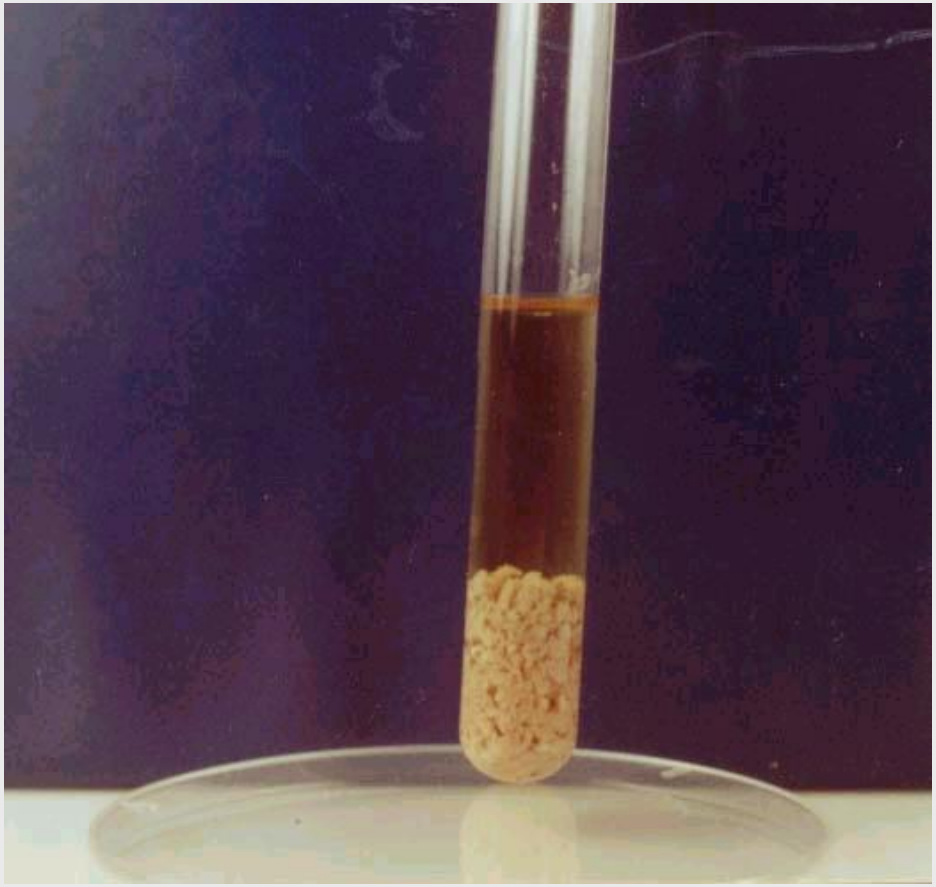
Praktischprüfung

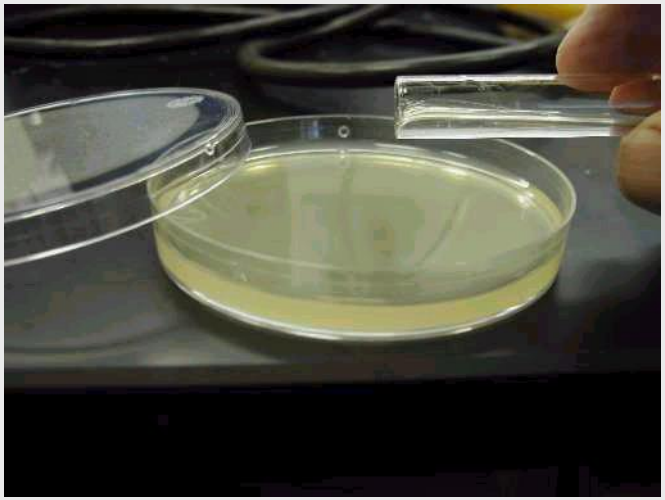
I. Sterile Nährmedien

1. Fleischwasser, 2. Schrägagar, 3. Hochagar

4. Fleischwasser Nährmedium mit Fleisch



3., 5., 6.: Agarnährmedium, Blutagar, Kochblutagar



Uninoculated chocolate agar plate

7. Selektiv Differenzierendes Nährmedium
Eosin methylenblau

Laktos positives Bakterium mit lila Kolonien

zB.: E. coli

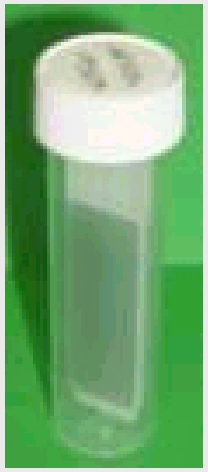
Laktos negatives Bakterium mit farblos Kolonien

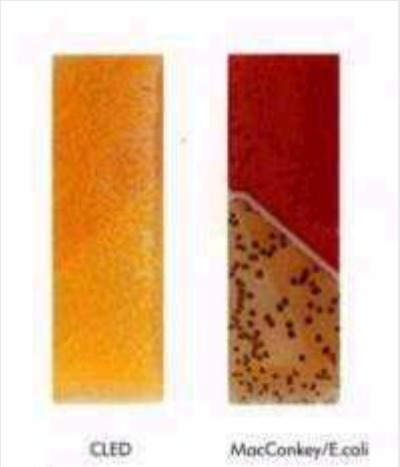
zB.: Proteus

8. Transport Nährmedien

Stuart Nährmedium –
Vatta Tampon für
Rachenabstrich

Uricult für Harnweg Infektionen





9. Blutkultur

Handhabung von Blutkultur Flasche

1) Die Haut wird mit Desinfektionslösung desifiziert (aseptische Method)

2)Blut wird aus 2 anatomische Stellen entnommen (Arm, Fuß)

3)Benutzung von aerob / anaerob /Pilz Blutkultur Flasche

4) 10-20 ml Blut (aus Kinder 5-10 ml) werden entnommen

5)Während Transport wird es auf **Raumtemperatur** gehaltet.

6)Im Laboratorium wird die Flasche im Thermostat (auf 37°C) gehaltet. CO_2 Bildung in der Flasche ändert den Indikator und es zeigt positivität (bakterielles Wachstum)

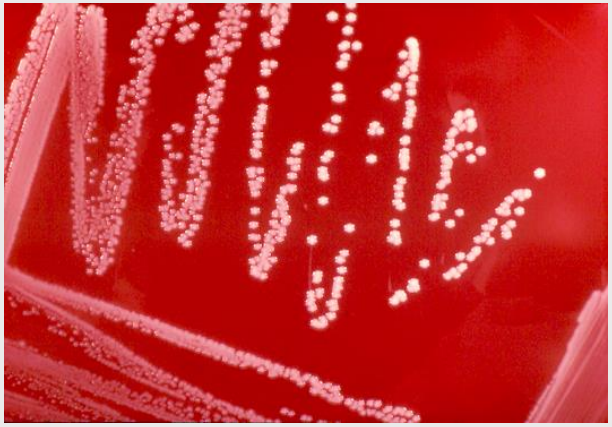
7)Aus dieser Flasche werden die Bakterien auf Blut / Eosin-Methylen Blau Agar angezüchtet und mikroskopische Untersuchung wird durchgeführt.

10. Virus Transportmedium

II. Reinkulturen

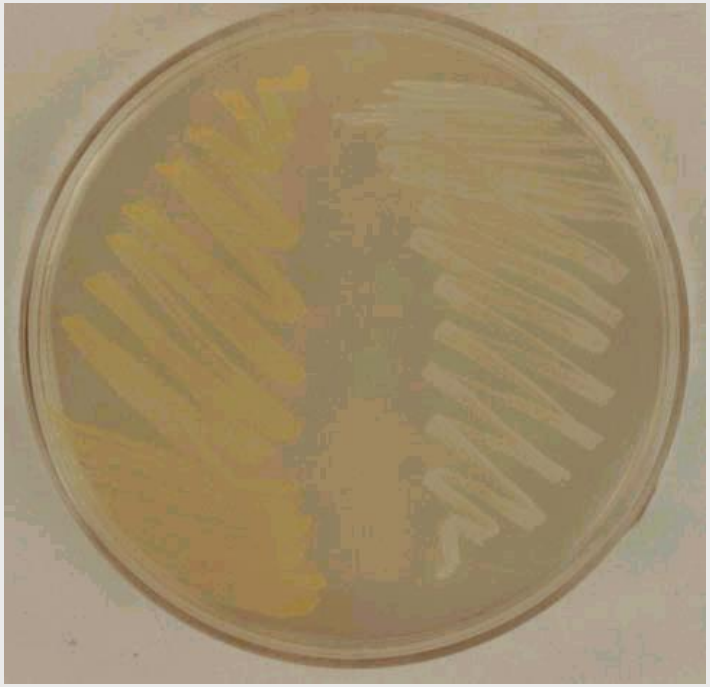
1-2-3. *Staphylococcus aureus* , *S. epidermidis* auf Agarnährmedium, und auf Blutagar

S. epidermidis : gamma-hemolyse (kein Hemolyse)



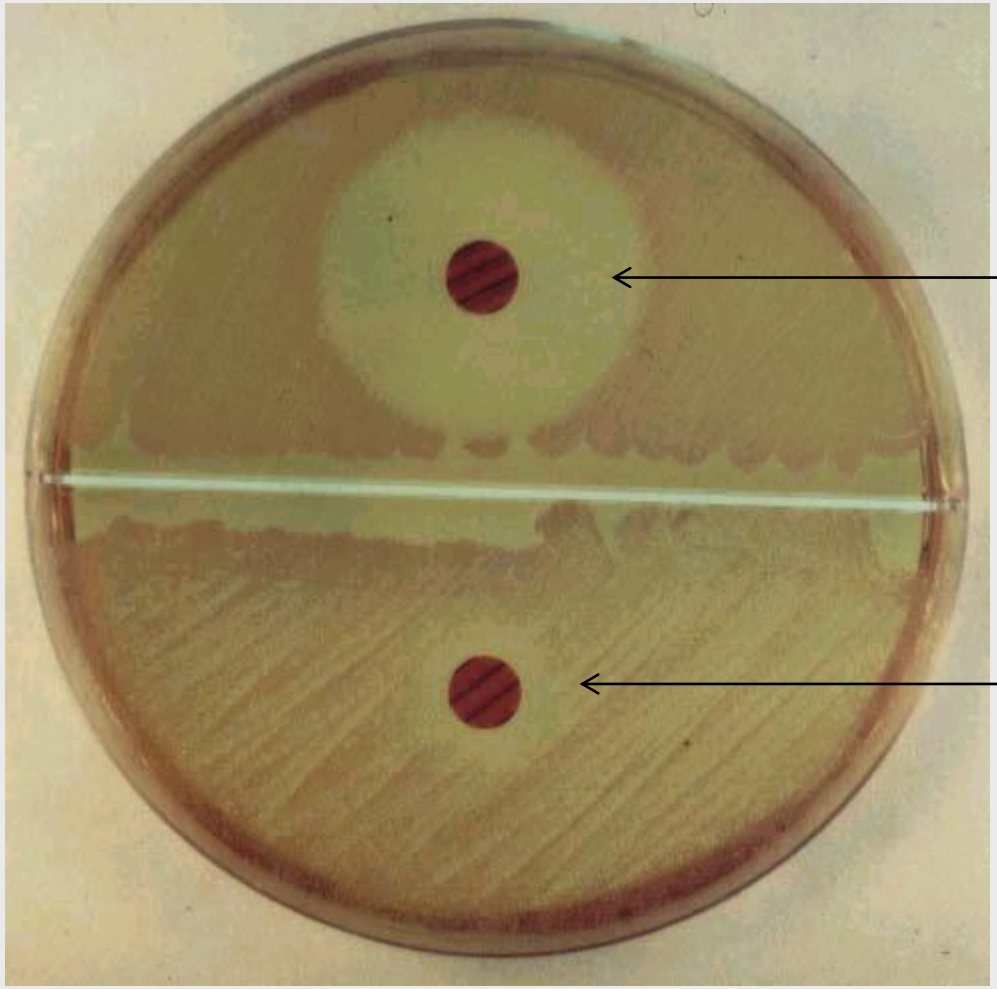
S. aureus: gelb fettlöslich Pigment Bildung: gelbe Kolonien

S. epidermidis: weiß fettlöslich Pigment Bildung: weiße Kolonien



S. aureus : beta-Hemolyse

4) *S. epidermidis* (Novobiocin empfindlich) *S. saprophyticus* (Novobiocin resistent) auf Agarnährmedium

