

# Bakteriologische Untersuchungen

## 1. Theorie

Die Bezeichnung Bakterium kommt vom Griechischen und bedeutet soviel wie Stäbchen. Dies ist eine abgeleitete Bezeichnung für eine grosse Gruppe einzelliger Mikroorganismen, welche keinen echten Zellkern besitzen und zu den Prokaryonten gehören.

Der Durchbruch der Bakterienforschung gelang R. Koch mit der Entdeckung des Milzbrand-Erregers, Tuberkulose und Cholera.

Die Grundformen der Bakterien sind Kugeln, Stäbchen oder gekrümmte Stäbchen. Der Durchmesser der Kugelbakterien beträgt rund  $0,5 \mu\text{m}$ , die stäbchenförmigen sind bis zu  $1 \mu\text{m}$  breit und bis zu  $5 \mu\text{m}$  lang. Die kleineren Stäbchenbakterien haben einen Durchmesser von  $0,4-0,7 \mu\text{m}$  und eine Länge von  $2-3 \mu\text{m}$ .

Normalerweise vermehren sich die Bakterien durch Zweiteilung, die sogenannte binäre Spaltung. Die Zeit die für eine Teilung vergeht, liegt zwischen 10 Minuten und mehreren Stunden. Nach der Teilung bleiben viele Bakterien in charakteristischen Aggregaten miteinander verbunden. Die kugelförmigen Bakterien bilden Paare, Ketten, Trauben, Platten oder Pakete. Selbst stäbchenförmige Bakterien bilden Ketten oder Paare.

Das Bakterien-Chromosom besteht aus einem ringförmig geschlossenem Strang. Die Molmasse des Chromosoms des *E. coli* beträgt  $2,8 \times 10^9 \text{ g/mol}$ . Dies entspricht etwa 3500 Strukturgenen. Die Bakterien haben keine definierte Sexualität.

Der Wassergehalt liegt bei 70-85%. Der prozentuale Anteil der Trockenmasse ist abhängig von der Menge der Reservestoffe. Diese sind Lipide, Polysaccharide, Polyphosphate und Schwefel. Die Trockensubstanz der Bakterien besteht hauptsächlich aus Polymeren. Die elementaren Bestandteile eines Bakteriums sind 50% Kohlenstoff, 20% Sauerstoff, 14% Stickstoff, 8% Wasserstoff, 3% Phosphor, 1% Schwefel, 1% Kalium, 1% Natrium, 0,5% Magnesium, 0,5% Calcium, 0,5% Chlor und 0,2% Eisen.

Bakterien können dank ihrer enormen Anpassungsfähigkeit an den extremsten Orten vorkommen. Im Trinkwasser bis 100 Keime/mL, in verschmutzter Luft mehrere Mio./m<sup>3</sup> und in Gartenerde 1-5 Mrd./g.

Die meisten Bakterien haben ihr Temperaturoptimum zwischen  $20^\circ\text{C}$  und  $45^\circ\text{C}$ . Sie werden jedoch durch Kälte kaum beeinträchtigt und überleben meist problemlos. Deshalb ist es möglich, Reinkulturen im eingefrorenen oder gefriergetrockneten Zustand über Jahre aufzubewahren.

Das Wachstum der Bakterien wird auch durch den Salzgehalt des Substrates beeinflusst. Die Bakterien aus dem Leitungswasser wachsen in einer 3% NaCl- Lösung am besten. Die meisten wachsen bei einem neutralen pH, manchmal auch leicht basisch. Es gibt wenige Bakterien die säuretolerant sind. Ganz vereinzelt leben bei einem pH unter 1,0.

