

Inhalt

1.	Die Urinmikrobiologie	01
2.	Ablauf in der Urinmikrobiologie	01
2.1.	Allgemein	01
2.2.	Ablaufschema	03
3.	Erstanlage	04
3.1.	4-Platten-Methode	04
3.2.	Eintauchnährboden	05
3.3.	Hemmstofftest	05
4.	Ablesung der Erstanlage	06
4.1.	Reinkultur oder Mischkultur	06
4.2.	Keimzahlabschätzung	08
4.2.1.	Ablesung	08
4.2.2.	Interpretation der Keimzahl	10
4.2.3.	Einfluss von weiteren Faktoren	11
4.3.	Ablesung der Eintauchnährböden	12
4.4.	Keim-Identifizierung anhand der Erstanlage	13
5.	Ablesung des Hemmstofftests	15
6.	Anlage weiterer Identifizierungsmethoden	16
6.1.	Gramnegative	16
6.1.1.	Laktose	16
6.1.2.	Oxidase	16
6.1.3.	Bunte Reihe	16
6.2.	Grampositive	17
6.2.1.	Katalase	17
6.2.2.	tetra-strap	17
6.2.3.	Enterokokken-Platte	17
6.2.4.	CAMP-Test	17
7.	Anlage des Antibiogramms	18
7.1.	Agardiffusionstest	18
7.2.	Dilutionsverfahren	18

8.	Ablesung weiterer Identifizierungsmethoden	19
8.1.	Gramnegative	19
8.1.1.	Laktose	19
8.1.2.	Oxidase	19
8.1.3.	Bunte Reihe	20
8.2.	Grampositive	20
8.2.1.	Katalase	20
8.2.2.	tetra-staph	21
8.2.3.	Enterokokken-Platte	21
8.2.4.	CAMP-Test	22
9.	Ablesung des Antibiogramms	23
9.1.	Agardiffusionstest	23
9.2.	Dilutionsverfahren	23

1. Die Urinmikrobiologie

Die Urinmikrobiologie beschäftigt sich ganz allgemein mit den Mikroorganismen in der Urologie. Darunter versteht man ganz praktisch das Wissen von klassischen Krankheitserregern des Urogenitaltrakts. In der Urologischen Praxis geht es v.a. um die Bestimmung von Erregern, z.B. von Harnwegsinfekten, mittels verschiedener Methoden und einer Resistenzprüfung.

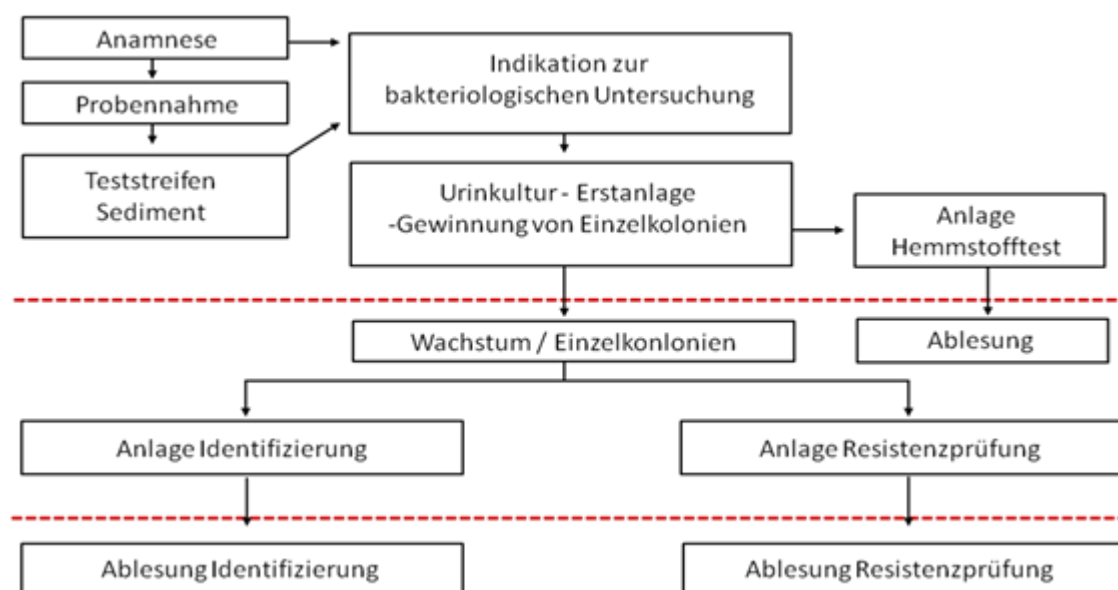
2. Ablauf in der Urinmikrobiologie

2.1. Allgemein

Nach der Anamnese sollte bei entsprechender Indikation eine Probennahme erfolgen. Bei der Probennahme ist darauf zu achten, dass diese korrekt vorgenommen wird, denn nur so lassen sich Kontaminationen durch Begleitflora (z.B. von der Haut) vermeiden. Geeignete Urinproben sind: Mittelstrahlurin, Katheterurin und Blasenpunktionsurin. Diese müssen in geeigneten keimfreien Behältern aufgefangen und zeitnah verarbeitet werden.

Ein Teststreifen kann erste Hinweise auf eine mögliche Erkrankung liefern. Hierfür wird ein Teststreifen in die Urinprobe getaucht und im Anschluss die einzelnen Reaktionen durch Abgleich mit einem Farbschema abgelesen. Ein Urinstreifentest eignet sich gut für eine schnelle, primäre Diagnostik und kann richtungsweisend für weitere Untersuchungen sein. Nachteilig ist jedoch, dass er keine präzisen quantitativen Ergebnisse liefern kann. Dazu ist eine weitere Labordiagnostik notwendig.

Auch eine Analyse des Urinsediments kann ggf. weiterhelfen. Von diesen Untersuchungen abgeleitet, ergibt sich dann eine mögliche Indikation zur mikrobiologischen Untersuchung.



