

Kleine Beiträge zur mikrobiologischen Methodik.

Von Herbert Schirmer

(Forschungsstelle für Antibiotika an der I. medicin. Universitätsklinik
in Wien)

und Hannes Gsur

(Gärungslaboratorium, I. chem. Universitätsinstitut in Wien).

1. Eine einfache Methode zur quantitativen und qualitativen Erfassung von Mikroorganismen entwickelter Gase.

Von H. Schirmer.

Zur Erfassung des Gärvermögens, sei es nun im Rahmen der Identifizierung von Mikroorganismen oder zur qualitativen und quantitativen Feststellung der im Verlaufe biochemischer Vorgänge entwickelten Gase wird im allgemeinen das Gärrohr verwendet.

Nachstehend soll eine Methode beschrieben werden, die es erlaubt, mit einfachen Hilfsmitteln oben angeführte Untersuchungen durchzuführen. Als Messgefäße werden sterile Pipetten verwendet, deren Mundstück vor dem Sterilisieren mit einem Wattepfropfen leicht verschlossen wurde, um im Verlaufe der Arbeit jede Infektionsmöglichkeit auszuschliessen. Von den Pipetten sind meines Erachtens englumige Messpipetten von 1—2 ml Gesamtvolumen am besten geeignet. Es sollte auch angestrebt werden, innerhalb einer Versuchsreihe möglichst gleiche Pipetten zu verwenden.

Es wird nun so vorgegangen, dass ein bestimmtes Volumen des mit dem auf Gärvermögen zu untersuchenden Organismus beimpften flüssigen Nährbodens in die Pipette aufgesogen wird, worauf man die Spitze der Pipette an der Aussenseite mit einem Stück sterilen Zellstoff gut abtrocknet und in verflüssigtes Paraffin eintaucht. Nach einigen Sekunden hat sich ein gas- und flüssigkeitsdichter Überzug aus Paraffin gebildet. Die Pipette wird jetzt senkrecht, mit der Mundöffnung nach unten, aufbewahrt und bebrütet. Nach Abschluss der Bebrütungszeit wird zur quantitativen Ermittlung der Gärleistung bei waagrechter Lage der Pipette die dem Mundstück zunächst liegende Grenze der Flüssigkeit abgelesen und das Gasvolumen durch Abziehen des Volumens der zu Versuchsbeginn eingebrachten beimpften Flüssigkeit errechnet.

Soll die Art des entwickelten Gases ermittelt werden, so empfiehlt es sich, die mit Paraffin verschlossene Pipettenspitze in das entsprechende Reagens (z. B. BaOH_2) zu tauchen, das Paraffin abzustreifen und das Gas durch leichtes Anblasen in die Flüssigkeit zu drücken.

2. Sterilisation unsteril gewonnener Milch zur Weiterverarbeitung im Dilutionstest.

Von H. Schirmer.

Wenn man den Antibiotikumgehalt unsteril gewonnener Milch bestimmen will und dabei aus bestimmten Gründen die Verdünnungsreihe der Agrardiffusionsmethode vorzieht, so hat sich in unserem Laboratorium folgendes Verfahren gut bewährt:

Von den einzelnen Milchproben werden je 2 ml in Wassermann-Röhrchen gegeben, mit 1 ml Äther überschichtet, durchgeschüttelt und 20 Minuten bei Raumtemperatur stehengelassen. Dieselbe Behandlung erfährt die Antibiotikumlösung (in Milch), die zur Herstellung der Standardreihe verwendet wird.

Anschliessend wird der Äther, der sich nach einigen Minuten bereits zu entmischen beginnt, im Wasserbad bei 40° C oder im Exsikkator durch Anlegen eines Vakuums abgedampft. Als annähernde Kontrolle des Zeitpunktes, an dem die Verdampfung des Äthers beendet ist, wird ein Röhrchen zugegeben, das nur 1 ml Äther enthält.

Die so präparierte Milch ist zur weiteren Verarbeitung im Dilutionstest geeignet.

