

# Umweltmikrobiologie

np

01.04.2025

## Inhaltsverzeichnis

<b>1 Einführung</b>	<b>3</b>
1.1 Mikroorganismen (MO)	3
1.1.1 Definition und Hintergrund	3
1.1.2 Evolution	4
1.2 Vorkommen und Bedeutung	4
1.2.1 Umwelt und Biosphäre	4
1.2.2 Gesundheitliche Aspekte	4
1.2.3 Biotechnologie	5
1.2.4 MO-freie Umgebungen	5
1.3 Wissenschaftliche Pioniere	6
1.3.1 Leuwenhoek, Koch und Pasteur	6
1.3.2 Beijerinck und Winogradsky	6
1.3.3 Avery MacCarty, Mullis, Woese	6
<b>2 Gesundheit</b>	<b>7</b>
2.1 Grundlagen der Interaktion	7
2.1.1 Symbiose	7
2.1.2 Pathogenität	7
2.2 Krankheitserreger	7
2.2.1 Definition	7
2.2.2 Herkunft und Übertragung	8
2.3 Bedeutung umweltassoziierter Infektionen am Bsp. Wasser	8
2.3.1 Relevanz	8
2.3.2 WHO Rahmen	8
2.3.3 Arten der Gefährdung	8
2.3.4 Analyse der mikrobiologisch hygienischen Qualität	8
2.3.5 Vorgabe der Qualitätsziele	9
2.4 Vergleich chemischer und mikrobiologischer Gefährdungen	9
<b>3 Methoden in der Umweltmikrobiologie</b>	<b>10</b>
3.1 Mikroskopie	10
3.1.1 Lichtmikroskop	10
3.2 Arbeiten im Labor	10
3.2.1 Gute Laborpraxis	10
3.2.2 Kultivierung von MO	11
3.2.3 Klassifizieren von MO	12
<b>4 Diversität von MO</b>	<b>14</b>
4.1 Prokaryonten (Bakterien und Archae)	14
4.1.1 Aufbau einer Bakterienzelle	14

4.1.2	Drei älteste Bakteriengruppen .....	14
4.1.3	Chloroflexi .....	15
4.1.4	Phylum: Deinococcus-Thermus .....	15
4.1.5	Phylum: Spirochaeta .....	15
4.1.6	Phylum: Chlorobi (grüne Schwefelbakterien) .....	16
4.1.7	Phylum: Flavobacteria & Bacteroidetes .....	16
4.1.8	Phylum: Chlamydiae .....	16
4.1.9	Phylum: Cyanobacteria .....	16
4.1.10	Phylum: Firmicutes & Actinobacteria .....	17
4.1.11	Phylum: Proteobacteria .....	17
4.2	Archaea .....	17
4.2.1	Phylum: Crenarchaeota .....	17
4.2.2	Phylum: Euryarchaeota .....	18
4.3	Viren .....	18
4.3.1	Allgemeine Kennzeichen von Viren .....	18
4.3.2	Das Capsid .....	18
4.3.3	Die Virus-Hülle .....	18
4.3.4	Virusklassifizierung .....	19
4.3.5	Vermehrung von Viren .....	19
4.3.6	Spezialfälle von Viren .....	19
4.4	Eukaryonten (Algen, Protozoen, Pilze) .....	19
4.4.1	Protozoen .....	19
4.4.2	Schleimpilze .....	19
4.4.3	Algen .....	19
4.4.4	Pilze .....	19
<b>5</b>	<b>Nährstoffkreislauf und Microbial loop</b> .....	<b>20</b>
5.1	Kreisläufe .....	20
5.2	Kohlenstoffkreislauf .....	20
5.3	Stickstoffkreislauf .....	20
5.4	Phosphorkreislauf .....	20
5.5	Schwefelkreislauf .....	20
5.6	Microbial loop .....	20
<b>6</b>	<b>Kometabolismus, Abbau und Transformation</b> .....	<b>21</b>
6.1	Abbau & Transformation .....	21
6.2	Wachstum und Wachstumskinetik .....	21
6.3	Temperaturabhängigkeit biologischer Prozesse .....	21
6.4	CSB und Redfield Stöchiometrie .....	21
6.5	Zellertrag/Yield .....	21
<b>7</b>	<b>Altfragen</b> .....	<b>22</b>

# 1 Einführung

## 1.1 Mikroorganismen (MO)

### 1.1.1 Definition und Hintergrund

MO sind mit  $< 150\mu\text{m}$  definiert. Sie sind im Mikro-/Nanometer Bereich angesiedelt.

**Mikrobiologie** Analyse der dominanten Lebensform am Planeten

**Mikroben** dominante Biomassen und Prozesse

**Prokaryoten** Kein Zellkern, keine Membranen (Bakterien, Archaeen)

**Eukaryoten** Zellkern, Membranen (Pilze, Algen, Protozoen)

**Biomoleküle** RNA, DNA, Proteine, Lipide

#### Mikrokosmos:

- syntrophe Interaktionen (bedeutet „nähren“)
- Zell-Zell Interaktionen
- Zell-Umwelt Interaktionen
- häufig Biofilmstrukturen
- großes Oberflächen-Volumen Verhältnis

Die Natur kultiviert „Mischkulturen“ und nicht „Reinkulturen“. Mikrobielle Gemeinschaften beeinflussen das tägliche Leben, bsp. das intestinale Mikrobiom ist für die Verdauung essentiell.

**Reinkulturen** werden im Labor erzeugt, und haben eine große Bedeutung für:

- experimentelle Arbeit
- Model Organismen
- Biotechnologie und Fermentation
- Diagnostische Arbeit

Es ist ein großer Aufwand reinkulturen zu erhalten.

