



Allgemeine Hinweise zu bakteriologischen Untersuchungsverfahren

Abnahme von Untersuchungsmaterial:

Der direkte Nachweis eines Erregers (Kultur oder molekulargenetischer Nachweis oder Nachweis von Stoffwechselprodukten) kann nur aus Kompartimenten erfolgen, in denen er sich passager oder dauerhaft während seines Vermehrungszyklus aufhält oder in die Stoffwechselprodukte ausgeschwemmt werden. Hierzu ist die Entnahme von Abstrichen, Sekreten, Punktaten oder Biotaten vom Ort der vermuteten Infektion notwendig (siehe Hinweise zur Präanalytik für mikrobiologische Untersuchungen).

Der Einsatz kultureller Verfahren hängt vom am Entnahmeort wahrscheinlichen Erregerspektrum und von der möglichen Begleitflora ab. **Die Kenntnis des Entnahmeortes ist deshalb für eine sinnvolle mikrobiologische Diagnostik zwingend erforderlich. Untersuchungsmaterial am Tag der Abnahme in das Labor einsenden.**

Erregerquantifizierung:

Soweit sinnvoll und möglich erfolgt eine quantitative oder semiquantitative Angabe der gefundenen Keimzahl auf dem Befund, um den Grad der Kolonisation / Infektion einzuschätzen.

Resistenztestung:

Voraussetzung für eine Resistenztestung ist die Anzucht eines Erregers in der Kultur. Eine Resistenztestung erfolgt nur für solche Keime, die in Abhängigkeit von nachgewiesener Keimmenge, Material, Entnahmeort und Diagnose als Krankheitserreger in Betracht kommen. Die Auswahl der Antibiotika erfolgt erreger- und lokalisationspezifisch. Eine Anpassung des Spektrums der zu testenden Antibiotika an praxis- oder stationsspezifische Besonderheiten ist nach Rücksprache möglich. Bei Therapie-Resistenz liefern wir Ihnen – soweit Bewertungskriterien nach EUCAST/CLSI existieren – eine Resistenz-Testung des von Ihnen verwendeten Antibiotikums, wenn Sie die Substanz auf dem Überweisungsschein angeben. Die Auswahl von Antimykotika für die Resistenztestung von Pilzen erfolgt nur nach telefonischer Rücksprache.

Zur Prüfung der Antibiotika-Resistenz werden Bakterien auf Wachstum in Gegenwart standardisierter Antibiotika-Konzentrationen geprüft: Bei der **Agardiffusion** werden Antibiotika-getränkte Blättchen auf einen Nährboden (Agar) aufgelegt, der mit dem zu testenden Bakterien-Isolat beimpft wurde. Je nachdem, ob das betreffende Bakterien-Isolat sensibel oder resistent für ein Antibiotikum ist, bildet sich eine Wachstums-freie Zone um das Blättchen (Hemmhof).

Mit einer anderen Methode, der Gradientendiffusion (**MIC-Test**, E-Test®), ist es möglich die genaue minimale Hemmkonzentration (MHK, MIC) in µg/ml zu bestimmen, bei der das Bakterienwachstum vollständig gehemmt wird. Diese Methode wird z.B. bei der Resistenztestung von Blutkultur-Isolaten für bestimmte Antibiotika eingesetzt.

In Abhängigkeit von Keim oder Fragestellung führen wir eine Resistenztestung nach der Breakpoint-Methode im **Mikrodilutionsverfahren** durch. Hierbei wird das Wachstum des Keims im Flüssigmedium mit unterschiedlichen Antibiotika-Konzentrationen geprüft.

Um eine Aussage treffen zu können, ob das Antibiotikum für den getesteten Keim wirksam ist, werden von den Breakpoint-Komitees wie dem *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)* oder dem *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)* Bewertungskriterien zur Verfügung gestellt. Im Falle der Agardiffusion beispielsweise Hemmhof-Durchmesser in Millimeter. Sowohl EUCAST als auch CLSI bieten nicht für alle Bakterien-Arten Bewertungskriterien. Wo Bewertungskriterien existieren, gibt es in der Regel nicht für alle Antibiotika Kriterien. Um Ihnen für den größten Teil der relevanten Erreger Antibiotika-Testungen liefern zu können, kombinieren wir



derzeit beide Standards (CLSI und EUCAST). Nach welchem Standard die Testung für einen bestimmten Keim erfolgt, können Sie der folgenden Tabelle entnehmen.

