Das Borrelien-Lymphozytom (ein Pseudolymphom) betrifft häufig Kinder und manifestiert sich an Ohrläppchen (▶ Abb. 1.5a), Mamille (▶ Abb. 1.5b) oder auch am Genitale (▶ Abb. 1.5c). Gelegentlich kommt es zu einer parallelen Manifestation eines Erythema migrans. Unter antiinfektiver Therapie zeigt sich eine rasche klinische Besserung. Gerade bei Erwachsenen triggert die oben geschilderte Klinik jedoch häufig eine Biopsieentnahme.
Eine späte Manifestation der Borreliose ist die Acrodermatitis chronica atrophicans. Das klinische Bild mit lividen, atrophen Hautveränderungen streckseitig und meist unilateral zeigt sich histologisch als diffuses Infiltrat von Plasmazellen, Makrophagen und Lymphozyten. Die PCR auf Borrelien aus der Biopsie kann positiv (je nach Studien in bis zu 30 % der Fälle) sein und sichert dann die Diagnose.

1.2 Grundlagen Erregerdiagnostik

Florian Hitzenbichler

1.2.1 Probengewinnung/ Präanalytik

Frage 21

Was ist bei der Gewinnung von Urin zur mikrobiologischen Diagnostik zu beachten?

Anleitung für den Patienten:
- **Spreizen der Labien**
- **Reinigung Meatus urethrae/Glans penis**
- **Gewinnung von Mittelstrahlurin**

Weiter zu beachten:
- **rascher Probenversand (< 4 h) von Nativurin**
- **Ist ein Versand nicht unmittelbar möglich, so sollte der Urin auf 2–8 °C gekühlt werden (dies muss dem Labor aber mitgeteilt werden).**
- **Alternativen sind Eintauchnährmedien, die bei Raumluft gelagert werden können.**

Nativurin ist immer zu bevorzugen; die Vorteile sind raschere Probenaufarbeitung und Austestung der Erreger, zudem Option der zusätzlichen Mikroskopie.
Die Kass'sche Zahl, wonach an der Konzentration der nachgewiesenen Bakterien die Relevanz der Bakteriurie bekräftigt werden kann, ist umstritten! Auch bei der asymptomatischen Bakteriurie werden über 10^5 CFU/ml Urin gefunden; gleichzeitig kann die Konzentration an Erregern bei einer Zystitis geringer sein! Allerdings gibt es Schwellenwerte, unter denen manche Labore Bakterien nicht mehr angeben und austesten – hier sollte man sich mit den Praktiken im eigenen Labor vertraut machen.

Frage 22

Was ist bei der Gewinnung von Sputum zu beachten?

Proben mit > 25 Granulozyten und < 10–25 Plattenepithelzellen pro Gesichtsfeld bei 100-facher Vergrößerung erfüllen die Qualitätskriterien für eine Sputumkultur; hier ist eine geringe Speichelbeimengung anzunehmen.

Auch Sputum muss rasch verarbeitet werden, da es sonst zu einer Überwucherung der Proben mit anderen Bakterien des Mundmikrobioms kommen kann. In der Literatur wird hier oft eine Grenze von 4 h angegeben.
Folgende Erreger gelten nie als relevante Pathogene: Koagulase-negative Staphylokokken, vergrünende Streptokokken, Enterokokken, Candida sp., Corynebakterien, Haemophilus (außer H. influenzae), Neisserien (außer Meningokokken, diese können auch eine Pneumonie auslösen!).

Frage 23

Was ist bei der Entnahme von Blutkulturen zu beachten? Nennen Sie zudem die Indikationen zur Blutkulturdiagnostik!

- **Die Abnahme von mehreren Blutkulturen aus einer Venenpunktion ist möglich.**
- **Desinfektion der Hände vor Punktion, danach Tragen von Handschuhen empfohlen (müssen nicht steril sein)**
- **Aufsuchen einer geeigneten Vene und gründliche Hautdesinfektion (Desinfektionsmittel auf Alkoholbasis, z. B. 70 % Isopropylalkohol), Einwirkzeit mind. 60 s**
- **Punktion und Abziehen von ausreichend Blut (s. u.)**
- **Entfernung der Schutzkappen der Blutkulturflaschen und Desinfektion der Gummipfropfen; Abimpfen des Blutes (mit neuer Punktionskanüle, Cave: Gefahr der Nadelstichverletzung beim Kanülenwechsel)**

aus: Borde u.a., Facharztprüfung Infektiologie (ISBN 9783132401051) © 2027. Thieme. All rights reserved.

