



Labor Mönchengladbach
MVZ Dr. Stein + Kollegen

Praktische Hinweise zur

Präanalytik

Mikrobiologie

Stand: November 2017

Vorwort

Dieser kurze Überblick über die richtige Material-Abnahme für die mikrobiologische Diagnostik soll im Krankenhaus und in der Praxis zur schnellen Orientierung dienen.

Die Ausführungen basieren im Wesentlichen auf den Verfahrensrichtlinien der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM), wie sie in den Qualitätsstandards (MiQ) niedergelegt sind, und auf den Empfehlungen der American Society for Microbiology (ASM), die in den „Cumitech“, dem „Clinical Microbiology Procedures Handbook“, dem „Manual of Clinical Microbiology“ und in den Publikationen der Zeitschrift „Clinical Microbiology Reviews“ nachzulesen sind.

Gelegentlich sind die Empfehlungen der beiden Gesellschaften (DGHM und ASM) nicht deckungsgleich, hierauf wird im Text entsprechend hingewiesen.

Für spezielle Fragestellungen stehen separate Laborinformationen zur Verfügung auf der Homepage der Limbach-Gruppe zur Verfügung.

Die Laborinformationen sind ebenso wie die gesamte vorliegende Broschüre auf unserer Webseite www.labor-stein.de einzusehen.

Mönchengladbach im November 2017

Wir bedanken uns herzlich beim Labor MVZ Westmecklenburg für die freundliche Unterstützung bei der Erstellung der vorliegenden Präanalytik.

Inhaltsverzeichnis

Vorwort	2
Allgemeine Hinweise	6
Untersuchungsauftrag.....	6
Ausdrücklich anzufordernde spezielle Untersuchungen.....	6
Lagerung des Untersuchungsmaterials	6
Blutkulturen.....	7
Indikationen.....	7
Entnahmezeitpunkt	7
Entnahmeort	7
Entnahmetechnik	8
Anzahl der Blutkulturen.....	8
Blutvolumen	8
Beimpfung der Blutkulturflaschen	8
Lagerung und Transport der Blutkulturflaschen	8
Begleitinformation	8
Katheterspitzen	10
Liquor-Proben	10
Sekrete der oberen und tiefen Luftwege.....	11
Sputum.....	11
Trachealsekret / Bronchialsekret	12
Gezielte Erregernachweise bei Infektion der Atemwege.....	12
Rachenabstrich, Nasenabstrich, Ohrabstrich	13
Rachenabstrich	13
Nasenabstrich	13
Ohrabstrich, Nasennebenhöhlen	13
Wundabstriche, Gewebe, Punktate	14
Klinische Angaben	14
Punktate aus primär sterilen Körperhöhlen	15
CAPD (kontinuierliche ambulante Peritoneal-Dialyse)	15
Periprothetische Infektionen	15
Abszesse	15
Offene Wunden.....	15
Fistel.....	15
Intraoperativ entnommenes Material	16
Lagerung und Transport	16

Materialien aus dem Urogenitalbereich	17
Mikroskopie: Bakterielle Vaginose	17
UrethraSekret	17
ProstataSekret	17
Zervix- / Vaginalsekret	17
Spezielle Erreger	17/18
Urin.....	19
Mittelstrahlurin.....	19
Katheterurin	19
Punktionsurin	19
Blasenbilharziose (Schistosoma haematobium).....	19
Trichomonas vaginalis	20
Legionella pneumophila (Ag-Nachweis im Urin).....	20
Urindiagnostik Transportgefäße	20
Gastroenteritidiagnostik (Stuhl-Proben).....	21
Bakterielle Erreger und deren Toxine	21
Virale Erreger	22
Dysbiose	22
Parasiten	23
Sonstige Erreger	23/24
Tuberkulose/Mykobakterien	25
Mikrobiologisches Untersuchungsmaterial	25/26
Pilzdiagnostik.....	27
Pilzinfektionen der Haut und Hautanhangsgebilde.....	27
MRSA- Methicillin-resistenter Staphylococcus aureus	28
Mikrobiologische Diagnostik	28
MRGN- Multiresistente gramnegative Stäbchen	29
Mikrobiologische Diagnostik - Übersicht Screening Erwachsene	29
Mikrobiologische Diagnostik - Übersicht Screening Früh- und Neugeborene (Neoscreen).....	29
VRE - Vancomycin-resistente Enterokokken.....	30
Mikrobiologische Diagnostik - Übersicht Screening	30
Helicobacter pylori-Diagnostik	31
Diagnostik	31
Molekularbiologische Diagnostik	32
Antibiogramme Allgemeine Hinweise	33
Lagerung v. Untersuchungsmaterialien bis zur Abholung	34

Literaturverzeichnis	35
Abbildungsverzeichnis.....	36
Befundauskunft Mikrobiologie : 02161/ 81 94 -200	37
Ärztliche Beratung Mikrobiologie : 02161/ 81 94 -300.....	37

Allgemeine Hinweise

Untersuchungsmaterial zum Erregernachweis sollte möglichst gezielt vom Infektionsort und möglichst ohne Kontamination entnommen werden. Diagnostisch ideal ist Material, das direkt aus sterilen Körperbereichen entnommen werden kann. Die Probe sollte, wenn möglich, vor Beginn einer antibiotischen Therapie entnommen werden. Mehrmalige Entnahmen erhöhen die diagnostische Sicherheit.

Nach Entnahme mit sterilem Besteck ist das Material nativ in einem sterilen Gefäß oder ggf. in einem speziellen Transportmedium einzusenden. Entnahme- und Versandbestecke werden von uns zur Verfügung gestellt.