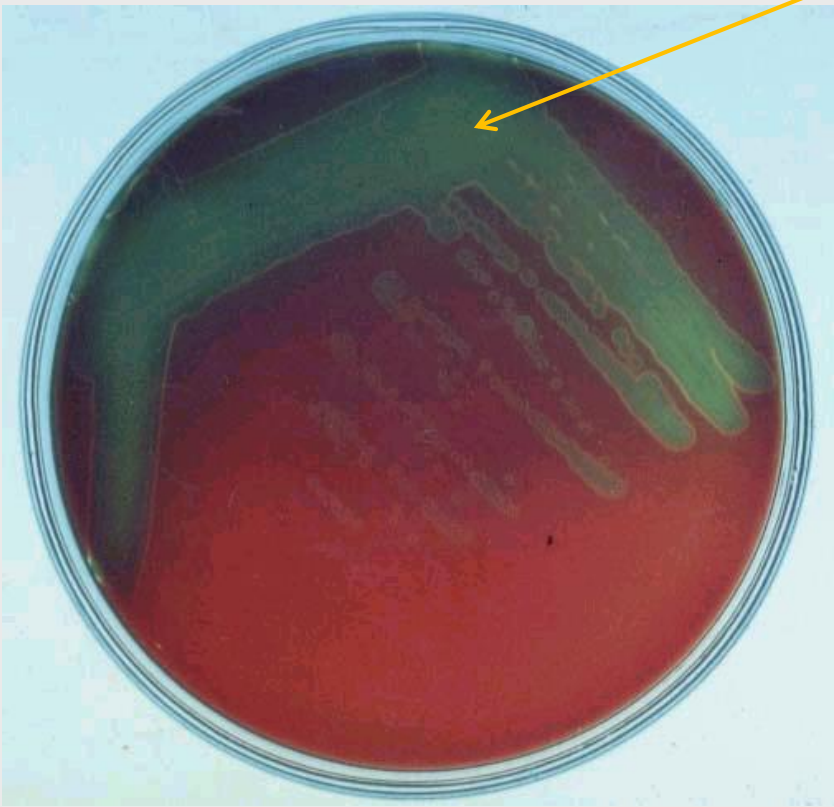


S. epidermidis : Hemmhof → empfindlich gegen Novobiocin

S. saprophyticus : kein Hemmhof → resistent gegen Novobiocin

5. *Streptococcus pyogenes* auf Blutagar – beta-hemolysis

6. *Streptococcus mitis* auf Blutagar und auf Kochblutagar – alpha Hemolyse

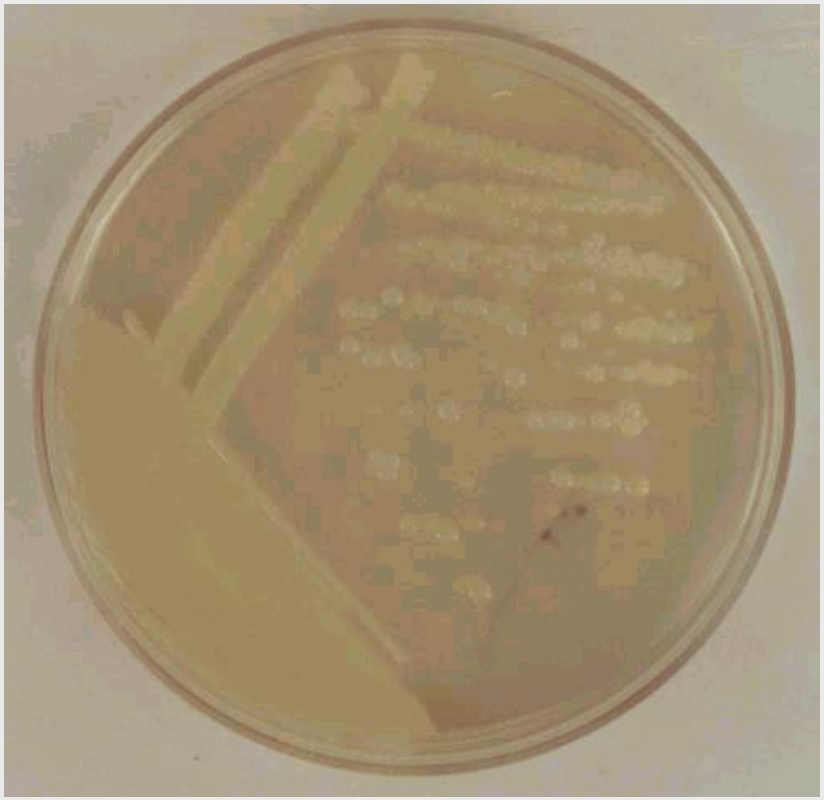


7. *Streptococcus pneumoniae* auf Blutagar – alpha Hemolyse

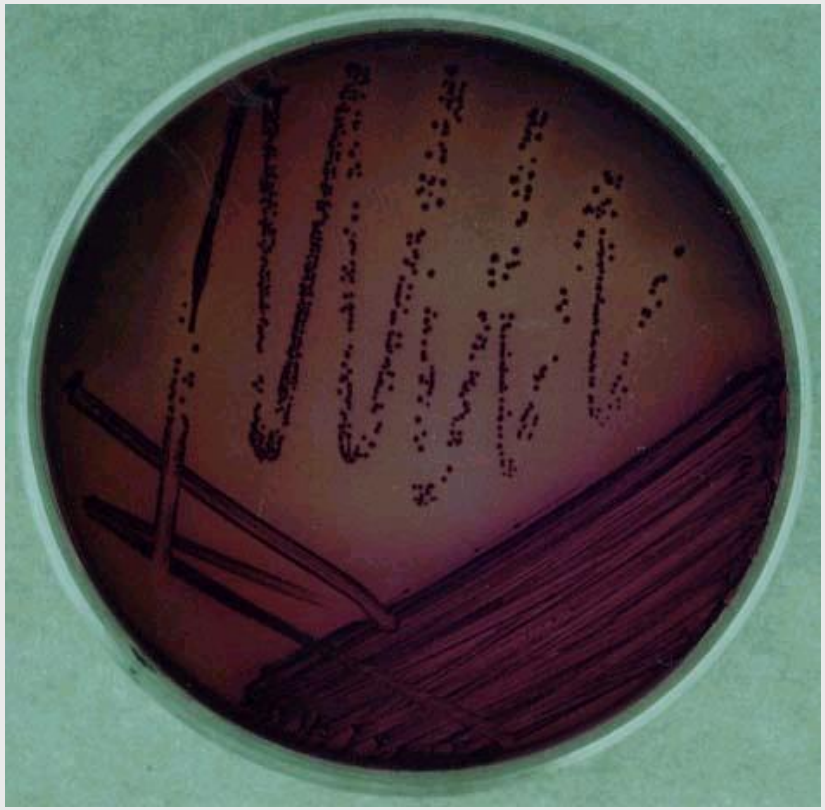
S. pneumoniae: Hemmhof zeigt Empfindlichkeit zu Optochin

8. *Haemophilus influenzae* auf Kochblutagar

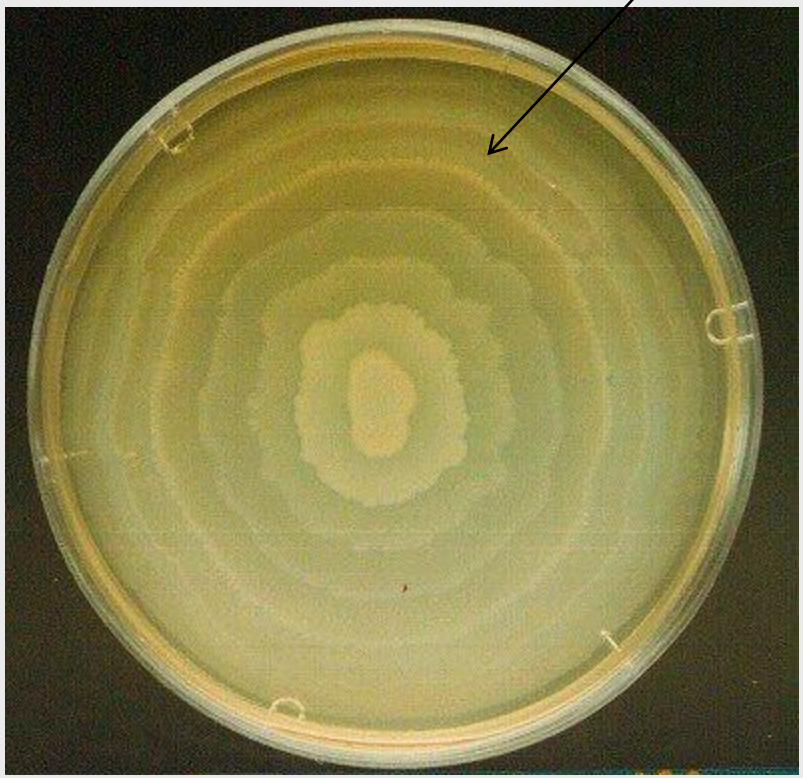
9/12. *E. coli* und *Klebsiella* auf Agarnährmedium

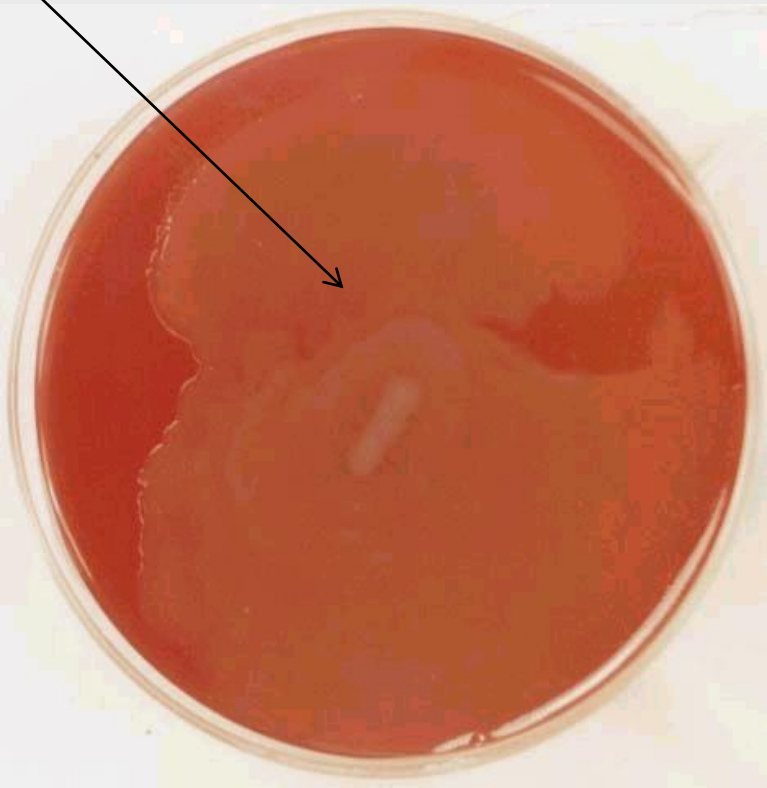


9/12. *E. coli* und *Klebsiella* auf Eosinmethylenblau Nährmedium – laktose positive Kolonien

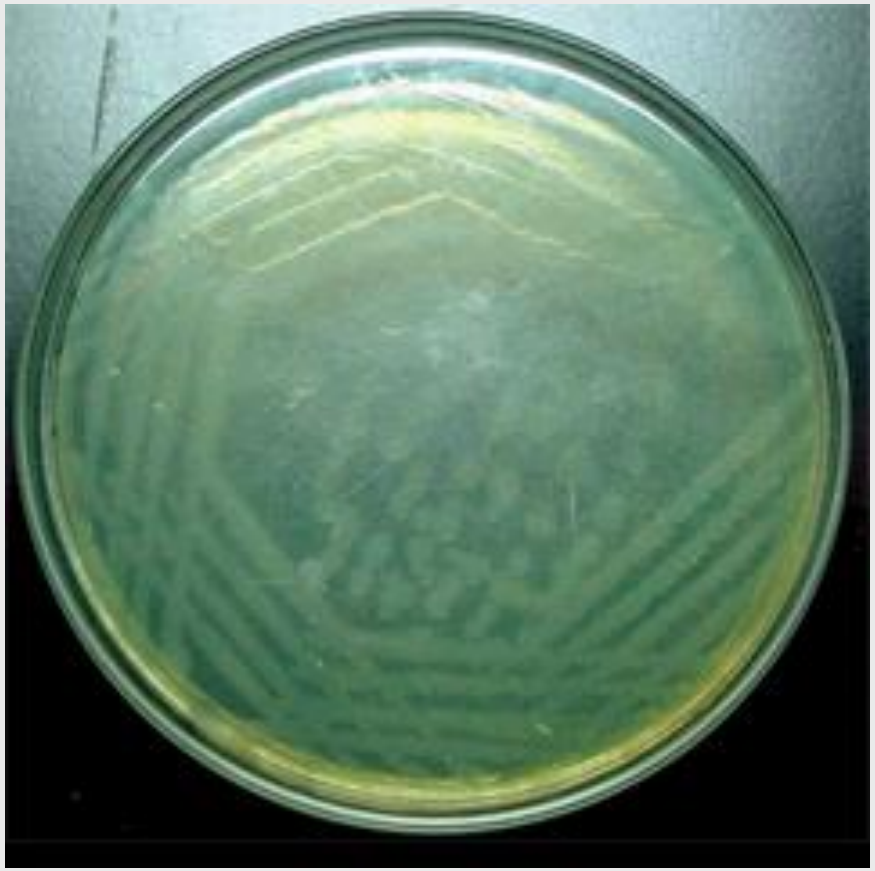


10. *Proteus* auf Agar und auf Blutagarnährmedium: Schwarmung





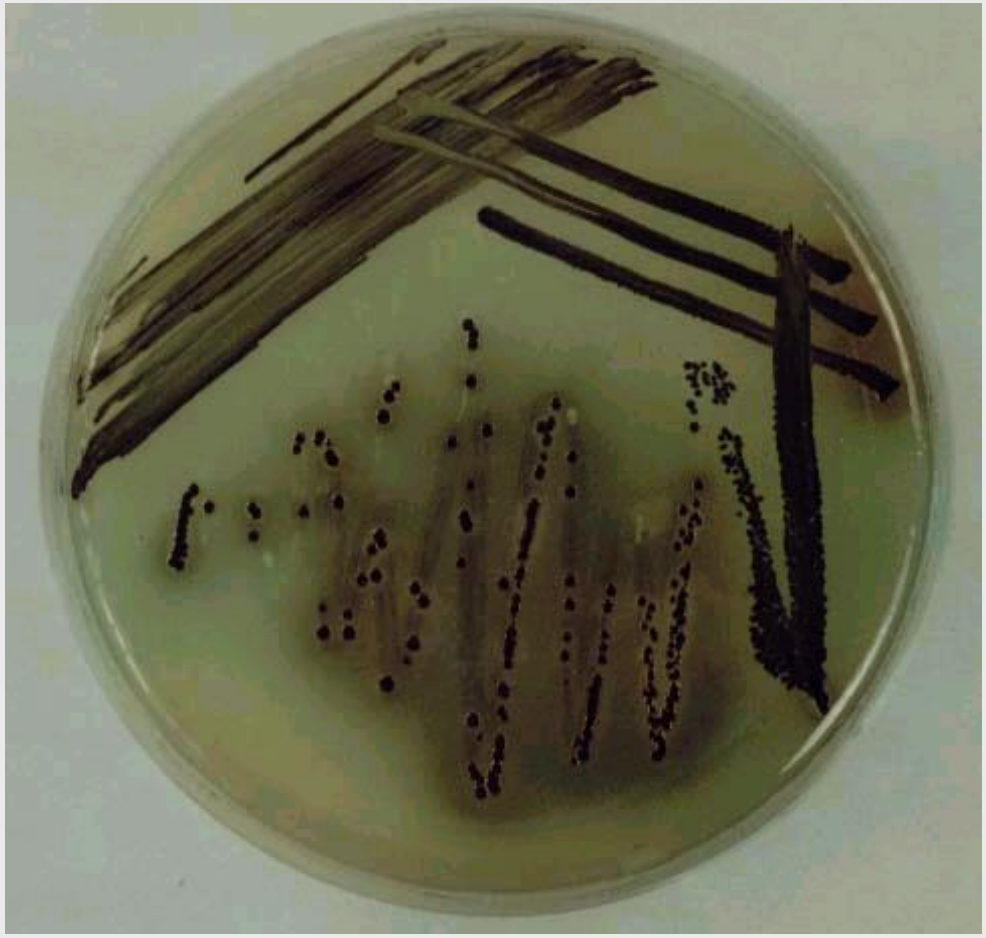
11. *Pseudomonas* auf Agarnährmedium



wasserlöslich blau
Pyocyanin Pigment Bildung
→ Gelb Agarnährmedium
verändert sich grün

Lindenblüter Geruch

13. *Salmonella* auf Bismut sulfit Nährmedium

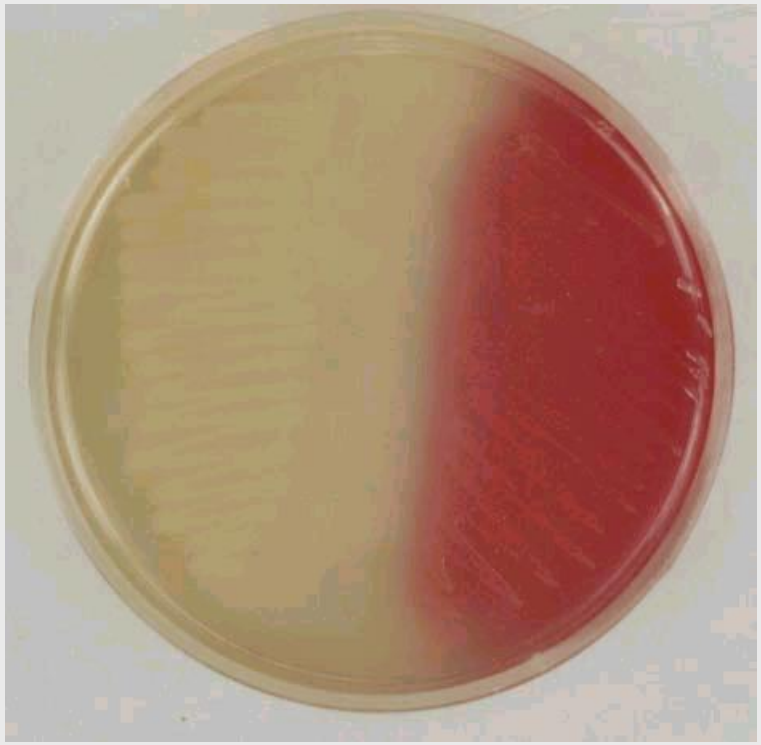


<u>Bismut sulfit Nährmedium</u>:
Selektive Salmonella Nährmedium →schwarze Kolonien

