

Mikrobiologische Diagnostik und Infektiologie

P. Weißgerber

- 8.1 Probengewinnung und -behandlung – 160**
- 8.2 Bewertung und Analyse – 170**
- 8.3 Infektiologische Differenzialdiagnostik – 180**
- 8.4 Resistenzen und ihre Bewertung – 186**
- 8.5 Umgebungsuntersuchungen – 189**
- Literatur – 194**

Zusammenfassung

Die erfolgreiche Therapie von Infektionskrankheiten setzt in vielen Fällen eine sachgerecht durchgeführte mikrobiologische Diagnostik voraus. Dabei werden die diagnostischen Möglichkeiten im klinisch-mikrobiologischen Labor entscheidend von der Präanalytik beeinflusst. Sie wird ergänzt durch die Bestimmung klinisch-chemischer Parameter, die häufig erst den Anlass für eine entsprechende weitere Diagnostik geben.

Im Rahmen der Infektionsprävention und zur Dokumentation einer einwandfreien Medizinprodukteaufbereitung werden Untersuchungen von unbelasteten Materialien wie Wasser, Luft, Oberflächen oder kontaminierten Prüfkörpern durchgeführt.

In allen Fällen sollte auf eine standardisierte Probenentnahme geachtet werden. Dies beginnt mit der Auswahl geeigneter Abstrichtupfer und Transportgefäße, setzt sich fort in der korrekten Entnahme und – falls notwendig – Lagerung des Materials und endet mit dem möglichst raschen Transport in das Labor.

8.1 Probengewinnung und -behandlung

Die Gewinnung mikrobiologischer Proben ist ein wichtiger Schritt in der Diagnostik und Therapie von Infektionskrankheiten. Fehler, die bei der Probengewinnung gemacht werden, kann auch das beste Labor nicht ausgleichen. Nicht selten werden im klinischen Alltag Proben eingeschickt, die keinen diagnostischen Wert haben, z. B. oberflächliche Abstriche von chronischen Wunden.

Grundsätzlich sollten die Angaben des Labors, in das die Proben versandt werden, beachtet werden. Dieses sollte detaillierte Angaben zu Probengewinnung, -lagerung und -transport in einem Kompendium zur Präanalytik zur Verfügung stellen. In Zweifelsfällen sollte, insbesondere bei schwer zu gewinnenden Proben, bereits vor Entnahme Kontakt mit dem Labor aufgenommen werden. Beachtet werden sollten insbesondere Hinweise zu folgenden Punkten (Schoerner et al. 2009):

- Wann sollen die Proben entnommen werden? (Z. B. bei Antibiotikaspiegelbestimmung)
- Welche Probenmenge ist notwendig?

- In welchen Gefäßen/Transportmedien sollen die Proben entnommen werden?
- Sind spezielle Konservierungsmedien erforderlich? (Z. B. Leptospirose diagnostik)
- Wie müssen die Proben transportiert und ggf. gelagert werden? (Z. B. Licht, Temperatur)
- Sind Probenzusätze zur Stabilisierung oder Enthemmung erforderlich? (Z. B. bei Desinfektionsmittelproben)
- Müssen bei/nach Entnahme Analysen vor Ort durchgeführt werden? (Z. B. Trinkwasserproben: pH-Wert, Temperatur)
- Ist vor Ort eine Vorbehandlung der Probe erforderlich? (Z. B. Abseren von Vollblut)
- Wie soll die Probe beschriftet werden?
- Wie soll der Anforderungsschein ausgefüllt werden?

Das Anforderungsformular sollte sorgfältig ausgefüllt werden und neben den persönlichen Daten des Patienten auch folgende Informationen liefern (Schoerner et al. 2009; Rüden et al. 1989):

- Art der Probe
- Angaben zum Einsender, v. a. bei Notfallproben inkl. Telefon- oder Funknummer
- Entnahmeort
- Entnahmezeitpunkt
- Klinische (Verdachts-)Diagnose bzw. Symptome
- Infektiologisch relevante Angaben zum Patienten, z. B. Fieber, Immunsuppression, Schwangerschaft, Therapie mit Antiinfektiva, Immunglobulinen oder Zytostatika
- Fragestellung, gewünschte Untersuchungen
- Bei hygienisch-mikrobiologischen Untersuchungen z. B. Angaben zur Aufstellung von Sedimentationsplatten oder Luftkeimsammlern, Entnahmeort von Trinkwasserproben, ggf. gemessene physikalisch-chemische Parameter wie pH-Wert oder Temperatur

Es muss an dieser Stelle darauf hingewiesen werden, dass das korrekte Ausfüllen der Anforderungsformulare keine bürokratische Fleißaufgabe ist. Vielmehr beeinflussen die Angaben auch die Verarbeitung des Materials, die Beurteilung der Untersuchungsergebnisse sowie die Befundinterpretation.

8.1.1 Probengewinnung

Mikrobiologische Proben sollten vor Beginn einer antibiotischen Therapie entnommen werden. Hierdurch darf es jedoch nicht zur Verzögerung des Therapiebeginns bei kritisch Kranken kommen, wie z. B. bei schwerer Sepsis und septischem Schock.

8.1.2 Probentransport

Proben sollten stets so schnell wie möglich ins Labor transportiert werden, idealerweise innerhalb von 2 h. Der Transport erfolgt grundsätzlich bei Raumtemperatur. Es werden immer kürzere Turn-around-Zeiten durch den Einsatz moderner diagnostischer Verfahren gefordert, die oft hohe Kosten verursachen. Die Transportdauer von mikrobiologischen Proben, die erheblich zur Gesamtdauer der Diagnostik beiträgt, sollte jedoch ebenfalls immer wieder kritisch beurteilt werden.

Proben sollten an zentralen Orten, z. B. am Pflegestützpunkt, gesammelt werden. Für den Transport sind die Proben so zu verpacken, dass eine Kontamination der Umgebung oder eine Gefährdung des Transportpersonals ausgeschlossen werden kann. Erforderlich sind neben einem stabilen, auslaufsicheren Probengefäß (Primärverpackung) ein Schutzgefäß (Sekundärverpackung) sowie eine Außenverpackung, davon muss eine ebenfalls auslaufsicher und mit einer saugfähigen Einlage ausgestattet sein.

Für den Postversand von klinischen Proben zur mikrobiologischen Diagnostik ist gemäß der Verpackungsanweisung P650 für den Transport diagnostischer Proben nach UN-Nr. 3373 neben dem Probengefäß und dem Schutzgefäß mit saugfähiger Einlage ein Transportkarton mit entsprechender Kennzeichnung erforderlich: „Biologischer Stoff, Kategorie B“ oder „Biological Substance, Category B“ und die Bezeichnung „UN 3373“ in einer Raute (Europäisches Übereinkommen über die internationale Beförderung gefährlicher Güter auf der Straße, ADR 2015).

8.1.3 Probenlagerung

Eine längere Lagerung der Probe sollte nur dann stattfinden, wenn ein rascher Transport nicht möglich ist. Die Lagerung führt zur Verfälschung

von Untersuchungsergebnissen durch das Absterben besonders empfindlicher Keime und durch Änderungen der quantitativen Zusammensetzung der vorgefundenen Keime. Daraus können sowohl falsch-negative als auch falsch-positive Befunde entstehen. Zur richtigen Lagerung der Proben gibt es nur wenige wissenschaftliche Untersuchungen, weshalb dem schnellen Transport ins Labor unbedingt Vorrang einzuräumen ist. Generell können die in **Tab. 8.1** aufgeführten Lagerungsbedingungen empfohlen werden. Primär sterile Materialien, die auch anspruchsvolle und empfindliche Keime enthalten können, sollten bei Raumtemperatur aufbewahrt werden. Materialien, bei denen mit einer Überwucherung durch Flora zu rechnen ist oder bei denen eine Verfälschung bei der quantitativen Analyse möglich ist, z. B. bei Urinen, sollten dagegen gekühlt gelagert werden.

8.1.4 Urin

■ Indikationen

Bei klinischer Symptomatik (Pollakisurie, Dysurie, Flankenschmerzen, Fieber) mit Verdacht auf Harnwegsinfekt. Zusätzlich bei rezidivierenden und nosokomialen Harnwegsinfektionen, bei ausbleibender klinischer Besserung unter Antibiotikatherapie sowie bei Fieber und Sepsis unklarer Genese, insbesondere bei Kindern unter zwei Jahren.

Tab. 8.1 Generelle Empfehlung zu Lagerungsbedingungen für mikrobiologische Proben

Temperaturbereich	Probenmaterial
Raumtemperatur	Blutkulturflaschen, Liquor (für bakteriologische Untersuchungen), Synovialflüssigkeit, Abstrichutepferproben, Stuhlproben
Kühlschrank (2–8 °C)	Respiratorische Materialien (Sputum, Trachealsekret, bronchoalveoläre Lavage [BAL]), Liquor (für serologische und virologische Untersuchungen), Urin
Brutschrank (35–37 °C)	Urineintauchkulturen

Ein generelles „Urin-Screening“ klinisch unauffälliger Patienten ist nicht gerechtfertigt. Ausnahmen sind Patienten vor und nach interventionellen Eingriffen der Harnwege. Gelegentlich wird zwei bis drei Tage nach Beginn der antimikrobiellen Therapie eine Routinekontrolle des Urins zur Überprüfung der Wirksamkeit veranlasst. Dies ist nicht sinnvoll und sollte unterbleiben. Die Beurteilung der Therapieeffektivität erfolgt aufgrund klinischer Kriterien.

■ Probenentnahme

■ Mittelstrahlurin:

- Am besten Morgenurin verwenden bzw. mindestens 3 h Abstand zur letzten Miktion
- Reinigung des äußeren Genitales (Vulva bzw. Glans penis, jeweils mit Harnröhrenöffnung). Keine Seife oder Antiseptika verwenden. Eine mündliche und schriftliche Anweisung des Patienten ist sinnvoll.
- Harnstrahl 3 s in Gang kommen lassen und diese Portion verwerfen.
- Etwa 10–20 ml Urin in einem sterilen Gefäß auffangen.

■ Einmalkatheterurin:

- Wenn ein Mittelstrahlurin nicht einwandfrei gewonnen werden kann bzw. eine Blasenpunktion nicht möglich ist
- Katheterisierung durch geschultes Personal
- Verwendung eines Schleimhautantiseptikums und steriler Materialien
- Auffangen der mittleren Harnportion.

■ Probenentnahme aus Dauerkatheter:

- Desinfektion der am Kathetersystem vorgesehenen Einstichstelle
- Punktion der Einstichstelle mit steriler Spritze und Kanüle.

■ Blasenpunktion:

- Kontaminationswahrscheinlichkeit sehr gering
- Wenn ein Mittelstrahlurin nicht einwandfrei gewonnen werden kann.
- Bei unklaren und wechselnden mikrobiologischen Befunden, auch bei Mischkulturen
- Methode der Wahl bei Neugeborenen, Säuglingen, Kleinkindern und nicht kooperationsfähigen Patienten

- Wahl der Einstichstelle mittels Sonographie, meist 1–2 Querfinger oberhalb der Symphyse
- Hautdesinfektion unter Berücksichtigung der Einwirkzeit
- Sterile Handschuhe verwenden
- Punktion der gefüllten Blase.
- In Ausnahmefällen kann auch die Punktion des Nierenbeckens unter aseptischen Kautelen unter Ultraschallkontrolle erfolgen.
- Plastikklebebeutel für Säuglinge:
 - Geeignet insbesondere zum Ausschluss einer Infektion
 - Vor Anbringen Reinigung des Perineums
 - Halbstündliches Wechseln des Beutels verbessert die Ergebnisse.

■ Probenmaterial

- Nativurin: am besten geeignet
 - Makroskopische und mikroskopische Untersuchung möglich
 - Ermöglicht quantitative Analyse
 - Hemmstoffe können nachgewiesen werden (z. B. Antibiotika)
 - Nachteil: bei längerer Lagerung eingeschränkte Aussagekraft.
- Urin mit Stabilisator, z. B. Borsäure: kann nicht empfohlen werden, da erhebliche Keimzahlreduktionen von bis zu 60 % bei 24- bzw. 48-stündiger Lagerung beobachtet wurden, ein Leukozytennachweis mit Teststäbchen falsch-negative Befunde ergeben kann, eine Unterschreitung der Füllmenge zur Keimabtötung führt und die Röhrchen deutlich teurer sind.
- Objektträgerkulturen: Mit unterschiedlichen Nährmedien bestückte Kunststoffträger werden in Urin eingetaucht. Sie sollten aufgrund ihrer zahlreichen Nachteile nur dann verwendet werden, wenn ein schneller Transport ins Labor nicht möglich ist. Sie können dann bis zum Transport im Brutschrank gelagert werden.
- Vorteile der Objektträgerkulturen:
 - Dokumentieren Keimzahl zum Zeitpunkt der Bestimmung
 - Sinnvolle Alternative bei fehlender Versandmöglichkeit, z. B. über das Wochenende.

- Nachteile der Objektträgerkulturen:
 - Makroskopische und mikroskopische Beurteilung des Urins im Labor nicht möglich
 - Verfälschung der Koloniezahlen durch Restflüssigkeit im Röhrchen möglich
 - Bei hohen Keimzahlen konfluierendes Wachstum: Quantifizierung nicht möglich
 - Leukozytennachweis und Hemmstofftest nicht möglich.

■ Transport

Umgehender Transport ins Labor (innerhalb von 2 h). Nach der Entnahme wird eine Kühlung (2–8 °C) bis zur Verarbeitung im Labor empfohlen (Gatermann et al. 2005).

■ Lagerung

Im Kühlschrank (2–8 °C). Eintauchnährmedien können bei längerer Lagerung zur Verkürzung der Untersuchungszeit im Brutschrank vorbebrütet werden.

■ Klinisch-mikrobiologische Untersuchungen

- Nitrittest
- Leukozytennachweise
- Hemmstofftest (z. B. Antibiotika, Zytostatika)
- Quantitativer kultureller Keimnachweis
- Erregerdifferenzierung und Antibiogramm
- Ggf. Nachweis von *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasmaspp.*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Chlamydia trachomatis* oder *Neisseria gonorrhoeae* über spezielle Verfahren.

■ Probenentnahme

- Stuhl: Der Patient sollte seinen Stuhl in eine frisch gespülte Toilette oder ein aufbereitetes Steckbecken geben. Von dort sollte mit dem im Transportgefäß enthaltenen Löffelchen das Probengefäß zu einem Drittel bis maximal zur Hälfte gefüllt werden.
- Rektalabstrich: Der Patient sollte sich auf die Seite drehen und die Knie anwinkeln. Der Abstrichtupfer wird bis ins Rektum eingeführt, vorsichtig gedreht und anschließend im Transportmedium verschickt.

■ Transport

Zügiger Transport ins Labor. Bei längerer Transportdauer sollten Transportmedien (z. B. Cary-Blair-Medium oder Anreicherungsbouillon nach Hajna) verwendet werden.

■ Lagerung

Bei Raumtemperatur.

■ Klinisch-mikrobiologische Untersuchungen

- Kulturelle Verfahren: Salmonellen, Shigellen, *Campylobacter*, Yersinien
- Antigen-ELISA: *C. difficile*, *C. perfringens*, *Campylobacterspp.*, Noroviren, Rotaviren, Astroviren
- Mikroskopie: Wurmeier, Protozoen
- PCR-Verfahren: zur Diagnostik von *E.-coli*-Pathovaren, *C. difficile*, Noroviren, Rotaviren, Astroviren, Adenoviren.
- Multiplex PCR-Verfahren zur Diagnostik von zahlreichen enteropathogenen Erregern (Khare et al. 2014).

8.1.5 Stuhl

■ Indikation

Bei Diarrhö.

■ Probenmaterial

Stuhl oder Rektalabstrich, wobei ein Rektalabstrich nur in Ausnahmefällen eingesendet werden sollte, wenn die Gewinnung von Stuhl nicht möglich ist. Stuhl für parasitologische Untersuchungen sollte grundsätzlich nur nach Rücksprache mit dem Labor verschickt werden.

8.1.6 Blutkulturen

■ Indikationen

- Sepsis, septischer Schock
- Fieber unklarer Genese
- Fieber bei Neutropenie/Aplasie
- Endokarditis, Endocarditis lenta
- ZVK-assoziierte Infektion
- Zyklische Allgemeininfektion (z. B. Typhus, Brucellose)
- Schwere lokalisierte Infektionen, die mehr oder weniger häufig mit systemischer Beteiligung

einhergehen: Meningitis, Osteomyelitis, eitrige Arthritis, Pneumonie, Cholangitis, schwere Haut- und Weichteilinfektionen, Pyelonephritis

- Entnahme unter laufender Antibiotikatherapie, z. B. bei ausbleibender klinischer Besserung (Fungämie, Erregerwechsel).

■ Probenentnahme

Die Erregerdichte ist am höchsten etwa 1–2 h vor Beginn klinischer Symptome wie Fieber oder Schüttelfrost. Im klinischen Alltag sollten unmittelbar bei Auftreten dieser Symptome Blutkulturen entnommen werden. Das Warten auf das Überschreiten einer spezifischen Körpertemperschwelle ist nicht sinnvoll. Eine Entnahme unter laufender Antibiotikatherapie kann bei ausbleibendem klinischen Ansprechen auf die Therapie sinnvoll sein, um einen Erregerwechsel oder eine Pilzinfektion zu dokumentieren. Die Entnahme sollte dann jedoch unmittelbar vor der nächsten Antibiotikagabe erfolgen, damit die Antibiotikakonzentrationen möglichst niedrig sind.