Keim	EUCAST	CLSI
<i>Acinetobacter spp.</i>	X	
<i>Aerococcus sanguinicola / urinae</i>	X	
<i>Aeromonas spp.</i>	X	
Anaerobier (aus primär sterilen Materialien)	X (MIC-Test)	
β-hämolisierende Streptokokken / viridans Streptokokken	X	
<i>Burkholderia cepacia</i> - Komplex		X
<i>Campylobacter jejuni / coli</i>	X	
<i>Candida spp.</i>	X (MIC-Test)	
<i>Corynebacterium spp.</i> ,	X	
<i>Enterococcus spp.</i>	X	
<i>Enterobacterales</i> , z.B. <i>Citrobacter spp.</i> , <i>Edwardsiella spp.</i> , <i>Enterobacter spp.</i> , <i>Erwinia spp.</i> , <i>Escherichia spp.</i> , <i>Hafnia spp.</i> , <i>Klebsiella spp.</i> , <i>Kluyvera spp.</i> , <i>Morganella spp.</i> , <i>Pantoea spp.</i> , <i>Proteus spp.</i> , <i>Providencia spp.</i> , <i>Raoultella spp.</i> , <i>Rahnella spp.</i> , <i>Salmonella spp.</i> , <i>Serratia spp.</i> , <i>Shigella spp.</i> , <i>Yersinia spp.</i>	X	
<i>Haemophilus influenzae / parainfluenzae</i>	X (MIC-Test)	
<i>Helicobacter pylori</i>	X (MIC-Test)	
<i>Kingella kingae</i>	X	
<i>Listeria monocytogenes</i>	X	
<i>Moraxella catarrhalis</i>	X	
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	X (MIC-Test)	
<i>Neisseria meningitidis</i> (Blutkultur / Liquor	X (MIC-Test)	
<i>Pasteurella multocida</i>	X	
<i>Pseudomonas spp.</i>	X	
<i>Staphylococcus spp.</i>	X	
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>		X
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	X	
<i>Vibrio spp.</i>		X

Notwendige Anpassungen an Änderungen der Regelwerke werden zeitnah in die Praxis umgesetzt.



Untersuchungsdauer:

Die Untersuchungsdauer für bakteriologische Standardkulturverfahren einschließlich Resistenztestung beträgt in der Regel 2 - 4 Tage. Bei Verdacht auf langsam wachsende Erreger (z. B. TB, Dermatophyten) bzw. bei der Blutkulturdiagnostik sind längere Bebrütungszeiten notwendig. Wichtige Ergebnisse (evtl. noch ohne endgültige Erregerdifferenzierung oder noch fehlende Resistenztestung) werden ggf. vorab mitgeteilt.



Gezielte Untersuchungen auf spezielle Erreger:

Besteht ein klinischer Verdacht auf eine Infektion mit einem bestimmten Erreger (z. B. aufgrund einer spezifischen Symptomatik, Kontakt mit erkrankten Personen, Epidemien, Auslandsaufenthalte, Vorbefunde etc.), bitten wir um konkrete Angaben.

Bitte beachten Sie auch die Angaben für Risikoeerreger im Kapitel Präanalytik unter Vorbereitung und Transport.

Folgende Hinweise sollten bei gezielten Anforderungen Beachtung finden:

- Nicht alle Erreger wachsen auf Standardnährmedien, ggf. müssen spezifische Anzuchtverfahren eingesetzt werden. Hierzu zählen u. a. Mykobakterien, *Corynebacterium diphtheriae* und Gonokokken.
- Die Untersuchungsdauer bei der Anzucht einiger Mikroorganismen (z. B. Mykobakterien) kann erheblich verlängert sein. Ggf. empfiehlt sich der parallele oder alternative Einsatz molekularbiologischer Detektionsverfahren.
- Einige Bakterien sind unter Routinebedingungen nicht oder nur sehr schlecht kultivierbar (z. B. Borrelien, *Treponema pallidum*, *Bordetella pertussis*). In diesen Fällen sollten primär serologische oder molekularbiologische Detektionsverfahren (PCR) zum Einsatz kommen.
- Die gezielte Vermehrung von Erregern mit hohem Gefahrenpotential für die Allgemeinheit (z. B. Anthrax) erfordert die Einhaltung besonderer Sicherheitsmaßnahmen, die wir im Labor nicht gewährleisten können. Außerdem müssen besondere Vorschriften beim Probentransport beachtet werden. Besteht der Verdacht auf eine solche Infektion, kontaktieren Sie bitte sofort das für Ihren Bereich zuständige Gesundheitsamt und weisen den Patienten in eine für diese Fälle ausgerüstete Einrichtung ein.
- Der Nachweis multiresistenter Erreger (MRSA, VRE, ESBL, MRGN) im Rahmen von Fragestellungen des Hygienemanagements muss ebenfalls gesondert angefordert werden.