14. *E. coli* und *Salmonella* auf Brillantgrün Nährmedium

Salmonella: laktose negative farblose Kolonien

E. coli: laktos positive rote Kolonien

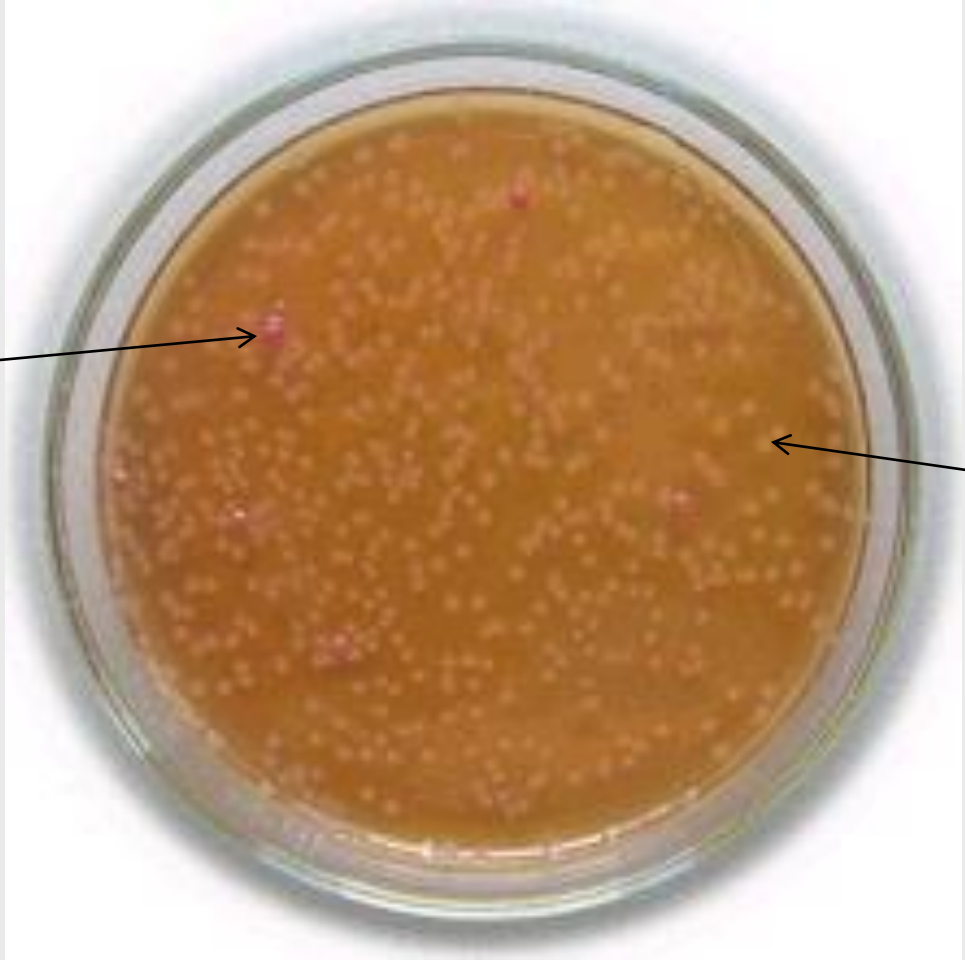


15. *E. coli* und *Shigella* auf Deoxycholatzitrat (DC) Nährmedium

Shigella: laktose negative farblose Kolonien

E. coli: laktose positive braune Kolonien

16. Kot in Ruhr auf DC Nährmedium (*E. coli* + *Shigella*)



E. coli: laktos positive braune Kolonien

Shigella: laktose negative farblose Kolonien

17. Russel Nährmedium

Inhalt: Glükóz, Sacharos, Laktos

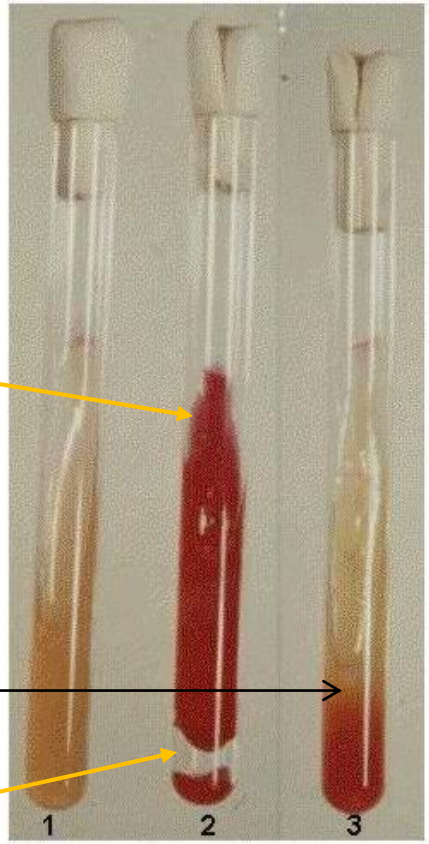
Andrade Indikator

Laktos positive: vollig Rot

zB.: E. coli

Laktose negative aber Glükos und Sacharos verbraucher: unter rot, oben gelb zB: Shigella

Gasbildung zB.: E. coli



Magas-ferde agar cukorbontás és gázképzés kimutatására (brillantcukor:laktóz-dextróz-saccharóz + Andrade indikátor)

1. steril
2. laktóz-gáz: pozitív *(E. coli)*
3. dextróz: pozitív, gáz: negatív (Shigella)

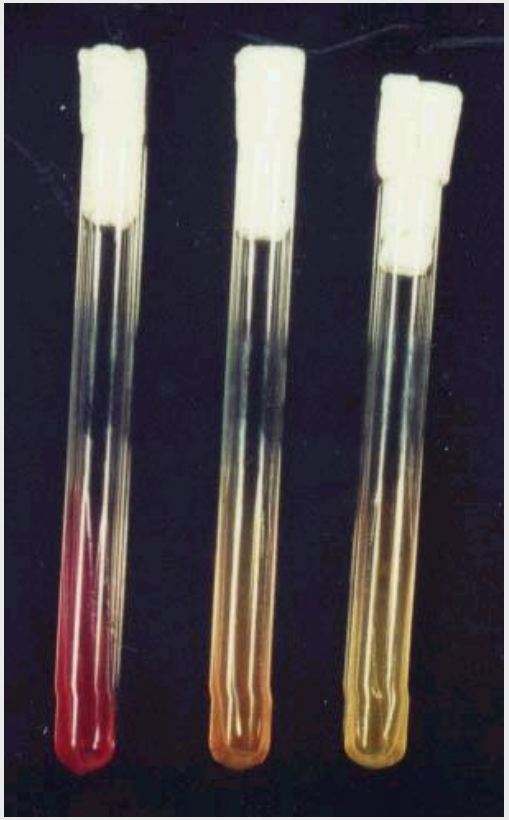
18. Ureas Test

NH_2-CO-NH_2 (ureum) $\rightarrow$
CO_2 + NH_3 (ammoniak)

Christensen medium: Fenolrot Indikator

Urease positive: lila

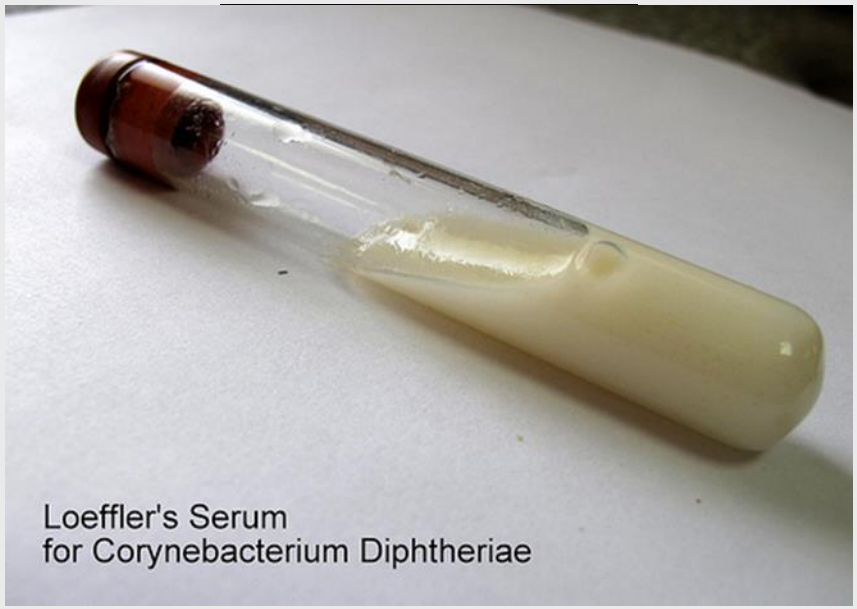
Urease negativ: gelb



<u>Urease positive:</u> ***Proteus*, *Klebsiella*,**

Urease negative : E. coli

19. *Corynebacterium* auf Clauberg und Löffler Nährmedium



Clauberg

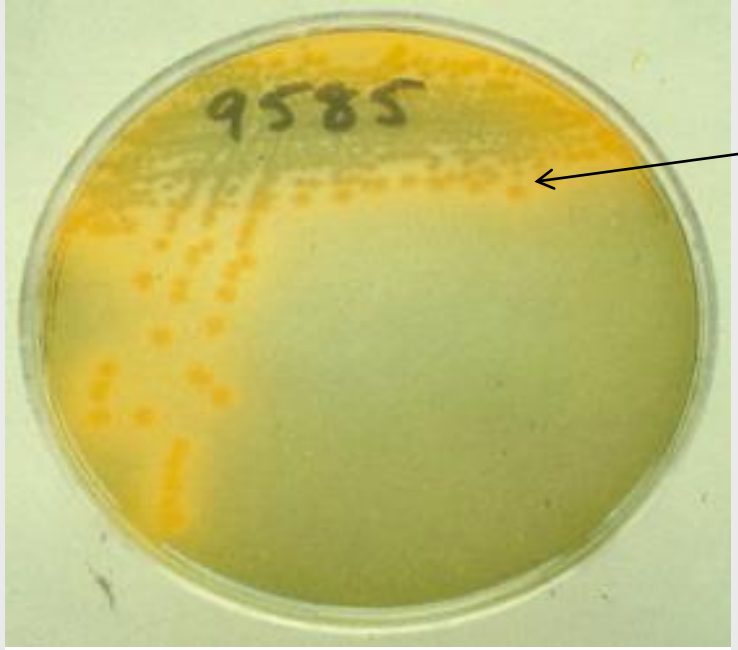
Löffler

20. *Mycobacterium tuberculosis* auf Löwenstein-Jensen Nährmedium

Selektives Nährmedium Mykobacterium Malachit grün hemmt das Wachstum der andere Bakterien → nur Mykobakterien bilden Kolonien

21. *Leptospira* in Korthof flüssiges Nährmedium

22. Vibrio cholerae auf TCBS Nährmedium

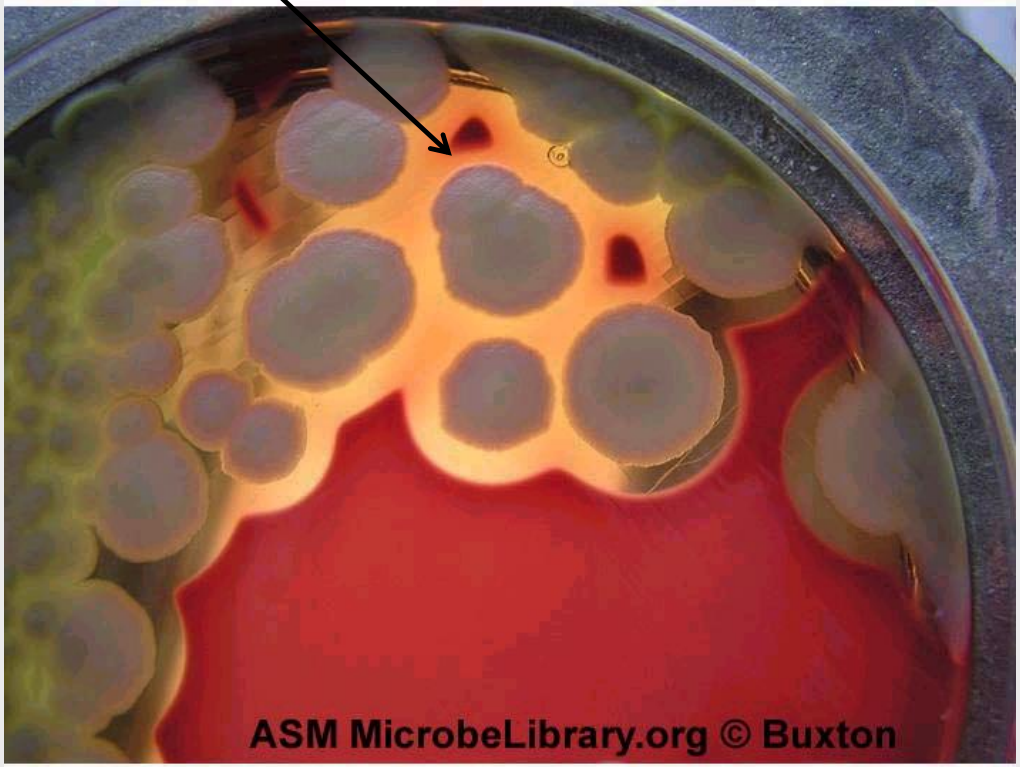


Vibrio cholerae

Steril TCBS ist grün,
Vibrio cholerae bildet gelbe Kolonien

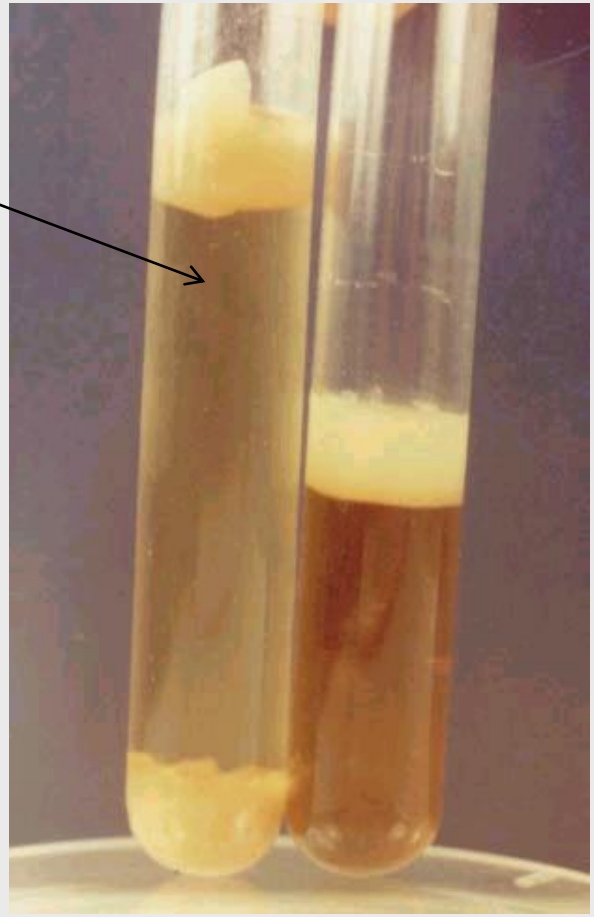
23. *Bacillus cereus* auf Agar und auf Blutagar Nährmedium