Entnahmeort:

- Punktion einer peripheren Vene, meist V. cubitalis.
 - Punktion der V. femoralis und von Venen in entzündeten Hautarealen gehen mit einer hohen Kontaminationsrate einher.
 - Entnahmen aus zentral-venösen Kathetern zeigen eine hohe Kontaminationsrate, haben jedoch einen hohen negativen Vorhersagewert, d. h., bei einer negativen Kultur liegt mit hoher Wahrscheinlichkeit auch keine Blutstrominfektion vor. Zur besseren Interpretation der Befunde sollte gleichzeitig eine Blutkultur aus einer peripheren Vene entnommen werden.
 - Arterielle Blutkulturen zeigen keine bessere Ausbeute, wohl aber höhere Kontaminationsraten.
 - Bei zyklischen Allgemeininfektionen ist die zusätzliche Entnahme von Knochenmark sinnvoll (z. B. Typhus, Brucellose).
 - Nabelarterien- und Nabelvenenkatheter bei Früh- und Neugeborenen weisen eine geringere Kontaminationsrate als peripher entnommene Kulturen auf.
- #### ■ Durchführung
- Hygienische Händedesinfektion unter Berücksichtigung der erforderlichen Einwirkzeit.
 - Palpation der Punktionsstelle vor der Desinfektion.
 - Hautdesinfektion der Punktionsstelle:
 - Keimarmer Tupfer mit alkoholischem Desinfektionsmittel
 - Schritt 1: mechanische Reinigung, Entfernung von Hautschuppen
 - Schritt 2: eigentliche Desinfektion
 - Einwirkzeit bei 70 % Isopropanol ca. 60 s
 - Kürzere Einwirkzeiten, wie sie häufig bei der Hautdesinfektion vor Punktionen angewandt werden, erhöhen die Kontaminationsrate!
 - Ist erneute Palpation nach Hautdesinfektion erforderlich: sterile Handschuhe anziehen.
 - Punktion nach vollständiger Trocknung der Haut.
 - Blutkulturflaschen mit Raumtemperatur verwenden, keine gekühlten Flaschen beimpfen!
 - Desinfektion der Gummistopfen der Blutkulturflaschen mit alkoholischem Desinfektionsmittel.
 - Probenmenge:
 - Erwachsene 20 ml, je 10 ml in die anaerobe und aerobe Flasche
 - Anaerobe Flasche zuerst beimpfen, da beim Einspritzen der zweiten Fraktion häufig Luft in die Flasche gelangt
 - Kinder bis 6 Jahre oder 20 kg KG: 1–3(–5) ml Blut in die aerobe Kinder-Blutkulturflasche
 - Früh- und Neugeborene: mindestens 0,5 ml Blut
 - Kinder über 6 Jahre bzw. 20 kg KG: mindestens 5 ml Blut in die Blutkulturflaschen für Erwachsene
 - Es sollten insgesamt 2–4 Blutkulturen (Gesamtmenge Blut bei Erwachsenen 40–80 ml) unabhängig voneinander innerhalb 1 h vor Beginn einer antimikrobiellen Therapie entnommen werden.
 - Bei subakuter Endokarditis 2–4 Blutkulturen innerhalb von 24 h.

8.1 · Probengewinnung und -behandlung

- Bei Patienten mit Risiko für eine Fungämie verbessert das zusätzliche Beimpfen eines für Pilze optimierten Blutkulturmediums die Sensitivität, insbesondere für *Candida albicans* und *Candida glabrata*.
- Nach Beimpfen: Schwenken der Flaschen zur Durchmischung von Blut und Medium und zur Vermeidung einer Thrombenbildung in der Flasche.
- Aerobe Flaschen müssen nicht belüftet werden.
- Derzeit ist nicht klar, ob ein Wechsel der Nadel zwischen Blutentnahme und Beimpfen vorteilhaft ist. Hier muss eine möglicherweise geringere Kontaminationsrate gegenüber dem Risiko einer Nadelstichverletzung abgewogen werden.

➤ **Die Händedesinfektion und die (ausreichend lange!) Hautdesinfektion der Punktionsstelle sind die beiden wichtigsten Maßnahmen zur Vermeidung von Kontaminanten in Blutkulturen. Etwa 30–50 % aller positiven Blutkulturen sind falsch-positiv aufgrund einer Kontamination. Letztlich können durch diese einfachen Maßnahmen unnötige Antibiotikatherapien, Folgeerkrankungen (z. B. *C. difficile*-Infektionen) und Kosten vermieden werden.**

■ Probenmaterial

Blut, Knochenmark, Infusat.

■ Transport

Schnellstmöglich ins Labor (innerhalb 2–4 h). Bei Raumtemperatur, gegen Abkühlung geschützt.

■ Lagerung

Bei Raumtemperatur. Eine Bebrütung sollte in der Regel nicht erfolgen.

■ Klinisch-mikrobiologische Untersuchungen

- Blutkulturflaschen werden in der Regel in teilautomatisierten Blutkulturdetektionssystemen für 5–7 Tage bebrütet und kontinuierlich auf mikrobielles Wachstum überprüft. Positive Flaschen werden dem Laborpersonal angezeigt.
- Es erfolgt eine Gram-Färbung und Mikroskopie sowie eine Mitteilung an den Einsender.

- Aussaat der Blutkultur auf Nährmedien, Erregeridentifizierung und Erstellung eines Antibiotogramms.
- Antigen-ELISA, Immunfluoreszenz, PCR zur Identifizierung schwer anzüchtbarer Erreger (z. B. Bartonellose, Q-Fieber, Leptospirose).
- Direkter Antigennachweis aus der bewachsenen Blutkultur (z. B. *S. pneumoniae*, *S. agalactiae*, *N. meningitidis*, *H. influenzae* Typ b).
- PCR, Direktnachweis aus der Blutkultur:
 - Unterscheidung koagulase-negative Staphylokokken und *S. aureus*
 - Differenzierung MSSA (methicillinsensibler) oder MRSA (methicillinresistenter *S. aureus*)
 - Nachweis der wichtigsten Sepsiserreger über Multiplex-PCR (z. B. Roche Septifast®, SIRS-Lab VYOO®, Molzym Sepsitest®).
- Direkter Erreger- und ggf. Resistenznachweis aus positiv gemeldeten Flaschen über MALDI-TOF (► Abschn. 8.3).

8.1.7 Diagnostik bei katheterassoziierter Infektion

■ Indikation

Klinischer Verdacht auf katheterassoziierte Sepsis.

■ Probenentnahme

- Blutkulturen wie oben beschrieben entnehmen und versorgen
- Zeitgleiche Entnahme einer Blutkultur aus zentralem Katheter und peripherer Vene. Flaschen entsprechend beschriften!
- Bei Entfernung des Katheters Einsendung der Katheterspitze, die unter aseptischen Bedingungen entfernt wurde.

■ Probenmaterial

Blutkulturen, Blut in Isolator®-Röhrchen, Katheterspitze.

■ Transport

Schnellstmöglich bei Raumtemperatur ins Labor. Katheterspitze in sterilem Röhrchen versenden.

Isolator®-Röhrchen sind reine Transportgefäße. Sie enthalten kein Kulturmedium und sollten daher umgehend ins Labor transportiert werden sollten.

▪ Lagerung

Bei Raumtemperatur.

▪ Klinisch-mikrobiologische Untersuchungen

Bei liegendem Katheter (In-situ-Methoden):

- Blutkulturen: zeitgleiche Entnahme zentral und peripher (s. oben)
- Zusätzlich Bestimmung der „differential time to positivity“ (DTP)
- Lysis-Zentrifugationsverfahren (Isolator®): quantitative Blutkulturanalyse.

Bei Entfernung des Katheters, Kultur von der Katheterspitze stehen folgende Verfahren zur Verfügung:

- Semiquantitative Agar-Roll-Methode nach Maki (1977): Katheterspitze wird über den Agar gerollt
- Spülen mit Nährlösung, anschließend Ausplattieren auf Agar
- Ultraschallbehandlung, anschließend Ausplattieren auf Agar
- Vortexbehandlung, anschließend Ausplattieren auf Agar.

8.1.8 Liquor

▪ Indikationen

- Akute eitrige Meningitis, z. B. Meningokokkenmeningitis
- Akute nicht eitrige Meningitis, z. B. bakteriell (Listeriose, Leptospirose, Syphilis) oder viral (Enterovirus-, Mumpsmeningitis) bedingt
- Subakute oder chronische Meningitis, z. B. Tuberkulose, Brucellose, Q-Fieber, Borreliose
- Akute virale Enzephalitis, z. B. durch Herpes simplex, FSME, Poliomyelitis
- Septische Herdenzephalitis
- Hirnabszess, subdurales Empyem, spinaler Abszess bei Einbruch in das Liquorsystem
- Postoperative Infektionen, z. B. Shuntinfektion, Ventrikulitis.

▪ Probenentnahme

Vorgehen unter Berücksichtigung der aktuellen hygienischen Anforderungen (KRINKO 2011):

- Punktion kann im Patienten- oder Behandlungszimmer durchgeführt werden
- Ablegen des Arztmantels, ggf. flüssigkeitsdichte Schürze anlegen
- Hygienische Händedesinfektion
- Steriles Loch-/Abdecktuch, sterile Handschuhe, sterile Tupfer
- Hautdesinfektion unter Berücksichtigung der vom Hersteller angegebenen Einwirkzeit
- Punktion
- Bedecken der Punktionsstelle mit einem sterilen Pflaster.

▪ Probenmaterial

Liquor in sterilem Röhrchen, jeweils 1 ml für bakteriologische, virologische und klinisch-chemische Untersuchungen (Laborvorgaben berücksichtigen). Bei ZNS-Infektionen immer in Kombination mit Blutkultur und ggf. Abstrichen oder Gewebeatnahmen von weiteren lokalen Infektionsherden.

▪ Transport

Bei Raumtemperatur schnellstmöglich ins Labor.

▪ Lagerung

Bei Raumtemperatur.

▪ Klinisch-mikrobiologische Untersuchungen

- Makroskopische Beurteilung
- Mikroskopie: Gram-Färbung, Methylenblaufärbung
- Antigennachweise: *N. meningitidis* A, B, C, W135, Y; *H. influenzae* Typ b, *S. pneumoniae*, *E. coli* K1, Streptokokken Gruppe B, Kryptokokken
- PCR-Verfahren: z. B. *N. meningitidis*, Listerien, Leptospiren, *Tropheryma whipplei*, Herpes-simplex-Virus (HSV-1, HSV-2), Varizella-zoster-Virus (VZV), Cytomegalie-Virus (CMV), Coxsackie- und andere Enteroviren, Epstein-Barr-Virus (EBV), Kryptokokken, *Candidasp.*, *Aspergilluspp.*, 16S-rDNA-Sequenzierung
- Zellkultur, Virusisolierung, z. B. bei Enteroviren, HSV, CMV, VZV

- Hemmstoffnachweis aus dem Überstand
- Infektionsserologie: Bestimmung von Albumin und Antikörpern in Serum und Liquor, z. B. *Treponema pallidum*, Borrelien, Masern (subakute sklerosierende Panenzephalitis, SSPE), VZV, Röteln, HSV, HIV
- Nachweis einer intrathekalen Antikörpersynthese mit oder ohne Schrankenstörung („Reiber-Schema“).

8.1.9 Abstriche, Punktate, Gewebe

■ Indikationen

Haut- und Weichteilinfektionen, z. B. Wunden, Abszesse, Phlegmone, granulomatöse Erkrankungen, nekrotisierende Faszitis, Fistelbildung bei tiefen Infektionen.

■ Probenentnahme

- Punktion oberflächlicher Infektionsherde mit Exsudat, z. B. Vesikel oder Pusteln nach Oberflächendesinfektion mit rückstandsfrei verdunstendem Desinfektionsmittel, z. B. Isopropanol 70 %
 - Perkutane Punktion tieferer Prozesse nach oberflächlicher Hautdesinfektion, z. B. bei Abszessen, mindestens 0,5 ml, möglichst mehr als 2 ml
 - Punktion flüssigkeitsgefüllter Höhlen, z. B. Aszites, Pleura, Gelenke
 - Entnahme von Gewebe vom Wundgrund mit einem scharfen Löffel
 - Aspiration von Exsudat aus einem tiefen Fistelgang mit einem sterilen Katheter nach vorheriger Desinfektion des Fisteleingangs mit einem ohne Rückstände verdunstenden Hautdesinfektionsmittel
 - Gewebestücke und Hautbiopsien nach Spaltung eines Abszesses oder Entfernung von Nekrosen oder Wundschorf: In eitrigen Arealen befinden sich häufig nur Zelldetritus und abgestorbene Mikroorganismen. An der Grenze zu intaktem Gewebe bzw. am Wundgrund sind vitale Erreger nachweisbar, die für eine sinnvolle Diagnostik gewonnen werden sollten.
- Bei Kathetern und Drainageschläuchen sollte die umgebende Haut vor Entfernung desinfiziert und die Spitzen mit sterilen Instrumenten abgeschnitten werden.
 - Nicht sinnvoll sind oberflächliche Wundabstriche (häufig nur sekundär besiedelnde Erreger nachweisbar), oberflächlich gewonnenes Sekret aus Fisteln oder Wunden (häufig durch Schleimhaut-/Hautflora kontaminiert).

■ Probenmaterial

- Abstrichtupfer mit Transportmedium für den Nachweis von Bakterien und Pilzen
- Abstrichtupfer in sterilen Röhrchen, ggf. mit einigen Tropfen steriler physiologischer Kochsalzlösung für die virologische Diagnostik
- Gewebestücke, Biopsate, Punktate, Fistel-exsudate oder Hautstanzen in sterilen Röhrchen oder eine Spritze. Gegebenenfalls können einige Tropfen sterile, physiologische Kochsalzlösung zugegeben werden, um ein Austrocknen zu verhindern. Keinesfalls dürfen die Materialien in Formalin transportiert werden!
- Exzisionsmaterial bei Haut- und Schleimhaut-ulzerationen sowie bei trockenen Wunden
- Katheterspitzen oder Drainageschläuche in sterilen Röhrchen
- Aszites sollte bei Patienten mit Peritonitis immer zusätzlich auch in Blutkulturflaschen eingebracht werden (jeweils 10 ml in eine aerobe und eine anaerobe Flasche).

■ Transport

Umgehender Transport ins Labor, insbesondere bei nativen Materialien oder bei Proben, bei denen mit dem Vorkommen von Anaerobiern zu rechnen ist, innerhalb von 2 h. Bei Materialien, bei denen mit einer erheblichen Kontamination durch die Standortflora zu rechnen ist, sollte der Transport gekühlt erfolgen. Zum Nachweis von Anaerobiern, insbesondere bei Transportzeiten von mehr als 2–4 h, sollten geeignete Transportmedien verwendet werden. Da auch bei diesen Transportmedien mit einem sukzessiven Absterben relevanter Keime zu rechnen ist, sollte, v. a. bei kritischen Erkrankungen, stets der umgehende Transport (<2 h) in das Labor bevorzugt werden.

■ Lagerung

Eine Zwischenlagerung sollte bei nativen Materialien unterbleiben, da die Ausbeute mit jeder Stunde verringert wird. Materialien, bei denen mit einer erheblichen Kontamination durch die Standortflora zu rechnen ist, sollten gekühlt gelagert werden.

■ Klinisch-mikrobiologische Untersuchungen

- Mikroskopie zum Nachweis von Erregern und Entzündungszellen:
 - Gram-Färbung, Methylenblaufärbung
 - Ziehl-Neelsen- und Kinyoun-Färbung bei Verdacht auf Mykobakterien oder Nocardien
 - Dunkelfeldmikroskopie bei Verdacht auf Treponematosen
 - Warthin-Starry-Färbung bei Verdacht auf Bartonellen
- Kulturelle Anzucht von Bakterien, Pilzen und Viren
- Anfertigung eines Antibiotogramms
- Nukleinsäureamplifikationstechniken, z. B. PCR-Verfahren zur Virusdiagnostik (z. B. HSV) bzw. zum Nachweis spezieller Erreger wie Mykobakterien und Bartonellen, eubakterielle PCR
- Tierversuche bei toxinbedingten Erkrankungen wie Wundstarrkrampf (Tetanus) und Botulismus.

- Häufigen Exazerbationen
- (Mehrfacher) antibiotischer Vorbehandlung mit erhöhter Wahrscheinlichkeit für das Auftreten resistenter Keime
- Anderweitig erhöhtem Risiko für das Auftreten multiresistenter Keime
- Ambulant erworbene Pneumonie („community-acquired pneumonia“, CAP), insbesondere bei:
 - Rezidivierenden Infektionen
 - Krankenhausvorbehandlung
 - (Mehrfacher) antibiotischer Vorbehandlung mit erhöhter Wahrscheinlichkeit für das Auftreten resistenter Keime
 - Anderweitig erhöhtem Risiko für das Auftreten multiresistenter Keime
 - Strukturellen Lungenerkrankungen
- Nosokomiale Pneumonien
- Pneumonien bei Früh- und Neugeborenen sowie bei Säuglingen <1 Jahr
- Häufungen/Ausbrüche von Infektionen der unteren Atemwege

Die überarbeitete S3-Leitlinie zur Behandlung von erwachsenen Patienten mit ambulant erworbener Pneumonie und Prävention (Update 2016) sieht eine Erregerdiagnostik bei allen wegen einer mittelschweren bis schweren Pneumonie hospitalisierten Patienten vor (Ewig et al. 2016).