#### Charakteristika des mikrobiellen Lebens:

1. Metabolismus
2. Wachstum
3. Evolution

Weitere Eigenschaften sind:

- Kommunikation
- Mobilität
- Differenzierung
- genetischer Austausch

#### Abiotische vs. biotische Kompartments:

Die 5 generellen Merkmale des Lebens:

- **Form/Organisation** spezifische Organisation anhand von Biomolekülen und definierte Grenzen (Aussen/Innen)
- **Metabolismus** definierter Energie- and Massefluss
- **Produktivität** Wachstum- and Reproduktion
- **Erregbarkeit** Reaktion gegenüber Umweltreizen
- **Evolution** Veränderung in Raum und Zeit

#### Sind Viren Organismen? → Nein

- Größe im Nanometerbereich
- **kein** Metabolismus
- benötigen Wirtszelle für Replikation

#### Effekte von Viren auf Wirtszelle:

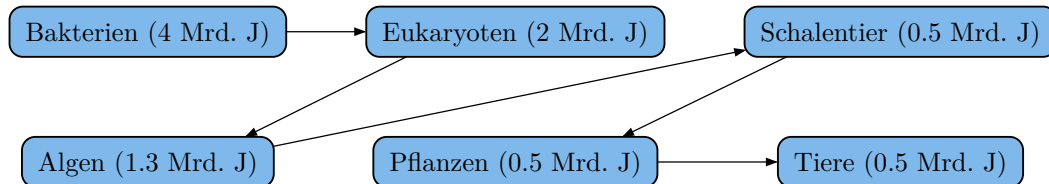
- lytische Infektion: Zerstörung der Wirtszelle
- persistierende Infektion: Wirtszelle bleibt erhalten

- latente Infektion: Virusgenom wird in Wirtszelle integriert
- Transformation: Wirtszelle wird durch Virusgenom verändert (Tumorzelle)

**Baltimore Classification** (virale Genome):

Grafik aus dem Skript

### 1.1.2 Evolution



**Abb. 1:** Mikroorganismen besiedeln die Erde seit fast 4 Mrd. Jahren

Mikrobiota in der Umwelt:

- Flüsse, Seen, Quellen
- Grundwasser, Boden, Sedimente
- Luft, Ozeane, ...

Metabolische Möglichkeiten der Energiekonservierung:

- anerobe
- mikroaerophil
- aerob

Energiequellen:

- Licht
- organische Stoffe
- anorganische Stoffe

## 1.2 Vorkommen und Bedeutung

### 1.2.1 Umwelt und Biosphäre

Mikrobielle Zellzahlen in den Top 5 Habitaten:

- Tiefseeuntergrund  $4 \cdot 10^{29}$
- Boden  $3 \cdot 10^{29}$
- Tiefer kontinentaler Untergrund  $3 \cdot 10^{29}$
- Ozeane  $1 \cdot 10^{29}$
- Oberer Ozeanische Sedimente  $5 \cdot 10^{28}$

Biofilm Vorkommen:

- an Grenzflächen im Meer
- in Eukaryoten
- in Grundwasserleitern und Abwasserreinigungsanlagen

### 1.2.2 Gesundheitliche Aspekte

Die Top 3 Todesursachen um 1900 waren noch Infektionskrankheiten. Heute sind es Herz-Kreislauf-Erkrankungen.

**Hauptübertragungswege:**

- Person zu Person (Tröpfcheninfektion)
- Vehikel basierend (Wasser, Nahrung)
- Vektor basierend (Insekten)

Die Übertragungswege beim Vehikel Wasser können sowohl **zoonotisch** (vom Tier) als auch **anthropotisch** (vom Mensch) sein. Die Infektionen können durch Wassersicherheits Management minimiert werden.

**Endemisch** ständig in eine Endemiegebiet vorhanden

**Epidemisch** zeitlich und räumlich begrenztes massenhaftes Auftreten

**Pandemisch** weltweit Auftetende Epidemie

#### Wichtige Infektionskrankheiten:

- verursacht durch Bakterien
- verursacht durch Viren
- verursacht durch Protisten
- verursacht durch Pilze

#### Humanes Mikrobiom (positive Effekte):

- unterstütz bei Verdauung
- Synthese von Vitaminen und anderen Nährstoffen
- Art des Darmmikrobioms → direkte gesundheitliche Auswirkung

#### 1.2.3 Biotechnologie

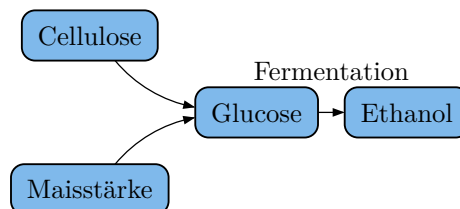
MO haben in fast allen Bereichen von Industrie und Gewerbe eine Bedeutung. **Negativ:**

- Wachstum in fast allen Kompartimenten mit Wasser (Korrosion, Fowling)

**Positiv:**

- relative *low-cost* Produktion mit MO (Enzyme, chemische Rohstoffe, ...)
- Biotechnologie (Medikamente, Insulin, ...)
- Umweltbiotechnologie → Umweltschutz (Abwasserreinigung, ...)

Beispiel Ethanolherzeugung:



#### 1.2.4 MO-freie Umgebungen

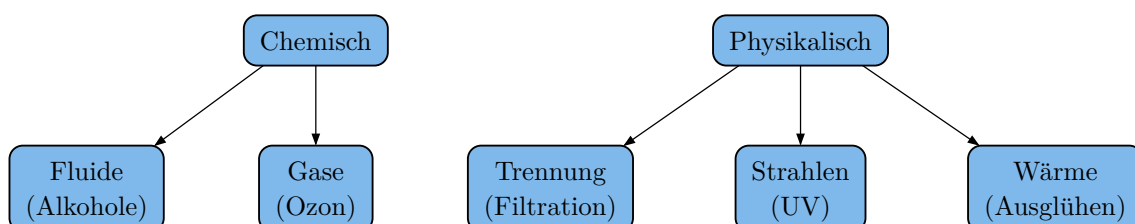
Sterile Kompartimente in der Umwelt sind die Ausnahme!

- sterile Körperkompartimente
- heiße Kompartimente
- künstlich sterile Kompartimente

Trinkwasser ist nicht steril. Wassereigene Mikrobiota gehören zum natureigenen Bestandteil.

In der Praxis ist eine ausreichende Sterilität gegeben, wenn die Kontaminationswahrscheinlichkeit ausreichend gering ist (unter  $10^{-6}$  liegt).

Es gibt viele verschiedene Methoden zur Desinfektion bzw. Sterilisation von Oberflächen und Materialien.



## 1.3 Wissenschaftliche Pioniere

### 1.3.1 Leuwenhoek, Koch und Pasteur

- Robert Hooke (1664) benutzte ein Mikroskop
- Van Leuwenhoek (1684) benutzte ein Mikroskop

→ Optische Mikroskope nur bis zu einer Auflösung von 0.1µm oder 100 nm

Meilensteine in der Kultivierung und Reinkultur von MO.

#### Louis Pasteur:

- Bedeutung der Sterilisation
- Fermentation
- pasteurisieren
- Impfstoffentwicklung

Pasteur widerlegt 1868 *Theorie der spontanen Erzeugung*, wonach Leben aus unbelebter Materie entstehen kann, mit seinem **Schwanenhalsflaschen** Experiment.