Folgende Punkte bitten wir auf dem Einsendeschein zu vermerken:

- Art der Patientenprobe
- Entnahmezeitpunkt: Datum und Uhrzeit
- klinische (Verdachts-) Diagnose, Symptomatik in Stichworten
- Vorbehandlung: Angaben zur antimikrobiellen Therapie
- Grunderkrankung (z. B. Immunsuppression, hämato-onkologische Erkrankungen)
- Umgebungs-, Reiseanamnese
- gewünschte Untersuchung
- falls telefonische Kontaktaufnahme gewünscht: Tel.-Nr. 02161/ 81 94 -200

Untersuchungsauftrag

Pathogene Keime mit Resistenzbestimmung: Die Probe wird mittels Mikroskopie (sofern geeignetes Material) und Kultur untersucht. Bei Wachstum pathogener Keime erfolgt eine Identifizierung und ein Antibiogramm.

Ausdrücklich anzufordernde spezielle Untersuchungen

Tuberkulose Diagnostik

Respiratorische Untersuchungen:

Diphtherie, Pertussis / Parapertussis-NAT (Nukleinsäureamplifikationstechnik), Chlamydien-NAT, RS-Virus-NAT, Influenza-NAT, Legionellen-Kultur, Legionellen-NAT, Legionellen-Ag im Urin, Pneumokokken-Ag im Urin, Pneumocystis-NAT

Gastroenteritis-Diagnostik:

Clostridium difficile, virale Enteritis-Erreger, Wurmeier, Protozoen, Parasiten, pathogene E. coli, Vibrio cholerae

Spezielle Diagnostik:

β-haem. Streptokokken, Mykoplasma / Ureaplasma urogenital, Chlamydia trachomatis-NAT, Gonokokken-NAT, Aktinomykose, Helicobacter-Diagnostik

Screening Fehler! Textmarke nicht definiert. **-Untersuchungen:**

multiresistente Erreger bei Erwachsenen und in der Neonatologie (Erreger benennen)

Lagerung des Untersuchungsmaterials

Detaillierte Informationen sind der Tabelle auf Seite 34 zu entnehmen.

Blutkulturen



Abb. 1: Blutkulturmedien: aerobe und anaerobe Flasche

Indikationen

Blutkulturmedien: aerobe und anaerobe Flasche

- Klinische Kriterien für eine Sepsis, eine schwere Sepsis oder einen septischen Schock
- Verdacht einer systemischen Beteiligung bei einer lokalisierten Infektion (z. B. eitrige Meningitis, schwere Pneumonie, Epiglottitis, komplizierte Pyelonephritis, Osteomyelitis, Mastoiditis, Spondylodiszitis, eitrige Arthritis, Cholangitis, viszerale Abszesse, schwere Haut- und Weichteilinfektionen, Omphalitis bei Neugeborenen)
- Verdacht auf eine zyklische Infektionskrankheit wie z. B. Typhus oder Brucellose
- Verdacht auf Bakteriämie, Fungämie im Rahmen einer subakuten Endokarditis oder einer katheterassoziierten Infektion
- Fieber unklarer Genese („FUO“)
- Hinweis: Mykobakterien, Chlamydien, Borrelien, Legionellen und Viren können aus diesen BK-Flaschen nicht nachgewiesen werden!

Entnahmezeitpunkt

Es ist nicht praktikabel, den Entnahmezeitpunkt vom Zeitpunkt des Fieberbeginns abhängig zu machen. In der klinischen Praxis wird empfohlen, Blutkulturen unmittelbar bei Auftreten einer auf eine Sepsis hindeutenden klinischen Symptomatik zu entnehmen.

- Entnahme vor Antibiotikatherapie dringend empfohlen

Entnahmeort

In der Regel eine periphere Vene. Eine arterielle Blutentnahme bringt keine Vorteile. Eine Untersuchung von Knochenmark ist bei V.a. Brucellose oder Typhus eine zusätzliche Nachweismöglichkeit.

Entnahmetechnik

- Hygienische Händedesinfektion; Einwirkzeit 30 sec
- Punktionsstelle (ca. 5 x 5 cm) mit einem Tupfer mit VAH-gelistetem Hautdesinfektionsmittel desinfizieren, Einwirkzeit 1 min! (Gegebenenfalls erneut Desinfektionsmittel auftragen, Punktionsstelle muss über die gesamte Einwirkzeit feucht sein)
- Vene vor Punktion nicht erneut palpieren
- Die Venenpunktion erfolgt erst nach vollständiger Trocknung des Desinfektionsmittels

Anzahl der Blutkulturen

Definition: Eine Blutkultur umfasst eine aerobe und eine anaerobe Flasche.

- Primäre Bakteriämie / Sepsis: 2 (3) Blutentnahmen in rascher Folge. Es gibt keine Literatur zu bestimmten Zeitintervallen bei der Blutkulturabnahme. Die ASM (American Society of Microbiology) lässt sogar 3 Blutkulturen aus einer Venenpunktion bei dringenden Fällen zu
- Unklares Fieber/ Endokarditis: 24 Stunden später evtl. erneute Abnahme von 2 (3) Blutkulturen

Blutvolumen

- Die Chance der Erregerisolierung steigt mit der eingesetzten Blutmenge (Anstieg der Positivrate um 3 – 5% pro ml Blut)
- Erwachsene: 8– 10 ml Blut pro Flasche werden empfohlen;
- Kinder 2-5 ml in spezieller PEDS-Flasche

Beimpfung der Blutkulturflaschen

- Entnahme mit der Spritze oder mit geschlossenen Systemen (z. B. Butterfly + Bactec-Holder)
- Plastikkappe entfernen
- Gummistopfen mit Hautdesinfektionsmittel desinfizieren
- Bei Entnahme mit der Spritze zuerst anaerobe Flasche, dann aerobe Flasche beimpfen
- Bei Entnahme mit geschlossenem System zuerst aerobe Flasche, dann die anaerobe Flasche beimpfen
- Über das Wechseln der Nadel vor Beimpfung der Blutkulturflasche existieren unterschiedliche Literaturangaben. Auf Grund der Verletzungsgefahr wird dies nicht mehr empfohlen
- Flaschen nicht belüften
- Die Beimpfung der Blutkulturmedien mit primär sterilen Materialien (z. B. CAPD, Liquor, Gelenkpunktionen) erfolgt nach dem gleichen Schema
- Anschließend die Blutkulturflaschen leicht schwenken

