

ALLGEMEINE MIKROBIOLOGIE UND BAKTERIOLOGIE– THEMATIK DER PRAKTIKEN (SZEGED)

II. Jahrgang Studienjahr 2020/2021. Semester 2

Woche 1 | 12. Februar

Sterilisation und Desinfektion

Sterilisation: physikalische und chemische Methoden
Desinfektionsmittel
Prüfung des Desinfektionserfolges
Sterilitätsprüfung
Bakterienzählung

Woche 2 | 19. Februar

Mikroskopische Untersuchungsverfahren

Vorsichtsmaßnahmen, Mikrobiologischer Arbeitsplatz
Nativpräparate (Deckglaspräparat, Vitalfärbung)
Dunkelfeldmikroskopie
Gefärbte Präparate: Einfache und kombinierte Färbungen
Herstellung der Präparate
Methylenblau-Färbung, Gram-Färbung
Negativdarstellung mit Tusche

Aufgabe: Die Studenten werden die Methylenblau- und Gram-Färbung durchführen.

Woche 3 | 26. Februar

Serologische Untersuchungsverfahren

Agglutination
Präzipitation
Fluoreszenz-Antikörper Technik
ELISA
Zytolytische Reaktionen: Hämolyse, Bakteriolyse
Komplementbindungsreaktion
Western-blot
Immunkromatographie

Woche 4. | 5. März

Züchtung der Bakterien

Nährböden (flüssige, feste, transport, anreicherungs)
Kultivierung auf den flüssigen und festen Nährmedien
Kolonieformen
Nachweis des Keimgehaltes der Raumluft
Aerobe, anaerobe Züchtung. Microaerophile.
Indikator-Differenzierungs-Selektivnährböden

Aufgabe (1): Die Studenten werden *Staphylococcus epidermidis* und *Escherichia coli* auf dem Agarmedium züchten.

Aufgabe (2): Die Bestimmung von Keimzahl in der Luft des Praktikumslabors. Zwei Blutagarmedien müssen für 5 Minuten und andere zwei Blutagarmedien für 60 Minuten im Labor geöffnet lassen. Zwei Medien müssen auf 20°C und andere 2 Medien auf 37°C im Thermostat inkubiert werden.

Woche 5	12. März
----------------	-----------------

Antimikrobielle Chemotherapie

Prüfung der antimikrobiellen Wirksamkeit der Antibiotika und

Chemotherapeutika:

Reihenverdünnungsmethoden (Röhrchen- und Agarverdünnungstest)

Agardiffusionstest (Loch- und Papierblättchentest)

Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration und Bakterizid

Konzentration eines Chemotherapeutikums

Resistenzprüfungen

Woche 6	19. März
----------------	-----------------

Staphylokokken

1. Reinkulturen:

S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus auf dem Agarmedium und **auf** dem Blutagarmedium. *S. aureus* im Bouillon Medium mit Dextrose.

2. Biochemische Reaktionen der Staphylokokken

(a) **Katalase-Reaktion**

(b) Koagulase Test: Rohr- und Objektträger Test (Clump test). Der Clump Test kann mit *S. aureus* (+) und *S. epidermidis* durchgeführt werden.

(c) Novobiocin Empfindlichkeit Test: *S. saprophyticus* (R) und *S. epidermidis* (E)

3. Antibiotikum Empfindlichkeit Test:

(a) *S. aureus*: MSSA und MRSA mit Cefoxitin Papierblättchen,

(b) Die Untersuchung von *mecA*-Gen mit PCR (Agargelphoto)

(c) Koagulase negative Staphylokokken: Kreuzempfindlichkeit, Kreuzresistenz.

Aufgabe (1): Die Studenten werden der Antibiotikumempfindlichkeit Test mit Papierblättchen und E-Test MRSA, MSSA dem Müller-Hinton Agarmedium durchführen.