Moderne Impfstoffplattformen:

- *whole Pathogen* (attenuated, inactivated)
- *viral vectors* (replicating, non-replicating)
- *Subunit* (protein subunit; polysaccharide/conjugate; toxoid; virus-like particles)
- *Nucleic Acids* (RNA, DNA)

Keimtheorie von Infektionskrankheiten:

- 1847 Ignaz Semmelweis (Hygiene, Händewaschen, Prävention von Infektionen)
- 1867 Lister und Pasteur (aseptische Techniken, Hinweis MO könnten Infektionen verursachen)
- 1878 Robert Koch (beweist MO verursachen Infektionen)

#### Koch's Postulate:

1. Pathogen präsent in jedem Krankheitsfall
2. Pathogen muss in Reinkultur wachsen
3. Zellen der Reinkultur lösen Krankheit in gesundem Tier aus
4. Pathogen muss isoliert werden und gezeigt werden, dass gleich mit ursprünglichen Pathogen ist.

### 1.3.2 Beijerinck und Winogradsky

Martinus Beijerinck (1851-1931) wendete erstmals die Anreicherungskultur an.

→ hoch selektive Wachstumsmedien

→ hoch selektive Bebrütung

Sergeij Winogradsky (1856-1953) isolierte erfolgreich Bakterien die N<sub>2</sub>- und S-Kreislauf beteiligt sind.

### 1.3.3 Avery MacCarty, Mullis, Woese

DNA als Basis der Vererbung. Avery McCarty → S<sub>DNA</sub> kann auch Transformation durchführen und tötet ebenfalls Mäuse (siehe Folien).

Kary Mullis und Michale Smith gelten als Entwickler der PCR (Polymerasekettenreaktion) zur Amplifikation diagnostischer DNA-Fragmente zum Nachweis und Analyse von MO aus der Umwelt und Klinik.

## 2 Gesundheit

### 2.1 Grundlagen der Interaktion

#### 2.1.1 Symbiose

Eine Symbiose kann sowohl positiv, negativ sowie eine unmessbare Wirkung auf Symbionten haben. Zudem können die Auswirkungen zeitlich und räumlich variieren.

- *Mutualism* (wechselseitige Beziehung, trennung kaum möglich)
- *Cooperation* (wechselseitige Beziehung, jedoch nicht zwingend)
- *Commensalism* (nur einer hat einen Nutzen, anderer wird nicht geschädigt)
- *Predation* (Raubtier greift Beute als Nahrungsquelle an.)
- *Parasitism* (Parasit profitiert von Wirt und Wirt wird geschädigt)
- *Amensalism* (Unidirektionale Beeinträchtigung)
- *Competition* (Kampf um selbe Resource)

#### 2.1.2 Pathogenität

Es gibt verschiedene Auffassungen der Pathogenität.

- MO speziell um Mensch zu Schaden
- MO versuchen Gleichgewicht herzustellen. Bei Ungleichgewicht kommt es zur Krankheit
- Mensch ist ein zufälliger Wirt des MO

Wahrscheinlich sind situationsbedingt alle richtig. Schließlich ist der Ausgang der Infektion abhängig von der Virulenz des MO, von den Abwehrkräften des Wirts und von der Anzahl der krankmachenden MO.

### 2.2 Krankheitserreger

#### 2.2.1 Definition

**Obligator pathogene Krankheitserreger** verursachen immer Krankheit in Menschen

**Fakulative pathogene Krankheitserreger** verursachen nur bei geschwächtem Immunsystem Krankheit (Opportunisten)

**Apathogene MO** verursachen normal keine Krankheit außer bei stark geschwächtem Immunsystem

**Infektion** Eindringen des MO in den Wirt, Vermehrung und Reaktion des Wirtes

**Inkubationszeit** Zeit zwischen Infektion und Ausbruch der Krankheit

**Infektionskrankheit** Infektion mit klinischer Symptomatik (Zell- Gewebeschädigende Aktivität und Abwehrreaktion)

**Kolonisation** Anwesenheit von MO auf Haut oder Schleimhaut

**Kontamination** Verunreinigung von Gegenständen, der Umwelt oder von Proben mit unerwünschten MO

**Wichtige Elemente des Immunsystems:**

- Hauptelemente
  - physische / chemische Barrieren
  - gelöste Faktoren
  - zelluläre Faktoren
- unspezifische Immunität
  - Haut und Schleimhäute
  - Mikrobiom
  - Komplement System
  - Monozyten, Makrophagen, natürliche Killerzellen
- spezifische Immunität
  - Antikörper
  - Lymphozyten (B, T)

### 2.2.2 Herkunft und Übertragung

Mikrobielle Krankheitserreger können verschiedene Ursprünge haben.

- Human (Anthroponosen) → Cholera, Hepatitis, Meningitis, ...
- Tiere (Zoonosen) → Enteric fever, Leptospirosis, ...
- Umwelt → Legionellose, Wound infections, ...

Anthroponosen sind besonders relevant. Ca.  $\frac{2}{3}$  der Tierinfektionen sind für den Menschen relevant.

Für die Übertragung von Krankheitserregern siehe Abschnitt 1.2.2

## 2.3 Bedeutung umweltassoziierter Infektionen am Bsp. Wasser

### 2.3.1 Relevanz

Die WHO beschreibt 9 Voraussetzungen für eine intakte Gesundheit. Darunter fällt auch *sicheres sauberes Wasser zum Waschen und zur Hygiene*. Eine gesündere Umwelt könnte fast 23% der jährlichen weltweiten Todesfälle verhindern.

einige wichtige WHO Definitionen für Wasser assoziierte Erkrankungen:

- **Water borne** Infektion durch verunreinigtes Wasser
- **Water washed** Krankheiten aufgrund mangelnder Sanitärversorgung und Hygiene
- **Water based** Infektion durch wirbelloses Wasserlebewesen
- **Water-related vector-borne** Infektion durch Insekten die auf Wasser angewiesen sind (Malaria)

### 2.3.2 WHO Rahmen

**Hazard** biologische, chemische, physikalische oder radiologische Agenzien, die das Potenzial haben Schaden zu verursachen.

Das *Stockholm Proposal 1999* stellt ein vereinheitlichtes Konzept für alle Arten von Wassernutzung vor. Es beinhaltet Trinkwasser, Badewasser und Wiederverwendung von Wasser.