Lagerung und Transport der Blutkulturflaschen

- Die Lagerung der von uns zur Verfügung gestellten Blutkulturflaschen erfolgt vor der Blutentnahme bei Raumtemperatur
- Nach der Blutentnahme müssen die Flaschen ebenfalls bis zur Abholung bei Raumtemperatur gelagert werden

Begleitinformation

Neben den üblichen Angaben (siehe „Allgemeine Hinweise“) bitte stets angeben

- Entnahmeort (periphere Vene, ZVK, Port etc.)
- Verdachtsdiagnose
- Telefonische Durchwahl des Einsenders
- Aktuelle antibiotische Therapie

Katheterspitzen



Abb. 2: Steriles Röhrchen

- Insertionsstelle desinfizieren, Katheter ziehen, Spitze (ca. 4 – 6 cm) abschneiden und in ein steriles Röhrchen geben. Die Anzucht erfolgt quantitativ nach der Maki-Methode
- Bitte die Katheterspitzen nicht im Abstrichröhrchen einsenden, da hier bei der Anlage der Katheterspitze eine hohe Kontaminationsgefahr besteht
- Bis zur Abholung bei 4 – 8°C lagern

Liquor-Proben

- Liquorentnahme muss unter streng aseptischen Kautelen erfolgen. Zur Vermeidung einer Kontamination empfehlen wir einen Mund-Nasenschutz zu tragen sowie ein steriles Abdecktuch und sterile Handschuhe zu verwenden
- Punktionsstelle sorgfältig desinfizieren, Einwirkzeit des Hautdesinfektionsmittels beachten (in Abhängigkeit vom verwendeten Präparat 2 – 10 min)
- Mindestens je 1 ml Nativ-Liquor in sterilem Röhrchen (bestenfalls 2 Röhrchen) einsenden. Folgende Untersuchungen werden aus dem Nativ-Liquor durchgeführt:
 - Mikroskopie
 - Kulturelle Untersuchung
 - Spezielle Untersuchungen (vor allem virologische Untersuchungen) sind ausdrücklich anzufordern: Molekularbiologie (NAT) zum spezifischen Nachweis von Meningokokken*, Pneumokokken*, Pilzen*, Listerien*, M. tuberculosis-Komplex, T. whipplei*, Nachweis von universeller Bakterien- oder Pilz-DNA.*
 - Zur TB-Diagnostik sind 3 – 5 ml Liquor notwendig
- Wenn möglich ca. 1 – 2 ml in eine Blutkulturflasche (PEDS) geben
- Liquor sofort lichtgeschützt und bei Raumtemperatur in das Labor transportieren
- Hinweis: Bei Vorliegen eines septischen Krankheitsbildes empfiehlt sich die zusätzliche Entnahme von Blutkulturen. In dringenden Fällen bitte telefonische Ankündigung der Probe
- Zur Bestimmung spezifischer Antikörper im Liquor zusätzlich eine gleichzeitig abgenommene Serummonovette einsenden und gesondert auf dem Anforderungsschein vermerken

Sekrete der oberen und tiefen Luftwege



Abb. 3: Steriles Sputumröhrchen

Das Sekret der tiefen Atemwege wird bei der Gewinnung als Sputum zwangsläufig mit der Mund-Rachenflora kontaminiert. Diagnostisch überlegen und auch zum Nachweis von speziellen Erregern (Legionellen, Mykoplasmen, Chlamydien, Pneumocystis jirovecii) geeignet sind Trachealsekret und Bronchialsekret, wenn es gezielt bronchoskopisch oder mittels geschützter Bürste entnommen wird.

Zur Diagnostik einer akuten Pneumonie wird außerdem die Abnahme von Blutkulturen (2 Paar) empfohlen.

Sputum

- Ideal ist eitriges Morgensputum
- Vor der Expektoration wenn möglich Zähne putzen und Mund mit frischem Leitungswasser spülen (nicht bei Untersuchung auf Mykobakterien)
- Das Material sollte hochgehustet werden. Die Patienten müssen entsprechend aufgeklärt werden
- Gelingt es nicht, eine entsprechende Probe zu entnehmen, kann mit Inhalation von 15% NaCl oder mit Mucolytika ein induziertes Sputum gewonnen werden
- Für die Proben entsprechende Gefäße mit Umhüllung verwenden. Bis zur Abholung bei 4 – 8°C lagern
- Trotz optimaler Probenentnahme ist es wegen der regelmäßigen Speichelbeimengungen oft schwierig, aussagekräftige Befunde zu erheben. Die Mikroskopie ermöglicht eine Beurteilung der Qualität der Sputumprobe
- Gut geeignete Proben sollten weniger als 25 Plattenepithelzellen und mehr als 25 Granulozyten pro Gesichtsfeld enthalten

Die Beurteilung der Mikroskopie erfolgt anhand der im Folgenden dargestellten Kriterien:

Anzahl / Gesichtsfeld ^o		Wertung
Leukozyten	Plattenepithelzellen	
>25	10-25	geeignetes Material
< 25	< 25	bedingt geeignetes Material
< 25	>25	nichtgeeignetes Material

^o Vergrößerung 100fach, mind. 5 Gesichtsfelder beurteilen. Unter Berücksichtigung der MiQ7, 2. Auflage; 2010

- Ausnahmen bei der Beurteilung des Sputums sind Immundefekt, Mukoviszidose, Legionellose, Tuberkulose und epidemiologische Fragestellungen
- Nicht geeignet ist 24-Stunden-Sammelsputum
- Die Diagnose „Aspirationspneumonie“ sollte unbedingt vermerkt werden. Hierbei erfolgt zusätzlich eine Untersuchung auf anaerob wachsende Bakterien. Für diese Fragestellung ist BAL-Flüssigkeit oder eine Biopsie am besten geeignet
- Die Diagnose Mukoviszidose sollte zusätzlich vermerkt werden, da gegebenenfalls die Bebrütungsdauer verlängert werden muss.

