

# Vorlesung zum **Kurstag 3** «Medizinische Mikrobiologie»

14.10.2023, 12:15 -13:00

PD Dr. sc. Stefano Mancini, IMM UZH

- Organisation des **3. Kurstages**
  - **Abschluss Wundabstrich / Nasenabstrich**
    - » Ablesen der Resistenzen, Interpretation
  - **Weiterbearbeiten Urinbakteriologie**
    - » Ansetzen der Resistenz und biochemische Reaktionen
  - **Weiterbearbeiten Stuhlbakteriologie**
    - » Subkultivierung der Anreicherung
    - » Ansetzen von biochemischen Reaktionen
  - **Resistenzplasmidtransfer**

# Kursorganisation

=> Kursskript

Tag 1: Einführung / Wundinfektionen / Suche nach <i>Staphylococcus aureus</i> (Nase) 30. September - 03. Oktober 2024	Tag 2: Diagnostik Wundinfektionen / Urininfektionen / Stuhlbakteriologie 07. - 10. Oktober 2024	Tag 3: Plasmidversuch / Wundinfektionen / Urininfektionen / Stuhlbakteriologie 14. - 17. Oktober 2024
<p>Theorie Tag 1 und 2 (Vorlesung am 30. September 2024, um 12:15)</p> <p>Kursorganisation, Sicherheit im Kurs</p> <p>Mikroskopie:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Handhabung Mikroskop</li> <li>- Färbeverfahren</li> </ul> <p>Kultur:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Medien (fest / flüssig, universell / selektiv)</li> <li>- fraktioniertes Beimpfen</li> </ul> <p>Untersuchungsgang Wundinfektion, Urin und Stuhl für bakterielle Erreger</p>		<p>Theorie Tag 3 (Vorlesung am 14. Oktober 2023, um 12:15)</p> <p>Resistenz-Plasmid Versuch</p> <p>Spezielle Harnwegsinfektionserreger und spezielle bakterielle Durchfallerreger</p>
Händedesinfektion (Seite 11 und 12 / 13)	Händedesinfektion (Seite 11 und 12 / 13)	
<p>Einführung (Skript Kap. 4; Seite 10 und 11)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Daumenabdruck vor / nach Desinfektion</li> <li>- Luftkeimbestimmung (1x / Reihe)</li> <li>- Eigener Nasenabstrich (Suche nach <i>Staphylococcus aureus</i>)</li> </ul>	<p>Einführung (Skript Kap. 4; Seite 10 und 11)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Kolonien zählen</li> <li>- Kolonien zählen und beurteilen</li> <li>- <i>S. aureus</i> Resistenzprüfung ansetzen</li> </ul>	<p>Resistenz-Plasmidtransfer (Skript Kap. 7; Seite 31 und 32)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Kontrollplatten beimpfen</li> <li>- Empfänger- und Spenderbouillon zusammen pipettieren</li> <li>- Platten nach Konjugation beimpfen</li> </ul>
<p>Wundabstrich (Skript Kap. 5; Seite 14-21)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- fraktioniertes Beimpfen auf Schafblutagar (SBA) und MacConkey-Agar (MAC)</li> <li>- Gram-Präparat herstellen</li> <li>- Mikroskopier-Einführung mit Demo-Präparaten</li> <li>- Ausfüllen Auftragsformular</li> </ul>	<p>Wundabstrich (Skript Kap. 5; Seite 14-21)</p> <p>Kulturen ablesen</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Staphylokokken: Katalase, Clumping Factor, "zellgebundene Koagulase", Gram-Dauerpräparat</li> <li>• <math>\beta</math>-hämolisierende Streptokokken: Katalase, Agglutination Demo, Gram-Dauerpräparat</li> <li>• Resistenzprüfung <i>S. aureus</i> ansetzen</li> </ul>	<p>Wundabstrich (Skript Kap. 5; Seite 14-21)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Ablesen Resistenzprüfung Staphylokokken</li> <li>- auch von dem Stamm von der Nase, falls positiv</li> </ul>
	<p>Urin (Skript Kap. 6; Seite 22-30)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Urin quantitativ ausstreichen</li> <li>- Urin semiquantitativ beimpfen (Demo)</li> </ul>	<p>Urin (Skript Kap. 6; Seite 22-30)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Kolonien zählen, Keimzahl berechnen</li> <li>- Semiquantitative Keimzahlbestimmung im Urin</li> <li>- Resistenzprüfung und einfache Biochemien ansetzen</li> </ul>
	<p>Stuhluntersuchung (Skript Kap. 8; Seite 33-39)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Fraktioniertes Beimpfen auf Hektoen-Agar und MAC</li> <li>- Anreicherung beimpfen</li> </ul>	<p>Stuhluntersuchung (Skript Kap. 8; Seite 33-39)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Beurteilung Hektoen-Agar und MAC, TSI Schrägagar beimpfen</li> <li>- Subkultur der Anreicherung auf Hektoen-Agar und MAC</li> </ul>

# Abschluss Wundabstrich/ Nasenabstrich

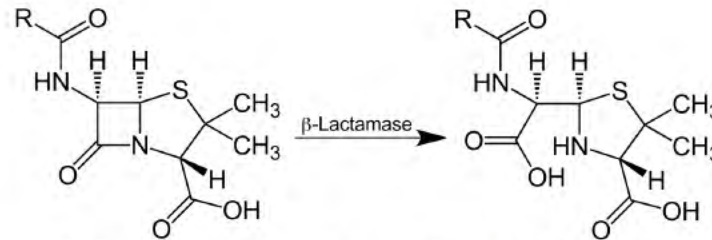
⇒ Ablesen der Empfindlichkeitsprüfung *S. aureus*

⇒ Isolate mit  $\beta$ -Laktamase?

⇒ Cefoxitin resistent? MRSA?

## Abschluss Wundabstrich/ Nasenabstrich

⇒ Isolat (Nase, Wundabstrich) mit  $\beta$ -Laktamase?

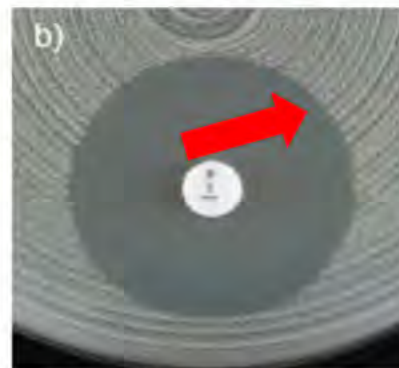


<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=11204303>

### $\beta$ -Laktamase:

Negativ

## Positiv



Hemmhöfe  
*S. aureus*/Penicillin

EUCAST CBP =  
26 mm

**Examples of inhibition zones for *Staphylococcus aureus* with benzylpenicillin.**

a) Fuzzy zone edge (reduction of growth towards zone edge, like a "beach") and zone diameter  $\geq 26$  mm. Report susceptible.

b) Sharp zone edge (no reduction of growth towards zone edge, like a "cliff") and zone diameter  $\geq 26$  mm. Report resistant.

