Zeitschrift: Prisma : illustrierte Monatsschrift für Natur, Forschung und Technik
Band: 2 (1947)
Heft: 12

Artikel: Das Zählen von Mikroorganismen
Autor: Lüthi, Hans
DOI: https://doi.org/10.5169/seals-654192

Nutzungsbedingungen
Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation
L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use
The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 24.08.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

DAS ZÄHLEN VON MIKROORGANISMEN

Von Dr. Hans Lüthi

Für den Arzt, den Bakteriologen und den Hygieniker ist es oft wichtig, die Anzahl der in einer Raumeinheit gefundenen Kleinlebewesen (bestimmte Zellen, Bakterien, Pilzsporen usw.) zu kennen. Zwei allgemein bekannte Beispiele mögen diese Behauptung beweisen:

Im Blut des gesunden Menschen zählt man pro Kubikmillimeter vier bis fünf Millionen rote Blutkörperchen (Erythrozyten). Diese Zahl bleibt unter gleichen äußern Lebensbedingungen ziemlich konstant. Beim kranken Menschen aber steht eine auffallende Änderung derselben in direktem Zusammenhang mit bestimmten Krankheitsbildern (Anämie). Dem Arzt dient deshalb das Feststellen der Erythrozytenzahl eines Patienten zur Sicherung seiner Diagnose.

Reines Trinkwasser soll nach den strengen Vorschriften unserer Gesundheitsbehörden höchstens 100 Bakterien im Kubikzentimeter enthalten. (Vergleiche auch den Aufsatz von Dr. Frei-Sulzer im Oktober-Heft Nr. 6, 1. Jhg. des «Prisma».) Unter diesen erlaubten 100 Keimen dürfen aber keine bekannten Krankheitserreger vertreten sein.

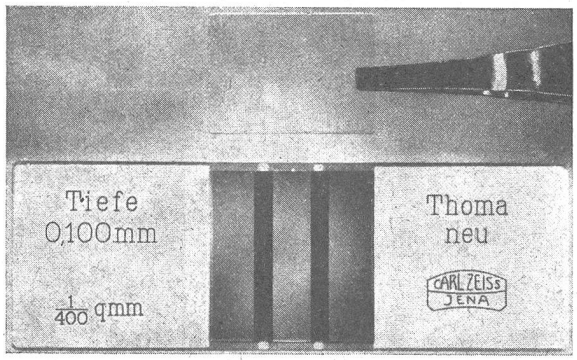


Bild 1. *Die Thoma-Kammer mit dem dazugehörenden, plangeschliffenen Deckglas. Die erhöhte Mittelpartie wird durch die zwei dunkel erscheinenden Querrillen in drei rechteckige Flächen geteilt. Auf der mittleren erscheint etwas dunkler die in winzige Quadrätchen aufgeteilte Fläche eines Quadratmillimeters.*

Photo R. Isler

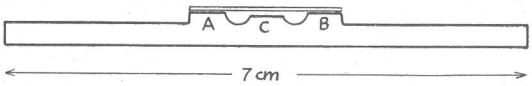


Bild 1a: *Schnitt durch die Thoma-Kammer. Auf den Flächen A und B der erhöhten Mittelpartie liegt das Deckglas. Die Fläche C trägt die Netzteilung, das heißt die Grundfläche der Zählkammer. Ihre Höhe beträgt* $^1/_{10}$ *mm (Abstand von C zum Deckglas).*

In beiden Beispielen geht es um die Feststellung einer bestimmten Zahl von lebenden Zellen. Der Arzt kann sich mit der Zahl allein begnügen. Der Hygieniker und Bakteriologe aber braucht neben der Zahl auch Anhaltspunkte über die Artzugehörigkeit der festgestellten Keime.

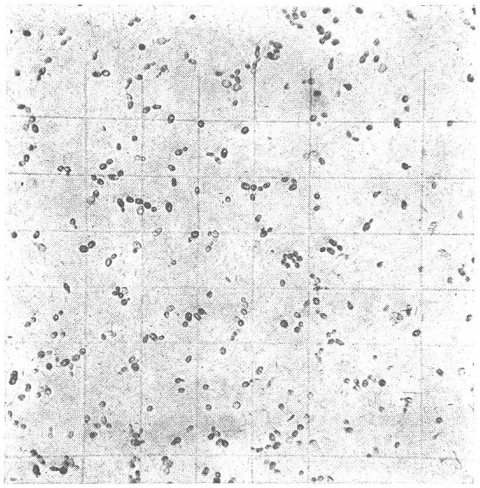


Bild 2: *Zählung von Hefezellen mit der Thoma-Kammer. Die Mikroaufnahme zeigt eine der 16 Gruppen zu je 16 Quadrätchen. Die hellen Zellen sind lebend und entwicklungsfähig. Im Gegensatz zu ihnen haben sich die toten mit Methylenblau anfärben lassen und erscheinen im Bilde dunkel.*