Aufgabe: Die Auswertung von Antibiotikumempfindlichkeit Test nach EUCAST. Antibiogram

Streptokokken

1. (a) ***Streptococcus pyogenes*** und ***S. agalactiae*** Reinkulturen auf dem Blutagarmedium, *S. pyogenes* im Bouillon Medium

(b) **Lancefield-Typsierung**

(c) **CAMP-Test**: *S. agalactiae* (+), *S. pyogenes* (–)

2. ***S. pneumoniae*** und ***S. mitis*** Reinkulturen auf dem Blutagarmedium

Optochin Empfindlichkeit: ***S. pneumoniae*** (E) und ***S. mitis*** (R)

S. pneumoniae Serotypisierung mit Objektträger Agglutination (Slidex Pneumo Kit)

Impfstoffe (Pneumovax, Prevenar 13)

3. *Enterococcus faecalis* Reinkultur auf dem Blutagarmedium,

***E. faecalis* auf dem Uricult Plus Nährmedium**

5. **AST, CRP**

6. Antibiotikum Empfindlichkeit Test

(a) *S. pyogenes* (Penicillin empfindlich, Makrolid resistent)

(b) *E. faecalis* (Cefalosporin resistent, vancomycin empfindlich, ampicillin und aminoglykosid Sinergismus, vancomycin und aminoglykosid Sinergismus)

7. Mikroskopische Präparate: ***S. pyogenes*, *S. pneumoniae* nach Gram-Färbung**

Gram-negative Kokken

- (A) *Neisseria* genus und *Moraxella* genus
 - (a) *N. meningitidis*, *N. pharyngitidis* Reinkulturen auf dem selektive Nährmedium
 - (b) **Oxidase Test** mit nicht pathogen *Neisseria sp.*
 - (c) Die Entnahme und Züchtung von Proben in Gonorrhö (Gonoline)
 - (d) Mikroskopische Präparate: ***Neisseria sp.* aus einer Reinkultur nach Gram-Färbung. Methylene Blau gefärbtes** Präparat aus einer Ausscheidung in Gonorrhö.
 - (f) Wellcogen Video (Antigen Nachweis mit Schnelltest in Meningitis)

Gram-negative Kokkobazillen

- (A) *Haemophilus* genus
 - (a) Reinkulturen: ***H. influenzae* auf dem Kochblutagar**
 - (b) **Ammenphenomenon auf dem Blutagar: *H. influenzae***
 - (c) **X- und V- Faktor Papierblättchen** (Sims) auf dem Nähragarmedium: ***H. influenzae* (XV+) und *H. parainfluenzae* (XV+, V+)**
 - (d) **Vancomycin resistent**, Ampicillin empfindlich und resistent ***H. influenzae*** Stämme auf dem Nähragarmedium
 - (e) **Impfstoffe** (pl. Act-HIB, Hiberix, PedvaxHIB)
 - (f) Mikroskopisches Präparat: ***Haemophilus sp.* nach Gram-Färbung**
- (B) *Bordetella* genus
 - (b) Steril Bordet-Gengou Nähragarmedium für die Züchtung von *Bordetella spp.*
- (C) *Brucella* genus
 - (a) **Wright -Rörchenagglutination.**
- (D) *Francisella* genus und *Y. pestis*

Gram negativ pleomorph Stäbchen

Acinetobacter genus
Acinetobacter Reinkultur

Gram-negativ aerob Stäbchen

- (A) *Pseudomonas* genus
 - P. aeruginosa* auf dem Agar- und Blutagar** Reinkulturen
 - (a) **Oxidase Reaktion auf dem Objektträger**
 - (b) *P. aeruginosa* auf dem OF-Medium (oxidativ Glukose Metabolismus)
 - (c) Antibiotikum Empfindlichkeit Test, Poliresistent *P. aeruginosa*
 - (B) *Legionella* genus
 - (a) Steril BCYE (Buffered Charcoal Yeast Extract) Agar und *Legionella pneumophila* Reinkulturen, BinaxNow Legionella Test
- Impfstoffe** (Vorgeschriebene: DPT, HiB; Empfohlene: Meningococcus, Tularaemie, Bruzellose), **Impfkalender**