8.1.10 Respiratorische Materialien

■ Indikationen

Sie sollten in einer Einrichtung individuell festgelegt werden, da der sinnvolle Einsatz respiratorischer Materialien auch von den bestehenden logistischen Möglichkeiten abhängt. Der Versand eines Sputums auf dem Postweg ist nicht sinnvoll. Ein schneller Transport ins Labor ermöglicht aber auch aus diesem Material die Anzucht ätiologisch relevanter Erreger. Grundsätzlich bestehen folgende Indikationen, die in einzelnen Leitlinien jedoch durchaus unterschiedlich diskutiert werden (Dalhoff et al. 2012; Höffken et al. 2009; Sommer et al. 2010):

- Akute Exazerbation einer COPD („chronic obstructive pulmonary disease“), insbesondere bei:
 - Klinisch schwerem Krankheitsbild

■ Probenentnahme

- Sputum: Die richtige Gewinnung von Sputum sollte dem Patienten von geschultem Personal erklärt und möglichst unter Aufsicht des Personals durchgeführt werden.
 - Möglichst in einem Einzelzimmer durchführen und nach Durchführung für ca. 30 min gut nach außen lüften (gilt insbesondere bei Verdacht auf Tuberkulose und bei Untersuchungen bei Mukoviszidosepatienten)
 - Personalschutzmaßnahmen (FFP-2-Maske) beachten
 - Möglichst keine Nahrungsaufnahme 1–2 h vor Sputumgewinnung
 - Abhusten ist morgens meist am leichtesten.
 - Falls spontanes Abhusten nicht möglich ist, erhöht tiefes Ein- und Ausatmen die

- Sputumproduktion. Die Luft sollte dabei in tiefer Inspiration für 3–5 s angehalten werden.
- Abhusten in steriles Gefäß, das nur außen angefasst wird
 - Induziertes Sputum: Inhalation von ca. 25 ml steriler, hyperosmolarer Kochsalzlösung (z. B. 3 %) mit einem Vernebler steigert die Sputumproduktion.
 - Nasen-Rachen-Spülwasser:
 - Ausspülen des Mundes mit steriler, physiologischer Kochsalzlösung
 - Aufnahme von 10 ml steriler, physiologischer Kochsalzlösung, Gurgeln und Auffangen in einem sterilen Gefäß
 - Bei Neugeborenen, Säuglingen und Kleinkindern können 0,5–1 ml sterile, physiologische Kochsalzlösung durch ein Nasenloch eingebracht und über einen Absaugkatheter mit Sekretfalle wieder abgesaugt werden.
 - Tiefer Nasopharyngealabstrich: Einführen eines speziellen Abstrichtupfers aus flexiblem Material tief in die Nase bis zur Rachenhinterwand, z. B. bei Verdacht auf Keuchhusten
 - Trachealsekret: Absaugen des Sekrets mit einem sterilen Katheter über den Endotrachealtubus oder das Tracheostoma aus tiefen Abschnitten des Bronchialsystems
 - Bronchialsekret: Absaugen eitriges Bronchialsekrets unter Sicht während einer Bronchoskopie; ggf. vorherige Zugabe steriler isotoner Lösung zum besseren Absaugen
 - Bronchoalveoläre Lavage (BAL, prozedurale Details ► [Kap. 22](#)):
 - Absaugen von evtl. vorhandenen Sekretansammlungen aus dem Mund-Rachen-Raum und der Trachea zur Vermeidung von Kontaminationen mit Flora aus dem Mund-Rachen-Raum
 - **Caution:** Lokalanästhetika sind antimikrobiell wirksam!
 - Bis zu 160 ml sterile, physiologische Kochsalzlösung instillieren
 - Portionierte Aspiration von mindestens 50 ml
 - Erstes Aspirat außer bei Immunsupprimierten verwerfen
 - Weitere Aspirate enthalten Flüssigkeit aus der Lungenperipherie und sollten für die Diagnostik verwendet werden.
 - Bei eitriges Lungenerkrankungen bei zystischer Fibrose oder Bronchiektasen können auch nur kleine Mengen Flüssigkeit gegeben und wieder abgesaugt werden. Das Aspirat stammt aus den Bronchien, eine Verschleppung von Keimen in die Peripherie wird verhindert.
 - Geschützte Bürste: Bronchoskopisch wird eine durch zwei Katheter geschützte Bürste vorgeschoben und erst zur Probenahme ausgefahren. Die Bürste kann eine geringe Menge Probenmaterial aufnehmen.
 - „Blinde“ semiinvasive Verfahren: Probenahme aus dem tiefen Respirationstrakt ohne Bronchoskopie
 - Mini-BAL: Instillation von 20–150 ml Kochsalzlösung und Absaugen; Mitteilung der gegebenen und abgesaugten Flüssigkeitsmenge an das Labor
 - „Blinde“ geschützte Bürste: Verfahren wie bei der geschützten Bürste, jedoch ohne Bronchoskopie
 - Pleuraflüssigkeit: Punktion einer Flüssigkeitsansammlung (Erguss, Empyem) im Bereich der Pleura mit vorheriger Hautdesinfektion. Durchführung unter aseptischen Bedingungen. Ergussflüssigkeit sollte insbesondere bei Patienten mit Verdacht auf Pleuraempyem immer auch zusätzlich in Blutkulturflaschen eingebracht werden (jeweils 10 ml in eine aerobe und eine anaerobe Flasche), hierdurch kann die Häufigkeit des Keimnachweises gegenüber der alleinigen Standardkultur um bis zu 20 % gesteigert werden.
 - Transthorakale Feinnadelpunktion: Punktion eines infektiösen Bereichs nach vorheriger Hautantiseptik unter aseptischen Bedingungen
 - Lungenbiopsie: offene Biopsie im Rahmen eines thoraxchirurgischen Eingriffs.
- **Probenmaterial**
- Sputum: Wichtig ist, dass nur eitriges Sputum und nicht Speichel zur mikrobiologischen Diagnostik versandt wird.
 - Nasen-Rachen-Spülwasser: zur Diagnostik bei Erregern, die sich im Rachenraum aufhalten,

z. B. bei RSV (respiratorische Synzytialviren), Influenza, Enteroviren, *Bordetella pertussis*

- Tiefer Nasopharyngealabstrich: bei Verdacht auf *Bordetella pertussis*. Je nach Untersuchungsmethode (PCR, Kultur) sind unterschiedliche Abstrichmaterialien geeignet: Rücksprache mit dem Labor. Herkömmliche Abstrichtupfer für die Bakteriendiagnostik sollten nicht verwendet werden.
- Trachealsekret, Bronchialsekret, BAL, geschützte Bürste: Nachweis relevanter Erreger aus dem tiefen Respirationstrakt

■ Transport

Innerhalb von 2–4 h ins Labor. Für den kulturellen Nachweis von *Bordetella pertussis* in speziellen Transportmedien sollte ein Zeitraum von 24–48 h nicht überschritten werden.

■ Lagerung

In Einzelfällen ist eine kurzfristige Lagerung bei +4–8 °C möglich, jedoch sollte eine Dauer von 12 h nicht überschritten werden.

■ Klinisch-mikrobiologische Untersuchungen

- Mikroskopie:
 - Zytologisch-bakteriologische Untersuchung
 - Gram-Färbung
 - *Pneumocystis jirovecii*: Toluidinblaufärbung, Silberfärbung nach Grocott-Gomori, Giemsa-Färbung
 - *Mycobacterium tuberculosis*: Ziehl-Neelsen-Färbung, Kinyoun-Färbung, Auraminfärbung
- Kultur/Zellkultur
- Antibiogramm bzw. Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration
- Antigennachweis: Influenzaantigen aus respiratorischen Materialien
- PCR: zum Nachweis nicht oder schwer anzüchtbarer Erreger:
 - *Bordetella pertussis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Legionella* spp., *Chlamydomphila pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*
 - Influenza, Parainfluenza, Rhinovirus, RSV, humanes Metapneumovirus, SARS-Coronavirus (schweres akutes respiratorisches Syndrom), Enteroviren

- Multiplex-PCR für respiratorische Viruserkrankungen
- *Pneumocystis jirovecii*.

8.2 Bewertung und Analyse

8.2.1 Urin

Leukozytennachweis: Zeigt ein entzündliches Geschehen im Bereich der Harnwege an und untermauert bei einer hohen Keimzahl die Diagnose Harnwegsinfekt. Falsch-positive und falsch-negative Ergebnisse sind möglich.

Nitritnachweis: Positiv bei *Enterobacteriaceae*, negativ bei Enterokokken, Staphylokokken, *P. aeruginosa*. Setzt eine gewisse Verweildauer der Bakterien in der Blase voraus (>4 h). Nicht zum Ausschluss einer Harnwegsinfektion geeignet.

Hemmstoffnachweis: Bei Anwesenheit von Hemmstoffen wie Antibiotika oder Zytostatika wird die Interpretation der quantitativen Befunde deutlich erschwert. Wenn möglich und klinisch notwendig, sollte nach Absetzen einer Antibiotikatherapie erneut Urin eingeschickt werden.

■ Mittelstrahlurin

Ein wichtiges Kriterium bei der Diagnostik von Harnwegsinfektionen ist die quantitative Keimzahlbestimmung. Galt früher ein Nachweis von $\geq 10^5$ Keimen/ml als entscheidendes Kriterium für den Nachweis einer aktiven Infektion, so gelten mittlerweile bereits niedrigere Keimzahlen ab 10^3 für bestimmte klinische Symptome und Patientengruppen als Schwellenwert für eine klinisch „signifikante Bakteriurie“, insbesondere beim Nachweis typischer Uropathogene in Reinkultur. Der Nachweis von Leukozyten erhärtet die Diagnose. Eine Übersicht zeigt **Tab. 8.2**.

Bei Nachweis von drei oder mehr uropathogenen Keimen sollte die Diagnostik wiederholt werden, da hier mit hoher Wahrscheinlichkeit eine Kontamination vorliegt. Mehrere Erreger in hoher Keimzahl können jedoch bei rezidivierenden oder chronischen Harnwegsinfektionen ebenso wie bei Patienten mit regelmäßiger Einmalkatheterisierung, z. B. bei Querschnittslähmung, ätiologisch relevant sein.

■ **Tab. 8.2** Bewertung von Keimzahlen im Mittelstrahlurin bei entsprechenden klinischen Symptomen. (Adaptiert nach Gatermann et al. 2005)

Keimzahl	Leukozyten	Wahrscheinlichkeit einer Harnwegsinfektion
<10 ³	–	Unwahrscheinlich
	+	Möglich. Differenzialdiagnose sterile Pyurie: <i>Ureaplasma urealyticum</i> , <i>Mycoplasma</i> spp., <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Chlamydia trachomatis</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
10 ³ –10 ⁴	–	Unwahrscheinlich
	+	Möglich (Kinder und Erwachsene), v. a. bei Reinkultur typischer Erreger
10 ⁴ –10 ⁵	–	Verdächtig (Mädchen, Frauen) Infektionsnachweis (Jungen, Männer, Pyelonephritis der Frau)
	+	Infektionsnachweis bei Reinkultur typischer Erreger
≥10 ⁵	–	Infektionsnachweis
	+	Infektionsnachweis
Asymptomatische Bakteriurie: Bei Fehlen klinischer Symptome und einmaligen (Mann) bzw. zweimaligem Nachweis von ≥10 ⁵ /ml		

■ Urin aus Einmalkatheter

Die Kontaminationsrate ist nicht so hoch wie bei der Gewinnung von Mittelstrahlurin. Als verdächtig gelten Keimzahlen zwischen 10³/ml und 10⁴/ml. Der Nachweis von ≥10⁴ koloniebildenden Einheiten pro Milliliter gilt als Infektionsnachweis. Bei Nachweis von Kontaminanten ist eine erneute Einsendung sinnvoll.

■ Urin aus Dauerkatheter

Häufig wird nur die Besiedlung des Systems nachgewiesen, was zu häufigem Erregerwechsel und Mischkulturen in den mikrobiologischen Befunden führt. Die Interpretation sollte stets die Klinik und Laborveränderungen mit berücksichtigen. Im Zweifelsfall sollte vor Beginn einer Antibiotikatherapie eine Blasenpunktion durchgeführt werden.

■ Punktionsurin

Bei adäquater Entnahmetechnik sollte Punktionsurin steril sein. Deshalb gilt jeglicher Keimnachweis als relevanter Erreger, der im Labor entsprechend differenziert wird. Kontaminationen durch Hautflora bei nicht sachgerechter Hautantiseptik sind möglich. Gegebenenfalls ist eine Wiederholung erforderlich.

8.2.2 Stuhl

Da Erkrankungen des Magen-Darm-Trakts mit den Symptomen Erbrechen und Durchfall sehr unterschiedliche Ursachen haben können, ist eine abgestufte Stuhl Diagnostik sehr sinnvoll. Sie orientiert sich an folgenden Kriterien:

- Makroskopie:
 - Stuhlkonsistenz fest, breiig, wässrig
 - Schleim- oder Blutbeimengung
- Alter des Patienten
- Klinik: Fieber, Schmerzen, Tenesmen, Appendizitis, Arthritis, Erythema nodosum
- Anamnese: Auslandsaufenthalt, kürzlich erfolgter operativer Eingriff, verzehrte Nahrungsmittel, Antibiotikatherapie, Immunsuppression
- Ambulant erworbene oder nosokomiale Infektion
- Patient aus Risikobereich, wie z. B. Hämatologie, Intensivstation, Transplantation.

Stufendiagnostik (mod. nach Kist et al. 2013):

- Basisuntersuchungen: Salmonellen, Shigellen, Yersinien
- Bei Auslandsaufenthalt: Amöben, *Giardia lamblia* und andere Protozoen, ggf. Wurmeier

- Ambulante Patienten: zusätzlich *Campylobacterspp.*
- Bei Kindern <3 Jahren EPEC (enteropathogene) und bei Kindern bis 6 Jahre EHEC (enterohämorrhagische *E. coli*)
- Bei Patienten mit Erbrechen als führendem Symptom und/oder häufigem, dünnflüssigem Stuhlgang Adeno-, Astro-, Noro- oder Rotaviren
- Bei Antibiotika- oder Zytostatikatherapie und/oder chirurgischem Eingriff in den letzten 6 Wochen sowie bei nosokomialer Infektion (ab dem 4. Tag des stationären Aufenthalts) zusätzlich *Clostridium difficile*

Bei blutig-schleimigen Durchfällen oder schwerem klinischen Verlauf sollten zusätzlich folgende Untersuchungen veranlasst werden:

- *Clostridium difficile*, EHEC (enterohämorrhagische *E. coli*), *Aeromonas spp.*
- Bei Kindern <3 Jahren EPEC (enteropathogene) und bei Kindern bis 6 Jahre EHEC (enterohämorrhagische *E. coli*)
- Bei Patienten mit kürzlichem Auslandsaufenthalt zusätzlich Protozoen und *Strongyloides stercoralis*
- Bei Patienten mit schwerer Immunsuppression, z. B. AIDS: Rotaviren, Adenoviren, *Clostridium difficile*, EPEC, *Aeromonas spp.*, Kryptosporidien, Mikrosporidien, Mykobakterien, bei schweren Verläufen auch *Pseudomonas spp.*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, ggf. Pilze, in Darmbiopsien dieser Patienten auch Untersuchungen zu Cytomegalie- und HI-Viren
- Bei nosokomialen Häufungen: Noroviren, Rotaviren, Adenoviren, Astroviren, Salmonellen, Shigellen, *Yersinia enterocolitica*, EHEC, bei Kindern <3 Jahren EPEC.

Der Nachweis enteropathogener Mikroorganismen im Stuhl ist bei gegebener klinischer Symptomatik stets als relevant anzusehen. Beim Nachweis fakultativ enteropathogener Bakterien wie *P. aeruginosa* hängt die Bewertung von der klinischen Symptomatik und den mikrobiologischen Befunden ab. Sind nur geringe Mengen dieser Keime nachweisbar, ist eine pathogene Bedeutung in der Regel nicht

anzunehmen. Treten Sie jedoch als weit überwiegender Keim auf und scheiden andere Ursachen aus, sollten sie als Erreger in Betracht gezogen werden.

Clostridium difficile-Erkrankungen werden über den Toxinnachweis im Stuhl diagnostiziert. Dieser ist als PCR oder Antigen-ELISA direkt aus dem Stuhl oder über eine Kultur möglich. Der Toxinnachweis aus dem Stuhl ist sehr spezifisch, der Antigen-ELISA weist jedoch einige Schwächen bei der Sensitivität auf. Daher sollte als Suchtest im Antigen-ELISA der Glutamatdehydrogenase-(GDH-)Nachweis erfolgen, der eine hohe Sensitivität aufweist. Ist dieser Test positiv, muss jedoch ein Toxin A/B-ELISA oder eine entsprechende PCR angeschlossen werden, da die GDH als gemeinsames Antigen auch bei nicht toxinproduzierenden *C. difficile* und anderen Clostridien nachweisbar ist.

8.2.3 Blutkulturen

Aus der Mitteilung, dass eine Blutkultur positiv geworden ist, und dem Ergebnis der Untersuchung des Gram-Präparats lassen sich häufig bereits erste Schlüsse auf die Ätiologie der Erkrankung des Patienten ziehen. Zudem kann eine Anpassung der Antibiotikatherapie vorgenommen werden, insbesondere bei Befunden, die in der empirischen Therapie nicht unbedingt berücksichtigt werden (z. B. grampositive Stäbchen bei Listerieninfektion). Die mikroskopischen Befunde werden durch zusätzliche Untersuchungsergebnisse, die direkt aus der bewachsenen Blutkultur gewonnen wurden, untermauert (z. B. Hinweis für MRSA oder *N. meningitidis* aus einer PCR-Untersuchung oder einem Antigentest).

■ Unterscheidung zwischen Kontamination und relevantem Erreger

Falsch-positive Blutkulturen machen 30–50 % aller positiven Blutkulturen aus und können zu nicht gerechtfertigten Antibiotikatherapien mit möglichen unerwünschten Arzneimittelwirkungen (UAW) für den individuellen Patienten führen und verursachen unnötige Kosten. Für die Einordnung des mikrobiologischen Befunds ist die Beachtung folgender Punkte wichtig:

- Handelt es sich um einen klinisch relevanten Erreger, der zum Krankheitsbild des Patienten passt?

- Typische Kontaminanten sind Vertreter der Hautflora oder ubiquitär vorkommende Umgebungskeime:
 - *S. epidermidis* und andere koagulasenegative Staphylokokken
 - *Corynebacterium*spp.
 - *Propionibacterium*spp.
 - *Bacillus* spp.
- Nachweis dieser Erreger in nur einer von mehreren Blutkulturen macht eine Kontamination wahrscheinlich.
- Nachweis in mehreren Blutkulturen erhöht die Wahrscheinlichkeit für einen relevanten Erreger.
- Nachweis desselben Erregers in anderen klinischen Materialien, z. B. im Urin bei Urosepsis, spricht für relevanten Keim.
- Zeit bis zur Positivmeldung des Blutkulturautomaten: Häufige, schnell wachsende Mikroorganismen wie Enterobakterien, Staphylokokken, Enterokokken erzeugen in der Regel innerhalb der ersten 24 h eine Positivmeldung.

■ Infusatasoziierte Blutstrominfektion

Bei einem plötzlich auftretenden septischen Krankheitsbild, das in zeitlichem Zusammenhang zur intravenösen Gabe von Infusionen, Medikamenten oder Blutprodukten steht, sollte an die Möglichkeit einer Kontamination des Infusats gedacht werden. Der gleichzeitige Nachweis desselben Erregers aus dem Infusat und einer peripher gewonnenen Blutkultur ist beweisend.

