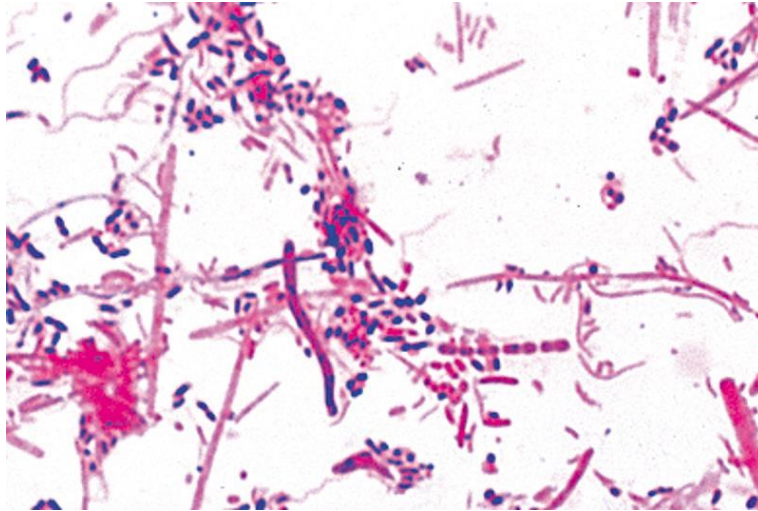


Do-It-Yourself Dauerpräparate**Teil 3 von 3:****Ausstriche von Bakterien**

Klassenstufe	Thema	Niveau	Vorbereitungszeit
Sek I + II	Mikroskopie, Mikrobiologie	• • •	• •

Inhalt dieser Anleitung

In Teil 1 lernten Sie eine einfache Herstellung von Dauerpräparaten und eine Einfachfärbung kennen (Arbeitspläne Nr. 1 und Nr. 2). Teil 2 beinhaltete Doppelfärbungen und Dünnschnitte (Arbeitspläne Nr. 3 und Nr. 4).

Beide Teile finden Sie online unter:

https://www.schuchardt-lehrmittel.de/media_center/versuchsanleitungen

Im dritten und finalen Teil der Serie widmen wir uns dem mikrobiologischen Bereich und fertigen Ausstriche von Bakterien unterschiedlicher Herkunft an. Für den Unterricht eignet sich eindrucksvoll der Ausstrich von Zahnbelag, an dessen Beispiel wir die Methodik in dieser Versuchsanleitung zeigen. Darüber hinaus verdeutlicht dies die Wichtigkeit von Zahnhygiene.

Darüber hinaus eignen sich auch saure Milch und Käse, um beispielsweise Milchsäurebakterien auszustreichen.

Einleitung

Den größten Teil der Mundbakterien (Abbildung 1) stellen runde Formen, **Kokken (1)**, besonders die perlschnurartige Ketten bildenden **Streptokokken (2)**. Einige von diesen sind Eitererreger, andere verursachen z.B. Zahnpulpaentzündung, doch sind auch nützliche unter ihnen wie Milchgerinner und Käsebildner. Zu zweit zusammenliegende Kokken werden als **Diplokokken (3)** bezeichnet. **Bazillen (4)** sind stäbchenförmig, die einzeln oder auch in mehr oder weniger langen Ketten auftreten können. Viele von Ihnen sind in der Lage dauerhafte Sporen zu bilden und eine Reihe von ihnen sind bekannt als Erreger gefährlicher Erkrankungen.

Spirillen (5) sind schraubig gebogene bis korkenzieherartig gewundene, bewegliche Organismen, die an den Enden oft mit Geißeln versehen sind. Spirillen, die nur halb schraubig gewunden sind, werden Vibrionen genannt. Von diesen sind die 1883 von Robert Koch in Ägypten gefundenen Cholera-Vibrionen besonders bekannt. Andere Vibrionen erregen z.B. das Meeresleuchten in der Ostsee. **Spirochäten (6)** sind haarförmig lang und spiralgewunden, in sich biegsam, schwimmen, gleiten auf der Unterlage, haben jedoch keine Geißeln.