3. Der Dampfdrucktopf „Kelomat“ als Autoklav im mikrobiologischen Laboratorium.

Von H. Schirmer und H. Gsur.

Ursprünglich mehr aus finanziellen als aus anderen Überlegungen heraus wurden in unseren Laboratorien Dampfdruckkochtöpfe der Marke „Kelomat“ mit einem Volumen von 10 l für die Verwendung als behelfsmässige Autoklaven angeschafft. Sie haben sich jedoch in der Zwischenzeit (1 bzw. 3 Jahre) für Nährbodenbereitung, Sterilisation von Glasgeräten, Injektionsnadeln und Spritzen, Abtötung pathogenen Versuchsmaterials etc. so gut bewährt, dass auf die Nachschaffung von Autoklaven verzichtet werden konnte, da alle anfallenden Arbeiten ohne Schwierigkeiten und zur vollsten Zufriedenheit durchführbar waren.

Das für den „Kelomat“ Gesagte dürfte selbstverständlich auch für Dampfdruckkochtöpfe anderer Marken und Volumina Gültigkeit haben.

4. Eine einfache Vorrichtung zur Erleichterung des Pipettierens bei mikrobiologischen Arbeiten.

Von H. Schirmer.

Werden bei mikrobiologischen Arbeiten Pipetten verwendet, so bereitet das Festhalten einer eventuell verbliebenen Flüssigkeitsmenge in der Pipette bei gleichzeitigem Abflammen, Stöpseln, Schütteln etc. der anderen Versuchsgefäße meist einige Schwierigkeiten.

Diesem Umstand kann jedoch durch das Aufsetzen eines Quetschhahnes auf das Mundstück der Pipette leicht abgeholfen werden. Die nachstehend beschriebene Vorrichtung ist mit einfachen Mitteln herstellbar und hat sich in unserem Laboratorium gut bewährt.

In 5 bis 6 cm eines nicht zu starkwandigen Gummischlauches, dessen innere Weite auf den (annähernd gleichen) Mundstücken der Pipetten gut dichtend aufsitzen soll, wird auf einer Seite ein 4 cm langes Glasrohr fest eingepasst, so dass ungefähr 2 cm des Rohres im Gummischlauch sitzen und die andere Hälfte daraus hervorragt. Die Enden dieses Glasrohres, das als Mundstück dienen soll, werden sorgfältig rundgeschmolzen. Von dem noch freien Ende des Gummischlauches her wird nun eine Glaskugel, wie sie zur Verhütung des Siedeverzuges in jedem Laboratorium vorrätig ist, bis zur Mitte des Schlauchstückes eingeführt. Die Kugel soll an der inneren Schlauchwand gut dichtend anliegen, jedoch ohne zu grosse Spannung der Gummihaut, da dies die Bildung eines seitlichen Luftkanals durch Fingerdruck erschweren würde. Der Quetschhahn ist somit fertig und kann mit dem freien Schlauchende auf das Pipettenmundstück aufgesetzt werden.

Durch leichten Fingerdruck an der der Glaskugel anliegenden Schlauchstelle wird ein Luftkanal gebildet, der Veränderungen der Flüssigkeitsmenge in der Pipette (Ansaugen oder Auslaufen) erlaubt. Bei Aufhören des Druckes kommt die Flüssigkeitsbewegung sofort zum Stillstand, die Pipette kann auch abgestellt werden, ohne weiter auszulaufen. Ebenso ermöglicht der oben beschriebene Quetschhahn ein sehr genaues Pipettieren kleiner Flüssigkeitsmengen.

5. Eine variierte Plättchenmethode zur Bestimmung von Penicillinkonzentrationen in 0.01 ml Blut.

Von H. Schirmer.