Aufgabe: Die Studenten werden die Nasen und Rachenabstriche auf den Blut-, Kochblut- und Clauberg Agarmedien züchten

Woche 10	16. April
-----------------	------------------

Corynebacterium, Laktobazillen

Corynebacterium

(A) ***Corynebacterium diphtheriae*** auf dem Löffler und Clauberg Nährmedium

(B) Virulenz-Test. **Die Überprüfung von Toxin bildende *C. diphtheriae*:**

Elek-Test, Römer Test

(C) **Impfstoffe** (DPT, DT)

(D) Antitoxin

Mikroskopisches Präparat: ***C. diphtheriae* nach Neisser-Färbung**

Regulär, Gram-positive nicht Sporen bildende Stäbchen:

(A) *Lactobacillus*

(a) Reinkultut auf dem Rogosa-Agar

(b) Präparate: Probiotikum, Prebiotikum, Bonolact

(c) Mikroskopisches Präparat: *Lactobacillus* sp.

(B) *Listeria monocytogenes* auf Agar und Blutagatmedium

(C) *Erysipelothrix rhusiopathiae*

Aufgabe: Neisser-Färbung

Gram-positiv Sporen bildende Bakterien

- A. Gram-positiv aerob Sporen bildende Bakterien: *Bacillus* genus
 - (a) ***Bacillus cereus* auf dem Agar, Blutagar und Eigelb Agar (Lecitinase +)**
 - (b) Mikroskopisches Präparat: ***Bacillus sp.* nach Gram-Färbung**
- B. Gram-positiv anaerob Sporen bildende Bakterien: *Clostridium* genus
 - (a) ***C. tetani* und Gasbrand Clostridien in Holman und Tioglikolat Nährmedium**
 - (b) *C. perfringens* auf dem selektiv anaerob Blutagar (SAVA)
 - (c) **Impfstoffe, Antitoxin (TANAT, TETIG 500, Serum gegen Gasbrand, Antibotulique Serum)**
 - (d) Mikroskopisches Präparat: ***C. tetani* und Gasbrand Clostridien nach Gram-Färbung**
 - (e) *C. difficile* auf dem CCFA Agar und Schnell-Test

Microaerofil Bakterien

- (A) Methoden für **Microaerofil Züchtung** (Anaerob Jar, GasPack)
- (B) *Campylobacter, Helicobacter*
 - (b) *Campylobacter sp.* und *Helicobacter pylori* Reinkulturen
 - (b) Schnell Diagnostische Methoden
 - (c) Urea Atem-Test

Obligate anaerob Bakterien

- Bacteriodes-Gruppe, Prevotella, Porphyromonas, Fusobacterium, Peptostreptococcusok (*Fingoldia magna*)
- A. Methoden für Anaerob Züchtung: **Anaerostat, Thioglikolate, Holman**
- B. Nicht Sporen bildende obligate anaerob Bakterien
 - (a) Erreger Nachweis nach Fettsäure Bildung, MALDI-TOF
 - (b) Antibiotikum Empfindlichkeit Test für anaerob Bakterien. Agardilution und E-Test.
- C. Mikroskopisches Präparat: Plaut-Vincent angina

Gram-negativ fakultativ anaerob Stäbchen

1./ Enterobacteriaceae

(A) *E. coli*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Serratia*

- (a) ***E. coli* Reinkultur auf dem Agar und auf dem Eozin-Methylen-Blau Agar**
- (b) ***Proteus* schwärmt auf dem Agar.**
- (c) ***Proteus* wächst auf dem Eozin-Methylen-Blau Agar ohne Schwärmen**
(wegen einem Hemmstoff)
- (d) ***Klebsiella sp.* auf dem Agar und auf dem Eozin-Methylen-Blau Agar**
- (e) *S. marscescens* auf dem Agar (rotes Pigment)