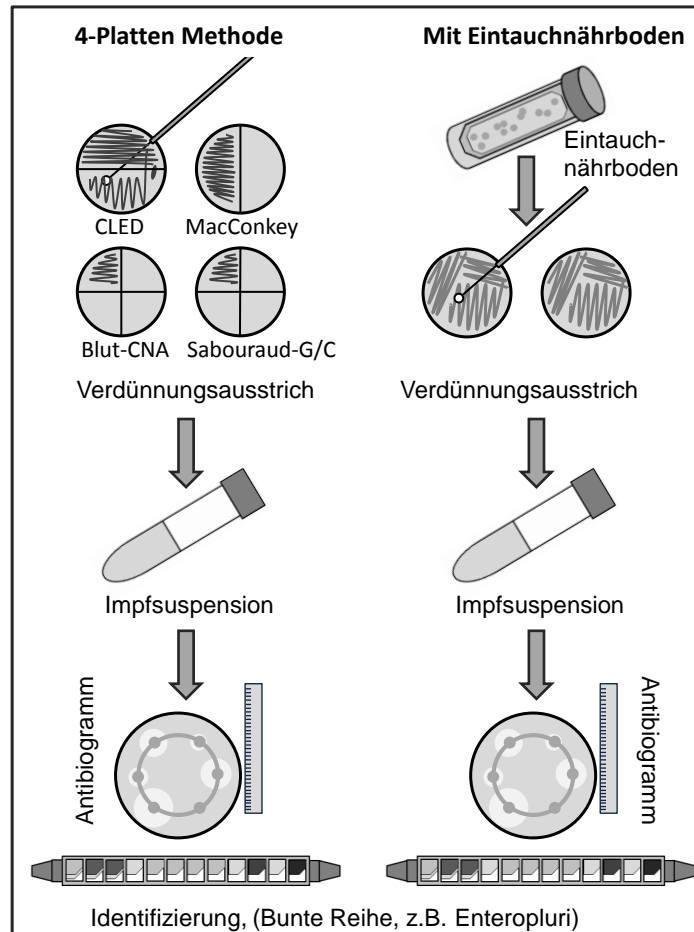
Fällt die Entscheidung eine mikrobiologische Analyse vorzunehmen, sollte man zunächst aus der gewonnenen Urinprobe eine Kultur (Eintauchnährboden oder Agarplatte) anlegen. Diese Erstanlage dient der Keimzahlbestimmung und der Gewinnung von Einzelkolonien. Auch ein Hemmstofftest könnte ggf. schon am ersten Tag angelegt werden.

Am zweiten Tag überprüft man das Wachstum auf der Erstanlage, kontrolliert auf Mischkulturen und schätzt bei Vorhandensein von Kolonien die Keimzahl ab. Eine erste Einordnung der Keime kann erfolgen und eine Anlage mit weiteren Identifizierungsmethoden (je nach Keimgruppe) zur Bestimmung der Art oder Gruppe sollte durchgeführt werden (Achtung: erfolgte die Erstanlage auf Eintauchnährboden, sollte man zunächst nochmal auf Platten austreichen, um eine Reinkultur zu erhalten – siehe auch Abb. 2.2.a) unter 2.2. Ablaufschema). Auch das Antibiogramm zur Resistenzprüfung wird an diesem Tag schon angelegt.

Der Hemmstofftest kann abgelesen werden.

Am dritten Tag erfolgt die Ablesung der Identifizierungsanlage und auch des Antibiogramms.

2.2. Ablaufschema



2.2.a) Direktanlage auf Platten (links) oder unter Verwendung von Eintauchnährböden (rechts)

Bemerkung

Die Verwendung der Methode mit Eintauchnährböden ist im Praxislabor nicht zu empfehlen, da die Ergebnisse dann einen Tag länger auf sich warten lassen. Da eine schnellst mögliche Diagnose und Behandlung angestrebt wird, ist die Methode mit Platten sinnvoller.

3. Erstanlage

3.1. 4-Platten-Methode

(siehe hierzu auch Fachtext 4.1.2. „Basistechniken Anzuchten“)

1. Auf eine Hälfte einer ganzen CLED-Platte 100 µl Urin (Kolbenhubpipette „Eppendorf“ oder notfalls Tropfpipette) auftragen und mit einer Öse flächig ausstreichen. Für die zweite Hälfte Öse in den Agar einstechen und anschließend einen Verdünnungsausstrich durchführen.

Alternative: nur 10 µl Urin mit kalibrierter Öse auftragen (dann bitte andere Keimzahl-schablonen wählen).

Urinmenge: optimal 100 µl

(1 µl Urin als Probe ist zu wenig, 10 µl gehen, 100 µl sind besser.)

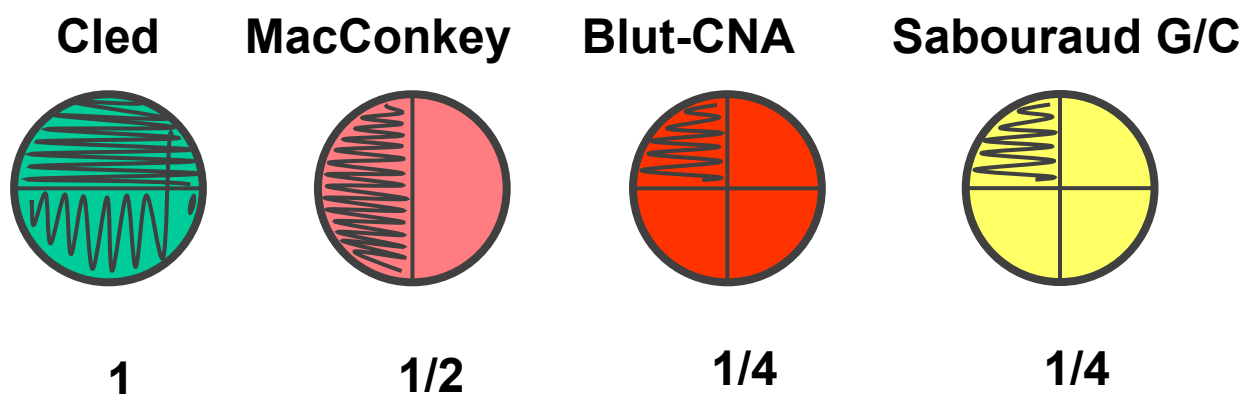
Achtung: eine Platte pro Patient verwenden.

2. Auf eine halbe MacConkey-Platte 10 µl Urin als einfachen Ausstrich auftragen. Die zweite Hälfte der Platte kann für die Probe eines weiteren Patienten verwendet werden.

3. Auf eine viertel (oder halbe) Blut-CNA-Platte ebenfalls 10 µl Urin mit der Öse ausstreichen. Die leeren Flächen der Platte können für weitere Patientenproben verwendet werden.

Es wird für alle Platten dieselbe 10 µl-Einmalöse weiterverwendet.

4. Es empfiehlt sich zum Nachweis von Hefen noch ein selektives Medium für Hefen und andere Pilze anzuimpfen: z.B. Sabouraud G/C (Gentamicin und Chloramphenicol). Eine viertel Platte reicht aus (siehe auch den Ausstrich auf der Blut-CNA-Platte).



3.1.a) 4-Platten Methode zur Erstanlage von Urin auf Platten.

3.2. Eintauchnährboden



Anlage: Eintauchen in die Patientenprobe, anschließend bebrüten.