Trachealsekret / Bronchialsekret

Auch hier ist eine oropharyngeale Kontamination nicht zu vermeiden, da die Trachea nach kurzer Zeit der Beatmung mit oropharyngealer Standortflora besiedelt ist.

Materialgewinnung mit dem Absaugkatheter

- Unter sterilen Kautelen absaugen und Sekret in Probengefäß überführen oder die entsprechenden Gefäße („Falle“) einschicken (Umverpackung verwenden). Bitte auf sicheren und ausflussdichten Verschluss des Gefäßes achten
- Bis zur Abholung bei 4 – 8 °C lagern

Bronchoskopische Materialgewinnung

- Sekret über Bronchoskop aspirieren
- Bronchoalveoläre Lavage (BAL) 5 – 10 ml Flüssigkeit einschicken, bei Verdacht auf eine Legionelleninfektion mit Ringer-Laktat lavagieren, da NaCl bakterizid auf diese Erreger wirkt
- Geschützte Bronchialbürste (PSB: protected specimen brush). In 1 – 2 ml Ringer-Laktat einsenden
- Bis zur Abholung bei 4 – 8 °C lagern

Gezielte Erregernachweise bei Infektion der Atemwege

Einige Erreger sind nicht in der Anforderung „pathogene Keime“ enthalten und müssen gezielt angefordert werden.

- Für folgende Erreger wird eine molekularbiologische Untersuchung (NAT) angeboten: Chlamydia pneumoniae, Cytomegalie Virus (CMV), Legionella pneumophila, Mycoplasma pneumoniae, Pneumocystis jirovecii, RS Virus, Influenza-Viren A+B, Mycobacterium tuberculosis, NTM (Nichttuberkulöse Mykobakterien)
- Die Untersuchung auf Nocardien, Actinomyceten oder Pilze muss gesondert angefordert werden

Rachenabstrich, Nasenabstrich, Ohrabstrich



Abb. 4: Universal-Abstrich-Set eSwab™ mit Transportmedium für kulturelle Untersuchungen und NAT(www.copangroup.com)

Rachenabstrich

Allgemeine Bakteriologie:

Mit dem Tupfer die entzündeten Stellen der Tonsillen und der hinteren Rachenwand mit kräftigem Abdrücken abnehmen und in das Transportmedium einführen.

Hämolisierende Streptokokken:

Abnahme wie bei der allgemeinen Bakteriologie.

Verdacht auf Angina Plaut-Vincent:

Auf dem Begleitschein extra vermerken. Am besten mit einem 2. Tupfer einen Objektträger ausstreichen und luftgetrocknet einschicken.

Verdacht auf Diphtherie:

Auf dem Begleitschein extra vermerken. Sekret unter der abgehobenen Pseudomembran oder ggf. vom Kehlkopf entnehmen. Labor vorher telefonisch benachrichtigen.

Nasenabstrich

Abstrich unter Sicht von den entzündeten Stellen mit dem Tupfer abnehmen und in das Transportmedium einführen.

- MRSA-Diagnostik: siehe S. 28

Ohrabstrich, Nasennebenhöhlen

Tupferabstrich unter Sicht von den Läsionen oder vom Exsudat entnehmen und im Transportmedium einsenden. Spülflüssigkeit nativ im sterilen Röhrchen einsenden.

Wundabstriche, Gewebe, Punktate



Abb. 5: Steriles Röhrrchen, gr. steriles Röhrrchen, Abstrichtupfer

Klinische Angaben

Bei Wundinfektionen sollte auf dem Überweisungsschein folgendes vermerkt werden:

- Art der Materialentnahme, z. B. intraoperativ
- Art der Wunde
 - Chirurgische Wundinfektion
 - Akute Wundinfektion (Abszesse, traumatische Wunden, nekrotisierende Entzündungen)
 - Bisswunde
 - Verbrennungswunden
 - Decubitus-Wunde
 - Diabetische Wundinfektionen inklusive Klassifikation nach Armstrong / Wagner (bitte auf Anforderungsschein vermerken)

Klassifikation der diabetischen Ulzera nach Wagner und Armstrong

	0	1	2	3	4	5
A	Prä- oder postulcerativer Fuß	Oberflächliche Wunden	Wunde bis Sehne / Kapsel	Wunde bis Knochen / Gelenk	Nekrose Fußteile	Nekrose gesamter Fuß
B	Infektion	Infektion	Infektion	Infektion	Infektion	Infektion
C	Ischämie	Ischämie	Ischämie	Ischämie	Ischämie	Ischämie
D	Infektion + Ischämie	Infektion + Ischämie	Infektion + Ischämie	Infektion + Ischämie	Infektion + Ischämie	Infektion + Ischämie

Tabelle: Deutsches Ärzteblatt, Jg. 108, Heft 14, 8. April 2011, Seite 234

B. Kahle et al.: Evidenzbasierte Therapie chronischer Beinulzera (Evidence-Based Treatment of Chronic Leg Ulcers) Dtsch Arztebl Int 2011; 108(14): 231-7, S3-Leitlinie 091-001 „Lokaltherapie chronischer Wunden bei den Risiken CVI, PAVK und Diabetes mellitus“ Deutsche Gesellschaft für Wundheilung und Wundbehandlung e.V., 12.06.2012

Punktate aus primär sterilen Körperhöhlen

(Z. B. Gelenke, Pleura, Pericard, Peritoneum)

- Die Punktion muss unter streng aseptischen Kautelen vorgenommen werden
- 2 Blutkulturflaschen beimpfen (aerob und anaerob) oder eine PEDS. Genaues Prozedere: siehe Blutkulturen Seite 7.
- Ein Teil des Punktats sollte wenn möglich nativ eingesandt werden, um eine Mikroskopie durchzuführen
- Blutkulturflaschen bis zur Abholung bei Raumtemperatur aufbewahren

CAPD (kontinuierliche ambulante Peritoneal-Dialyse)



Abb. 6: steriles Röhrchen(30 ml) und Blutkulturflaschen

Blutkulturflaschen mit je 10 ml Flüssigkeit beimpfen. Erst bei einer Leukozytenzahl von mehr als 100 pro ml CAPD-Flüssigkeit ist eine Bakterienkultur Erfolg versprechend. Zusätzlich empfehlen wir die Entnahme von 2 x 25 ml CAPD-Dialysat in sterilen 30 ml-Röhrchen (siehe obenstehendes Bild).

