

## **Praktikum 3** **Anreicherung von Mikroorganismen**

### **Aufgaben:**

1. Anreicherung und Isolierung von aeroben Sporenbildnern
2. Epidemiologische Verbreitung von Keimen
3. Auswertung: Reinigung von Kolonien (Weiterführung vom Versuch „Reinigung einer Mischkultur“ aus Praktikum 1)
4. Bestimmung der Lebendzellzahl einer Kultur von *Escherichia coli* (Weiterführung aus dem 2. Praktikum)

### **Durchführung:**

#### **1. Anreicherung und Isolierung von aeroben Sporenbildnern**

Es werden drei Reagenzgläser folgendermaßen vorbereitet:

- eine Spatelspitze Erde in 2ml steriler Saline
- eine Spatelspitze Erde in 2ml steriler Saline, danach Inkubation auf 80°C (Pasteurisieren)
- eine Spatelspitze Erde in 2ml steriler Saline, danach Inkubation auf 121°C (Autoklavieren)

Nach der Behandlung werden je 0,1ml Suspension mit Pipette und Drigalskispatel auf FP-Agarplatten verteilt, bei 30°C bebrütet und im nächsten Praktikum ausgewertet.

Beim *Pasteurisieren* kommt es zur Keimzahlreduktion. Vegetative Zellen werden abgetötet, jedoch nicht die in der Suspension enthaltenen thermoresistenten Sporen. So wachsen trotzdem auf der betreffenden Agarplatte Bakterienkolonien. Beim *Autoklavieren* werden auch diese Sporen abgetötet, so daß auf dieser Agarplatte keine Bakterienkolonien auftreten sollten. (siehe auch Auswertung im nächsten Protokoll)

#### **2. Epidemiologische Verbreitung von Keimen**

In diesem Versuch soll gezeigt werden, wie schnell sich durch einfaches Berühren Epidemien ausbreiten können. Jeder Student im Praktikum erhält ein mit *E.coli* K12 kontaminiertes Stück Schokolade und zerreibt es im Handschuh. Ein Stück ist jedoch mit *Micrococcus luteus* kontaminiert, der durch die Ausbildung gelber Kolonien auffällt. Der Reihe nach schütteln sich die Studenten die Hand und streichen dann mit einem sterilen Zahnstocher etwas Material von ihrem Handschuh auf einer LB-Agarplatte aus.

Im nächsten Protokoll wird dann betrachtet werden, bei welchem Student der *Micrococcus*-Befall zuerst auftrat und über wieviele Berührungen hinweg er weitergetragen wurde.

#### **3. Reinigung von Kolonien**

Die Betrachtung der Agarplatte zeigt nur die tief-gelben Kolonien von *Micrococcus luteus* und keine Kolonien von *E.coli* mehr. Man sollte daher davon ausgehen können, daß die Reinigung der Mischkultur (siehe letzte Versuchstage) erfolgreich war. Dennoch wird die Reinigung mit der Drei-Strichtechnik zur absoluten Sicherheit erneut vorgenommen. Die Auswertung erfolgt im nächsten Protokoll.

#### **4. Bestimmung der Lebendzellzahl einer Kultur von *Escherichia coli*** (siehe auch Praktikum 2)

Grundlage: Jede (lebende) Bakterienzelle bildet eine aus Klonen bestehende Kolonie.

Eine Zellsuspension von *E.coli* wurde verdünnt, um letztendlich Einzelkolonien auf der Agarplatte zu erhalten. Die Verdünnungsreihe, die bis zu einer 10<sup>-8</sup>-Verdünnung führte, ist auf Seite 11 des Praktikumsscriptes beschrieben (siehe dort). Die Verdünnungsstufen 10<sup>-5</sup> bis 10<sup>-8</sup> wurden mit Hilfe von Pipette und Drigalskispatel auf Agarplatten ausplattiert und anschließend bei 37°C bebrütet. Diese Platten sollen nun ausgewertet werden:

- Verdünnungsstufe 10<sup>-8</sup> zeigt keine sichtbare Koloniebildung
- Verdünnungsstufe 10<sup>-7</sup> zeigt 27 Kolonien. Umgerechnet bedeutet dies, daß 2,7 · 10<sup>9</sup> Zellen pro Milliliter Ausgangslösung vorhanden waren.
- Verdünnungsstufe 10<sup>-6</sup> zeigt 340 Kolonien nach dem Auszählen. Umgerechnet bedeutet dies, daß 3,4 · 10<sup>9</sup> Zellen pro Milliliter Ausgangslösung vorhanden waren.
- Verdünnungsstufe 10<sup>-5</sup> zeigt Hunderte von Kolonien. Hier wäre Zählen (aus Zeitgründen) nicht möglich, zudem hätte ich auch keine Lust dazu.
- Ein aus den Verdünnungsstufen 10<sup>-6</sup> und 10<sup>-7</sup> errechneter Mittelwert läßt auf ca. 3,05 · 10<sup>9</sup> Zellen pro Milliliter Ausgangslösung schließen.