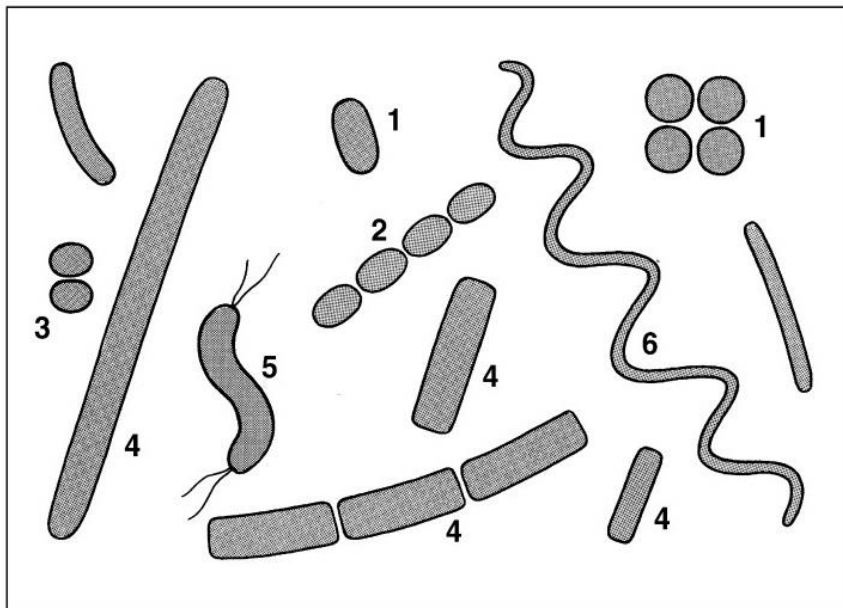


Abbildung 1: Bakterienformen, wie sie im Mund zu finden sind. Kokken (1), Streptokokken (2), Diplokokken (3), Bazillen (4), Spirillen (5) und Spirochäten (6).

Bakterien bilden u.a. Polysaccharide und sind wesentlich an der Entstehung von Karies und Zahnbetterkrankungen beteiligt. Phagozytiert werden die Mundbakterien u. a. von im Mund lebenden Amöben. Einige Amöbenarten sind an Zahnfleischentzündungen beteiligt.

Mit freundlicher Unterstützung von

LIEDER
MADE IN GERMANY

- Seite 2 -

Durchführung

Material:

- Zahnstocher zum Sammeln des Zahnbelags.
- Destilliertes Wasser (auch demineralisiertes Wasser).
- Eindeckmedium: Glyzeringelatine.
- Safraninlösung zur Färbung der Präparate.
- Objektträger
- Deckgläschen
- Filterpapier
- Pipetten
- Rasierklinge
- Feuerzeug, Spiritusbrenner oder Bunsenbrenner, um die Bakterien einer Hitzefixierung zu unterziehen.
- Ein Wasserbad zum Schmelzen der Glyzeringelatine im Becherglas, sofern dies nicht unter der Flamme eines Brenners geschieht.
- Lack zum Abdichten des Deckgläschens. Es genügt handelsüblicher klarer Nagellack.
- Präparategläser oder Färbetröge nach Hellendahl



Allgemeines zur Präparation:

- Prinzipiell sollten alle Flüssigkeiten nur einmal verwendet werden. Lediglich die Farblösungen können, falls sie nicht verdünnt werden mussten, in die Vorratsflaschen zurückgegossen werden. Verdünnte Farblösungen nicht in die Vorratsflaschen zurückgießen! Besser ist immer die Verwendung neuer, ungebrauchter Farblösungen.
- Es lohnt sich, die Objektträger vor der Verwendung, mit Alkohol zu desinfizieren. Dies vermeidet den Miteinschluss von unerwünschten Bakterien und Pilzsporen, welche die Haltbarkeit der Präparate beeinträchtigen.

Arbeitsplan Nr.5Bakterienpräparat, Färbung mit Safraninlösung:Bakterienausstrich von Material unterschiedlicher Herkunft. Beispielsweise Zahnbelag, Käse oder saurer Milch.

Weicher Zahnbelag (Plaque) enthält neben Nahrungsbestandteilen bis zu 80% Bakterien. Er eignet sich daher besonders zur Herstellung von Präparaten, in denen verschiedene Bakterienformen gefunden werden können. Der Biofilm ist recht einfach von den Zähnen entnehmbar und lässt sich gut zu einem Ausstrich präparieren.

Vorbereitung:

- Es werden 2 separate Präparatgläser oder Färbetröge nach Hellendahl mit 1%iger Safraninlösung sowie destilliertem Wasser gefüllt.
- Ein Bunsen- oder Spiritusbrenner wird vorbereitet.



Der Ausstrich:

- Mit dem Zahnstocher wird vorsichtig etwas Zahnbelag von den Zähnen und Zahnzwischenräumen gesammelt und auf eine Hälfte des Objektträgers gebracht.
- Mit der Pipette werden ein - zwei Tropfen Wasser hinzugefügt und mit der Spitze des Zahnstochers gut vermengt, bis eine Suspension entsteht.
- Ein zweiter Objektträger wird an die Mischung im Winkel von etwa 30° - 45° schräg herangeführt, sodass sich die Flüssigkeit leicht an den zweiten Objektträger hinaufzieht.
- Nun schiebt man den zweiten Objektträger von der Mischung wegwärts, in die leere Hälfte des Objektträgers. Hierdurch werden die Bakterien des Belags dünner ausgestrichen (Abbildung 2).
- Der Ausstrich wird an der Luft etwa 10 min getrocknet.
- Hitzefixierung. Mit der ausgestrichenen, belegten Seite nach oben (!) wird der Objektträger drei Mal kurz durch eine Flamme gezogen.