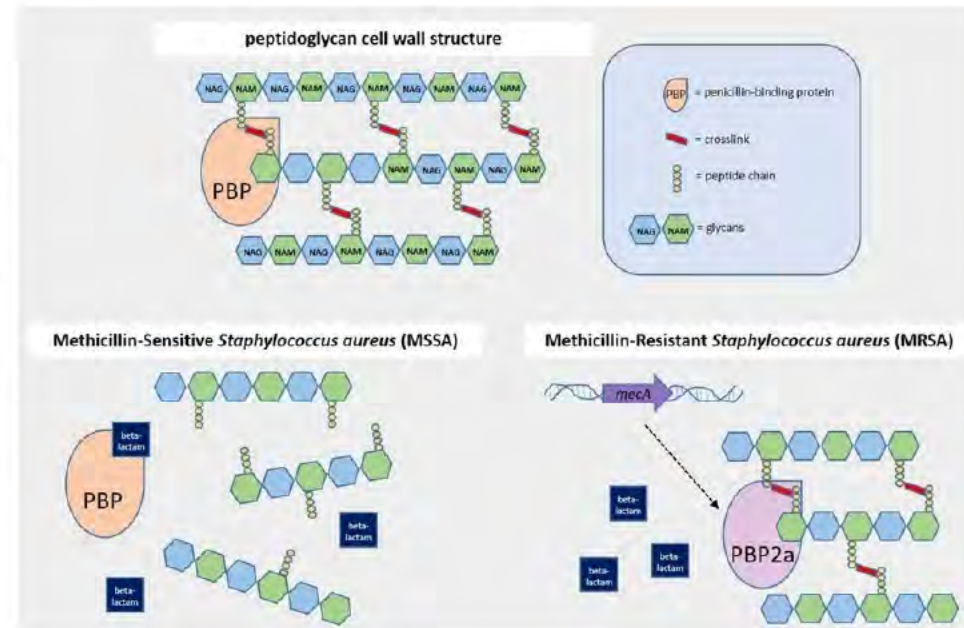
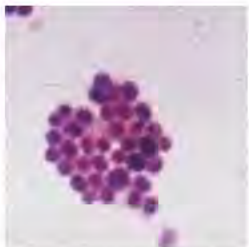
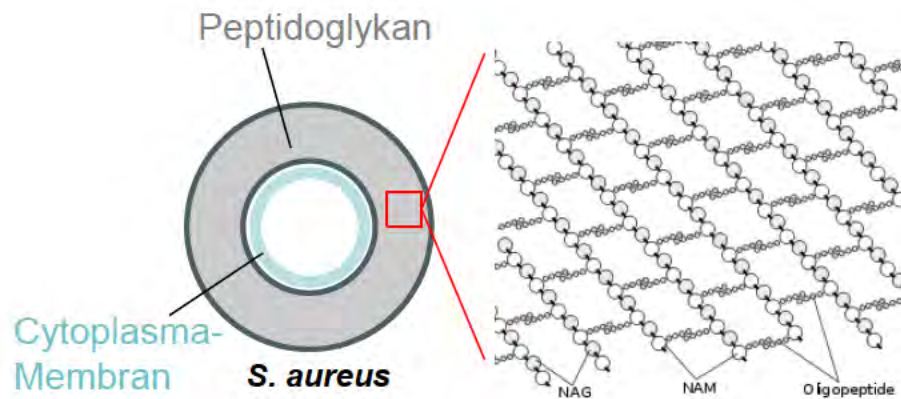


# Abschluss Wundabstrich/ Nasenabstrich

⇒ Cefoxitin resistent? MRSA?

- MRSA: **M**ethicillin-**r**esistenter **S**taphylococcus **a**ureus

- **mecA** => kodiert für **alternatives** Pencillin-Bindeprotein (Transpeptidase PBP2a)  
=> Resistenz gegen alle  $\beta$ -Laktamantibiotika



# Fortsetzung Untersuchung Urin

⇒ Urinprobe (Mittelstrahl) v. Patientin mit typischer Symptomatik eines Harnwegsinfekts

>> Keimzahlbestimmung

>> Biochemische Identifizierung des Keimes

>> Resistenzbestimmung

# Harnwegsinfekte - Epidemiologie

- HWI zählen in der Praxis mit zu häufigsten Gründen für Antibiotikaverschreibungen
- Generell Frauen häufiger betroffen;  $\geq 1$  HWI in ihrem Leben
- Altersabhängige Inzidenz:

**Kinder:** meist anat. Anomalien

**Erwachsene:** Inzidenz ca. 0.5/Jahr bei sexuell aktiven Frauen

**Alter:** unvollständige Blasenentleerung

# Harnwegsinfekte - Erregerspektrum

Erreger	%
<i>Gramnegative Bakterien:</i>	
<i>Escherichia coli</i>	77
<i>Proteus mirabilis</i>	5
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2–3
<i>Enterobacter spp.</i>	1
<i>Citrobacter spp.</i>	< 1
Andere Enterobacteriaceae	2
<i>Grampositive Bakterien</i>	
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	3
<i>Staphylococcus aureus</i>	2
Andere Staphylokokken	4
<i>Enterococcus spp.</i>	3
<i>Streptococcus spp.</i>	< 1



# Harnwegsinfekte - Erregerspektrum

⇒ gehören zur **normalen Stuhlflora**

**Stuhl → Vagina → Urethra → Harnblase**

**Unkomplizierter Infekt => Cystitis / einfache Pyelonephritis**

- ***Escherichia coli***
- *Staphylococcus saprophyticus*
- Enterokokken, *Proteus* spp., *Klebsiella* spp.



