



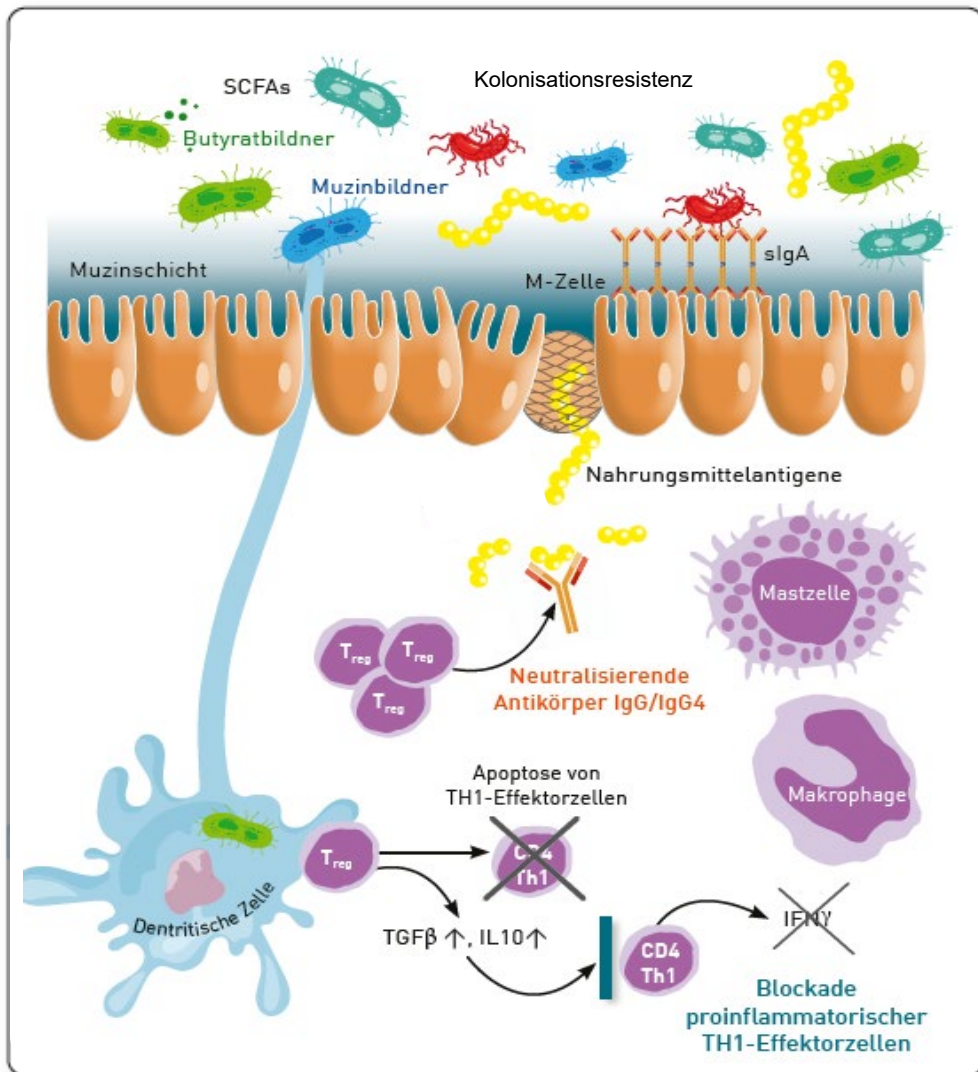
# Laboruntersuchung von Darmbakterien

## Was können wir aus der Mikrobiotaanalyse ablesen?

**Dr. rer. nat. Christiane Kupsch**

IMD Berlin MVZ

# Hauptaufgaben der Darmbakterien



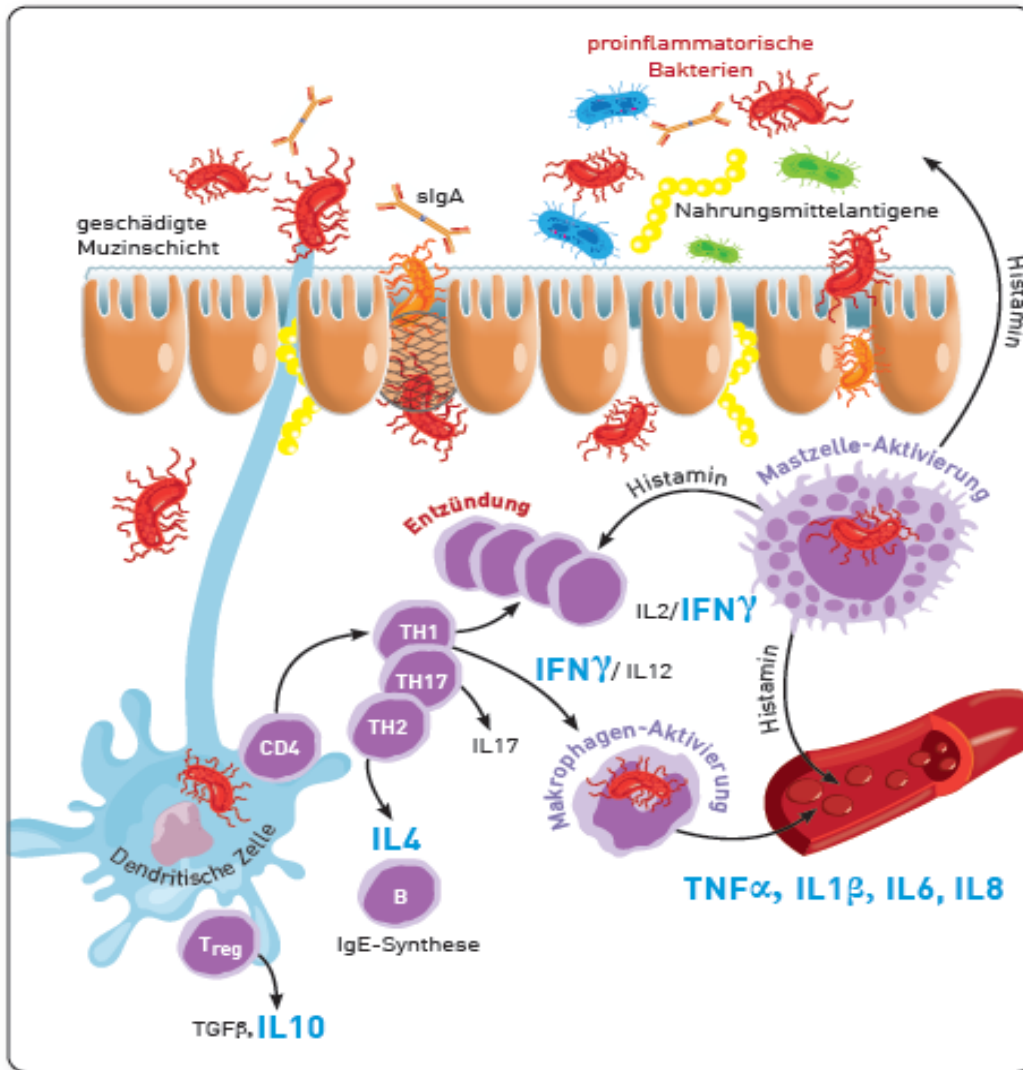
Training des Darmimmunsystem  
(**Immunmodulierende Bakterien**)