Gesundheitsziele basieren auf tolerierbaren Risiken. Diese Risiken werden durch Risikomanagement Maßnahmen geregelt. Danach wird eine Risikorückwirkung durchgeführt.

Die WHO schlägt ein tolerierbares Gesundheitsrisiko von  $10^{-6}$  DALYs pro Person und Jahr vor. Kann übersetzt werden in eine Infektion pro 1.000 bis 10.000 Personen pro Jahr.

### 2.3.3 Arten der Gefährdung

- fäkal-bürtige Pathogene
- wassereigene Pathogene

**Wichtige Faktoren wasserübertragbarer intestinaler Pathogener:**

- |                       |                        |
|-----------------------|------------------------|
| • Vorkommen           | • Umweltresistenz      |
| • Konzentration       | • Umweltpersistenz     |
| • Größe und Mobilität | • Infektionsdosis      |
|                       | • Gesundheitsbelastung |

**Pathogene Legionellen:**

- natürliches Vorkommen nur in niedrigen Konzentrationen
- Vermehrung bei Stagnation
- Infektion der Atemwege (durch Aerosole)

### 2.3.4 Analyse der mikrobiologisch hygienischen Qualität

Ein universeller Pathogen Nachweis ist nicht sinnvoll oder möglich.

- viele Arten von Darmpathogenen
- häufig ungeringer aber signifikanter Konzentration
- quantitative Informationen notwendig



- infektiös? lebensfähig? tot?

Mikrobielle Indikatoren hingegen sind einfach zu analysieren.

#### Mikrobielle Indikatoren:

- Verschmutzungsindikatoren
  - Mikrobielle fäkale Verschmutzung
  - Indexindikatoren
  - Indikatoren für Infektionsrisiken
- Behandlungsindikatoren
  - Reduktion
  - Desinfektion

Der wohl bekannteste Fäkalindikator ist der *E. coli*.

#### Quantitative molekulare Diagnostik: (DNA/RNA Analyse)

1. Probennahme
  2. Anreicherung
  3. Extraktion
  4. Lagerung
  5. Quantifizierung
- fast jedes DNA/RNA Target ist quantifizierbar
  - Probenlagerung (-80°C) notwendig
  - Hybridsysteme existieren
  - meist keine Info zu infektiös, lebend oder tot

#### 2.3.5 Vorgabe der Qualitätsziele

Indirekter Dosis-Wirkungs Zusammenhang

QMRA MISSING

## 2.4 Vergleich chemischer und mikrobiologischer Gefährdungen

**Intoxikation** Schädigung durch chemische Substanz

**Infektion** Schädigung durch infektiösen Erreger

**Krankheit** Krankheitssymptome bei Wirt

Vergleich:

- **chemisch**
  - Moleküle,  $> 10^{10} - 10^{12}$  Moleküle, chronisch, biotransformation
- **mikrobiologisch**
  - Zellen oder Viren, 1 – 100 Zellen, akut und Einzelevent, Immunreaktion

## 3 Methoden in der Umweltmikrobiologie



### 3.1 Mikroskopie

„Das Sichtbar machen des Kleinen - Die Mikroskopie“

Das Auge sieht Sachen bis 20-50µm. Bakterien sind meist viel kleiner (0.03 - 1µm).

#### 3.1.1 Lichtmikroskop

Vergrößerung gemäß den Gesetzen der Optik unter Ausnutzung von Lichtbrechung an Glaslinsen.

- Einfache Mikroskopie: nur einzelnes optisches System (Wie eine Lupe).
- Zusammengesetzte Mikroskope: zwei oder mehr optische Systeme. Objektiv erzeugt vergrößertes Bild, welches von Okular nochmals vergrößert wird.

#### Gebräuchlichste Mikroskopieverfahren:

- Hellfeldmikroskopie:
  - Licht fällt durch Objekt
  - Objekt benötigt oft vorherige Einfärbung.
- Dunkelfeldmikroskopie
  - zentraler Lichtbereich wird abgedeckt
  - Randstrahlen gelangen ins Objektiv
  - durch Streuung erscheint Objekt hell vor dunklem Hintergrund
- Phasenkontrastmikroskopie
  - Licht wird gespalten
  - Hintergrundlicht kommt direkt in Objektiv während Objektlicht durch Objekt muss
- Fluoreszenzmikroskopie
  - Fluoreszenzlicht muss vorhanden sein oder Farbstoff hinzugefügt werden
  - Sperrfilter blockiert das Anrege Licht und lässt nur Fluoreszenzlicht ins Objektiv
- Konfokale Mikroskopie
  - fokussiertes Laserlicht beleuchtet Objekt
  - Objektiv erfasst nur Licht aus dem Fokus
  - 3D-Bilder durch Schichtaufnahme
- Elektronenmikroskopie (1 Mio Vergrößerung)
  - Transmissionselektronenmikroskopie
  - Elektronenstrahl durch Objekt
  - zeigt das innere des Objektes
  - Rasterelektronenmikroskopie
  - Elektronenstrahl reflektiert an mit Metall bedampfter Oberfläche
  - Oberflächen erkennbar

### 3.2 Arbeiten im Labor

#### 3.2.1 Gute Laborpraxis

Laborsicherheit wird in der Verordnung für biologische Arbeitsstoffe 1998 geregelt.

- Laborklasse (L1-L4)
- Hygiene, Expositionsvermeidung
- Arbeitsschutz
- Mitarbeiter Schulung

#### Laborsicherheitsstufen:

- S1 geringes Risiko für Beschäftigte, geringes Risiko für Bevölkerung
  - Händewaschen

- Arbeitsflächen desinfizieren
- S2 mäßiges Risiko für Beschäftigte, geringes Risiko für Bevölkerung
  - Nur befugtes Personal
  - Arbeit an Sicherheitswerkbänken
- S3 hohes Risiko für Beschäftigte, geringes Risiko für Bevölkerung
  - Schleuseneingang
  - Müll und Abwasser sterilisation
  - Schutzausrüstung
  - Gefilterte Luft und Notstrom
- S4 hohes Risiko für Beschäftigte, unvorhersehbares Risiko für Bevölkerung
  - Überdruckanzug
  - Unterdruck im Labor
  - fest installierte Handschuhe
  - Gasdichte Sicherheitswerkbänken

**Sterilisation:** Verfahren um Gegenstände von MO (einschließlich ihrer Ruhestadien) zu befreien. Meist nur eine Reduktion um einige 10-er Potenzen möglich.

