

## Festnähböden

Gewinnung von Einzelkolonien (3Ösenausstrich)

**Selektivnähboden:** Unterdrückung von Wachstum best. Bakterien durch Inhibitoren/ AB

- Mac Conkey für Enterobakterien:  
Unterdrückung gram+ Bakterien durch Kristallviolett und Gallensäure
- Löwenstein Jansen für Mykobakterien:  
Unterdrückung gram+ Bakterien durch Malachitgrün
- Sabouroud für Pilze: Chloramphenicol/ Streptomycin-Zusatz

**Differentialnähboden:** Indikatorreagenzien => bestimmte Stoffwechselleistungen sichtbar

- Hämolyse auf Blutagar
- Äskulinspaltung durch Enterokokken => schwarze Färbung
- Mac Conkey: Lactoseabbau => rote Kolonien (E.coli, Klebsiellen, Enterobacter, Citrobacter)

## Anaerobier

Wachsen nicht in Gegenwart von Sauerstoff

Katalase und Superoxiddismutase fehlen

⇒ reaktive Sauerstoffradikale werden nicht entgiftet

Symbiose bei niedrigem Redoxpotential: Symbiose mit Aerobiern

(Kläranlagen, Seen, Erdboden, Normalflora des Menschen)

Anaerobierreservoir: Darm > Mund > Vagina > Haut

Obligat Aerobier: Pseudomonas, Corynebakterien, Mycobacterien

Mirkoaerophile: +CO<sub>2</sub>, -O<sub>2</sub>

Haemophilus, Gonokokken, Mykoplasmen, Clamphylobacter

Obligate Anaerobier: Clostridien, Bacteroides, Peptostreptokokken, Fusobakterien, Aktinomyces

Fakultative Anaerobier: O<sub>2</sub>/ kein O<sub>2</sub>

Enterobacteriaceae, Streptokokken, Staphylokokken

## Obligate Anaerobier:

- Sporenbildner: Clostridien (+)
- Nicht-Sporenbildner:
  - Stäbchen:
    - Bacteroidaceae (-)
    - Fusobakterien(-)

- Propionibacteriae (+)
- Bifidobacterium (+)
- Kokken:
  - Peptostreptococci (+)
  - Peptococcus (+)
  - Veillonella (+)

### **Anaerobier Wundinfektionen:**

Voraussetzungen: exogen (Erdmaterial, Staub)

endogen (ausgehend von der Darmflora)

anaerobe Bedingungen: Durchblutungsstörung, Nekrose, Sekretablagerung

Risikoverletzungen: Quetschungen, große Wundhöhlen bei Amputationen, Pfählungsverletzungen

- Abszesse (Hirn, Lunge, Leber)
- Aspirations Inf.
- Dentogene Inf.
- Intraabdominelle Inf.
- Otolaryngologische Inf.
- Wundinfektionen