Bildung von antientzündlichen Metaboliten  
(v.a. **butyratbildende Bakterien**)

Pathogene, Pathobioten in Schach halten  
(**Kolonisationsresistenz**)

Erhalt und Erneuerung der Schleimbarriere  
(**Mukosaprotektive Bakterien**)

# Hauptaufgaben der Darmbakterien



## Bei Dysbiose

↓ Kolonisationsresistenz

↓ Mukosaprotektive Bakterien

↓ butyratbildende Bakterien



↓ Darmbarriere

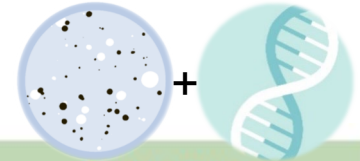
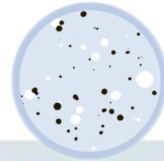


Pathogene und Nahrungsantigene gelangen in das Gewebe.



Das Immunsystem reagiert mit **Entzündung**.

# Labordiagnostik der Darmbakterien



Enthaltene Nachweise	Quantitatives Mikrobiotaprofil (Kultur)	Molekulargenetisches Mikrobiotaprofil (PCR + Hybridisierung)	Funktionelles Mikrobiotaprofil (PCR + Kultur)
Ballaststoffverwerter/Kolonisationsresistenz	✓	✓	✓
Butyratbildung	X	✓	✓
Histaminbildende Bakterien	X	X	✓
Immunmodulierende Bakterien	✓	X	✓
Mukosaprotektion	X	✓	✓
Mykologie	✓	X	✓
pH-Wert	✓	✓	✓
Proinflammatorische Bakterien	✓	✓	✓

# Labordiagnostik der Darmbakterien

## Quantitatives Mikrobiotaprofil: Anzucht auf Nährmedien

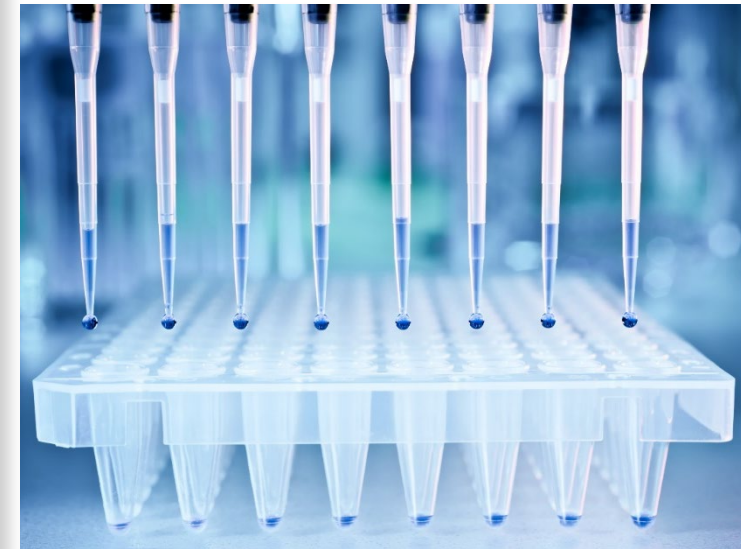
Untersuchung	Wert	Referenzbereich	
<b>Quantitatives Mikrobiotaprofil + Mykologie (Kultur)</b>			
<u>Immunmodulierende Bakterien</u>			
Enterococcus spp.	< 1x10 <sup>4</sup>	KBE/g 1x10 <sup>6</sup> - 1x10 <sup>8</sup>	■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■
Escherichia coli	2x10 <sup>6</sup>	KBE/g 1x10 <sup>6</sup> - 1x10 <sup>8</sup>	■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■
<u>Verwertung von Kohlehydraten</u>			
Bacteroides spp.	> 1x10 <sup>8</sup>	KBE/g ≥ 1x10 <sup>8</sup>	■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■
Bifidobacterium spp.	< 1x10 <sup>6</sup>	KBE/g ≥ 1x10 <sup>8</sup>	■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■
Lactobacillus spp.	< 1x10 <sup>3</sup>	KBE/g ≥ 1x10 <sup>5</sup>	■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■
<u>Verwertung von Eiweiß (Proteobacteria)</u>			
Enterobacteriaceae	< 1x10 <sup>6</sup>	KBE/g ≤ 1x10 <sup>6</sup>	■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■
Citrobacter spp.	< 1x10 <sup>6</sup>	KBE/g ≤ 1x10 <sup>6</sup>	■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■
E.coli Biovare	8x10 <sup>7</sup>	KBE/g ≤ 1x10 <sup>6</sup>	■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■
Enterobacter spp.	< 1x10 <sup>6</sup>	KBE/g ≤ 1x10 <sup>6</sup>	■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■
Klebsiella spp.	< 1x10 <sup>6</sup>	KBE/g ≤ 1x10 <sup>6</sup>	■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■
Serratia spp.	< 1x10 <sup>6</sup>	KBE/g ≤ 1x10 <sup>6</sup>	■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■
Proteus spp.	< 1x10 <sup>6</sup>	KBE/g ≤ 1x10 <sup>6</sup>	■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■
Pseudomonas spp.	< 1x10 <sup>5</sup>	KBE/g ≤ 1x10 <sup>5</sup>	■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■
<b>weitere Darmbakterien</b>			
alpha-hämolisierende Streptokokken	< 1x10 <sup>5</sup>	KBE/g ≤ 1x10 <sup>5</sup>	■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■
beta-hämolisierende Streptokokken	5x10 <sup>5</sup>	KBE/g ≤ 1x10 <sup>5</sup>	■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■
<b>Mykologie (Kultur)</b>			
Candida spp.	< 1x10 <sup>3</sup>	KBE/g ≤ 1x10 <sup>3</sup>	■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■
Candida albicans	< 1x10 <sup>3</sup>	KBE/g ≤ 1x10 <sup>3</sup>	■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■
Geotrichum spp.	< 1x10 <sup>3</sup>	KBE/g ≤ 1x10 <sup>3</sup>	■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■
Schimmelpilze	< 1x10 <sup>3</sup>	KBE/g ≤ 1x10 <sup>3</sup>	■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■
<b>pH-Messung</b>	<b>7,5</b>	5,5 - 6,5	<b>erhöht</b>