- Sterilisation ein Keim bei  $10^6$  desinfizierten Einheiten
- Desinfizieren reduktion, sodass keine Infektion zu erwarten wäre (5 Zehnerpotenzen)
- Antiseptik: Antimikrobielle Präparate an Eintrittsstellen

### Log-Reduktionsstufen

$$-\log_{10} \left( \frac{\text{nach Desinf.}}{\text{vor Desinf.}} \right)$$

### Sterilisationsverfahren:

- Physikalisch
  - Dampfsterilisation (Denaturierung von Proteinen)
  - Heißluftsterilisation (weniger effizient wegen geringerer Wärmeleitfähigkeit)
  - Strahlensterilisation (ionisierende Strahlung)
- Chemisch
  - Nassantiseptik (mit Fluiden)
  - Trockenantiseptik (mit Gasen wie Ozon, Wasserstoffperoxid, Formaldehyd)

### 3.2.2 Kultivierung von MO

#### Nährmedien und Kultivierung:

- Flüssigmedien (Agar Agar)
  - Anreicherung von MO
- Festmedien (Agar Agar)
  - Isolierung von MO (und Untersuchung der Eigenschaften)

#### Grundsätzliche Zusammensetzung eines Nährmediums:

- Wasser
- Energiequelle (organische Verbindungen, aber auch Schwefelverbindungen)
- Kohlenstoffquelle (für heterotrophe Organismen meist Kohlenhydrate)
- Salze (Makroelemente wie Stickstoff, Phosphor und Schwefel)
- pH-Puffer (Verhindert Veränderung des pH-Wert)

#### Arten der Kulturmedien nach Funktion:

- Universalmedien
- Selektivmedien -um bestimmte MO zu kultivieren
- Differentialmedien
  - Indikatormedium, Farbstoffe die diagnostisch wirken

**Anreicherungskultur:** Wachstumsbedingungen sind für einen MO oder MO-Gruppe günstiger als für andere. Das Ziel ist die Anreicherung eines Mikroorganismus oder einer bestimmten Gruppe.

**Reinkultur:** Wachstum eines Klons von einem bestimmten Organismus unter Ausschluss jeglicher Individuen anderer Arten oder Stämme von Organismen.

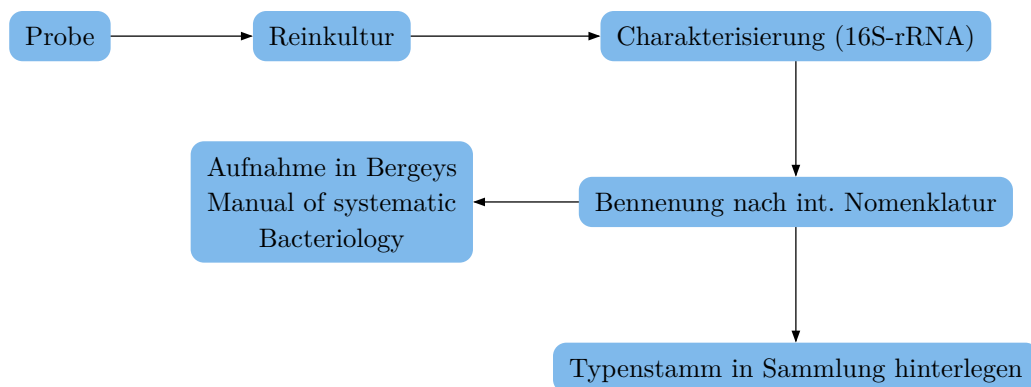
- Verdünnungsreihe
- Dreizehn-Strich-Methode

### 3.2.3 Klassifizieren von MO

Organismen werden in Gruppen (Taxa) eingeteilt. Die grundlegendste Einteilung erfolgt nach Domänen und die feinste die nach Gattung und Arten. Die Namen sind binomial und setzen sich aus Gattungsname und Art-bezeichnenden Zusatz zusammen. Es sind zuerzeit mehr als 10.000 Bakterien und Archaea als valide Arten beschreiben.

Voraussetzung für die Klassifizierung ist eine **Reinkultur** (aus einer Zelle).

**Beschreibung neuer Arten:**



**Kriterien zur Klassifizierung einer Reinkultur:**

- Morphologie
  - Kolonieform /-farbe, Zellform, Beweglichkeit
- Physiologie
  - Verwertung von Substraten, Analyse von Gärprodukten, Temperaturgrenzen, Säuren und Salz Toleranz
- Biochemische und molekularbiologische Kriterien
  - Enzymaktivität, Cytochromen,...

**Analytical Profile Index Test:**

Ein Schnellbestimmungssystem zur Identifizierung von Bakterien. Kombiniert mehrere Tests zur Überprüfung biochemischer Merkmale. Biochemische Merkmale als Zahlencode dargestellt. Das numerische Profil wird mit Datenbank abgeglichen.

**PCR und Sequenzierung:**

Vervielfachung („Amplifizierung“) eines kleinen Teils des Erbgutes. Detektion und Identifikation der vervielfachten Produkte (mittels Gelelektrophorese).

MISSING

**Sequenzanalyse BLAST:**

Basic Local Alignment Search Tool. Vergleich der experimentell ermittelten DNA

MISSING

**Sequenzanalyse Verwandtschaftsbestimmung:**

Die ideale Zielsequenz, das Gen der ribosomalen 16S-RNA (Länge etwa 1500 Basenpaare), hat sich über Zeit nur sehr langsam verändert. Daher ist es ideal für die Analyse von Verwandtschaftsbeziehungen. Aus der Anzahl der Mutationen ergibt sich ein evolutionärer Abstand. Mit Hilfe von Computerprogrammen kann man aus den Abständen einen Stammbaum erstellen. Die Verzweigungen sind nicht durch fossile Funde belegt und haben keine zeitliche Dimension.

**Umweltmikrobiologie:**

Ist die Ökologie der MO, ihre Beziehung zueinander und zu ihrer Umwelt. Sie befasst sich mit Eukaryota, Archaea und Bacteria sowie mit Viren.

- abiotische Faktoren (Temperatur, Salz, pH-Wert, Sauerstoffgehalt, ...)
- biotische Faktoren (Beziehung zu intraspezifischen und interspezifischen Organismen)

**Ökologische Nische:**

Ist jener n-dimensionale Raum von Umweltfaktoren, in denen Leben für einen Organismus möglich ist.