Indikationen:
- **Sepsis, septischer Schock**
- **FUO**
- **V. a. systemische Beteiligung einer lokalen Infektion (Harnwegs-, Knocheninfektion, Abszess, Pneumonie, Meningitis, Katheter-ass. Infektion)**
- **V. a. Endokarditis, sonstige endovaskuläre Infektionen, Typhus/Paratyphus, Brucellose, Fungämie (z. B. Kryptokokkose)**

Die Blutkulturdiagnostik ist der Goldstandard in der Behandlung schwerer Infektionen und muss immer beachtet werden. Dabei steigt die Wahrscheinlichkeit eines Erregernachweises proportional zur entnommenen Blutmenge. I.d.R. werden 8–10 ml Blut/Blutkulturflasche abgeimpft (Herstellerangaben beachten!). Es sollten bei entsprechender Indikation mind. 2, max. 4 Blutkulturflaschenpaare abgenommen werden – möglichst VOR Beginn und vor Wechsel einer antimikrobiellen Therapie.
Ohne eine adäquate Blutkulturdiagnostik ist im weiteren Verlauf eine Optimierung und/oder Deeskalation der antimikrobiellen Therapie oft nicht möglich!

Frage 24

Wie sollte Liquor oder Aszites in die Mikrobiologie verschickt werden?

- **idealerweise in einem sterilen Röhrchen (nativ)**
- **bei Aszites oder Pleuraerguss (nur in Ausnahmefällen oder ergänzend) Beimpfen von Blutkulturflaschen (z. B., wenn Laborversand verzögert)**

V. a. PCR-Untersuchungen (Liquordiagnostik!) sind aus Blutkulturflaschen nicht oder nur sehr eingeschränkt möglich, Nativmaterial ist, wenn möglich, immer zu bevorzugen.

Frage 25

Was ist beim Einsenden von (Gefäß-)Katheterspitzen zu beachten?

- **Eine mikrobiologische Untersuchung von Katheterspitzen sollte nicht routinemäßig erfolgen, sondern nur bei begründetem Verdacht auf eine katheterassoziierte Infektion. Parallel müssen Blutkulturen abgenommen werden.**
- **Desinfektion der Einstichstelle mit Hautdesinfektionsmittel vor dem Zug**
- **Spitze in steriles Röhrchen verbringen (trocken)**
- **eiliger Versand ins Labor**

Es lohnt sich hier, mit dem zuständigen Labor Rücksprache zu halten, wie die Katheterspitze untersucht wird, weil hier verschiedene Möglichkeiten in Betracht kommen (Ultraschallbehandlung, semiquantitative Auswertung, Anzucht in Bouillon).

1.2.2 Klassische Mikrobiologie

Frage 26

Welche Bedeutung hat die Gram-Färbung?

Mittels Gram-Färbung werden Bakterien in gramnegative (rot) Stäbchen oder Kokken und grampositive (blau) Stäbchen oder Kokken unterschieden.

Vorgehensweise: Fixierung – Färbung mit Gentianaviolett – Beizung mit Lugol'scher Lösung – Behandlung mit 96 % Alkohol – Gegenfärbung mit Safranin.
Die Ziehl-Neelsen-Färbung dient dem Nachweis sog. säurefester Bakterien (Mykobakterien), hier findet die Färbung mittels Karbolfuchsin unter Hitze statt, die ein Eindringen des Farbstoffes in die Bakterien erst ermöglicht (weil es zum Aufweichen der Wachse in der Zellwand kommt), die anschließende Behandlung mit Säure kann den Farbstoff nicht entfernen (sie sind „säurefest") und so bleiben die Bakterien im Mikroskop sichtbar. ▶ Tab. 1.2 gibt eine Übersicht über häufige und klinisch relevante grampositive und gramnegative Bakterien (▶ Abb. 1.6).

aus: Borde u.a., Facharztprüfung Infektiologie (ISBN 9783132401051) © 2027. Thieme. All rights reserved.

