++	—	+	++
Laev.	++	++	++	++	+	++	++	++	++	+	+	+
Malt.	++	++	+	+	++	+	+	+	++	++	+	+
Lact.	++	++	+	+	++	+	++	++	++	++	+	—
Galact.	+	++	+	++	++	++	+	+	++	++	+	+
Sacch.	+-	—	+	++	++	++	—	—	++	+	—	—
Xylose	+-	+	+-	+-	++	+	+-	+-	++	+	—	+
Glyz.	++	++	+	+	+	+	++	++	+	+	+-	—
Mannit	++	++	++	++	++	++	++	+-	++	++	+	+
Sorb.	+-	+-	—	—	+	+	—	+-	+	+-	+	—
Dulc	—	—	+	+	+-	+	—	—	+-	+-	+-	+

TABELLE IV.

Voges-Proskauer.

Colistamm	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Aërog
	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Indolbildung bei 36° C.

Colistamm	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Aërog.
	++	+	+	++	+	++	++	++	++	++	+=	++

Indolbildung bei 46° C.

Colistamm	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Aërog.
	+	+	+	++	+	+	+	+	+	—	+=	+=

Methylrot.

Colistamm	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Aërog.
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—

Drigalski.

Colistamm	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Aërog
	rot gef.	idem	idem	idem	idem	idem	idem	idem	idem	blau gef.	violett.	blau gef.

Eijckman.

Colistamm	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Aërog.
	++	++	++	+	+	+	++	+	+	+-	+-	+-

Mac — Conkey.

Colistamm	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Aërog
	++	++	++	++	+	++	+	+	++	—	++	+

Endo.

Colistamm	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Aërog.
	Metallglanz	idem	idem	idem	idem	idem	idem	idem	idem	idem	idem	kein glänz weisse kol

NH₃ aus 1% Peptonwasser

Colistamm	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Aërog
	+-	+-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+=

Die folgenden Tafeln geben eine Übersicht über die bekannten diagnostischen Methoden der *Coli*bestimmung. Wie wir sehen, kann keine einzige Methode als spezifisch für einen Stamm gelten. Ob wir es mit einem *Coli* aus Wasser oder aus Erde, aus einem Tier oder Mensch zu tun haben, lässt sich diagnostisch nicht feststellen. K r u g e r s D a g n e a u x teilt die *Coli* in vier Gruppen ein:

	Laktose	Eijckman
I Gruppe	Gas	Gas
II „	„	—
III „	—	—
IV „	—	—

D e G r a a f ist der Meinung, dass die vierte Gruppe unberechtigt sei, weil ein positiver Eijckman immer gepaart mit einer Lactosevergärung, bei 36°C, geht. Ich möchte nur hinzufügen, dass ich unter den untersuchten Stämmen nur solche gefunden habe, die zu der ersten Gruppe gehörten. Ich neige also der Meinung zu, man sollte nur e i n e gemeinsame *Coli-Aërogenes* Gruppe annehmen, die viele Varianten besitzt, unter denen sich keine strikte Abgrenzung feststellen lässt. So viel zur Herkunftsdiagnose von *Coli*.

EINFLUSS ANDERER DARMBAKTERIEN AUF COLI.

In den folgenden Versuchen habe ich mich bemüht die Frage nach der gegenseitigen Beeinflussung der stetigen typischen menschlichen Darmbakterien zu klären u. zw.: von *Bact. Coli*,

Milchsäurebakterien und *Proteus*. Dabei möchte ich im Voraus bemerken, dass ich, trotzdem ich in meinen oben referierten Versuchen keinen einzigen hämolysierenden Stamm fand, hier trotzdem von einem hämolysierenden und nichthämolysierenden Stamm berichten werde. Die betr. Stämme habe ich von dem Staatsinstitut für Hygiene (in Warschau) erhalten. Die zu vergleichenden *Coli* habe ich von menschlichen Faeces und zwar von einem erwachsenen Menschen (14), einem sechsjährigen Kinde (15), einem fünftägigen Säugling (16), isoliert. Untersucht wurde die Gärungskraft, d. h. das Quantum des gebildeten Gases und das der Säure. Die Versuche habe ich in Gärungsröhrchen bei 37°C geführt. Ich habe mich, so weit als es möglich war, bemüht dieselbe Anzahl Bakterien einzupfen, und zwar habe ich vor jedem Versuch eine Standartnadelvoll Bakterien einer eintägigen Kultur auf schrägem Agar, in ein Kölbchen mit 50 cm³ Nährboden, übertragen. Das Kölbchen liess ich, nach Schütteln, eine Stunde lang stehen; 0,3cm³ dieser Suspension impfte ich dann in die Gärungsröhrchen, die mit 35 cm³ Nährboden gefüllt waren. Die Ergebnisse dieser Versuche bringen die untenstehenden Tafeln V und VI. Nährboden: 1% Glucose + 0,5% Pepton. Dauerzeit des Versuches 35 h. (Tab. V).