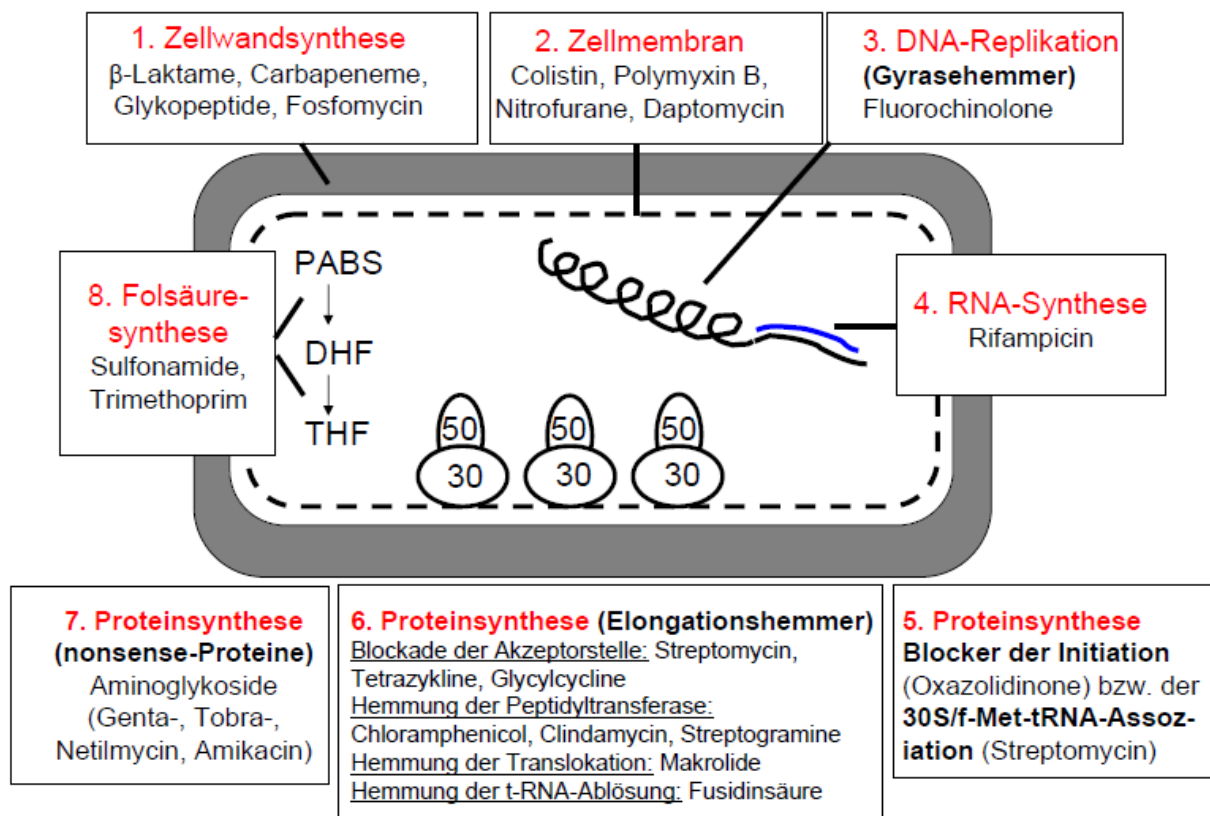
*Transport und Technik:*

- Thioglykolat-Bouillon
- Gas Pak Topf
- Anaerobier Brutschrank

## Pharmakologische Grundlagen der AB-Therapie

- Indikationsstellung (wen wann wie)
- Kalk. Initialtherapie
- Erregernachweis => rationale Therapie
- Antibioogramm => gezielte Therapie
  
- **Dosierung**
  - o Ineffektiv bei zu geringer Dosis
  - o Resistenzen (Selektion)
  - o Therapeut. Breite
- **Applikationsart:** I.v., Oral, sequential
- **Applikationsintervall:**
  - o Spitzen-/ Talspiegel
  - o Nieren-/ Leberinsuffizienz
- **Therapiedauer:** Standard-/ Einmal-/ Langzeit-/ Dauertherapie

### Angriffsorte von Antibiotika in Bakterien



### AB- Einteilung nach Wirkspektrum

1. **Breitspektrum:** Kalkulierte Initialtherapie („Blindtherapie“) bei schweren lebensbedrohlichen Infektionen z.B. Carbapeneme

2. **Schmalspektrum:** z.B. Penicillin G, Flucloxacillin  
gezielte Therapie nach mikrobiologischer Diagnostik und Resistenzbestimmung
3. **Reserve AB:** für ausgewählte Situationen (bei multiresistenten Erregern)  
z.B. Linezolid, Quinup, Dalfopristin

**MHK** = Minimale Hemmkonstante

**MBK** = Minimale bakterizide Konstante

MBK > MHK

MHK leichter zu bestimmen:

- ⇒ **Quant. Reihenverdünnungstest** in Röhrchen: serielle Runterverdünnung des AB, Etest
- ⇒ **Qual. Agardiffusionstest:** Hemmhofdurchmesser um Abplättchen
  - Hemmhof => Ab wirkt
  - Bakterium wächst => Keim ist Resistent gegen AB

**Oxacillin-Platte:** Agar = NaCl + Oxacillin  
Break point  
Wachstum => Resistenz  
Kein Wachstum => Oxacillin wirkt

### **Bakterielle Resistenzmechanismen**

- Inaktivierung des AB
- Verringerung der Zellwandpermeabilität
- Aktiver Efflux des AB
- Veränderung od. Überproduktion des Zielmoleküls

### **Resistenztypen**

- natürlich: beta-Laktamase bei Mykoplasmen
- chromosomale: Mutierte PBP bei MRSA
- plasmidkodierte: extended spctren beta lactamases bei E.coli, Klebsiellen

### **Ursachen der AB-Rsistenzen:**

- Selektion durch irrationale Therapie oder Prophylaxe
- Mangelnde Compliance des Patienten
- Langzeitdekontamination bei Immunsupprimierten
- Verwendung von AB zur Tiermast z. B. Vancomycinresistente Enterokokken

## **Resistenz gegen beta-Laktamasen AB:**

### **1. beta-Laktamase Bildung**

- Hydrolytische Spaltung des beta-Laktamrings z.B. durch beta-Laktamasen von Staphylococccen
- Dadurch Unwirksamkeit von nicht-beta-lactamasen-stabilen AB z.B. Penicillin G, Ampicillin, Piperacillin

Nitrocefin Schnelltest

### **2. Methicillin-resistenter Staphylococcus aureus**

- Synthese von Transpeptidasen mit geringerer Affinität zu beta-Lactamasen
- I.d.R. weitere Resistenzen gg. Weiterer Ab
- Zunehmende Verbreitung als Hospitalkeimen
- Therapie:
  - o Glykopeptide (Vancomycin)
  - o Oxazolidinone (Linezolid)
  - o Zykl. Lipopeptid (Daptomycin)
  - o Nach Testung: Clindamycin, Fosfomycin, Rifampicin, Cotrimoxazol

### **3. mutierte penicillin bindende Proteine**

- wichtiger Mechanismus der Penicillin-Resistenz bei Pneumo-, Gono- und Meningokokken
- Unwirksamkeit von Penicillin G, Acylaminopenicillinen, staphylokokkenpenicillinen, Cephalosporine der 1. u. 2. Generation
- In D sehr selten
- Außerhalb mitteleuropas weit verbreitet (Spanien, Ungarn, Japan: 30-70% d. Pneumokokken)
- Therapie:
  - o Cephalosporine 3. Generation hoch dosiert
  - o Carbapeneme
  - o Glykopeptide

### **Carbapenemasen**

- plasmidkodiert
- u.a. bei Klebsiellen
- zunehmend Fälle
- KPC, VIM, Oxa

## Urogenitalinfektionen

### Oxacillin-Platte

- Break point Methode
- Agar enthält: 4%NaCl, 6µg/ml Oxacillin
- Auswertung:
  - o Wachstum = resistent
  - o Kein Wachstum = empfindlich

### HARNWEGSINFEKTE (HWI): Epidemiologie

- ambulant: 3% aller Patienten beim Hausarzt
- nosokomial: häufige Erkrankung (35-40%)
- 50% aller Frauen bekommen einen HWI
- Bakteriurie: Mann : Frau = 1 : 10