Periprothetische Infektionen

Spezialanalytik: vorherige Absprache mit diensthabendem Mikrobiologen unbedingt erforderlich.
Tel: 02161/ 81 94 -300

Abszesse

Perkutane Punktion des Abszesses möglichst vor einer chirurgischen Eröffnung. Erregerhaltiges Material wird vor allem in den Randbereichen von Abszessen angetroffen. Material nach Desinfektion mit der Spritze entnehmen und in eine Blutkulturflasche (PEDS) einimpfen.

Um eine Mikroskopie durchzuführen zu können, zusätzlich steriles Röhrchen mit einem Teil des Punktats befüllen.

Offene Wunden

Bei offenen Wunden muss zuerst das oberflächliche, evtl. sekundär besiedelte Sekret mit einem sterilen Tupfer entfernt werden. Dann wird vom Grund und aus den Randbezirken der Wunde Material mit einem Tupfer entnommen und im Transportmedium eingeschickt. Bei trockenen Wunden Tupfer vorher mit steriler NaCl-Lösung anfeuchten.

Fistel

Bei Fisteln ist zunächst das oberflächlich austretende Sekret zu entfernen und die Fistelöffnung mit Alkohol zu desinfizieren. Dann wird Material aus der Tiefe des Fistelganges entweder mit einem eingeführten dünnen Katheter aspiriert oder mit einer feinen Kürette herausgeschabt.

Intraoperativ entnommenes Material

- Gewebe, Biopsien, Knochenmaterial in einem sterilen Behälter in 1 – 2 ml steriler 0,9% NaCl-Lösung einschicken
- Punktat in eine Blutkulturflasche einspritzen (PEDS)
- Falls ein Tupfer verwendet wird, soviel Material wie möglich entnehmen
- In der Regel erfolgt eine semiquantitative Beurteilung der kulturellen Untersuchung.

Lagerung und Transport

Die Lagerung von Abstrichmaterial sollte bei 4 – 8 °C erfolgen.

Materialien aus dem Urogenitalbereich

Je nach Lokalisation der Genitalinfektion wird beim Mann in erster Linie UrethraSekret, ggf. auch Prostatasekret oder Ejakulat untersucht. Bei der Frau außer Urethral- auch Vaginal- oder Zervixsekret, ggf. auch operativ entnommener Eiter oder Menstrualblut (Tuberkulose.-Diagnostik).

Für die allgemeine Bakteriologie Abstriche (dünne oder dicke Tupfer) verwenden. Die Sekrete müssen gezielt aus dem Infektionsbereich, also möglichst ohne Kontamination mit der Normalflora der Genitalschleimhäute gewonnen werden.

Mikroskopie: Bakterielle Vaginose

Ein luftgetrockneter Ausstrich des Vaginalsekretes ist zur mikroskopischen Untersuchung zu empfehlen. Dieser wird nach Nugent et al. beurteilt. Aufgrund dieser Beurteilung erübrigt sich eine zusätzliche Anzucht auf Gardnerella spp. und Anaerobiern.

UrethraSekret

Morgens noch vor der ersten Miktion Material gewinnen. Nach vorsichtiger Reinigung der Harnröhrenmündung (siehe auch Kapitel Urindiagnostik) wird die Harnröhre von hinten nach vorn ausgestrichen und das austretende Sekret mit einem Abstrichtupfer aufgenommen. Erscheint kein Sekret, wird ein dünner Tupfer vorsichtig ca. 2 cm in die Urethra vorgeschoben und langsam gedreht.

Prostatasekret

Nach Reinigung der Harnröhrenmündung wird die Prostata vom Rektum aus massiert und das ausfließende Exprimat im sterilen Gefäß, bei kleineren Mengen mit einem Abstrichtupfer, aufgefangen.

Zervix- / Vaginalsekret

Wird nach SpekulumEinstellung gezielt mit einem Abstrichtupfer entnommen (keine Gleitmittel mit antibakteriellen Zusätzen verwenden!). Bei Endometritis-Verdacht sollte ein durch Doppellumen geschützter Abstrich erfolgen, um Kontamination mit der Zervikal- oder Vaginalflora zu vermeiden.

Spezielle Erreger

Neisseria gonorrhoeae (Gonokokken)

Für eine molekularbiologische Untersuchung (NAT) Abstrichtupfer verwenden oder frischen Morgenurin (kein Mittelstrahlurin). Gonokokken sind empfindlich gegenüber Abkühlung. Lagerung und Transport bei Raumtemperatur, Transportzeit max. 24 h

Für den kulturellen Nachweis mit Resistenzbestimmung wird die Einsendung eines Cervix- oder Harnröhrenabstrichs empfohlen. Hierzu sind kurze Transportzeiten ins Labor erforderlich.

Mykoplasmen / Ureaplasmen

Genitalproben / Ejakulat / Urin / Bronchialaspirat bei Neugeborenen / Neugeborenen-Abstrich / Liquor einsenden.

Treponema pallidum (Lues, Syphilis)

Diagnostik der Wahl: Serologie (Serum-Röhrchen einsenden)

Chlamydia trachomatis

Cervixabstrich mit Abstrichtupfer für molekularbiologische Nachweisverfahren (NAT) entnehmen. Ebenso geeignet ist die erste Portion Morgenurin (5 ml, gelbe Monovette ohne Stabilisator) oder Ejakulat.

Gruppe-B-Streptokokken (*Streptococcus agalactiae*)

Ein Abstrich (mit Transportmedium) von der unteren Vagina und Rektum.
Abnahmezeitpunkt: 35 – 37 SSW. im Rahmen des Schwangerschaftsscreenings.