# Labordiagnostik der Darmbakterien

## Molekulargenetisches Mikrobiotaprofil: PCR-Nachweis von Bakterien-DNA

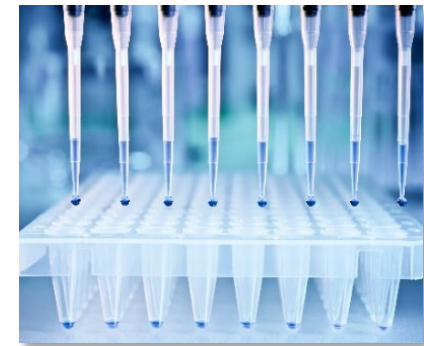
Untersuchung	Wert	Referenzbereich	
<b>Molekulargenetisches Mikrobiotaprofil (PCR + Hybridisierung)</b>			
Dysbiose-Index	3	1	1 2 3 4 5
bakterielle Diversität	1,5	> 2,5	
Butyratbildung	vermindert	normal	
Mukosaprotektion	normal	normal	
Kolonisationsresistenz	normal	normal	
Proinflammatorische Bakterien	erhöht	normal	
<b>Butyratbildung</b>			
Anaerobutyricum hallii	leicht vermindert	normal	
Eubacterium rectale	vermindert	normal	
Faecalibacterium prausnitzii	normal	normal	
<b>Mukosaprotektion</b>			
Akkermansia muciniphila	normal	normal	
Faecalibacterium prausnitzii	normal	normal	
Lactobacillus spp.	normal	normal	
<b>Kolonisationsresistenz</b>			
Bacteroides spp.	vermindert	normal	
Bacteroides spp. & Prevotella spp.	leicht vermindert	normal	
Bifidobacterium spp.	leicht erhöht	normal	
Lactobacillus spp.	normal	normal	
<b>Proinflammatorische Bakterien</b>			
Proteobacteria gesamt	erhöht	normal	
Enterobacteriaceae	normal	normal	
E. coli & Shigella spp.	erhöht	normal	
<b>weitere Darmpathologie-assoziierte Bakterien</b>			
<b>Actinobacteria</b>			
Actinobacteria gesamt	leicht erhöht	normal	
Actinomycetales	vermindert	normal	
<b>Bacteroidetes</b>			
Alistipes spp.	leicht vermindert	normal	
Bacteroides fragilis	normal	normal	
Parabacteroides spp.	normal	normal	
pH-Messung	6,5	5,5 - 6,5	



# Labordiagnostik der Darmbakterien

Untersuchung	Wert	Referenzbereich	
<b>Funktionelles Mikrobiotaprofil (PCR + Kultur)</b>			
Dysbiose-Index	2	1	1 2 3 4 5
bakterielle Diversität	3,0	> 2,5	█
Butyratbildung	normal	normal	█
Mukosaprotektion	vermindert	normal	█
Kolonisationsresistenz	vermindert	normal	█
Proinflammatorische Bakterien	erhöht	normal	█
Histaminbildner	erhöht	normal	█
Candida-Pilze	normal	normal	█
pH-Messung	6,0	5,5 - 6,5	normal
<b>Butyratbildung (PCR)</b>			
Anaerobutyricum hallii	normal	normal	█
Eubacterium rectale	vermindert	normal	█
Faecalibacterium prausnitzii	normal	normal	█
<b>Mukosaprotektion (PCR)</b>			
Akkermansia muciniphila	vermindert	normal	█
Faecalibacterium prausnitzii	normal	normal	█
Lactobacillus spp.	vermindert	normal	█
<b>Kolonisationsresistenz (PCR)</b>			
Bacteroides spp.	vermindert	normal	█
Bacteroides spp. & Prevotella spp.	normal	normal	█
Bifidobacterium spp.	vermindert	normal	█
Lactobacillus spp.	vermindert	normal	█
<b>Immunmodulierende Bakterien (Kultur)</b>			
Enterococcus spp.	4x10 <sup>5</sup>	KBE/g 1x10 <sup>6</sup> - 1x10 <sup>8</sup>	█
Escherichia coli	< 1x10 <sup>4</sup>	KBE/g 1x10 <sup>6</sup> - 1x10 <sup>8</sup>	█
<b>Proinflammatorische Bakterien (Kultur)</b>			
Enterobacteriaceae	< 1x10 <sup>6</sup>	KBE/g <= 1x10 <sup>6</sup>	█
Citrobacter spp.	< 1x10 <sup>6</sup>	KBE/g <= 1x10 <sup>6</sup>	█
E.coli Biovare	> 1x10 <sup>8</sup>	KBE/g <= 1x10 <sup>6</sup>	█
Enterobacter spp.	< 1x10 <sup>6</sup>	KBE/g <= 1x10 <sup>6</sup>	█
Klebsiella spp.	5x10 <sup>7</sup>	KBE/g <= 1x10 <sup>6</sup>	█
Serratia spp.	< 1x10 <sup>6</sup>	KBE/g <= 1x10 <sup>6</sup>	█
Proteus spp.	< 1x10 <sup>6</sup>	KBE/g <= 1x10 <sup>6</sup>	█
Pseudomonas spp.	< 1x10 <sup>5</sup>	KBE/g <= 1x10 <sup>5</sup>	█
<b>Histaminbildner (Kultur)</b>			
Hafnia alvei	< 1x10 <sup>6</sup>	KBE/g <= 1x10 <sup>6</sup>	█
Klebsiella pneumoniae	5x10 <sup>7</sup>	KBE/g <= 1x10 <sup>6</sup>	█
Morganella morganii	< 1x10 <sup>6</sup>	KBE/g <= 1x10 <sup>6</sup>	█
<b>Mykologie (Kultur)</b>			
Candida spp.	< 1x10 <sup>3</sup>	KBE/g <= 1x10 <sup>3</sup>	█
Candida albicans	< 1x10 <sup>3</sup>	KBE/g <= 1x10 <sup>3</sup>	█
Geotrichum spp.	2x10 <sup>3</sup>	KBE/g <= 1x10 <sup>3</sup>	█
Schimmelpilze	< 1x10 <sup>3</sup>	KBE/g <= 1x10 <sup>3</sup>	█

Funktionelles Mikrobiotaprofil vereint beide Methoden



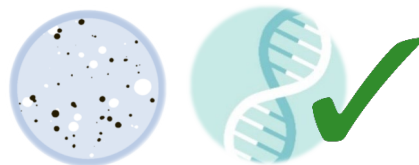
# Funktionelle Erkenntnisse aus der Mikrobiota-Diagnostik

## Dysbiose-Index

Ein Ungleichgewicht der Mikrobiota (Dysbiose) geht mit verminderter Resistenz gegen die Ansiedlung von Pathogenen und mit einer Schwächung der Darmbarriere einher.

Die Berechnung des Dysbiose-Indexes am IMD basiert auf Studien zur Bestimmung des „normalen“, d.h. des Kern-Mikrobioms gesunder Probanden.