### HWI Prädisponierende Faktoren

- Kürze der weiblichen Urethra
- Störung des Harnabflusses
- Schwangerschaft
- Fremdkörper (Stent, Katheder)
- Diabetes mellitus

**Pyelonephritis:** Klopfschmerz im Nierenlager, Fieber, Leukozytose, BSG+, CRP

**Zystitis:** Dysurie, Pollakisurie (oft), evtl. Fieber, suprapubischer Schmerz

**Urethritis:** Dysurie (=> Schmerzen beim Wasserlassen)

- Unkomplizierte HWI:
  - o bei Frauen
  - o keine Grunderkrankung
- komplizierte HWI:
  - o bei Männern, Kindern, Schwangeren
  - o Pyelonephriden
  - o Bei Grunderkrankungen  
(z.B. Diabetes, Obstruktion, Fremdkörper, nach Nierentransplantation)

## Mikrobiologische Diagnostik

Sachgerechte Uringewinnung:

- Mittelstrahl
- Basenkatheter
- Blasenpunktion
- Nierenstoma/ Urothelfistel
  - ⇒ Leukozytenzahl
  - ⇒ Hemmstoffnachweis
  - ⇒ Keimzahl
  - ⇒ Differenzierung
  - ⇒ Antibiotogramm

### Art des Urins:

- **Mittelstrahlurin** und **Basenkatheterurin**: evtl. Urethraflora
  - ⇒ Lagerung bis zur mikrobiologischen Bearbeitung im Kühlschrank!
  - ⇒ Alternativ: Eintauchobjektträger  
(Objektträger in Urin eintauchen; abstreifen; Transportgefäß; Raumtemp.)
    - Mac Conkey: rot, nur gram- Bakterien wachsen
    - Cetrimid Agar => Pseudomonas aeruginosa wächst
    - Nähragar => alles wächst
- **Blasenpunktionsurin**: steril (wenn richtig unter sterilen Bedingungen punktiert)

### Interpretation von Mittelstrahlurin-Befunden:

Leukozyten/ ml	> 20.000	signifikant
	< 20.000	unauffällig
Keimzahl/ ml	> 100.000	signifikant
	10.000 – 100.000	verdächtig
	< 10.000	unauffällig

### Hemmstofftestung

- Urin enthält Hemmstoffe
  - ⇒ dort wo Urin ist/war wächst kein Bacillus subtilis
- jede Hemmung von Bacillus subtilis wird als Nachweis antibakterieller Hemmstoffe gewertet
- *Konsequenz*: bei Hemmstofftestung mind. 48stündige Bebrütung der Kulturen

### Erreger von ambulanten HWI

> 95% Monoinfektionen

- **E.coli** UPEC (Hämolysin, cytotoxic necrotizing factor, P Fibrinen, Typ 1 Fibrinen, Aerobactin, LPS, Kapsel)
- Enterokokken
- Enterobakterien (z.B. Proteus)
- Staph. Saprophyticus
- Pilze

### Pathogenese von UPEC

- Normalerweise führt die Aktivierung des TLR4 Signalwegs zur antibakteriellen Zellantwort
- TIR Protein blockiert diese Aktivierung des TLR4 Signalwegs
- Abgeschwächte Entzündungsantwort

### Erreger von nosokomialen HWI

< 95% Monoinfektionen

- E.coli 50%
- Klebsiella pneumoniae 14%
- Proteus Gruppe 8%
- Enterokokken 9%
- Pseudomonas aeruginosa 7%
- Enterobacter 4%
- Staphylococcus aureus, C. albicans, Streptococci

### Therapie

- von *unkomplizierten* HWI bei jungen Frauen:
  - ⇒ Trinkmenge steigern
  - ⇒ Einmaltherapie ohne Resistenzbestimmung mit Cotrimoxazol  
Evtl. Aminopenicillin, Oralcephalosporin, Gyrasehemmer
- *komplizierte* HWI
  - Ursachenforschung (Abflusshindernis, Nierensteine)
  - Trinkmenge steigern
  - Urinkontrollen nach 3 und nach 10 Tagen
  - AB Therapie >14Tage
  - Keimnachweis mit Resistenztestung

## Sexually transmitted Diseases (STD) – bakterielle Erreger

<b>Neisseria gonorrhoeae</b>	<b>Gonorrhoe</b>
<b>Chlamydia trachomatis</b>	<b>Zervicitis, Urethritis, Prostatitis</b>
<b>C. trachomatis (L1-3)</b>	<b>Lymphogranuloma venereum</b>
<b>Treponema pallidum</b>	<b>Lues</b>
Ureaplasma urealyticum	Urethritis
Haemophilus ducrei	Ulcer molle
Calymmatob. Granulomatis	Granuloma inguinale

## STD - nicht bakterielle Erreger

Candida albicans	Kolpitis
HSV 1 und 2	Herpes genitalis
HIV	AIDS
HBV, HCV	Hepatitis B, C
Papillomaviren	Condylomata accuminata
<b>Trichomonas vaginalis</b>	<b>Trichomoniasis</b>
Phthirus pubis	Phthiriasis
Sarcoptes scabiei	Scabies

⇒ **Koinfektionen!**

⇒ **Partnerbehandlung!**

## Bakterielle Vaginose

- häufigste mikrobiologische Ursache des Fluor vaginalis während der Geschlechtsreife
- **bakterielle Dysbalance: Gardnerella vaginalis**
- Klinik: homogener dünnflüssiger Fluor, fischartiger Amingeruch (insbesondere nach Alkalisierung mit 10% KOH = WIFF-Test), Scheiden pH > 4,5 Nachweis von **Clue cells**
- Therapie: Metronidazol, Clindamycin (2% Vaginalcreme), Wiederaufbau der Scheidenflora