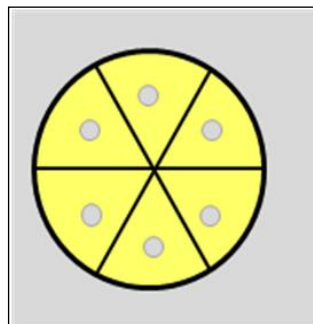
3.3. Hemmstofftest

Materialbedarf:

- Testkeim: *Bacillus subtilis* Stamm DSM 10, bezogen aus der eigenen Stammsammlung.
- Röhren mit ca. 1-3 ml steriler Kochsalzlösung oder Wasser für die Suspension.
- Nährmedium: Mueller-Hinton-Agar oder DST-Agar.
- Tupfer
- Ösen

Vorbereitung der Hemmstoff-Platten:

- In dem Röhren mit Kochsalzlösung den Testkeim einrühren, bis eine deutliche Trübung zu sehen ist.
- Suspension mit Wattetupfer in drei Richtungen auf der Platte ausspateln.
- Platte mit Stift rückseitig in die gewünschte Zahl an Segmenten aufteilen (wir empfehlen 6 oder 8).
- Die so behandelten Platten sind im Kühlschrank ca. 1 Woche haltbar.



Hemmstoffnachweis: Aufbringen der Patientenprobe

- einen Tropfen Urin (z.B. mit der 0,01 ml Öse, entspricht dann 10 µl Urin) in ein Segment auf die trockene Platte auftragen.
- Bebrütung: Über Nacht bei 36±1°C.

4. Ablesung der Erstanlage

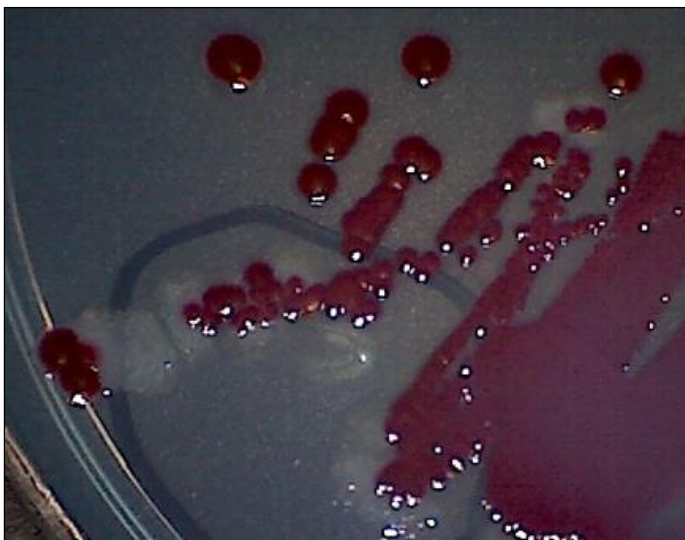
Aus der Erstanlage kann man einiges ablesen, gerade wenn man vier verschiedene Platten angelegt hat. Neben der allgemeinen Begutachtung, ob überhaupt eine Infektion mit einem Keim vorliegt, kann man hier auch schon sehen, um welche Art von Keim es sich handelt. Der allererste Schritt bei der Begutachtung der Erstanlage ist allerdings eine Begutachtung des Wachstums und eine Beurteilung, ob es sich um eine Rein- oder Mischkultur handelt.

4.1. Reinkultur oder Mischkultur

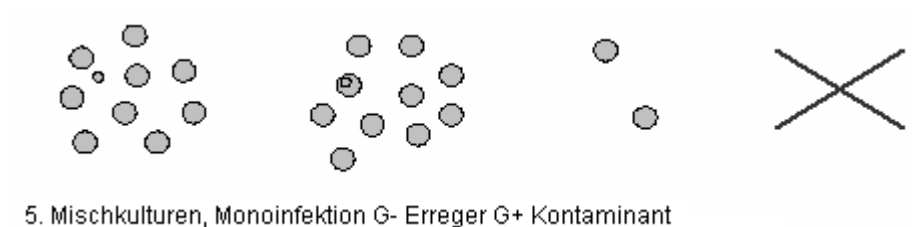
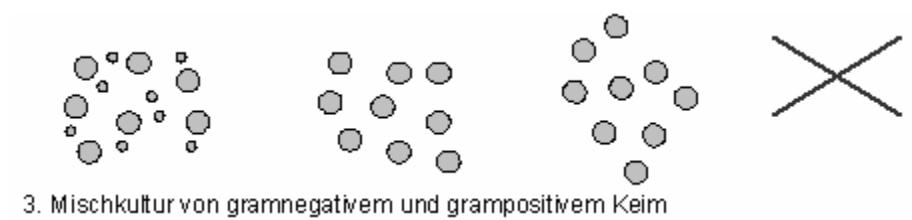
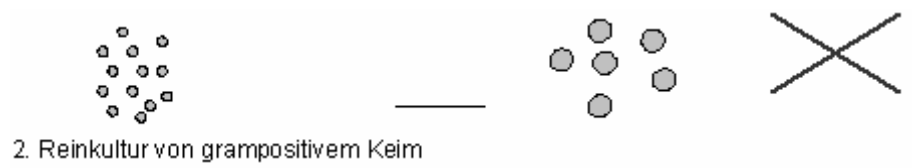
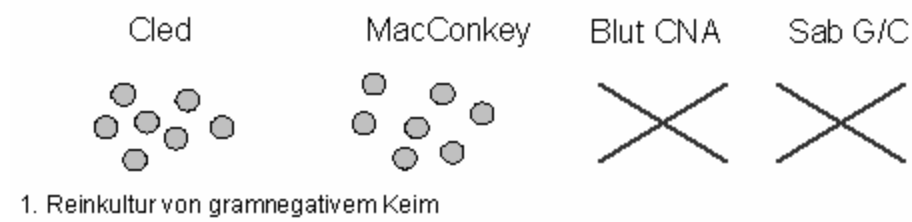
Für die untenstehende Betrachtung ist es weitestgehend unwichtig, ob es sich um Erstanlagen aus dem Urin oder um Ausstriche (ausgehend von Eintauchnährböden) handelt.

Das Erkennen von Mischkulturen ist nicht immer einfach. Gelegentlich kommt es vor, dass zwei verschiedene Bakterienarten kaum zu unterscheiden sind.

Es gibt auch Fälle, wo innerhalb einer Reinkultur zwei verschiedene Koloniemorphologien zu existieren scheinen. Beispiel: pigmentierte und nicht-pigmentierte *Serratia marcescens*-Kolonien.



4.1.a) Pigmentierte und nichtpigmentierte Kolonien von *Serratia marcescens* auf einer Platte.



4.1.b) Interpretation des Wachstums auf der Erstanlage (CLED, MacConkey, Blut-CNA, Sab G/C).

