

Lebensräume von Bakterien

Vorgehensweise: Auswahl des Mediums, Agarplatten herstellen, Proben „sammeln“

a) Keime in der Luft:

Jede Gruppe stellt fünf Agarplatten mit Komplexmedium her (LB, siehe Versuch 6) und stellt jeweils eine geöffnet für 15 min

- auf den „sterilen“ Arbeitstisch,
- an die schmutzigste Stelle innerhalb der Schule (Suchen!) und
- außerdem eine Agarplatte ins Freie außerhalb der Schule (z. B. Gehweg, Straßenrand, freie Fläche unter einem Baum ...).

Ferner soll eine Platte für 15 min offen auf dem Arbeitstisch stehen, es sollte möglichst während der gesamten Dauer mit ungeschützten Händen über der Platte hantiert werden. Außerdem soll ein Gegenstand nach Wahl der Gruppe auf Keime untersucht werden. Die Petrischalen werden anschließend wieder verschlossen und für eine Woche im Brutraum inkubiert (optimale Vermehrungsbedingungen für die Keime). Anschließend wird die Zellzahl (entspricht der Anzahl der gewachsenen Zellkulturen) bestimmt.



b) Keime in Nahrungsmitteln:

Untersuchungsobjekte z. B. Paprikapulver oder andere Gewürze auf YM-Platten (siehe Versuch 6) ⇒ Nachweis von Pilzsporen

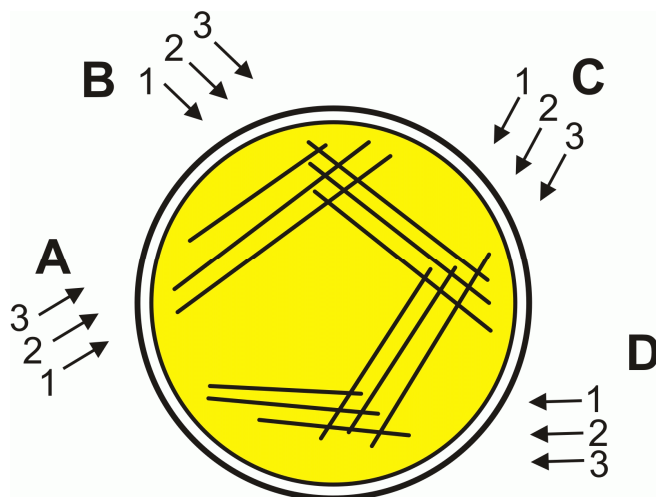


Abb. 3.1 Drei-Stich-Ausstrich

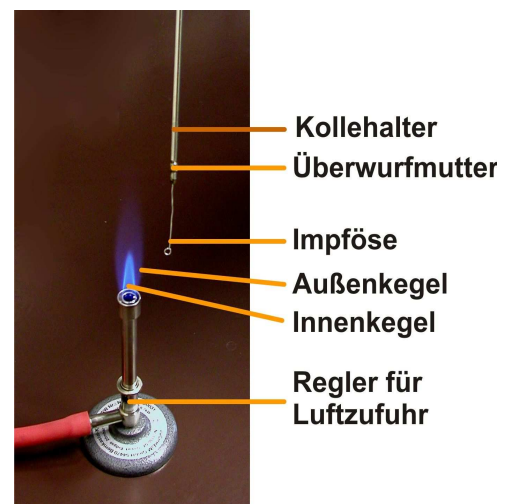


Abb. 3.2 Bunsenbrenner

Vorgehensweise:

Nach dem Ausglühen der Impföse über dem Innenkegel des Brenners bei nicht leuchtender Flamme (siehe Abb. 3.2) und kurzer Abkühlzeit wird die Ösenspitze in das Gewürz eingetaucht.

Anschließend wird nach der Drei-Strich-Ausstrich-Methode (siehe Abb. 3.1) die Impföse über die Oberfläche der YM-Agar-Platte gestrichen (Reihenfolge: A 1, 2, 3 – B 1, 2, 3 etc.). Hierbei die Strickkreuzungen beachten!

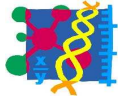
Beim Vergleich mehrerer Gewürze jeweils eine eigene Agarplatte verwenden.

Inkubation und Auszählen erfolgen wie bei a) beschrieben, die Inkubationstemperatur beträgt 27°C.



Materialliste:

Pro Gruppe mindestens sechs Agarplatten (fünf mit LB-Medium, eine oder zwei mit YM-Medium), eine Impföse, ein Bunsenbrenner



Bauanleitung Brutschrank

Benötigtes Material:

- 1 Lampenfassung mit Anschlusskabel
- 1 Glühbirne 15 W
- 1 Thermometer (0-100°C)
- 12 Korken
- 16 Holzstäbe (Durchmesser 0,5 cm, 32 cm lang)
- 1 Hartfaserplatte
- 1 Dose Styroporklebstoff
- 1 Styroporplatte (1m² / 6 cm stark)
Zuschnitte: (A) 2.St. 50 x 44 cm
(B) 2 St. 50 x 27 cm
(C) 2 St. 32 x 27 cm
- 1 Styroporplatte (0,5m² / 2 cm stark)
Zuschnitte: (D) 1 St. 37,5 x 32 cm
(E) 2 St. 24,5 x 12 cm
(F) 1 St. 28 x 12 cm
(G) 2 St. 24,5 x 5,5 cm
(H) 2 St. 24,5 x 9 cm



Vorgehensweise:

- Zuerst wird das Styroporgehäuse entsprechend Abb. 1 zusammengeklebt. Dabei werden auf die Hinterwand zuerst Seitenwände, Boden und Oberseite geklebt, und dann die restlichen Styroporplatten verklebt.
- Die Tür des Brutschranks wird entsprechend der Abb. 2 verklebt. Durch das Aufkleben der Styroporauflage kann die Tür mit dem Innenraum beim Schließen des Brutschranks vollständig abgeschlossen werden.
- Für den Einschub des Thermometers wird auf der Mittelsenkrechten der rechten Seitenwand von außen in 40 cm Höhe ein Loch gebohrt. Hier kann man das Thermometer einführen.
- Für den Einschub des Lampenkabels wird in 9 cm Höhe ein Loch gebohrt. Die Lampe muss dabei so befestigt werden, dass die Glühbirne nicht auf dem Styropor aufliegt.
- Die Hartfaserplatte wird zwischen die Styroporplatten E und G geschoben, so dass ein separater Lampenraum entsteht, der vom Brutraum getrennt ist.
- In angebrachten Kerben (3 cm Abstand) an den Oberkanten der Styroporplatten G und H werden die Holzstäbe geklemmt.
- In die Gehäuseoberseite (C) und die Tür oberhalb des Lampenraumes werden jeweils 6 Locher gebohrt, die mit den Korken verschlossen werden können und so der Temperaturregelung dienen.