<https://www.science-photo.de/bilder/13455432-Bacterial-cystitis-illustration>

**Komplizierte Infektionen (anatomische Störung!)**

- ***E. coli*** und andere *Enterobacteriaceae*
- *Pseudomonas aeruginosa*, Enterokokken
- *Candida*: bei oberen Harnwegen hämatogen; urethraler Befall bei Katheter,

***Staphylococcus aureus*** ist meistens filtriert, deshalb **Quelle suchen** und **Endocarditis ausschliessen!**

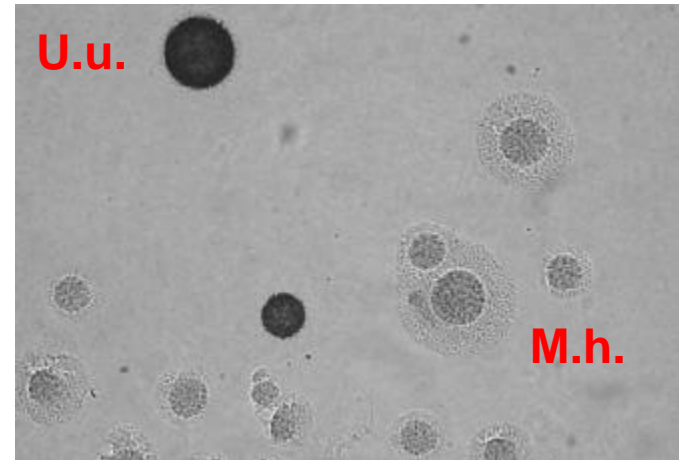
# Urinfekte – weitere Erreger

- ***Corynebacterium urealyticum***
  - assoziiert mit Nierensteinen, Cystitis
  - sehr resistenter Keim Therapie: Vancomycin
- ***Actinotignum schaalii* (früher: *Actinobaculum schaalii*)**
  - In den letzten Jahren als HWI-Erreger entdeckt, auch Urosepsis
  - Ciprofloxacin resistent
  - Bei gezielter Suche sehr häufig isoliert, generelle Bedeutung noch unklar
- ***Aerococcus urinae***
  - Auf Platte wie vergrünende Streptokokken  
=> bildet aber keine Ketten, sondern Tetraden
  - resistent gegen Baktrim
  - Risiko bei älteren Männern



# Seltene Erreger

- *Ureaplasma urealyticum*
  - Urethritis, Nierensteine
- *Mycoplasma hominis*
  - Pyelonephritis
- Lactobacillen (?)
- *Gardnerella vaginalis*
- Anaerobier, Mykobakterien, Leptospiren
- Parasiten (*Schistosoma haematobium*),
- Viren (Herpes simplex, CMV)



# Harnwegsinfekte – «host factors»

- Anatomische Verhältnisse

## Harnsystem bei Mann und Frau

Männliches Harnsystem



Weibliches Harnsystem



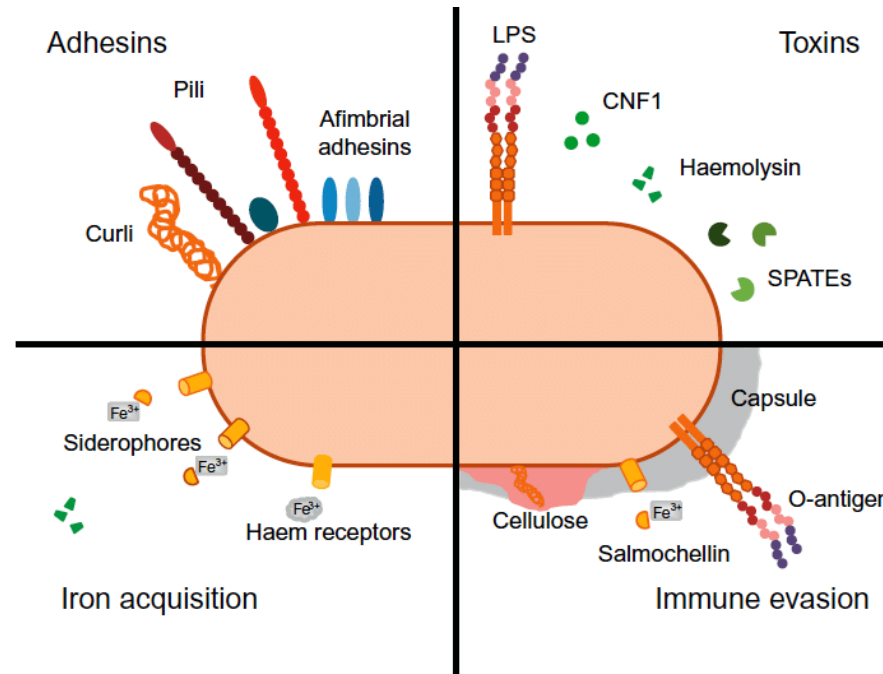
- Urin als Nährmedium für uropathogene Keime

# Harnwegsinfekte – «host factors»

- Anatomische Verhältnisse
- Abflussstörungen: (angeborene) strukturelle, anatomische Anomalien
- Instrumentierungen (z.B. Blasenkatheter)
- Prädisponierende Erkrankungen  
(Diabetes, Nierenerkrankungen, neurolog. E.)
- Medikation (SGLT2-Hemmer, Diabetes)
- Urin als Nährmedium für uropathogene Keime

# Virulenz/»Fitness«-Faktoren von HWI-Erregern

- Fimbrien (Pili) erlauben Adhäsion an Epithel
- Kapsel schützen vor Phagozytose
- Endotoxine (LPS) verändern Peristaltik der Ureteren
- Urease alkalinisiert den Urin
- Flagellen => Dissemination



Lühtje *et al* 2014

# Untersuchungsgang Stuhlbakteriologie

- Epidemiologie (BAG-Bulletin)
- Durchfallerreger
- Praktische Arbeit Tag 2-4
- Selektiv- und Anreicherungsmedien zur Differenzierung/Identifikation, Beispiele
- Salmonellen-Diagnostik



# Epidemiologie der Durchfallerreger i.d. CH

Infektionskrankheiten

Stand am Ende der 39. Woche (02.10.2023)<sup>a</sup>

	Woche 39			letzte 4 Wochen			letzte 52 Wochen			seit Jahresbeginn		
	2023	2022	2021	2023	2022	2021	2023	2022	2021	2023	2022	2021
Faeco-orale Übertragung												
Campylobacteriose	135 80	149 88.3	180 106.6	630 93.3	587 86.9	656 97.2	6532 74.4	7565 86.2	6389 72.8	4837 73.5	5948 90.4	5122 77.8
Enterohämorrhagische E. coli-Infektion	53 31.4	29 17.2	25 14.8	171 25.3	119 17.6	106 15.7	1226 14	1177 13.4	837 9.5	955 14.5	925 14	694 10.5
Hepatitis A		1 0.6		2 0.3	3 0.4	3 0.4	55 0.6	54 0.6	44 0.5	47 0.7	39 0.6	34 0.5
Hepatitis E	2 1.2	3 1.8	1 0.6	6 0.9	5 0.7	7 1	86 1	72 0.8	164 1.9	64 1	53 0.8	149 2.3
Listeriose	2 1.2			10 1.5	2 0.3	3 0.4	76 0.9	70 0.8	35 0.4	58 0.9	60 0.9	23 0.4
Salmonellose, S. typhi/paratyphi				2 0.3	2 0.3	1 0.2	21 0.2	8 0.09	1 0.01	17 0.3	7 0.1	1 0.02
Salmonellose, übrige	90 53.3	50 29.6	41 24.3	301 44.6	231 34.2	190 28.1	1818 20.7	1729 19.7	1451 16.5	1381 21	1396 21.2	1160 17.6
Shigellose	2 1.2	4 2.4	4 2.4	11 1.6	18 2.7	13 1.9	184 2.1	161 1.8	70 0.8	116 1.8	124 1.9	61 0.9