Urin

Mittelstrahlurin

Um die richtige Keimzahl zu ermitteln, sollte die Urinentnahme frühestens 3 – 5 Stunden nach der letzten Miktion erfolgen; in der Regel ist dies der erste Morgenurin.

Vor dem Wasserlassen sorgfältige Reinigung der Hände mit Wasser und Seife.

Mann: Vorhaut zurückstreifen und Glans penis 2 x mit frischem Wasser reinigen; mit sauberem Tupfer oder Lappen trocknen.

Frau: Mit einer Hand die Schamlippen (Labien) spreizen und geöffnet halten (bis die Uringewinnung abgeschlossen ist); äußeren Geschlechtsbereich (Umgebung der Urethramündung) dreimal mit einem in Wasser getränkten Tupfer von vorn nach hinten abwischen (jeweils neuen Tupfer verwenden), mit weiterem Tupfer trocken tupfen.

Keine Desinfektionslösungen oder Seife verwenden.

Nachdem der Harnstrahl für ca. 3 Sekunden in Gang gekommen ist, 10-20 ml Urin im Becher auffangen, ohne den Harnstrahl zu unterbrechen. Verunreinigung der Becherinnenseite durch Hände oder Kleidung vermeiden.

Katheterurin

Einmalkatheterurin morgens, bzw. frühestens 3 – 5 Stunden nach der letzten Miktion gewinnen. Wie beim Mittelstrahlurin gründliche Reinigung der Urethralmündung und Umgebung. 10 – 20 ml Katheterurin in sterilem Gefäß auffangen. Wenn ein Dauerkatheter liegt, Urin direkt aus der zuvor desinfizierten Katheterentnahmestelle, nicht aus dem Auffangbeutel, entnehmen. Dies ist nur in Ausnahmefällen indiziert, z. B. bei Patienten mit Querschnittsymptomatik.

Punktionsurin

Die Blase muss gefüllt sein. Hautoberfläche der suprapubischen Punktionsstelle desinfizieren. 10 – 20 ml Urin entnehmen und in ein steriles Gefäß füllen.

Blasenpunktionsurin besitzt den größten Aussagewert.

Unbedingt auf dem Anforderungsblatt vermerken, da jede Keimzahl als diagnostisch signifikant anzusehen ist.

Blasenbilharziose (Schistosoma haematobium)

Bei Verdacht auf Blasenegel (Schistosoma haematobium) sind mehrfache Untersuchungen von Sammelurin empfehlenswert (3x Sammelurin an drei verschiedenen Tagen). Während der Sammelperiode 24h-Sammelurin im Kühlschrank lagern, rascher Versand! Die Eiausscheidung ist um die Mittagszeit (10 – 14 Uhr) und nach körperlicher Arbeit am höchsten.

Trichomonas vaginalis

Für die Untersuchung (NAT) ist bei Frauen Vaginalsekret, bei Männern Urethralesekret, Prostatasekret oder Erststrahlurin (5 – 10 ml) zu gewinnen. Trichomonaden sterben in der Umwelt sehr rasch ab. Das Material muss innerhalb max. 1 Stunde mikroskopiert werden! Der Nachweis von *T.vaginalis* gelingt am besten durch Nativmikroskopie des Sekretes unmittelbar nach Gewinnung. Alle Verfahren, die eine Materialeinsendung erfordern, sind demgegenüber weniger sensitiv - ggf. sollte ein Nativpräparat angefertigt werden.

Legionella pneumophila (Aq-Nachweis im Urin)

Sterile Abnahme von mind. 5 ml Urin in Urinmonovette ohne Stabilisator. Bis zur Abholung bei 4 – 8 °C lagern. Weitere Nachweismöglichkeit: siehe Molekularbiologische Diagnostik - respiratorische Erreger.

Urindiagnostik Transportgefäße



Abb. 7: Urin-Monovetten mit (grün) und ohne (gelb) Borsäurezusatz

Urinröhrchen mit Stabilisator (Borsäure) für 10 ml Nativurin. Die Keimzahl bleibt ca. 48 Stunden konstant. Sollte weniger als 10 ml Urin zu gewinnen sein, kann es durch eine zu hohe Konzentration des Konservierungsmittels evtl. zu einer Schädigung der Bakterien kommen. Bis zur Abholung bei 4 – 8 °C lagern.

Untersuchungsanforderung: pathogene Keime und ggf. Resistenzbestimmung.

Gastroenteritidiagnostik (Stuhl-Proben)



Abb. 8: Stuhlröhrchen mit Löffel und Umverpackung

Bei der Anforderung „pathogene Darmbakterien“ erfolgt routinemäßig die Anzucht auf Salmonellen, Shigellen, Yersinien und Campylobacter. Bei bereits bekannten Salmonellenausscheidern bitte auf dem Überweisungsschein „Salmonellenkontrolle“ oder „bekannte Salmonellose bzw. Shigellose etc.“ vermerken. Es wird dann nur noch die entsprechende Untersuchung durchgeführt.

Bei Auslandanamnese erfolgt zusätzlich eine Untersuchung auf Parasiten.

Es sollte ein halb gefülltes Stuhlröhrchen eingesandt werden.

Bei sehr umfangreichen Untersuchungen (z. B. bei Auslandsaufenthalt oder immunsupprimierten Patienten) wird ein größeres Probenvolumen empfohlen.

In der Regel sollten von 2 – 3 Stuhlgängen Proben eingesendet werden, da hierdurch die Nachweisrate darmpathogener Erreger deutlich zunimmt.

Bakterielle Erreger und deren Toxine

Salmonellen

Bei Gastroenteritis Nativstuhl im Stuhlröhrchen. Bei Verdacht auf Typhus und Paratyphus ist die kulturelle Untersuchung von Stuhl erst im Spätstadium der Erkrankung Erfolg versprechend. Im Frühstadium Blutkulturen abnehmen.

Shigellen

Nativstuhl im Stuhlröhrchen.

Yersinien

Nativstuhl im Stuhlröhrchen.

Campylobacter spp.