## 4 Atemwegs-Infektionen

### Erreger der Tonsillopharyngitis (Angina tonsillaris)

- Rhinovirus	<20%
- Adenovirus	5-20%
- EBV	7-15%
- Coronavirus	5-10%
- Influenza	5-10%
- HSV, Coxavirus, RSV	
- Gruppe A Streptokokken (GSA)	5-20%
- Gruppe C, G-Streptokokken	5-10%
- Mycoplasma pneumoniae	2-10%
- Treponema/ Fusobakterien, Corynebacterium diphtheriae	
⇒ Mischinfektion	

### Angina Plaut-Vincenti

Erreger:	Fusobacterium nucleatum, Treponema vincenti (Fusospirochätose)
Klinik:	nekrotisierende Tonsillitis, meist einseitig, Foetor ex ore (=Mundgeruch), geringes Krankheitsgefühl
Pathologie:	unklar, Keime gehören zur Normalflora
Diagnose:	Klinischer Befund, gram-Präparat des Tonsillarabstrichs (=> pink!)
Therapie:	Penicillin, Clindamycin

### Pneumonie – rationale AB-Therapie

Pneumokokken	Penicillin
Mycoplasma pneumoniae	Tetracycline, Makrolide
Staphylococcus aureus*	Aminopenicillin + $\beta$ -Laktamase-Inhibitor, Cefazolin
Enterobakterien*	Piperacillin + $\beta$ -Laktamase-Inhibitor, Ceftriaxon
Legionella pneumophila	Makrolid, Gyrasehemmer
Candida albicans	Fluconazol, Amphotericin B
Cytomegalovirus	Gancyclovir
Ohne Keimnachweis*	Zienam, Vancomycin

\* in schweren Fällen: +Aminoglykosid

## Verlauf der Tuberkulose

Exposition (aerosol) => 30% Primärkomplex (Granulom)

- ⇒ 10% Tuberkulose (Lunge, Haut, Knochen, Niere, Darm)
- ⇒ 90% Latenz, Kontrolle => 10% Reaktivierung zur Tuberkulose

## Immunologie: Kontrolle von Mykobakterien

- abhängig von CD4 und CD8 T-Zellen
  - ⇒ bei T-Zelldefekt erhöhtes Risiko
- IFN $\gamma$  aktiviert Makrophagen zur Produktion von NO und anderen Effektormolekülen
- TNF $\alpha$  wichtig für Granulombildung
- Granulysin und Perforine

## **Pathologie: Granulombildung**

Granulom mit verkäsender Nekrose:

Characteristics of secondary reaction

X20 magnification

T-Zell Reaktion; meist CD4, vereinzelt CD8

X60 magnification

Epitheloid macrophage giant cells

Mykobakterielles Phagosom fusioniert nicht mit Lysosomen

PH von 5-6 bleibt erhalten

Röntgen Thorax: Tuberkel (Kringel)

## Therapie: zunehmende Resistenzentwicklung

TB durch Kombination von 4 AB für sechs Monate in >80% heilbar  
(Isoniazid, Rifampicin, Pyrazinamid, Ethambutol)

aber: Auftreten von Resistenzen seit Einführung der Tuberkulostatika bekannt

## Entwicklung von Resistenzen

- **MDR** Multiple Drug Resistance
  - Mind. gegen 2 Standardmittel
  - v.a. in Osteuropa (20% MDR in russ. Gefängnissen)
- **XDR** Extended Drug Resistance
  - Außerdem resistent gegen mind. 3 der 6 Reserveantibiotika

### **Calmette und Guerin entwickeln einen Lebendimpfstoff**

- Attenuierung von M. bovis zu Bacille Calmette Guerin (BCG) ab 1908
- 230 Generationen auf Kartoffel-Galle-Glycerin-Kulturmedium
- Verlust der Virulenz im Kalb untersucht
- Verschiedene BCG Stämme: unterscheiden sich teilweise erheblich

### **Aber nicht immer....**

- kein Effekt auf Erwachsene in Indien und Afrika
- da in diesen Ländern die meisten Infektionen auftreten, ist die Effizienz des Impfstoffs global gesehen sehr gering

### **Erklärungsversuche:**

- Der Impfschutz hält nach der Impfung von Neugeborenen 10 – 20 Jahre, danach empfänglich für Infektion und Entwicklung von Lungen-TB
- Immunität gegen nicht pathogene Mykobakterien aus der Umwelt verhindert das Angehen der Impfinfektion mit BCG

### **Optionen: BCG verbessern oder ersetzen**

- verbessertes Priming:
  - o stumpfes BCG wieder anschärfen
  - o MTB neu attenuieren
- Boostern mit Subunit Impfstoffen
  - o MVA-Ag85A (Vaccinia Virus basiert)
  - o Ag-85B-ESAT-6 rec. Protein + Adjuvant

**Cord Faktor:** durch Trehalose-6,6-dimycolat kleben sich die Bakterien aneinander und bilden schlangenähnliche Kordeln

⇒ Cord Phänomen

### **Corynebacterium ulcerans**

⇒ mittlerweile die meisten klin. Diphtheriefälle in Westeuropa  
(nicht mehr Corynebacterium diphtheriae)

**Zoonose:** Hunde und Katzen als Träger  
Übtr: Schwein ⇒ Mensch  
Melukulargen. gesichert

## **5 Sepsis und Meningitis**

**Fall** Diagnose: S. aureus

Ausgangspunkt:

- Pneumonie?
- HWI?
- Dialyse-Shunt? (Fremdkörper) => Entfernung des Shunts

Sekundäre Ansiedlungen: (wohin wandern die Keime)

- Abszesse?
- Meningitis? => zerebrale Bildgebung
- **Endokarditis?** => Echokardiographie, Urinprobe

### **Therapieempfehlung** **Endokarditis**

- Fluocloxacillin (Staphylex) und Ampicillin/ Sulbactam (Augmentan) oder Cefazolin für 4-6 Wochen
- Evtl. zusätzl. Rifampicin (=> erfasst auch die intrazellulären Keime)
- Gentamicin für 3-5 d

### **DEFINITION SEPSIS**

Infizierter Herd => hämatogene Ausbreitung => Generalisation => septische Metastasen  
= SIRS + infektiöses Agens

Das Krankheitsbild wird bestimmt durch die wirtseigene Reaktion auf die Infektion und nicht durch die unmittelbaren Eigenschaften der Mikroorganismen oder ihre direkte toxische Wirkung.

### **Systemic Inflammatory Response Syndrome** **SIRS**

Mindestens 2 der folgenden Symptome:

- Körpertemp. >38°C (Fieber) oder <36°C
- Herzfrequenz > 90 Schläge/min  
(> diast. Blutdruck => Dekompensation des Blutdrucks)
- Atemfrequenz > 20/min (PaCO<sub>2</sub> < 33mmHg)
- Leukozytenzahl > 12.000 oder < 4.000 oder > 10% unreife Formen (im DiffBB)

= systemische Entzündung

## **Sepsis Pathogenese**

Endotoxin und andere PAMPs aktivieren angeborenen Immunzellen

- Zytokine und Chemokine
- Gerinnungsaktive Substanzen
- Antimikrobielle Effektormechanismen (Komplementaktivierung)

## **Schwere Sepsis – Organdysfunktion**

- metabol. Azidose
- verringerter Gasaustausch
- < 100.000 Thrombozyten / $\mu$ l
- Niere
- Gehirn
- Gerinnung
  - ⇒ Hypotonie
  - ⇒ Letalität 50%

## **(Wirkungen proinflammatorischer Zytokine**

### **IL-1 / IL-6 / TNF- $\alpha$**

- Leber: Akute Phase Protein (Protein C, Mannan bindendes Protein)
  - ⇒ Aktivierung des Komplementsystems, Opsonisation
- Knochenmarksendothel: Mobilisation Neutrophiler Zellen => Phagozytose
- Hypothalamus: Anstieg der Körpertemperatur

Fett und Muskel: Protein und Energie Mobilisation um Erhöhung der Körpertemperatur zu ermöglichen

- ⇒ Abfall der viralen und bakteriellen Replikationsrate
- ⇒ Anstieg von Antigen Prozessierung
- ⇒ Anstieg der spezifischen Immunantwort
- Dendritische Zellen: TNF- $\alpha$  stimuliert Wanderung zu den Lymphknoten und deren Reifung
  - ⇒ Anfang der erworbenen Immunantwort)

## **Lokale Infektion mit gram- Erregern: aktivierte Makrophagen sezernieren TNF $\alpha$ ins Gewebe**

- lokale Erhöhung der Permeabilität
- Migration von Granulozyten, Monozyten ins Gewebe
- Thrombozytenaggregation
- Phagozytose von Bakterien
- Lokaler Gefäßverschluss

**Systemische Infektion mit gram- Erregern (Sepsis):** akt. Makrophagen gelangen in Milz und Leber

⇒ TNF $\alpha$  Freisetzung

- systemische Endothelaktivierung mit Neutropenie, Ödeme und Hypotonie
- disseminierte intravasale Gerinnung
- Organschäden und Tod

### **Phasen der Sepsis**

1. **SIRS:** Hyperinflammation  
TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IFN $\gamma$ , ROS, MIF, HMG1 +++++
2. **CARS** Kompensation  
Kardizirkulatorisches-/ Respiratorisches-/ Gastrointestinales-/ Renales-Versagen  
IL-4, IL-10, IL-1RA -----
3. **MARS** mixed antagonistic

**Immunsuppression & Anergie (Reaktivität) => Risiko für Sekundärinfektion erhöht**

Keimdifferenzierung im Massenspektrometer

### **Management der Sepsis**

1. **Klinik**
  - a. Atemfrequenz, RR, Puls, Temp
  - b. Organe: Haut, Lunge, Herz, Abdomen, Nieren, ZNS  
⇒ körperliche Untersuchung und Bildgebung
2. **Labor**
  - a. Diff-BB
  - b. Laktat, CPR/ PCT, E'lyte, Glucose
  - c. **Mikrobiologie:**
    - i. **Blutkultur**
    - ii. Urin
    - iii. Sputum/ BAL
    - iv. Eiter, Gewebe
    - v. Liquor
  - d. **Organfunktion:**
    - i. Nierenwerte
    - ii. Leberwerte
    - iii. Gerinnung

### 3. Therapie

- a. Atmung sicherstellen
- b. Kreislauf stabilisieren
- c. BZ, E'lyte, Ernährung
- d. AB: je früher desto besser!