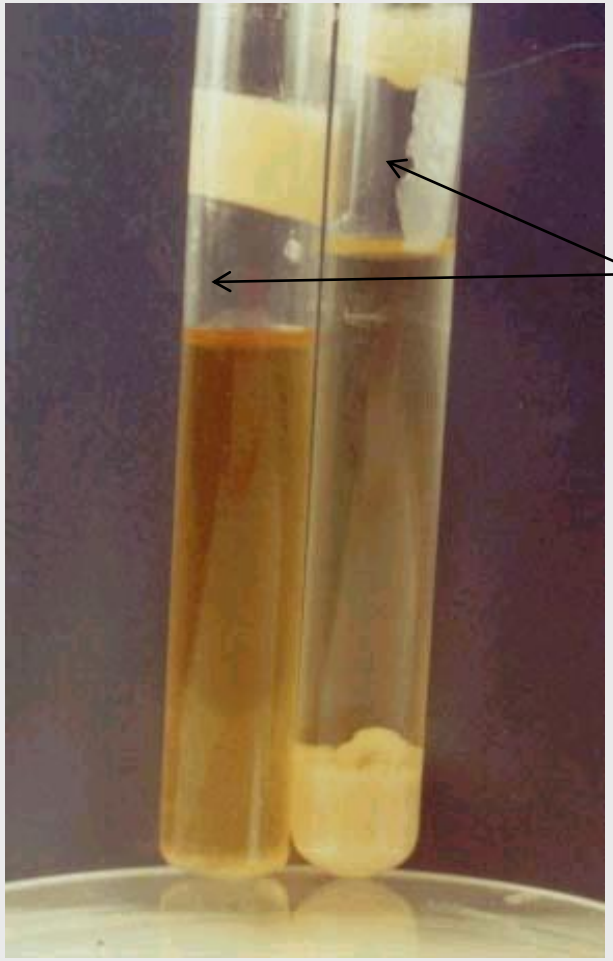
3-5 mm unregelmaßige Kolonien,
ß-Hemolyse



24-25. *Clostridium tetani* und *C. perfringens* Holman und thioglikolat Nährmedium

Anaerobe Züchtung: C. tetani kein Gas





Anaerobe Züchtung: C. perfringens Gas Bildung

Umstand der Züchtung

II. Anaerob Bakterien:

Die physische Method

Gaspack,

- CO_2 und H_2 entwickeln sich
- H_2 bildet H_2O aus O_2
- O_2 wird verbraucht, und es bildet ein anaerobes Millieu

Anaerocult (Anaerostat)

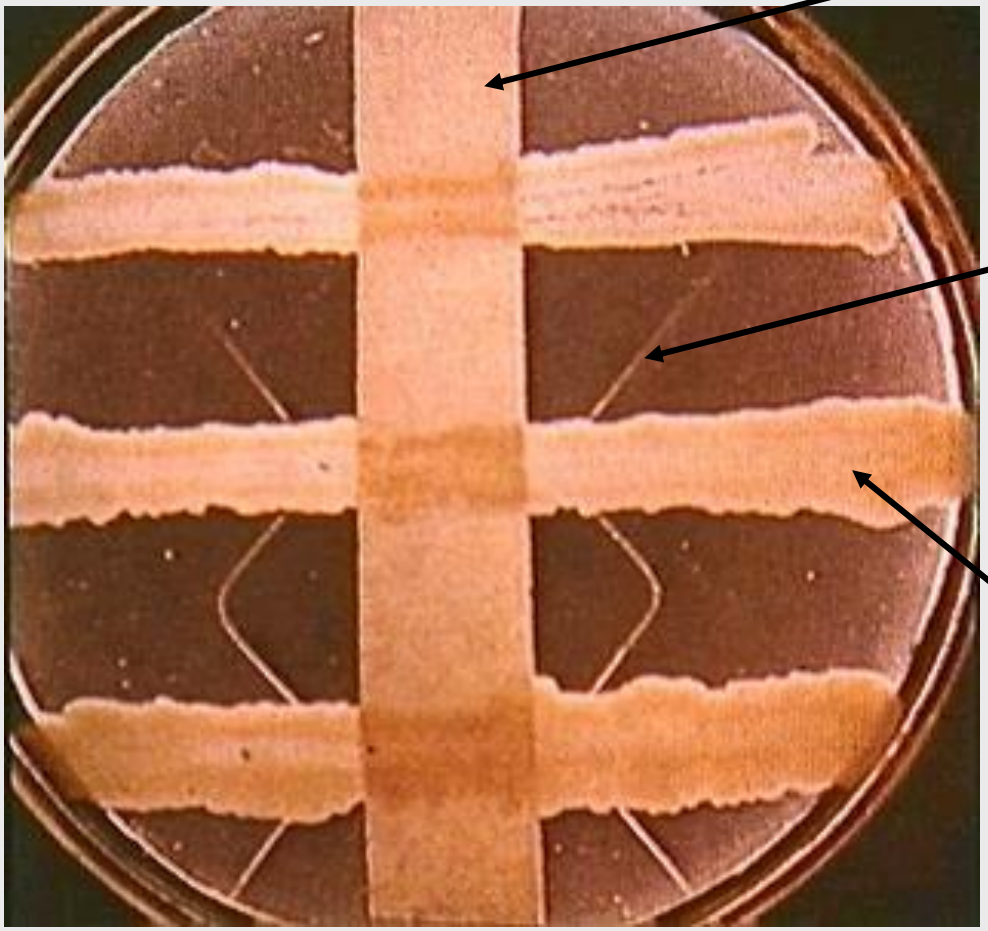
Anaerob Zustand

- Luft wird ausgesogen
- N_2 wird hineingeben

III. Reaktionen

1. Elek Test: Agargelpräzipitation

Überprüfung der Toxinbildung



Filterpapir
mit Antitoxin

Prezipitazion

Corynebacterium

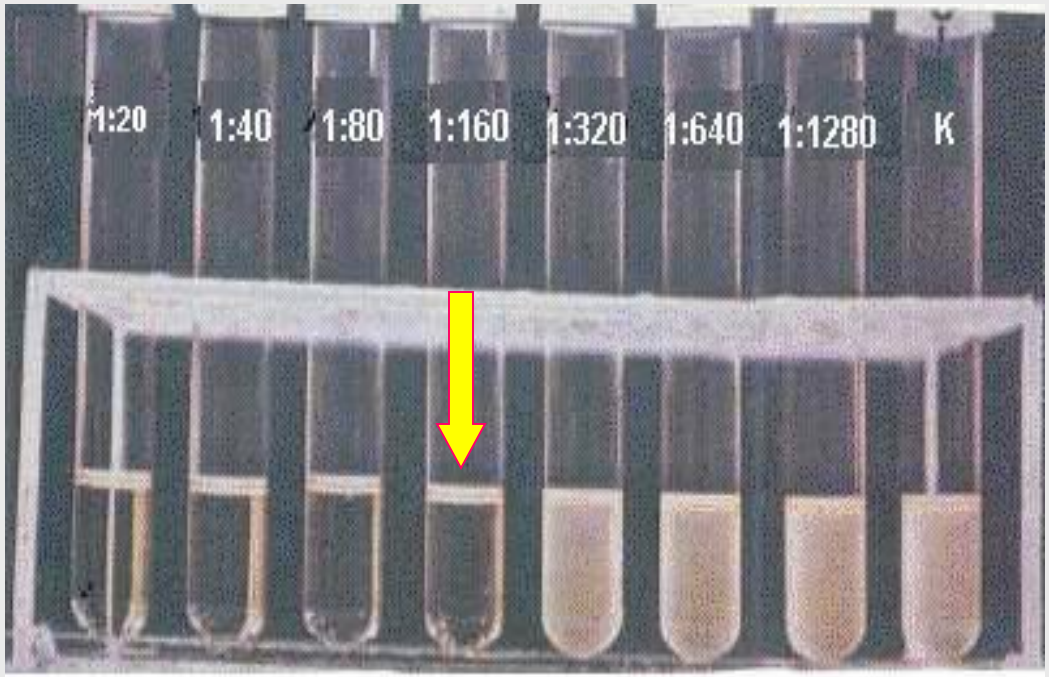
2. Widal-Rörchenagglutination

Gruber-Widal: *Salmonella typhi*

Weil-Felix: *Rickettsia prowazecki*

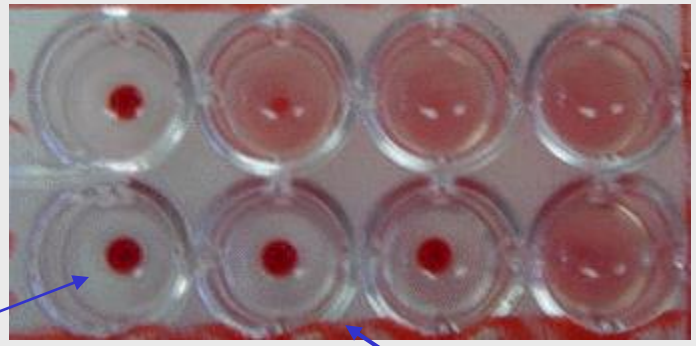
Wright: *Brucella* sp.

<u>Antigen</u>
Proteus
OX19
antigen



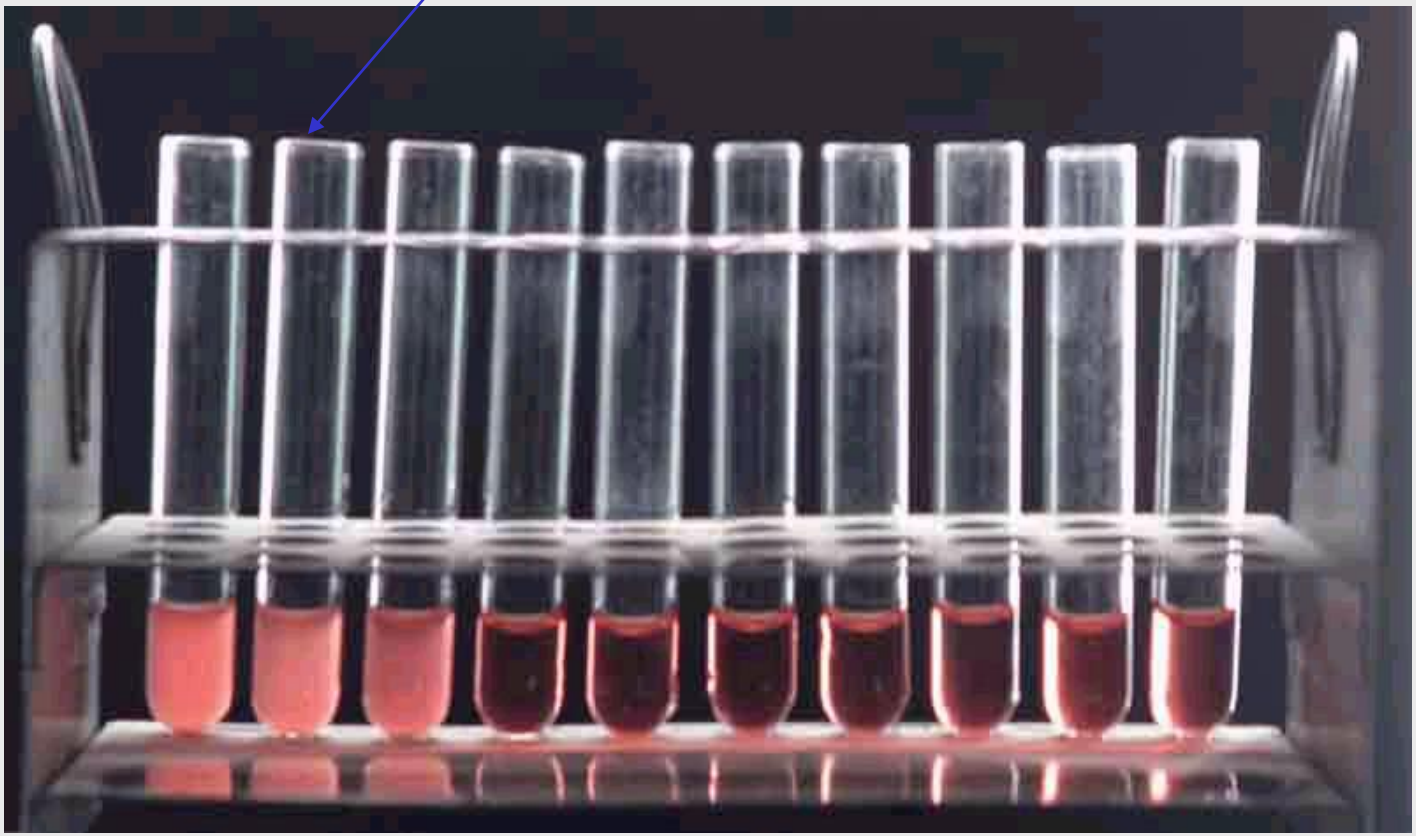
<u>Titer:</u> am größten Verdünnung von Serum, wo Agglutination zustande noch vorkommt