T A B E L L E V.

Geimpftes Material	PH des Nährb.		Ansäuerungsgrad in PHausgedrückt.	Gas in cm ³
	vor dem Vers.	nach dem Vers.		
12	6,92	4,40	2,52	6,5
13	"	4,42	2,50	6,5
14	"	4,40	2,52	5,5
15	"	3,76	3,16	4,5
16	"	4,42	2,50	4,0
18	"	4,82	2,10	1,5
12+18	"	4,38	2,54	5,0
13+18	"	4,42	2,50	4,5
14+18	"	4,36	2,56	3,5
15+18	"	3,76	3,16	3,5
16+18	"	4,42	2,50	4,0

Die Anwesenheit von *Proteus* (18) in Kulturen von *Bact. Coli* übt einen sehr geringen Einfluss aus auf die Säure- und Gasbildung durch *Bact. Coli*. Diese Erscheinung könnte man vielleicht damit erklären, dass *Proteus* (18) ein pH von 4,2—4,4, bis wohin die gebrauchte Nährlösung führt, nicht vertragen kann,

TABELLE VI.

Nährboden: 1% Lactose + 0,5 Pepton. Versuchszeit 35 h.

Geimpft mit	pH des Nährb.		ansäuerungsgrad in pH ausgedrückt.	Gas in cm ³ .
	vor dem Vers.	nach den Vers.		
12	6,80	4,80	2,00	5,0
13	"	4,64	2,16	4,0
14	"	4,60	2,20	4,5
15	"	4,10	2,70	4,5
16	"	4,62	2,18	3,5
18	"	7,38	alkalisiert	—
12+18	"	4,68	2,12	4,0
13+18	"	4,62	2,18	4,0
14+18	"	4,80	2,00	4,5
15+18	"	4,20	2,60	3,0
16+18	"	4,80	2,00	3,5

oder dass die Quantität des Nährbodens nicht zur vollen Entwicklung von *Coli* und *Proteus* zusammen ausreichte, oder dass *Coli* als vorwiegend aktiverer allein den Nährboden ausgenutzt hatte. Darum wurde derselbe Nährboden in doppelter Menge angesetzt. Die Resultate dieses Versuches stimmen, mit ganz geringen Abweichungen, mit den in der Tafel V und VI dargestellten überein. Die Ursache ist darum nicht in der unzureichenden Menge des Nährbodens zu suchen. Wird es also durch die Ansäuerung des Nährbodens durch *Bact. Coli* bewirkt? Ich führte den folgenden Versuch in denselben Bedingungen wie oben aus, nur mit dem Unterschied, dass ich die Fermentationsröhrchen nur mit *Coli*

TABELLE VII.

Versuchszeit	Geimpft mit	pH des Nährb.		Ansäuerungsgrad in pH ausgedr.	Gas in cm ³
		vor dem Vers.	nach dem Vers.		
14 h.	12	6,86	4,50	2,36	2,5
"	13	"	4,36	2,50	2,0
"	14	"	4,30	2,56	2,5
"	15	"	4,02	2,84	1,5
"	18	"	5,01	1,84	0,2
36 h.	12	"	4,72	2,14	4,5
"	13	"	4,36	2,50	4,0
"	14	"	4,30	2,56	4,5
"	15	"	3,78	3,08	4,5
"	18	"	4,78	2,08	1,3
"	12+18	"	4,72	2,14	4,5
"	13+18	"	4,36	2,50	2,5
"	14+18	"	4,30	2,56	3,5
"	15+18	"	3,84	3,02	2,5

beimpft und erst nach vierzehn Stunden *Proteus* dazugeimpft habe. Die Ergebnisse sind in der Tafel VII und VIII zusammengestellt. (Tabl. VII).

T A B E L L E VIII.

Nährboden 1% Lactose + 0,5% Pepton.