■ Direktnachweisverfahren

Die kulturelle Labordiagnostik nimmt eine gewisse Zeit in Anspruch, in der eine diagnostische Unsicherheit besteht. Um den Nachweis relevanter Erreger zu beschleunigen, wurden neue Methoden etabliert.

- Positive Blutkultur mit grampositiven Haufkokken im Gram-Präparat: Direktnachweis des *mecA*- oder *mecC*-Gens bzw. einer entsprechenden Genkassette, das für das veränderte Penicillin-Bindeprotein 2a (PBP2a) von MRSA kodiert.
- Ohne vorherige Bebrütung: Multiplex-PCR aus Blutprobe. Je nach Test werden bis zu mehrere Dutzend grampositive und gramnegative Bakterien sowie Hefen und

Schimmelpilze identifiziert. Ein Vorteil ist die geringe Testdauer von wenigen Stunden ohne vorherige Bebrütung. Nachteilig ist, dass kein Antibiogramm des nachgewiesenen Erregers angefertigt werden kann. Nach derzeitigem Stand kann dieses Untersuchungsverfahren die herkömmliche Blutkulturdiagnostik nicht ersetzen. Sie kann sie jedoch sinnvoll ergänzen, insbesondere bei neutropenen Patienten, nach begonnener Antibiotikatherapie oder bei klinischem Verdacht auf invasive Pilzinfektionen.

8.2.4 Diagnostik bei katheterassozierten Infektionen

Der gleichzeitige Nachweis desselben Erregers in einer Blutkultur und an der Katheterspitze gilt als Hinweis auf das Vorliegen einer katheterassozierten Blutstrominfektion.

Untersuchung mit Entfernung des Katheters

■ Semiquantitative Agar-Roll-Methode nach Maki (1977)

Bei der am häufigsten angewandten Methode zur mikrobiologischen Untersuchung von Katheterspitzen wird diese mit einer sterilen Pinzette über den Agar gerollt. Für koagulasenegative Staphylokokken gilt:

- <15 koloniebildende Einheiten (KBE): Kontamination wahrscheinlich
- ≥15 KBE: bei Vorliegen lokaler oder systemischer Infektionszeichen Katheterinfektion wahrscheinlich

Für andere Spezies ist dieser Schwellenwert nicht evaluiert. Klinisch relevante Spezies wie *S. aureus*, Enterokokken und gramnegative Enterobakterien werden daher häufig auch unterhalb des Schwellenwerts identifiziert und ein Antibiogramm erstellt.

■ Katheterspitze: quantitative Untersuchungsmethoden

Bei bereits länger einliegenden Kathetern spielt die intraluminal Besiedlung eine wichtige Rolle bei der Entstehung nosokomialer Infektionen. In diesen Fällen

sollte daher die Innenseite durch Spülen des Katheters mit Nährbouillon oder durch das Ablösen der Bakterien mittels Vortex- oder Ultraschallbehandlung untersucht werden. Anschließend erfolgt eine quantitative Keimzahlbestimmung. Als Schwellenwerte, ab denen bei entsprechender klinischer Symptomatik eine Katheterinfektion wahrscheinlich ist, gelten:

- Ultraschallbehandlung: ≥ 100 KBE/ml
- Vortexbehandlung: ≥ 1000 KBE/ml

Untersuchung ohne Entfernung des Katheters

Ist eine Entfernung des zentralvenösen Katheters trotz Verdacht auf eine vorliegende Infektion nicht möglich, kann eine quantitative Analyse der Blutkulturen die Diagnostik ergänzen. Dies bietet sich insbesondere bei implantierten Kathetern an.

- **Lysis-Zentrifugationsverfahren (Isolator®-Röhrchen)**

Es sollten zu einem Zeitpunkt Proben aus einem zentralen Katheter und aus einer peripheren Vene entnommen werden. Im Labor erfolgt die Zentrifugation. Das Konzentrat wird anschließend auf Nährmedien überimpft und nach Bebrütung quantitativ analysiert. Eine mehr als 5-fach erhöhte Anzahl übereinstimmender Keime in der zentral entnommenen Probe gegenüber der peripheren Probe gilt als

Hinweis für eine katheterassoziierte Infektion. Bei subkutan getunnelten Kathetern (z. B. Hickman, Broviac) gilt der Nachweis von ≥ 100 KBE/ml in der zentralen Probe bereits als Hinweis für eine Katheterinfektion, ohne dass die periphere Probe berücksichtigt werden muss.

- **„Differential time to positivity“ (DTP)**

Hier werden ebenfalls zu einem Zeitpunkt Blutkulturen zentral aus dem Katheter und aus einer peripheren Vene durch Punktion gewonnen. Die Flaschen werden im Labor in einem teilautomatisierten Blutkulturdetektionssystem bebrütet und bei mikrobiellem Wachstum als positiv gemeldet. Dabei wird die Zeit vom Einsetzen der Flasche bis zur Positivmeldung dokumentiert. Wird – bei identischem Erreger – die Flasche mit der zentral entnommenen Probe mehr als 2 h vor der peripher entnommenen Probe positiv, so ist eine katheterassoziierte Infektion wahrscheinlich.

8.2.5 Liquor

- **Klinisch-chemische Untersuchungen**

Die Untersuchungen des Liquors hinsichtlich Zellzahlen, Glukose und Laktat helfen zur ersten diagnostischen Einordnung des Infektionsgeschehens (■ Tab. 8.3).

■ Tab. 8.3 Typische Konstellationen bei Meningitis unterschiedlicher Genese

Parameter	Bakterielle Meningitis	Virale Meningitis, Enzephalitis	Tuberkulöse Meningitis	Pilzmeningitis
Aussehen	Eitrig-trüb	Klar	Trüb oder klar	Trüb oder klar
Zellzahl	$>1000/\mu\text{l}$	$<1000/\mu\text{l}$	100–400	Variabel
Zellbild	Neutrophile	Lymphozyten, initial Neutrophile	Lymphozyten, Granulozyten	Variabel
Glukose (Liquor-Serum-Quotient)	$<50\%$	$>50\%$	$<30\%$	$<50\%$
Laktat	$>3,5\text{ mmol/l}$	$<2,5\text{ mmol/l}$	2,5–10 mmol/l	$>3,5\text{ mmol/l}$
Eiweiß	$>1000\text{ mg/l}$	$<1000\text{ mg/l}$	$>1000\text{ mg/l}$	$>1000\text{ mg/l}$
Blut-Hirn-Schranke (Liquor-Serum-Quotient Albumin)	$>25 \times 10^{-3}$	$<25 \times 10^{-3}$	$>25 \times 10^{-3}$	$>20 \times 10^{-3}$

■ Mikroskopie, Gram-Färbung

Die mikroskopische Untersuchung des Liquors ermöglicht erste Verdachtsdiagnosen, insbesondere bei trübem Liquor.

- Grampositive Haufenkokken: z. B. Staphylokokken
- Grampositive Diplokokken: z. B. Pneumokokken
- Grampositive Stäbchen: z. B. Listerien
- Gramnegative Kokken: z. B. Meningokokken
- Gramnegative Stäbchen: z. B. *E. coli* K1, *H. influenzae* Typ b.

■ Antigennachweis

Eine routinemäßige Anwendung der bakteriellen Latexagglutinationstests bei makroskopisch und mikroskopisch unauffälligen Liquorproben ist nicht zielführend. Die Stärke der Tests liegt vielmehr darin, eine mikroskopisch gestellte Verdachtsdiagnose zu untermauern.

■ Molekularbiologische Nachweisverfahren

Die Nutzung von Nukleinsäueamplifikationsverfahren ist insbesondere bei Viren und zum Nachweis schwer identifizierbarer bzw. anzüchtbarer oder langsam wachsender Erreger von großer Bedeutung. Der Nachweis mikrobieller DNA bzw. RNA im Liquor spricht bei entsprechender klinischer Symptomatik für eine Erkrankung durch den Erreger. Hierfür stehen heute auch Multiplex-PCR-Systeme zur Verfügung, mit denen nach mehreren ätiologisch relevanten Erregern für ambulant erworbene Meningitiden gesucht werden kann. Spezielle Fragestellungen, z. B. bei postoperativer Meningitis, werden jedoch nicht berücksichtigt. PCR-Verfahren sind insbesondere auch in der Frühphase der Erkrankung von Vorteil, wenn bereits klinische Symptome aufgetreten sind, die Leukozyten im Liquor jedoch häufig noch normal sind.

■ Kulturelle Anzucht

Die Vermehrung von Bakterien, Pilzen und Viren mithilfe von Kulturmedien kann in der Regel relevante Mikroorganismen identifizieren. Eine Kontamination durch typische Bestandteile der Hautflora ist bei nicht sachgerecht durchgeführter Hautdesinfektion möglich. Die kulturelle Anzucht ermöglicht die Anfertigung eines Antibiogramms. Bei Nachweis

von Hemmstoffen muss die Möglichkeit falsch-negativer Befunde in Betracht gezogen werden.

Bei Verdacht auf eine Meningitis sollten stets zusätzlich Blutkulturen abgenommen werden.

■ Infektionsserologie

Die gleichzeitige Analyse von Serum und Liquor erlaubt den Nachweis einer autochthonen Antikörperproduktion. Dafür ist neben der Quantifizierung der entsprechenden Antikörper auch die Analyse von Albumin erforderlich, sodass ein Antikörperindex berechnet werden kann. Wichtig ist die Entnahme von Liquor und Serum zum selben Zeitpunkt! Anhand der Ergebnisse können Aussagen darüber getroffen werden, ob die Blut-Hirn-Schranke intakt ist und ob spezifische Antikörper im Bereich des Liquorraums gebildet werden, was auf ein infektiöses Geschehen hinweist („Reiber-Schema“).

8.2.6 Abstriche, Punktate, Gewebe

Viele Infektionen der Haut bzw. unter Beteiligung der Haut lassen sich klinisch diagnostizieren, ohne dass eine mikrobiologische Diagnostik erforderlich wäre, z. B. Erythrasma, Pityriasis versicolor oder Hautwarzen. Der richtigen und sauber durchgeführten Probeentnahme kommt bei der Beurteilung der Ergebnisse der mikrobiologischen Diagnostik entscheidende Bedeutung zu.

- **Klinisch wertlos sind oberflächliche Wundabstriche, insbesondere aus chronischen Wunden, die meist nur sekundär besiedelnde Erreger nachweisen.**

Zur Diagnostik und als Grundlage für therapeutische Entscheidungen sollten daher ausschließlich tiefe Proben vom aktiven Zentrum der Infektion herangezogen werden. Dies kann in den allermeisten Fällen bereits dadurch erreicht werden, dass Wundschorf, fibrinöse oder nekrotische Beläge entfernt werden und die Probeentnahme aus dem Wundgrund bzw. den Randbezirken erfolgt.

Ist genug Probenmaterial vorhanden, ist eine mikroskopische Diagnostik v. a. bei lebensbedrohlichen Erkrankungen wie Gasbrand oder nekrotisierender Faszitis aus intraoperativ gewonnenem

Material sinnvoll. Goldstandard für die Diagnostik bakterien- und pilzbedingter Erkrankungen ist die Kultur, die die Resistenztestung ermöglicht. Für die virologische Diagnostik steht neben Zellkulturverfahren insbesondere die PCR-Diagnostik zu Verfügung.

Primär bakterielle Hautinfektionen

Viele dieser Erkrankungen werden durch eine Bakterienart verursacht. Sie betreffen in der Regel definierte Hautschichten. Tiefe Infektionen sind nicht selten durch aerob-anaerobe Mischinfektionen bedingt, die durch den relativen Sauerstoffmangel ermöglicht werden. Eine Übersicht zeigt **Tab. 8.4**.

Toxinbedingte Hauterkrankungen

Toxische Reaktionen der Haut können durch bakterielle Toxine bedingt sein. Eine Übersicht zeigt **Tab. 8.5**.

Viral bedingte Hauterkrankungen

Hauterkrankungen durch Viren treten entweder als lokalisierte Infektionen oder als Symptome systemischer Viruserkrankungen in Erscheinung. Eine Übersicht findet sich in **Tab. 8.6**.

Postoperative Wundinfektionen

Operationswunden werden im Rahmen des Eingriffs bzw. kurz danach mit Bakterien besiedelt. Einfache postoperative Wundinfektionen verzögern in der Regel die Wundheilung und zeigen die typischen klinischen Symptome einer lokal begrenzten Entzündung.

Bei der Bewertung mikrobiologischer Befunde muss neben der klinischen Symptomatik der Entnahmestätte berücksichtigt werden. Koagulasenegative Staphylokokken aus einer Sternotomiewunde bzw. nach Implantation einer Hüfttotalendoprothese sind als potenzielle Krankheitserreger zu betrachten, wohingegen sie bei gemeinsamem Nachweis mit Enterobakterien und/oder Enterokokken in Darmresektionen vernachlässigt werden können.

Typische Erreger postoperativer Wundinfektionen sind *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus*

pyogenes und andere Streptokokken, Enterokokken, Enterobakterien und *Pseudomonas aeruginosa*.

Schwere, komplizierte Wundinfektionen führen meist zu einer Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens und gelegentlich zur systemischen Ausbreitung der Infektionserreger. Dabei handelt es sich häufig um polymikrobiell bedingte Infektionen, an denen, v. a. bei tiefen Gewebeprozessen, auch Anaerobier wie *Bacteroides spp.*, *Prevotella spp.*, *Fusobacterium spp.*, *Clostridium spp.* oder *Peptostreptococcus spp.* beteiligt sein können.

Verbrennungswunden, die zunächst meist steril sind, werden im Verlauf mit Keimen der Hautflora, aber auch mit pathogenen Erregern wie *Staphylococcus aureus*, β -hämolisierenden Streptokokken der Gruppen A, B, C und G, Enterobakterien, *Acinetobacter baumannii* und *Pseudomonas aeruginosa* besiedelt. Hieraus ergibt sich ein Reservoir für Wundinfektionen, die v. a. bei großflächigen Wunden die Prognose des Patienten wesentlich mitbestimmen. Häufige als Kontaminanten auftretende Spezies sind neben koagulasenegativen Staphylokokken *Corynebacterium spp.*, *Bacillus spp.* und Sproßpilze.

Punktion steriler Kompartimente

Eine sachgerechte Entnahme und Hautdesinfektion vorausgesetzt, sind Erregernachweise aus primär sterilen Kompartimenten in der Regel ätiologisch bedeutsam.

Chronische Infektionen und Fisteln

Chronische Infektionen sind häufig durch patienteneigene Faktoren wie Diabetes mellitus, Durchblutungsstörungen oder eine geschwächte Immunabwehr, durch physikalische (Druck, Temperatur) oder chemische Schädigungen sowie Fremdkörper bedingt. Die Wunden sind meist mit Erregern besiedelt.

Eine Unterscheidung zwischen verantwortlichem Erreger und unbedeutendem Kontaminanten ist häufig schwierig. Hier hilft eine invasive Gewebentnahme im Rahmen einer Biopsie weiter, die alle Hautschichten erfasst.

Auf dem Boden chronischer Infektionen entstehen Fisteln, die je nach Erkrankung bzw. anatomischer Lokalisation durch unterschiedliche Erreger

■ Tab. 8.4 Häufige Haut- und Weichteilinfektionen und ihre Erreger

Erkrankung	Betroffene Hautschicht	Häufige Erreger
Erythrasma	Kutis	<i>Corynebacterium minutissimum</i> Klinische Diagnostik
Abszess, Zellulitis, Gangrän, Phlegmone	Subkutis	<i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Staphylococcus aureus</i> Aerob-anaerobe Mischinfektionen
Karbunkel, Furunkel	Subkutis	<i>Staphylococcus aureus</i>
Panaritium	Entzündung des Fingers, häufig Nagelbett betroffen, Ausbreitung auf Gelenke möglich	<i>Staphylococcus aureus</i>
Follikulitis	Haarfollikel	<i>Staphylococcus aureus</i>
Hidradenitis	Haarfollikel und umgebendes Gewebe	<i>Staphylococcus aureus</i>
Erysipel	Dermis	<i>Streptococcus pyogenes</i>
Erysipeloid	Dermis	<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>
Impetigo	Epidermis	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus pyogenes</i>
Ecthyma, Ecthyma contagiosum, Ecthyma gangraenosum	Kutis	<i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Hautmilzbrand (Anthrax)	Kutis	<i>Bacillus anthracis</i>
Hautdiphtherie	Kutis	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>
Erythema chronicum migrans, Acrodermatitis chronica atrophicans	Kutis	<i>Borrelia burgdorferi</i> , <i>B. garinii</i> , <i>B. afzelii</i>
Aquarium- bzw. Schwimmbadgranulom	Kutis	<i>Mycobacterium marinum</i>
Nekrotisierende Fasziiitis	Faszie	Streptokokken Aerob-anaerobe Mischinfektion
Myositis, Pyomyositis, Myonekrose	Muskel	<i>Streptococcus pyogenes</i> Aerob-anaerobe Mischinfektion <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Clostridium perfringens</i> Andere histolytische Clostridien
Tinea cutis	Stratum corneum	<i>Trichophyton</i> <i>Epidermophyton</i> <i>Microsporon</i>
Pityriasis versicolor	Stratum corneum	<i>Malassezia furfur</i>
Candidose	Kutis	<i>Candida albicans</i>

■ Tab. 8.5 Toxinbedingte Erkrankungen der Haut

Erkrankung	Erreger	Toxin
„Toxic shock syndrome“ (TSS)	<i>Staphylococcus aureus</i>	„Toxic shock syndrome toxin-1“ (TSST-1)
„Staphylococcal scaled skin syndrome“ (SSSS)	<i>Staphylococcus aureus</i>	Exfoliatine A oder B
Scharlach	<i>Streptococcus pyogenes</i>	Erythrogene Toxine (SPE-A, SPE-B, SPE-C)
„Streptococcal toxic shock syndrome“ (STSS)	<i>Streptococcus pyogenes</i> , andere β -hämolisierende Streptokokken der Gruppen B und C	Erythrogene Toxine (SPE-A, SPE-B, SPE-C)

■ Tab. 8.6 Häufige viral bedingte Hauterkrankungen

Erkrankung	Erreger
Gingivostomatitis (Primärinfekt)	Herpes-simplex-Virus (HSV) 1, HSV 2
Herpes labialis (Rezidiv)	HSV 1, HSV 2
Varizellen (Primärinfekt)	Varizella-zoster-Virus (VZV)
Zoster (Rezidiv)	VZV
Hand-Fuß-Mund-Krankheit	Coxsackie-Virus
Röteln	Rötelnvirus
Masern	Masernvirus
Ringelröteln	Parvovirus B19
Exanthema subitum	Humanes Herpesvirus (HHV) 6, HHV 8
Dellwarzen	Molluscum-contagiosum-Virus (MCV)
Warzen	Verschiedene Papillomaviren

bedingt sein können. So ist bei einer Fistelbildung auf dem Boden einer Osteomyelitis mit dem Nachweis von *Staphylococcus aureus*, bei einer nekrotisierenden Faszitis mit *Streptococcus pyogenes* und einer anaeroben Mischflora und bei einem odontogenen Abszess mit dem Nachweis von *Actinomyces spp.*, Streptokokken, Peptostreptokokken und *Porphyromonas gingivalis* zu rechnen.