3. Wasserman Test, Komplement Bildung Reaktion



Pozitiv: kein Haemolyse

4-fach Titer Veränderung



4. Hemagglutination (HA) und –hemmung (HAH)

Hemagglutination

Hemagglutination
Hemmung

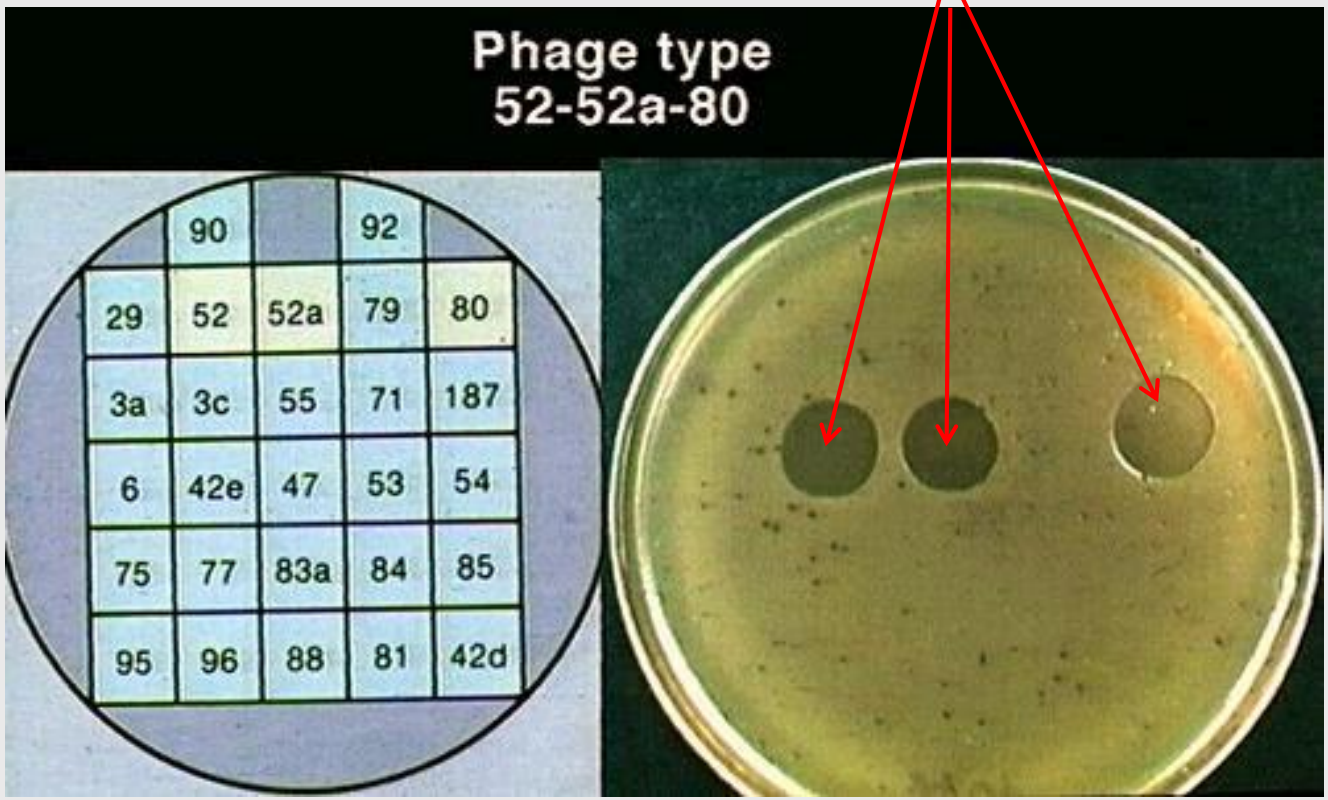
Komplement Bindung Reaktion

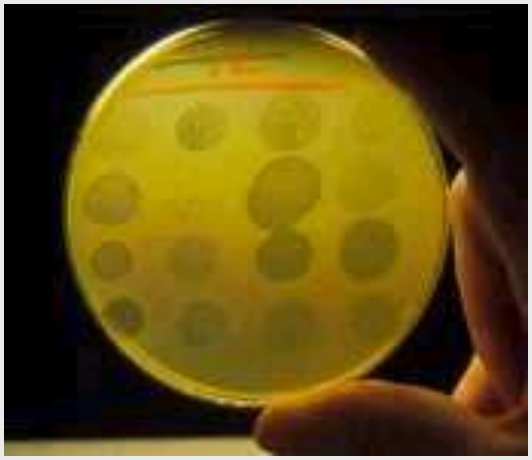
hemolizis
(negativ)

Kein hemolízis
(positiv)

8. Fagtipizierung

Bakterium ist auf Nährmedium beimpft und bestimmte Bakteriofagen werden hinzugefügt. Wo Bakteriofagen reagieren können ein Bakteriolyse (Hemmhof) zeigt positvität.





10. Gram Färbung

1/a. Karbol Gentiana violet 2’

1/b. Lugolische Lösung 1’

2. Differenzierung mit Alkohol 96 %

3. Spülen mit Wasser

4. Safranin 1’

5. Spülen mit Wasser

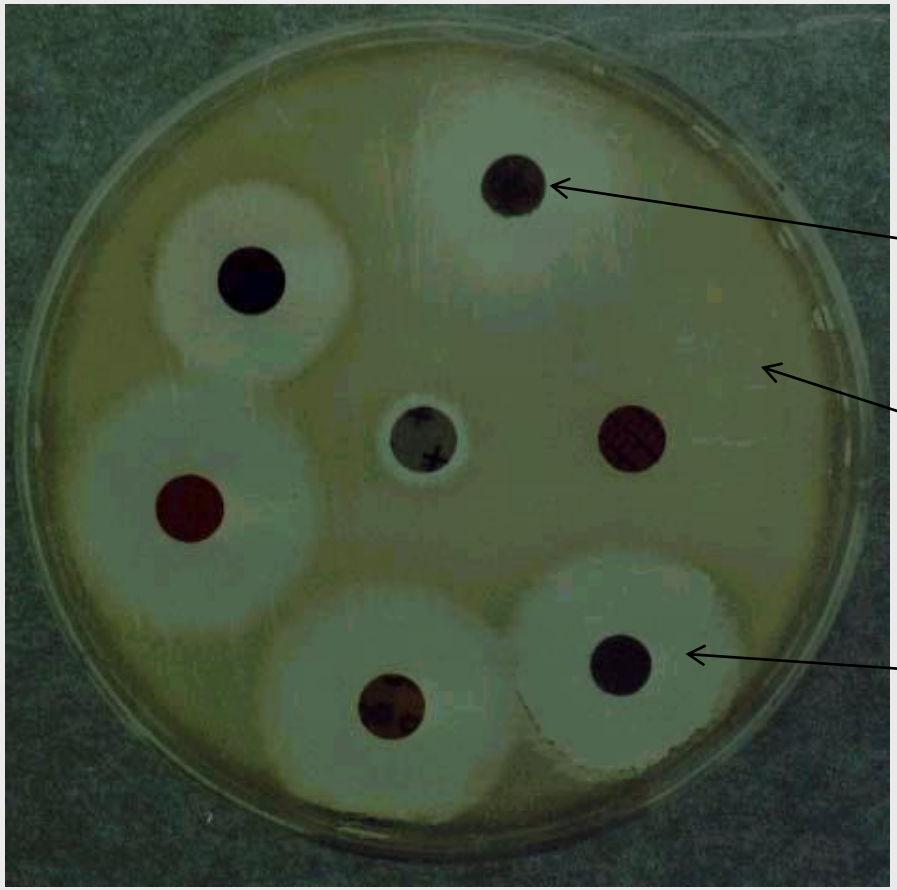
6. Trocken mit Fließpapier

7. Betrachten mit Immersionsöl mit hilfe von Lichtmikroskop

11. Ziehl-Neelsen Färbung Säurefeste Färbung

- Karbol-fuchsin (mit Filterpapier!)
  - erhitzung 3-mal bis zur Dämpfung
- Differenzierung mit HCl - Alkohol
  - 3% HCl, 96% etanol
  - “Saurefeste”
- Spülen mit Wasser
- Nachfärbung mit Metilenblau 1-2’
- Trocken mit Fließpapier

MHK Bestimmung – Antibiotikum empfindlichkeit Reaktion mit Papierblätchen (“antibiogram”)



Papierblätchen mit Antibiotikum

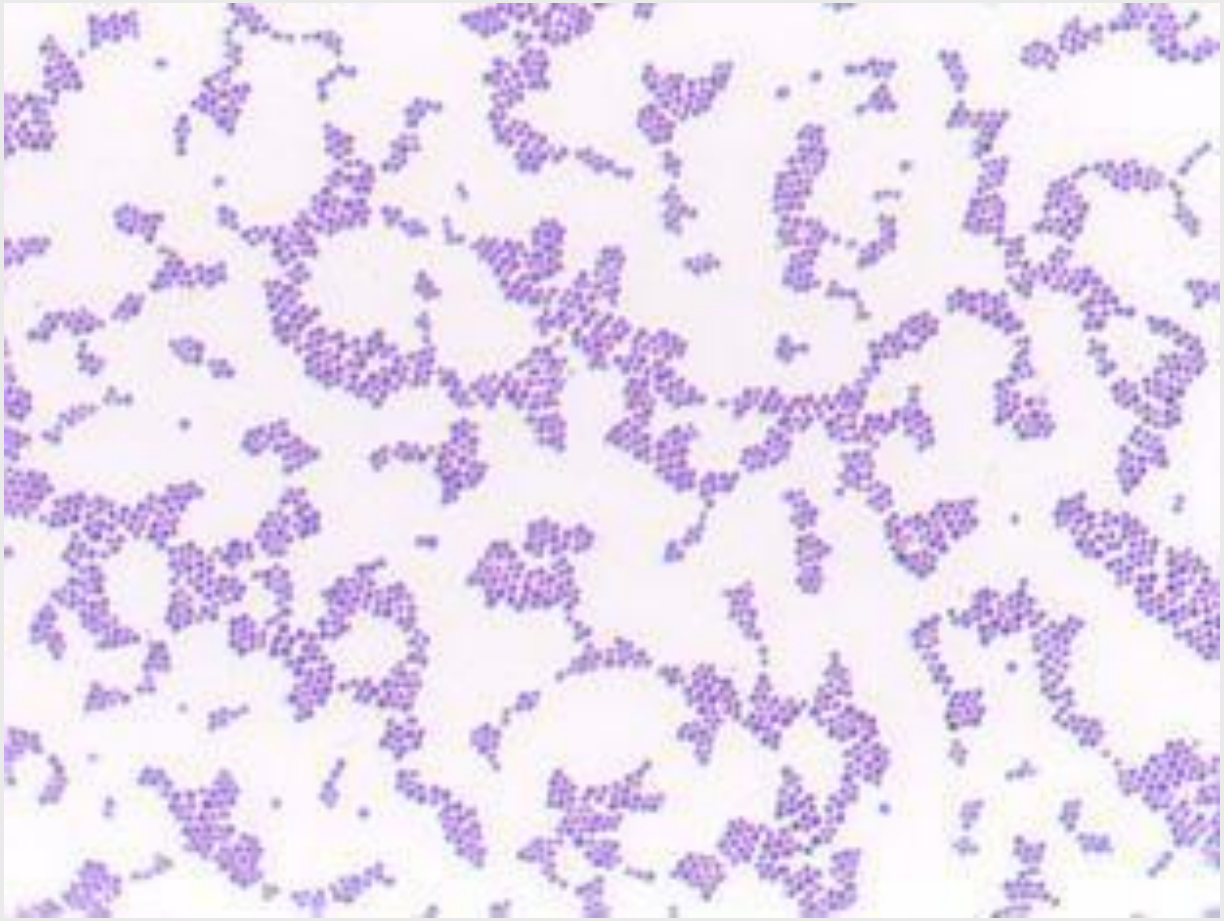
Bakterium Rasen

Hemmhof Durchmesser zeigt Empfindlichkeit oder Resistenz

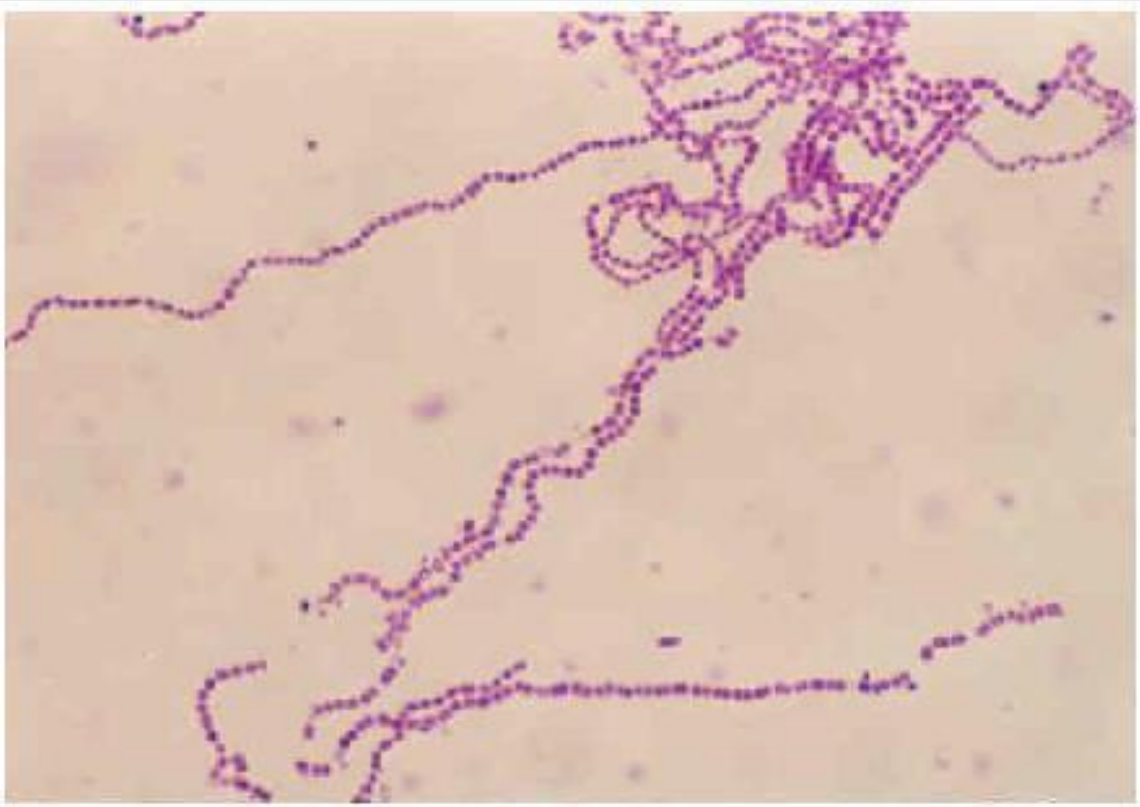
13. Identifikation mit biochemische Reaktionen

IV. Mikroskopische Präparaten

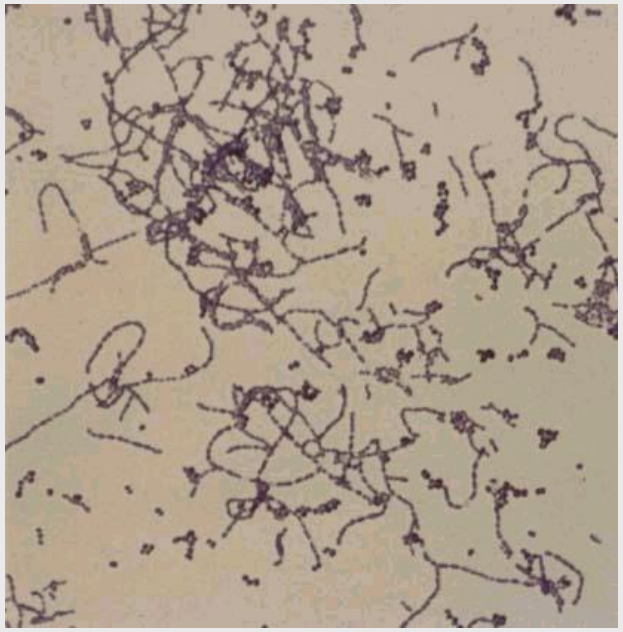
1.a *Staphylococcus* (Gram positive Kokken in Haufen)



1.b *Streptococcus pyogenes* (Gram positive Kokken in Ketten)