Mit den im folgenden Abschnitt beschriebenen Standardkulturverfahren (Varia, Urin, Stuhl, Blutkulturen, Pilze) werden nicht alle in Frage kommenden Erreger nachgewiesen. Bestimmte Erreger müssen gezielt angefordert werden (siehe Hinweise sowie Untersuchungsverfahren im alphabetischen Teil des Leistungsverzeichnisses).

Es ist generell zweckmäßig, für gezielte Erregernachweise ein zweites Untersuchungsmaterial vom selben Entnahmeort einzusenden. Ggf. erfordern gezielte Verfahren eine andere Probenvorbereitung (z. B. ist der Nachweis von *Chlamydia trachomatis* aus Abstrichtupfern mit Gel nicht möglich; aus trockenen Tupfern kann zusätzlich keine kulturelle mikrobiologische Diagnostik durchgeführt werden).



Standardkulturverfahren in der bakteriologischen Diagnostik

Pathogene Keime im Nasopharynx

Abstrich in Transportmedium

Methode: Kulturelle Anzucht

Referenzbereich: negativ

Hinweis: Der Nachweis von MRSA, Corynebacterium diphtheriae und Angina Plaut-Vincent muss gesondert angefordert werden. Für den Nachweis von Bordetella pertussis ist je nach Dauer der Symptomatik die PCR oder die Bestimmung von Antikörpern die Methode der Wahl (trockenen Tupfer oder Serum einsenden).

Indikation: Eitrige Infektionen im Nasen-/Rachenraum und der Nasennebenhöhlen



Pathogene Keime in respiratorischen Sekreten

Sputum, BAL,
Pleurapunktat

Methode: Kulturelle Anzucht und Grampräparat

Referenzbereich: negativ

Hinweis: **Bei bekannter Mukoviszidose bitte Diagnose mitteilen:** zusätzlicher Ansatz mit Selektivnährmedien zum Nachweis spezieller Leitkeime.
Der Nachweis von Mykobakterien muss gesondert angefordert werden (nach Möglichkeit zweites Material einsenden).
Diagnostik von *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae* und Legionellen: siehe alphabetisches Verzeichnis

Indikation: Pneumonie



Pathogene Keime in Wunden und Abszessen

Abstrich in Transportmedium,
Wundsekret, Drainageflüssigkeit,
Gewebeprobe

Methode: Grampräparat und Kulturelle Anzucht
einschließlich Anaerobiernachweis

Referenzbereich: negativ

Hinweis: Der Nachweis von Aktinomycceten, Nocardien, Corynebacterium diphtheriae, Mykobakterien und Pilzen muss gezielt angefordert werden.

Indikation: Wundinfektionen, Abzesse



Pathogene Keime in Haut- und Bindehautabstrichen

Abstrich in
Transportmedium

Methode: Kulturelle Anzucht

Referenzbereich: negativ

Hinweis: **Genaue Lokalisation angeben**

MRSA-Diagnostik gezielt anfordern.

Für den Nachweis von Chlamydia trachomatis aus Augenabstrichen bitte zusätzlich trockenen Tupfer einsenden.

Abstriche sind zum Nachweis von Dermatophyten ungeeignet.

Indikation: Bakterielle Infektionen der Haut und Bindehaut



Pathogene Keime in Materialien aus dem Urogenitaltrakt

Abstrich in Transportmedium

Methode: Kulturelle Anzucht und Grampräparat

Referenzbereich: negativ

Hinweis: Der Nachweis von Mycoplasmen, Ureaplasmen, Haemophilus ducreyi (Ulcus molle), Neisseria gonorrhoeae und Gardnerella vaginalis und Gruppe B-Streptokokken muss gesondert angefordert werden.

Chlamydia trachomatis, Mycoplasmen und Ureaplasmen sind nicht bzw. schlecht kultivierbar: Detektion über molekulargenetische Verfahren möglich (Abstrich ohne Transportmedium oder Urin zusätzlich einsenden).

Treponema pallidum (Lues): Nachweis nur serologisch (TPHA).

Indikation: Infektionen des Urogenitaltraktes



Pathogene Keime im Urin

10 ml Nativurin in sterilem Behälter
oder Urinkult

Methode: Kulturelle Anzucht und Hemmstofftest

Referenzbereich: negativ

Hinweis: Mittelstrahlurin, keinen Sammelurin einsenden
Bei Einsendung von Urinkulten zur Beimpfung Nährboden in den Urin ganz eintauchen. Danach am Urinkult verbleibende Flüssigkeit abtropfen lassen und angeimpften Urinkult in das Probengefäß einschrauben. Es ist möglich, den Urinkult vorzubebürten (maximal 24 h, 35°C ± 1°C; Vorbebrütung bitte auf Ü-Schein vermerken). Hemmstofftest bei Urinkulten nicht möglich.
Der Nachweis von Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae, Mykobakterien, Mycoplasmen und Ureaplasmen muss gesondert angefordert werden (Nachweis aus Urinkulten nicht möglich).