4.2. Keimzahlabschätzung

4.2.1. Ablesung

Gezählt werden die Kolonien auf der ersten Hälfte der CLED-Platte:

Bei 100 μ l: Kolonien auf der Platte mal 10 = ? KBE/ml im Urin

Bei 10 μ l: Kolonien auf der Platte mal 100 = ? KBE/ml im Urin

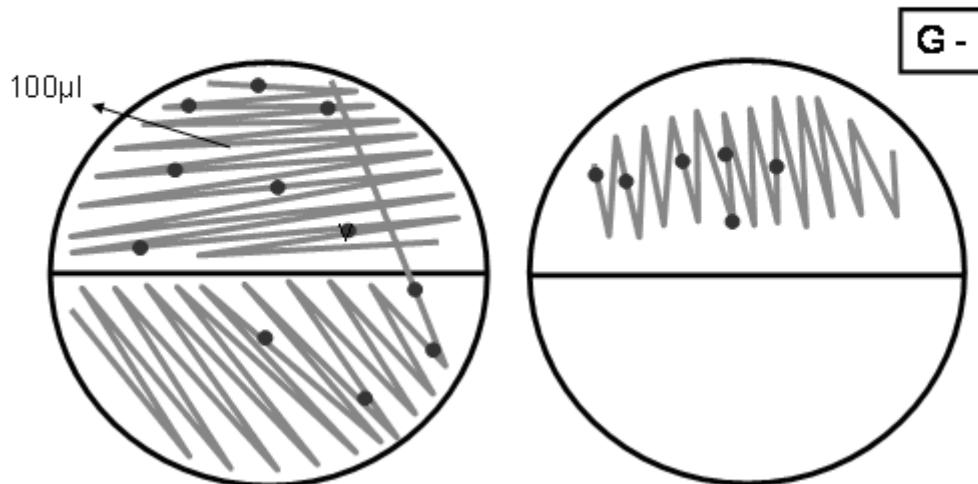
(KBE = Kolonie-bildende Einheiten)

Beispiel 1

1 Cled-Platte pro Patient

$\frac{1}{2}$ MacConkey-Platte pro Patient

Keimzahl ca. 10^2 /ml



Zu sehen sind 7 Kolonien \rightarrow aufrunden auf 10

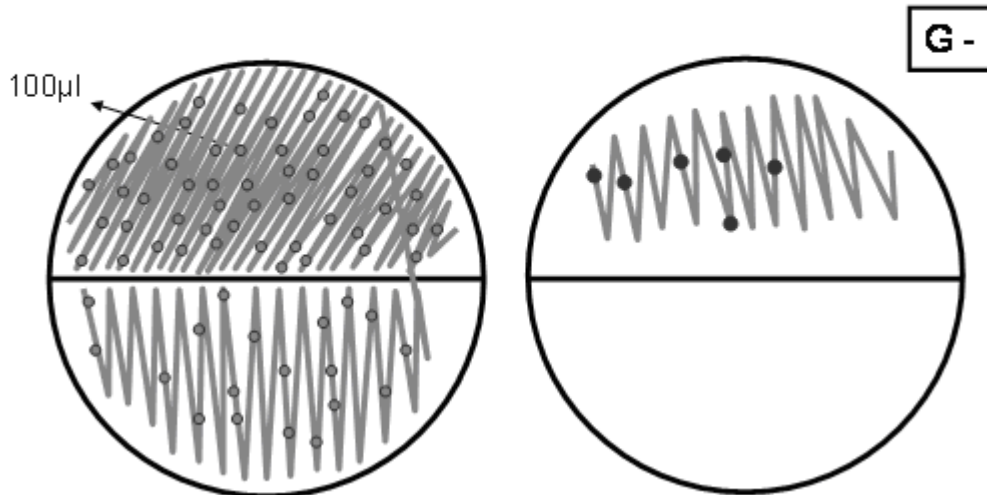
10 Kolonien \times 10 (weil 100 μ l Urin aufgetragen wurden) = 100 = 10^2 KBE/ml

Beispiel 2

1 Cled-Platte pro Patient

½ MacConkey-Platte pro Patient

Keimzahl ca. 10^3 /ml



Zu sehen sind 51 Kolonien → aufrunden auf 100

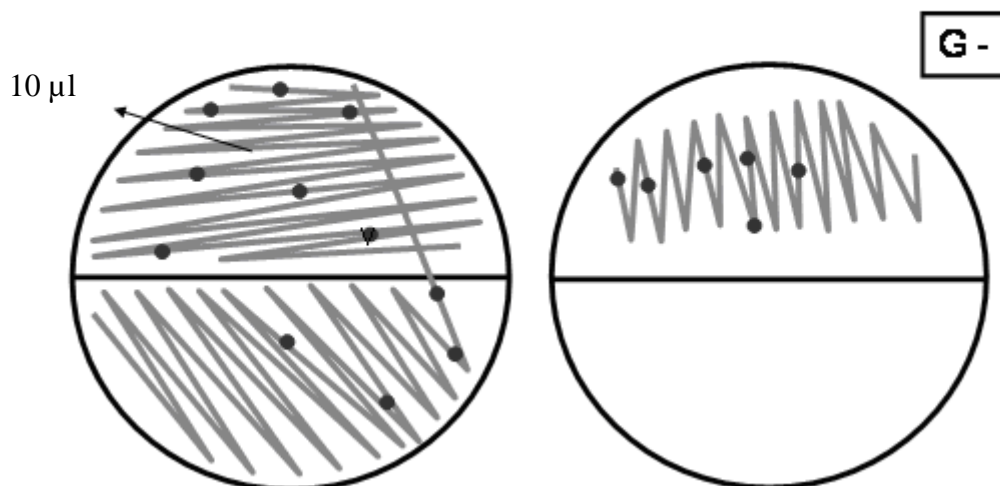
$100 \text{ Kolonien} \times 10 \text{ (weil } 100 \mu\text{l Urin aufgetragen)} = 1000 = 10^3 \text{ KBE/ml}$

Beispiel 3

1 Cled-Platte pro Patient

½ MacConkey-Platte pro Patient

Keimzahl ca. 10^3 /ml



Zu sehen sind 7 Kolonien → aufrunden auf 10

$10 \text{ Kolonien} \times 100 \text{ (weil } 10 \mu\text{l Urin aufgetragen wurden)} = 1000 = 10^3 \text{ KBE/ml}$

4.2.2. Interpretation der Keimzahl

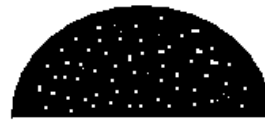
10 µl – Urin (Öse)



10^3 KBE/ml



10^4 KBE/ml



10^5 KBE/ml



10^6 KBE/ml

100 µl – Urin (Pipette)



10^2 KBE/ml



10^3 KBE/ml



10^4 KBE/ml



10^5 KBE/ml

Bei 100 µl Urin können in etwa die Vergleichskarten für Eintauchnährböden verwendet werden.

Die Entscheidung über Signifikanz ist nicht einfach. Es handelt sich hier um eine ärztliche Entscheidung, die im Einzelfall zu treffen ist aufgrund von mehreren Faktoren:

1. die Keimzahl als solche.
2. die Frage, ob es sich um eine Reinkultur oder eine Mischkultur mit 2 oder mehr Keimen handelt. Reinkulturen deuten eher auf Signifikanzen hin.
3. die Frage nach der Art des Erregers.
4. Güte der Probengewinnung (MSU bei Frauen...).
5. Vorliegen von sonstigen Krankheitssymptomen oder Infektionsmarkern wie Leukozyturie.
6. Anwesenheit von Hemmstoffen im Urin (Hemmstofftest).
7. Verweildauer in der Blase.