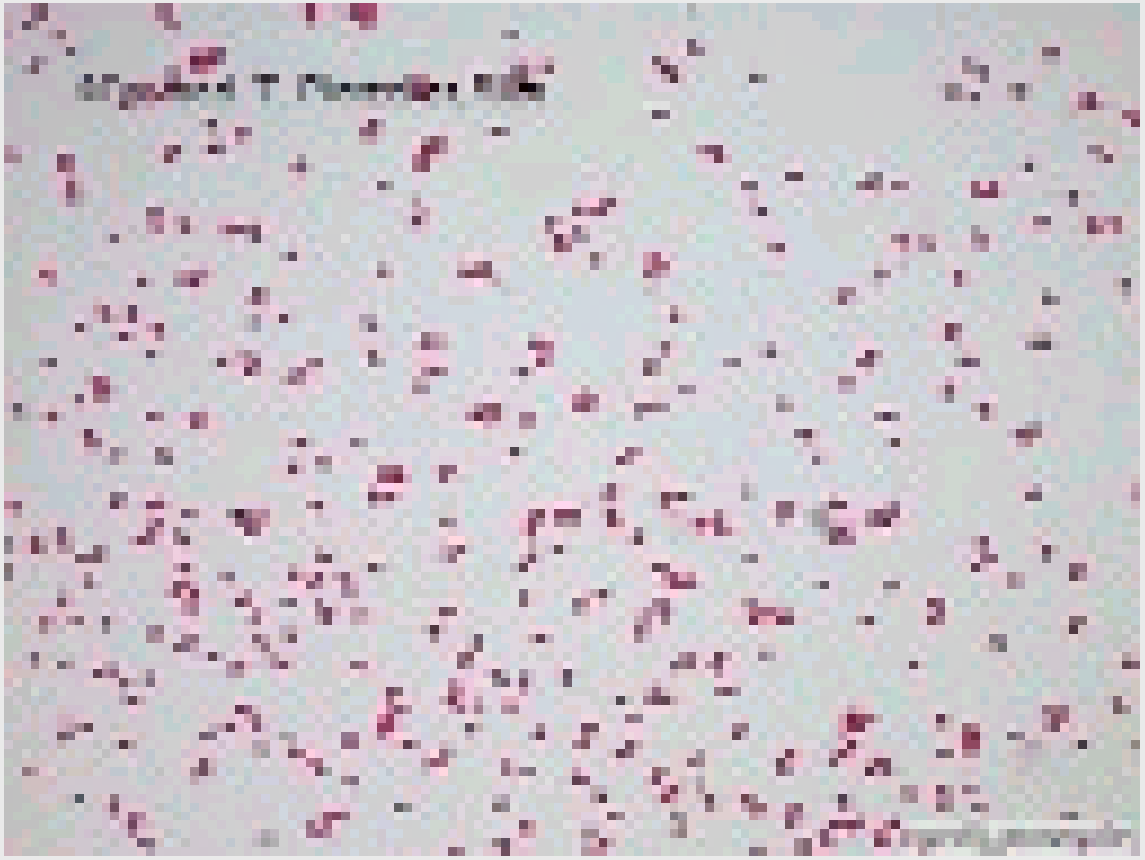


Gram pozitiv coccus (*Streptococcus pyogenes*)

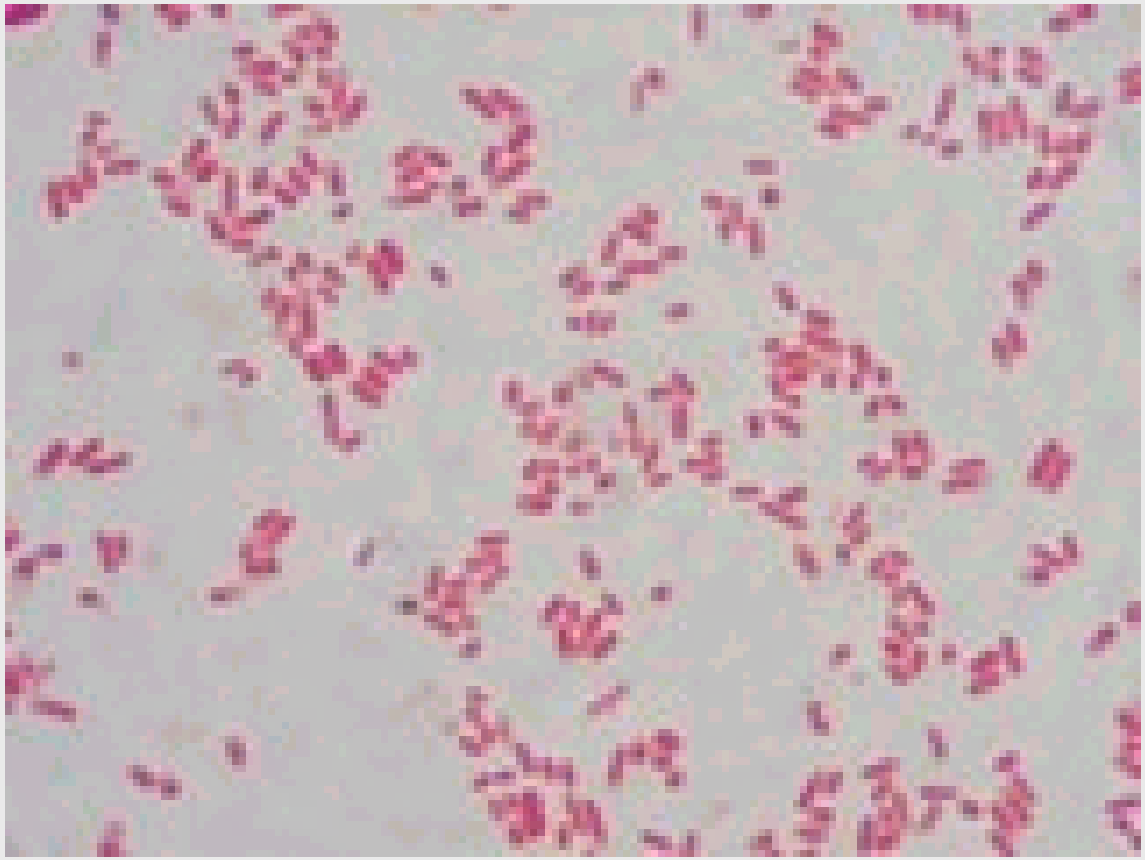


1.c *Streptococcus pneumoniae* (Gram positive Diplokokken)

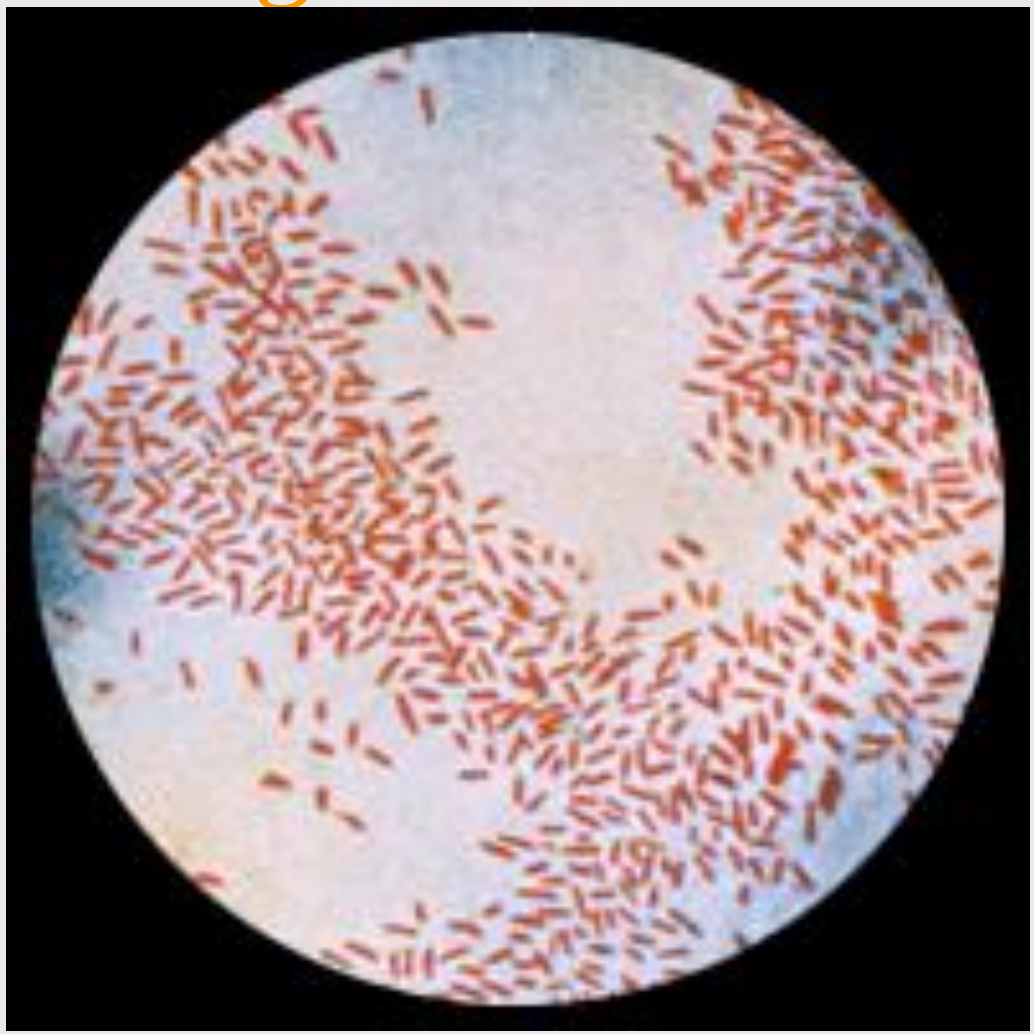
1.d *Neisseria*
(Gram negative Diplokokken)



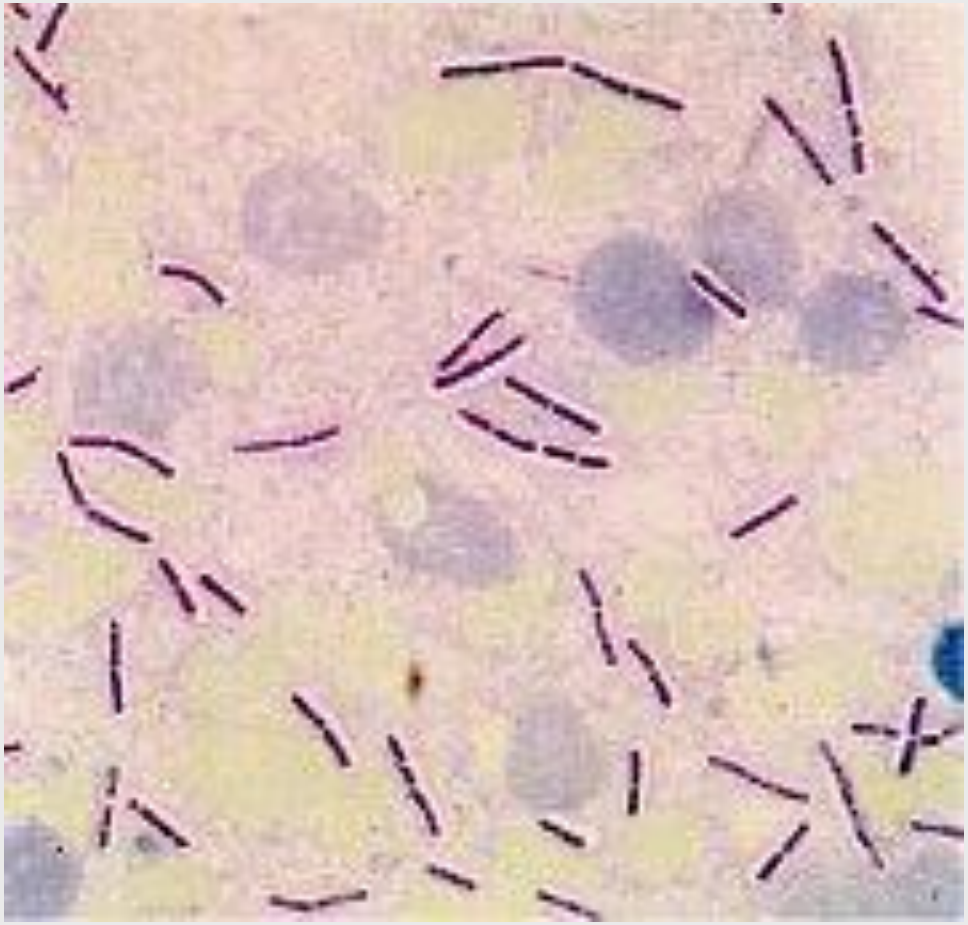
1.e *E. coli*
(Gram negative Stäbchen)

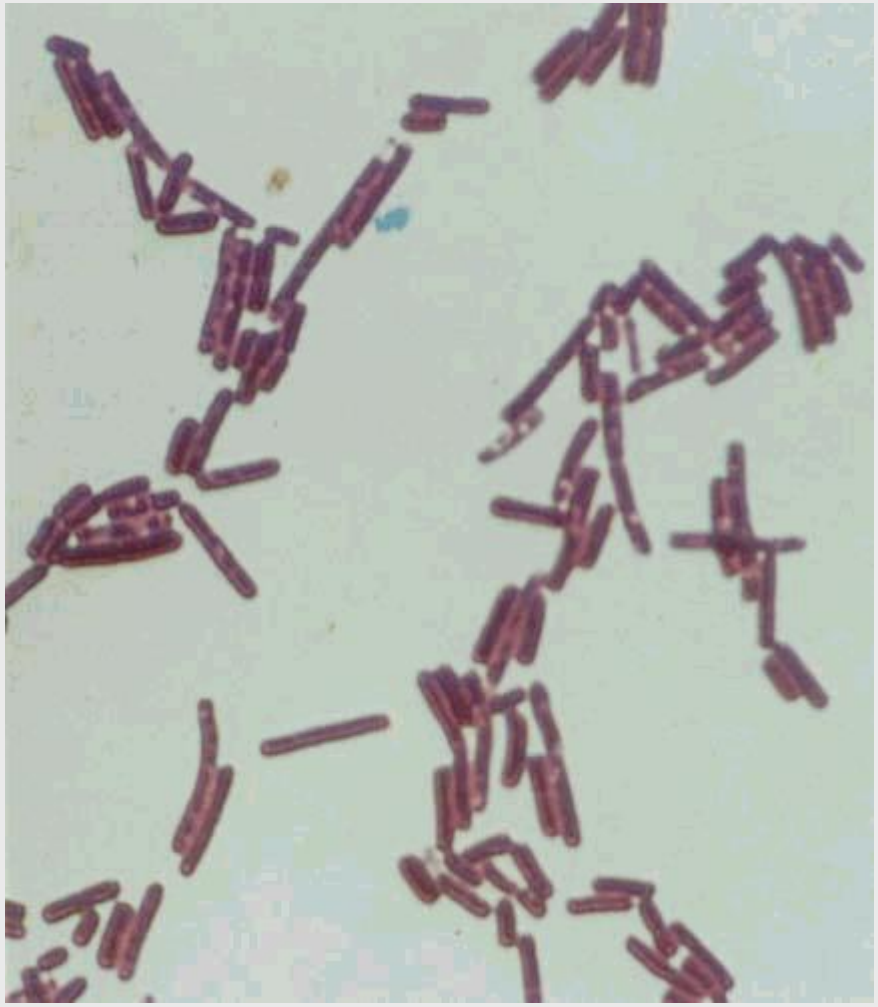


1.f *Haemophilus influenzae* (Gram negative Kokkobacilus)