8.2.7 Respiratorische Materialien

In der Kultur können typische Erreger unterer Atemwegsinfektionen wie Pneumokokken, *Moraxella catarrhalis*, *Haemophilus influenzae*, Enterobakterien oder *Pseudomonas aeruginosa* gut angezüchtet werden. Der Nachweis in potenziell kontaminierten Materialien korreliert häufig mit der Klinik, die Unterscheidung zwischen Infektion und Kolonisation muss jedoch in der Zusammenschau aller Befunde durch den Kliniker erfolgen.

Beweisend ist hingegen der Nachweis aus primär sterilen Materialien, wie z. B. aus einem Pleurapunktat oder einer Blutkultur. Bei spezifischen Erregern, die physiologischerweise nicht im Respirationstrakt vorkommen, wie beispielsweise *Mycobacterium tuberculosis* oder *Legionella pneumophila*, weist der Nachweis ebenfalls sehr sicher auf eine entsprechende Infektion hin.

■ Mikroskopische Untersuchung von Sputum

Untersuchungen des Sputums sind relativ anfällig gegenüber einer Kontamination durch die Flora des Mund-Rachen-Raums. Daher sollte nur eitriges Sputum zur mikrobiologischen Diagnostik versendet werden. Im Labor wird die Qualität des Sputums mikroskopisch geprüft, sodass hier eine Einordnung der Qualität des eingesendeten Materials möglich ist (■ Tab. 8.7). Enthält die Probe sehr viele Epithelzellen und nur wenige Granulozyten, handelt es sich sehr wahrscheinlich um Speichel. Hier sollte eine erneute Einsendung einer qualitativ hochwertigen Probe erfolgen. Niedrige Granulozytenzahlen kommen

■ **Tab. 8.7** Zytologische Bewertung von Sputumproben: Zellzahlen pro Gesichtsfeld bei einer 100-fachen Vergrößerung, mindestens fünf Gesichtsfelder werden beurteilt. (Adaptiert nach Sommer et al. 2010)

Granulozyten	Plattene-pithelzellen	Bewertung
<10	>25	Ungeeignetes Mate- rial („Speichel“)
10–25	>25	Ungeeignetes Material
<25	<25	Bedingt geeignetes Material, z. B. bei Neutropenie
>25	>25	Bedingt geeignetes Material
>25	10–25	Geeignetes Material
>25	<10	Am besten geeigne- tes Material („eitriges Sputum“)

bei fehlender Immunantwort, z. B. bei Neutropenie, vor. Bei zystischer Fibrose, Legionellose, Tuberkulose, Nokardiose oder Schimmelpilzinfektionen ist die zytologische Untersuchung wenig aussagefähig.

Durch die Gram-Färbung ergibt sich häufig ein erster Verdacht mit Hinweisen zur Ätiologie einer respiratorischen Symptomatik. So sind grampositive Diplokokken typisch für Pneumokokken und kleine pleomorphe gramnegative Stäbchen hinweisend für eine Infektion mit *Haemophilus influenzae*. Eine sichere Diagnostik auf Speziesebene ist jedoch nicht möglich, weshalb die Ergebnisse zurückhaltend interpretiert werden sollten. Das Vorliegen von Schimmelpilzen kann einer Kontamination durch die Umgebungsluft geschuldet oder Korrelat einer Infektion sein.

Tip

Die semiquantitative Angabe der gefundenen Erregergruppe, beispielsweise +, ++, +++, ermöglicht eine weitergehende Interpretation des Befunds.

Die Sensitivität der Sputumuntersuchung bei ambulant erworbenen Pneumonien beträgt 50–60 %, die Spezifität über 80 %. Die Sensitivität kann deutlich auf über 85 % erhöht werden, wenn „gutes Sputum“ untersucht wird.

Andere Färbeverfahren wie die Giemsa-Färbung erleichtern die Diagnose von Pilzen und Protozoen, z. B. bei *Histoplasma* spp. Mithilfe der Toluidinblau- und der Silberfärbung nach Grocott-Gomori können zusätzlich *Pneumocystis jirovecii* nachgewiesen werden. Insbesondere bei Patienten mit einer HIV-Infektion sind mikroskopisch häufig hohe Erregerzahlen zu finden. Bei typischen radiologischen und laborchemischen Veränderungen, z. B. stark erhöhter Laktatdehydrogenase (LDH), ist der Nachweis beweisend. Eine transiente Kolonisation ohne Krankheitswert ist möglich.

■ Mikroskopische Untersuchung von Materialien aus dem unteren Respirationstrakt

Auch bei diesen Proben ist eine mikroskopische Diagnostik bei speziellen Krankheitsbildern wie Verdacht auf Tuberkulose oder *Pneumocystis jirovecii*-Infektion sinnvoll. Eine Zentrifugation des Materials mit anschließender Mikroskopie erlaubt insbesondere bei bronchialen Materialien auch eine weitere differenzialdiagnostische Abklärung. Sie eignet sich zum Ausschluss bzw. der Bestätigung nicht infektiöser Erkrankungen, aber auch zur Unterscheidung zwischen bakteriellen oder viralen Erkrankungen. So gilt ein Anteil von mehr als 20 % Granulozyten als verdächtig für eine bakterielle Infektion. Der Nachweis von über 10 % Lymphozyten spricht hingegen für eine Infektion durch Pilze, Protozoen oder Viren.

■ PCR-Verfahren

Für viele virale Erreger ist die Anwendung von PCR-Verfahren zum Standard für den Nachweis geworden. Bei bakteriell bedingten Infektionen wie Keuchhusten oder Tuberkulose werden Amplifikationsverfahren ebenfalls sehr häufig angewendet und erleichtern die Diagnostik. Im Falle der Tuberkulose kann neben dem raschen Nachweis der Bakterien zudem eine Aussage zum Vorliegen resistenter Stämme getroffen werden. Es sind kommerzielle Systeme verfügbar, die nach Resistenzgenen für Isoniazid und Rifampicin suchen.

Andere Erreger wie *Pneumocystis jirovecii* werden mittels PCR ebenfalls sehr zuverlässig detektiert. Hierbei stellt sich jedoch oft die Frage nach der Relevanz der Befunde. Bei HIV-Patienten lassen sich *P. jirovecii* aufgrund der hohen Erregerzahlen meist problemlos im mikroskopischen Präparat nachweisen. Bei allen anderen Patienten ist der mikroskopische Nachweis häufig nicht zielführend, da deutlich weniger Erreger vorhanden sind, sodass sich mikroskopisch falsch-negative Befunde ergeben. Ist die PCR positiv, muss anhand klinischer, laborchemischer und radiologischer Parameter zwischen Erkrankung und Kolonisation unterschieden werden.

8 Tipp

In jüngster Zeit wurden quantitative Real-Time-PCR-Verfahren entwickelt. Sie helfen, eine Differenzierung zwischen Infektion und Kolonisation vorzunehmen.

8.3 Infektiologische Differenzialdiagnostik

8.3.1 Biochemische Identifizierung

Die Identifizierung mikrobiologischer Isolate erfolgt klassischerweise anhand makroskopischer und mikroskopischer morphologischer Kriterien sowie mit Tests, die gattungsspezifische biochemische Stoffwechseleigenschaften der Erreger überprüfen. Dies kann durch Einzelreaktionen in Reagenzgläsern, durch die Analyse mehrerer Parameter im Mikroformat in einer „bunten Reihe“ oder automatisiert in Analysegeräten erfolgen. Je geringer die Stoffwechselaktivität, desto schwieriger ist die Differenzierung. Als Alternative bieten sich neuere Verfahren an, die Nukleinsäuren mit molekulargenetischen Methoden oder Proteine massenspektrometrisch analysieren und eine Differenzierung der Erreger auch bei geringer Stoffwechselleistung ermöglichen.

8.3.2 MALDI-TOF

Hierbei wird Koloniematerial aus der Kultur von Bakterien oder Pilzen in eine Matrixlösung auf eine Probenplatte aufgetragen. Das Kulturmaterial wird

in einem Hochvakuum von einem Laser explosionsartig verdampft, wobei es zu einer Ionisierung kommt. Die umherfliegenden Teilchen bewegen sich in einem elektrischen Feld abhängig von ihrer Masse unterschiedlich schnell und können massenspektrometrisch analysiert werden („matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry“ = MALDI-TOF). Die unterschiedlichen Massenspektren charakterisieren die Erreger recht genau.

Vorteile:

- Kurze Untersuchungsdauer von wenigen Minuten
- Stoffwechselinaktive Bakterien und Pilze können identifiziert werden
- Schnelle Diagnostik auch direkt aus Materialien möglich, z. B. aus positiv gemeldeten Blutkulturflaschen
- In Studien bereits Nachweis von Resistenzmechanismen möglich
- Geringe Kosten für Verbrauchsmaterialien

Nachteile:

- Viren können nicht differenziert werden
- Derzeit noch hohe Anschaffungskosten für Geräte

8.3.3 PCR-Verfahren

Für Nukleinsäureamplifikationsverfahren (NAT) stehen die unterschiedlichsten technischen Methoden zur Verfügung. Am weitesten verbreitet sind – ebenfalls sehr verschiedene – Polymerasekettenreaktionsverfahren (PCR). Grundsätzlich handelt es sich dabei um hochsensitive Untersuchungsverfahren zur Vervielfältigung von DNA- oder RNA-Abschnitten, die zur Identifikation von Infektionserregern sowie zum Nachweis von Pathogenitäts-, Virulenz- oder Resistenzfaktoren geeignet sind. Grundsätzlich gelten folgende Indikationen (modifiziert nach Reischl et al. 2011):

- Nachweis langsam wachsender bzw. schwer oder nicht anzüchtbarer Erreger, z. B. Bartonellen
- Nachweis von Krankheitserregern, deren konventioneller Nachweis sehr lange dauert, z. B. Tuberkulosedagnostik
- Therapieverlaufskontrolle mit prognostischer Relevanz, z. B. bei HIV, Hepatitis-B-, -C- oder Cytomegalie-Virus

- Klinischer oder ökonomischer Nutzen eines rascheren Erregernachweises für Patienten, Kontaktpersonen bzw. Klinik oder Arzt, z. B. MRSA-Diagnostik
- Erregernachweis unter laufender antiinfektiver Therapie
- Bessere Abschätzung eines Transmissionsrisikos, z. B. vertikale Übertragung von Erregern einer Mutter auf ihr Kind oder bei Nadelstichverletzungen
- Eindeutiger Nachweis von Pathogenitäts-, Virulenz- oder Resistenzgenen bei unklaren phänotypischen Untersuchungsergebnissen, z. B. bei MRSA-, VRE- (Vancomycin-resistente Enterokokken) oder EHEC-Diagnostik
- Typisierung und Vergleich verschiedener Isolate, z. B. bei Ausbrüchen, für kurzfristige lokale oder langfristige mikrobiologisch-epidemiologische Studien.

Wenn bereits erwähnt wurde, dass grundsätzlich die richtige Gewinnung von Materialien entscheidend ist für die Aussagefähigkeit mikrobiologischer Befunde, so gilt dies für molekularbiologische Verfahren in besonderem Maße. Es reichen zwar wenige Erreger(bestandteile) für die Amplifikation aus, was die Methoden zu sehr sensitiven Verfahren macht. Jedoch ist die Gefahr der Kontamination, die zu falsch-positiven Befunden führen können, nicht zu unterschätzen. Die Ursachen falsch-negativer Befunde sind neben Problemen bei der technischen Durchführung häufig in der Präanalytik zu suchen:

- Zu wenig Probenmaterial, insbesondere bei Erregern, die nur in sehr geringer Zahl in klinischen Materialien vorkommen, wie z. B. bei Tuberkulose oder Toxoplasmose im Liquor
- Ungeeignetes Probenmaterial:
 - Formalin, Heparin, Paraffin und andere Zusätze vermindern die Sensitivität zum Teil erheblich, deshalb grundsätzlich natives Material verschicken
 - Wenig repräsentatives Material: Rachenabstrich bei Verdacht auf Pneumonie, Pleurapunktat bei Verdacht auf viral bedingte respiratorische Infektion
- Falsches Material: z. B. Urin bei Verdacht auf *Chlamydia trachomatis*-Infektion, hier ist zellhaltiges Material erforderlich, z. B. ein Endozervikal-, Vaginal- oder Urethralabstrich

- Falsche Probenlagerung, z. B. Einfrieren von flüssigen Materialien: Beim Auftauen können Zellen lysieren und so die Sensitivität beeinträchtigen.

Neben kommerziell erhältlichen, standardisierten Testverfahren sind immer noch viele „In-House-Verfahren“ verbreitet, die im Rahmen einer diagnostischen Anwendung ebenfalls validiert sein sollten. In solchen Situationen sollte ein enger Kontakt mit dem mikrobiologischen Labor bestehen, um die Möglichkeiten und Einschränkungen des jeweiligen Testverfahrens bei der Interpretation und Bewertung der Ergebnisse zu berücksichtigen.

Bei der Typisierung von Mikroorganismen kommen für unterschiedliche Fragestellungen verschiedene Methoden zum Einsatz. Eine Übersicht bieten Mellmann und Harmsen (2009).

8.3.4 Serologie

Serologische Verfahren beruhen auf dem Nachweis von spezifischen Antikörpern oder Erregerantigenen.

Antikörpernachweise

Antikörper werden bei Kontakt mit entsprechenden Antigenen mit einigen Tagen bis Wochen Verzögerung gebildet, sodass sie in vielen Fällen für die akute Diagnostik nicht geeignet sind. Aufgrund der einfachen Materialgewinnung werden Antikörperuntersuchungen jedoch häufig durchgeführt und sind für die Beantwortung spezifischer Fragestellungen auch sehr hilfreich. Grundsätzlich kann beim Nachweis einmalig erhöhter Titer oder eines mindestens vierfachen Titeranstiegs von einem ersten oder erneuten Kontakt mit den Erregern ausgegangen werden. Auch die Antikörperklassen sind, abhängig von der jeweiligen Erkrankung, für die Differenzialdiagnostik von großer Bedeutung. In der Regel werden bei akuten Infektionen IgA oder IgM gebildet. Indikationen für Antikörperuntersuchungen sind:

- Ätiologische Klärung von Infektionen, insbesondere auch nach Abklingen der entsprechenden klinischen Symptome
- Nachweis bzw. Ausschluss von Folgeerkrankungen nach bakteriellen oder viralen Infektionen, z. B. bei reaktiver Arthritis,

Guillain-Barré-Syndrom oder Erythema nodosum

- Klärung epidemiologischer Fragestellungen
- Umgebungsuntersuchungen, z. B. bei Nadelstichverletzungen, Kontakt mit Brucellen im mikrobiologischen Labor.

Antigennachweise

Für die Diagnostik akuter Erkrankungen ist der Antigennachweis gut geeignet. So lassen sich zum einen Erregerbestandteile nachweisen. Zusätzlich besteht jedoch auch die Möglichkeit, bakterielle Toxine nachzuweisen, z. B. bei *C. difficile*. Die Hersteller bieten unterschiedliche Testverfahren an, die von klassischen Antigentests (ELISA/EIA) bis hin zu „Schnelltests“ reichen, die teilweise als **Point-of-Care-Test (POCT)** direkt auf Station, am Krankenbett oder in der Arztpraxis eingesetzt werden können und kein labortechnisches Equipment erfordern. Die am Markt verfügbaren Tests weisen unterschiedliche Sensitivitäten und Spezifitäten auf, was bei der Auswahl berücksichtigt werden sollte. In einigen Fällen konkurrieren sie mit anderen diagnostischen Verfahren wie der PCR oder der kulturellen Anzucht. Für die Anfertigung eines Antibiogramms ist die Kultur erforderlich. Dies gilt auch für epidemiologische Untersuchungen und in Ausbruchssituationen, wenn eine vergleichende Typisierung gewünscht ist.

Antigennachweise sollten nicht zum Screening, sondern zur Diagnostik bei Verdachtsfällen mit hoher klinischer Erkrankungswahrscheinlichkeit eingesetzt werden (■ Tab. 8.8).

- **Beim Nachweis meldepflichtiger Krankheitserreger nach § 7 IfSG ist der Leitende Arzt zur Meldung an das Gesundheitsamt verpflichtet. Dies gilt auch für Nachweise, die mithilfe von Point-of-Care-Tests im Rahmen der klinischen Versorgung in der Klinik bzw. Arztpraxis erfolgen. Praktisch relevante Beispiele sind Tests für Influenza oder Legionellen.**

Antigennachweise im Urin

Einige mikrobielle Antigene werden über den Urin ausgeschieden, sodass sie dort nachgewiesen werden können. Am häufigsten werden Tests zum Nachweis von *Legionella*- und Pneumokokken-Antigenen angewandt.

Vorteile:

- Einfache Probengewinnung
- Kurze Untersuchungsdauer von etwa 15 min
- Antigene über mehrere Tage auch unter Antibiotikatherapie nachweisbar
- Relativ einfache Handhabung, keine Laboraus-rüstung notwendig
- Testkits meist lange haltbar.