**Beispiele für interspezifische Wechselwirkungen:**

- Räuber-Beute
- Antibiose
- Parasitismus
- Kommensialismus oder Probiotik
- Symbiose oder Mutualismus

**Anwendungsgebiete Umweltmikrobiologie:**

- Abwasserreinigung
- Sanierung von Gewässern
- Böden
- Verwertung von Biomüll

## 4 Diversität von MO

MO haben ein geringes Ausmaß ( $\mu\text{m}$  Bereich) und zeichnen sich durch ihre Einzelligkeit aus.

Man kann folgende Gruppen unterscheiden:

- Bakterien (vollständige MO)
- Archaea (vollständige MO)
- Eukaryoten (mehrere Gruppen sind teil der MO)
- Viren (keine echten MO, da kein eigener Stoffwechsel)

### Artkonzept bei prokaryotischen Arten:

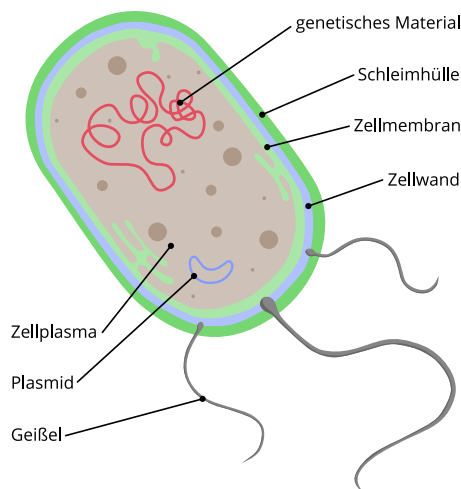
- monophyletischer und genomisch kohärenter Cluster von Einzelorganismen.
- paarweise genomische DNA-DNA Hybridisierung
- hohe phänotypische Konsistenz

### Artdefinition bei Bakterien:

- Bakterien Arten sind oft schwer zu unterscheiden
- phänologische Ähnlichkeit
- Genaustausch auch über Artgrenzen hinaus
- Definition einer Bakterienart
  - Phylogenetische Verwandtschaft (beistzen gleichen Kerngenpool)
  - Phänologische Ähnlichkeit (gleiche Merkmale und gleich Ökologische Nische)

## 4.1 Prokaryonten (Bakterien und Archae)

### 4.1.1 Aufbau einer Bakterienzelle



**Abb. 6:** Aufbau einer Bakterienzelle

Weiters unterscheidet man ihre Formen nach Kokken, Bazillen, Knospenden Bakterien und ander Formen.

### 4.1.2 Drei älteste Bakteriengruppen

Aquificae, Thermodesulfobacteria und Thermotogae. Diese sind im allgemeinen sehr Hitzebeständig, haben eine genetische Verwandtschaft zu Archaeae und Leben in extremen Habitaten. **3 Familien** → **19 Gattungen**

**Tab. 1:** Eigenschaften der drei ältesten Bakteriengruppen.

	Aquificae	Thermotogae	Thermodesulfobacteria
Temperatur	$> 80^{\circ}\text{C}$	$\approx 80^{\circ}\text{C}$	$\approx 70^{\circ}\text{C}$
Sauerstoff	mikroaerophil	anaerob	strikt anaerob
Energie	chemolithotroph	chemoorganotroph	Sulfatreduzierer

#### 4.1.3 Chloroflexi

##### i Chloroflexi

**3 Familien → 6 Gattungen**

**Schlüsselgattungen:**

- Chloroflexus
- Heliothrix
- Oscillochloris

**Kennzeichen dieser Gruppe:**

- Älteste photosynthetische Entwicklungslinie
- Leben in heißen Quellen
- Bilden dicke Bakterienmatten

Eine schwefelfreie grüne Bakterie. **3 Familien → 6 Gattungen**. Ist die älteste photosynthetische Entwicklungslinie. Sie leben in heißen Quellen und bilden dicke Bakterienmatten.

- sind **Gram-negativ**
- bilden fädige Zellketten
- betreiben **Photosynthese**
- Wachstum ist photoheterotroph sowie photoautotroph möglich

#### 4.1.4 Phylum: Deinococcus-Thermus

##### i Deinococcus-Thermus

**2 Familien → 6 Gattungen**

**Schlüsselgattungen:**

- Deinococcus
- Thermus

**Kennzeichen dieser Gruppe:**

- Leben in heißen Quellen
- Besitzen eine **mehrschichtige Zellwand**

**2 Familien → 6 Gattungen**; sind nicht thermophil, sind resistent gegen hohe Intensitäten ionisierender Strahlung, **mehrschichtige Zellwand**, mehrere **DNA-Reparatursysteme** und vierfaches **Nukleoid**. Schlüsselgattung **Thermus** hingegen ist thermophil, aerob, chemoorganotroph und hat eine hitzestabile DNA Polymerase.

#### 4.1.5 Phylum: Spirochaeta

##### i Spirochaeta

**3 Familien → 13 Gattungen**

**Schlüsselgattungen:**

- Spirochaeta
- Treponema
- Cristispira
- Leptospira
- Borrelia

**Humanpathogene:**

- Borrelia burgdorferi (Borreliose)
- Treponema pallidum (Syphilis)
- Leptospira-Arten

Spiralige Form, morphologisch einzigartig, beweglich durch Endoflagellen.

## 4.1.6 Phylum: Chlorobi (grüne Schwefelbakterien)

**i** Chlorobi

1 Familien → 6 Gattungen

Schlüsselgattungen:

- Chlorobium
- Prosthecochloris
- Chlorochromatium

Kennzeichen dieser Gruppe:

- Leben planktonisch in Seen
- Besitzen Gasvakuolen
- Strikt anaerob
- Obligate phototroph

MISSING

## 4.1.7 Phylum: Flavobacteria &amp; Bacteroidetes

**i** Flavobacteria & Bacteroidetes

4 Familien → 28 Gattungen

Schlüsselgattungen:

- Bacteroides
- Rickenella
- Prevotella
- Flavobacteria

Kennzeichen dieser Gruppe:

- Gram-negativ (meist stäbchenförmig)
- im Verdauungstrakt von Menschen (bis zu  $10^{11}$  Zellen pro g Stuhl)
- opportunistische Krankheitserreger
- Nachweis von fäkalen Verschmutzungen

## 4.1.8 Phylum: Chlamydiae

**i** Chlamydiae

4 Familien → 7 Gattungen

Schlüsselgattungen:

- Chlamydia

Gram-negativ, geringste physiologische Fähigkeiten in Gruppe der Bakterien.