Dazu einige Gedanken im Einzelnen:

Keimzahl 10^5

In älteren Veröffentlichungen wurde die Keimzahl 10^5 als Grenze für die Signifikanz angegeben. Mittlerweile weiß man, dass es durchaus Infektionen gibt, die mit kleineren Keimzahlen im Urin einhergehen wie 10^3 , manchmal auch 10^2 . Hier spielt auch die Verweildauer in der Blase eine große Rolle. Ist die Verweildauer kurz gewesen, dann haben sich die Bakterien in dem ansonsten guten Nährmedium Urin noch nicht richtig vermehren können. Das könnte z.B. auftreten falls ein Patient kein Wasser lassen kann, in der Praxis aber dann schnell eine größere Menge Tee trinkt und dann Urin produziert. Dieser Urin ist sehr stark verdünnt oder genauer formuliert, die Bakterien sind noch nicht richtig angewachsen.

Keimzahl 10^4

Wenn es überhaupt eine eindeutige Signifikanzgrenze geben sollte, dann würden wir für 10^4 plädieren. Zumindest dann, wenn es sich um Reinkulturen handelt.

Keimzahl 10^3

Prinzipiell ab 10^3 von einer Infektion auszugehen, ist etwas übertrieben. Entsprechende Symptome und ggf. Anamnese sollten ebenfalls Hinweise geben.

Es ist auch zu bedenken, dass bei jemandem, der den Urin mit einer 10 μ l-Öse auf einer Platte aufbringt, bei 10^3 nur 10 Kolonien gewachsen sind. Das ist mit ein Grund, warum wir lieber empfehlen den Urin mit einer 100 μ l-Pipette aufzubringen. Da ist die Nachweisgrenze besser.

Die aktuelle S3-Leitlinie (2017)

Die aktuelle S3-Leitlinie sagt aus, dass Erregerzahlen von 10^3 und 10^4 KBE/ml bei entsprechenden Symptomen bereits klinisch relevant sein können, vorausgesetzt es handelt sich tatsächlich um eine Reinkultur.

4.2.3. Einfluss von weiteren Faktoren

1. Bei Vorliegen einer Mischkultur ist die Chance größer, dass es sich um ausgeschwemmte Bakterien aus der Haut und Schleimhaut handelt. Das ist insbesondere der Fall beim Mittelstrahlurin der Frau. In dem Fall kann man im Urinsediment auch vermehrt Epithelzellen erkennen. Urine mit 3 oder mehr Bakterienarten sind für die Weiterverarbeitung nicht geeignet.

2. Es ist bekannt, dass bestimmte Bakterienarten sich im Urin nicht gut vermehren und demnach in kleinen Keimzahlen auftreten. Das ist z.B. von *Staphylococcus saprophyticus* bekannt. Man weiß auch, dass es bei dem ganz normalen *E. coli* Stämme gibt, die hoch urinpathogen sind, weil sie sich auf Grund der vorhandenen Pili (Adhäsine) an den Epithelzellen der Harnwege festklammern. Das führt einerseits zu Krankheitserscheinungen und bringt aber andererseits mit sich, dass gar nicht so viele Bakterien in den Urin ausgeschwemmt werden.

3. Bei Vorhandensein von Hemmstoffen im Urin kann man jegliche Keimzahl, wenn es sich um eine Reinkultur handelt, als Verursacher der Infektion ansehen.

4. Die Frage ist natürlich überhaupt zu stellen, ob man auf Grund der Klinik und des Sediments mit einer Infektion rechnet. Hier zeigt sich der Vorteil der patientennahen Mikrobiologie wie sie in den urologischen Praxen betrieben wird: man kann jederzeit die Patientendaten mit den Laborergebnissen vergleichen. Das sollte man dann allerdings auch tun! Die Entscheidung, Infektion oder nicht, fällt nicht ausschließlich anhand der Platten.

4.3. Ablesung der Eintauchnährböden (ETN)

Keimzahl: Ableseschablone des Herstellers verwenden zur Abschätzung der Keimzahl.

Auswertung:

- 1) Keimzahl ist nicht signifikant:

Dip entsorgen.

Abrechnung: 32151 (€ 1,15)

- 2) Keimzahl ist signifikant:

- a) Gruppenzuordnung: G-, G+, Hefen: Wachstum auf (je nach Art des E T N)

CLED	MCC	Malz	Ergebnis
+	+	-	Gramnegative*
+	-	-	Grampositive
+	-	+	Hefen, Sprosspilze

* Vorsicht: Mischinfektionen von Grampositiven und Gramnegativen zeigen ebenfalls dieses Muster.

- b) auf Platten ausstreichen: vom Dip aus einen Verdünnungsausstrich zur Reinkulturgewinnung durchführen! Auf kleine Kolonien achten! Auch auf Verdacht ausstreichen!

Welche Platten?

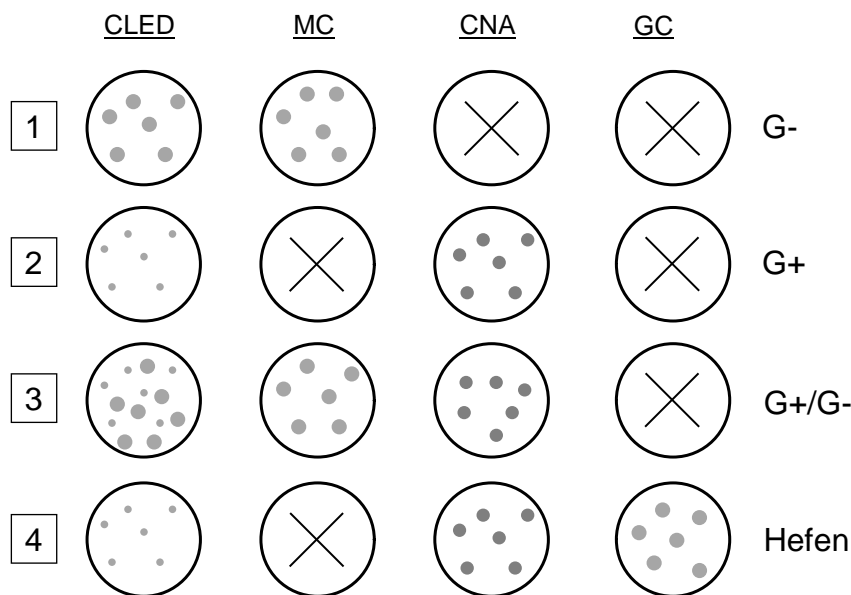
- Falls auch MC bewachsen:
von CLED auf CLED und von CLED oder MC auf MC
- Falls MC nicht oder schwach bewachsen:
von CLED auf CLED und von CLED auf Blut, besser Blut CNA

4.4. Keim-Identifizierung anhand der Erstanlage

Durch den zweckmäßigen Einsatz von CLED- und MacConkey-Platten kann schon eine wichtige Gruppeneinteilung vorgenommen werden: in gramnegative oder grampositive Keime, in Laktose-verwertende oder Laktose-nichtverwertende Keime.