Tab. 1.2 Übersicht über klinisch relevante grampositive und gramnegative Erreger*.

grampositive Kokken	gramnegative Stäbchen	gramnegative Kokken	grampositive Stäbchen
• Staphylokokken (Haufenkokken) • Streptokokken (Kettenkokken) • Enterokokken (Kettenkokken)	• *Pseudomonas* • Enterobakterien (*E. coli*, Klebsiellen, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Proteus*) • pathogene Darmbakterien (Yersinien, Salmonellen, Shigellen) • Legionellen • Brucellen • *Francisella* • *Bordetella* • *Pasterella*	• Neisserien • *Moraxella*	• Listerien • Corynebakterien • Nokardien • *Lactobacillus* • *Gardnerella* • Propionibakterien • Clostridien

*Die Liste ist nicht vollständig! In der Blutkulturdiagnostik findet man am häufigsten grampositive Kokken und gramnegative Stäbchen.

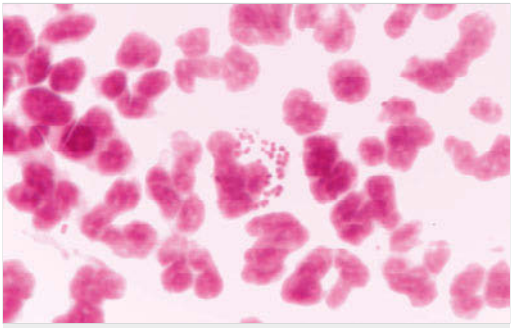


Abb. 1.6 Urethralabstrich, Gramfärbung, 1000×. Darstellung der rotgefärbten, gramnegativen Diplokokken intraleukozytär. (Quelle: Reuter S. Mikroskopisches Abstrichpräparat. In: Fehm T, Rody A, Hadji P, Solomayer E, Hrsg. Referenz Gynäkologie. 1. Auflage. Stuttgart: Thieme; 2021)

Frage 27

Sie erhalten die Nachricht vom Labor, dass in den Blutkulturen eines 78-jährigen Mannes mit Fieber und Z. n. TAVI grampositive Kettenkokken nachgewiesen wurden. An welche Erreger denken Sie primär und welche weiteren grampositiven Kettenkokken kennen Sie?

Enterokokken, Streptokokken und auch Pneumokokken (*S. pneumoniae*).

Pneumokokken imponieren auch oft als grampositive Diplokokken und sind wichtige Erreger der bakteriellen Meningitis und der ambulant erworbenen Pneumonie.

Grampositive Haufenkokken sind Staphylokokken, hier sowohl S. aureus (MSSA und MRSA) als auch Koagulase-negative Staphylokokken (u. a. S. epidermidis, S. capitis, S. hominis etc.).

Frage 28

Was ist PBP2a? Und wann wird es im Labor eingesetzt?

Penicillin-bindende Proteine sind Transpeptidasen (sie katalysieren die Zellwandsynthese). Das mecA-Gen bei MRSA kodiert PBP2a, hierdurch entsteht eine niedrigere Affinität für Beta-Laktamantibiotika (und somit die Resistenz gegen diese). Es gibt einen PBP2a-Latex-Agglutinationstest, eine Art Bedside-Test zur Differenzierung MRSA/MSSA, der im Labor eingesetzt werden kann, sobald der kulturelle Nachweis von *S. aureus* gelingt. Dieser ist somit relativ rasch verfügbar.

Frage 29

Was ist die sog. „Bunte Reihe"?

Hierbei handelt es sich um ein Verfahren der Speziesdifferenzierung.

Die „Bunte Reihe" wird heute in der Speziesdifferenzierung kaum noch angewandt und durch modernere Verfahren ersetzt. Das Prinzip beruht darauf, dass Bakterien bestimmte Enzyme besitzen, die in che-

aus: Borde u.a., Facharztprüfung Infektiologie (ISBN 9783132401051) © 2027. Thieme. All rights reserved.