Humanpathogene:

- Chlamydia trachomatis (Augen, Genitalbereich)
- Chlamydia psittaci (Psittakose)
- Chlamydia pneumoniae (Atemwege)

## 4.1.9 Phylum: Cyanobacteria

**i** Cyanobacteria

7 Familien → 54 Gattungen

Schlüsselgattungen:

- Synechococcus
- Oscillatoria (Spirulina Nahrungsergänzungsmittel)
- Nostoc (in Süßwasser)



## 4.1.10 Phylum: Firmicutes &amp; Actinobacteria

**i** Firmicutes**33 Familien → >232 Gattungen****Humanpathogene:**

- Bacillus
- Clostridium
- Listeria
- Staphylococcus

**Allgemein:**

- Gram-positiv
- meist chemoorganotroph
- teilweise pathogen
- ökolog., techn. & medizin. Bedeutung

**i** Actinobacteria**44 Familien → >170 Gattungen****Humanpathogene:**

- Mycobacterium (Tuberkulose, Lepra)
- Corynebacterium (Diphtherie)

**Allgemein:**

- meist Stäbchen oder filamentös
- Bildung von Endo- und Exosporen
- wichtige Antibiotika Resource
- vorwiegend in Boden und Gewässern

## 4.1.11 Phylum: Proteobacteria

**i** Proteobacteria**84 Klassen → >530 Gattungen****Humanpathogene:**

- Escherichia coli
- Salmonella
- Vibrio cholerae
- Helicobacter pylori

**Allgemein:**

- größte und vielfältigste Gruppe
- Gram-negativ
- Peptidoglykan-Schicht
- Lipopolysaccharidemembran (zweite Membran)
- medizin., industrielle und landwirtschaftliche Bedeutung

## 4.2 Archaea

## 4.2.1 Phylum: Crenarchaeota

**i** Crenarchaeota**Schlüsselgattungen:**

- Sulfolobus
- Acidianus
- Thermoproteus
- Pyrodictium
- Pyrococcus

MISSING

### 4.2.2 Phylum: Euryarchaeota

#### **i** Euryarchaeota

##### Schlüsselgattungen:

- Halobacterium

MISSING

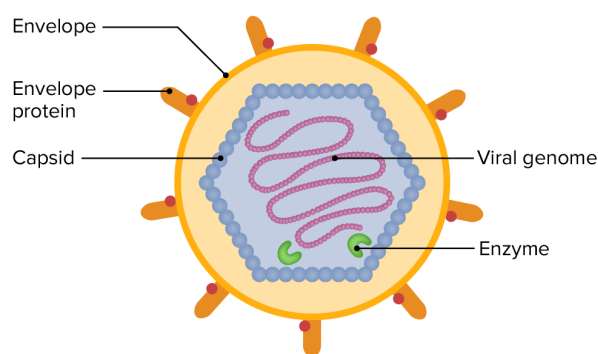
## 4.3 Viren

### 4.3.1 Allgemeine Kennzeichen von Viren

- biologische Objekte an der Grenze des Lebendigen
- obligat parasitisch
- kein eigener Stoffwechsel
- Virusvermehrung erfolgt in Wirtszelle

#### Aufbau von Viren:

- außerhalb von Zellen *Virionen* genannt
- virals Genom im Zentrum
- Capsid umgibt Erbgut
- Lipidmembran bei behüllten Viren



**Abb. 7:** Aufbau eines Viruses

### 4.3.2 Das Capsid

Das Capsid bildet die **äußerste Schicht** bei unbehüllten Viren. Es hat die Funktion, das **Genom zu schützen** und stellt bei unbehüllten Viren den Kontakt zu Wirtszelle her und befördert das Genom in die Zelle.

### 4.3.3 Die Virus-Hülle

Falls vorhanden, dann eine doppelschichtige Membran.

- Lipiddoppelschicht: stammt von Plasmamembran der Wirtszelle.
- Virale Membranproteine: große Anzahl, verdrängen wirtseigene Membranproteine
- Funktion: Schutz, Bindung an Wirtszelle, Fusionierung mit Plasmamembran, Bildung neuer Varianten durch mutierte Hüllproteine

**4.3.4 Virusklassifizierung**

Gruppe	Eigenschaften	mRNA Produktion
I	Doppelstrang DNA	mRNA direkt von DNA Vorlage geschrieben
II	Einzelstrang DNA	DNA zuerst in doppelstrang Form bevor zu RNA übersetzt
III	Doppelstrang RNA	mRNA übersetzt von RNA Genom
IV	Einzelstrang RNA (+)	Genomfunktion als mRNA
V	Einzelstrang RNA (-)	mRNW von RNA Genom abgeleitet
VI	_____	_____
VII	_____	_____

**4.3.5 Vermehrung von Viren**

1. Anlagerung (an Wirtszelle)
2. Eindringen
3. Uncoating (Freisetzung des Genoms)
4. Vermehrung des Genoms im Zytoplasma oder Zellkern
5. Zusammenbau
6. Freisetzung

**4.3.6 Spezialfälle von Viren**

- Risenviren
- Prionen (infektiöse Proteine, unempfindlich gg. UV-Strahlung und Hitze)
- Viroide (kurzer RNA Strang, keine Proteine oder Lipide)
- Defekte Viren

**4.4 Eukaryonten (Algen, Protozoen, Pilze)****4.4.1 Protozoen**

**Kennzeichen von Protozoa:**

**Klassifikation tierischer Protisten:**

**4.4.2 Schleimpilze****4.4.3 Algen****4.4.4 Pilze**

## **5 Nährstoffkreislauf und Microbial loop**

### **5.1 Kreisläufe**

### **5.2 Kohlenstoffkreislauf**

### **5.3 Stickstoffkreislauf**

### **5.4 Phosphorkreislauf**

### **5.5 Schwefelkreislauf**

### **5.6 Microbial loop**

## 6 Kometabolismus, Abbau und Transformation

### 6.1 Abbau & Transformation

Abbau ist ein Prozess bei dem org. Chemikalien biologisch und deren Enzyme zersetzt werden. Im Idealfall Abbau bis zur Mineralisierung (anorg. Stoffe). Abbau kann auch in stabilen Transformationsprodukten stehen bleiben. Es gibt drei Stufen:

- Umwandlung in ATP (Adenosintriphosphat)
- Citratzyklus zur Bildung zentraler Intermediate unter ATP Verbrauch
- Ausscheidung Stoffwechselprodukte

Weiters unterscheidet man zwischen folgenden Abbaubarkeiten:

- Bio. leicht abbaubar
- Bio. schwer abbaubar
- Persistente Stoffe / refraktäre Stoffe

Ein Metabolit ist zwischen Substrat (Ausgang) und Produkt (Ende), also ein Intermediat. Diese müssen in Folgereaktionen eintreten können und haben eine begrenzte Halbwertszeit. Ein Sekundärmetabolit ist meistens nicht essentiell für Organismen und wird oft als Stoffwechselprodukt ausgeschieden. Transformationsprodukte ....