Bei schwerer Sepsis ist akt. Protein C sehr gut wirksam

- i. Empirisch
  - ii. Kalkuliert
  - iii. Gezielt
- e. Fokussanierung

### **Blutkultur – Merksätze**

- Entnahme möglichst vor Beginn der AB
- Mind. 2, besser 3 Abnahmen
- Entnahmen wenn möglich während des Temperaturanstieges
- Entnahme möglichst nicht über ZVK (Ausnahme: v.a. Katheterinfektion)
- Auch an nicht-kultivierbare Erreger denken, entsprechende Diagnostik

### **Sepsis Erreger**

E. coli	21%
Staph. Aureus	13%
Staph. Epidermidis	12% (Kontamination)
Vergründende Streptokokken	7% v.a. bei Endokarditis
Enterokokken	7%
Pneumokokken	6%
Pseudomonas aeruginosa	5%
Enterobacter	5%
Klebsiella	4%

### **Risikofaktor Sepsiserreger**

Herzfehler	Streptokokken
Fremdkörper	Staphylokokken
Chron. Pylonephritis	E. coli
Bauch-OP	Mischinfektion (aerob/ anaerob)
Granulozytopenie	Enterobakterien, Pilze

### Schnellteste in der Mikrobiologie

Gramfärbung!!!

Agglutination	Nachweis von bakt./ mykot. Ag
Katalase	Differenzierung von Staphylokokken/ Streptokokken
Koagulase	Differenzierung von Staph. Aureus/ Staph. epidermidis
B-Lactamase	Nachweis einer Penicillin-Resistenz
Oxidase	Differenzierung Nonfermenter/ Enterobakterien
Indol	Differenzierung von Enterobakterien => + bei E.coli
Mucap	Nachweis von Samonellen
Pyr A	Bestimmung der Enterokokken
Phosphatase	C. perfringens Toxin
MRSA screen	PBPs von Staphylokokkus aureus

### Kultureller Bakteriennachweis

Anzucht

- ⇒ Mischkultur => Subkultur bis Reinkultur entsteht
- ⇒ Reinkultur => Antibiogramm & Differenzierung

### Kligerröhrchen

Nährmedium: Glucose, Lactose, H<sub>2</sub>S, Gasbildung

- Pseudomonas => rot (ox. Desaminierung a.d. Obfl)
- E.coli => gelb (anaerobe Glykolyse)
- Proteus => schwarz – gelb – rot
- Salmonella => gelb – schwarz - rot

## Meningitis Erreger

Neugeborene:	E.coli (K1) Streptokokken (B) Listeria monocytogenes => transplazentare Übtr. (intrauterin)
6 Monate	Haemophilus influenzae => Rückgang seit Einführung der Impfung
bis zu 3 Jahre	Pneumokokken Meningokokken
3-40Jahre	Meningokokken Pneumokokken
Über 40Jahre	meinst Pneumokokken
Immunsupprimierte	Cryptokokken

## Akute Meningitis

bakteriell		viral
trüb, evtl. eitrig >1000 Zellen granulozytär	Klar (leicht trüb) <500 Zellen lymphozytär	Klar, nicht eitrig <500 Zellen lymphozytär
Meningokokken Pneumokokken E. coli Gr. B. Streptok. S. aureus Listerien	B. burgdorferi M. tuberculosis	Enteroviren Mumpsvirus FSME-Virus Herpes simplex Masernvirus
=> akut	=> chron., subakuter Verlauf	

gesund => nur einzelne EZ-Zellen nachweisbar

## Symptome der Sepsis

- Fieber
- Kopfschmerzen
- Nackensteifigkeit (nicht bei kleinen Kindern)
- Erbrechen

Waterhouse-Friedrichsen Syndrom

Neisseria meningitidis

### Meningitis epidemica

<u>Herd</u>	=>	<u>Generalisierung</u>	=>	<u>Metastasen</u>
Pharyngitis Keimträger		Bakteriämie		Meningen => subarachnoidale EZ, Verlust d. Blut-Hirn-Schranke  Nebennieren Lunge Haut Gelenke

Sepsis (Fieber, Tachykardie, Tachypnoe, DIC= disseminierte intravasale Koagulopathie)

Pneumokokken

### Akute Meningitis - Therapie

- ⇒ Ceftriaxon
- ⇒ Ampicillin
- ⇒ Aminoglykoside
- ⇒ Aciclovir bei V.a. Herpesencephalitis

### Haemophilus influenzae

- Polysaccharid-Impfstoff induziert keine Immunität
- Kopplung an Protein:
  - ⇒ sichere Immunität gegen invasive Infektion
  - ⇒ reduzierte Nasopharyngeale Trägerrate
- B-Zelle bindet das (an Tenatus-Toxoid-Protein gebundene) bakterielle Polysaccharid-Epitop
- Antigen wird aufgenommen und prozessiert
- Peptide des Proteinkomplexes werden der T-Zelle präsentiert
- Aktivierte B-Zellen produzieren Antikörper gegen die Polysaccharid-Antigene auf der Bakterienoberfläche

Listeria monocytogenes

## **Borrelien**

- Borrelia-recurrentis                      endem. Läuserückfallfieber
- Borrelia-duttonii                        endem. Zeckenrückfallfieber
- Lyme-Borrelien: Borrelia-burgdorferi sensu lato

20% der Bevölkerung hat AK gegen Borrelien

## **Aspekte zu Zecken**

- lauern nicht auf Bäumen sondern im Gras und Gebüsch
- Übertragung von Erreger und zeit abhängig:
  - ⇒ B. burgdorferi > 24h
  - ⇒ FSME schneller
- Entfernung mit Zeckenzange, Pinzette oder Karte
  - ⇒ so nah wie möglich an der Haut anpacken

**keine** Drehung/ Öl/ Klebstoff etc.

## 6 GI-INFEKTIONEN

### Differenzierung gram<sup>-</sup> Stäbchen

#### 1. Oxidase:

- Positiv => rot: Pseudomonas aeruginosa, Neisserien
- Negativ => weiß: alle Enterobakterien