Nativstuhl im Stuhlröhrchen. Für den Antigennachweis mittels ELISA ist Nativstuhl erforderlich.

Enterohämorrhagische E.coli (EHEC), Shigatoxin-Nachweis

Nativstuhl im Stuhlröhrchen. Der Shigatoxin-Nachweis erfolgt mittels ELISA und PCR.

Enteropathogener E.coli (EPEC); ehemals Dyspepsie-Coli

Nativstuhl im Stuhlröhrchen. Der Nachweis erfolgt mittels Kultur und PCR.

Clostridium difficile

Das Clostridium difficile Antigen GDH wird mittels ELISA nachgewiesen. Aufgrund seines hohen negativen Vorhersagewertes hat sich der GDH-Test als ScreeningTest etabliert. Positive GDH-Proben werden molekularbiologisch auf das C. difficile Toxin A/ B- Gen (NAT) aus dem Stuhl untersucht. Bitte Nativstuhl einsenden.

Helicobacter pylori

Nativstuhl im Stuhlröhrchen, Nachweis mittels ELISA. Dieser Test ist neben endoskopischen Methoden zur Erstdiagnostik und zur Therapiekontrolle geeignet.

Für die Helicobacter pylori-Anzucht mit Antibiogramm muss eine Magen- bzw. Duodenalbiopsie im Spezialtransportmedium eingeschickt werden. Das Transportmedium kann bestellt werden unter Tel. (02161) 8194294. Siehe hierzu auch **Helicobacter pylori-Diagnostik**.

Cholera (Vibrio cholerae)

Nativstuhl im Stuhlröhrchen. Bei klinischem Verdacht bitte Probe telefonisch als Notfalluntersuchung anmelden.

Listeria monocytogenes

Nativstuhl im Stuhlröhrchen.

Virale Erreger

Rotavirus

Nativstuhl, der Virusnachweis erfolgt mit einem EIA/ Antigennachweis.

Astrovirus

Nativstuhl, der Virusnachweis erfolgt mit einem EIA/Antigennachweis.

Adenovirus

Nativstuhl, der Virusnachweis erfolgt mit einem EIA/ Antigennachweis.

Norovirus

Nativstuhl, der Virusnachweis erfolgt mittels NAT.

Dysbiose

Spezialdiagnostik (Zusammensetzung der Darmflora) auf Anfrage.

Tel.: 02161/ 81 94 -200

Parasiten

Würmer/ Wurmeier

Nativstuhl, da ein Anreicherungsverfahren (SAF) durchgeführt wird, oder Stuhl in SAF-Medium einschicken.

Ausnahme: Oxyuren. Bei V.a. *Enterobius vermicularis* (Madenwurm) empfehlen wir die Einsendung eines Klebestreifen-Abklatschpräparates auf einem Glas-Objektträger. Das Klebestreifen-Abklatschpräparat morgens, vor dem Toilettengang, vom Anus entnehmen. Durchsichtigen Klebestreifen verwenden (nicht matt).

Lamblien / Amöben

Nativstuhl, Duodenalaspirat für Lamblien, Durchführung eines EIAs für jeden Erreger.

Cryptosporidien

Nativstuhl, Nachweis mittels EIA/Antigennachweis.

Microsporidien

Nativstuhl, Mikroskopischer Nachweis.

Echinococcus spp. (Hunde- bzw. Fuchsbandwurm)*

- intraoperativ abgenommenes Untersuchungsmaterial nativ schnellstmöglich einschicken
- Vorherige telefonische Anmeldung unbedingt erforderlich
- Grundsätzlich auch eine Untersuchung von Serum auf Antikörper veranlassen

Sonstige Erreger

Enteroaggregativer Escherichia coli (EAEC), Enteroinvasiver Escherichia coli (EIEC)

Nativstuhl im Stuhlröhrchen. Der Nachweis erfolgt mittels PCR.

Empfehlungen zur Stuhldiagnostik, unter Berücksichtigung der

Stuhlbeschaffenheit	Sonstige Angaben	Salmonellen	Shigellen	Yersinien	Campylobacter	Parasiten, Wurmeier, Lambie	Darmath. E. coli (EHEC, EPEC,	Clostridiumdifficile	Rota/Adeno/Astro/Noroviren	Vibriocholerae	Sproßpilze	Mykobakterien	Pseudomonas	S.aureus
I. geformt	Adult	X	X	X										
	<6 Jahre	X	X	X										
	Ausland	X	X	X	X	X	X							
II. breiig/flüssig	Adult	X	X	X	X				X					
	<6 Jahre; >60 Jahre	X	X	X			X		X					
	Ausland	X	X	X	X	X								
	Nosokomial(ab4.Tag)							S						
	Nosokomialer Ausbruch	X	X	X			X	S	X					
III. blutig/wässrig	Adult	X	X	X	X		X	S						
	< 6 Jahre; >60 Jahre	X	X	X	X	X	X	S	X					
	Ausland	X	X	X	X	X	X	S	X	S				
	Nosokomialer Ausbruch	X	X	X	X		X	S	X					
Sonderfälle	Nierenversagen/HUS/TTP	X	X	X	X		X							
	Appendizitis, Arthritis Erythema nodosum	X	X	X	X									
	Ergebnislose Voruntersuchung	X	X	X	X	X	X	S			S		S	
	>3 Wochen anhaltende Diarrhoe	X	X	X	X	X	X	S						
Lebensmittel-vergiftung													S	

S (Sonderanforderung, bitte extra auf Schein vermerken)

TTP = Thrombotische-thrombozytopenische Purpura, HUS = Hämolytisch-urämisches Syndrom

Tuberkulose/Mykobakteriosen

Mikrobiologisches Untersuchungsmaterial

Es ist eine Kombination verschiedener klassischer Methoden notwendig:

Anamnese, Bildgebung, Materialgewinnung, ggf. invasive Verfahren, Mikroskopie, Kultur, Nukleinsäureamplifikation (NAT), ggf. immunologische Verfahren (z. B. Quantiferon®-Test). Bei noch nicht gesicherter Diagnose und einfacher Probengewinnung sind mindestens 3 Proben an 3 verschiedenen Tagen für Mikroskopie, Kultur und NAT zu entnehmen. In diagnostisch besonders schwierigen Fällen kann eine größere Anzahl von Proben angezeigt sein.