Photo Dr. Hans Lüthi

Den verschiedenen Bedürfnissen entsprechend haben sich die Arbeitsmethoden für die Keimzählung entwickelt. Bei der *direkten Zählung* (Beispiel Blutkörperchen) werden – nach geeigneter Vorbereitung – die Keime (Zellen) einer bestimmten, sehr kleinen Volumeneinheit einzeln ausgezählt und durch Multiplikation der Gehalt eines Kubikmillimeters oder -zentimeters bestimmt. Das Auszählen wird unter dem Mikroskop entweder in einer kleinen Zählkammer (Bild 1 und 1a) oder im gefärbten Ausstrichpräparat (nach Breed) auf bestimmten Flächeneinheiten vorgenommen. Das Zählen bei Dunkelfeldbeleuchtung im Mikroskop ist weniger üblich.

Wo Anhaltspunkte über die physiologischen Eigenschaften der Keime wichtig sind (Beispiel Wasseruntersuchung), werden zur Bestimmung des Keimgehaltes *Kulturmethoden* verwendet. Sie bestehen im Prinzip darin, daß die zu prüfende Aufschwemmung von Keimen entweder direkt, oder nach geeigneter Verdünnung in flüssigen oder festen Nährmedien zur Entwicklung gebracht

wird. Die nach einiger Zeit gewachsenen Kolonien geben Aufschluß über die ursprüngliche Keimzahl der Suspension und, bei geeigneter Wahl des Nährmediums, zugleich schon wichtige Angaben über die Eigenschaften der einzelnen Organismen.

Das direkte Zählen mit Hilfe der Zählkammer

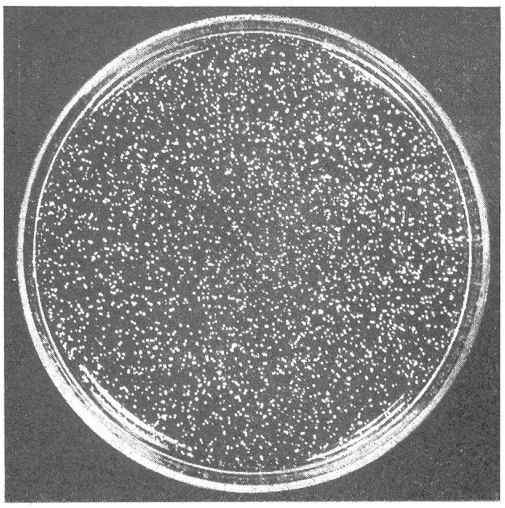
Die zur Zählung von Blutkörperchen oder Mikroorganismen bei uns am häufigsten verwendete Kammer ist die von den Zeißwerken fabrizierte *Thoma-Kammer* (Bilder 1 und 1a). Die erhöhte Mittelplatte wird durch zwei tiefe Querrillen (in Bild 1 schwarz erscheinend) in drei plan geschliffene, lange rechteckige Flächen geteilt. Die mittlere Fläche liegt genau 0,10 mm tiefer als die bei den äußern, auf welche das 0,4 mm dicke, plan geschliffene Deckglas zu liegen kommt. Die mittlere Fläche trägt eine Netzteilung: Ein Quadratmillimeter ist in 16 Gruppen zu je 16 kleinsten Quadraten von $^1/_{20}$ Millimeter Seitenlänge eingeteilt (Bild 1 und 2). Dadurch, daß diese Fläche um $^1/_{10}$ Millimeter tiefer liegt als die beiden äußern, auf welchen das Deckglas aufruht, entsteht über jedem Quadrätchen von $^1/_{400}$ Quadratmillimeter Fläche ein Raum von $^1/_{4000}$ Kubikmillimeter Inhalt; über einer in Bild 2 sichtbaren Gruppe von 16 Feldern also ein solcher von $^1/_{250}$ Kubikmillimeter.

Mit Hilfe dieser äußerst präzis gearbeiteten Zählkammer wird es möglich, auf recht einfache und rasche Art die Mikroorganismen in einer Suspension direkt zu zählen. Es ist dabei wichtig, daß man durch gutes Mischen wirklich eine Durchschnittsprobe erhält und daß bewegliche Organismen vor der Zählung abgetötet werden. Sowohl die Glasplatten wie auch das dünne Deckglas müssen vor Gebrauch sorgfältig gereinigt werden, damit eine gleichmäßige Verteilung der Organismen über dem feinen Liniennetz der Kammer zustande kommt. Das Deckglas wird aufgelegt und ein kleiner Tropfen der zu untersuchenden Zellsuspension an dessen Rand auf die mittlere Fläche gebracht. Durch die Kapillarwirkung saugt sich der Raum zwischen Deckglas und Kammer voll und nach einer kurzen Wartezeit haben sich die gleichmäßig verteilten Organismen auf die feinen Quadrätchen abgesetzt und können unter dem Mikroskop leicht ausgezählt werden.