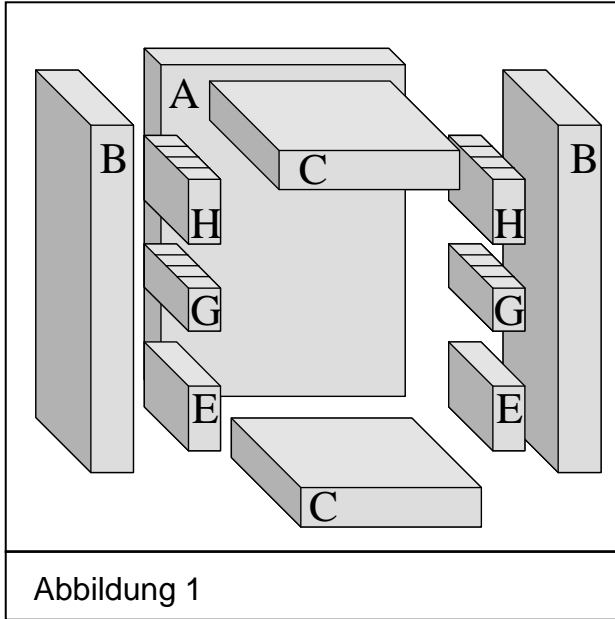


Abbildung 1

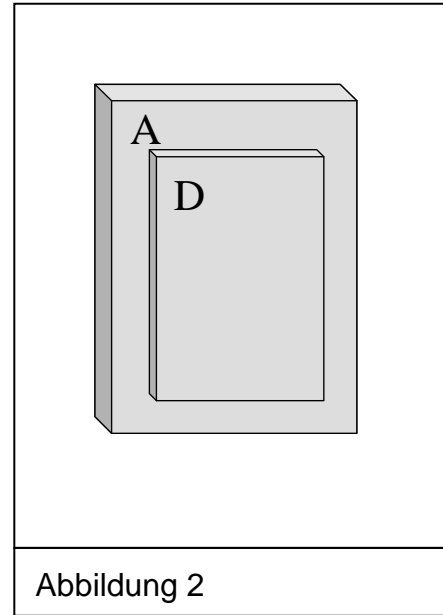
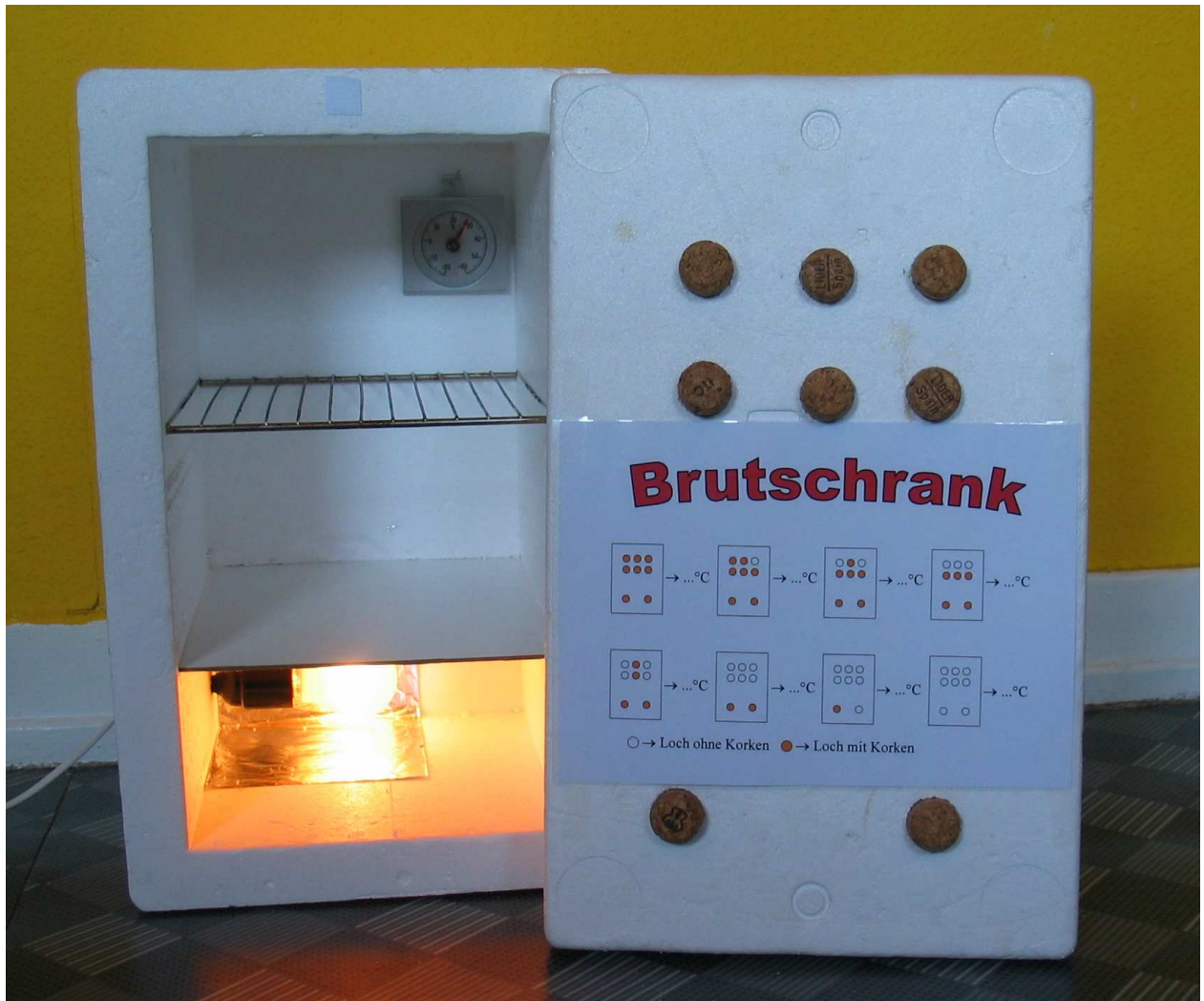


Abbildung 2

Beispiel eines fertigen Brutschranks:



Bauanleitung verändert nach: Bayrhuber, H., Lucius, E. (Hrsg.). (1992). *Handbuch der praktischen Mikrobiologie und Biotechnik*. Band 1.S.31-32. Hannover: Metzler Schulbuchverlag.



Mikroskopieren von Plaquebakterien

Versuchsanleitung:

Benötigtes Material:

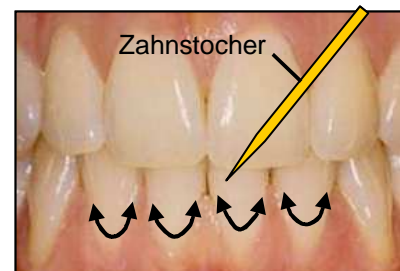
- Zahnstocher
- Objektträger
- Glasstab
- Mikroskop
- Papiertücher
- Pinzette
- Bunsenbrenner
- Spritzflasche zum Spülen
- Wasser
- Methylenblau



Versuchsdurchführung:

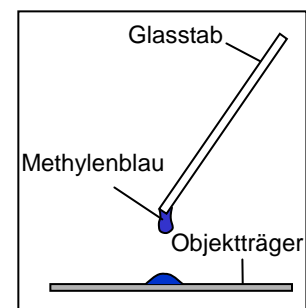
Einen winzigen Tropfen Wasser auf einen Objektträger geben.

Mit einem Zahnstocher schabt man im Mund an 4 Zähnen im Zahnhalsbereich vorsichtig etwas Zahnbelag ab. Das Plaquematerial wird mit der Zahnstocherspitze kreisend in den Tropfen Wasser auf dem Objektträger eingerieben.



Objektträger mit einer Pinzette festhalten und ihn mit der Objektseite nach oben 3 mal langsam durch die Bunsenbrennerflamme ziehen (Das fixiert die Bakterien auf der Glasoberfläche).

Zur Färbung wird mit Hilfe eines Glasstabes ein Tropfen Methylenblaulösung aufgetragen (Vorsicht, Methylenblau Flecken lassen sich nicht auswaschen!). 1 Minute einwirken lassen.



Den Objektträger mit der Pinzette greifen und mit Wasser die überschüssige Methylenblaulösung abspülen.

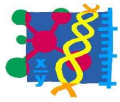
Objektträger senkrecht auf ein Papiertuch stellen und trocken lassen. Achtung! Der Objektträger muss trocken sein, bevor man mikroskopiert.

Untersuche nun dein erstelltes Präparat unter dem Mikroskop und zeichne die verschiedenen Bakterienzellen die du entdeckst.

Zeichnung und Beschriftung von Plaquebakterien:

Mikroskopiertes
Objekt:

Vergrößerung:



Zahnbeläge in Traubenzuckerlösung

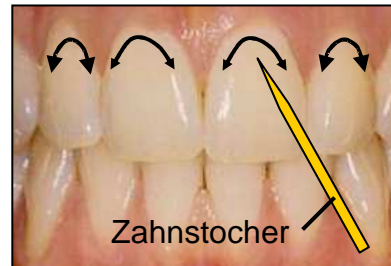
Der Versuch wird in Gruppen durchgeführt. Jeder Tisch bildet eine Gruppe.