■ Tab. 8.8 Übersicht über Antigennachweise

Material	Antigennachweise
Liquor	Meningokokken (A, B, C, W135, Y), Pneumokokken, <i>E. coli</i> K1, <i>Haemophilus influenzae</i> Typ b, Kryptokokken, <i>Aspergillus</i> spp., <i>Candida</i> spp.
Respiratorische Materialien	Pneumokokken, Influenza, <i>Aspergillus</i> spp.
Rachenabstrich	Gruppe-A-Streptokokken (GAS), Influenza
Urin	Pneumokokken, <i>Legionella pneumophila</i> Serogruppe 1
Stuhl	<i>Campylobacter</i> spp., <i>E. coli</i> O157 (EHEC), <i>Clostridium difficile</i> (Glutamatdehydrogenase- und Toxinnachweis), <i>Clostridium-perfringens</i> -Enterotoxin, Shigatoxin/Verotoxin, <i>Helicobacter pylori</i> , <i>Entamoeba histolytica/dispar</i> , <i>Giardia lamblia</i> , Kryptosporidien, Norovirus, Rotavirus, Astrovirus, Adenovirus
Serum/Vollblut	<i>Helicobacter pylori</i> , Malaria, <i>Candida</i> spp., <i>Aspergillus</i> spp.

Nachteile:

- Meist teurer als herkömmliche diagnostische Methoden
- Liefern nur qualitative Ergebnisse.

- **Nachweis von *Legionella*-Antigen im Urin**

Das Lipopolysaccharid (LPS) aus der Zellwand der Bakterien ist bereits 24 h nach Infektion nachweisbar und wird über Wochen ausgeschieden. Aufgrund der langfristigen Ausscheidung ist der Test nicht zur Therapiekontrolle geeignet. Da das Antigen bei anderen Bakterien nicht vorhanden ist, ergibt sich für alle kommerziell erhältlichen Tests eine hohe Spezifität von über 99,9 %. In den meisten Tests werden jedoch nur Antikörper gegen *L. pneumophila* Serogruppe 1 verwendet, sodass für Infektionen mit dieser Serogruppe eine hohe Sensitivität von 80 % bis zu über 97 % besteht. Kreuzreaktionen zu anderen Serogruppen kommen gelegentlich vor, weisen jedoch eine niedrige Sensitivität auf. Ein Nachweis von Infektionen durch Non-pneumophila-Spezies ist nicht möglich.

- **Tests zum Nachweis von *Legionella*-Antigen im Urin sind nur zur Diagnostik von Infektionen durch *L. pneumophila* Serogruppe 1 geeignet. Sie verursachen mehr als 85 % der ambulant erworbenen und über 95 % der reiseassoziierten Erkrankungen.**

Nosokomiale Infektionen hingegen sind zur Hälfte durch andere Serogruppen bedingt, daher sollten in diesem Fall zusätzliche diagnostische Methoden wie kulturelle und PCR-Verfahren aus respiratorischen Proben veranlasst werden. Eine kulturelle Anzucht ist auch bei epidemiologischen Fragestellungen und gehäuftem Auftreten von Erkrankungen sinnvoll.

Der Nachweis des *Legionella*-Antigens im Urin ist beweisend für eine Legionellenerkrankung. Der Test kann jedoch nicht nur bei einer Legionellenpneumonie, sondern auch in Fällen von Pontiac-Fieber positiv sein. Da die Antigenausscheidung variiert, ist eine Legionellose bei einem negativen Testergebnis nicht ausgeschlossen. Bei anhaltendem klinischem Verdacht sollte die Untersuchung daher wiederholt werden.

Der Nachweis von *Legionella*-Antigen im Urin ist nach § 7 Infektionsschutzgesetz meldepflichtig.

- **Nachweis von Pneumokokkenantigen im Urin**

Das C-Polysaccharid von *Streptococcus pneumoniae* wird, vor allem bei bakteriämischen Erkrankungsverläufen, im Urin ausgeschieden. Es sind auch Testkits verfügbar, die den Nachweis von Pneumokokken in Liquor, nasopharyngealen Sekreten oder Pleuraflüssigkeiten ermöglichen.

Der Test ist als zusätzliches, schnelles diagnostisches Verfahren bei der Diagnose der ambulant erworbenen Pneumonie von Erwachsenen sinnvoll, wird jedoch in den S3-Leitlinien zur ambulant erworbenen Pneumonie (CAP) und zur nosokomialen Pneumonie nicht als Routinediagnostik empfohlen, da Pneumokokken im Spektrum der antibiotischen Therapie enthalten sind (Höffken et al. 2009; Dalhoff et al. 2012). Kinder und Kleinkinder sind in bis zu 20 % Pneumokokkenträger, daher sind Urinantigentests bei ihnen häufig falsch-positiv.

Die Sensitivität beträgt 50–80 %, die Spezifität liegt bei über 90 %. Der Test ist damit als alleiniges Verfahren ungeeignet und sollte durch kulturelle Untersuchungen von respiratorischen Materialien und Blutkulturen ergänzt werden. Dies ist auch sinnvoll, um eine Resistenztestung durchführen zu können, da die Verbreitung Penicillin-resistenter Stämme zunimmt.

Ein positiver Befund kann zur Fokussierung der antibiotischen Therapie beitragen, wobei die Möglichkeit falsch-positiver Befunde und polymikrobieller Infektionen zu bedenken sind. Auf der anderen Seite schließt ein negativer Test eine Pneumokokkenpneumonie nicht aus und sollte daher bei weiter bestehendem klinischen Verdacht ggf. wiederholt bzw. durch weitere Untersuchungen ergänzt werden.

8.3.5 Biomarker

Die Diagnostik entzündlicher Prozesse umfasst die Analyse der Leukozytenzahl und des Differenzialblutbilds, der Blutkörperchengeschwindigkeit und bei Vorliegen septischer Erkrankungen die Analyse von Parametern der Gerinnungsaktivierung

und Fibrinolyse. Darüber hinaus hat sich eine Reihe von Biomarkern zur Diagnostik mikrobieller Erkrankungen etabliert.

C-reaktives Protein

Das C-reaktive Protein (CRP) ist ein Akute-Phase-Protein, dessen Plasmakonzentrationen bei systemischen Entzündungsreaktionen durch proinflammatorische Zytokine wie Interleukin-6 (IL-6) stimuliert wird. Es wird in der Leber synthetisiert und gelangt über das Plasma zum Ort der Entzündung. Dort nimmt es als Teil des angeborenen Immunsystems an der Immunabwehr teil. Es kann potenziell toxisches Material aus Gewebeschädigungen oder Strukturen von Mikroorganismen binden. Anschließend wird deren Abräumung veranlasst.

Die CRP-Konzentrationen steigen im Rahmen von infektiösen Prozessen, aber auch bei Gewebeschädigungen wie z. B. operativen Eingriffen, bei malignen Tumoren oder malignen Systemerkrankungen sowie bei einigen Autoimmunerkrankungen an.

Der Referenzwert des CRP liegt bei <5 mg/l und steigt innerhalb von 6 h nach Beginn der Infektion an. Der Maximalwert ist nach operativen Eingriffen meist nach 48 h erreicht und fällt dann mit einer Halbwertszeit von 24–48 h wieder ab. Bei Infektionskrankheiten können die Werte ohne adäquate Therapie für Tage bis Wochen erhöht sein. Je nach Infektionserreger bzw. Krankheitsverlauf werden unterschiedliche typische CRP-Anstiege beobachtet (■ Tab. 8.9).

Das CRP eignet sich auch zur Beurteilung der Effektivität einer antiinfektiven Therapie. Unter einer adäquaten Therapie fallen die Werte innerhalb von 3 Tagen wieder ab. Grundsätzlich können die in ■ Tab. 8.10 dargestellten Muster unterschieden.

Procalcitonin

Procalcitonin (PCT) wird als Vorstufe des Calcitonins in allen Körpergeweben, vor allem jedoch in der Leber produziert. Es ist unter physiologischen Bedingungen nur in geringen Konzentrationen im Serum nachweisbar ($0,005$ – $0,05$ µg/l). Als Referenzbereich werden Werte $<0,5$ µg/l angegeben. Bei mikrobiellen Infektionen erfolgt eine verstärkte Freisetzung

durch bakterielle Antigene wie Endotoxin oder in geringerem Umfang auch durch proinflammatorische Zytokine wie IL-6 oder TNF- α . Dabei korrelieren die gemessenen Werte mit der Schwere der Erkrankung:

- Lokalisierte Erkrankungen $<0,5$ µg/l
- Sepsis ohne Organdysfunktion $0,5$ – 2 µg/l
- Sepsis mit Organfunktion 2 – 10 µg/l, in Einzelfällen über 1000 µg/l

Bei nicht bakteriellen Erkrankungen (virale Infektionen, Autoimmunerkrankungen, Transplantatabstoßung) bleiben die Werte innerhalb des Referenzbereichs oder steigen mit Werten zwischen $0,5$ und 2 µg/l deutlich weniger an.

➤ **Sehr schwere nicht infektiöse Erkrankungen wie Verbrennungen, ausgedehnte Operationen, ein Polytrauma oder ein prolongierter Kreislaufchock können ebenfalls zu erhöhten Werten führen.**

Es muss zudem bedacht werden, dass die Werte im Verlauf dieser Erkrankungen durch bakterielle Superinfektionen deutlich ansteigen können.

Procalcitonin steigt bereits 2 h nach Infektion messbar an und erreicht nach etwa 12 h ein Plateau. Unter adäquater Therapie normalisieren sich die Werte innerhalb von 2–3 Tagen. Damit ist das PCT im Vergleich zum CRP deutlich früher nachweisbar und fällt unter Therapie auch schneller ab. Es ist als Parameter zur Diagnostik der Sepsis oder anderer schwerer bakterieller Infektionen und zur therapeutischen Überwachung gut geeignet. Es ist auch als prognostischer Marker bei einer Sepsis von Bedeutung, da bei anhaltend hohen Werten mit einem ungünstigen Verlauf zu rechnen ist.

Bei schweren Erkrankungen wie Sepsis oder ventilatorassoziierter Pneumonie ist die diagnostische Sensitivität von PCT in Studien eher gering. Hier zeigt sich der Wert **serieller PCT-Bestimmungen** vor allem darin, anhand PCT-basierter Algorithmen die antibiotische Therapie frühzeitig bei Normalisierung (z. B. $<0,5$ µg/l) bzw. starkem Rückgang (z. B. ≥ 80 %) der Werte zu beenden. Dadurch kann die Exposition der Patienten gegenüber Antibiotika deutlich vermindert werden, ohne dass Veränderungen im Outcome bzw. bei der Mortalität beobachtet werden

■ **Tab. 8.9** Typische CRP-Werte bei unterschiedlichen klinischen Erkrankungen. (Adaptiert nach Thomas 2008)

Erkrankung	Typische CRP-Werte
Bakterielle Infektionen	Endotoxine gramnegativer Bakterien rufen die höchsten CRP-Werte hervor CRP > 100 mg/l bei Sepsis, septischer Arthritis, Meningitis, Pyelonephritis, Pneumonie, eitrigen Hautinfektionen CRP 20–100 mg/l bei Bronchiektasien, akuter Bronchitis, Tuberkulose
Virale Infektionen	Erregerabhängig, 10–50 (–100) mg/l
Parasitäre Infektionen	Erregerabhängig, 10–40 mg/l
Pilzinfektionen	Lokale Infektionen: kein Anstieg Systemische Infektionen, v. a. bei neutropenen Patienten: > 100 mg/l
Sepsis	CRP als einziger diagnostischer Parameter schwierig, laut Studien ergeben sich: Grenzwert 50 mg/l: diagnostische Sensitivität 98,5 %, Spezifität 75 % Grenzwert 79 mg/l: Sensitivität 71,8 %, Spezifität 66,6 %
Neonatale Sepsis	CRP ist nicht plazentagängig Diagnostische Sensitivität für neonatale Sepsis mit 33–44 % niedrig, Spezifität 90–96 %; es sollten weitere Parameter erhoben werden (Interleukin-6, Procalcitonin)
Fieber bei Kindern	Abgrenzung viraler und bakterieller Infektionen Kinder mit Krankheitsverlauf > 12 h und CRP > 40 mg/l: diagnostische Sensitivität 79 %, Spezifität 90 % Vergleich Blutsenkungsgeschwindigkeit > 30 mm/h: Sensitivität 91 %, Spezifität 89 % CRP-Werte < 40 mg/l schließen schwere bakterielle Infektionen weitgehend aus
Meningitis	Bakterielle Meningitis: > 20 mg/l verdächtig, > 100 mg/l beweisend Tuberkulöse Meningitis: 20–50 mg/l Virale Meningitis: im Referenzbereich oder gering erhöht (< 20 mg/l)
Pneumonie	Bakteriell: > 100 mg/l Viral: 10–50 mg/l
Appendizitis	Grenzwert 10 mg/l: diagnostische Sensitivität 68,2 %, Spezifität 75,1 % Vergleich Leukozytengrenzwert $6,3 \times 10^9/l$: Sensitivität 87,2 %, Spezifität 63 %

■ **Tab. 8.10** Typische CRP-Muster unter Therapie. (Adaptiert nach Povoia 2002)

Einfache Infektion	CRP fällt nach Antibiotikagabe steil oder exponentiell ab. Bei fokaler Infektion, Bakteriämie
Suppurative Infektion	CRP fällt nach Antibiotikagabe erst verzögert ab. Bei eitrigen Infektionen wie Ergüssen, eitriger Bronchitis, schweren nicht infektiösen Erkrankungen oder inadäquater Antibiotikatherapie, wie z. B. zu niedriger Dosierung. Bei diesem Verlauf sollte immer nach einer persistierenden Infektion gesucht werden.
Komplizierte Infektion	CRP fällt nach Antibiotikagabe nicht ab oder steigt weiter an. Bei Gabe eines ineffektiven Antibiotikums, Vorliegen chirurgischer Komplikationen oder schweren nicht infektiösen Erkrankungen.
Rekurrierende Infektion	Zweigipfliger Verlauf: CRP steigt nach initialem Abfall unter Antibiotikatherapie noch einmal an. Bei erneuter Infektion an der gleichen Lokalisation oder neuer Infektion.

(Bouadma et al. 2010; Nobre et al. 2008; Albrich et al. 2015). Da der Gebrauch von Antibiotika als starker Trigger für die Entwicklung (multi)resistenter Bakterien gilt, ist dies ist aus krankenhaushygienischer Sicht sehr positiv zu werten.

PCT-basierte Algorithmen haben sich auch bei Infektionen der unteren Atemwege als sehr hilfreich erwiesen. Sie sind hier sowohl bei der Indikationsstellung als auch bei der Beendigung einer Antibiotikatherapie sinnvoll einsetzbar. Auch hier zeigen erste Studien, dass es zu einer Reduktion der Antibiotikaawendung kommt, ohne dass Mortalität und Outcome sich verschlechtern (Schuetz et al. 2012).

Lipopolysaccharid-bindendes Protein

Das Lipopolysaccharid-bindende Protein (LBP) bindet den Lipid-A-Anteil des Lipopolysaccharids gramnegativer Bakterien. Erhöhte Werte finden sich bei bakterieller Sepsis und Pilzsepsis, aber auch bei schweren Traumata, nicht jedoch bei viralen Infektionen. Die Kinetik entspricht der des CRP.

Proinflammatorische Zytokine

Die proinflammatorischen Zytokine Tumornekrosefaktor- α (TNF- α), Interleukin-6 (IL-6) und Interleukin-8 (IL-8) sind sehr frühe Marker für Entzündungsreaktionen. Sie sind diagnostisch wertvoll bei frühen Verlaufsformen einer Sepsis oder eines „systemic inflammatory response syndrome“ (SIRS) und werden sehr oft auch in der Labordiagnostik einer **schweren neonatalen Infektion** angewandt.

TNF- α ist der früheste Marker eines Entzündungsprozesses, wobei eine weitere Differenzierung bezüglich der Ätiologie nicht möglich ist. Es werden Gesamt-TNF- α sowie ein freies bioaktives TNF- α -Trimer nachgewiesen. Letzteres ist nur 4–6 h nach Produktion nachweisbar. Die Monomere und Spaltprodukte lassen sich hingegen für 24 h und länger nachweisen, sodass eine Beurteilung des zeitlichen Verlaufs möglich ist.

IL-6 und IL-8 werden innerhalb von 6 h nach TNF- α -Stimulation bzw. Kontakt mit Bakterien oder Bakterientoxinen von Monozyten/Makrophagen sezerniert. Nach 24–48 h nimmt die Sekretion bis unter die Nachweisgrenze ab.

Die Referenzwerte sind abhängig vom Testsystem. Eine Übersicht bietet **Tab. 8.11**.

8.4 Resistenzen und ihre Bewertung

8.4.1 Natürliche und erworbene Resistenzen

Bei der Betrachtung von Antibiogrammen und Resistenzstatistiken ist die Kenntnis und Analyse intrinsischer und möglicherweise erworbener Resistenzen wichtig. **Primäre Resistenzen** bestehen aufgrund des Zellaufbaus oder der genetischen Ausstattung der Mikroorganismen. Solche primären Resistenzen auf Antibiotika werden in aller Regel in mikrobiologischen Befunden nicht aufgeführt; sie müssen dem Anwender also bekannt sein. So wird Vancomycin bei gramnegativen Bakterien nicht getestet, da es die Polymerisierung der Mureinstränge hemmt, die ausschließlich bei grampositiven Bakterien von Bedeutung ist. Eine Übersicht der wichtigsten intrinsischen Resistenzen zeigt **Tab. 8.12**.