# Typische Durchfallerreger – Epidemiologie/Diagnostik

	Kinder	Erwachsene	Reise- anam- nese	Diagnostik
<i>Salmonella</i> spp.	+++	+++	(✓)	PCR pos. > Kultur
<i>Shigella</i> spp.	-	-	✓	
<i>Campylobacter</i> spp.	+++	+++	(✓)	
<i>Yersinia</i> spp.	++	+		
<i>Aeromonas</i> spp.	++	+	✓	Stuhlkultur
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	-	-	(✓)	PCR pos. > Kultur
Enterotoxin bildende <i>E. coli</i> (ETEC)	-	-	✓	
Enteroinvasive <i>E. coli</i> (EIEC)	-	-	✓	
Verotoxin bildende <i>E. coli</i> (VTEC/EHEC)	+	+	(✓)	
Enteropathogene <i>E. coli</i> (EPEC)	+		(✓)	
Enteroaggregative <i>E. coli</i> (EntAggEC)	+++		✓	
<i>Clostridium difficile</i>	in allen Altersgruppen nach vorangehender Antibiotikatherapie			Antigen (Stuhl), PCR => Toxingen- nachweis
Parasiten	+	+	✓	Mikroskopie Stuhl

Viren

PCR

# Typische Durchfallerreger – Epidemiologie/Diagnostik

Characteristics	BioFire RP 2.1 <sup>a</sup>	QIAstatDx RP V2 <sup>a</sup>	NxTAG RPP <sup>a</sup>	Verigene	ePlex RP2
Virus targets					
Adenovirus	✓	✓	✓	✓	✓
CoV-NL63	✓	✓	✓		✓
CoV-229E	✓	✓	✓		✓
CoV-HKU1	✓	✓	✓		✓
CoV-OC43	✓	✓	✓		✓
Human bocavirus		✓	✓		
HMPV	✓	✓	✓	✓	✓
Influenza A	✓	✓	✓	✓	✓
Subtype H1	✓	✓	✓	✓	✓
Subtype H3	✓	✓	✓	✓	✓
Subtype H1N1/2009	✓	✓			✓
Influenza B	✓	✓	✓	✓	✓
Parainfluenza 1	✓	✓	✓	✓	✓
Parainfluenza 2	✓	✓	✓	✓	✓
Parainfluenza 3	✓	✓	✓	✓	✓
Parainfluenza 4	✓	✓	✓	✓	✓
RSV	✓	✓			
RSV A			✓	✓	✓
RSV B			✓	✓	✓
Rhinovirus/enterovirus	✓	✓	✓	✓	✓
SARS-CoV-2	✓	✓	✓		✓
Bacteria targets					
<i>Bordetella pertussis</i>	✓	✓		✓	
<i>Bordetella parapertussis</i>	✓			✓	
<i>Bordetella holmesii</i>				✓	
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	✓		✓		✓
<i>Legionella pneumophila</i>		✓			
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	✓	✓	✓		✓
Panel information					
Platform	FilmArray system	QIAstat-Dx	Luminex Magpix	Verigen system	ePlex System
Company	BioFire/bioMérieux	QIAGEN	LUMINEX	LUMINEX	GenMark
Targets in panel	22	22	21	16	21
Throughput	Low-Medium	Low	High	Low-Medium	Low-Medium
Time to result	45 min	70 min	4 h	2 h	3.5 h

<sup>a</sup>The most recent panel includes SARS-CoV-2, human metapneumovirus (HMPV) and respiratory syncytial virus (RSV).



# Praktische Arbeit Tag 2-4

## «Stuhluntersuchung»

**Kurstag 2**



Hektoen (H) 1, MacConkey



Tetrathionat (Anreicherung)

**Kurstag 3**

Beurteilung  
TSI-Agar, MIO beimpfen  
(von H1)



Hektoen 2, MacConkey

**Kurstag 4**

Beurteilung TSI  
Vergleich H 1 vs H 2

Beurteilung

# Laktose-negative Fermenter

- **Laktosespaltung ist zentral für Einteilung der *Enterobacteriaceae*.**
- **Laktose-negative Fermenter sind verdächtig auf Salmonellen und Shigellen.**
  - 1. Schritt der Laktosespaltung: **Aufnahme** der Laktose in Bakterienzelle.
  - 2. Schritt ist die eigentliche **Spaltung** der Laktose (Disaccharid aus Glucose und Galaktose) mit der  **$\beta$ -Galaktosidase**
  - Es braucht Aufnahme und Spaltung

# Laktose-negative Fermenter

- Selektiv- / Differentialmedien, welche Abbau von Laktose anzeigen =>

	MacConkey Agar	Hektoen-Agar
Hemmung Gram-positiver Bakterien	Kristallviolett Gallensalze (niedr. Konz.)	Gallensalze (hohe Konz.)
C-Quelle	Laktose	Laktose
Indikator	Neutralrot	Säurefuchsin
Lac+	rot	gelb
Lac-	farblos (Agarfarbe)	farblos (Agarfarbe)

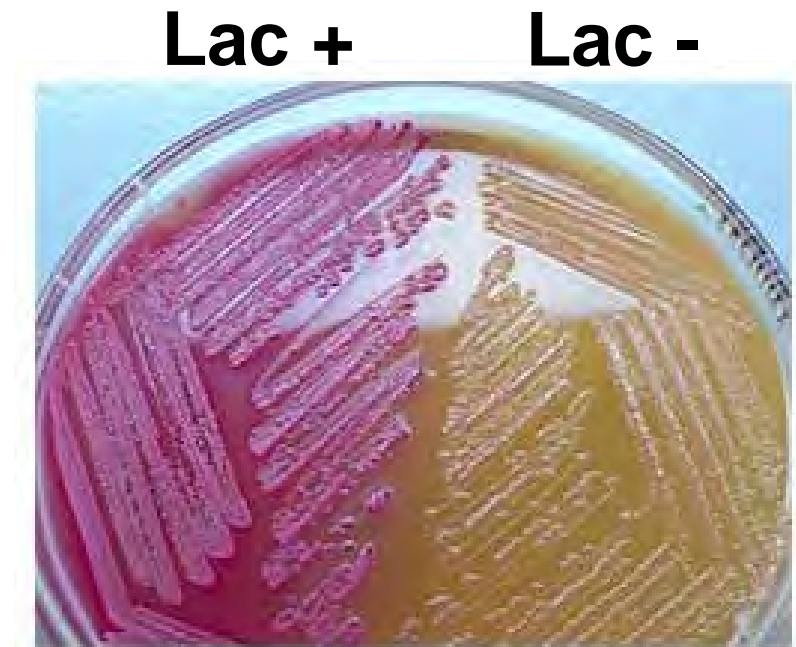
# MacConkey Agar

- **Laktose-fermentierende Bakterien**

- *Escherichia coli*
- *Klebsiella pneumonia*

- **Nicht Laktose-fermentierende Bakterien**

- *Salmonella enterica*
- *Shigella* spp.
- *Proteus mirabilis*
- *Pseudomonas aeruginosa*