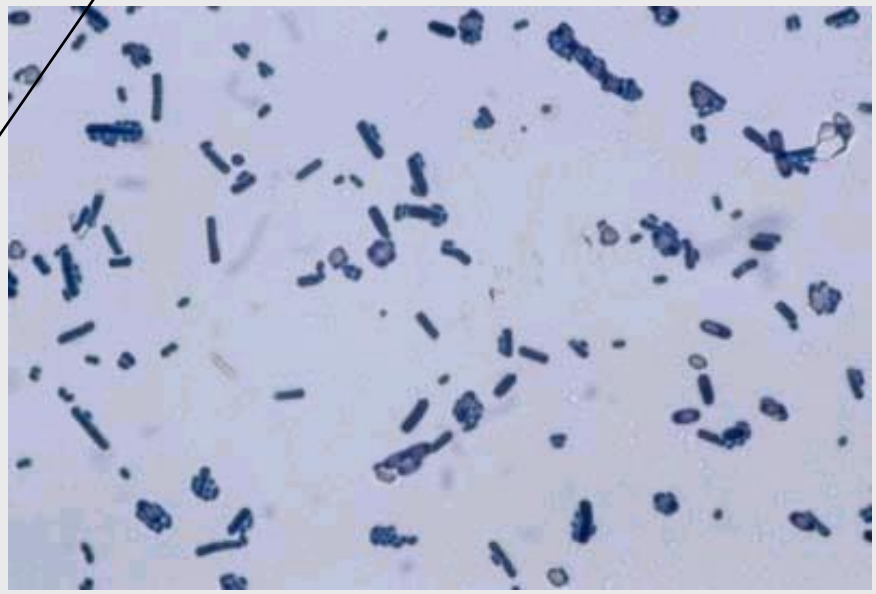


1.g *Bacillus*
(Gram positive Stäbchen mit Sporen)

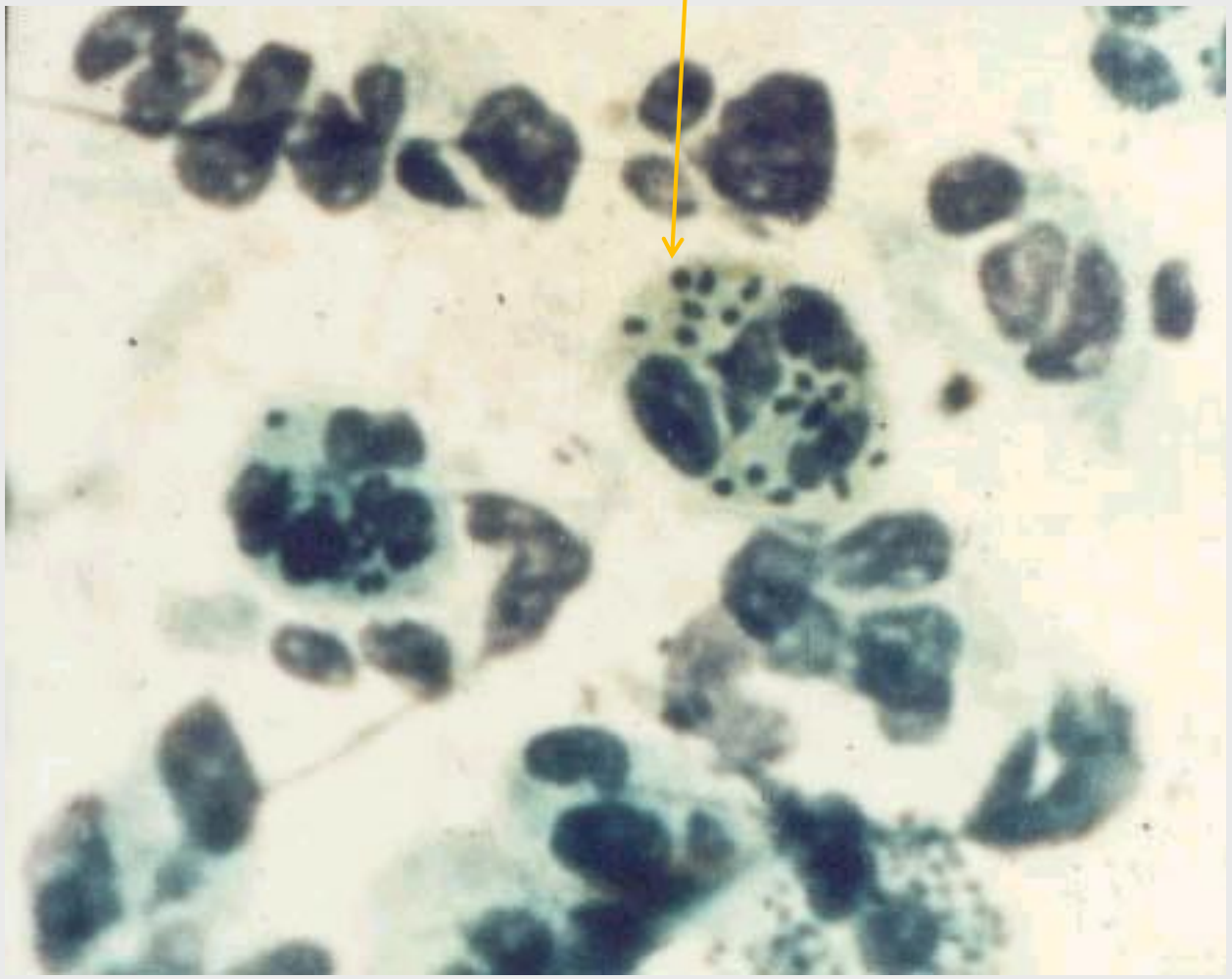




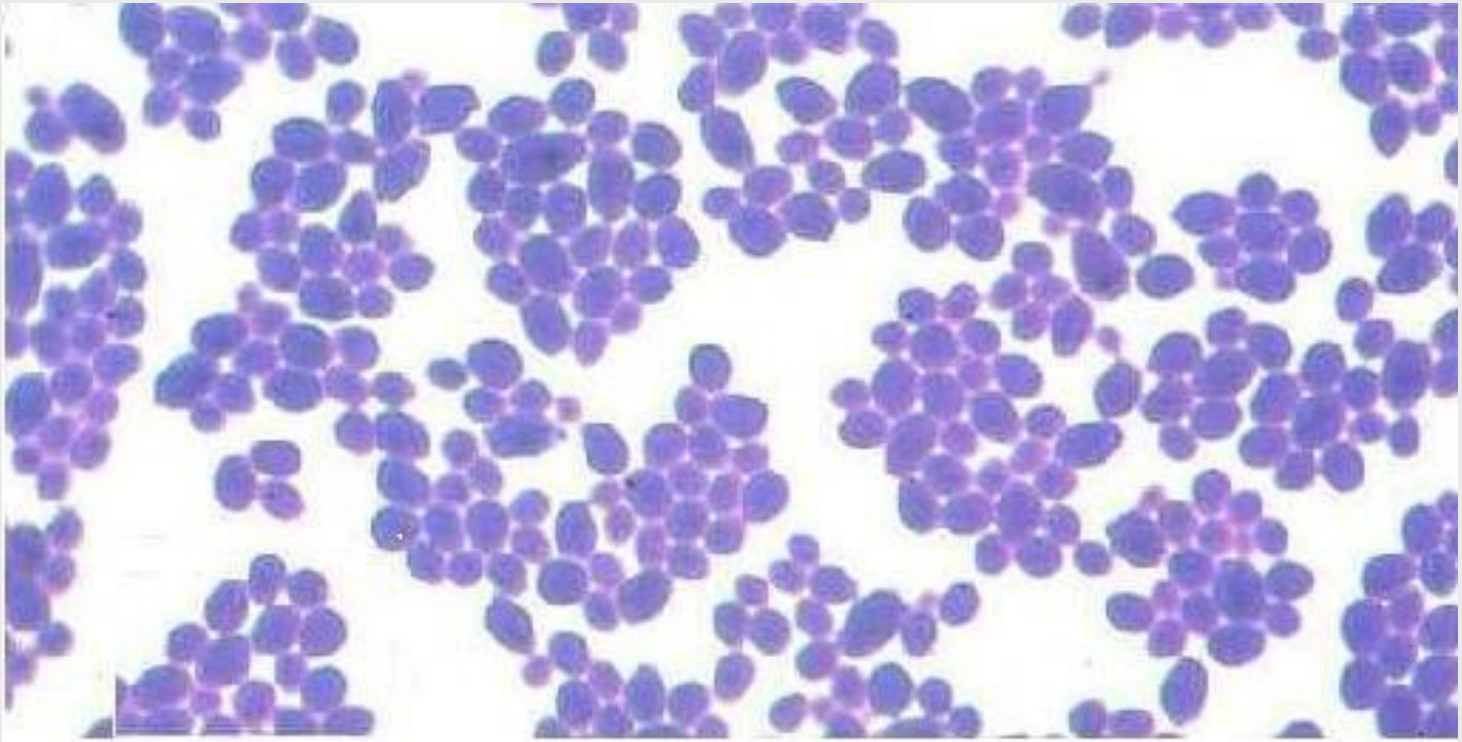
1.h *Clostridium tetani* und C. *perfringens* (Gram positive Stäbchen mit Sporen)



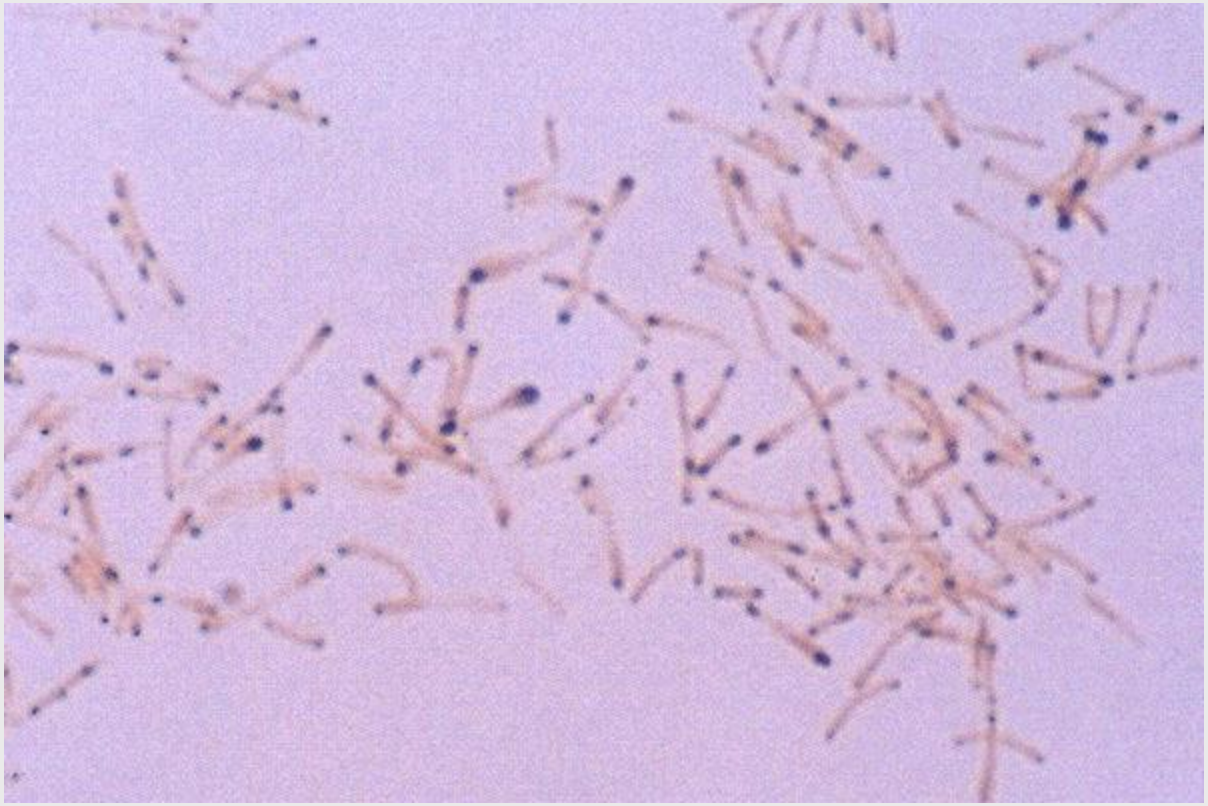
2.a *Neisseria gonorrheae* mit methylen Blau Färbung, Intrazellualre Diplokokken (in der Neutrophil Granulozyten)