Benötigtes Material:

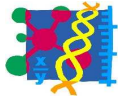
- Reagenzglas mit Traubenzuckerlösung oder destilliertem Wasser
- Folienstift
- Für jeden Schüler aus der Gruppe ein Zahnstocher
- pH-Indikatorpapier

Vorgehensweise:

1. Beschriftet euer Reagenzglas mit eurem Gruppennamen. Mit den jeweiligen Lösungen ist das Reagenzglas bereits beschriftet.
2. Mit einem Zahnstocher schabt man im Mund an 4 Zähnen im Zahnalsbereich **vorsichtig** etwas Zahnbelag ab.
3. Den Zahnstocher in das Reagenzglas deiner Gruppe geben. Dabei muss darauf geachtet werden, dass die Zahnstocher auch wirklich in die Lösung gelangen und nicht an der Reagenzglaswand haften bleiben
4. Wenn alle Hölzer einer Gruppe im Reagenzglas sind, wird dieses leicht geschüttelt, damit sich der Zahnbelag von den Hölzern löst.
5. Nun wird mit Hilfe des Indikatorpapiers der pH-Wert der Lösung gemessen und in der Tabelle eingetragen.
6. Die Messung wird nach 24h wiederholt.



Lösungen	Test mit Indikatorpapier	Ergebnis	
		Gruppe 1	Gruppe 2
Destilliertes Wasser mit Zahnbelägen	Bei Versuchsbeginn		
	Nach 24 Stunden		
Traubenzuckerlösung mit Zahnbelägen	Bei Versuchsbeginn		
	Nach 24 Stunden		
Traubenzuckerlösung ohne Zahnbeläge	Bei Versuchsbeginn		
	Nach 24 Stunden		



Die Gramfärbung

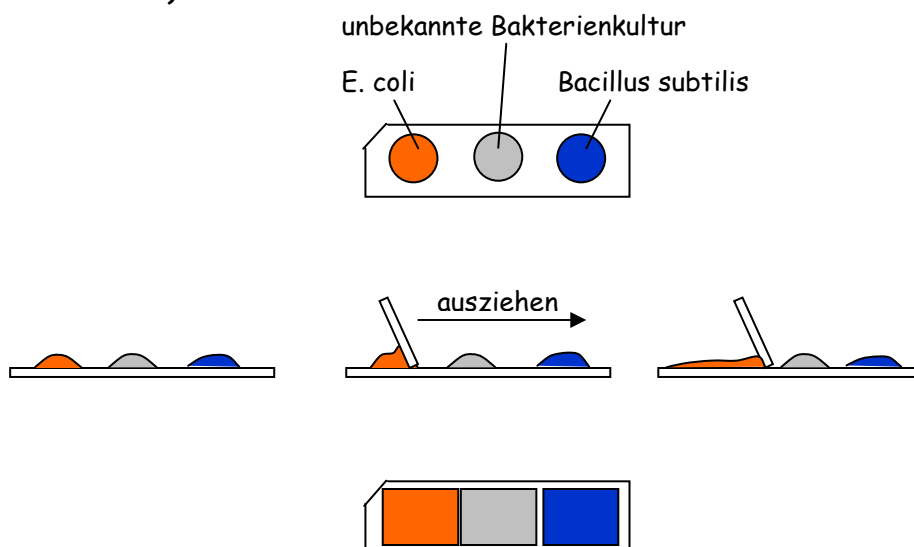
Materialien:

- ⇒ Kristallviolett-Lösung (**VORSICHT** man sieht jeden noch so kleinen Krümel dieses Farbstoffes!!!)
- ⇒ Lugolsche Lösung (Iod-Kaliumiodid-Lösung),
- ⇒ Safraninlösung
- ⇒ 96 %iges Ethanol
- ⇒ Junge Kulturen von E. coli und Bacillus subtilis
- ⇒ Unbekannte Bakterienkultur
- ⇒ "Markierter" Objektträger
- ⇒ Pinzette
- ⇒ Bunsenbrenner
- ⇒ Uhr
- ⇒ Handschuhe, Kittel
- ⇒ Mikroskop (100er Objektiv, Immersionsöl)
- ⇒ 20 µl Pipette



Durchführung:

1. Objektträger vorbereiten: Markierung
(bei Markierung mit Stift sollte man einen Stift wählen der ethanolbeständig ist oder besser eine Ecke am Objektträger abzwicken)
2. Ausstrich Anfertigen (je Probe 20 µl auf Objektträger aufbringen und dann mit einem 2. Objektträger ausstreichen. Zum Ausstreichen der zweiten und dritten Probe nicht noch einmal die selbe Kante des Objektträgers benutzen, da sonst die Proben miteinander vermischt werden)

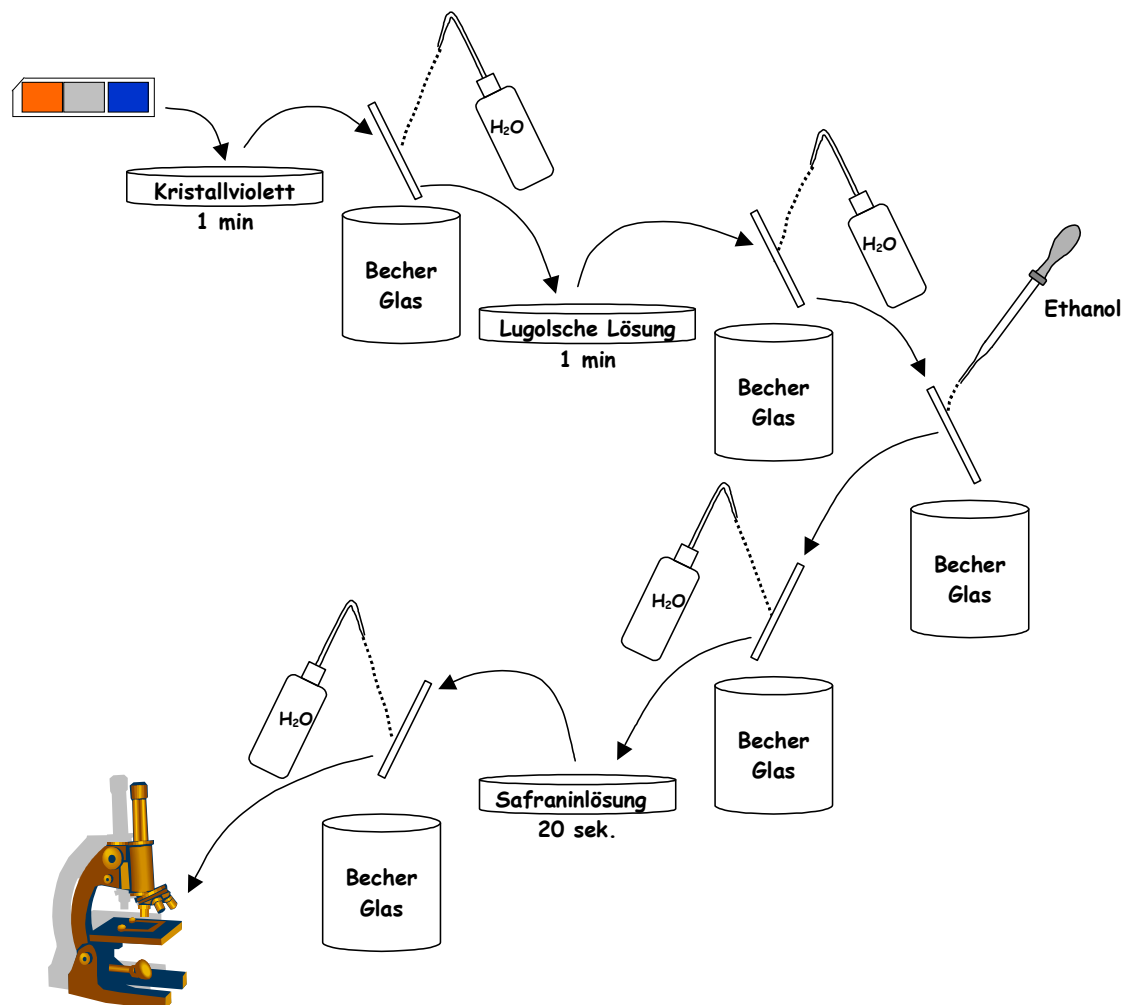


3. an der Luft trocknen lassen

!!! Der Ausstrich darf während der ganzen Färbung nicht trocken werden!!!