# Hektoen-Agar



- Selektivmedium v.a. für *Salmonella* sp. und *Shigella* sp.
- Salmonellen sind **Laktose-negativ**, haben auf Hektoen-Platte **Farbe der Platte** (nur am Rand der Kolonie sichtbar), aber zusätzlich **Schwarzfärbung**



Stuhlprobe auf Hektoen

*Salmonella*: Na-Thiosulfat > H<sub>2</sub>S

H<sub>2</sub>S + Fe-NH<sub>4</sub>-Citrat > **FeS** => **schwarzes Präzipitat**

# Praktische Arbeit Tag 2-4

## «Stuhluntersuchung»

**Kurstag 2**



Hektoen (H) 1, MacConkey



Tetrathionat (Anreicherung)

**Kurstag 3**

Beurteilung  
TSI-Agar, MIO beimpfen  
(von H1)



Hektoen 2, MacConkey

**Kurstag 4**

Beurteilung TSI  
Vergleich H 1 vs H 2

Beurteilung

# TSI Schrägagar beimpfen

---



Mit der Impfnadel einen Teil der Bakterienkolonie aufnehmen und in das Kondenswasser der Schrägagarfläche eintauchen.



Die Schrägagarfläche in einer Wellenlinie bis zum oberen Rand beimpfen.

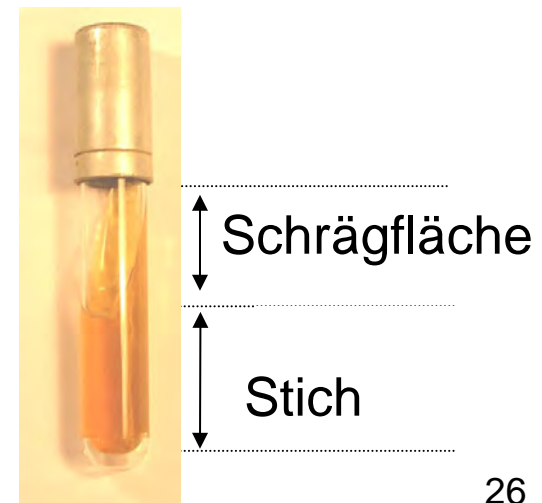


Anschliessend mit der Nadel in der Mitte des Röhrchens bis zum Boden in den Agar einstechen («Stich»).

# „Triple sugar iron“ (TSI) Agar-Röhrchen

- C-Quellen: 1% **Saccharose**, 1% **Laktose**, aber nur **0,1% Glucose**, Peptone (Eiweisse)
- Indikator (Phenolrot > **sauer/gelb**, **alkalisch/rot**)
- Bakterien nutzen **zuerst Glucose**
  - **Säurebildung** => Ganzes Medium wird **gelb**
  - Wenn **Keim Laktose** und/ oder **Saccharose** **verwerten kann** => **weitere Säurebildung** → **Stich** und **Schrägfläche** bleiben **gelb**

- Beispiel: **Laktose-positive *E. coli***



# TSI und Laktose-negative Fermenter

- Lac<sup>-</sup> Bakterien nutzen auch **zuerst Glucose** → **Säurebildung, Röhrchen gelb**
- **Glucose** schnell **aufgebraucht**, **Peptone** werden in der **aeroben Zone** abgebaut → **Aminbildung** führt zu **pH Anstieg** => **Schrägfläche** färbt sich **rot**.
- **Stich bleibt gelb** => Peptonabbau erfolgt nur aerob!





# TSI Reaktionen



Nicht  
inokuliert



*E. coli*



*Shigella*



*Citrobacter*



*Salmonella*



Nonfermenter

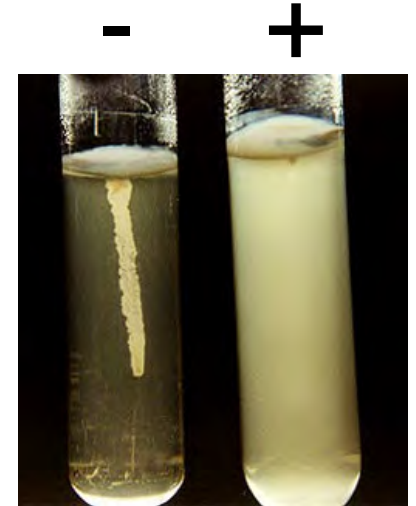


Gas-  
Bildung!

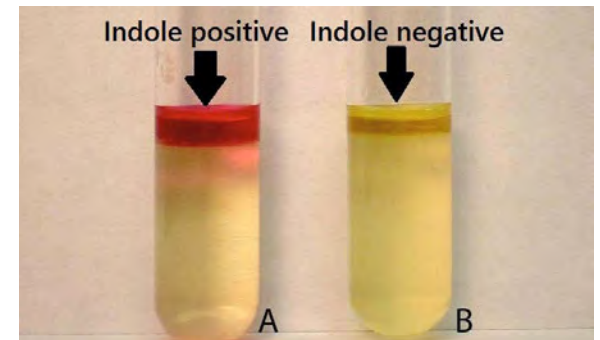
# MIO Röhrchen

⇒ «Motility, Indol, Ornithindecaboxylase (ODC)»

- Weichagarröhrchen: bewegliche Bakterien können sich im Medium ausbreiten



- Tryptophan => Indol + Pyruvat + Ammoniak (Tryptophanase)



- Bildung von Putrescin aus Ornithin (ODC)





# Praktische Arbeit Tag 2-4

## «Stuhluntersuchung»

**Kurstag 2**



Hektoen (H) 1, MacConkey



Tetrathionat (Anreicherung)

**Kurstag 3**

Beurteilung  
TSI-Agar, MIO beimpfen  
(von H1)