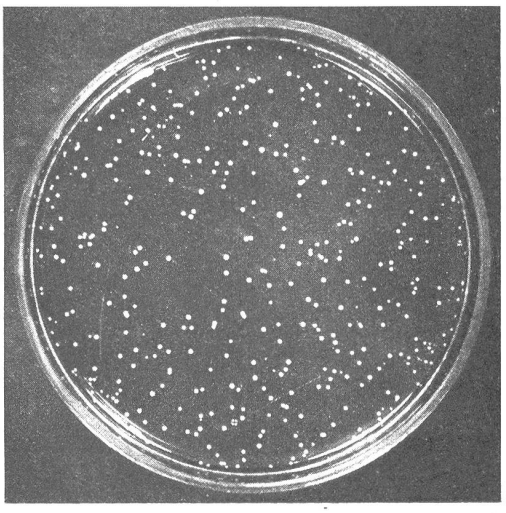
Die Durchschnittszahl Z der in mehreren 16er Gruppen festgestellten Zellen multipliziert mit 250 ergibt die in einem Kubikmillimeter vorhandene Organismenzahl (X). Wenn zur bessern Zählung eine Verdünnung der Organismensuspension vorgenommen werden mußte, so ist noch mit dem Verdünnungsfaktor V zu multiplizieren, also:

$$X = 250 \cdot Z \cdot V$$

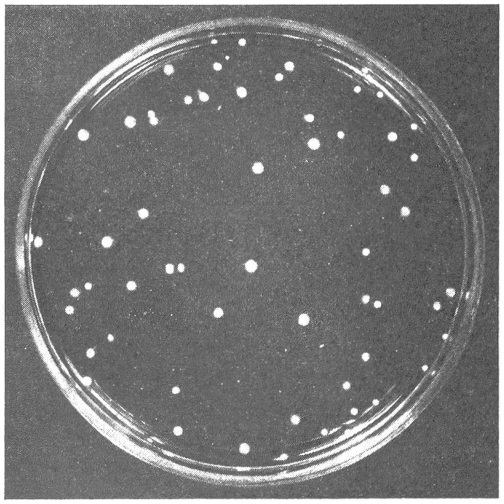
Um ein möglichst genaues Resultat zu erhalten, müssen solche Zählungen immer mehrfach durchgeführt werden. Auch dann aber beträgt nach E. Abbe (Gesammelte Abhandlungen, I. Band, Jena, 1904) der wahrscheinliche Fehler noch mehrere



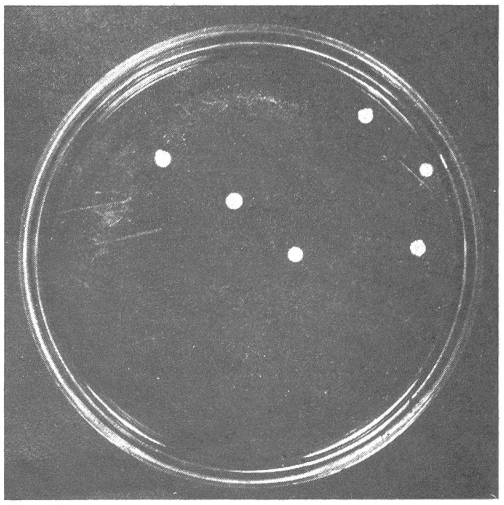
3



4



5



6

Bilder 3 bis 6: *Vier Aufnahmen einer Plattenkultur in Petrischalen. Die weißen Punkte sind Kolonien einer bestimmten Heferasse. Die zur Zählung des unbekannten Keimgehaltes der Hefensuspension vorgenommene Verdünnung steht in den vier Aufnahmen im Verhältnis von 1:10:100:1000. Am besten brauchbar ist die Platte auf Bild 5.*

Photos Dr. Hans Lüthi

Prozente, z. B. bei einer Blutkörperchenzählung immer noch mehrere Einheiten der zweiten Dezimale, wenn die Zahl in Millionen pro Kubikmillimeter angegeben wird.

Es ist mit dieser Methode ohne besondere Maßnahmen nicht möglich, lebende von toten Zellen zu unterscheiden. Bild 2 zeigt eine Suspension von lebenden und toten Hefezellen in der Thoma-Kammer. Um die toten darunter zu erkennen, wurden alle Zellen mit einer wässerigen Methylenblau-Lösung behandelt. Die vorher durch ein Gift abgetöteten Zellen färben sich nun blau, weil ihre Zellwände für den Farbstoff gut durchlässig geworden sind. Die noch lebenden Zellen erscheinen dagegen hell, weil der Farbstoff nicht in sie eindringen konnte.

