

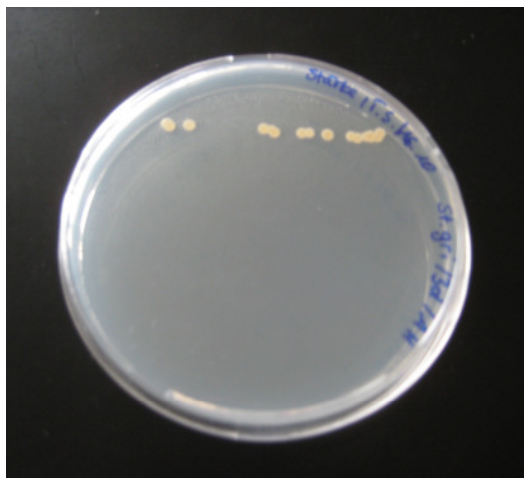
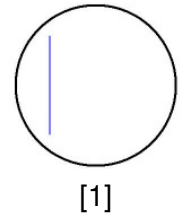
**Antibiotikastrichtest**

Protokoll: Teresa Simperl, Jasmin Zoll

Durchführung:

a) Beimpfen einer Agarplatte mit *Streptomyces griseus*.

Eine Agarplatte wird mit der Bakterienart *Streptomyces griseus* beimpft. Das geschieht mithilfe einer Impföse, mit der man einen Strich am Rand der Agarplatte zieht. [1]  
Anschließend wird die Platte bei 30 °C bebrütet. Die Inkubationszeit beträgt ca. 24 Stunden.



**Bild 1: Antibiotikastrichtest (Teil 1): Ausstrich von *Streptomyces griseus***

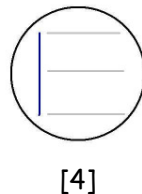
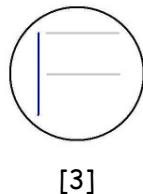
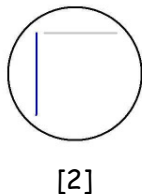
b) Beimpfen der Agarplatte mit *Bacillus mycoides*, *Bacillus subtilis* und *Pseudomonas fluorescens*.

2-3 Tage nach Beimpfen der Agarplatte wird dieselbe mit den Bakterienarten *Bacillus mycoides*, *Bacillus subtilis* und *Pseudomonas fluorescens* erneut mithilfe einer Impföse beimpft. Mit dieser Impföse werden drei Striche orthogonal zu der sichtbaren Linie der Bakterien der ersten Impfung gezogen.

Der erste Strich mit der Bakterienart *Bacillus mycoides* wird ausgehend vom Rand der Agarplatte bis zum Anfang der Linie der *Streptomyces griseus*-Bakterien gezogen, wobei der Abstand zwischen dem Ende der neuen und dem Anfang der alten Linie ungefähr 0,75 cm beträgt. [2]

Der zweite Strich mit der Bakterienart *Bacillus subtilis*, auch ausgehend vom Rand der Agarplatte, wird in der Höhe der Mitte der sichtbaren Linie gezogen. Auch dieser Strich hat zur sichtbaren Linie einen Abstand von ca. 0,75 cm. [3]

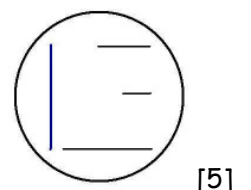
Der letzte Strich mit der Bakterienart *Pseudomonas fluorescens*, wieder ausgehend vom Rand der Platte, führt zum Ende der sichtbaren Linie und endet auch ca. 0,75 cm davor. [4]

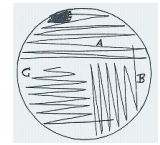


Nun wird die Agarplatte erneut bebrütet. Die Inkubationszeit beträgt ca. 24 Stunden. Eine Woche nach dem zweiten Beimpfen der Platte werden sie ausgewertet.