Erworbene Resistenzen beruhen in der Regel auf einem der folgenden Mechanismen und werden im Antibiogramm mitgeteilt:

- Veränderung von Zielmolekülen, z. B. verändertes Penicillinbindeprotein PBP2a bei MRSA
- Überproduktion von Zielmolekülen, sodass die Antibiotikakonzentration am Wirkort nicht ausreicht, um Mikroorganismen in ausreichender Zahl abzutöten, z. B. bei Folsäureantagonisten
- Inaktivierung durch Enzyme, z. B. Betalaktamasen, mit unterschiedlichem Wirkspektrum (u. a. Penicillinasen, Cephalosporinasen,

Tab. 8.11 Allgemeine Referenzwerte für Zytokine in Serum oder Plasma

Zytokin	Referenzwert [pg/ml]
Gesamt-TNF- α	<20
Bioaktives TNF- α (Trimer)	<5
IL-6	<10
IL-8	<10

■ **Tab. 8.12** Übersicht über intrinsische Resistenzen. (Adaptiert nach Livermore et al. 2001)

Erreger	Natürliche Resistenzen
Enterobakterien	Penicillin G, Glykopeptide, Fusidinsäure, Makrolide, Clindamycin, Linezolid, Daptomycin, Mupirocin
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Ampicillin, Amoxicillin, Cephalosporine der 1. Generation, Ertapenem
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ampicillin, Amoxicillin, Amoxicillin-Clavulansäure, Cephalosporine der 1. und 2. Generation, Cefotaxim, Ceftriaxon, Nalidixinsäure, Trimethoprim, Tigecyclin, Ertapenem
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Aminoglykoside, alle Betalaktamantibiotika mit Ausnahme von Ticarcillin-Clavulansäure
<i>Salmonella</i> spp.	Cefuroxim (ggf. in vitro wirksam, nicht wirksam in vivo)
<i>Klebsiella</i> spp., <i>Citrobacter diversus</i>	Ampicillin, Amoxicillin, Carbenicillin, Ticarcillin
<i>Enterobacter</i> spp., <i>Citrobacter freundii</i>	Ampicillin, Amoxicillin, Amoxicillin-Clavulansäure, Cephalosporine der 1. Generation, Cefoxitin
<i>Morganella morganii</i>	Ampicillin, Amoxicillin, Amoxicillin-Clavulansäure, Cephalosporine der 1. Generation, Cefuroxim, Colistin, Nitrofurantoin
<i>Providencia</i> spp.	Ampicillin, Amoxicillin, Amoxicillin-Clavulansäure, Cephalosporine der 1. Generation, Cefuroxim, Gentamicin, Netilmicin, Tobramycin, Colistin, Nitrofurantoin
<i>Proteus mirabilis</i>	Colistin, Nitrofurantoin
<i>Proteus vulgaris</i>	Ampicillin, Amoxicillin, Cefuroxim, Colistin, Nitrofurantoin
<i>Serratia</i> spp.	Ampicillin, Amoxicillin, Amoxicillin-Clavulansäure, Cephalosporine der 1. Generation, Cefuroxim
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Ampicillin, Amoxicillin, Carbenicillin, Ticarcillin, Cephalosporine der 1. Generation
<i>Campylobacter jejuni</i> , <i>C. coli</i>	Trimethoprim, Polymyxin
<i>Haemophilus influenzae</i>	Penicillin G, Erythromycin, Clindamycin
<i>Moraxella catarrhalis</i>	Trimethoprim
Alle grampositiven Bakterien	Aztreonam, Temocillin, Colistin, Nalidixinsäure
Streptokokken	Fusidinsäure, Aminoglykoside (wirksam über Synergismus mit Penicillinen)
MRSA/MRSE	Alle Betalaktamantibiotika
Enterokokken	Penicillin G, Carbenicillin, Ticarcillin, Cephalosporine mit Ausnahme der Gruppe 5 (Ceftobiprol, Ceftarolin), Aminoglykoside
Listerien	Cephalosporine der 3. Generation, Fluorchinolone

MRSA methicillinresistenter *Staphylococcus aureus*, MRSE methicillinresistenter *Staphylococcus epidermidis*

- „extended-spectrum betalactamase“ [ESBL], Carbapenemasen)
- Änderungen der Permeabilität der Zellhülle, z. B. Imipenemresistenz von *Pseudomonas aeruginosa* durch Veränderungen im Porinkanal
- Effluxpumpen: verstärkte Ausschleusung von Antibiotika, z. B. von Tetrazyklinen aus Enterobakterien
- Umgehung von Stoffwechselwegen, z. B. bei Folsäureantagonisten

■ **Tab. 8.13** Ungewöhnliche Resistenzen, die einer Bestätigung bedürfen oder von klinischer Relevanz sind. (Angepasst nach Livermore et al. 2001)

Erreger	Ungewöhnliche Resistenzen, die eine Bestätigung erfordern	Zusätzliche, klinisch bedeutsame Resistenzen
<i>Staphylococcus aureus</i>	Vancomycin, Teicoplanin, Linezolid, Daptomycin, Tigecyclin	Oxacillin, Cefazolin, Cotrimoxazol, Erythromycin, Clindamycin, Ciprofloxacin, Rifampicin, Fosfomycin, Fusidinsäure
Koagulasenegative Staphylokokken	Vancomycin, Linezolid	Oxacillin, Cefazolin, Cotrimoxazol, Erythromycin, Clindamycin, Ciprofloxacin, Rifampicin
Coryneforme der <i>Jeikeium</i> -Gruppe	Vancomycin, Teicoplanin, Linezolid	–
Andere <i>Corynebacterium</i> spp.	–	Vancomycin, Linezolid, Penicilline, Cephalosporine, Erythromycin, Gentamicin, Tetrazykline, Rifampicin, Daptomycin
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Meropenem, Vancomycin, Teicoplanin, Linezolid	Penicillin, Erythromycin, Clindamycin
β-hämolisierende Streptokokken der Gruppen A, B, C und G	Penicillin, Vancomycin, Teicoplanin, Linezolid	Erythromycin, Clindamycin
Enterokokken	Ampicillin (nur bei <i>E. faecalis</i>); Linezolid; Teicoplanin, wenn Vancomycin sensibel getestet wurde	Aminoglykoside (High-Level-Resistenz)
Enterobakterien	Meropenem, Imipenem (nicht bei <i>Proteus</i> spp.)	Piperacillin, Piperacillin-Tazobactam, Cephalosporine der 3. und 4. Generation, Ciprofloxacin, Levofloxacin, Cotrimoxazol, Tigecyclin
<i>Haemophilus influenzae</i>	Cephalosporine der 3. Generation, Carbapeneme	–
<i>Moraxella catarrhalis</i>	Ciprofloxacin	–
<i>Neisseria meningitidis</i>	Penicillin (High-Level-Resistenz), Ciprofloxacin	–
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Cephalosporine der 3. Generation	–
<i>Acinetobacter</i> spp.	Colistin	Cephalosporine der 3. Generation,
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Colistin	Piperacillin, Piperacillin-Tazobactam, Ceftazidim, Cefepim, Ciprofloxacin, Meropenem
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	–	Cotrimoxazol
<i>Shigella</i> spp., <i>Salmonella</i> spp.	–	Cephalosporine der 3. Generation, Ciprofloxacin, Levofloxacin
<i>Campylobacter</i> spp.	–	Erythromycin, Ciprofloxacin, Levofloxacin, Amoxicillin, Tetrazykline
<i>Bacillus</i> spp.	–	Betalaktamantibiotika
Anaerobier	Metronidazol	Clindamycin
<i>Bacteroides</i> spp.	Metronidazol, Amoxicillin-Clavulansäure, Carbapeneme	Penicillin G, Ampicillin, Amoxicillin-Clavulansäure, Piperacillin, Piperacillin-Tazobactam, Cephalosporine der 1. bis 3. Generation, Carbapeneme
<i>Clostridium difficile</i>	Metronidazol, Vancomycin	Moxifloxacin (Ribotyp 027)
<i>Candida albicans</i>	–	Fluconazol, Flucytosin
<i>Candida</i> spp. non-albicans	–	Azole, Flucytosin
<i>Pneumocystis jirovecii</i>	–	Cotrimoxazol

Viele solcher sekundären Resistenzen sind bekannt und plausibel erklärbar, sodass beispielsweise beim Auftreten einer Chinolonresistenz bei *E. coli* oder bei Penicillinresistenz von *S. aureus* keine weiteren diagnostischen Schritte erforderlich sind.

In einigen Fällen ist jedoch eine erweiterte, z. B. genotypische Untersuchung notwendig, beispielsweise bei Verdacht auf MRSA oder VRE. Die sekundäre Resistenzlage muss bei jedem einzelnen Antibiogramm berücksichtigt und sollte in regelmäßigen Abständen auch als Resistenzstatistik vom mikrobiologischen Labor zur Verfügung gestellt werden. Diese muss dann von den Verantwortlichen, z. B. den hygienebeauftragten Ärzten, in Zusammenarbeit mit der Apotheke und dem mikrobiologischen Labor kritisch bewertet werden. Hierzu gehört notwendigerweise der Abgleich mit dem Antibiotikaverbrauch in den einzelnen Abteilungen sowie den in der Einrichtung etablierten empirischen Therapieempfehlungen. Treten Veränderungen in einem der genannten Bereiche auf, müssen entsprechende Anpassungen erfolgen, dem Personal mitgeteilt und umgesetzt werden (§ 23 Abs. 4 Infektionsschutzgesetz [IfSG] vom 20.07.2000, zuletzt geändert am 10.12.2015).

Für die Bewertung der Antibiotikaresistenzen sowohl im Einzelbefund als auch in der Resistenzstatistik sind die in **Tab. 8.13** dargestellten erworbenen Resistenzen von besonderer klinischer Bedeutung. Daneben gibt es seltene Resistenzen, die immer Anlass für weitere Bestätigungsuntersuchungen sein sollten.

➤ **Intrinsische (natürliche) Resistenzen müssen dem Kliniker bekannt sein. Sekundäre (erworbene) Resistenzen werden im Rahmen der Resistenztestung im mikrobiologischen Labor erhoben und auf dem Befund mitgeteilt. Sie sollten für jeden Einzelbefund, aber auch in der Resistenzstatistik kritisch bewertet werden.**

8.5 Umgebungsuntersuchungen

Wir sind umgeben von Mikroorganismen. Sie kommen auf belebten und unbelebten Oberflächen vor. Ungezielte, routinemäßige mikrobiologische

Untersuchungen von Oberflächen ergeben selten verwertbare Ergebnisse. Sinnvoll können jedoch gezielte Untersuchungen unter spezifischen Fragestellungen sein:

- Zur Untersuchung der Effektivität von Reinigungs- und Desinfektionsprozessen, z. B. in der Küche
- Zu didaktischen Zwecken, z. B. bei der Händehygiene
- Zur Prozesskontrolle bei der Durchführung aseptischer Tätigkeiten, z. B. bei der Herstellung steriler Medikamente wie Zytostatika oder parenteralen Ernährungslösungen
- Im Rahmen von Ausbruchsuntersuchungen, z. B. bei gehäuften Auftreten von multiresistenten Erregern in einem Bereich.

Zum Einsatz kommen verschiedene Verfahren, von denen Abklatschuntersuchungen am weitesten verbreitet sind.

- **Abklatsch:** Rodac-Platten mit Agar werden gleichmäßig und unter leichtem Druck für etwa 5–10 s auf die zu untersuchende Oberfläche aufgebracht. Die Fläche beträgt ca. 24 cm², ein Verreiben oder Verstreichen der Platten während der Probenahme sollte vermieden werden. Dies ermöglicht eine quantitative Analyse.
- **Membranfilter:** Ein Membranfilter wird mit sterilen Handschuhen bzw. steriler Pinzette auf die zu untersuchende Oberfläche aufgebracht und anschließend auf eine Agarplatte gelegt und bebrütet. Meist kommt der Membranfilter jedoch zur Filtrierung von Trinkwasserproben nach Trinkwasserverordnung (TrinkwV) im Labor zum Einsatz.
- **Abstrich:** Ecken, Kanten und Fugen sind für Rodac-Platten in der Regel unzugänglich. Hier bietet sich ein Abstrich mit einem mit Kochsalz oder Nährbouillon angefeuchteten Tupfer aus Kunststoff an, der anschließend auf einer Agarplatte oder in ein flüssiges Nährmedium ausgebracht wird.
- **Flüssigmedien:** Gegenstände werden in Nährbouillon eingebracht und kultiviert. Eine semiquantitative Auswertung ist durch das Ausplattieren von Verdünnungen möglich.

- Abschwemmen: Gegenstände werden in physiologischer Kochsalzlösung oder Nährbouillon geschüttelt und die Lösung untersucht.

Bei Proben von Oberflächen, auf denen noch Desinfektionsmittel vorhanden sind, z. B. nach erfolgter Händedesinfektion, sollten Enthemmer zugegeben werden, welche die Reste des Desinfektionsmittels neutralisieren.

Tipp

Da es Enthemmer für die Neutralisation unterschiedlichster Substanzen gibt, sollte vorab mit dem Labor geklärt werden, welcher Enthemmer in einer bestimmten Situation erforderlich ist.

8

■ Bewertung der Ergebnisse

Grundsätzlich sind alle Keimnachweise im Hinblick auf die spezifische Fragestellung zu bewerten. Allgemeingültige Grenz und Richtwerte für mikrobielle Oberflächenkontaminationen existieren nicht. Für die Herstellung parenteraler Medikamente unter Reinraumbedingungen gelten die Vorgaben der europäischen Leitlinie für Good Manufacturing Practice (GMP) des Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme (PIC/S) (2015; <http://www.picscheme.org/>) bzw. der EU-Richtlinie 2003/94/EG (http://ec.europa.eu/health/documents/eudralex/vol-4/index_en.htm). Als Anhaltspunkt bei der Interpretation der Untersuchungsbefunde von belebten und unbelebten Oberflächen im Krankenhaus kann die Checkliste der Vereinigung der Hygienefachkräfte der Bundesrepublik Deutschland e.V. dienen (VHD 2005). Wichtiger als absolute Keimzahlen sind relative Veränderungen, die bei wiederholten Messungen auftreten, z. B. nach Änderung des Reinigungsmanagements oder nach einer Schulung zur Händehygiene.

Desinfizierte Oberflächen sind bereits nach 2 h wieder mit der gleichen Anzahl an Mikroorganismen besiedelt wie vor der Desinfektion. Allerdings lässt der Nachweis von Umgebungskeimen in hoher

Keimzahl unmittelbar nach der Reinigung oder Desinfektion auf eine unzureichende Reinigung schließen. Fakultativ oder obligat pathogene Keime und typische Krankenhauserreger wie *S. aureus* (MSSA und MRSA), Enterokokken, Enterobakterien und Nonfermenter wie *P. aeruginosa* und *A. baumannii* sollten immer Anlass zur Überprüfung der Hygienestandards sein.

8.5.1 Luft

Raumluft kann mikrobiell belastet sein, z. B. durch Schimmelpilze. Untersuchungen der Raumluft spielen aber insbesondere bei der Überprüfung raumluftechnischer Anlagen (RLT-Anlage) eine Rolle. Vor deren Durchführung sollte stets eine technische Überprüfung der RLT-Anlage erfolgen, damit gewährleistet ist, dass die Luftfilter dicht sitzen und die Strömungsrichtung (Über- oder Unterdruck) der Anlage korrekt ist.

Partikelzahlmessungen

Die Verwendung von Feinstaub- und Schwebstofffiltern (F5–F9 bzw. H11–H15) garantiert eine Zuluft, die bei regelrechter Funktion der RLT-Anlage sehr keimarm ist. Für eine Funktionsprüfung kommt daher der Partikelmessung eine große Rolle zu. Mikroorganismen sind in der Luft überwiegend an Partikel gebunden. Die Partikelmessung ist technisch einfach zu realisieren und liefert ein Untersuchungsergebnis, das unmittelbar beurteilt werden kann. Für die Überprüfung einer 3-stufigen RLT-Anlage mit endständigem Schwebstofffilter ergeben sich rechnerisch aus den Empfehlungen der DGHM (Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie) unter Berücksichtigung der aktuell gültigen Normen für Luftfilter die in **Tab. 8.14** aufgeführten Grenz- und Richtwerte. Die Messung erfolgt unmittelbar am Zuluftauslass.

Für Anlagen, die nach den Vorgaben der DIN 1946-4:2008-12 geplant und technisch realisiert wurden, ist in der Norm eine maximale Konzentration von 3500 Partikeln $\geq 0,5 \mu\text{m}^3$ Luft vorgesehen. Die Messung erfolgt in Raummitte in 1,2 m Höhe über der Oberkante des Fertigfußbodens (OKFFB).

■ **Tab. 8.14** Luftpartikelkonzentrationen pro m^3 (Partikel $\geq 0,5 \mu\text{m}$). (Adaptiert nach Rüden et al. 1989)

Endständiger Filter	Richtwert	Grenzwert
S-Filter	4000	10.000
R-Filter ^a	40.000	100.000
R-Filter ^b	400.000	1.000.000
H13	6667	16.667
H14	667	1667

^a Durchlassgrad 0,1 % nach DIN 1946-4:1999-03

^b Durchlassgrad 2,0 % nach DIN 24184

Luftkeimzahlmessungen

Bei einer Erhöhung der Partikelzahlen ist davon auszugehen, dass sich vermehrt Mikroorganismen in der Luft befinden, die dann näher quantifiziert werden sollten. Für die Zuluft von RLT-Anlage gelten, gemessen unmittelbar am Luftauslass, für S- und R-Filter und damit auch für die aktuellen H13- und H14-Filter 4 KBE/ m^3 als Richt- und 10 KBE/ m^3 als Grenzwerte (Rüden et al. 1989). Referenzwerte für die allgemeine Beurteilung eines OP-Saals im Ruhezustand, d. h. ohne OP-Betrieb und Personal können ■ [Tab. 8.15](#) entnommen werden.

■ **Tab. 8.15** Bewertung von Luftkeimzahlmessungen. (Adaptiert nach Trautmann et al. 2005)

Art der RLT-Anlage	Luftart	Luftkeimkonzentration [KBE/ m^3]	
		Richtwert	Grenzwert
3 Filterstufen	Raumluft in 1 m Höhe (TAV/„laminar airflow“)	10	100
	Raumluft in 1 m Höhe (konventionell, turbulent)	50	500
2 Filterstufen	Raumluft nahe Zuluftauslass	200	1000
	Raumluft	500	2500

TAV turbulenzarme Verdrängungsströmung

8.5.2 Wasser: Trinkwasser, Badewasser, Dialysat

Trinkwasser

Trinkwasser ist nicht keimfrei, muss jedoch so beschaffen sein, dass eine Gefährdung der Nutzer durch pathogene Keime ausgeschlossen werden kann. In der Trinkwasserverordnung (TrinkwV 2001 in der Bekanntmachung vom 10.03.2016) sind die in ■ [Tab. 8.16](#) dargestellten Grenzwerte festgelegt. Die Entnahme erfolgt nach DIN EN ISO 19458. Die Untersuchung muss mindestens jährlich durchgeführt werden.