(B) *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*

- (a) ***S. typhi* und *E. coli* auf dem Brillantgrün Agar**
- (b) ***S. typhi* auf dem Bizmut-sulfit Agar**
- (b) Biochemische Reaktionen der Salmonellen und Shigellen
- (c) **Gruber-Widal Reaktion**
- (d) **Impfstoff:** monovalent Typhus Impfung
- (e) ***Shigella sp.* und *E. coli* auf dem EMB und Deoxy-Cholat-Zitrat Agar**
- (f) *Y. enterocolitica* auf dem **Deoxy-Cholat-Zitrat Agar**

(C) Biochemische Reaktionen

- (a) Ureum-Test (**Christensen-Nährmedium**, *Klebsiella sp.* +)
- (b) **Indol-Reaktion** (*E.coli* +)
- (c) H₂S Bildung (**H₂S-Hochagar, Bizmut-Sulfit Agar:** *Proteus* +, *Salmonella* +)
- (d) TSI-Agar Kohlenhydrat Metabolismus und Gas Bildung

(D) Mikroskopische Präparate: ***E. coli* nach Gram-Färbung**, L-Form, negative Darstellung mit Tusche (für Kapsel Nachweis bei *Klebsiella sp.*)

2./ Vibrionaceae

TCBS Nährmedium

(a) Impfstoffe gegen Cholera

Aufgabe: Objektträger Agglutination mit *E. coli*, Serotypisierung mit Polyvalent und Spezifisch Serum

Säure feste Bakterien

1. *Mycobacterium* genus

(a) ***M. tuberculosis*** auf dem **Löwenstein-Jensen Agar** und im **Sula Medium**

(b) Apatogen und atypische Mykobakterien auf dem **Löwenstein-Jensen Agar**

(c) **PCR und Schnell-Test in der Untersuchung von Tuberkulose Krankheit**

Mikroskopisches Präparat: direkt **Koch-positiv** Sputum nach **Ziehl-Neelsen-**

Färbung

Impfstoffe (BCG), Impfkalender

Tuberkulin Reaktion

2. *Nocardia* genus in einer geschlossenen Petri Schale

3. *Actinomyces* auf dem Blutagar in einer geschlossenen Petri Schale

4. *Streptomyces* sp. auf dem Nährmedium

Aufgabe: Ziehl-Neelsen Färbung

Spirochaeten1. *Treponema* genus(a) Serologie: **VDRL, RPR, FTA, TPHA**, TIT (Nelson)

(b) PCR in der Diagnose von Syphilis

(c) Mikroskopisches Präparat: Plaut-Vincent angina2. *Leptospira* genus(a) *Leptospira* mikroskopisches Präparat nach Silber-Impregnation(b) **Steril Korthof** Nährmedium und **Leptospira Kultur im Korthof**-Nährmedium3. *Borrelia* genus

(a) Zecke, die Entfernung von Zecken

(b) ELISA und PCR

Woche 15	21. Mai
-----------------	----------------

1. Rickettsien
Rickettsia prowazekii
 - (a) Laus auf der Folie
 - (b) Züchtung von Rickettsien (Hühnerei, Zellkultur)
 - (c) **Weil-Félix** Reaktion
2. Chlamydien
 - (a) **Entnahme von Proben**
 - (b) Züchtung (steril McKoy- Zellkultur)
 - (c) Antikörper Nachweis: IF, ELISA
3. Mycoplasmen
 - (a) Züchtung: steril und beimpft flüssiges Mycoplasma Nährmedium (BEA, BEG, *Mycoplasma sp.* Kolonien auf dem fest Nährmedium (auf der Folie)
Antikörper Nachweis: IF, ELISA

5. Februar 2021

Prof. Dora Szabo
Direktorin

Dr. Bela Kocsis
Tutor