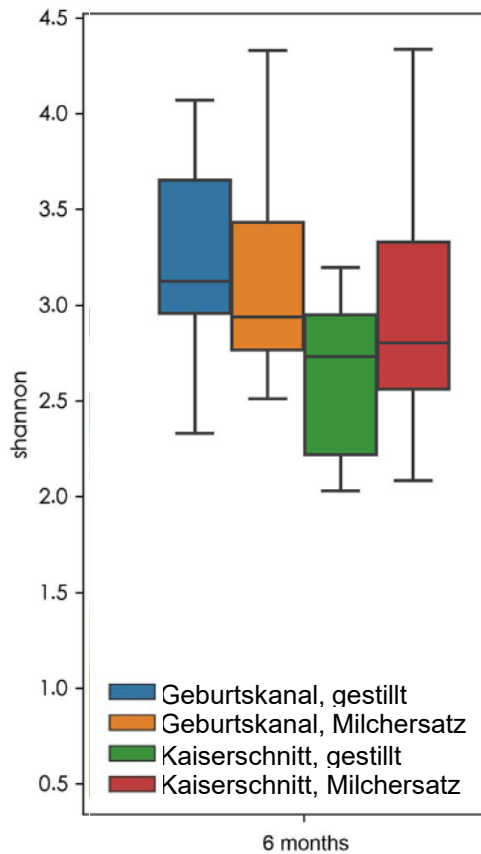
Je höher der Dysbiose-Index, desto mehr weicht das Kernmikrobiom von der „Normobiose“ ab.



Dysbiose-Index



# Funktionelle Erkenntnisse aus der Mikrobiota-Diagnostik



## Bakterielle Diversität (Shannon-Index)

Eine artenreiche Mikrobiota ist weniger anfällig für das Eindringen von Krankheitserregern, da die Vielfalt und Redundanz der bakteriellen Stoffwechselprozesse eine bessere Resistenz ermöglicht.

Eine geringere Vielfalt korreliert mit einer erhöhten Durchlässigkeit der Darmschleimhaut (*leaky gut*).

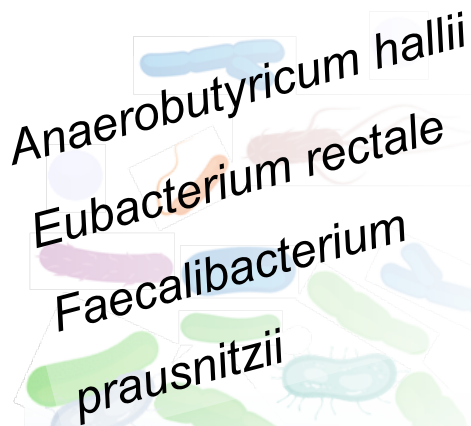


# Funktionelle Erkenntnisse aus der Mikrobiota-Diagnostik

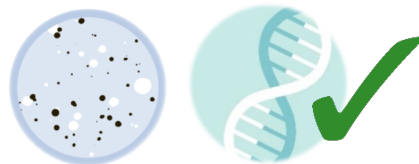
## Butyratbildung

Butyrat wird durch mikrobielle Fermentation im Dickdarm synthetisiert. Seine Bildung ist abhängig von der Verfügbarkeit von Ballaststoffen.

Butyrat dient als Hauptenergiequelle für die Darmepithelzellen und stimuliert die Schleimproduktion. Es steuert entzündungshemmende Prozesse, wirkt immunregulierend und stärkt die Darmbarriere.