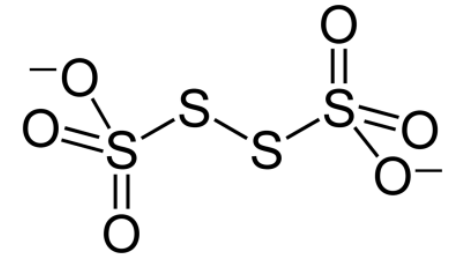
Hektoen 2, MacConkey

**Kurstag 4**

Beurteilung TSI  
Vergleich H 1 vs H 2

Beurteilung

# Tetrathionat-Bouillon



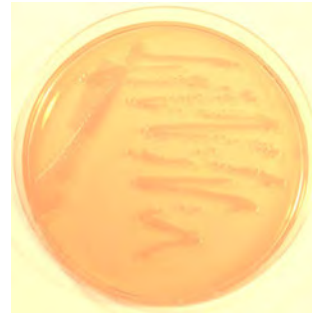
- Flüssiges Selektivmedium für Salmonellen
- **Tetrathionat** entsteht aus **Na-Thiosulfat** nach Zugabe von **Jod-Lösung**; inhibiert die meisten Enterobacteriaceae → Anreicherung *Salmonella sp.*
- Gallensalze: Hemmung v.a. Gram-positiver und Enterobakterien

Generationszeit	Anzahl Bakterien nach				
	0 h	1 h	2 h	3 h	4 h
<b>Bakt. A: 30 min</b>	1	4	16	64	256
<b>Bakt. B: 60 min</b>	10	20	40	80	160

# Laktose-negative Fermenter – *Shigella sp.*

- **4 Serogruppen**

- *Shigella dysenteriae*
- *Shigella flexneri*
- *Shigella boydii*
- *Shigella sonnei*



MAC



Hektoen



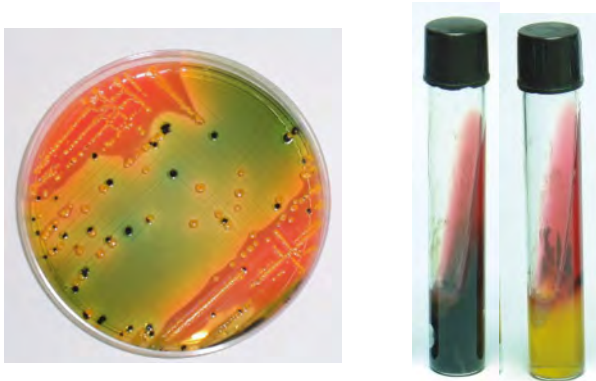
TSI

- Auslöser der **Bakterienruhr**; besonders schwere Verläufe bei *S. dysenteriae*
- Häufig Reiseassoziierte Infektionen (Schmierinfektionen, fäkal-kontaminierte Lebensmittel)
- Virulenzfaktor Shigatoxin (Stx); Neurotropismus > ZNS-Symptomatik
- Extrem Säureresistent; <200 Bakterien ausreichend für Infektion
- Proktitis mit hochresistenten Stämmen, sex. Übertragung

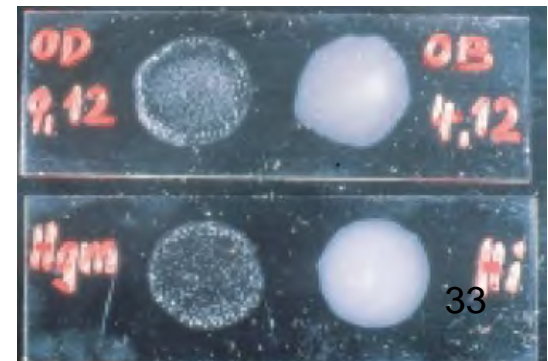
# Laktose-negative Fermenter – *Salmonella sp.*

=> «Klassische» Salmonellen-Diagnostik:

- Ansatz eines Selektiv/Differentialmedium



- Weitere biochem. Analysen
- Bestimmung des Serovars
  - ⇒ Agglutination mittels Antiseren
  - ⇒ **enteritische/typhöse Salmonellen?**



# Salmonellen *et al.* -Diagnostik @IMM

=> 1. Molekularbiologisch Analyse



PCR Gastro-Panel

**Salmonella sp. => POSITIV**

*Shigella*/EIEC

*Campylobacter*

EHEC

## 2. Kulturelle Bestätigung



CHROMID®  
Salmonella  
Elite Agar

ID: MALDI-TOF  
**Salmonella sp.**

Serotypisierung/  
Identifikation



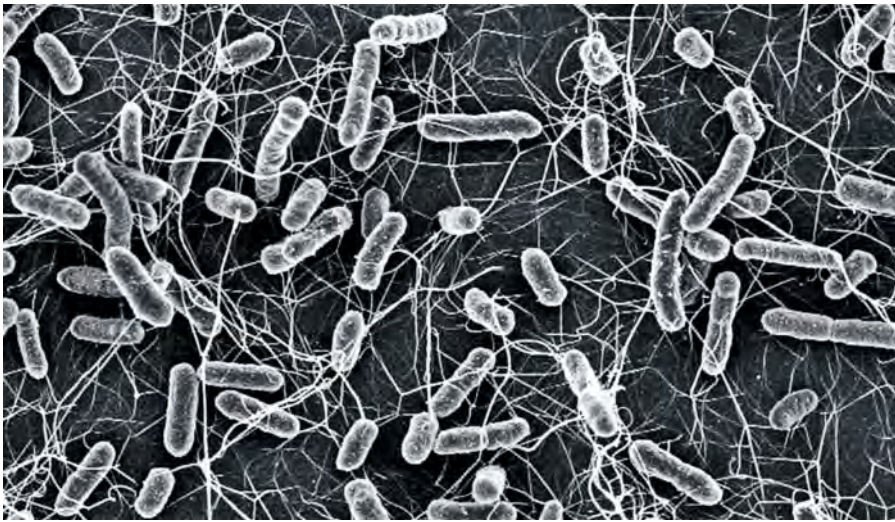


# Genus *Salmonella*

⇒ 2 Spezies:

*S. bongori*

*S. enterica*



*S. enterica* subsp. *arizonae*  
*S. enterica* subsp. *diarizonae*  
*S. enterica* subsp. *houtenae*  
*S. enterica* subsp. *indica*  
*S. enterica* subsp. *salamae*  
***S. enterica* subsp. *enterica***

- *Salmonella enterica* subsp. *enterica* umfasst alle Salmonellen, die bei Menschen vorkommen.