Indikation: Harnwegsinfekte



Pathogene Keime im Stuhl

zu einem Drittel gefülltes Stuhlröhrchen

Umfasst den Nachweis von Salmonellen, Shigellen, Yersinien und Campylobacter (TPE)

Methode: Kulturelle Anzucht

Referenzbereich: negativ

Hinweis: Wenn an mehreren Tagen Stuhlproben untersucht werden sollen, Stuhlproben nicht sammeln sondern einzeln ans Labor schicken.

Bei Kindern bis zum 3. Lebensjahr wird bei Anforderung auf pathogene Keime zusätzlich auf pathogene E. coli getestet. Bei Kindern bis zum 6. Lebensjahr erfolgt zusätzlich der Direktnachweis für Shiga-like Toxin I/II.

Der Nachweis weiterer Erreger muss gesondert angefordert werden (siehe alphabetisches Verzeichnis)

Indikation: Durchfallerkrankungen



Erweiterte Erregerdiagnostik im Stuhl

zu einem Drittel gefülltes Stuhlröhrchen

• Bakterien/-Toxine

Pathogene E. coli (EHEC, EPEC, ETEC, EIEC, EAEC)
Clostridien difficile/perfringens
Aeromonas spp.
Plesiomonas spp.
Vibrionen
Helicobacter pylori
ESBL, MRSA, VRE, MRGN
Pseudomonas spp.
Proteus spp.
Staphylococcus aureus

• Parasiten

Lamblien
Amöben
Giardia
Kryptosporidien
Balantidium coli
Kokzidien
Wurmeier (Bandwürmer, Fadenwürmer, Saugwürmer)
Oxyuren (Enterobius) mittels Klarsichtklebestreifen-Abklatsch

• Viren

Noroviren
Rotaviren
Adenoviren
Astroviren

• Pilze

Candida spp.

Methode: siehe Einzelnachweise

Referenzbereich: negativ

Hinweis: **Gewünschte Untersuchungen einzeln anfordern**

Bei Rückkehrern von Auslandsreisen bitte Reiseland angeben

Wenn an mehreren Tagen Stuhlproben untersucht werden sollen, Stuhlproben nicht sammeln sondern einzeln ans Labor schicken.

Der Nachweis von Botulinustoxin im Stuhl oder in Nahrungsmittelresten ist nur nach vorheriger Rücksprache mit dem durchführenden Labor möglich (Tierversuch notwendig).

Die Diagnostik von Infektionen mit Hunde- und Fuchsbandwurm (Echinokokken) erfolgt ausschließlich im Serum.

Weitere Hinweise siehe Einzeluntersuchungen im alphabetischen Verzeichnis.

Indikation: Durchfallerkrankungen, Differentialdiagnostik von Erkrankungen des Gastrointestinaltraktes



Pilznachweis

Abstrich in Transportmedium, Urin,
Stuhl, Sputum, BAL, Punktate

Umfasst den Nachweis von Hefen und Schimmelpilzen

Methode: Kulturelle Anzucht

Referenzbereich: negativ

Hinweis: Besteht ein konkreter Verdacht auf eine Pilzinfektion, kann bei entsprechender Anforderung ein Selektivmedium beimpft werden, um die Detektionsrate zu steigern. Den Nachweis von Dermatophyten aus Hautschuppen und Nagelgeschabsel bitte gesondert anfordern, da verlängerte Bebrütung notwendig.

Indikation: Klinischer V. a. Pilzinfektion



Blutkultur

beimpfte Blutkultur aerob / anaerob

Methode: Kulturelle Anzucht und Grampräparat

Referenzbereich: negativ

Hinweis: Kapitel „Hinweise zur Präanalytik“ unbedingt beachten. Für Kinder können adaptierte Abnahmesysteme (BACTEC PEDS PLUS/F-Flasche) verwendet werden.
Für die Diagnostik einer Miliartuberkulose oder bei V. a. tuberkulöse Sepsis ist die Einsendung von Citratblut (Spezialröhrchen) erforderlich.
Voraussichtliche Bearbeitungsdauer bei negativem Ergebnis 9 Tage, bei Pilzkulturen 18 Tage, bei Mykobakterien bis zu 3 Monate.

Indikation: Sepsis, Endokarditis, Typhus und Paratyphus