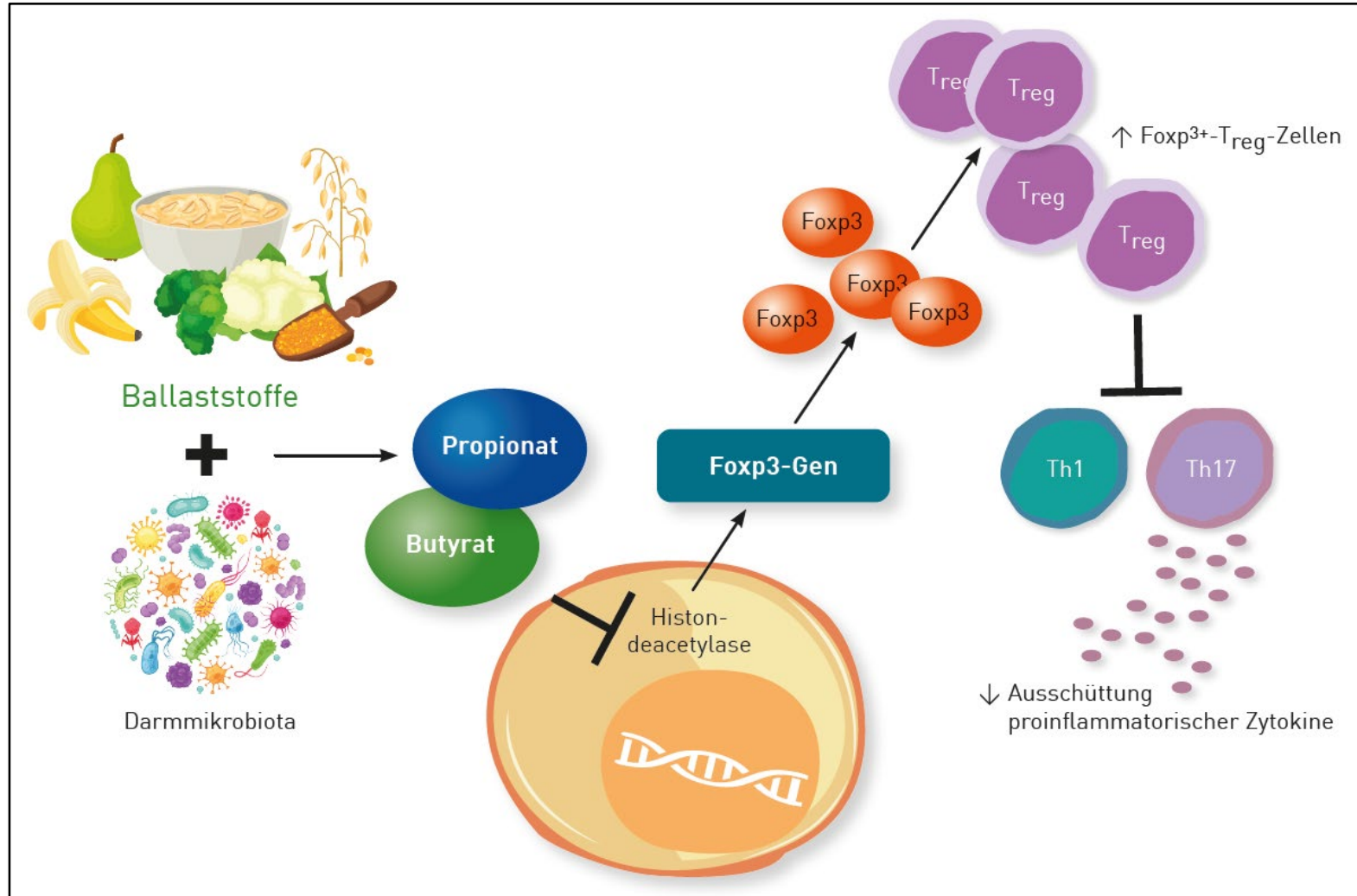


Anaerobutyricum hallii  
Eubacterium rectale  
Faecalibacterium  
prausnitzii



# Butyratbildung

Von Darmbakterien gebildetes Butyrat wirkt immunregulierend



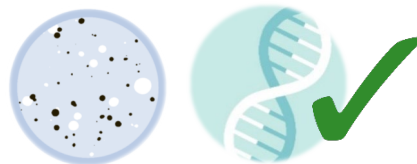
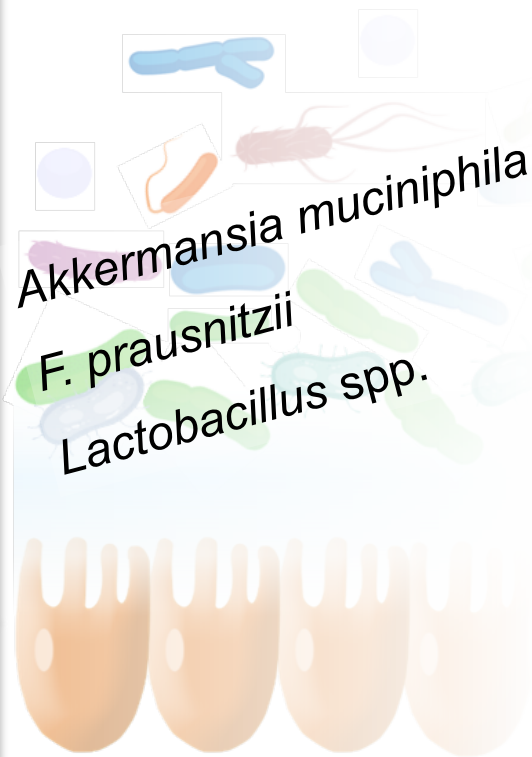
# Funktionelle Erkenntnisse aus der Mikrobiota-Diagnostik

## Mukosaprotektion

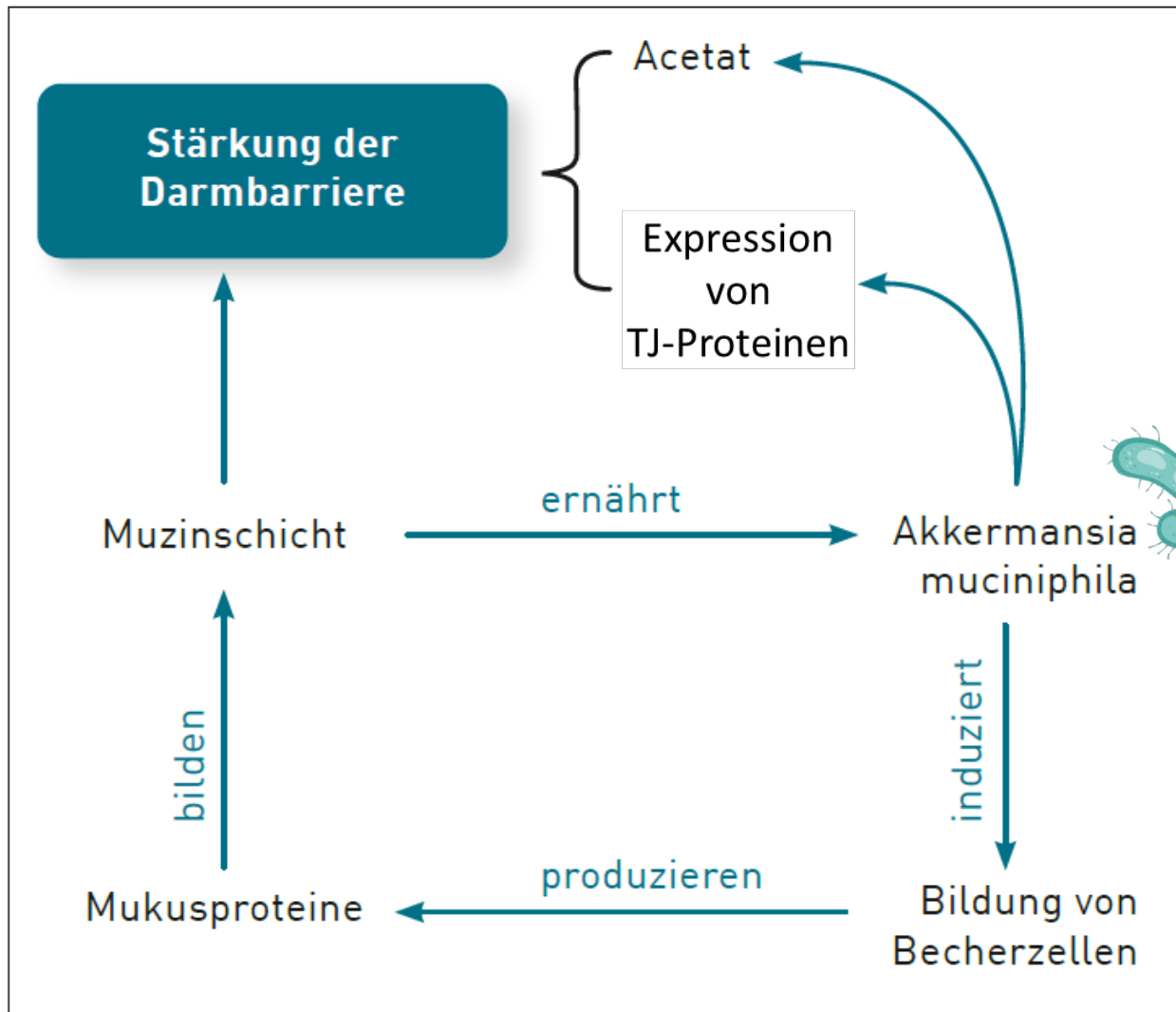
Eine dicke Schleimschicht (Muzinschicht) ist für die Aufrechterhaltung der Darmbarriere unerlässlich.

Eine Störung begünstigt die Besiedlung mit pathogenen Keimen und führt zu Entzündungsreaktionen.

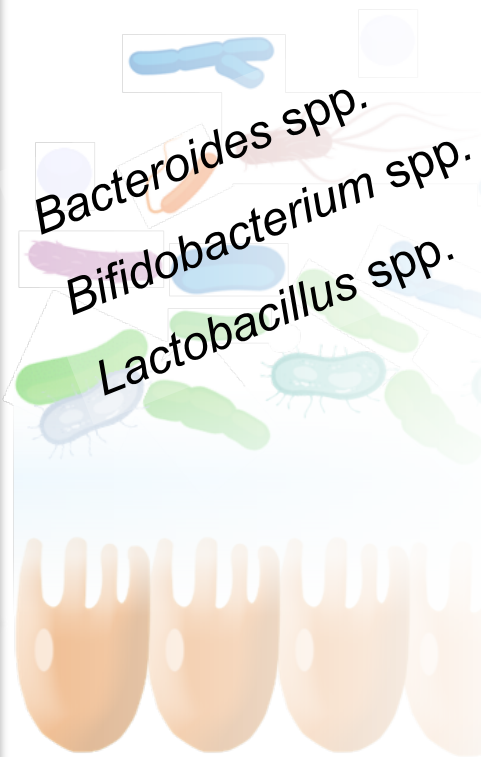
Bestimmte schleimhautschützende Bakterien sind nachweislich an der Aufrechterhaltung einer intakten Muzinschicht beteiligt.