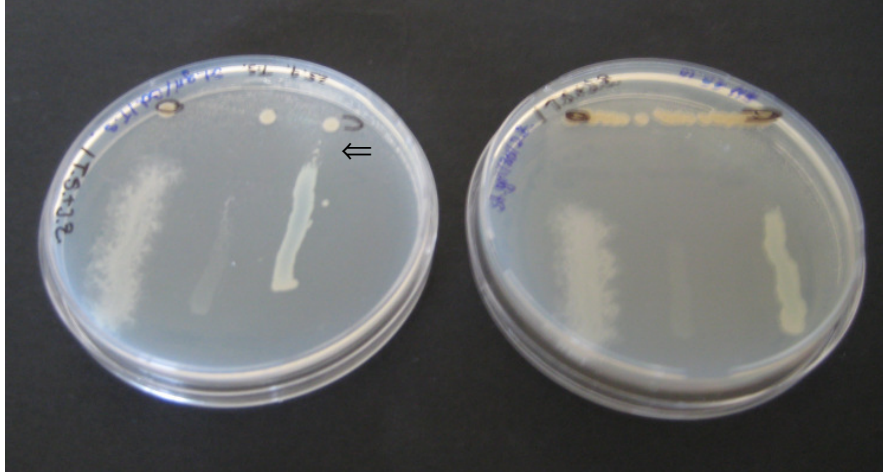
Beobachtung:

Die nun sichtbaren Striche der Bakterienkolonien, die beim zweiten Beimpfen der Agarplatte hinzugefügt wurden, reichen unterschiedlich weit zum Strich der *Streptomyces griseus*. Der Strich der *Bacillus mycoides*-Kolonien erreicht





ungefähr die Hälfte der Strecke bis zum Strich der *Streptomyces griseus*-Kolonien, die *Bacillus subtilis*-Kolonien sind nur bis zum ersten Drittel der Strecke sichtbar. Die *Pseudomonas fluorescens*-Kolonien hingegen reichen bis zum Endpunkt des gezogenen Striches. [5]



**Bild 2:**  
**Antibiotikastrichtest:**  
***Streptomyces griseus***  
**(oben quer), *Bacillus***  
***mycoides* (links,**  
**senkrecht), *Bacillus***  
***subtilis* (Mitte,**  
**senkrecht),**  
***Pseudomonas***  
***fluorescens* (rechts,**  
**senkrecht)**

#### Auswertung:

*Streptomyces griseus*-Bakterien haben mindestens ein Antibiotikum produziert und an den Nähragar abgegeben. Dieses Antibiotikum ist anschließend von den Bakterienkolonien weg diffundiert.

Die Bakterienarten, die beim zweiten Beimpfen der Agarplatte hinzugefügt wurden, reagieren unterschiedlich empfindlich auf dieses Antibiotikum. Seine größte Wirkung erreicht das Antibiotikum bei *Bacillus subtilis*, denn die Bakterienkolonien in den näheren zwei Dritteln der Strecke konnten sich nicht entwickeln. Resistenter ist hingegen *Bacillus mycoides*, das nur zur Hälfte vom Antibiotikum beeinträchtigt wurde. Völlig resistent ist das *Pseudomonas fluorescens*, das durch das Antibiotikum in seiner Entwicklung nicht behindert wurde.

Der gleiche Versuch an einer Agarplatte mit einer längeren Inkubationszeit nach der ersten Beimpfung mit *Streptomyces griseus* zeigt keinerlei Bakterien der zweiten Beimpfung. Das bedeutet, dass *Streptomyces griseus* aufgrund der verlängerten Inkubationszeit so viel Antibiotikum an den Agar abgegeben hat, dass sich die Bakterien der zweiten Überimpfung (*Bacillus mycoides*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*) nicht mehr vermehren konnten.

Das linke Foto im Bild 2 zeigt an der markierten Stelle „←“ wenige Zellkolonien von *Pseudomonas fluorescens*, die näher an eine *Streptomyces griseus*-Kolonie herangewachsen sind. Das bedeutet, dass diese *Pseudomonas fluorescens*-Bakterien unempfindlicher oder sogar resistent gegenüber dem Antibiotikum von *Streptomyces griseus* sind.