Versuchs- zeit	Geimpft. mit	PH des Nährb.		Ansäuerungs- grad in PH ausgedr.	Gas in cm ³
		vor dem Vers.	nach dem Vers.		
14 h.	12	7,08	4,74	2,34	3,0
"	13	"	4,74	2,34	2,5
"	14	"	4,88	2,20	3,0
"	15	"	4,00	3,08	3,0
"	18	"	7,78	alkalisiert	—
36. h.	12	"	4,78	2,30	4,0
"	13	"	4,74	2,34	4,0
"	14	"	4,64	2,44	4,5
"	15	"	4,00	3,08	3,0
"	18	"	7,78	alkalisiert	—
"	12+18	"	4,78	2,30	4,0
"	13+18	"	4,74	2,34	4,0
"	14+18	"	4,64	2,44	4,5
"	15+18	"	4,00	3,08	3,0

Wie aus den Tafeln VII und VIII zu ersehen ist, bestätigen diese Untersuchungen die Vermutung, dass die Ansäuerung des Nährbodens durch *Bact. Coli* die Entwicklung von *Proteus* verhindert. Als weitere Bestätigung kann noch der folgende Versuch dienen: Anstatt der stets benutzten Quantität (0,3 cm³) oder Suspension nahm ich ein doppeltes Quantum (0,6 cm³). Nährboden: 1% Glucose + 0,5% Pepton. Versuchszeit 36 h.

T A B E L L E IX.

Geimpft mit	Ph des Nährb.		Ansäuerungsgrad in Ph ausgedr.	Gas in cm ³ .
	vor dem Vers.	Nach dem Vers.		
12 + 18	6,96	4,42	2,54	4,5
13 + "	"	4,42	2,54	4,0
14 + "	"	4,44	2,52	3,5
15 + "	"	3,72	3,24	2,0
16 + "	"	4,36	2,60	4,0
18	"	4,84	2,12	1,5

Wie wir sehen, ist die Wirkung von *Bact. Coli* so stark, dass die Anwesenheit selbst einer überwiegenden Menge von *Proteus*

keinen Einfluss ausübt. Das Bild ändert sich erst dann, wenn zuerst *Proteus* und daraufhin nach vierzehn Stunden *Bact. Coli* beimpft wird. Nährboden: 1% Glucose + 0,5% Pepton. (Tabl. X)

T A B E L L E X.

Versuchs- zeit	Geimpft mit	Ph des Nährb.		Ansäuerungs- grad in hp ausgedr.	Gas in cm ³ .
		vor dem Vers.	Nach dem Vers.		
14. h.	18	6,86	5,01	1,85	0,2
36 „	„	„	4,78	2,08	1,3
„	18 + 12	„	4,68	2,18	1,4
„	18 + 13	„	4,62	2,24	1,0
„	18 + 14	„	4,30	2,56	1,3
„	18 + 15	„	4,50	2,36	1,3
„	18 + 16	„	4,36	2,50	1,2

T A B E L L E XI.

Nährboden: 1% Laktose + 0,5% Pepton.

Versuchs- zeit	Geimpft mit	pH des Nährb.		Ansäuerungs- grad in pH ausgedr.	Gas in cm ³
		vor dem Vers.	nach dem Vers.		
14 h	18	7,08	7,78	alkalisiert	—
36 „	„	„	„	„	—
„	18 + 12	„	5,06	2,02	1,0
„	18 + 13	„	4,96	2,11	0,5
„	18 + 14	„	5,08	2,00	1,0
„	18 + 15	„	4,56	2,52	0,5

Die Säurebildung schreitet bis zum steten pH fort, aber das Quantum des gebildeten Gases ist viel kleiner und zwar auf 35 cm³ Nährboden binnen 36 Stunden in Kulturen mit *Bact. Coli* + *Proteus* wird 4—5 cm³ Gas gebildet, während in denselben Bedingungen von Kulturen von *Proteus* + *Coli* nur 1,3 — 1,5 cm³ Gas gebildet wird.

Wie oft hören wir, dass bei Darmstörungen eingeführte *Milchsäurebakterien* (17) heilend wirken. Nachstehend gebe ich in der Tabelle XI und XII die Resultate von Mischkulturen von *Coli* und *Milchsäurebakterien*. Nährboden: 1% Glucose + 0,5 Pepton. Versuchszeit 36 h.

TABELLE XII.