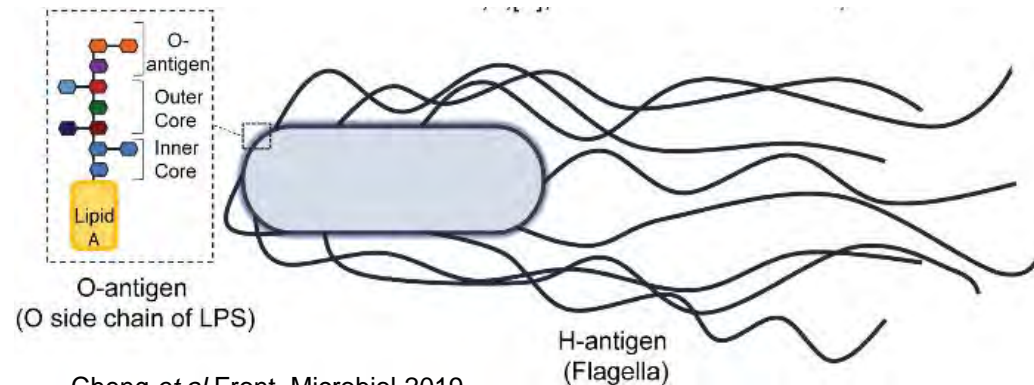
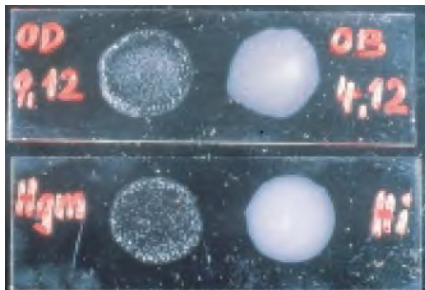
=> Unterscheidung durch Serotypen

Bsp.: Enteritische Salmonellen:  
*Salmonella* Enteritidis  
*Salmonella* Typhimurium

.....

# Serotypisierung von *Salmonella enterica* subsp. *enterica*

- ⇒ **Kauffmann-White Schema:** Klassifikation von *Salmonella* sp. basierend auf spezifischen serologischen Eigenschaften; **>2'500 Serotypen**
- ⇒ Unterscheidung der **O-Antigene** (LPS – ohne Hauch) und der **H-Antigene** (Geißel – mit Hauch) mit verschiedenen Antiseren gegen diese Antigene (**Vi-Antigene:** nur typhöse Salmonellen; Kapselantigen)



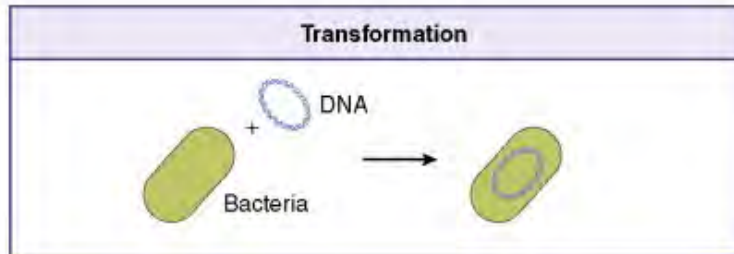
Cheng *et al* Front. Microbiol 2019

- ⇒ Im Labor nur «grobe» Differenzierung: typhöse Salmonellen ja/nein?  
Wenn ja Bestätigung/Ausdifferenzierung am NENT