# Mukosaprotektion durch *Akkermansia muciniphila*



# Funktionelle Erkenntnisse aus der Mikrobiota-Diagnostik



## Kolonisationsresistenz/Ballaststoffverwertung

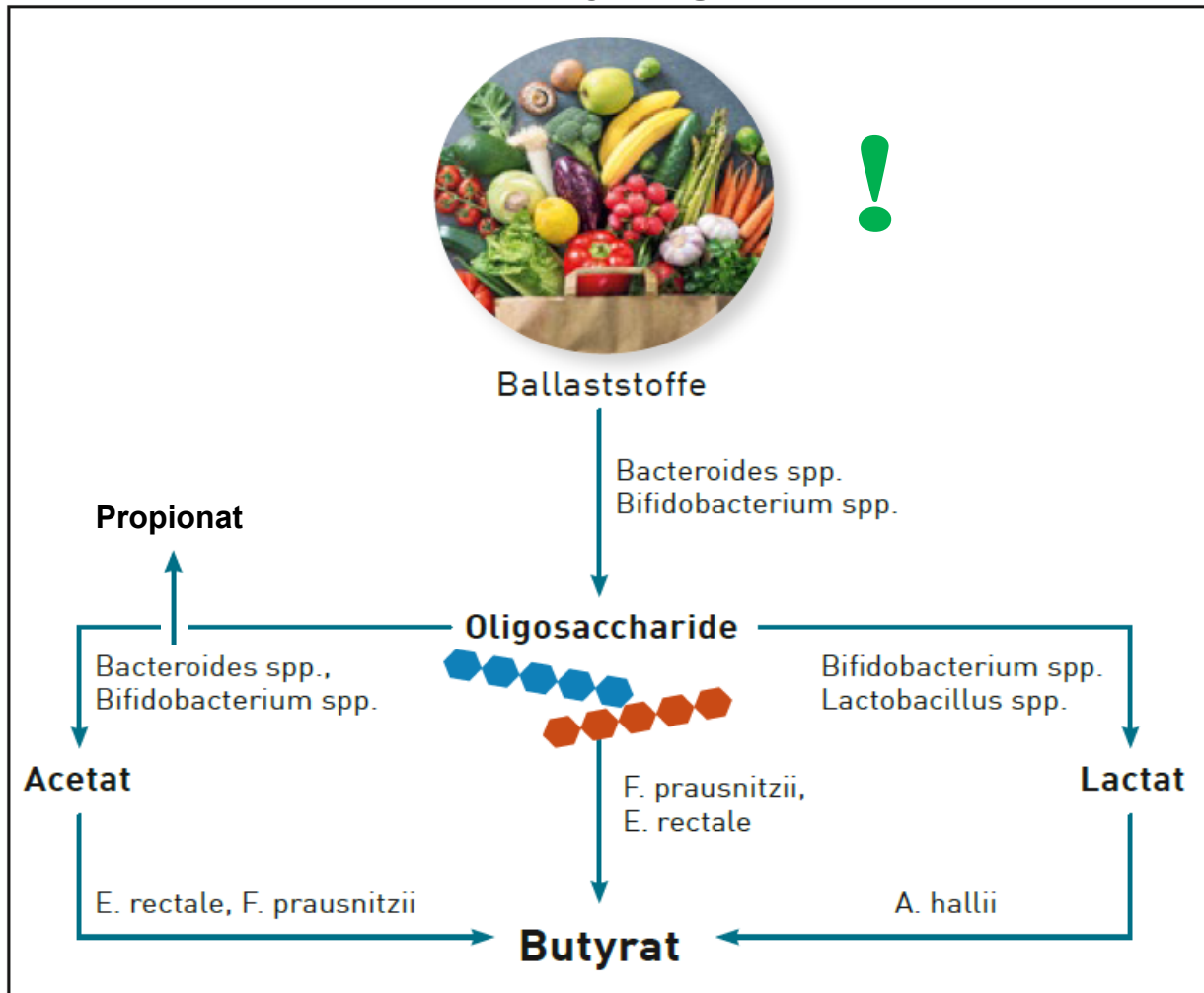
Bakterien dieser Gruppe sind idealerweise in großer Menge vorhanden. Sie blockieren Bindungsstellen am Darmepithel, setzen Bakteriozine frei und konkurrieren mit Pathogenen um Nährstoffe.

Eine Verminderung von Ballaststoff-verwertenden Bakterien führt zu einer verringerten Resistenz gegen die Ansiedlung von Pathogenen und fördert die Vermehrung von Pathobionten.



# Ballaststoffabbauende Bakterien

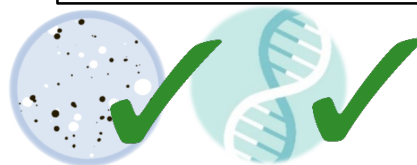
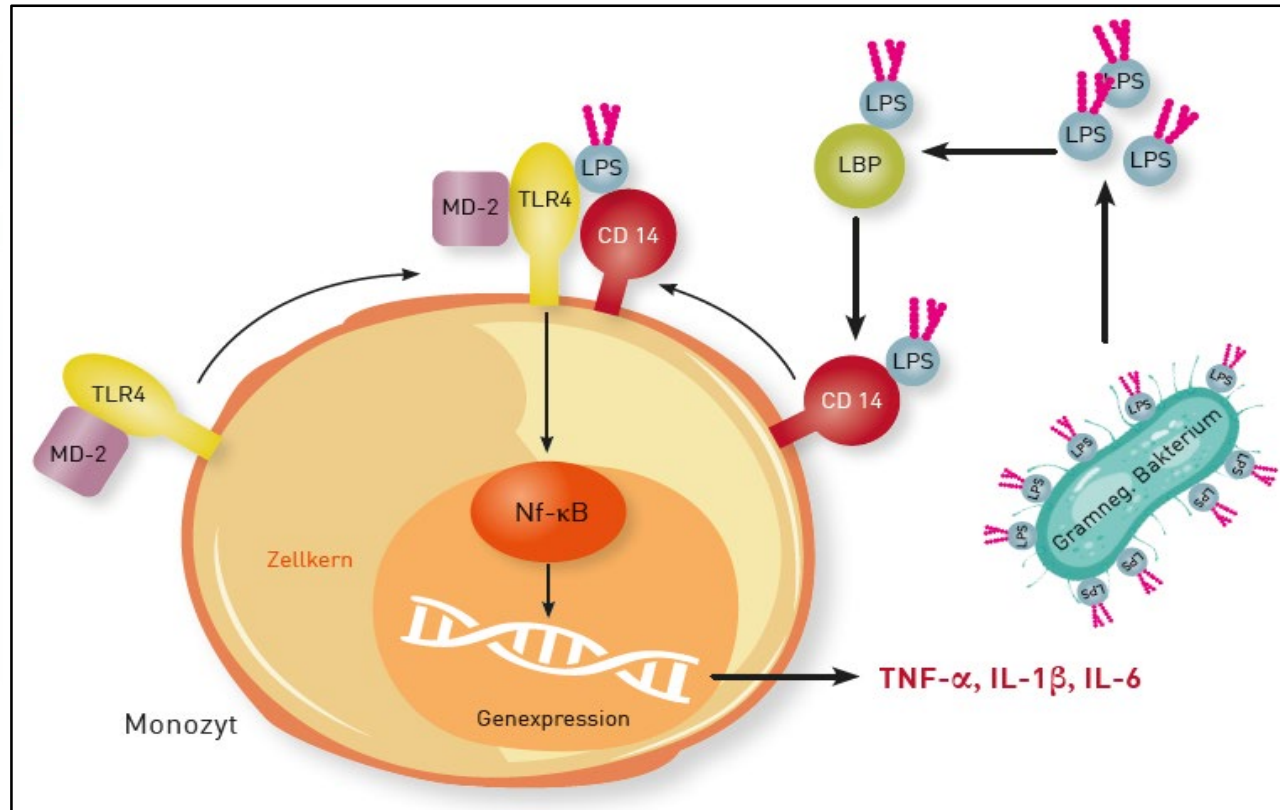
Insbesondere *Bacteroides* als Primärverwerter von Ballaststoffen sind erforderlich, damit Butyrat gebildet werden kann!