## 2. Gesamtkeimzahlbestimmung in Wasserproben

### 2.1 Ziel

Gesamtkeimzahlbestimmung in verschiedenen Wasserproben, welche zuvor in Varazze gesammelt wurden

### 2.2 Material

- Duranflasche mit Schraubdeckel 250 mL \*
- Mikroporenfilter 0.45 µm (steril)
- Pinzette
- Feuerzeug
- Filtrierapparatur\* mit Wasserstrahlpumpe
- Reagenzgläser mit Deckel \*
- Messzylinder 10 mL\*
- Kunststoffmesspipetten 1 mL (steril)
- Wegwerfpetrischalen (steril)
- Brutschrank 30°C



Filtrationsapparatur

### 2.3 Chemikalien

- Nährböden für Gesamtkeimzahlbestimmung (gelb)\*
- NaCl-Pepton-Wasser \*

\* diese Geräte/Substanzen wurden im Autoklaven sterilisiert.

### 2.4 Probenbeschaffung

Die sterilen Duranflaschen werden mit der Probe gefüllt, am besten in das Gewässer eingetaucht. Dabei muss beachtet werden, dass der Flaschenhals und die Probe nicht mit der Haut in Berührung kommen und somit kontaminiert werden.

Probe Nr.	Entnahmeort	Ausführender
1	Quelle bei Haus	P. Kämpfer
2	Wasserhahn beim Bahnhof	P. Kämpfer
3	Bucht (Meerwasser)	F. Eggimann
4	Brunnen (Promenade)	F. Eggimann
5	Wasserhahn Gelateria	D. Schoch
6	WC Hotel Savoy	D. Schoch

## 2.5 Vorgehen

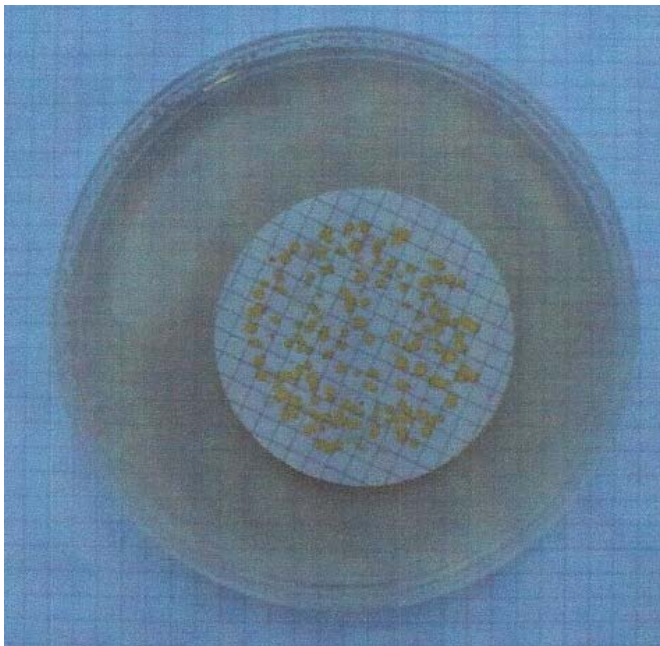
- Verdünnung: je 1 mL Probe mit 9 mL NaCl-Pepton-Wasser versetzt.
- Von jeder Probe wurden die Verdünnung, 10 mL und 100 mL Probe filtriert.
- Der Filter mit den Bakterien wurden mit einer in der Flamme sterilisierten Pinzette auf die Nährböden überführt.
- Die Nährböden wurden drei Tage im Brutschrank ausgebrütet.

## 2.6 Auswertung

Zur Auswertung wurden alle Bakterienkolonien auf dem Filter gezählt.

Probe Nr.	Gesamtkeimzahl in Verdünnung (1mL Probe)	Gesamtkeimzahl in 10 mL Probe	Gesamtkeimzahl in 100 mL Probe
1	Nicht auszählbar*	Nicht auszählbar*	Nicht auszählbar*
2	42	Nicht auszählbar*	Nicht auszählbar*
3	116	Nicht auszählbar*	Nicht auszählbar*
4	32	Nicht auszählbar*	Nicht auszählbar*
5	1	6	Nicht auszählbar*
6	208	Nicht auszählbar*	Nicht auszählbar*

\* Diese Proben konnten nicht ausgezählt werden, da sich zu viele Bakterien auf dem Filter befanden.



