

# Mikrobiologische Arbeitsmethoden und Versuche

## Vorwort

<b>1</b>	<b>Methodische Grundlagen der Mikrobiologie</b>	<b>7</b>
1.1	Umgang mit Mikroorganismen	7
1.2	Bereitung von Nährböden	9
1.3	Sterilisationstechniken	13
1.3.1	Sterilisation durch trockene Hitze	14
1.3.2	Sterilisation durch feuchte Hitze (Dampf)	15
1.3.3	Andere Sterilisationsmethoden	18
1.4	Kulturgefäße	18
1.5	Impftechniken	22
1.6	Kulturtechniken	27
1.7	Beschaffung und Aufbewahrung von Mikroorganismen	30
<b>2</b>	<b>Übersicht über mikroskopische Methoden</b>	<b>33</b>
2.1	Lichtmikroskopische Methoden	33
2.2	Elektronenmikroskopische Methoden	34
<b>3</b>	<b>Untersuchungsmethoden für Pilze</b>	<b>39</b>
3.1	Mikroskopische Untersuchung an lebenden Pilzzellen	39
3.1.1	Einfaches Frischpräparat	39
3.1.2	Vitalfärbung	39
3.1.3	Objektträgerkultur	39
3.1.4	Klebstreifenmethode	40
3.2	Einfache Methoden zur Untersuchung von pilzinfiziertem Material	40
3.2.1	Quetschpräparat	41
3.2.2	Schnittpräparat	41
3.3	Messung der Objektgröße im Mikroskop	42
<b>4</b>	<b>Morphologische und cytologische Untersuchung von Bakterien</b>	<b>44</b>
4.1	Untersuchung und Beschreibung von Bakterienkolonien	44
4.2	Beobachtung lebender Bakterien	45
4.2.1	Einfaches Deckglaspräparat	45
4.2.2	Hängetropfenpräparat	46
4.2.3	Objektträgerkultur	47
4.2.4	Prüfung der Beweglichkeit	49
4.3	Untersuchung fixierter und gefärbter Bakterien	49
4.3.1	Herstellung eines hitzefixierten Ausstrichs	50
4.3.2	Einfache Färbung zur Kontrastierung	52
4.3.3	GRAM-Färbung	52
4.3.4	Sporenfärbung	53

4.3.5	Geißelfärbung nach LEIFSON	54
4.3.6	Negativdarstellung von Bakterien	54
<b>5</b>	<b>Anreicherungs- und Reinkulturverfahren</b>	<b>56</b>
5.1	Anreicherung und Isolierung von Pilzen	58
5.1.1	Anreicherungsverfahren	59
5.1.2	Reinkulturverfahren	62
5.2	Anreicherung und Isolierung von Bakterien	63
5.2.1	<i>Bacillus subtilis</i>	63
5.2.2	<i>Micrococcus luteus</i>	65
5.2.3	<i>Janthinobacterium lividum</i>	67
5.2.4	<i>Proteus vulgaris</i>	69
5.2.5	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	70
5.2.6	Leuchtbakterien	70
5.2.7	Phototrophe Schwefelbakterien	71
5.2.8	Anreicherung und Kultur buttersäurebildender Clostridien („Buttersäurebakterien“)	73
5.2.9	Nachweis und Isolierung von Mikroorganismen in der Umgebung des Menschen	77
<b>6</b>	<b>Identifizieren von Bakterien</b>	<b>79</b>
<b>7</b>	<b>Nachweis von physiologischen und biochemischen Leistungen</b>	<b>83</b>
7.1	Nachweis des oxidativen bzw. fermentativen Abbaus von Zuckern (Oxidations-Fermentations-Test)	83
7.2	Katalase- und Oxidasenachweis	85
7.3	Nachweis des Stärkeabbaus	85
7.4	Nachweis eiweißabbauender (proteolytischer) Enzyme	86
7.5	Untersuchung der Säure- und Gasbildung aus verschiedenen Zuckern – kleine „Bunte Reihe“	87
7.6	Methylrot- und VOGES-PROSKAUER-Reaktion	88
7.7	Nachweis von Abbauprodukten des Eiweißstoffwechsels (H <sub>2</sub> S, Indol, Ammoniak)	89
7.8	Nachweis der Citratverwertung	90
7.9	Nachweis der Phenylalanin-desaminase im Schnelltest	91
7.10	Nachweis der Nitratreduktion	91
7.11	Multitest zum Nachweis mehrerer Stoffwechselleistungen	92
7.12	Übersicht über vereinfachte mikrobiologische Bestimmungsverfahren an Hand physiologischer und biochemischer Leistungen	93
<b>8</b>	<b>Methoden zur Bestimmung der Konzentration und Dichte von Mikroorganismen</b>	<b>96</b>
8.1	Messung der Zellkonzentration (Zellzahl/ml)	96
8.1.1	Bestimmung der Gesamtzellzahl	97
8.1.2	Bestimmung der Lebendzellzahl	99