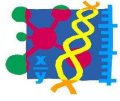
Deshalb: *Schritt 5. bis 11. zügig durchmachen!*

4. Hitze-fixierung (Objektträger 3 X kurz durch die Flamme ziehen)
5. Objektträger 1 min. in Kristallviolettlösung
6. Objektträger mit Leitungswasser abspülen
7. Objektträger 1 min. in Lugolsche Lösung
8. Objektträger mit Leitungswasser abspülen
9. tropfenweise mit 96% Ethanol Farbe auswaschen (schnell)
10. Objektträger sofort mit Leitungswasser spülen
11. Objektträger 20 sek. in Safraninlösung
12. Objektträger mit Leitungswasser abspülen
13. ohne Deckglas im Hellfeld mikroskopieren, evtl. mit Ölimmersion arbeiten



Aufgabe:

Finde mit Hilfe der Gramfärbung heraus, ob es sich bei der unbekanntem Bakterienkultur um Gram negative oder Gram positive Bakterien handelt.



Herstellung von Nährböden

Zu Beachten:

- Grundregeln für Arbeit im Labor gelten: **Steril arbeiten!**
- Versuchsanleitung genau durchlesen und befolgen.

Benötigtes Material:

- 250 ml Erlenmeyerkolben
- 250 ml dest. Wasser
- Waage
- Spatel
- 6,25g LB-Nährmedium
- 3,75g Agar
- Ein Stück Alufolie
- Dampfkochtopf
- Hitzehandschuhe bzw. Topflappen
- 10 Petrischalen
- Zeitungspapier
- Bunsenbrenner
- Folienstift



1. Herstellen des Nährmediums

1. Schritt: Erlenmeyerkolben zur Hälfte mit dest. Wasser füllen.
2. Schritt: Zugabe des abgewogenen Nährmediums und Agars.
3. Schritt: Rühren bis sich Nährmedium gelöst hat.
4. Schritt: Erlenmeyerkolben mit restlichem Wasser füllen und erneut rühren.
5. Schritt: Öffnung des Erlenmeyerkolbens mit dicht anliegender Alufolie verschließen.
6. Schritt: Lösung in den Dampfkochtopf stellen und 30 min autoklavieren.

2. Gießen von Agarplatten (nach Eckhard Bast)

- Den nach dem Autoklavieren noch flüssigen oder völlig wieder verflüssigten Nährboden auf etwa 50 °C abkühlen lassen. (Bei 1 L Nährboden dauert das ca. 30 min.) Wird der Nährboden zu heiß ausgegossen, schlagen sich an Deckel und Rand der Petrischalen größere Mengen Kondenswasser nieder.
- Gewünschte Anzahl an sterilen Petrischalen mit einem Folienstift beschriften (auf der Unterseite, möglichst am Rand): Kurzbezeichnung für den betreffenden Nährboden, eventuell Datum des Gießens notieren.
- Petrischalen am vorderen Rand der ebenen, waagerechten Arbeitsfläche in einer Reihe nebeneinander aufstellen.
- Nährboden durch Umschwenken gut mischen. Nicht schütteln, damit keine Luftblasen entstehen!
- Erlenmeyerkolben von unten fassen (Hitzeschutzhandschuh!), schräg halten, und Verschluss vorsichtig drehend entfernen. Sofern man den Kolben wieder verschließen will, darf man den Verschluss nicht ablegen!
- Eventuell am Kolbenhals hängengebliebene Wattefäden in der Bunsenbrennerflamme kurz abbrennen.
- Deckel der ersten Petrischale schräg etwas anheben, jedoch ständig über die Unterschale halten.
- In die Unterschale so viel Nährmedium gießen, dass der Boden gut bedeckt ist. Schalenrand nicht bekleckern! Deckel sofort wieder auflegen.
- Wenn nötig, Medium durch vorsichtiges Kreisen der Petrischale auf der Arbeitsfläche gleichmäßig über den Schalenboden verteilen; dabei Schale nicht anheben. Das Medium darf nicht an den Schalenrand oder -deckel schwappen!
- Die übrigen Petrischalen in derselben Weise mit Nährmedium füllen. Zügig arbeiten, jedoch hastige Bewegungen vermeiden.
- Petrischalen mit einigen Lagen Zeitungspapier oder einem anderen wärmeisolierenden Material bedecken, um die Bildung von Kondenswasser zu verhindern.
- Schalen ruhig stehen lassen, bis der Agar erstarrt ist (10-15 min). Die Agarschicht darf keine Luftblasen enthalten; ihre Oberfläche muss völlig glatt und eben sein. Haben sich doch Luftblasen gebildet, so entfernt man sie aus dem noch flüssigen Nährboden durch Anstechen mit einer ausgeglühten, heißen Impfnadel.
- Agarplatten mit der Unterseite nach oben stapeln.

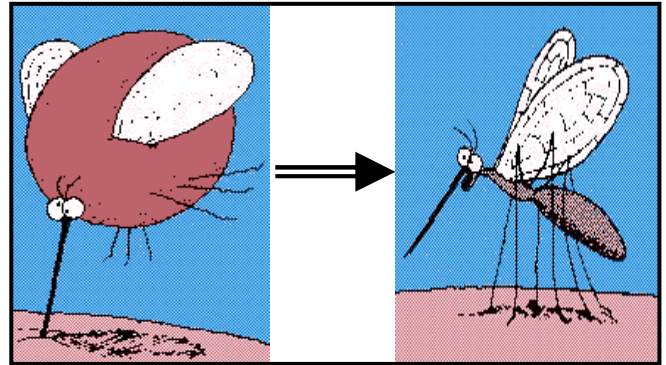


BESTIMMEN VON KEIMZAHLEN ANHAND VON BAKTERIENKULTUREN

Ganz wichtig:

- Steril arbeiten ⇒ Das bedeutet Hände mit Sterilium desinfizieren.
⇒ Arbeitsplatz mit Sterilium desinfizieren und abwischen.

1. Erstellen einer Verdünnungsreihe



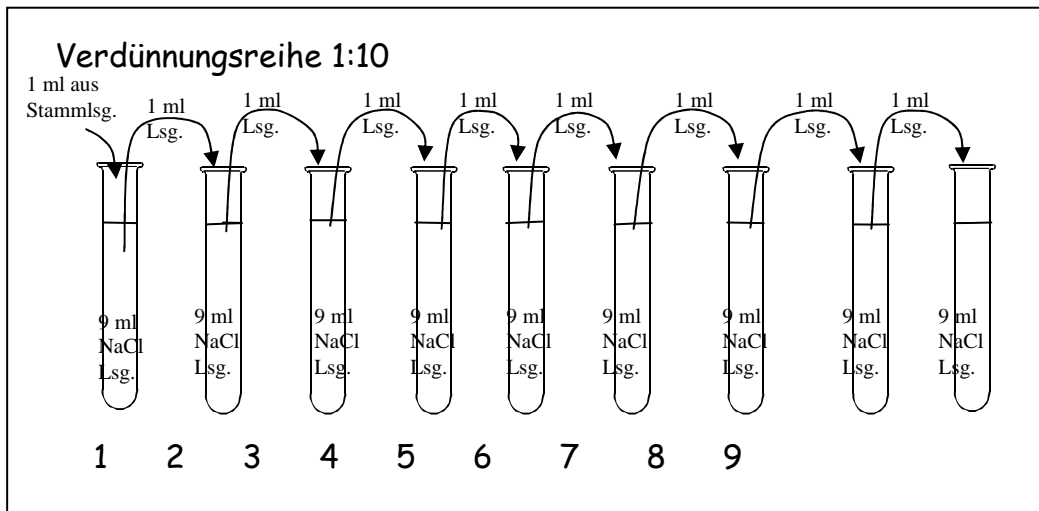
MATERIALIEN:

- 9 sterile Reagenzgläser, verschlossen mit Alufolienkappen
- 1 Reagenzglasständer
- 10 mL Glaspipette
- 2 mL Glaspipette
- 1 Peleusball
- 1 Erlenmeyerkolben mit steriler Salzlösung
- Bakterienkultur
- 1 wasserfester Stift

DURCHFÜHRUNG:

1. Beschrifte die Reagenzgläser mit 1 bis 9 und stelle sie neben einander im Reagenzglasständer auf.
2. Zieh die Alukappen von den Reagenzgläsern ab und pipettiere nacheinander in jedes Reagenzglas 9 mL der Salzlösung. Verwende hierzu die 10 mL Glaspipette und den Peleusball.
3. Entnimm aus der Bakterienkultur steril mit der 2 mL Glaspipette 1 mL von der Stammkulturlösung und überführe in das erste Reagenzglas. Die Bakterien in der Salzlösung durch Umschwenken gründlich verteilen. Die erhaltene Lösung entspricht der ersten Verdünnungsstufe: 1:10 oder 10^{-1} .
4. Aus dieser Lösung entnimmt man wieder 1 mL und pipettiert sie in das zweite Reagenzglas.
Gegenüber der Stammkulturlösung hast Du jetzt die Verdünnungsstufe 1:100 oder 10^{-2} erreicht.

Wiederhole diesen Vorgang bis zum Reagenzglas Nr. 9.



2. Ausplattieren der Verdünnungsstufen

MATERIALEN:

- 9 Agarplatten mit Nährmedium
- 1 wasserfester Stift
- 100µL Eppendorfpipette
- 1 Peleusball
- 1 Drigalskispatel
- 1 Becherglas mit Brennspiritus zum Desinfizieren des Digalskispatels
- 1 Bunsenbrenner

Parafilmstreifen oder Tesafilm

DURCHFÜHRUNG:

1. Beschrifte die Petrischalen auf der Unterseite (Name, Datum, Verdünnungsstufe, Bakterienstamm) und stelle sie in der richtigen Reihenfolge auf.
 Nr. 1: unverdünnte Bakterienkultur
 Nr. 2: Verdünnungsstufe 10^{-1}
 Nr. 3: Verdünnungsstufe 10^{-2}
 usw.
2. Entzünde den Bunsenbrenner.

3. Zum Ausplattieren werden 0,1 mL der Bakterienlösung mit der Pipette entnommen, der Deckel der Petrischale mit der anderen Hand angehoben und die Lösung über den Nähragar pipettiert. Schließe die Schale wieder.
4. Tauche den Drigalskispatel mit dem Dreieck in Brennspritus, und ziehe ihn durch die Brennerflamme. Drücke den noch warmen Spatel zum Abkühlen auf den Rand der Agaroberfläche der geöffneten Schale. Dann verteilst Du die Bakterienlösung mit kreisenden Bewegungen gründlich auf dem Nähragar. Schließe den Deckel der Schale.



Versiegle die Petrischalen mit einem Streifen Parafilm (oder Tesafilm), der rund um die Petrischale gezogen und angedrückt wird.

Auswertung zu Versuch 1 und 2:

Ergänze die folgende Tabelle:

Reagenzglas Nr.:	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Verdünnung	1:10	1:100							
Verdünnungsstufe	10^{-1}	10^{-2}							
V in μl ausplattiert	je 100 μl								
Anzahl Bakt.kolonien nach 1 Tag									
Bakterien pro μl Lösung									

Aufgaben:

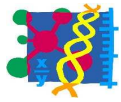
1. Berechne aus den Werten für die Reagenzgläsern 7, 8 und 9 jeweils die Konzentration der Bakterien ($c_{\text{Bakt.}}$) in der Stammlösung.
(Konzentration = Bakterienanzahl pro Volumen)

Reagenzglas 7

Reagenzglas 8

Reagenzglas 9

2. Vergleiche die Ergebnisse und überlege, wie eventuelle Unterschiede zustande kommen.



Bestimmen von Keimzahlen mit dem Fotometer

Materialien:

- 1 Fotometer
- 10 Küvetten
- 1 Küvettenständer
- 5 mL Glaspipette
- 1 Peleusball
- 1 Becherglas mit steriler Salzlösung
- Material zum Erstellen einer Verdünnungsreihe (siehe Versuch „Bestimmen von Keimzahlen anhand von Bakterienkulturen“)



DURCHFÜHRUNG:

1. Eiche das Fotometer indem du zuerst eine Messung mit steriler Salzlösung durchführst und einen Nullabgleich machst.
2. Erstelle eine Verdünnungsreihe entsprechend der Versuchsanleitung des Versuchs „Bestimmen von Keimzahlen anhand von Bakterienkulturen“. Alternativ können auch die noch von diesem Versuch vorhandenen Lösungen verwendet werden.
3. Pipettiere nun 3 mL der am stärksten verdünnten Lösung in eine Küvette, messe Extinktion und Transmission und notiere die Werte.
4. Wiederhole das ebenfalls mit den anderen verdünnten Lösungen.
5. Erstelle eine Eichkurve mit Hilfe der gewonnenen Daten

Mit dieser Eichkurve ist es möglich bei unbekanntem Lösungen schnell und genau die Bakterienzahl zu ermitteln.

Aufgaben:

1. Ermittle die Bakterienzahl der Lösungen aus den Reagenzgläsern 7,8 und 9 die in dem Versuch „Keimzahlbestimmung anhand von Bakterienkulturen“ angesetzt wurden.
2. Vergleiche die Ergebnisse mit den Ergebnissen aus dem Versuch „Keimzahlbestimmung anhand von Bakterienkulturen“ und erkläre eventuelle Unterschiede.



Versuchsanleitung Drei-Strich-Ausstrich

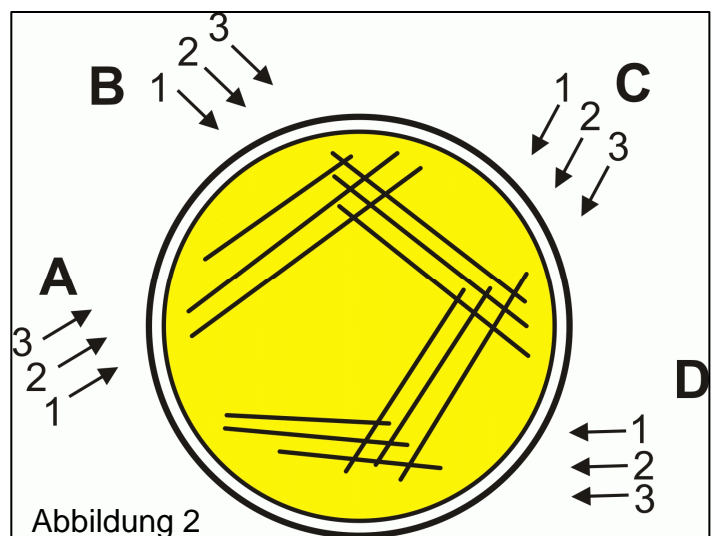
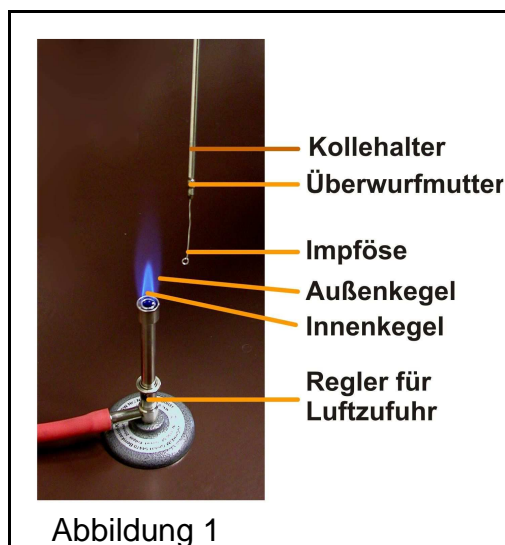
Benötigtes Material:

- wasserfester Stift, Einmalhandschuhe, Kittel
- Impföse
- Bunsenbrenner
- Probe mit zu isolierenden Mikroorganismen
- Agarplatte für den entsprechenden Mikroorganismus

Zu Versuchsbeginn Hände waschen und desinfizieren! Handschuhe und Kittel tragen!