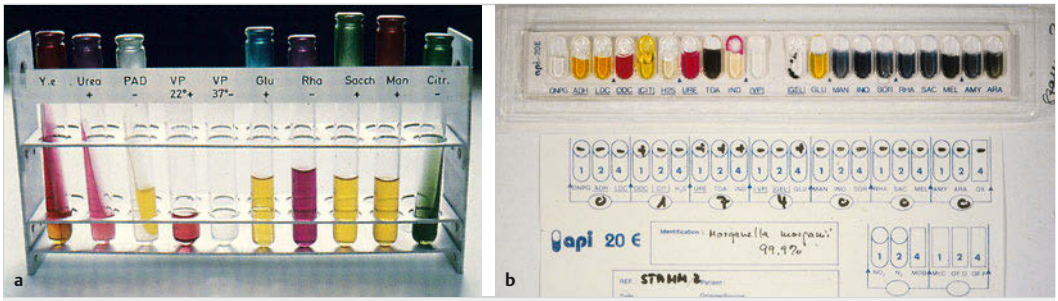


Abb. 1.7 „Bunte Reihe" am Beispiel der *Enterobacterales*. (Quelle: Hof H, Reischl U. Kultur von Bakterien und Pilzen. In: Hof H, Schlüter D, Hrsg. Duale Reihe Medizinische Mikrobiologie. 8., unveränderte Auflage. Stuttgart: Thieme; 2022)

a In der konventionellen Reihe fällt *Yersinia enterocolitica* auf wegen ihres typischen Farbmusters (z. B. Urease + , Voges Proskauer + bei 22 °C).

b Heute bedient man sich meist industriell hergestellter Testsysteme, die einfach zu beimpfen sind. In diesem Beispiel fällt *Morganella morganii* wegen ihres typischen Farbmusters auf (z. B. Urease + , Indol +).

mischen Lösungen zu Reaktionen führen, die mit einem Farbumschlag verbunden sind. Durch die Prüfung dieser verschiedenen enzymatischen Reaktionen kann aus dem entstehenden „bunten Bild" in den Reagenzien auf die Spezies rückgeschlossen werden (▶ Abb. 1.7).

Frage 30

? Beschreiben Sie das Prinzip des MALDI-TOF (Matrix assisted Laser Desorption/Ionisation – Time of Flight Mass Spectrometry)!

! **Methode der Erregerdifferenzierung/Spezieszuordnung: Mittels Laser werden aus Erregern, die in einem Matrixmaterial eingebettet sind, gasförmige Moleküle herausgelöst (Desorption) und ionisiert, um in einem Massenspektrometer beschleunigt zu werden. Je nach Größe der Partikel ändert sich die „Flugdauer" in diesem Feld (Time of Flight) und lässt so Rückschlüsse auf die Spezies zu.**

i *Dies ist das inzwischen gängige Verfahren der Erregerdifferenzierung. Wichtig ist hierbei, dass der zu identifizierende Erreger in Reinkultur vorliegen muss.*

1.2.3 Serologie

Frage 31

? Beschreiben Sie das Prinzip eines ELISA.

! **Enzyme-linked Immuno-sorbent Assay: Das Prinzip beruht auf einer enzymatischen Farbreaktion über die Bindung von Antikörpern. Dabei gibt es verschiedene Methoden (direkt vs. indirekt, Sandwich-ELISA). Das Grundprinzip ist jedoch gleich. Die Bindung wird über einen Farbumschlag sichtbar gemacht (dabei kann man hierbei auch eine Aussage über die Menge der vorliegenden Antikörper treffen).**

i *ELISA werden in der mikrobiologischen Serologie sehr häufig eingesetzt, sei es zum Nachweis von Antikörpern (Hepatitis, Borrelien, Röteln, Masern etc.) oder von Antigenen (HIV/p24 Antigen-Test).*

Frage 32

? Was ist ein Westernblot?

! **Ein Immunoblot, bei dem mittels Elektrophorese Antigene nach Größe in einem speziellen Gel aufgetrennt werden. Anschließend erfolgt die Übertragung auf ein Nitrozellulose-Filter-Medium, welches mit Patientenserum inkubiert werden kann. Die im Serum enthaltenden Antikörper können mit den aufgetrennten Antigenen binden und schließlich optisch sichtbar gemacht werden.**

aus: Borde u.a., Facharztprüfung Infektiologie (ISBN 9783132401051) © 2027. Thieme. All rights reserved.