Im Verlaufe von Untersuchungen an der II. Wiener Univ.-Frauenklinik, bei denen die Penicillinspiegel vom Venenblut (Vb) der Wöchnerinnen, dem Nabelvenenblut (Nvb) und dem Blut aus der Ferse (Fb) des Neugeborenen zu bestimmen waren, ergab sich das Problem, letztere Entnahme unter möglichst grosser Schonung

des Säuglings durchzuführen. Es wurde daher nachstehend beschriebene Methode ausgearbeitet, die eine Bestimmung der Penicillinkonzentration in 0.01 ml des aus der Ferse entnommenen Bluts-tropfens (Gesamtblut) erlaubt.

Die Sera des Vb und Nvb wurden im gebräuchlichen Verdün-nungstest mit Staph. aureus SG 511 als Testorganismus aufgearbeitet. Bezüglich der Methode sei auf Lit. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 verwiesen. Die 0.01 ml des Fb wurden gleich nach Abnahme auf Papierblättchen (ϕ 9 mm, Papier Schleicher und Schüll Nr. 2247, siehe Lit. 8) ge-bracht und eintrocknen gelassen. Auf zwei andere Papierblättchen derselben Art wurden 0.001 ml des Vb (Gesamtblut) und Nvb (Gesamt-blut) aufgebracht und zum Zwecke der nochmaligen Sterilisation des Filterpapiers annähernd 30 Minuten bei Raumtemperatur unter der UV-Lampe eintrocknen gelassen.

In einer ebenen Petrischale wurde der für den Deckguss ange-gebene, zu 10% mit einer Schüttelkultur von *Sarcina lutea* beimpfte DIFCO-Spezialnährboden in einer Schichthöhe von 2 mm ausge-gossen und erstarren gelassen. Nach Auflegen der oben beschrie-benen Filterscheiben kann man nun, je nach der erwarteten Blut-spiegelhöhe, das Antibiotikum für einige Stunden bei 5° C vordiffun-dieren lassen und anschliessend 18 bis 22 Stunden bei 24° C bebrüten.

Durch die in der Verdünnungsreihe gewonnenen Werte für die Sera des Vb und Nvb ist es nun möglich, die Hemmhofdurchmesser des Vb (Gesamtblut) und Nvb (Gesamtblut) auf eine Standardlinie einzutragen und die Penicillinkonzentration des Fb durch Vergleich seines Hemmhofdurchmessers mit den beiden anderen Werten zu bestimmen. Zu beachten ist, dass der erhaltene Wert die Penicillin-konzentration des Serums des Fb angibt, da als Basis der Berechnung die Sera von Vb und Nvb verwendet wurden. Nach Klein (Lit. 9) sind die Serumkonzentrationen, bezogen auf die Volumseinheit, 1.65mal höher als die Antibiotikumkonzentrationen des Gesamtblutes.

Literatur.

1. Dornbush, A. C., Pelcack, E. J., Ann. New York Acad. Sci. 1948, 51: 218.
2. Dowling, H. F., Lepper, M. R., Sweet, L. K., Brickhouse, L. R., Ann. New York Acad. Sci. 1948, 51: 241.
3. Beigelmann, P. M., Proc. Soc. exp. Biol. Med. 1949, 72: 89.
4. Brainerd, H., Bruyn, H. B., Meiklejohn, G., Scaparone, M., Proc. Soc. exp. Biol. Med. 1949, 70: 318.
5. Dorner, G., Lammers, T., Hautarzt, 1951, 2: 261 u. 308.
6. Feret, R., Tunisie med. 1952, 40: 381.
7. Thjøtta, T., Rasch, S., Jonsen, J., A. path. microb. Scand. 1954, 34: 571.
8. Klein, P., Bakteriolog. Grundlagen der chemotherap. Laboratoriums-praxis, Springer Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1957, S. 111—112.
9. Derselbe, S. 83 bis 84.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Sydowia](#)

Jahr/Year: 1958/1959

Band/Volume: [12](#)

Autor(en)/Author(s): Schirmer Herbert, Gsur Hannes

Artikel/Article: [Kleine Beiträge zur mikrobiologischen Methodik. 492-495](#)