Vorgehensweise:

- Impföse über dem Innenkegel der Flamme eines Brenners ausglühen (siehe Abbildung 1).
- Deckel der unbeimpften Petrischale einseitig leicht anheben und die heiße Impföse durch kurzes auftupfen der Breitseite auf die Agaroberfläche abkühlen.
- Mit der Impföse eine winzige Menge der Probe entnehmen.
- Ring der Impföse nahe dem Petrischalenrand mit der vollen Breitseite leicht auf die Agaroberfläche aufsetzen und in Randnähe 3 gerade, durchgehende, parallele Impfstriche gleichmäßig und ohne Hast seitlich über den Agar ziehen (siehe Abbildung 2 Punkt A 1, 2 und 3).
- Impföse wieder ausglühen und auf dem Agar wie oben beschrieben abkühlen.
- Nun wird die Impföse beginnend bei Strich A1 und vor den Strichen A2 und A3 auf das Agar gesetzt und in einem ca. 90° Winkel zu den vorherigen Strichen über den Agar gezogen. Dann wird bei dem Strich A2 angesetzt und entsprechend verfahren und dann bei Strich A3 (siehe Abbildung 2 Punkt B 1,2 und 3)
- Nun wird die Impföse wieder ausgeglüht und entsprechend der oben geschilderten Vorgehensweise bis Punkt D gearbeitet





Versuchsanleitung Plattentest/Antibiogramm

Benötigtes Material:

- Lösungen verschiedener Antibiotika
- Flüssigkulturen der zu untersuchenden Bakterien
- Entsprechende Agarplatten für die Bakterien
- 100 µl Eppendorf-Pipette inkl. Spitzen
- Drigalskispatel (zum Ausplattieren)
- sterile Filterplättchen
- Brennspritus, Brenner
- Pinzette, wasserfester Stift, Einmalhandschuhe, Kittel

Zu Versuchsbeginn Hände waschen und desinfizieren! Handschuhe und Kittel tragen!

Vorgehensweise:

- Agarplatten für Bakterienkulturen auf der Unterseite beschriften (*Bakterienkultur, Datum, Name/Gruppe*)
- Auf der Unterseite der Agarplatte mit einem Stift vier gleichgroße Bereiche aufzeichnen; Bereiche mit Name und Konzentration des zu untersuchenden Antibiotikums beschriften (siehe Abbildung 1).
- 100 µl Bakterienkultur mit Hilfe des Drigalskispatels ausplattieren (siehe Abbildung 2).
- Steriles Filterplättchen mit **steriler** Pinzette vorsichtig auf den vorgesehenen Bereich der Agarplatte legen.
- Nun 5 µl des für den beschrifteten Sektor entsprechenden Antibiotikums auf das Filterplättchen pipettieren.
- Diesen Schritt mit weiteren Antibiotika / Konzentrationen wiederholen.
- Kontrollversuch: auf einen Bereich **jeder** Platte wird auf ein Filterplättchen Wasser pipettiert.
- Die Agarplatte über Nacht in den Brutschrank stellen.

Abb.1

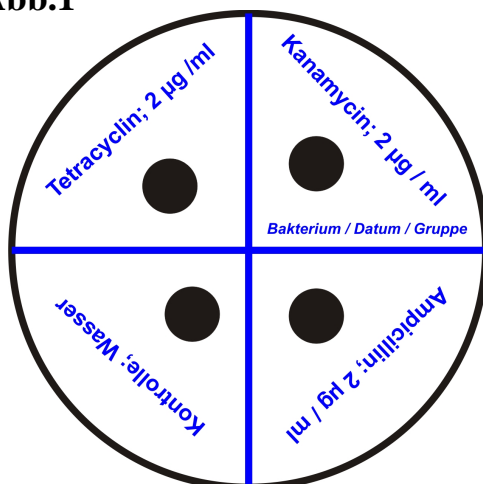


Abb.2



Auswertung/Aufgaben:

1. Skizziere und beschreibe das Aussehen der Agarplatte am nächsten Tag.
(Falls das am nächsten Tag nicht möglich ist, muss die Platte bis zur Auswertung in den Kühlschrank gestellt werden)

Lösungshinweise: dichter Bakterienrasen, außer im Umkreis der antibiotikahaltigen Filterplättchen, Bildung von mehr oder weniger großen Hemmhöfen, das wassergetränkte Plättchen ohne Hemmhof

2. Erkläre deine Beobachtungen.

Lösungshinweise: Die Antibiotika hemmen das Wachstum der Bakterien bzw. töten die Bakterien ab.
Größe der Hemmhöfe: Unterschiedlich starke Wirkung der Antibiotika wegen unterschiedlicher Empfindlichkeit (Sensibilität/Resistenz)

3. Wie könntest du die Größe der Hemmhöfe beeinflussen?

Lösungshinweise: Veränderung der Antibiotika-Konzentration

4. In einem weiteren Experiment soll die Wirkung eines bestimmten Antibiotikums auf verschiedene Bakterienarten getestet werden.
Entwerfe einen Versuchsplan für dieses Experiment.
Welches Ergebnis ist bei deinem Experiment zu erwarten?

Lösungshinweise: mehrere Agarplatten mit gleicher/unterschiedlicher Konzentration eines Antibiotikums herstellen, verschiedene Bakterienarten mit gleicher Bakterienkonzentration jeweils ausplattieren
oder: eine Agarplatte mit gleicher/unterschiedlicher Konzentration eines Antibiotikums herstellen, in Sektoren unterteilen, in jedem Sektor eine bestimmte Bakterienart mit gleicher Bakterienkonzentration jeweils ausplattieren

5. Informiere dich bei einem Arzt oder Apotheker, bei welchen Krankheiten welche Antibiotika verschrieben werden.
6. Informiere dich im Internet, in der Bibliothek und evtl. im Biologiebuch über die Entdeckungsgeschichte des Penicillins.

Antibiotika

Allgemeines:

Das Antibiotikum (Mehrzahl Antibiotika, von griechisch αντι= gegen, entgegen und βιοτικό= Leben, Lebensvorgänge) heißt wörtlich "gegen etwas Lebendes". Antibiotika sind nach der gültigen Definition Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen, die Bakterien bekämpfen.

Gegen die meisten Bakterien, die bei den Menschen Krankheiten verursachen können, wurden Antibiotika entwickelt. Allerdings kann es bei dem Einsatz der Antibiotika auch Probleme geben. Zum einen muss mit teilweise nicht unerheblichen Nebenwirkungen während der Therapie gerechnet werden, ein anderes Problem ist die sich immer weiter verbreitende Resistenzentwicklung der Bakterien. Unter Resistenz versteht man, dass bestimmte Bakterien gegen ein oder mehrere Antibiotika unempfindlich werden.