Der Westernblot wird oft als Bestätigungstest bei positivem ELISA eingesetzt. U.a. in der Borrelienserologie erlaubt er den Nachweis von Antikörpern gegenüber Borrelien-spezifischer Antigene, wie z. B. VlsE, OspC, p39, p41, ermöglicht also den Ausschluss falsch positiver ELISA Ergebnisse.

Frage 33

Beschreiben Sie die Grundsätze der serologischen HIV-Diagnostik!

- **HIV-Suchtest (erfasst p24 Antigen, HIV-1 und HIV-2)**
- **immer (!) Bestätigung mittels Westernblot (oder alternativ PCR)**

*Ein positiver Suchtest **muss immer** einen Bestätigungstest triggern, ein positiver Suchtest allein sollte **niemals** an einen Patienten kommuniziert werden! Die Bestätigung des Suchtests kann sowohl mittels Blot als auch über die PCR erfolgen. Die Testung in einer separat abgenommenen Blutprobe ist Standard (um eine Probenverwechslung sicher auszuschließen).*

1.2.4 Molekulardiagnostik

Frage 34

Was ist eine PCR? Erklären Sie das Prinzip.

PCR: Polymerasekettenreaktion
Ablauf:

- **Denaturierung: Durch Erhitzen wird die Doppelstrang-DNA aufgebrochen.**
- **Hybridisierung der Primer: Anlagerung der Oligonukleotid-Primer an die aufgespaltene DNA (unter einer bestimmten Temperatur)**
- **Amplifikation: Die DNA-Polymerase fügt freie Nukleotidtriphosphate an die Primer an und führt so zu einer Verdopplung der vorliegenden DNA-Fragmente.**
- **Wiederholung dieser Schritte über mehrere Zyklen und somit exponentielle Zunahme der DNA**

Die PCR ist ein Standardverfahren in der mikrobiologischen Diagnostik und wird bei zahlreichen Indikationen eingesetzt.

Frage 35

Was ist eine 16S-PCR/Pan-bakterielle PCR? Erklären Sie das Prinzip!

Durch die Amplifikation der für die 16S-rRNA codierenden Desoxyribonukleinsäure (16S-rDNA-PCR) kann spezifisch bakterielle DNA nachgewiesen werden.

Mittels dieser Breitspektrum-PCR gelingt der Nachweis von Bakterien allgemein – dies kann man sich z. B. bei der Diagnostik der kulturnegativen Endokarditis zunutze machen, wenn eine explantierte Herzklappe auf den ursächlichen Erreger untersucht werden kann. Eine weitere Differenzierung und Speziesbestimmung ist im Anschluss möglich über die Sequenzierung des Amplifikates.

Frage 36

Was ist Next Generation Sequencing?

Ein Verfahren zur DNA-Sequenzierung.

Mithilfe dieses Verfahrens gelingt die DNA-Identifizierung auch von großen Genomen. Mittlerweile wird dieses Verfahren auch in der Erregerdiagnostik eingesetzt. Da es immer noch mit hohen Kosten und technischen Voraussetzungen verbunden ist, ist es nicht ubiquitär verfügbar.

Frage 37

Was ist der sog. CT-Wert bei der PCR?

Er beschreibt den Cycle Threshold und ist ein Maß der Menge/Ausgangskonzentration eines in der quantitativen PCR (qPCR) vervielfältigen Produkts. Er gibt an, wie viele Amplifikationszyklen erforderlich waren, ehe ein Nachweis gelingt.

Der CT-Wert hat v. a. während der COVID-Pandemie „Berühmtheit" erlangt, war er doch ein Maß für die Viruslast von SARS-CoV-2 und auch eines der Kriterien zur Entisolation. Wichtig zu wissen ist, dass CT-Werte bei Geräten unterschiedlicher Hersteller durchaus auch unterschiedlich ausfallen können und so nicht immer komplett vergleichbar sind!

aus: Borde u.a., Facharztprüfung Infektiologie (ISBN 9783132401051) © 2027. Thieme. All rights reserved.

1.2.5 Resistenztestung

Frage 38

Was ist ein E-Test?

Der Epsilometer-Test (kurz: E-Test) ist eine Abwandlung des Agardiffusionstests, bei dem ein Streifen mit einer exponentiell zunehmenden Antibiotikakonzentration auf eine Agarplatte aufgebracht wird (▶ Abb. 1.8).