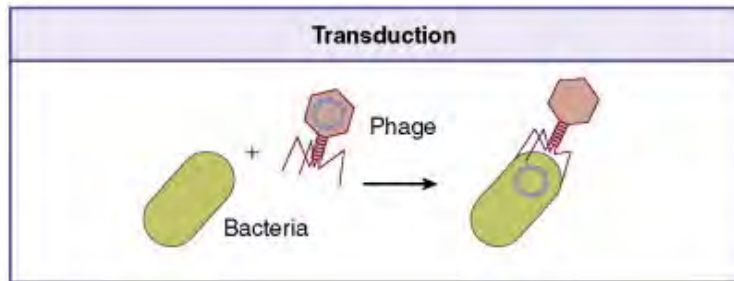


# **Experiment zu Resistenzplasmidtransfer**

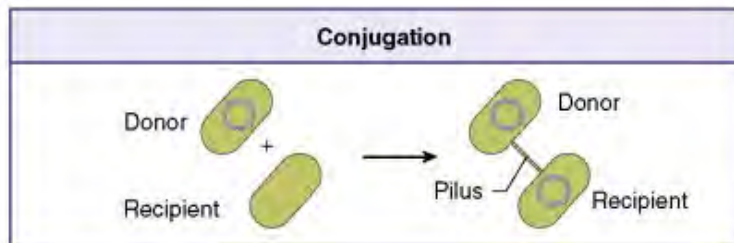
# Bakterielle Konjugation



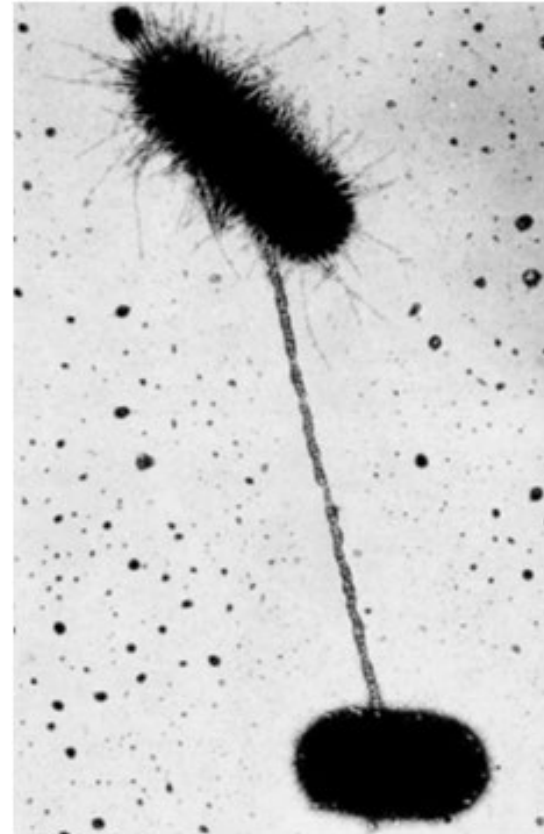
A



B

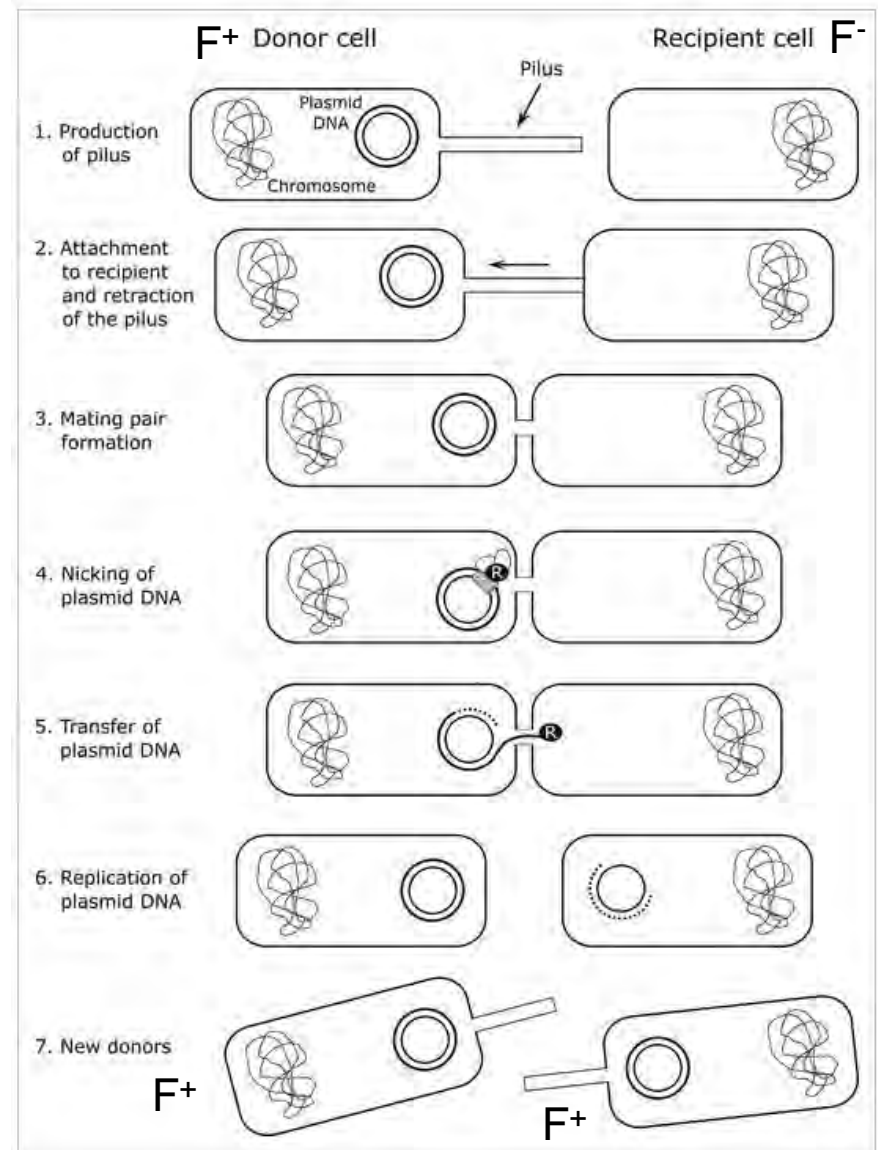
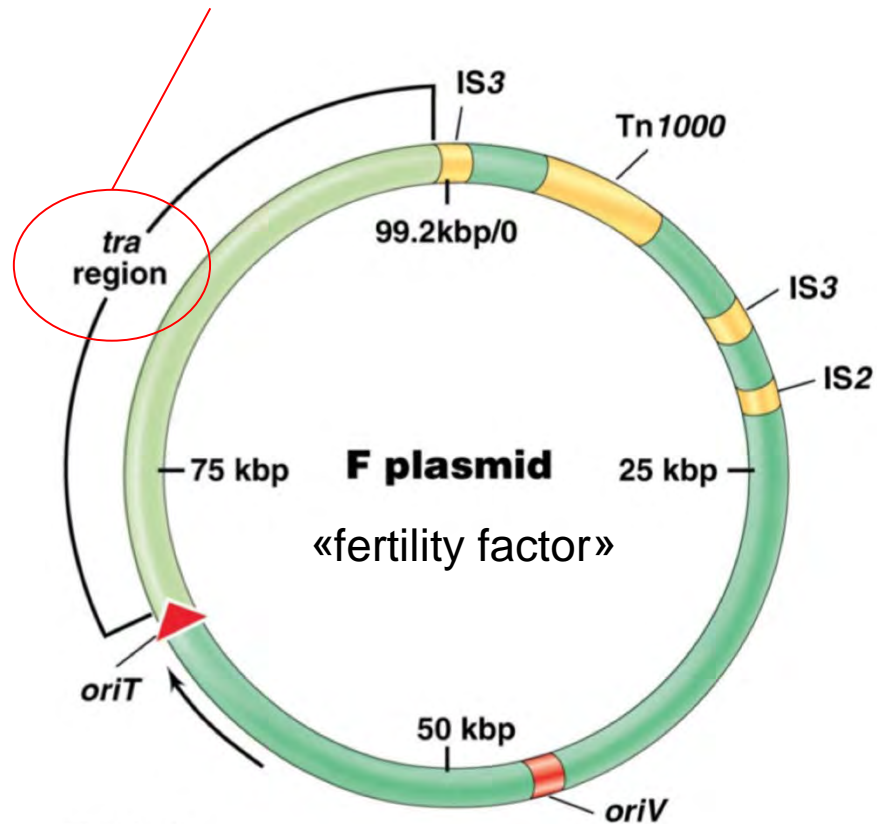


C



- J. Lederberg, E. Tatum (NATURE Vol. 158 1946 "Gene Recombination in *E. coli*")
- Unidirektionaler, horizontaler Transfer von Erbinformation; «sexuelle» Reproduktion
- Übertragung von Virulenzgenen, metabolischen Funktionen, Antibiotikaresistenz

## Pilus und andere Proteine des Konjugationsapparates



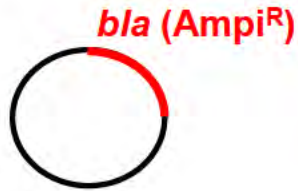
# Versuchsdurchführung

*gyrA* (Nal<sup>R</sup>)



**Donor *E. coli***

**Akzeptor *E. coli***



**AMP<sup>R</sup>, Lactose +  
NAL<sup>S</sup>**



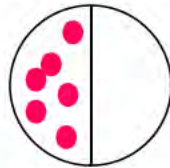
**NAL<sup>R</sup>, Lactose –  
AMP<sup>S</sup>**

**Kontrollplatten (MacConkey)**

**ohne Antibiotikum**



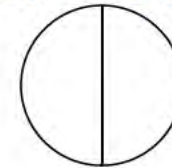
**AMP**



**NAL**



**AMP + NAL**



**500 µl**



**500 µl**



**Inkubation 1h, 37 °C**

**ohne Antibiotikum**



**AMP**



**NAL**



**AMP + NAL**



**Danke für ihre  
Aufmerksamkeit !**