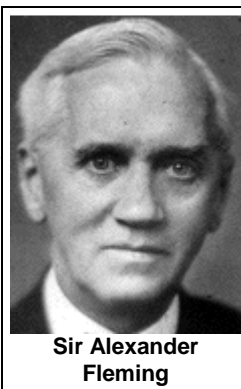
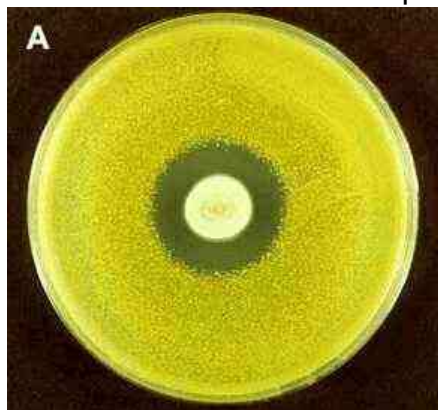
Aus diesen Gründen sind alle Antibiotika in Deutschland verschreibungspflichtig, und damit auch an die Apothekenpflicht gebunden.

Die Geschichte der Antibiotika:

Die Anwendung von antibiotisch wirksamen Substanzen durch den Menschen erfolgte höchstwahrscheinlich schon früh in der Menschheitsgeschichte. Immer wieder gab es vereinzelte Hochkulturen, die über ein beachtliches Wissen verfügten. Es ist daher anzunehmen, dass schon vor Jahrtausenden durch Heilkundige Wirkstoffe gegen Krankheitserreger eingesetzt wurden. Leider ist im Laufe der Geschichte nur wenig von den Kenntnissen der Heilkundigen bewahrt worden.

In unserer heutigen Zeit beginnt die Geschichte der antibiotisch wirksamen Substanzen 1910 mit Salvarsan, welches von Paul Ehrlich gegen die Syphilis und einige Tropenkrankheiten eingesetzt wurde. Bei Salvarsan handelte es sich chemisch um eine Arsenverbindung, also um eine Substanz die viele toxische Nebenwirkungen hatte. Das Salvarsan wird nicht zu den Antibiotika gezählt, weil Antibiotika laut Definition natürliche Stoffwechselprodukte von Bakterien und Pilzen sind. Trotzdem spielte das Salvarsan einige Zeit als antibiotisch wirkende Substanz eine wichtige Rolle.

Penicillin war das erste Antibiotikum, das von Alexander Fleming entdeckt wurde. Im September 1928 beobachtete Fleming bei seiner Laboratoriumsarbeit mit Staphylococcenstämmen, dass eine fremde Kolonie auf einer der Zuchtschalen, die er eigentlich wegwerfen wollte, angegangen war. Der Erreger war offensichtlich ein Schimmelpilz, der wohl von einer Spore abstammte, die sich aus der Luft auf den Nährboden abgesetzt hatte. In der Umgebung dieser Schimmelpilz-Kolonie erschienen die Staphylococcen-Kolonien durchsichtig, als ob sie aufgelöst worden waren (siehe Abbildung A). Damit hatte Fleming als Erster die auflösende Kraft eines Schimmelpilzes gegenüber Mikroorganismen beobachtet. Bei weiteren Versuchen stellte er auch die Wachstumshemmung dieses Schimmelpilzes fest. Er bezeichnete diesen Pilz anfangs als "mould juice" ("Schimmelsaft") - erstmals am 7. März 1929 nannte er ihn "Penicillin" (die Stoffwechselprodukte des "Penicillium notatum" oder "Penicillium chrysogenum"). Am 10. Mai 1929 reichte Fleming seinen ersten Bericht über das Penicillin beim "British Journal of



Sir Alexander Fleming

Experimental Pathology" ein, der im Juni des Jahres unter dem Titel "Über die antibakterielle Wirkung von Penicillium-Kulturen ..." erschien. In diesem und späteren

Berichten führte Fleming aus, dass Penicillin besonders auf die eitererregenden Staphylo-, Strepto-, Gono-, Meningo- und Pneumococcen wachstumshemmend wirkt und damit ein Heilmittel gegen viele Infektionen wie Eiterungen, Lungen- und Hirnhautentzündung, darstellt. Er berichtete aber auch, dass es Bakterien gibt, die durch Penicillin nicht abzutöten sind.

Ab 1938 wurden durch den sogenannten „Oxford-Kreis“, bestehend aus Florey, Abraham, Chain und anderen, Versuche zur Gewinnung und Nutzung des Penicillins unternommen. 1940 wurden erstmals Penicillinpräparate therapeutisch verwendet. Im Jahr 1945 erhielten Fleming, Chain and Florey den Nobelpreis dafür.

WIRKUNG DER ANTIBIOTIKA:

Man kann Antibiotika unter verschiedenen Gesichtspunkten einteilen:

- chemischen Struktur
- klinischen Anwendung
- Wirkungsspektrums
- Wirkungsweise

Bei der Wirkungsweise kann eine:

- bakteriostatische
- bakteriozide
- bakteriolytische

Wirkungsweise unterschieden werden. Bei der bakteriostatischen Wirkungsweise werden Bakterien an der Vermehrung gehindert. An dieser Hemmung der Vermehrung sterben die Bakterien dann auch.

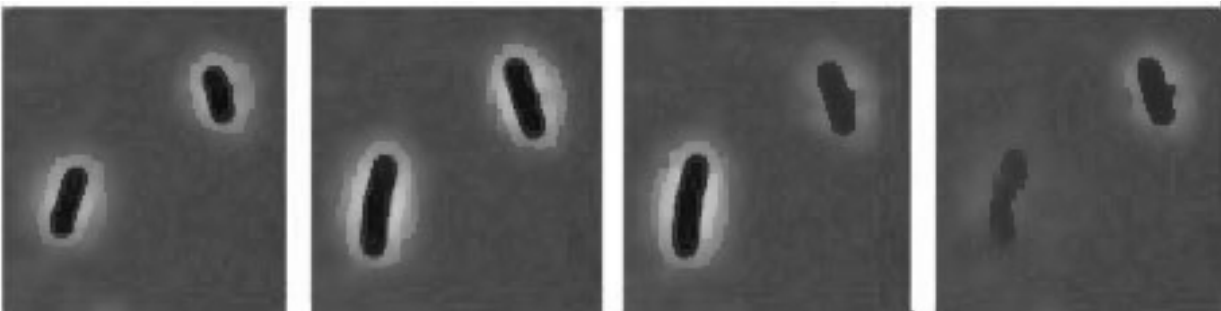
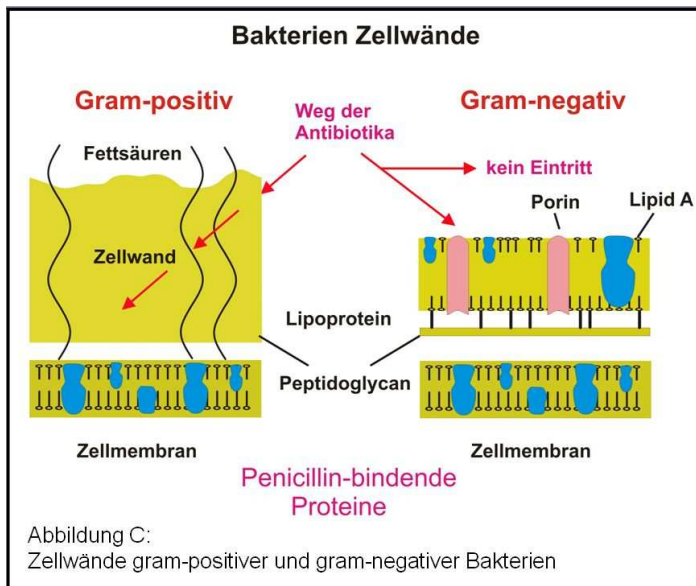


ABBILDUNG B: 30 MINUTEN INKUBATION IN PENICILLIN; DIE BAKTERIEN VERLÄNGERN SICH, KÖNNEN SICH ABER NICHT TEILEN UND STERBEN.

Bei der bakterioziden Wirkungsweise werden die Bakterien zwar getötet, sind aber weiterhin körperlich vorhanden. Bei der bakteriolytischen Wirkungsweise werden die Bakterien zerstört und deren Zellwand aufgelöst.