# Funktionelle Erkenntnisse aus der Mikrobiota-Diagnostik

## Proinflammatorische Bakterien

Enterobacteriaceae  
E. coli Biovare  
Citrobacter spp.  
Klebsiella spp.  
Serratia spp.  
Proteus spp.  
Pseudomonas spp.



# Funktionelle Erkenntnisse aus der Mikrobiota-Diagnostik

## Histaminbildende Bakterien

Wenn viele histaminproduzierende Bakterien vorhanden sind, kann sich Histamin im Darm ansammeln und Symptome wie Bauchkrämpfe, Blähungen und Reflux auslösen.

Ist das der Fall, muss die Dysbiose behandelt und eine histaminarme Diät eingehalten werden.



# Funktionelle Erkenntnisse aus der Mikrobiota-Diagnostik

## **Candida-Pilze**

Eine zu starke Vermehrung von *Candida* kann kommensale Darmbakterien verdrängen und so eine Dysbiose begünstigen.

Die Überwucherung kann wiederum durch Dysbiose verstärkt werden, wenn z.B. sekundäre Gallensäuren oder Butyrat, die eine antimykotische Wirkung haben, fehlen.

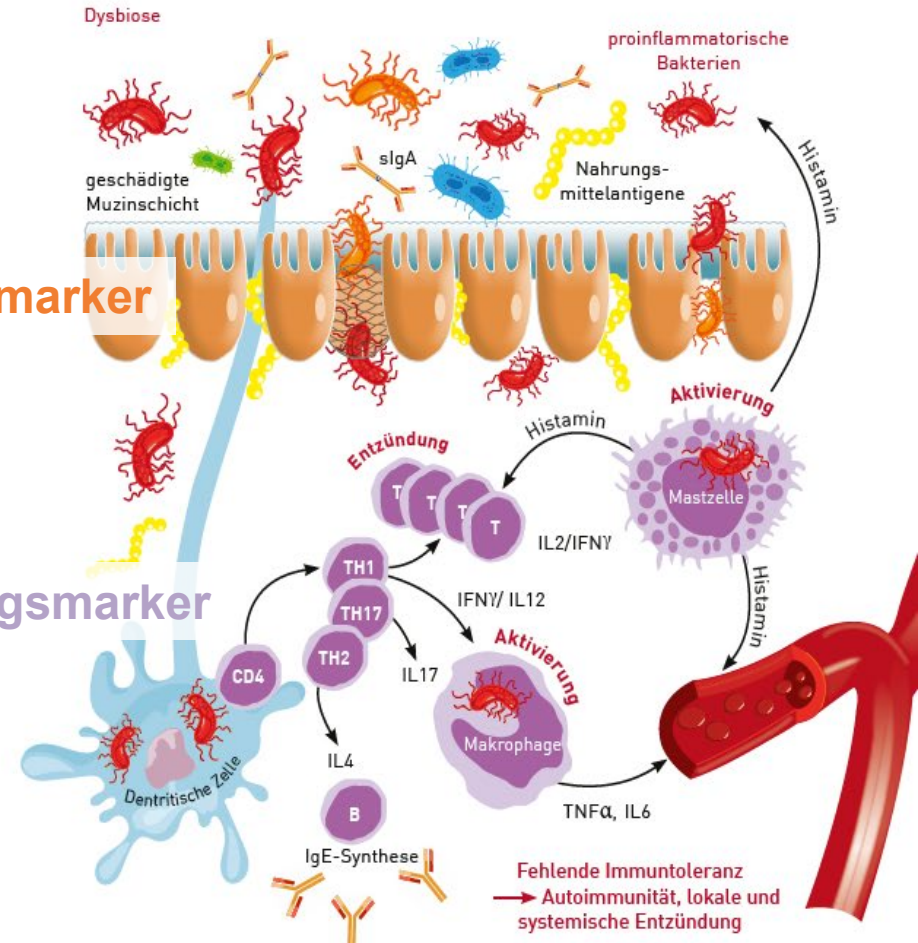
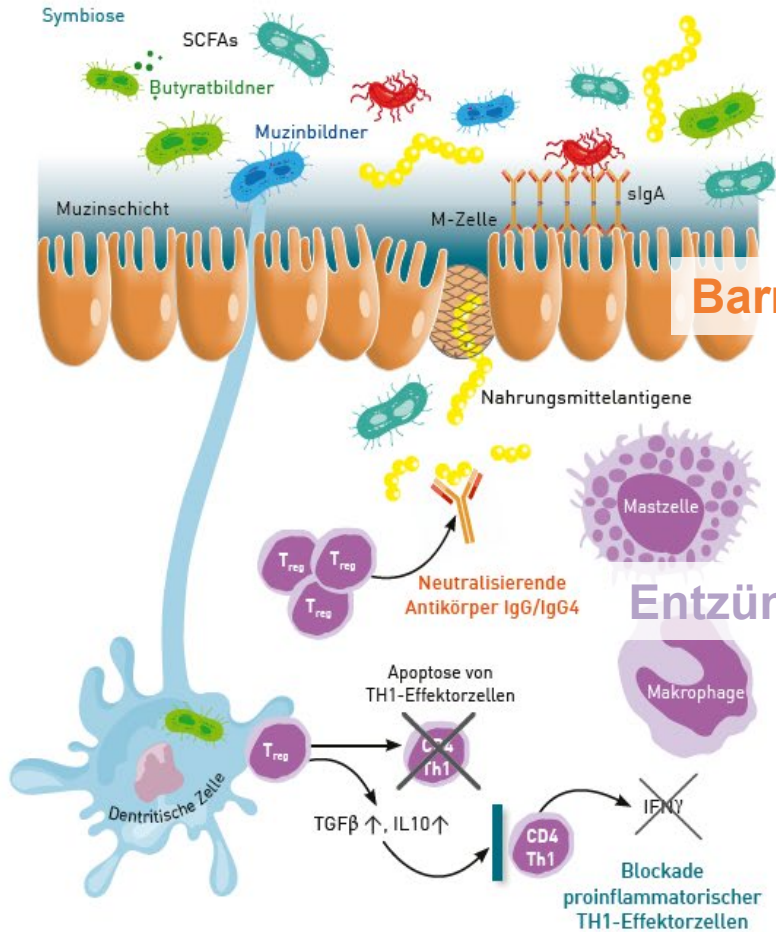
Toxische Stoffwechselprodukte von *Candida* können Entzündungen fördern.