8.2	Bestimmung der Dichte von Mikroorganismen . . . . .	101
8.2.1	Gewichtsbestimmung . . . . .	101
8.2.2	Volumetrische Messung . . . . .	102
8.2.3	Trübungsmessung . . . . .	102
8.2.4	Weitere Methoden . . . . .	104
8.3	Wachstumsmessungen an Pilzhyphen . . . . .	104
8.4	Versuche zur Bestimmung der Konzentration und Dichte von Mikroorganismen . . . . .	105
8.4.1	Ermittlung der Gesamtzellzahl einer Kultur von <i>Escherichia coli</i> mit der Zählkammer . . . . .	105
8.4.2	Bestimmung der Keimzahl (Lebendzellzahl) einer Kultur von <i>E. coli</i> durch Plattieren . . . . .	107
8.4.3	Photometrische Trübungsmessung und Erstellung einer Eichkurve für das Wachstum von <i>E. coli</i> . . . . .	107
8.4.4	Photometrische Wachstumsmessung bei einer Kultur von <i>E. coli</i> . . . . .	110
8.4.5	Bestimmung des Ertrags einer Kultur von <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Bäckerhefe) . . . . .	110
<b>9</b>	<b>Methoden zum Nachweis und zur Untersuchung der Wirksamkeit von Hemmstoffen . . . . .</b>	<b>112</b>
9.1	Nachweis der Antibiotikumproduktion bei <i>Penicillium notatum</i> im Strichtest . . . . .	115
9.2	Untersuchung der Penicillinwirkung im Agarzylindertest . . . . .	115
9.3	Untersuchung der antibiotischen Aktivität eines Kulturfiltrats von <i>Penicillium notatum</i> . . . . .	116
9.4	Bestimmung der Penicillinkonzentration mittels Antibiogramm . . . . .	118
9.5	Anwendung des Keimschichtverfahrens bei der quantitativen Bestimmung von Antibiotika . . . . .	120
9.6	Untersuchung der Wirkung keimschädigender Substanzen durch die Suspensionsmethode . . . . .	121
<b>10</b>	<b>Versuche mit dem Bacteriophagen T 4 . . . . .</b>	<b>123</b>
10.1	Gewinnung von Phagenlysat . . . . .	124
10.2	Bestimmung des Phagentiters in einem Lysat . . . . .	124
<b>11</b>	<b>Untersuchung von keimhaltigen Substraten . . . . .</b>	<b>126</b>
11.1	Ermittlung der Gesamtkeimzahl (Koloniezahl) und Coli-Zahl in einer Wasserprobe . . . . .	126
11.2	Untersuchungen zur Mikrobiologie des Bodens . . . . .	131
11.2.1	Nachweis einiger physiologischer Leistungen von Bodenmikroorganismen . . . . .	131
11.2.2	Bestimmung der Keimzahl im Boden . . . . .	132
	<b>Hinweise für den Aufbau eines Anfängerpraktikums . . . . .</b>	<b>135</b>
	<b>Anhang . . . . .</b>	<b>136</b>