Die mit der Zählkammer erhaltenen Werte sind meistens etwas zu hoch, weil sich lebende und tote oder nicht mehr entwicklungsfähige Zellen, insbesondere solche kleinerer Organismen, nicht voneinander unterscheiden.

Das Zählen nach der Kulturmethode wird überall dort angewendet, wo man neben der absoluten Zahl der lebens- und entwicklungsfähigen Keime zugleich auch Aufschluß über deren physiologische Eigenschaften haben muß, also z. B. bei Wasser- oder Milchuntersuchungen. Das Vorgehen bei der Arbeit sei im folgenden kurz beschrieben.

Als Kulturgefäße dienen normalerweise Petrischalen (Glasschalen von 9 cm Durchmesser und 1,5 cm Höhe), seltener auch gewöhnliche Reagensröhrchen. Gelatine oder Agar mit verschiedenen gelösten Stoffen als Zusätze sind die gebräuchlichsten natürlichen Nährböden. Je nach Wahl der Zugaben und des Säuregrades dieser Nährböden entstehen *kollektive* oder *elektive* Nährsubstrate, das heißt Nährböden, auf denen zahlreiche oder nur einzelne Arten sich zu entwickeln vermögen. Mit einer Meßpipette wird ein bestimmtes Quantum der möglichst homogenen Organismensuspension in die Petrischale gebracht und mit dem noch flüssigen Nährboden gleichmäßig vermischt. Auf kühler Unterlage erstarrt der Nährboden bald und wird dann bei bestimmten Temperaturen, z. B. 20° oder 37° C, im Thermostat «bebrütet». Das Auszählen der Kolonien erfolgt nach einer bestimmten Zeit, die bei Wasseruntersuchungen z. B. fünf Tage beträgt.

Auf den Bildern 3–6 sind Plattenkulturen mit Hefekolonien zu sehen. Als natürlicher Nährboden diente in dem abgebildeten Versuch Gelatine mit einem Zusatz von Traubensaft. Wenn man, wie in diesem Fall, über die Organismenzahl der zu untersuchenden Suspension wenig Anhaltspunkte hat, so empfiehlt es sich, stufenweise zu verdünnen, damit man sicher auszählbare Resultate (das heißt Platten mit 150–300 Kolonien) erhält. Auch bei der Kolonienzählung muß das Endergebnis ein Mittelwert aus mehreren Versuchen sein. Im abgebildeten Falle ist jede folgende Verdünnung zehnmal größer als die vorhergehende. Da alle Platten zur gleichen Zeit hergestellt und gleich lange «bebrütet» wurden, muß der Größenunterschied der einzelnen Hefekolonien auffallen. Mit zunehmender Zahl der Zellen wird die gegenseitige Beeinflussung größer und auch das Wachstum der Einzelkolonie stärker gehemmt. Das Bild der Kolonien auf den vier Platten ist einheitlich, weil es sich um Zellen einer einzigen Heferasse handelt. In manchen praktischen Fällen erhält es aber durch die Verschiedenheit der Organismen eine bunte Vielgestaltigkeit.

Die Kulturmethode bietet mit ihrer großen Kombinationsfähigkeit der Nährböden viele Möglichkeiten. Sollen aber vergleichbare Resultate erzielt werden, so müssen nicht nur Zusammensetzung und Reaktion der Nährböden, sondern auch Bebrütungstemperatur und -dauer genau standardisiert werden. Bei Änderung nur eines Faktors würde sich sofort auch das Ergebnis einer Untersuchung ändern.

Wenn die aufgezählten Faktoren genau eingehalten werden, so ergibt die Kulturmethode guten Aufschluß über Zahl und Zusammensetzung der Organismen in einem bestimmten Medium. Ihr Ergebnis ist aber nicht ein absolutes, weil es trotz gutem Schütteln nicht gelingen wird, zusammenklebende Einzelzellen (vergleiche Bild 2) voneinander zu trennen. Es ist ferner nicht möglich, Zusammensetzung und Reaktion des Nährbodens so zu wählen, daß *alle* in einer Suspension zufällig vorhandenen Organismenarten auch zur Entwicklung gelangen können. Die Zahl der Kolonien wird darum in der Praxis nur sehr selten der ursprünglichen Zahl lebender Zellen entsprechen. Sie wird aus bekannten Gründen auch immer wesentlich kleiner sein, als eine Kontrollzählung mit der Zählkammer.

Weder das Zählkammerverfahren, noch die Kulturmethode vermögen uns absolut genaue Zahlen zu geben. Jede Methode ist mit bestimmten Fehlerquellen behaftet. Trotzdem haben sich beide in Wissenschaft und Praxis bewährt und sind daraus nicht mehr wegzudenken.