Geimpft mit	pH. des Nährb.		Ansäue- rungsgrad in pH aus gedr.	Gas in cm ³
	vor dem Vers.	nach dem Vers.		
12	6,38	4,33	2,05	6,0
13	"	4,58	1,80	4,0
14	"	4,48	1,90	5,0
15	"	4,20	2,18	4,5
16	"	4,48	1,90	4,5
17	"	3,06	3,32	—
12 + 17	"	4,30	2,08	4,0
13 + "	"	4,28	2,10	2,5
14 + "	"	4,30	2,08	3,0
15 + "	"	3,93	2,45	2,0
16 + "	"	3,98	2,40	2,5

In den Mischkulturen wird also mehr Säure gebildet wie in *Colireinkulturen* aber weniger wie in *Milchsäurebakterienkulturen*. In Mischkulturen wird dagegen weniger Gas gebildet wie in *Colireinkulturen*. Milchsäurebakterien hemmen also die Gasbildung durch *Coli*. Auf einem Lactosenährboden geschieht das gleiche; eine Ausnahme zeigt nur der *Colistamm 15*, welcher mehr Säure bildet wie die anderen *Colistämme* + *Milchsäurebakterien*. Wie wir sehen, wird aus dem Nährboden bei gemischten Kulturen *Coli* + *Milchsäureb.*) weniger Gas gebildet wie die arithmetische Summe der beiden ausmacht. Es wäre wohl möglich, dass die Menge des Nährbodens ungenügend war, deshalb habe ich ein Nährboden mit dem doppelten Quantum von Glukose beimpft. Nährboden: 2% Glucose + 0,5% Pepton, Versuchszeit 36 h. (Tab. XIII).

TABELLE XIII.

Geimpft mit	pH des Nährb.		Ansäuerungsgrad in pH ausgedr.	Gas in cm ³ .
	vor dem Vers.	nach dem Vers.		
12	6,52	4,33	2,19	6,0
13	"	4,34	2,18	4,5
14	"	4,39	2,13	4,0
15	"	4,08	2,44	4,5
16	"	4,26	2,26	3,5
17	"	3,04	3,48	—
12+17	"	3,93	2,59	3,5
13+ "	"	3,56	2,96	4,0
14+ "	"	4,00	2,52	3,5
15+ "	"	3,96	2,56	3,0
16+ "	"	4,10	2,42	3,5

Aus obiger Tafel (XIII) sehen wir, dass die Konzentration resp. die Menge des Nährbodens ohne jeden Einfluss bleibt. Schliesslich wurden noch Mischkulturen, bestehend aus *Coli*, *Proteus* und *Milchsäurebakterien*, untersucht. Die Resultate geben die Tafeln XIV und XV wieder.

TABELLE XIV.

Nährboden: 1% Glukose + 0,5% Pepton. Versuchszeit 36 h.

Geimpft mit	Ph des Nährb.		Ansäuerungsgrad in Ph ausgedr.	Gas in cm ³
	vordem Vers.	nach den Vers.		
12	6,84	4,46	2,38	6,5
13	"	4,46	2,38	5,5
14	"	4,46	2,38	5,0
15	"	3,90	2,94	3,5
16	"	4,40	2,36	5,5
17	"	3,72	3,12	—
18	"	4,82	2,02	1,5
12+17+18	"	4,36	2,48	5,5
13+ " + "	"	4,34	2,50	4,5
14+ " + "	"	4,18	2,66	3,5
15+ " + "	"	3,94	2,90	2,5
16+ " + "	"	4,20	2,64	3,0

TABELLE XV.

Nährboden: 1% Lactose + 0,5% Pepton. Versuchszeit 36 h.

Geimpft mit	Ph des Nährb		Ansäuerungsgrad in Ph ausgedr.	Gas in cm ³
	vordem Vers.	nach dem Vers.		
12	7,1	4,92	2,18	6,0
13	"	4,93	2,17	4,5
14	"	4,76	2,34	5,0
15	"	4,16	2,94	3,5
16	"	4,84	2,26	5,5
17	"	4,32	2,78	4,0
18	"	8,08	alkalisiert	—
12+17+18	"	4,48	2,62	5,5
13+ " + "	"	4,54	2,56	5,0
14+ " + "	"	4,22	2,88	5,0
15+ " + "	"	4,25	2,85	4,0
16+ " + "	"	4,44	2,66	4,5

Aus obigen Tabellen (XIV und XV) geht also mit aller Deutlichkeit hervor, dass in solchen Mischkulturen die Anwesenheit von *Proteus* + *Milchbakterien* die grundsätzliche und dominierende Wirkung von *Coli* nicht abändert.

Es ist mir eine angenehme Pflicht auch an dieser Stelle meinen tiefsten Dank den Herren Prof. N. L. S ö h n g e n aus Wageningen und Prof. K. B a s s a l i k aus Warchau für Ihre wertvolle Hilfe und reges Interesse, welches sie meiner Arbeit entgegenbrachten, auszudrücken. Die Arbeit wurde zum Teil (im Jahre 1930) in der *Landbouwhoogeschool* in Wageningen (Holland) und zum Teil (im Jahre 1932) in dem *Institut für Pflanzenphysiologie* der Universität Warschau ausgeführt.