Anhand des Wachstums der Bakterien entlang des aufgelegten Gradienten ist die MHK abzulesen (hier schneidet die Ellipse des Hemmhofes die aufgelegte Skala).

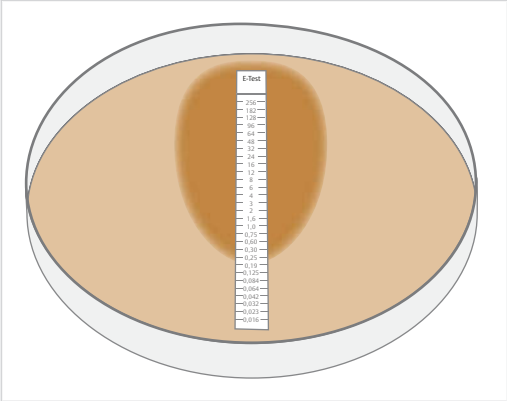


Abb. 1.8 Epsilometertest (E-Test).

Frage 39

Welche weiteren Methoden der Empfindlichkeitsprüfung kennen Sie?

- **Agardiffusionstest**
- **Mikrodilutionsmethode**

- *Die Agardiffusion (auch „Plättchentest" genannt, ▶ Abb. 1.9) funktioniert, indem ein Erreger auf einer Agarplatte ausgestrichen wird, die mit Antibiotikaplättchen belegt wurde. Die einzelnen Antibiotika diffundieren in den Agar und bilden – je nach Empfindlichkeit des Bakteriums – einen Hemmhof aus. Die Größe dieses Hemmhofes gibt Auskunft darüber, ob ein Antibiotikum als empfindlich bewertet werden kann.*
- *Der Mikrodilutionstest wird heute zumeist automatisiert durchgeführt (Systeme u. a.: Phoenix und Vitek). Vom Prinzip her werden Verdünnungsreihen eines Antibiotikums angelegt, in denen eine standardisierte Erregermenge eingebracht werden, die Messung der MHK erfolgt dann automatisiert und (relativ) schnell.*

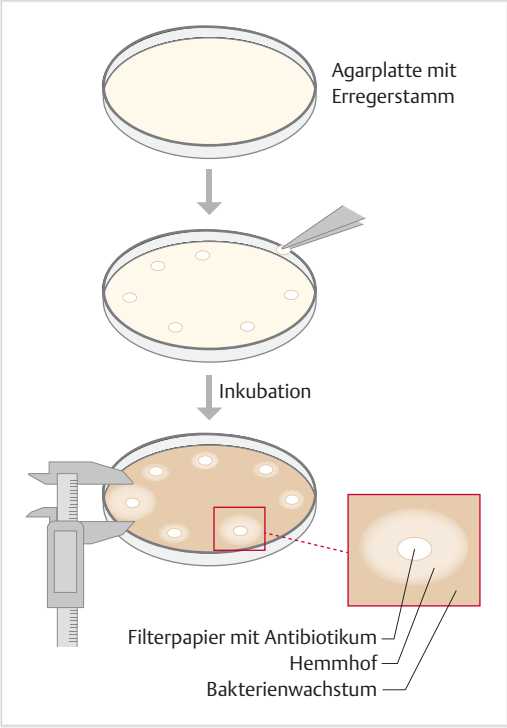


Abb. 1.9 Abb. zu Frage 39.

Frage 40

Erläutern Sie den Begriff der MHK! Ist diese klinisch relevant?

Minimale Hemmkonzentration (MHK): diejenige (niedrigste) Konzentration eines Antibiotikums, welche gerade noch zu einer Hemmung des Bakterienwachstums führt

Die MHK ist ein Stück weit artifiziell, da die Messung unter streng standardisierten Bedingungen erfolgt (pH, Nährstoffkonzentration, Inokulum), sie ist jedoch die Basis der Empfindlichkeitsbewertung und ist für jedes Bakterium und jedes Antibiotikum anders. Prinzipiell gilt: je niedriger die MHK, desto

aus: Borde u.a., Facharztprüfung Infektiologie (ISBN 9783132401051) © 2027. Thieme. All rights reserved.