Durch Synergismus, also dem Teilabbau von Stoffen durch viele MO, werden gemeinschaftlich Kontaminanten mineralisiert. Bei der Kometabolisierung wird der Abbau von Kontaminanten durch Zugabe von Nährstoffen oder Substraten ermöglicht. Der Kontaminant reagiert dann sozusagen mit.

### 6.2 Wachstum und Wachstumskinetik

### 6.3 Temperaturabhängigkeit biologischer Prozesse

### 6.4 CSB und Redfield Stöchiometrie

### 6.5 Zellertrag/Yield

Yield bezeichnet die Biomasseausbeute bezogen auf das verbrauchte Substrat. missing

## 7 Altfragen

### ? Frage 1

Was ist die Bedeutung von Phosphor in der Umweltmikrobiologie?

Phosphor ist wichtigstes wachstumslimitierendes Substrat. Es spielt eine zentrale Rolle beim Energiestoffwechsel (ATP) und ist Bestandteil der DNA und der Zellmembran. Phosphat ( $PO_4^{3-}$ ) ist dabei die relevanteste Form.

### ? Frage 2

Beschreiben Sie den aeroben Abbau von aromatischen Kohlenwasserstoffen.

Metabolisierung in 3 Stufen, wobei das Grundmuster des aeroben abbaus bei monocyclischen Aromaten, Phenolen und Carbonsäuren und des letzten Ringes beim Abbau von PAK gleich ist.

1. Benzolring, unter Verbrauch von Sauerstoff in Brenzkatechin, umgewandelt, das zwei benachbarte Hydroxylgruppen enthält.
2. Ring des Brenzkatechins wird unter Verbrauch von Sauerstoff zwischen den beiden Hydroxylgruppen oder zwischen einer OH-Gruppe und einem C-Atom gespalten.
3. Die offenkettigen Verbindungen werden weiter in Säuren und Aldehyde gespalten, die in den Stoffwechsel eingeschleust werden.

### ? Frage 3

Was ist die Definition für *Hazard* laut WHO?

Biologische, chemische, physikalische oder radiologische Agenzien, die das Potenzial haben Schaden zu verursachen. (WHO 2006)

### ? Frage 4

Beschreiben Sie die Mechanismen der mikrobiellen Korrosion von Stahl.

MISSING

### ? Frage 5

Welche sind die drei Hauptübertragungswege von Infektionserkrankungen?

- Person zu Person (direkt, indirekt, airborne)
- Vehikel basierend (waterborne, foodborne, airborne, soilborne)
- Vektor basierend (arthropods/insects)

### ? Frage 6

Was ist  $\mu_{\max}$  und  $K_s$  in der Wachstumskinetik?

$K_s$  ist die Sättigungskonstante, Nährstoffkonzentration bei  $\mu = 0.5 \cdot \mu_{\max}$  [mg /l]

$\mu_{\max}$  ist die maximale Wachstumsrate (Zunahme der Zellzahl/-masse pro Zeiteinheit )

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{S + K_{S_{\max}}}$$

### ? Frage 7

Beschreiben Sie die Unterschiede zwischen kontinuierlicher Fermentation und Belebungsbecken?

**Kontinuierliche Fermentation:** Ein vollständig durchmisches Becken, dem kontinuierlich Abwasser (Nährlösung) zufließt. Dort wachsen MO die das zugeführte Substrat verbrauchen und das System wieder verlassen. Gleichgewichtszustand, d.h. Konzentration im Ablauf bleibt gleich. Ist  $qR$  (Wachstumsrate der MO) größer als  $\mu_{\max}$  dann werden MO ausgewaschen. Bei  $0 < qR < \mu_{\max}$  ist das System selbstregulierend.

**Belebungsbecken:** Beim Belebungsbecken wird  $qR$  und  $\mu_{\max}$  entkoppelt, damit das Volumen des Beckens und die erforderliche Verweilzeit klein gehalten werden. Dies geschieht durch eine Rückführung der MO aus dem Ablauf einer kont. Fermentation in den belüfteten Reaktor. In der Praxis erfolgt das durch Abtrennung der Biomasse im Nachklärbecken oder auch Membranfiltration.

### ? Frage 8

Charakterisieren Sie die Grün Alge.

**Grünalge:** (450 Gattungen, >7500 Arten)

- größte Gruppe innerhalb der Algen
- Einzellig, auch koloniebildende Formen
- Lebensweise autotroph (z.T. parasitär auf Landpflanzen)
- Reservestoffe: Stärke gespeichert in Pyrenoiden
- Beweglichkeit: manche Arten 1-2 Flagellen
- Zellwand: innere Lage Zellulose, äußere Lage Pektin
- Habitat: Süßwasser, einige marin, terrestrisch in feuchter Umgebung
- Fortpflanzung: asexuell und sexuell

### ? Frage 9

Beschreiben Sie die Unterschiede zwischen Katabolismus und Anabolismus.

**Katabolismus:** Abbau von Stoffwechselprodukten von komplexen zu einfachen Molekülen. Energiefrei-setzende (exergone) Stoffumsetzungen. Dient zur Energiegewinnung, Lieferung von Baustoffen und der Entgiftung.

**Anabolismus:** Ist die Gesamtheit der energieverbrauchenden (endergonen) Stoffumsetzungen und gleichzeitig der aufbauenden Stoffwechselreaktionen.

### ? Frage 10

Erklären Sie Viroid, defekte Viren und Prionen.

**Viroide:** kurzer, zu einem Ring geschlossener RNA Einzelstrang (250-400 Basen). Freie DNA, keine Proteine oder Lipide. Replikation in Pflanzenzellen.

**defekte Viren:** Nicht im Besitz aller Gene für einen vollständigen Infektionszyklus. Benötigen Helfervirus. Konkurrenz um Replikationsapparat, Hüllproteine und Capsidproteine.

**Prionen:** Infektiöse Proteine (falsch gefaltet). Verursachen spongiforme Enzephalopathien. Beispiel:

Creutzfeld-Jakob, BSE, Scrapie. Unempfindlich gegenüber UV- und Gammastrahlen, Hitze und Desinfektionsmittel.