Penicillin wirkt vor allem gegen Staphylococcen und Streptococcen, zwei Gram-positive Bakterien, die eine große Zahl menschlicher Infektionskrankheiten wie Halsentzündung, Lungenentzündung, Haut- und Wundinfektion, Scharlach usw. verursachen.

Nach dem 2. Weltkrieg wurden neue Antibiotika wie **Streptomycin**, **Chloramphenicol**, und **Tetracycline** entwickelt. Die neuen Antibiotika waren gegen Gram-positive und Gram-negative Bakterien wirksam, genau so wie gegen intrazelluläre Parasiten und den Erreger der Tuberkulose. Heute gibt es vollsynthetische, also künstlich hergestellte Antibiotika (sogenannte Chemotherapeutika) mit spezifischem Wirkungsmechanismus gegen bestimmte Erreger.



Die Abhängigkeit der Wirkung von Antibiotika bei unterschiedlichen Bakterien ist vor allem auf den unterschiedlichen Bau der Bakterien zurückzuführen. Bakterien können aufgrund ihres Zellwandaufbaus in Gram-positive und Gram-negative Bakterien unterschieden werden. Gram-negative Bakterien besitzen eine doppelte, Gram-positive eine einfache Zellwand. Antibiotika müssen bei Gram-positiven Bakterien durch die Zellwand und dann durch die Zellmembran. Dort werden z.B. Penicilline durch spezielle Proteine

gebunden und entfalten dort ihre Wirkung. Bei Gram-negativen Bakterien gibt es nur den Weg durch die engen Porin-Poren. Viele Antibiotika sind deshalb bei Gram-negativen Bakterien wirkungslos, da sie es bei ihnen nicht schaffen, in die Zelle einzutreten (siehe Abbildung C).

RESISTENZEN:

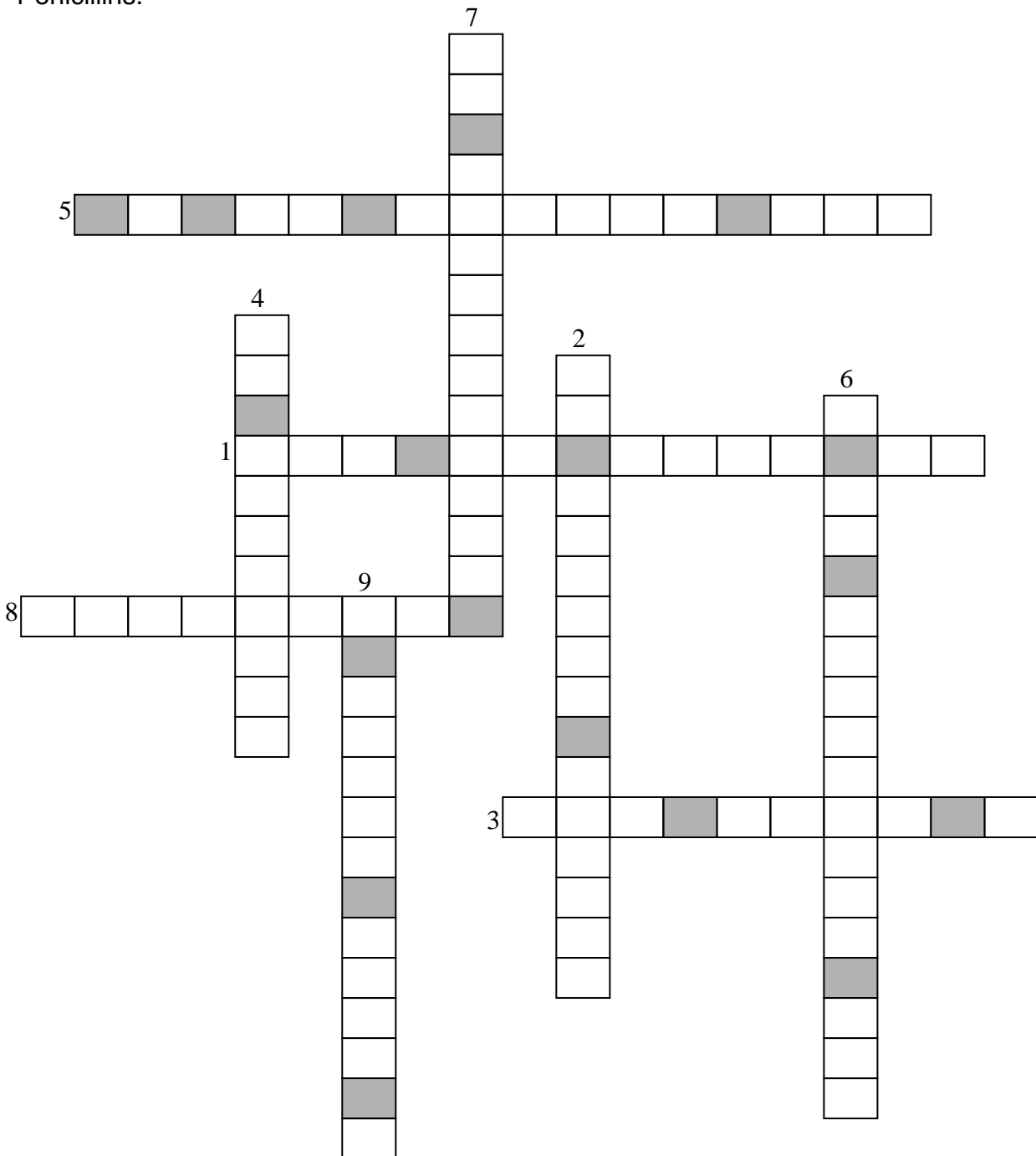
Beinahe sofort nach Einführung des Penicillins in Deutschland in den 50er Jahren wurde die Resistenz einiger Stämme der Staphylococccen entdeckt. Heute sind 80% aller Staphylococcus aureus Stämme resistent.

Resistent - was heißt das eigentlich? Antibiotika töten in der Regel alle Bakterien ab, nur manchmal bleibt eines übrig - es ist resistent, also geschützt gegenüber dem Antibiotikum. Und genau dieses kann sich dann weiter teilen. Dieses Phänomen hatte bereits der Antibiotika-Entdecker Fleming 1947 in einem Interview in der New York Times beschrieben und davor gewarnt. Doch damals wollte das niemand hören. Antibiotika wurden großzügig eingesetzt, die Bakterien konnten sich daran "gewöhnen". Durch wiederholte halbherzige Konfrontation mit Antibiotika gibt man Bakterien Gelegenheit, Resistenzen auszubilden und Resistenzgene sogar untereinander auszutauschen. Diese Gen-Austausche finden insbesondere in Krankenhäusern statt, wo viele unterschiedliche Bakterienstämme in Kontakt miteinander kommen können. Deshalb sollte man wenn Antibiotika eingesetzt werden darauf achten, dass die Therapie nicht abgebrochen wird, bevor alle Erreger abgetötet sind.

In den USA sind etwa 70 % der in Krankenhäusern erworbenen infektiösen Keime resistent gegen mindestens ein Antibiotikum. Es kommt immer wieder vor, dass Patienten von Bakterienstämmen infiziert sind, die gegen mehrere Antibiotika resistent sind (Multiresistent).

Fragen zum Text:

- 1.) So werden Bakterien genannt, gegen die mehrere Antibiotika wirkungslos sind.
- 2.) Er hat das Antibiotikum entdeckt.
- 3.) So heißt das erste vom Menschen produzierte Antibiotikum.
- 4.) So heißen Bakterien mit einer doppelten Zellwand.
- 5.) So wird die Wirkungsweise eines Antibiotikums genannt, wenn es die Zellteilung verhindert.
- 6.) So heißt Antibiotikum „übersetzt“.
- 7.) Laut Definition werden Antibiotika von ihnen produziert.
- 8.) Welche antibiotisch wirkende Substanz setzte Paul Ehrlich gegen Syphilis ein?
- 9.) Bei diesem Bakterienstamm entdeckte Fleming die antibiotische Wirkung des Penicillins.



Lösungswort: _____