
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 lokalisationsspezifisch. 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>Achromobacter spp.</i>	X	
<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-hämolysierende 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: Kultur (aerob)

Referenzbereich: negativ

Hinweis: Der Nachweis von MRSA, Corynebacterium diphtheriae, Meningokokken, Gonokokken und Angina Plaut-Vincent müssen gesondert angefordert werden. **Bei bekannter Mukoviszidose bitte Diagnose mitteilen:** zusätzlicher Ansatz von Selektivmedien zum Nachweis der Leitkeime. 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,
Trachealsekret

Methode: Kultur (aerob) 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*, *Pneumocystis jirovecii* und Legionellen: siehe alphabetisches Verzeichnis

Indikation: Pneumonie



Pathogene Keime in oberflächlichen Wunden, Haut- und Bindehautabstrichen

Abstrich in
Transportmedium

Methode: Kultur (aerob) und Grampräparat

Referenzbereich: negativ

Hinweis: **Genauere Lokalisation angeben**

MRSA, MRGN und *Corynebacterium diphtheriae* 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 oberflächlicher Wunden, der Haut und Bindehaut

Pathogene Keime in tiefen Wunden und Abszessen

Abstrich in Transportmedium,
Wundsekret, Drainageflüssigkeit,
Gewebeprobe

Methode: Kultur (aerob und anaerob), Grampräparat

Referenzbereich: negativ

Hinweis: Der Nachweis von Aktinomycceten, Nocardien, Corynebacterium diphtheriae, Mykobakterien und Pilzen muss gezielt angefordert werden. Materialgewinnung siehe Präanalytik und alphabetisches Verzeichnis.

Indikation: Wundinfektionen, Abszesse

**Pathogene Keime in Punktat /
Synovialflüssigkeit**

Natives Material in sterilem Gefäß,
beimpfte Blutkulturflaschen

Methode: Kultur (aerob und anaerob), Grampräparat

Referenzbereich: negativ

Hinweis: Verlängerte Bebrütung (bis zu 14 Tagen), Materialgewinnung siehe Präanalytik, immer taggleiche Einsendung in das Labor.
Mykobakterien und Nocardien müssen gezielt angefordert werden.

Indikation: Bakterielle Infektion, z. B. Arthritis, Osteomyelitis, Aszites

Pathogene Keime in Gewebe / Knochen

Natives Material in sterilem Gefäß,
ggf. mit etwas steriler NaCl-Lsg.

Methode: Kultur (aerob und anaerob), Grampräparat

Referenzbereich: negativ

Hinweis: Verlängerte Bebrütung (bis zu 14 Tagen), Materialgewinnung siehe Präanalytik, immer taggleiche Einsendung in das Labor.
Mykobakterien und Nocardien müssen gezielt angefordert werden.

Indikation: V. a. bakterielle Infektion



Pathogene Keime im Liquor

1 ml Liquor,
beimpfte Blutkulturflaschen

Methode: Kultur (aerob und anaerob), Hemmstofftest und Grampräparat

Referenzbereich: negativ

Hinweis: **Tuberkulosedagnostik bei V. a. tuberkulöse Meningitis bitte gesondert anfordern.**
Hinweise zur Präanalytik beachten, s. a. Liquordiagnostik



Pathogene Keime in Materialien aus dem Urogenitaltrakt

Abstrich in Transportmedium,
Ejakulat

Methode: Kultur 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 (s. alphabetisches Verzeichnis)

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 (Gewinnung und Transport s. Präanalytik)
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.
MRSA, MRGN gezielt anforderung (s. alphabetisches Verzeichnis)
**Der Nachweis von Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae, Mykobakterien,
Mycoplasmen und Ureaplasmen muss gesondert angefordert werden** (Nachweis aus
Urinkulten nicht möglich, s. alphabetisches Verzeichnis).

Indikation: Harnwegsinfekte

Enteritis-Erreger im Stuhl

Bei der Fragestellung „Durchfall“ genügt eine einzelne Stuhlprobe des Patienten. Aus dieser können alle Untersuchungen (ggf. auch auf Wurmeier, Clostridioides difficile, Viren und Calprotectin) durchgeführt werden.

Es ist nicht erforderlich, mehrere Stuhlproben einzusenden. **In bestimmten Fällen kann durch die Abnahme einer zweiten oder dritten Stuhlprobe die Sensitivität gesteigert werden, sofern das Untersuchungsergebnis der vorausgegangenen Proben negativ war.** Dies trifft vor allem für die Fragestellungen Wurmeier, Parasiten und Clostridioides difficile zu. **Hierfür sollten die Proben aus verschiedenen Stühlen an aufeinander folgenden Tagen gewonnen werden. Solche Proben bitte jeweils einzeln mit Überweisungsschein einsenden, nicht in der Praxis lagern oder sammeln!**

Für Kontrolluntersuchungen nach Therapie oder für die Wiedenzulassung von Beschäftigten in Gemeinschaftseinrichtungen und die Aufhebung von Beschäftigungsverboten beim Umgang mit Lebensmitteln bitten wir um die genaue Angabe des nachzuweisenden Erregers. In diesen Fällen richten wir unsere Diagnostik gezielt auf den spezifischen Erreger aus. Bitte beachten Sie eventuelle Vorgaben des zuständigen Gesundheitsamtes.