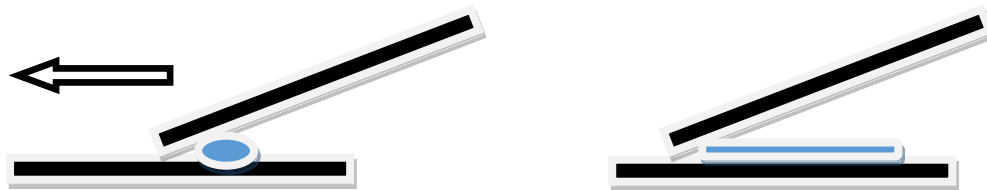


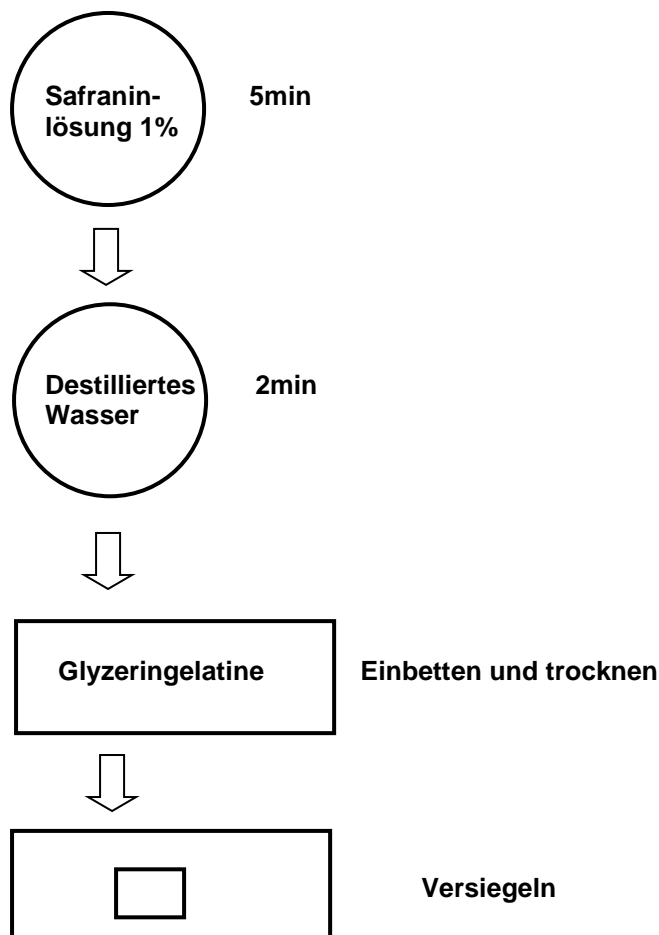
Abbildung 2: Ausstrich der Bakterien-Suspension zwischen zwei Objektträgern.

Die Färbung:

- Der Objektträger wird in 1%ige Safraninlösung gebracht (5min)
- Zum Auswaschen wird der Objektträger in destilliertes Wasser überführt (2min)
- Eine Kontrolle der Färbung (Mikroskop) ist empfehlenswert, gegebenenfalls nochmals auswaschen oder nachfärben.
- Ausgewaschene Objektträger können mit Filterpapier abgetrocknet werden und an der Luft getrocknet werden. Nach der Trocknung muss die Einbettung erfolgen.

Die Einbettung:

- Die Glyzeringelatine wird vorbereitet. Eine größere Menge wird in einem heißen Wasserbad oder über einer Flamme erwärmt. Sie schmilzt ab 60°C. Nicht kochen!
- Mittels Pipette wird der Objektträger mit Glyzeringelatine eingedeckt.
- Ein sauberes, steriles Deckgläschen wird mit der Pinzette langsam auf das Objekt gelegt. Bläschenbildung vermeiden. Die Glyzeringelatine sollte den gesamten Raum unter dem Deckgläschen füllen, sie darf an den Rändern austreten.
- Die Präparate werden waagrecht (!) einige Minuten an der Luft getrocknet, bis die Glyzeringelatine erstarrt.
- Überstehende Reste werden mit einer Rasierklinge vorsichtig von Objektträger entfernt.
- Das Deckgläschen wird an seinem Rand mit Lack versiegelt.



Mit freundlicher Unterstützung von

LIEDER
MADE IN GERMANY

- Seite 6 -

Datenanalyse

Auswertung der Ergebnisse:

Aufgrund der großen Vielfalt an Formen, bietet der Versuch einen guten Überblick über die Biodiversität von Bakterien im Allgemeinen. Es ist eine einfache Methode, um Bakterien unter dem Mikroskop selbst zu präparieren, sowie Schülerinnen und Schülern die Anfertigung eines Ausstrichpräparats durchführen zu lassen.

Das Anfertigen von Zeichnungen der beobachteten Zellformen bietet sich im Nachhinein an. Insbesondere lassen sich Fragen zum Zusammenhang zwischen Form und Funktion stellen.

Die Bakterien im Zahnbelag verdeutlichen die Relevanz von Mundhygiene, aber weisen auch auf die symbiotische Lebensweise der Mikroorganismen in und auf dem Körper hin. Viele Mikroorganismen besetzen eine Nische und reduzieren somit die Ausbreitung von potentiellen Krankheitserregern und erfüllen nützliche Rollen. Hier gilt es, das Vorhandensein von Bakterien im Körper differenziert zu betrachten und zu bewerten.