2.b *Candida albicans* (5-7 µm Pilz) mit Methylenblau

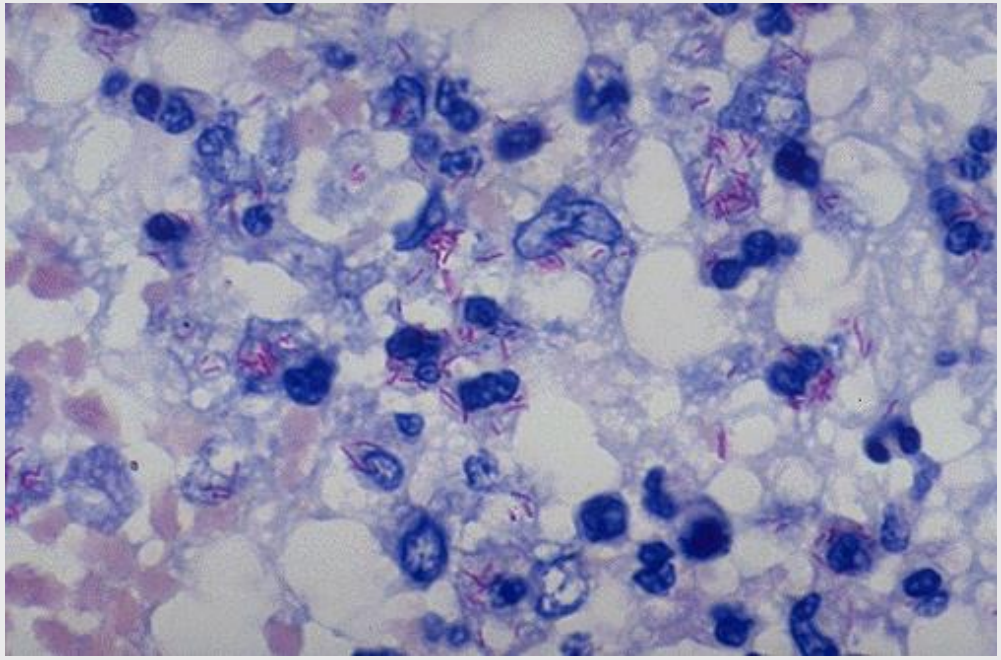


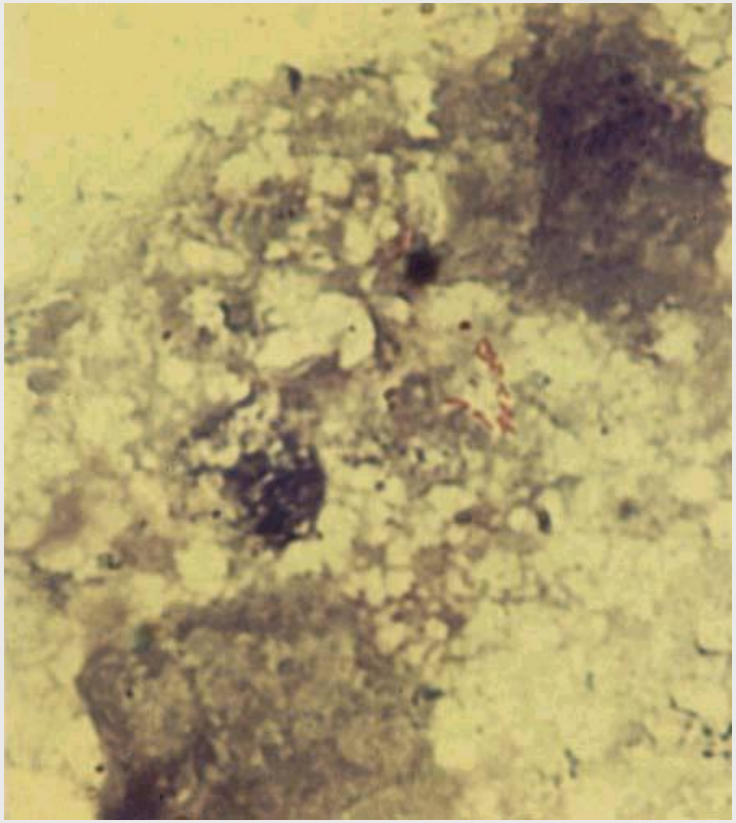
3. *Corynebacterium* - Neisser Färbung



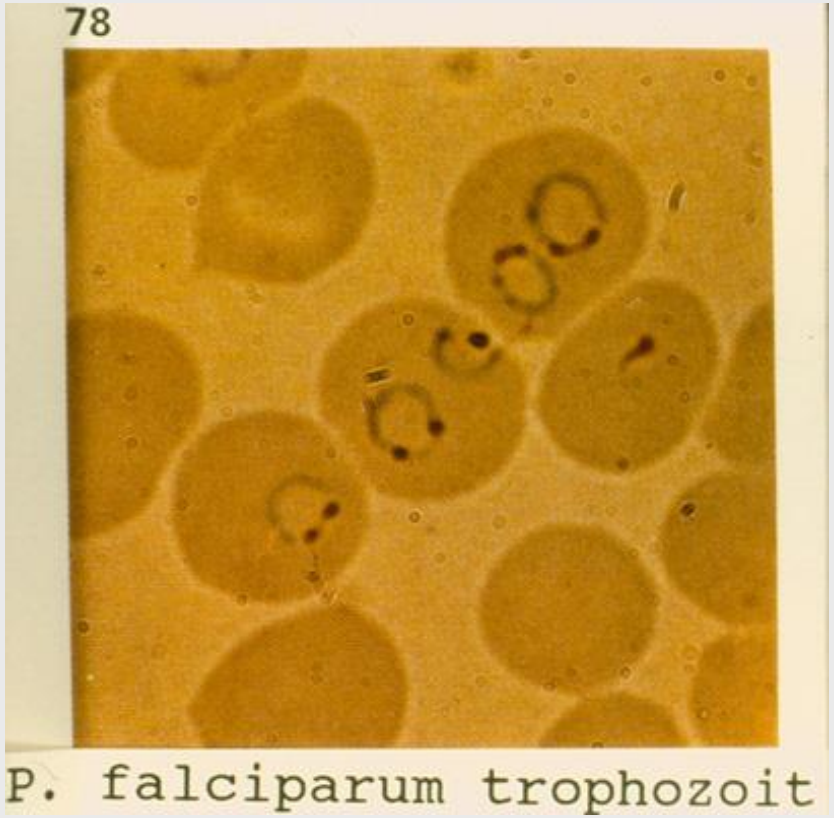
4. Silber impregantion: *Leptospira*

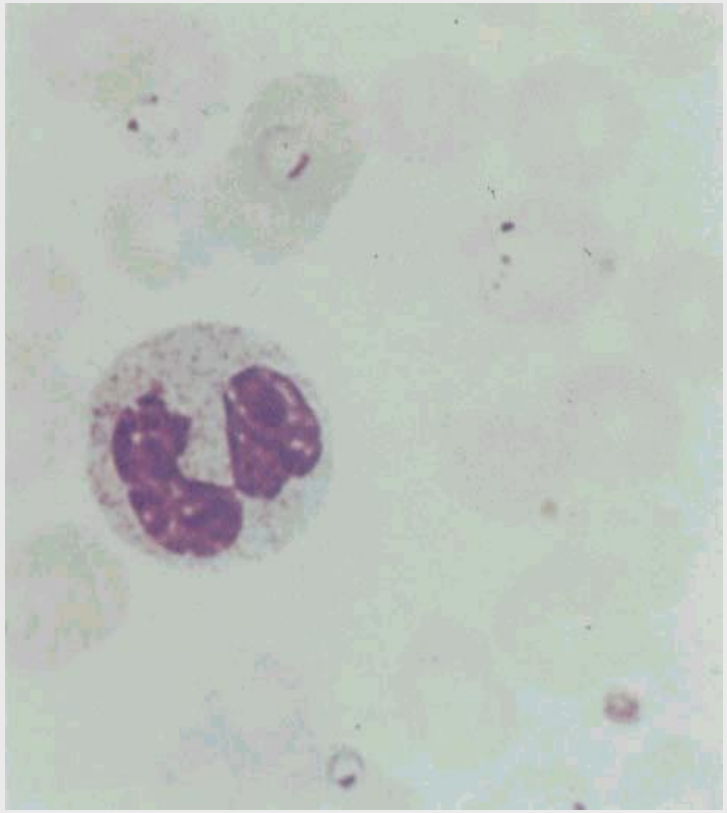
5. Ziehl-Neelsen Färbung: *Mycobacterium tuberculosis* aus dem Auswurf: rote Stäbchen mit blau Hintergrund



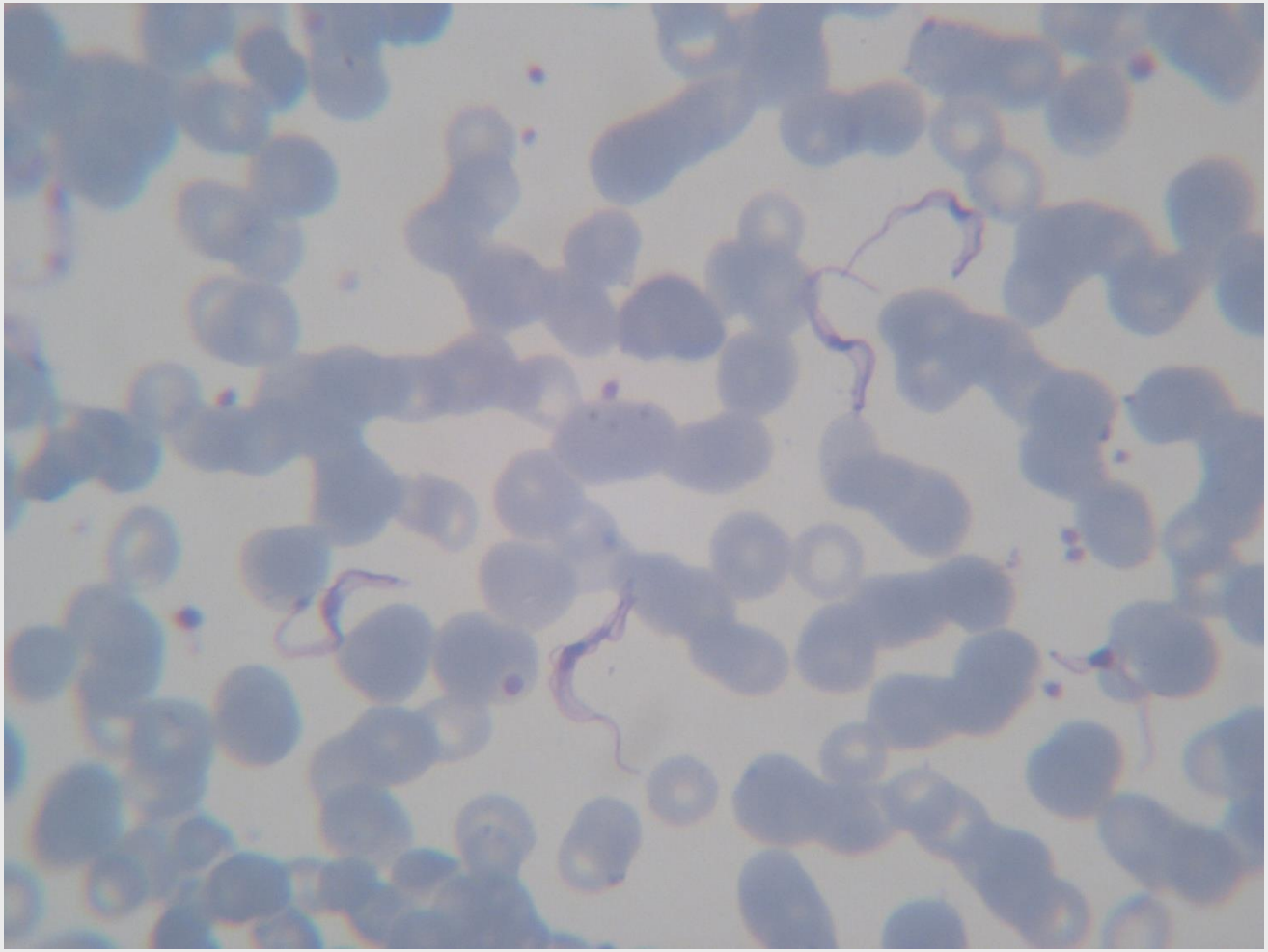


6.a *Plasmodium falciparum* Blutausstrich (Giemsa Färbung)





6.b *Trypanosoma brucei* Blutausstrich (Giemsa Färbung)



6. Anorectal Zellux (Klebeband) Präparat (*Enterobius Ei* 200µm)

Vizsgálati anyag vétele
féreg fertőzésben

VI. Laborarbeit

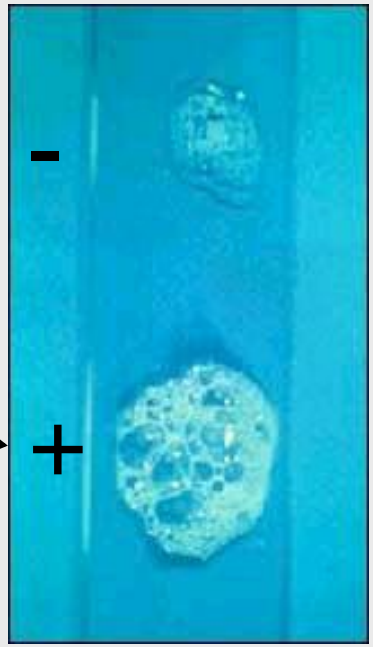
Katalase Test

<u>Katalase positiv</u>: *Staphylokokken*

<u>Katalase negativ</u>: *Streptokokken*

- Objektträger
- In 1 Tröpfchen H_2O_2 verreibt Man 1-2 Kolonien

Positiv: frei O_2 kommt vor (Wasserblase)



Katalase Reaktion

$H_2O_2 \rightarrow H_2O + O_2$

Clumping (koagulase) Test

Koagulase positiv: *Staphylococcus aureus*

Koagulase negativ: andere Staphylokokken

- “Staphaurex”: 1-2 Tröpfchen Latexpartikel mit spezifische Antikörper gegen Clumpingfaktor ,
- verreibt Man 1-2 Kolonien
- Positiv → agglutination

Oxidase Test

Oxidase positiv:

Pseudomonas, Neisseria, Vibrio,

Überprüfung von Zitokrom-oxidase Enzym

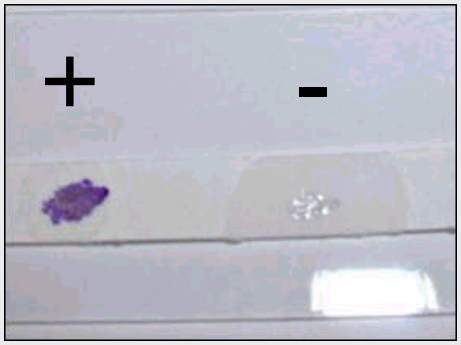
Objektträger mit Filterpapier

1 Tröpfchen Oxidase Reagent

Verreibt Man 1-2 Bakterium Kolonien

Positiv: lila

Negativ: farblos



Indol Test

- **Indol Test** ist für die Überprüfung von Triptofan Verbrauch . Bei die Triptophan Verbraucheren Bakterien ein roter Ring (triptofanase Enzym) zeigt positivität.

Indol positiv: *E. coli*

Indoltermelés kimutatása:
a peptonvízes baktériumtenyészetet amilalkoholban oldott sósavas paradimetil-amino-benzaldehiddel összerázva pozitív esetben az amilalkoholos fázis élénk vörös színű lesz

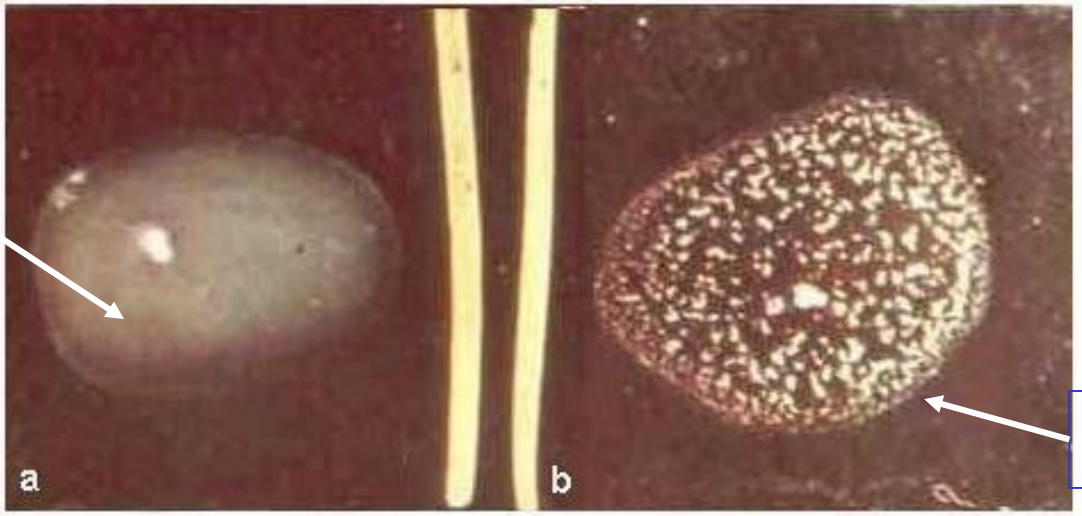
1. kontroll
2. negatív (Klebsiella)
3. pozitív (*E. coli*)

6. Objektträgeraggglutination mit *E. coli*

NEGATIV

POSITIV

Bakterium suspension in Fisiologisches Wasser (negativ kontroll)



Serum mit 1-2 Bakterium Kolonien

Agglutination

Tárgylemez agglutináció (szerotipizálás, qualitatív reakció, a: negatív, b: pozitív, rögös kicsapódás)