ZUSAMMENFASSUNG.

1. Es wurden elf Colistämme mit einem Aërogenesstamm verglichen. Die Colistämme stammten aus: Rheinwasser Kanalwasser, Faeces, Erde, Hühnerkot und Infus; Aërogenes aus Mehl.

2. Die folgenden Methoden wurden bei den Untersuchungen angewendet: Eijckman, Ehrlich, Mc. Conkey, Smith, Voges-Proskauer, Drigalski, Endo, Methylrot, NH_3 - Bildung aus Peptonwasser, Glycosid-, Zucker- und Alkoholvergärung, Einfluss von verschiedenem pH, Hämolyse.

3. Die Ergebnisse der Untersuchung lassen sich folgendermaßen zusammenfassen:

a) eine scharfe Abgrenzung von *Coli* gegenüber *Aërogenes* was Zucker-, Alkohol-, und Glycosidvergärung anbetrifft, wie auch in Bezug auf Indolbildung, lässt sich nicht durchführen.

b) die angegebenen Methoden der *Coli* und *Aerogenes*bestimmung bieten keine Möglichkeit sie als u n b e d i n g t zuverlässig zu betrachten.

c) eine Diagnose verschiedener Colistämme auf Grund der Indolbildung, Beweglichkeit und Vergärungsfähigkeit von Zucker und Alkohol ist gleichfalls illusorisch.

d) die Herkunft verschiedener Colistämme lässt sich mit den hier versuchten Methoden n i c h t feststellen.

L I T E R A T U R

- BURRI R. Über scheinbar plötzliche Neuerwerbung eines bestimmten Gärungsvermögens durch Bakterien der Coligruppe. Zentralb. für Bakt. Abt. II Band 28 (321) 1910.
- BOTTENCOURT et BORGES. Peut-on-distinguer le colibacille de l'homme de celui des animaux au moyen de la fixation du complement? Arch. do real Instit. bact. Camara Pestana. Tome II. Fasc. II 1908.
- BRÜNN. Dissertation. Berlin 1913.

- CLARK W. M. The Determination of Hydrogen Ions. Baltimore 1925.
- EIJKMAN C. Die Gärungsprobe bei 46° C als Hilfsmittel bei der Trinkwasseruntersuchung. Zentralbl. für Bakt. Abt. I. Originale Band 37. 1904.
- ESCHERICH T. Darmbakterien des Neugeborenen und Säuglings. Fortschritte der Medizin III (515, 547) 1885.
- ENDO S. Über ein Verfahren zum Nachweis der Typhusbacillen. Zentralbl. für Bact. Abt. Originale 35 (109) 1904.
- FABRY. Zentrabl. für Bakt. Abt. II. Band 58 (312) 1923.
- FERREIDA, HORTA et PEREDES. Recherches sur le Bact. Coli communis de l'intestin de l'homme. Arch. do real. Instit. Bacteriolog. Camara Pestana. Tome II. Fase III. 1908.
- HOROWITZ-WLASSOWA L. Eine vereinfachte Methode der Bestimmung des Coli-Titers eines Wassers. Arch. für Hygiene Bd. 96 (262) 1926.
- KONRICH. Zur Bewertung des Bact. Coli im Wasser. Klinisches Jahrbuch XXII. Jena 1910.
- MAC CONKEY A. Experiments on the Differentiation and Isolation from Mixtures of the Bact. Coli com. and Bact. typhos. by the use of Sugars and the salts of Bile. The Thompson Yates Labor. Report III. 41. 1900.
- MICHAELIS L. Die Wasserstoffionen Konzentration. Seite 113. 1914.
- PRESCOTT S. C. and WINSLOW E. A. Elements of Water Bacteriology. New York. 1924.
- ROGERS I. A., CLARK V. M. and DAVIS B. J. The Colon Groups of Bacteria. Journal of Infectious Diseases XIV (411) 1914.
- SIERAKOWSKI I MILEJKOWSKA. Sur l'action bactéricide des concentrations en ions hydrogènes pour les différentes espèces microbiennes. Comp. rend. de la Soc. Biolog. Tome 91. 1924.
- SMITH T. The Ferment. -- Tube with special Reference of Anaerobiosis and Gas Production among Bacteria. The Wilder Quartercentury Book (187) 1893.
- WEINTRAUB. Zentrabl. für Bakt. Abt. I. Originale Bd. 91 (273) 1928.