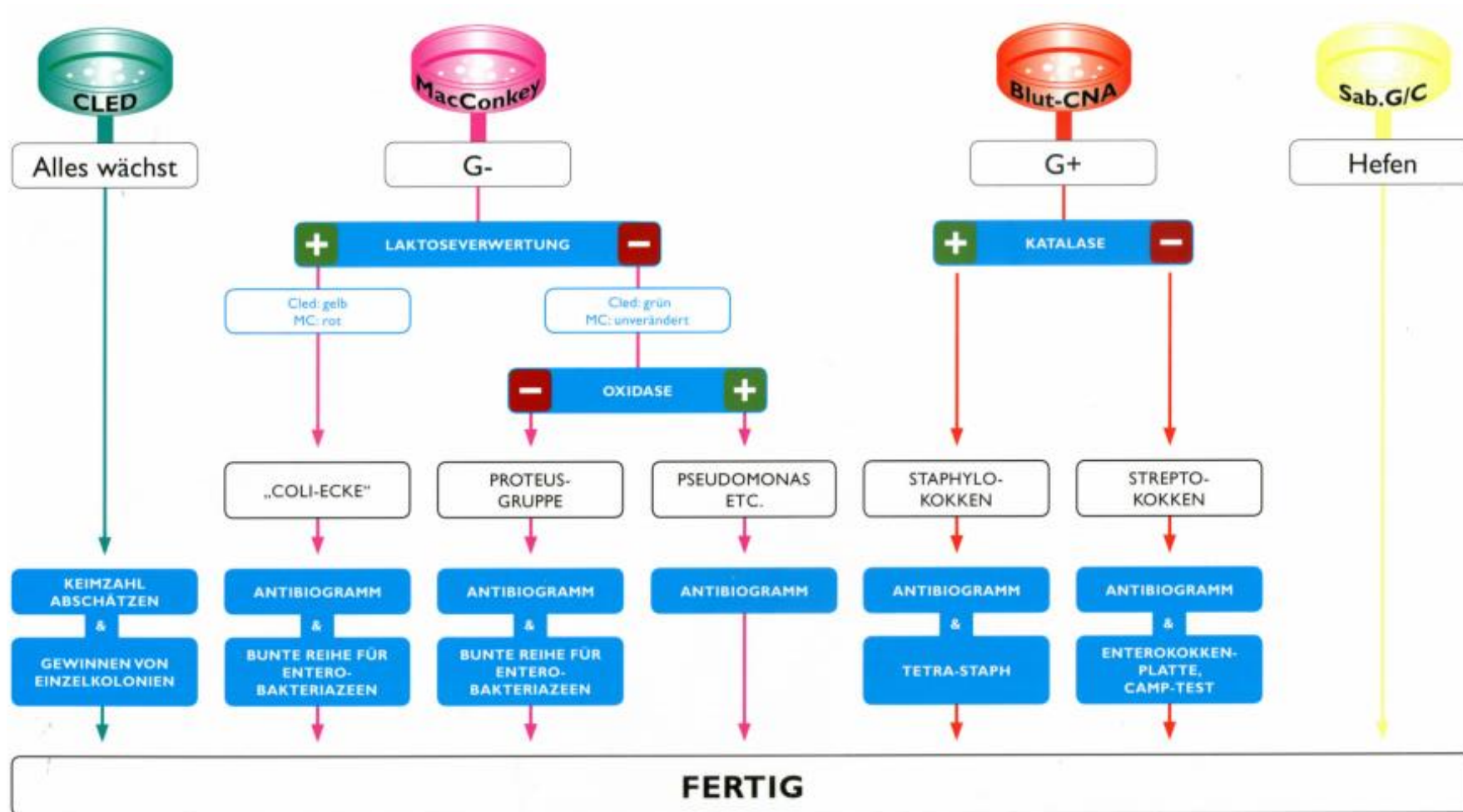
Mit anderen Plattenkombinationen ist das nicht unmöglich, jedoch entsprechend schwieriger. Gegebenenfalls muss man sich dann hier nach der Koloniegröße richten oder man erkennt die Gramnegativen an ihrer Hemmung durch ein aufgelegtes Nalidixinsäure- oder Colistin-Blättchen.

Bei Benutzung der 4-Platten-Methode sollte aber die Einteilung der Keime in gramnegative bzw. grampositive Bakterien oder Hefen kein Problem sein. Folgendes Vorgehen hat sich dabei bewährt:



4.4.a) Identifizierung der Bakterien, je nach Wachstum auf den 4 Platten

4.2.2.



4.4.b) Weitere Bearbeitung der Patientenprobe, je nach Wachstum auf den Platten der Erstanlage

5. Ablesung des Hemmstofftests

Auswertung: jeglicher Hemmhof bedeutet einen positiven Hemmstoffnachweis

Konsequenz:

- Bei Anwesenheit von Hemmstoffen sind auch kleinere Keimzahlen auf den Platten der Erstanlage signifikant.
- Die Antibiotika-Einnahme des Patienten (Compliance) kann so überprüft werden.



5.a) Ergebnis des Hemmstofftests: jeder Hemmhof ist ein positives Ergebnis, egal wie groß (siehe Platte unten links und oben links). Flächiges Wachstum von B. subtilis ist ein negatives Ergebnis.

Alternative zum Auftropfen des Urins auf den Agar:

- leeres Papierblättchen (käufliche leere, sterile Blättchen oder selbst hergestellte aus Filterpapier) aufbringen, danach mit einem Tropfen Patientenerin tränken

6. Anlage weiterer Identifizierungsmethoden

6.1. Gramnegative

6.1.1. Laktose

Um die Laktoseverwertung der Keime beurteilen zu können, muss kein separates System angelegt werden. Die Laktoseverwertung kann man auf der CLED- oder MacConkey-Platte erkennen, aufgrund des Farbindikators im Agar.

Zur Auswertung siehe hierzu bitte Abschnitt 8 dieses Fachtextes.

6.1.2. Oxidase

Verwertet der Keim keine Laktose, so ist der nächste Schritt in der Identifizierung die Testung nach Oxidase. Dafür wird ein Oxidase-Streifen und einige Kolonien des zu testenden Keims benötigt.

1. Einen Oxidase-Teststreifen aus der Verpackung entnehmen (am besten mit Pinzette) und bereitlegen.
2. Mit einer Öse Bakterien-Wachstum von der Platte nehmen.
3. Das Bakterienwachstum auf den Teststreifen aufstreifen.