Filter auf Nährboden nach drei Tagen im Brutschrank

## 2.7 Resultate

Entnahmestelle	Gesamtkeimzahl/mL	Interpretation
Quelle bei Haus	nicht auszählbar	kein Trinkwasser
Wasserhahn beim Bahnhof	42	Nicht besonders gute Wasserqualität
Bucht (Meerwasser)	116	Schlechte Wasserqualität
Brunnen (Promenade)	32	Nicht besonders gute Wasserqualität
Wasserhahn Gelateria	1	sehr gute Wasserqualität
WC Hotel Savoy	208	Normal für Wasser aus einer Toilette

## 3. Abklatschproben

### 3.1 Ziel

Anhand von Abklatschproben soll festgestellt werden, in welchen Alltagssituationen wir auf Bakterien treffen.

### 3.2 Material

- Wegwerfpetrischalen (steril)
- Ohrenstäbchen
- Brutschrank 30°C
- Brutschrank 37°C

### 3.3 Chemikalien

- Nährböden für Gesamtkeimzahlbestimmung (gelb) steril
- Nährböden für Darmbakterien (rot) steril

### 3.4 Vorgehen

Ohrenstäbchen wurden als Swabs verwendet, welche mit entionisiertem Wasser befeuchtet wurden und damit diverse Gegenstände und Oberflächen abgerieben wurde. Die Swabs wurden auf dem Nährboden abgestrichen und hineingelegt. Für die Proben wurden gelbe und rote Nährböden verwendet. Die gelben Nährböden wurden für drei Tage in den 30°C warmen Brutschrank und die roten Platten für einen Tag in den 37°C warmen Brutschrank gestellt.

### 3.5 Auswertung

Treppengeländer:	viele gelbe bis orange Kolonien.
Finger:	Grossflächige, weisse, gelbe und orange Flecken.
Finger: *	Farblose, grosse Kolonien.
Katzenpfote:	Grossflächige, weisse Schimmelpilze. Gelbe und weisse Flocken, beige schwammartige Wucherungen
Spucke:	Kleinere, weisse Flecken
Toilette:	Weisse und gelb-orange, kleinflächige Flocken
Schneidebrett	
Küche:	Weisse, grossflächige Noppen.
Unterhemd:	Weisse, gelbe und orange Flocken.
Jasskarte:	Kristallförmige / schimmelpilzähnliche Kolonien.
Küchenboden:	Weisse, orange, zum Teil rötliche Noppen. Weisse, fadenförmige Kolonie.
Toilette: *	Farblose und weisse kleinere Kolonien.
Waschbecken: *	Weisse und farblose Kolonien, sowie gelbe, schwammartige Wucherungen.

\* Diese Proben wurden auf Nährböden für Darmbakterien (rot) aufgetragen und gezüchtet.



Beige, schwammartige Wucherungen



Der Jasskartenabdruck nach drei Tagen im Brutschrank

### 3.6 Schlussfolgerung

Es ist sehr erstaunlich mit wie vielen verschiedenen Bakterien wir im Alltag in Berührung kommen.

### 3.7 Bemerkungen

Die Identifizierung der Darmbakterien aus diesem Versuch wurde im Protokoll für den Darmbakteriennachweis beschrieben und protokolliert.