Legionellen

Für Trinkwasserinstallationen wurde mit der ersten Änderung der Trinkwasserverordnung im Jahr 2011 erstmals ein technischer Maßnahmenwert von 100 KBE/100 ml *Legionella* spp. eingeführt. Für Hochrisikobereiche in Krankenhäusern gab das Umweltbundesamt 2005 Empfehlungen heraus, die einen Zielwert von 0 KBE/100 ml vorsehen (Umweltbundesamt 2005). Klinisch entscheidend ist in diesen Bereichen jedoch die konsequente Vermeidung des Kontakts mit Trinkwasser, z. B. in der Beatmungspflege oder bei Patienten mit Schluckstörungen und erhöhter Aspirationsgefahr (► [Kap. 22](#) und [25](#)).

■ **Tab. 8.16** Mikrobiologische Anforderungen an das Trinkwasser nach Trinkwasserverordnung 2001 in der Bekanntmachung vom 10.03.2016 in koloniebildenden Einheiten (KBE)

Parameter	Trinkwasser	Trinkwasser zur Abgabe in verschlossenen Behältnissen (z. B. Trinkbrunnen)
Gesamtkeimzahl bei 22 °C	100/ml	100/ml
Gesamtkeimzahl bei 36 °C	100/ml	20/ml
Coliforme Bakterien	0/100 ml	0/250 ml
<i>Escherichia coli</i>	0/100 ml	0/250 ml
Enterokokken	0/100 ml	0/250 ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	–	0/250 ml

Die Untersuchung muss nach ISO 11731 und DIN EN ISO 11731 Teil 2 mindestens jährlich unter Berücksichtigung der Empfehlungen des Umweltbundesamtes (2012) durch akkreditierte Probennehmer und Laboratorien erfolgen.

Badewasser

Neben der Analyse zahlreicher physikalischer und chemischer Parameter muss Badewasser auch mikrobiologisch untersucht werden. Die Anforderungen an Rein- und Beckenwasser sind in einer Norm zur Aufbereitung von Schwimm- und Badebeckenwasser (DIN 19643-1:2012-11) festgelegt (■ [Tab. 8.17](#)).

In Becken, in denen die Temperatur über 23 °C liegt, bzw. wenn Einrichtungen vorhanden sind, bei deren Betrieb Aerosole gebildet werden können, müssen Rein- und Beckenwasser auch auf *Legionella* spp. untersucht werden. Detaillierte Tabellen zur Bewertung unterschiedlicher Legionellenkonzentrationen und zur Einleitung ggf. erforderlicher Maßnahmen sind in DIN 19643-1:2012-11 aufgeführt.

Die Probenahme erfolgt nach DIN EN 19458 und sollte, sofern vom Gesundheitsamt nicht anders festgelegt, in folgenden Abständen durchgeführt werden:

- Becken in geschlossenen Räumen bzw. teilweise im Freien befindliche Becken und Kaltwasserbecken von Saunabetrieben: mindestens monatlich
- Becken im Freien: mindestens 3-mal/ Badesaison, bei schönem Wetter mindestens 2-mal monatlich

Dialysat

Für die Herstellung von Dialyseflüssigkeiten werden entionisiertes Wasser, das in der Regel mithilfe einer Umkehrosmoseanlage hergestellt wird, sowie Bicarbonat und Säurekonzentrate benötigt. Eine mikrobiologische Untersuchung des Reinwassers/Permeats sowie ggf. in Ringleitungssystemen zur Verfügung gestellter Dialysierflüssigkeiten sollte mindestens halbjährlich durchgeführt werden (■ [Tab. 8.18](#)).

■ **Tab. 8.17** Mikrobiologische Anforderungen nach DIN 19643-1:2012-11 an Rein- und Beckenwasser

Parameter	Einheit	Reinwasser Oberer Wert	Beckenwasser Oberer Wert
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	KBE/100 ml	0	0
<i>Escherichia coli</i>	KBE/100 ml	0	0
Koloniezahl bei 36±1 °C	KBE/ml	20	100

■ **Tab. 8.18** Mikrobiologische Anforderungen an Dialysierflüssigkeiten. (Adaptiert nach Trautmann et al. 2005)

Gesamtkeimzahl bei 22±2 °C (Direktansatz)	≤100 KBE/ml
Gramnegative Stäbchen bei 36±1 °C (Membranfiltration)	≤1000 KBE/100 ml
Coliforme Bakterien	0 KBE/100 ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0 KBE/100 ml
Endotoxin im Reinwasser/Permeat	≤0,25 IU/ml

Zusätzliche Untersuchungen sind bei Inbetriebnahme sowie nach technischen Eingriffen an den flüssigkeitsführenden Komponenten erforderlich. Grundsätzlich sollte Endotoxin im Reinwasser/Permeat analysiert werden. Werden am Dialysegerät vom Hersteller validierte Bakterienfilter verwendet, kann auf eine Endotoxinuntersuchung der Dialysierflüssigkeiten verzichtet werden.

Für die Online-Hämodialyse oder Online-Hämodiafiltration sollte ultrareines Wasser verwendet werden. Hierfür gelten nach der Europäischen Pharmakopoe folgende Grenzwerte (Deutsche Arbeitsgemeinschaft für Klinische Nephrologie et al. 2016):

- Gesamtkeimzahl ≤0,1 KBE/ml
- Endotoxin ≤0,03 IU/ml

8.5.3 Medizinproduktaufbereitung: Reinigungs- und Desinfektionsgeräte, Sterilisatoren

Geräte zur Medizinproduktaufbereitung werden in der Regel einer jährlichen technisch-physikalischen Validierung unterzogen. Daneben bestehen Möglichkeiten zur Überprüfung der Reinigungsleistung durch entsprechende Prüfkörper und zur mikrobiologischen Untersuchung mittels Bioindikatoren.

Endoskope

Nach den Vorgaben der KRINKO-Empfehlung zur Aufbereitung von flexiblen Endoskopen (KRINKO

2012) sollen folgende routinemäßigen Untersuchungen durchgeführt werden:

- Reinigungs- und Desinfektionsgerät für Endoskope (RDG-E): jährliche Wartung und Überprüfung der Leistungsqualifikation („technisch-physikalische Validierung“)
- Endoskope: vierteljährliche Überprüfung jedes eingesetzten Endoskops routinemäßig sowie zusätzlich nach Reparaturen. Verfahren:
 - Durchspülen von Endoskopkanälen mit jeweils 20 ml steriler 0,9 %iger NaCl-Lösung pro Kanal (bei noch feuchtem Endoskop unter Zugabe geeigneter Enthemmerlösung zur Inaktivierung von möglicherweise im Endoskop vorhandenen Reinigungs- und Desinfektionslösungen)
 - Abstrich von schwer zugänglichen Stellen am Endoskop, z. B. Distalende oder Albaranhebel, Abstrichtupfer, der mit steriler NaCl-Lösung (0,9 %) befeuchtet wurde
 - Durchziehen eines Schaumstoffstücks durch den Instrumentierkanal („Schwämmchentest“). Der Schwämmchentest sollte vor allem zur optischen Kontrolle des Reinigungsergebnisses herangezogen und nicht als alleinige mikrobiologische Prüfung eingesetzt werden.
 - Eine Untersuchung des Absaugkanals mit Ansaugung der Durchspüllflüssigkeit in ein am Gerätestecker zwischengeschaltetes Tracheal-Absaugset ist optional.

- Eine nicht oder nicht sachgerecht durchgeführte Händedesinfektion ist häufig Ursache von Kontaminationen der Proben mit Hautflora.

Bewertung/Anforderung:

- Quantifizierung: Richtwert ≤1 KBE/ml Flüssigkeitsprobe
- Kein Nachweis von *Escherichia coli*, anderen *Enterobacteriaceae* oder Enterokokken
- Kein Nachweis von *Pseudomonas aeruginosa*, anderen Pseudomonaden oder Nonfermentern
- Kein Nachweis von hygiene relevanten Erregern wie *Staphylococcus aureus*

- Kein Nachweis von vergrünenden Streptokokken bei Endoskopen zur Bronchoskopie und ERCP (endoskopische retrograde Cholangiopankreatikographie)

Reinigungs- und Desinfektionsgeräte

Diese Geräte müssen gemäß DIN EN ISO 15883 jährlich physikalisch-technisch validiert werden. Im Rahmen der Validierung wird die Effektivität der Reinigung mithilfe von Bioindikatoren überprüft. Hierfür werden mit *Enterococcus faecium* und Schafblut beschmutzte Schrauben oder Schläuche verwendet. Die Durchführung und Bewertung erfolgt nach DIN EN ISO 15883-5.

Sterilisatoren

Nach den Vorgaben der KRINKO-Empfehlung „Anforderungen an die Hygiene bei der Aufbereitung von Medizinprodukten“ (2012) muss eine technisch-physikalische Validierung erfolgen, die durch den Einsatz biologischer Indikatoren nach DIN EN ISO 17665 ergänzt werden kann. Eine mikrobiologische Untersuchung wird daher in der Regel nur noch bei speziellen Fragestellungen durchgeführt.

Wäsche

Die desinfizierende Wirkung einer Waschmaschine, mit der Krankenhauswäsche aufbereitet wird, sollte mindestens halbjährlich überprüft werden. Dabei werden je Maschine mindestens 5 mit *Enterococcus faecium* kontaminierte Wäscheläppchen zur Schmutzwäsche gegeben und gewaschen.

Bewertung/Anforderung: Bei allen Proben muss eine Reduktion um mindestens 5 log₁₀-Stufen erfolgen.

Spülmaschinen

Die Reinigungs- und Desinfektionsleistung von Geschirrspülmaschinen sollte mindestens halbjährlich mithilfe von Edelstahlplättchen, die mit Rinderalbumin, Mucin und Maisstärke (RAMS) sowie *Enterococcus faecium* beschichtet sind, überprüft werden.

In DIN 10510 sind für Mehrtanktransport-Geschirrspülmaschinen zusätzlich Abklatschunter-

suchungen mithilfe von Rodac-Platten an mindestens 10 gespülten Spülteilen sowie eine Wasseranalyse des letzten Reinigertanks vor der Frischwasserklarspülung nach mindestens 30 min Betriebszeit vorgesehen. In der Praxis ist die Aussagekraft von Abklatschuntersuchungen deutlich eingeschränkt. Wichtig ist, dass das Spülgut optisch sauber ist und die Maschine regelmäßig gereinigt und nach Herstellerangaben gewartet wird. Da das Geschirr nach der letzten Reinigung mit 80 °C heißem Wasser gespült wird, ist ein Keimnachweis in der letzten Reinigerflotte für die Praxis ebenfalls wenig relevant.

Bewertung/Anforderung:

- Keimreduktion des Prüfkeims um mindestens 5 log₁₀-Stufen
- Abklatschuntersuchungen (Rodac): <5 KBE/10 cm²
- Wasseranalyse: Trinkwasserqualität nach Trinkwasserverordnung

Literatur

- ADR (2015) Europäisches Übereinkommen vom 30. September 1957 über die internationale Beförderung gefährlicher Güter auf der Straße, Anlage zur Bekanntmachung der Neufassung der Anlagen A und B, Verpackungsanweisung P650. BGBl II, S. 504
- Albrich WC, Harbarth S (2015) Pros and cons of using biomarkers versus clinical decisions in start and stop for antibiotics in the critical care setting. *Intensive Care Med* 41(10):1739–1751
- Bouadma L, Luyt CE, Tubach F et al. (2010) Use of procalcitonin to reduce patients' exposure to antibiotics in intensive care units (PRORATA trial): a multicentre randomised controlled trial. *Lancet* 375:463–474
- Dalhoff K, Abele-Horn M, Andreas S et al. (2012) S3-Leitlinie Epidemiologie, Diagnostik und Therapie erwachsener Patienten mit nosokomialer Pneumonie. AWMF-Registernummer 020/013. www.awmf.org/leitlinien/detail/II/020-013.html
- Deutsche Arbeitsgemeinschaft für Klinische Nephrologie, Verband Deutscher Nierenzentren der DDnÄ, Gesellschaft für Pädiatrische Nephrologie (2016) Aktueller Dialysestandard, Fassung vom 23.03.2016. www.dgfn.eu/aerzte/dialysestandard.html
- Ewig S, Höffken G, Kern WV et al. (2016) S3-Leitlinie Behandlung von erwachsenen Patienten mit ambulant erworbener Pneumonie und Prävention – Update 2016. <http://www.awmf.org/leitlinien/detail/II/020-020.html>
- Gatermann S, Fünfstück R, Handrick W et al. (2005) MiQ 2, Harnwegsinfektionen. In: Mauch H, Podbielski A, Herrmann M (Hrsg.) Mikrobiologisch-infektiologische Qualitätsstandards (MiQ). München: Elsevier

- Höffken G, Lorenz J, Kern W et al. (2009) Epidemiologie, Diagnostik, antimikrobielle Therapie und Management von erwachsenen Patienten mit ambulant erworbenen unteren Atemwegsinfektionen sowie ambulant erworbener Pneumonie – Update 2009. *Pneumologie* 63(10):e1–e68.
- Khare R, Espy MJ, Cebelinski E et al. (2014) Comparative Evaluation of Two Commercial Multiplex Panels for Detection of Gastrointestinal Pathogens by Use of Clinical Stool Specimens. *J Clin Microbiol* 52(10): 3667–3673
- Kist M, Ackermann A, Autenrieth IB et al. (2013) MiQ 9 2. Auflage, Gastrointestinale Infektionen. In: Podbielski A, Abele-Horn M, Herrmann M, Kniehl E, Mauch H und Rüssmann H (Hrsg.) Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik im Auftrag der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM), (MiQ). München: Elsevier, Urban & Fischer
- Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) (2011) Anforderungen an die Hygiene bei Punktionen und Injektionen. *Bundesgesundheitsbl* 54: 1135–44
- Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO), Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM) (2012) Anforderungen an die Hygiene bei der Aufbereitung von Medizinprodukten. *Bundesgesundheitsbl* 55: 1244–1310
- Livermore DM, Winstanley TG, Shannon KP (2001) Interpretative reading: recognizing the unusual and inferring resistance mechanisms from resistance phenotypes. *J Antimicrob Chemother* 48, Suppl. S1: 87–102
- Maki DG, Weise CE, Sarafin HW (1977) A Semiquantitative Culture Method for Identifying Intravenous-Catheter-Related Infection. *N Engl J Med* 296: 1305–1309
- Mellmann A, Harmsen D (2009) Molekulare Diagnostik: Typisierung von Mikroorganismen. In: Neumeister B, Geiss HK, Braun RW et al. (Hrsg.) *Mikrobiologische Diagnostik*. Stuttgart: Thieme, S. 247–258
- Nobre V, Harbarth S, Graf JD et al. (2008) Use of Procalcitonin to Shorten Antibiotic Treatment Duration in Septic Patients. *Am J Respir Crit Care Med* 177: 498–505
- Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme (PIC/S) (2009) Guide to Good Manufacturing Practice for Medicinal Products Annexes, PE 009–9 (Annexes). www.picscheme.org
- Povoa P (2002) C-reactive Protein: a valuable marker of sepsis. *Intensive Care Med* 28: 235–243
- Reischl U, Drosten C, Geißdörfer W et al. (2011) MiQ 1, Nukleinsäure-Amplifikationstechniken (NAT). In: Podbielski A, Herrmann M, Kniehl E et al. (Hrsg.) *Mikrobiologisch-infektiologische Qualitätsstandards (MiQ)*. München: Elsevier
- Rüden H et al.; Kommission für Krankenhaus- und Praxishygiene der Sektion Hygiene und Gesundheitswesen (III) der DGHM (1989) *Hygienische Abnahmeprüfung und hygienische Kontrollen nach DIN 1946 Teil 4 Raumlufttechnische Anlagen in Krankenhäusern* (1988). *Bundesgesundheitsbl* (6): 239–241
- Schoerner C, Abele-Horn M, Albert F et al. (2009) MiQ 30, Qualitätsmanagement im Medizinisch-mikrobiologischen Laboratorium. In: Podbielski A, Herrmann M, Kniehl E et al. (Hrsg.) *Mikrobiologisch-infektiologische Qualitätsstandards (MiQ)*. München: Elsevier
- Schuetz P, Müller B, Christ-Crain M et al. (2012) Procalcitonin to initiate or discontinue antibiotics in acute respiratory tract infections. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, Issue 9. Art. No.: CD007498. DOI: [10.1002/14651858.CD007498.pub2](https://doi.org/10.1002/14651858.CD007498.pub2).
- Sommer F, Elias J, Griese M et al. (2010) MiQ 7 und 8, Infektionen der tiefen Atemwege Teil I und II. In: Podbielski A, Herrmann M, Kniehl E et al. (Hrsg.) *Mikrobiologisch-infektiologische Qualitätsstandards (MiQ)*. München: Elsevier
- Thomas L (2008) *Labor und Diagnose*, 7. Aufl. Frankfurt/Main: TH-Books
- Trautmann M, Christiansen B, Häfner H et al. (2005) MiQ 22 und 23, Krankenhaushygienische Untersuchungen. In: Mauch H, Podbielski A, Herrmann M (Hrsg.) *Mikrobiologisch-infektiologische Qualitätsstandards (MiQ)*. München: Elsevier
- Umweltbundesamt (2012) Systemische Untersuchung von Trinkwasserinstallationen auf Legionellen nach Trinkwasserverordnung: Empfehlung des Umweltbundesamtes nach Anhörung der Trinkwasserkommission. www.umweltdaten.de/wasser/themen/trinkwasserkommission/internet-legionellen-empfehlung.pdf
- VHD (Vereinigung der Hygienefachkräfte der Bundesrepublik Deutschland e. V.) (2005) Checkliste hygienerelevanter Umgebungsuntersuchungen. www.die-vhd.de
- Umweltbundesamt (2005) Empfehlungen des Umweltbundesamtes nach Anhörung der Trinkwasserkommission des Bundesministeriums für Gesundheit: Periodische Untersuchung auf Legionellen in zentralen Erwärmanlagen der Hausinstallation. *Bundesgesundheitsbl* 49: 667–700