6.1.3. Bunte Reihe

Es gibt verschiedenen kommerzielle Systeme, welche eine Reihe von Einzelreaktionen vereinen. Je nach Hersteller und System sind verschiedene Anlagen notwendig. Für genaue Details zur Handhabung der Bunten Reihen lesen Sie bitte die Anleitung Ihres Herstellers oder Fachtext 6.3.1.

API 10/20 oder Microbact A/B

1. Eine Suspension aus dem zu prüfenden Keim in Kochsalzlösung wird erstellt (MacFarland 0,5).
2. Vier Tropfen der Suspension in jede Kavität (Einbuchtung) eintropfen.
3. Teils werden markierte Vertiefungen mit zusätzlichen Reagenzien überschichtet.
4. Über Nacht bebrüten (36 ± 1 °C).

Enteropluri

1. Die Schutzkappe wird entfernt und die Metallnadel mit der Bakterienkolonie beimpft.
2. Die Nadel wird einmal durch das System gezogen und dann wieder zurückgeschoben. (Alle Reaktionskammern sind nun mit dem Keim beimpft).
3. Einige Reaktionskammern werden eingestochen, damit Sauerstoff für die Reaktion verfügbar ist.
4. Über Nacht bebrüten (36 ± 1 °C).

6.2. Grampositive

6.2.1. Katalase

Die Katalase ermöglicht eine Unterscheidung zwischen Staphylokokken und Streptokokken.

1. Ein Tropfen 3%ige H₂O₂-Lösung (Wasserstoffperoxid) wird auf den Deckel einer Agar-Platte getropft.
2. Mit der Öse wird ein wenig Wachstum (im Idealfall Einzelkolonien) des Erregers von der CLED-Platte (nur im Notfall von der Blut-CNA-Platte) abgenommen.
3. Das Wachstum wird in den Tropfen gerührt.

6.2.2. tetra-staph

Der tetra-staph ist ein System mit drei Agar-Flächen. Breite Fläche = Agar mit dem Antibiotikum Bacitracin. Schmale helle Fläche = Agar mit dem Antibiotikum Novobiocin. Schmale rosa Fläche = Mani-Kochsalz-Agar. Je nach Wachstum auf den drei Flächen lassen sich die wichtigsten Spezies der Staphylokokken unterscheiden.

1. Mit einer Öse werden einige Kolonien von der Platte aufgenommen und alle drei Flächen des tetra-Staph damit berührt. Anschließend kann mit der gleichen Öse das Material auf den Flächen in Bögen ausgestrichen werden.
2. Über Nacht bebrüten (36±1 °C).

6.2.3. Enterokokken-Platte

Die Enterokokken-Platte gibt es von verschiedenen Herstellern. Es handelt sich dabei um einen Agar, dem Äskulin und Eisen-Ionen beigefügt wurden. Zur Beimpfung nimmt man eine Kolonie (auch gerne 2-3, je nach Größe) mit einer Öse ab und verteilt diese im Zick Zack auf der Platte. Gerne kann man auch die Platte teilen und bis zu 4 Proben auf einer Platte auftragen. Anschließend wird die Platte bebrütet, wobei dies eigentlich nicht unbedingt notwendig ist. Die Platte verfärbt sich bei Anwesenheit von Enterokokken auch schon bei Raumtemperatur. Außerdem benötigt die Reaktion nur wenige Stunden. Schon nach 4-5 Stunden ist eine Schwarzfärbung zu beobachten.

6.2.4. CAMP-Test

Der CAMP-Test ermöglicht die Identifizierung von Streptokokken der Lancefield-Gruppe B.

Auf einer Blut-CNA-Platte beimpft man strichförmig mit dem *Staphylococcus aureus* -Stamm. Anschließend impft man einen zu prüfenden Streptokokken-Stamm im rechten Winkel zu den Staphylokokken auf, ausgehend vom Plattenrand kurz vor dem Staphylokokken-Stück endend.

7. Anlage des Antibiogramms

7.1 Agardiffusionstest

Es wird eine Bakteriensuspension mit gerade sichtbarer Trübung (MacFarland 0,5) angesetzt. Mit einem Watteträger wird die Suspension flächendeckend in 3 Richtungen auf einer Mueller-Hinton-Platte ausgestrichen. Anschließend werden die Antibiotika-Plättchen oder ein Antibiotika-Ring aufgelegt und angedrückt. Die Agar-Platte wird für 12-16 Std. bei 36°C bebrütet.

Bei A- und B-Streptokokken wird für das Antibiogramm ein spezielles Medium verwendet. Anstelle des MH-Agars wird hier ein Mueller-Hinton-Agar mit 5% Pferdeblut und NAD verwendet.

7.2. Dilutionsverfahren

Inhalte folgen

8. Ablesung weiterer Identifizierungsmethoden

8.1. Gramnegative

8.1.1. Laktose

Wenn der Keim keine Laktose verwertet, bleibt die CLED-Platte blau/grün bzw. die MacConkey-Platte blass rosa.

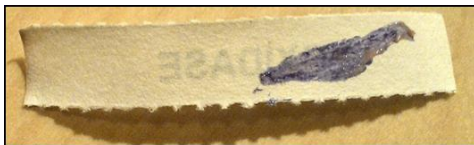
Kann ein Keim Laktose verwerten, schlägt die Farbe des CLED-Agars von blau/grün in gelb um. Der MacConkey-Agar verfärbt sich von blass rosa zu rot/pink.
Der Farbumschlag ist manchmal auf dem MacConkey-Agar aufgrund der ähnlichen Farbe nicht deutlich zu erkennen. Deswegen am besten den Farbumschlag auf beiden Platten beurteilen.



8.1.1.a) Positive Laktoseverwertung auf dem MacConkey-Agar

8.1.2. Oxidase

Verfärbt sich der Teststreifen (dort wo die Bakterien aufgetragen wurden) innerhalb weniger Sekunden blau, so besitzen die Bakterien das Enzym Cytochromoxidase und sind damit Oxidase-positiv.



8.1.2.a) Positive Reaktion auf dem Oxidase-Streifen

Bei einer negativen Oxidase-Reaktion handelt es sich höchstwahrscheinlich um Proteus oder Proteus-Verwandte (Providencia, Morganella, Serratia, ...). Bei einer positiven Oxidase-Reaktion handelt es sich um Oxidase-positive Umweltkeime, meistens Pseudomonas oder Pseudomonas-Verwandte.

Bei einer zu langen Wartezeit bei der Ablesung können die Oxidase-Teststreifen falsch positiv reagieren und sich auch bei Nichtvorhandensein des Enzyms verfärben.