## 4. Darmbakteriennachweis

### 4.1 Ziel

4.1.1 Darmbakteriennachweis und Identifizierung in verschiedenen Wasserproben, welche zuvor in Varazze gesammelt wurden.

4.1.2 Identifizierung der Darmbakterien aus dem Versuch der Abklatschproben.

## 4.2 Material

- Duranflasche mit Schraubdeckel 250 mL \*
- Mikroporenfilter 0.45 µm (steril)
- Pinzette
- Feuerzeug
- Filtrierapparatur\* mit Wasserstrahlpumpe
- Wegwerfpetrischalen (steril)
- Brutschrank 37°C
- Enterotubes



Enterotube

## 4.3 Chemikalien

- Nährböden für Darmbakterienbestimmung (rot)\*
  - Indolreagenz
  - KOH-Isg. 1%
  - $\alpha$ -Naphthol-Isg. 1%
- \* diese Geräte/Substanzen wurden im Autoklaven sterilisiert.

## 4.4 Probenbeschaffung

Es wurden die gleichen Proben wie bei der Gesamtkeimzahlbestimmung verwendet.

## 4.5 Vorgehen

### 4.5.1 Filtration Wasserproben

- Von jeder Wasserprobe wurden je 100 mL Probe filtriert.
- Der Filter mit den Bakterien wurde mit einer in der Flamme sterilisierten Pinzette auf die Nährböden überführt.
- Die Nährböden wurden einen Tag im Brutschrank ausgebrütet.

### 4.5.2 Identifizierung

- Bakterien wurden auf einer neuen Platte isoliert und über Nacht bebrütet, somit wurde es möglich eine einzelne Kolonie zu erhalten.
- Eine einzelne Kolonie wurde gemäss Gebrauchsanweisung in das Enterotube überführt.
- Nach einem Tag im Brutschrank wurden die Tests mit dem vorgegebenen Farbcode verglichen (gemäss Gebrauchsanweisung)
- Der so erhaltene Biocode wurde mit dem Codebuch verglichen, somit konnten die Bakterien identifiziert werden.

## 4.6 Resultate

### 4.6.1 Wasserproben



Auswertung der  
Enterotubes am  
Donnerstagmorgen

Entnahmeort der Probe	Gefundenes Darmbakterium
Quelle bei Haus	<i>E. coli</i>
Wasserhahn beim Bahnhof	keine Darmbakterien nachweisbar
Bucht (Meerwasser)	<i>E. coli</i>
Brunnen (Promenade)	<i>E. coli</i>
Wasserhahn Gelateria	keine Darmbakterien nachweisbar
WC Hotel Savoy	<i>Klebsiella pneumoniae</i>

### 4.6.2 Abklatschproben

Entnahmeort der Probe	Gefundenes Darmbakterium
Waschbecken Herrentoilette	<i>Serratia liquefaciens</i> / <i>Citrobacter freundii</i> *
Toilette Männer	keine Darmbakterien nachweisbar
WC-Ring Damen	<i>Klebsiella ozeana</i> / <i>Serratia liquefaciens</i>
Waschbecken Damentoilette	<i>Citrobacter freundii</i>
Toilette Damen	<i>E. coli</i>
Finger	<i>E. coli</i>

\* Es war nicht eindeutig welches Bakterium wir isoliert hatten, jedoch kann mit grosser Wahrscheinlichkeit gesagt werden, dass es sich um das *Citrobacter freundii* handelt.

#### 4.7 Interpretation

Es ist verblüffend, wie viele Darmbakterien in unseren Gewässern und Umgebung zu finden sind. Es ist sehr überraschend, dass im Meer Darmbakterien nachzuweisen sind. Dies könnte ein Hinweis darauf sein, dass Abwasser von Häusern oder sogar von Hotels ins Meer geleitet wird.

Bei der Quelle die bei der Casa gefunden wurde und eine Probe entnommen wurde ist anhand der vielen Bakterien nicht sicher, ob es sich tatsächlich um eine Quelle handelt, oder ob es möglicherweise nur Abwasser aus der Umgebung ist. Denn es ist unwahrscheinlich, dass in einer natürlichen Quelle Darmbakterien nachzuweisen sind.



Nährböden mit Darmbakterien aus der Damentoilette.

#### 5. Quellen

- Linder Biologie
- Skript Th. Fuhrer
- Gebrauchsanleitung Enterotubes