#### 2. Indol:

- Positiv => blau: E.coli
- Negativ => weiß: Klebsiella

### Kultureller Bakteriennachweis

Anzucht auf Selektivnährmedium: Differenzierung

- ⇒ Mischkultur => Subkultur bis Reinkultur entsteht
- ⇒ Reinkultur => Antibiotogramm & Differenzierung

Keimdifferenzierung:

1. molekulargenetisch
2. biochemisch: Enzyme

#### 3. MALDI-TOF

- Proteinspektrum, Biotyper
- Massenspektrometrie 2 – 20kDa
- Matrix assisted laser desorption/ ionisation – time of flight

### Molekulargenetische Keimdifferenzierung: Universell-bakterielle (16SrDNA) PCR

PCR: 94°C => Denaturierung => 50-65°C => Annealing => 72°C => Elongation

Nachweis bakterieller DNA in primär sterilen Proben/ Bakterienisolat

- ⇒ Nachweis nicht kultivierbar/ toter Bakterien (Antibiogramm)
- ⇒ Identifizierung durch Sequenzanalyse des Amplifikats

Bakterielle Proteinsynthese:

Ca. 20.000 Ribosomen pro Zelle (70S)

2 Untereinheiten: 30S + 50S

30S: 21 Proteine (S1-21) und ein 16 S-RNA Molekül

50S: 34 Proteine (L1-34) und 2 RNA Moleküle (23S-RNA und 5 S-RNA)

- ⇒ DNA Extraktion
- ⇒ PCR
- ⇒ 16SrDNA und β-Globulin-Gen
- ⇒ Agarosegelelektrophorese
- ⇒ Sequenzierung

## **Infektionen des Gastrointestinaltraktes**

- Gastritis
- Gastroenteritis
- Enteritis
- Colitis

## **Enteritis infectosa**

- Symptome:
  - o Diarrhoe
  - o Abdominalschmerzen
  - o Fieber
- Erregeranzucht auf Selektivnährmedium
- Therapie
  - o Keine routinemäßige AB-Therapie (ausnahmen beachten!)
  - o Rehydrierung
- Meldepflichtig nach IfGS

## **Postinfektiöse Krankheiten:**

Arthritis, Myokarditis, Erythema nodosum, M. Reiter

**Definition Diarrhöe:** Absetzen von 3 oder mehr flüssigen Stühlen innerhalb von 24h

- ⇒ Exikose: Hämatokrit +
- ⇒ K<sup>+</sup> Verlust
- ⇒ Metabolische Azidose
- ⇒ Blutdruck –
- ⇒ Hypovolämischer Schock

Therapie: Ersatz von Flüssigkeit und E<sup>l</sup>ytten

- orale Rehydrationslösungen (NaCl, KCl, NaCO<sup>3</sup>, Glc, H<sub>2</sub>O) => WHO Trinklösung
- 1-2L pro Tag/kg KG; in schweren Fällen: Infusionstherapie

## **Bakterielle Erreger von akuten Diarrhoen/ Toxininfektionen**

(infektiöse Dosen = ID, Erkrankungen /Jahr = E/J)

- |  | ID                               | E/J   |
|--|----------------------------------|-------|
| - <u>invasiv</u> : Leukos, Blut/ Schleim im Stuhl  |                                  |       |
| o lokal:   |                                  |       |
| ▪ Campylobacter jejuni/ coli   | 10 <sup>2</sup> -10 <sup>6</sup> | 62000 |
| ▪ Salmonellen  | 10 <sup>5</sup> -10 <sup>6</sup> | 31000 |
| ▪ Yersinia enterocolitica  |                                  | 3700  |
| ▪ Shigellen  | 10-100                           | 617   |
| ▪ EIEC   |                                  |       |
| o systemisch: Salmonella typhi und paratyphi, Campylobacter spp.   |                                  |       |
| - <u>nichtinvasiv</u> (Toxinbildung):  |                                  |       |
| o EHEC (835E/J)  |                                  |       |
| o ETEC (Reisediarrhoe), Vibrio cholerae (ID 10 <sup>8</sup> ), Staphylococcus aureus, Clostridium perfringens, Clostridium difficile |                                  |       |
| - <u>Viren</u> : Rotavirus (62000 E/J), Adeno- Noroviren (180000 E/J)  |                                  |       |
| - <u>Parasiten</u> :   |                                  |       |
| o Giardia lamblia (ID 10-100, 4000 E/J)  |                                  |       |
| o Entamoeba histolytica (ID 10-100), Cryptosporidium parvum, Cyclospora  |                                  |       |
| - <u>Pilze</u> : Mikrosporidien  |                                  |       |

## **Enterobakterien**

Gram-, Stäbchen, fakultativ anaerob

- Fakultativ pathogen:
  - o Normalflora, E.coli
  - o Kolonisation: Klebsiella, Enterobacter, Serratia, Proteus
- Obligat pathogen:
  - o Samonellen, Shigellen, Yersinien

## **Übertragung von Enterobakterien**

- Finger
- Futter
- Fliegen
- Fäzes

## **Bunter Reihe Röhren**

- **Mannitbouillon:** Pepton + 1% Mannit; Bromthymolblau: **grün**;  
Säurebildung (E.coli, Klebsiella, Salmonella, Serratia, Citrobacter, Aeromonas) => **gelb**  
Zucker-Vergärung im Durham Röhren => Luftblase im kl. Röhren im Glas => Gasnachweis: E.coli, Klebsiella, Salmonella, Citrobacter, Aeromonas
  