8.1.3. Bunte Reihe

API 10/20 oder Microbact A/B (Punkte 1-4 unter Absatz 6.1.3. Anlage)

5. Farbumschläge mit dem Ableseschema auf dem Auswerteblock vergleichen.
6. Positive Reaktionen notieren, ggf. nach dem auf dem Auswerteblock vermerkten Schema zusammenrechnen.
7. Resultierende Codes mit dem Codebuch oder Software abgleichen.

Enteropluri (Punkte 1-4 unter Absatz 6.1.3. Anlage)

5. Farbumschläge mit dem Ableseschema auf dem Auswerteblock vergleichen.
6. Positive Reaktionen notieren, ggf. nach dem auf dem Auswerteblock vermerkten Schema zusammenrechnen.
7. Resultierende Codes mit dem Codebuch abgleichen.



8.1.3.a) Mögliche Reaktionen des Enteropluri nach der Beimpfung und Bebrütung

8.2. Grampositive

8.2.1. Katalase

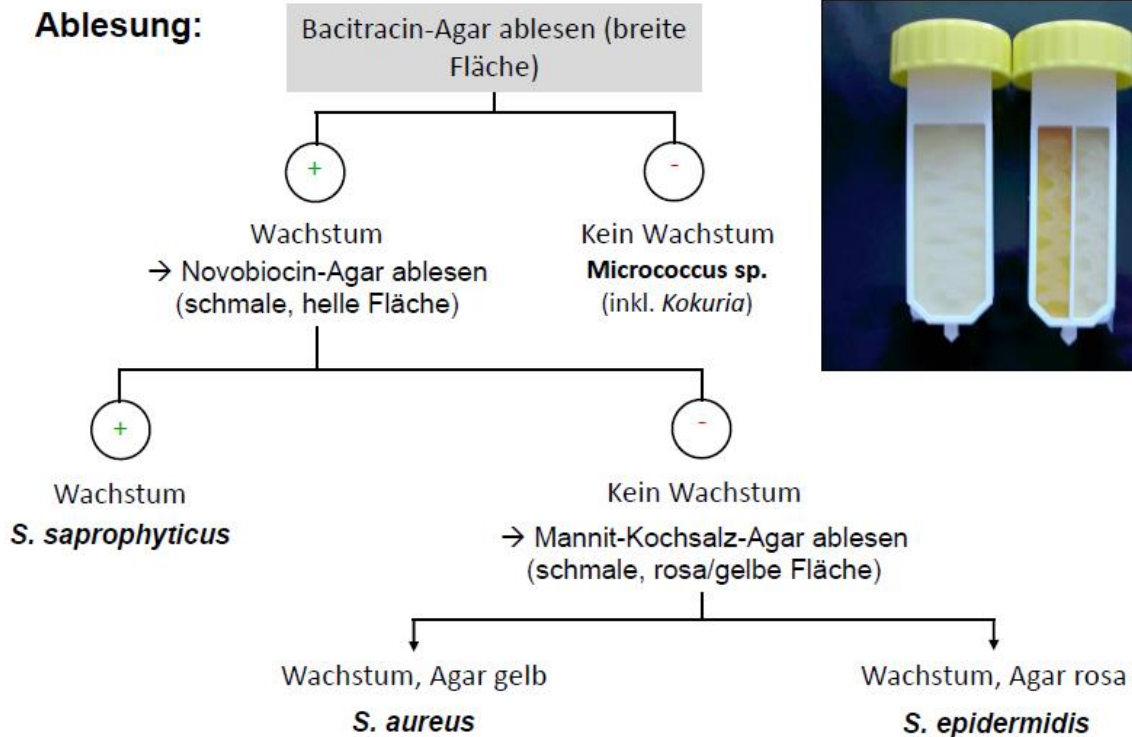
Bei Schaumbildung handelt es sich um Staphylokokken, tritt keine Schaumbildung auf, so handelt es sich um Streptokokken. Der Keim ist anschließend entsprechend weiter zu identifizieren.

Bei einer unsicheren Reaktion (schwache Schaumbildung) ist die Reaktion eher als positiv zu werten, eine Wiederholung kann aber sinnvoll sein.

8.2.2. tetra-staph

Bitte beachten:

Das ist ein Fließschema, d.h. die Ablesung funktioniert nur in eine Richtung (hier von oben nach unten). Ist man bei einem Ergebnis angekommen (z.B. *S. saprophyticus*), ist die Ablesung und somit die Identifizierung beendet. Die nachfolgenden Flächen müssen dann nicht weiter betrachtet werden. Ebenso sollte man auch keine Reaktion von unten vorziehen.



8.2.3. Enterokokken-Platte

Enterokokken (= D-Streptokokken) sind in der Lage das Äskulin im Agar umzusetzen. Das dabei entstandene Äskuletin verbindet sich mit den Eisen-Ionen im Agar und die Kolonien und der Agar verfärben sich schwarz. Alle anderen Streptokokken können das Äskulin nicht umsetzen und daher bleibt die Platte dann beige.



8.2.3.a) Positives (linke Seite) und negatives (rechte Seite) Wachstum auf dem Enterokokken-Agar

8.2.4. CAMP-Test

Handelt es sich nicht um Streptokokken der Lancefield-Gruppe B, wächst der Keim auf dem ausgestrichenen Strich, bildet jedoch keine keilförmige Hämolyse.

Bei B-Streptokokken zeigt sich im Bereich der schwachen Hämolysezone der Staphylokokken ein vollständig aufgehellter, keilförmiger Bereich mit extrem starker Hämolyse, dessen Spitze zum Staphylokokken-Impfstrich weist.

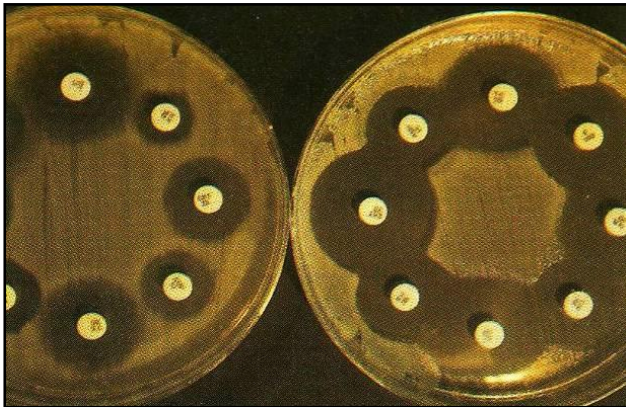


8.2.4.a) CAMP Test mit positivem Ergebnis

9. Ablesung des Antibiogramms

9.1 Agardiffusionstest

Der Durchmesser der Hemmhöfe wird mit einem Lineal oder Messschieber in mm ausgemessen. Anhand der verwendeten Norm (EUCAST, CLSI) wird die Resistenzstufe bestimmt (sensibel, intermediär, resistent).



9.1.a) Hemmhöfe auf Mueller-Hinton Agar mit verschiedenen Antibiotika Plättchen.

9.2. Dilutionsverfahren

Inhalte folgen