Enteritis-PCR / Bakterienpanel (TPE) zu einem Drittel gefülltes Stuhlröhrchen

Erfasst werden: Salmonellen, Shigellen, Campylobacter, Yersinia enterocolitica, Aeromonas spp., Vibrio spp.

Methode: PCR

Referenzbereich: negativ

Hinweis: Bei Kindern bis zum 6. Lebensjahr wird bei dieser Anforderung zusätzlich auf pathogene E. coli getestet.
Der Nachweis weiterer Erreger muss gesondert angefordert werden.

Indikation: Diagnostik von akuten gastrointestinalen Infektionen

Enteritis-PCR / Parasitenpanel zu einem Drittel gefülltes Stuhlröhrchen

Erfasst werden: Giardia lamblia, Entamoeba histolytica, Dientamoeba fragilis, Cryptosporidium spp., Blastocystis hominis, Cyclospora cayetanensis

Methode: PCR

Referenzbereich: negativ

Indikation: Diagnostik von gastrointestinalen Infektionen

Enteritis-PCR / pathogene E. coli und Shigatoxin zu einem Drittel gefülltes Stuhlröhrchen

Erfasst werden: Shigatoxin-produzierende Enterohämorrhagische E. coli (STEC/EHEC), E. coli O157, Enteropathogene E. coli (EPEC), Enterotoxinbildende E. coli (ETEC), Enteroaggregative E. coli (EAEC)

Methode: PCR

Referenzbereich: negativ

Indikation: Blutige Diarrhoe, Kolitis, Hämolytisch-urämisches Syndrom (HUS)

Enteritis-PCR / Virenpanel

zu einem Drittel gefülltes Stuhlröhrchen

Erfasst werden: Adeno-, Astro-, Noro-, Rotaviren

Methode: PCR

Referenzbereich: negativ

Indikation: Diagnostik von akuten gastrointestinalen Infektionen

Erweiterte Erregerdiagnostik im Stuhl

• Bakterien/-Toxine

Clostridioides difficile
Clostridium perfringens
Plesiomonas spp.
Helicobacter pylori
ESBL, MRSA, VRE, MRGN
Pseudomonas spp.
Proteus spp.
Staphylococcus aureus

ESBL, MRSA, VRE und MRGN sind keine Kassenleistung!

• Parasiten

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

• Pilze

Candida spp.

Hinweis: Stuhl-Untersuchungen auf Candida spp. werden ausschließlich in folgenden Fällen und nur ergänzend zur Untersuchung weiterer Materialien (Blut, Sputum, Urin, Vaginal- oder Mundabstrich) empfohlen: bei V. a. eine invasive Pilzinfektion, zur Überwachung des mykologischen Status von Risikopatienten (Immunschwäche), bei chronisch rezidivierenden Vulvavaginalcandidosen vor Therapie.

Über dieses Spektrum hinausgehende Anforderungen können wir ggf. auf Anfrage bearbeiten oder an ein Partner- oder Referenzlabor weiterleiten.

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, Nagelgeschabsel und Haaren bitte gesondert anfordern, da verlängerte Bebrütung notwendig.

Indikation: Klinischer V. a. Pilzinfektion

Blutkultur

beimpfte Blutkultur aerob / anaerob

Methode: Kultur (aerob und anaerob) 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.

Die Diagnostik umfasst die automatisierte Bebrütung der Blutkulturflaschen, im positiven Fall Subkulturen auf Festmedien, die Keimidentifizierung und Resistenztestung.
Eingangssubkulturen mit Grampräparat vor und Ausgangssubkulturen mit Grampräparat nach der automatisierten Bebrütung sichern negative Ergebnisse ab.

Positive Blutkulturen (Mikroskopie-Ergebnis, ggf. vorliegende vorläufige Identifizierung des Erregers, vorläufige Resistenzbestimmung) werden dem behandelnden Arzt umgehend mitgeteilt. Schriftliche Befunde werden zeitnah übermittelt. bei der Bearbeitung der Blutkultur werden Antibiotika-Sonderwünsche, falls Bewertungskriterien vorliegen, berücksichtigt.

Voraussichtliche Bearbeitungsdauer bei negativem Ergebnis 9 Tage, bei Pilzkulturen 14 Tage, bei Mykobakterien bis zu 3 Monate.

Indikation: Sepsis, Endokarditis, Typhus und Paratyphus