# Dysbiose kann Ursache für Entzündung und Barrierestörung sein

Butyrat  
Muzin

LPS

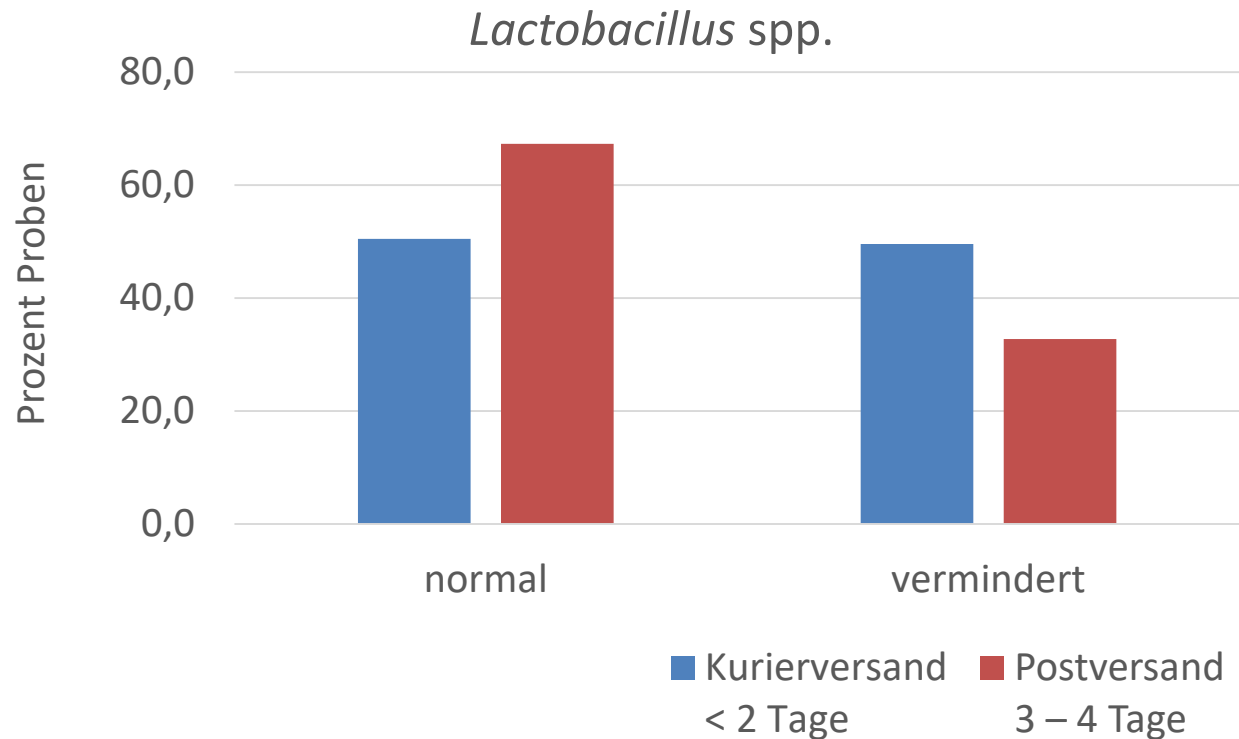


# Für valide Stuhldiagnostik: Unbedingt Präanalytik beachten!

- ✓ Antibiose – erst 3 Wochen nach Ende Stuhl abnehmen
- ✓ Ernährung – Essgewohnheiten beibehalten
- ✓ Probiotika – absetzen (min. 1 Woche vorher)
- ✓ Medikamente (Säureblocker, Cortisol, etc.) haben Einfluss
- ✓ nur frische Proben schicken

# Für valide Stuhldiagnostik: Unbedingt Präanalytik beachten!

- Bakterien und biochemische Marker verändern sich bei längerer Transportzeit
- Eigene Untersuchung an 107 Stuhlproben
- *Lactobacillus* und *Enterococcus* vermehren sich bei längerer Transportdauer!
- sIgA nimmt ab!



# Für valide Stuhldiagnostik: Unbedingt Präanalytik beachten!

- Bakterien und biochemische Marker verändern sich bei Temperaturschwankungen
- Eigene Untersuchungen: kurzer Hitzestress (50 °C) und Kältestress (-10 °C)

Parameter	Hitze	Kälte
<i>Enterococcus</i> spp.	20 % falsch hoch 20 % falsch niedrig	100 % falsch hoch
<i>E. coli</i>	40 % falsch niedrig	20 % falsch niedrig
<i>Bacteroides</i> spp.	100 % falsch niedrig	40 % falsch niedrig
<i>Bifidobacterium</i> spp.	40 % falsch niedrig	1/5 falsch niedrig
<i>Lactobacillus</i> spp.	40% falsch hoch	40% falsch hoch
Calprotectin	gleichbleibend	gleichbleibend
slgA	100 % falsch niedrig	gleichbleibend

APOTHEKER STARTET TESTVERSAND

## Temperaturen im Päckchen erreichen 60 Grad

STUTTGART - 31.07.2019, 17:30 UHR

18 

Die Vermutung, dass Päckchen beim Transport warm werden, bestand schon lange. Apotheker Christian Gerninghaus hat nun Gewissheit. (s / Foto: imago images / Alexander Pohl)

Wie warm wird es eigentlich in so einem Päckchen tatsächlich? Darüber wird ja viel spekuliert. Christian Gerninghaus, Apotheker aus Schlitz, wollte es genauer wissen und verschickte vergangene Woche, als es richtig heiß war, ein Päckchen mit zwei Minimum-Maximum-Thermometern quer durch Hessen.

**Stuhlproben sind sensibel!  
Kurze Transportzeiten und stabile  
Temperatur  
sind bei Stuhlproben genauso wichtig  
wie bei Blutproben!**



Die Stuhlproben dürfen nicht älter als 48 h sein.  
Bitte nutzen Sie unseren deutschlandweiten  
kostenfreien Kurierdienst (**Tel. 030 77001 450**).

Ihr  
**Labor** für  
**Immunologische  
SpezialDiagnostik**



# Vielen Dank!



 **IMD**  
Labor Berlin

 **IMD**  
Labor Berlin