- **Kligler Agar:** **rot**; Indikator: Peptonrot, 0,1%Glc, 1%Lac, Na-Thiosulfat, Fe<sup>2+</sup>S  
Polytropes Nährmedium => **Nachweis v.: Glc-&Lac-Abbau(β-Galaktosidase), H<sub>2</sub>S Synthese, Gasbildung**
  - o Non-Fermenter (Pseudomonas, Aeromonas): wichtige Hospitalkeime
    - Obl. Aerob, **keine** Gärung
    - Wachstum nur auf der Obfl. (Alkalisierung durch Peptonabbau) => **rot**
    - kein Wachstum im Stich
  
  - o Lactose positives Bakterium (E.coli, Klebsiella): => fakultativ pathogen  
Erreger von ambulant und stationär erworbenen Infektionen
    - Fakultativ anaerob
    - Wachstum auf der Obfl. und im Stich
    - **Glc- & Lac-Abbau** (Azidifizierung durch Glykolyse) => **Gelb**
    - **Gasbildung** (Agar reißt)
  
  - o Lactose-negatives-Bakterium: => verdächtig
    - Fakultativ anaerob
    - Wachstum auf der Obfl. und im Stich
    - **Glc-Abbau** (Azidifizierung durch Glykolyse) => Obfl. rot
    - **Schwache Gasbildung** (Agar reißt)
    - Protein-AS-Abbau
    - anaerobe Glykolyse im Stich => Säuerung: gelb
    - **H<sub>2</sub>S Synthese**, dadurch Bildung von FeS => schwarz
      - Proteus => schwarz – gelb – rot
      - Salmonella => gelb – schwarz – rot
      - Serratia: nur **Glc Abbau**
  
  - o Citrobacter: **Glc-&Lac-Abbau, Gasbildung, H<sub>2</sub>S Synthese**
  
- **Tryptophanbouillon:** **farblos**; Zugabe von Kovacs Reagenz; Tr.-abbau zu **Indol:** rot (E.coli, Aeromonas)
  
- **Harnstoffagar:** Harnstoffspaltung => NH<sub>3</sub> + CO<sub>2</sub> + H<sub>2</sub>O; Indikator: Phenolrot;  
**gelblich** => Harnstoffspaltung durch Urease (Heliobacter pylori, Klebsiella, Proteus, Pseudomonas, Yersinia enterocolica)  
=> rot/ pink
  
- **Citrat Agar:** Ammonium(N)-citrat(C)-verstoffwechslung; Indikator: Bromthymolblau **grünlich**; Wachstum (Klebsiella, Salmonella, Serratia, Proteus, Citrobacter, Pseudomonas) => Citratverbrauch => Alkalisierung => blau
  
- **Voges-Proskauer Reaktion:** Glucose => Butandiol + Acetoin (das mit Indikator α-Naphtol rot wird)
  - ⇒  Enterobacrien, Klebsiella, Proteus, Serratia
  - ⇒  E.coli

## Schnellteste in der Mikrobiologie

<b>Gramfärbung</b>	Gram <sup>+</sup> blau, gram <sup>-</sup> rot
<b>(Liquor-)</b>	Nachweis von bakt./ mykot. Ag
<b>Agglutination</b>	Liquor => Latexlösung mit Ak von: Streptococcus pneumoniae, Streptokokken Gr.B (S.agalactiae), Neisseria meningitidis, Haemophilus influenzae, E.coli
<b>Katalase</b>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> => O <sub>2</sub> + H <sub>2</sub> O Differenzierung von Staphylokokken, Heliobacter pylori, Listeria monocytogenes <input type="checkbox"/> / Streptokokken <input type="checkbox"/>
<b>C-Polysaccharid</b>	Streptokokken Gruppe A => Scharlachnachweis aus Rachenabstrich
<b>Koagulase &amp; Clumping factor</b>	Fibrinogen (Kaninchenplasma) => Fibrin => Verklumpung Differenzierung von Staphylococcus aureus <input type="checkbox"/> / Staph. epidermidis <input type="checkbox"/>
<b>B-Lactamase</b>	Nachweis einer Penicillin-Resistenz
<b>Urostix</b> z.B. Combur	=> Leukozyten, Protein, Nitrit Erys im Urin
<b>Urotube</b> Eintauchobjektträger	=> Keimzahlbestimmung im Urin
<b>Oxidase</b>	Diff: Nonfermenter (Neisserien, Pseudomonas, Campylobacter jejuni/coli, Heliobacter pylori) <input type="checkbox"/> ; Enterobakterien <input type="checkbox"/>
<b>Indol</b>	Differenzierung von Enterobakterien => <input type="checkbox"/> E.coli, Aeromonas; <input type="checkbox"/> Enterobakterien, Pseudomonas
<b>Mucap</b>	Samonellen: C8 Esterase => floureszierend
<b>Gruber</b>	Ag Nachweis mit bekannten Ak Seren gegen Salmonella typhi Kaufmann White Schema: <b>Agglutination</b> => <input type="checkbox"/> ; Trübung => <input type="checkbox"/>
<b>Widal Reaktion</b>	Ak Nachweis gegen definierte Salmonellen Ag
<b>Pyr A</b>	Bestimmung der Enterokokken
<b>Phosphatase</b>	C. perfringens Toxin
<b>MRSA screen</b>	PBPs von Staphylokokkus aureus

## Spezielle Kulturen

<b>Aesculin &amp; Blut</b>	Enterokokken => Aesculinspaltung => olivschwarz
<b>Leifson Agar</b>	Pathogene Darmkeime