<p>Sputum</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ Erstes Morgensputum durch Abhustenaustiefen Atemwegen mit möglichst geringer Speichelkontamination ■ Keine Mundspülung vor Sputumgewinnung, kein Sammelsputum (wenn notwendig: max. Zeitraum 1 Stunde) ■ Sputuminduktion mit 5 – 10% NaCl-Inhalation möglich ■ Cave: Infektionsgefahr durch Aerosole ■ Bronchoskopie ist bei Erwachsenen, bei Kindern Magennüchternsekret vorzuziehen 	2 – 5 ml
<p>Bronchialsekret</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ Bronchoskopisch gewinnen ■ Trachealsekret von intubierten Patienten oder Abstrich vom Tubus wegen Kontamination mit Begleitkeimen weniger sinnvoll ■ Cave: Lokalanästhetika bei Bronchoskopie, möglicherweise Verfälschung des Ergebnisses wegen Bakterizidie 	2 – 5 ml (mind. 2 ml)
<p>BAL</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ Möglichst gezielt betroffenes Segment lavagieren ■ Recovery-Flüssigkeit ohne weitere Behandlung gesondert für Tb auffangen <p>Geschützte Bürste und bronchoskopisch gewonnene Biopsie</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ Wegen Gefahr der Austrocknung ca. 0,5 ml sterile physiologische NaCl zufügen ■ Cave: Lokalanästhetika bei Bronchoskopie, möglicherweise Verfälschung des Ergebnisses wegen Bakterizidie 	20 – 30 ml (mind. 20 ml)
<p>1. Magennüchternsekret, 2. Magenspülwasser</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ Bei Kindern ist Magennüchternsekret oder -spülwasser der Sputuminduktion vorzuziehen ■ Bei älteren Kindern und Erwachsenen ist bronchoskopisch gewonnenes Material oder Sputum dem Magensaft vorzuziehen ■ Magennüchternsekret / -spülwasser muss mit Phosphatpuffer neutralisiert werden 	1.: 2 – 5 ml / 2.: 20 – 30 ml
<p>Urin</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ Vorzugsweise Morgenurin nach Einschränkung der Flüssigkeitszufuhr am Vorabend ■ Kein Mittelstrahlurin, kein Sammelurin, nicht aus Urinauffangbeuteln (Ausnahme Säuglinge, Kleinkinder) ■ Entnahme unter Vermeidung mikrobieller Verunreinigung 	mind. 30 ml
<p>Sperma, Prostatasekret</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ In sterilem Gefäß auffangen, ohne Zusatz versenden 	
<p>Stuhl</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ Stuhlproben nur bei Patienten mit zellulärem Immundefekt untersuchen ■ Endoskopisch gewonnene Biopsien sind bei Verdacht auf Darm-TB vorzuziehen <p>Menstrualblut</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ Gynäkologisch gewinnen und zu gleichen Teilen mit sterilem Wasser versetzen 	1 – 2 g

Blut <ul style="list-style-type: none"> ■ Nur Vollblut (Citratblut), Untersuchung nur sinnvoll bei Patienten mit zellulärem Immundefekt, das Citratblut wird im Labor in Blutkulturmedien überführt, Bebrütungsdauer: 8 Wochen ■ Die Blutprobe muss im Fieberanstieg entnommen werden! 	5 – 10 ml
Knochenmark <ul style="list-style-type: none"> ■ Knochenmarkbiopsate und -aspirate sind zu behandeln wie Blut (Citratzusatz) 	
Abstrichtupfer/ Wundmaterial <ul style="list-style-type: none"> ■ Abstrichtupfer sind im Regelfall nicht geeignet, Alternativen wie Punktion, Biopsie etc. sind überlegen und vorzuziehen ■ Falls kein Eiter eingeschickt werden kann, so viel Material wie möglich mit dem Tupfer aufnehmen, für die allg. Bakteriologie weiteren Abstrich entnehmen 	
Gewebe, Biopsien <ul style="list-style-type: none"> ■ So viel Material wie möglich gewinnen, Probe mit Zusatz von steriler, physiologischer NaCl vor Austrocknung schützen. (ohne Formalin) ■ Gewebeprobe immer auch histologisch untersuchen! 	
Körperflüssigkeiten (Punktionen, Aspirate, Exsudate) <ul style="list-style-type: none"> ■ Liquor, nativ - nicht in Blutkulturflaschen Andere Körperflüssigkeiten (Pleuraexsudat, Perikardflüssigkeit, Synovialflüssigkeit, Abszesspunktat) ■ Blutige Proben evtl. Zusatz von Citrat erforderlich, so viel wie möglich entnehmen! 	3 – 5 ml 30 – 50 ml

Pilzdiagnostik



Abb. 9: Aspergillus niger

Für die mykologische Diagnostik ist es wichtig, dass ausreichend Material aus den betroffenen Arealen entnommen wird.

Für die Untersuchung auf Pilze, besonders Hefepilze und Fadenpilze, sind folgende Materialien geeignet: Blutkulturen, Eiter, Exsudate, Drainagen, Gewebeproben, Mundspülwasser, Sputum, bronchoalveoläre Lavage, Urin sowie Urogenitalabstriche. Eine Empfindlichkeitsprüfung für die meisten gängigen Antimykotika erfolgt aus Blutkultur, Liquor, Katheterspitzen, BAL und Punktaten, aus anderen Materialien nur bei gesonderter Anforderung.

Pilzinfektionen der Haut und Hautanhangsgebilde

Abstriche sind i. d. R. zum Nachweis von Dermatophyten weniger geeignet. Hefepilze sind allerdings auch aus Abstrichmaterialien anzüchtbar.

Materialabnahme von der Haut

- Mykoseverdächtige Areale mit Mulltupfer (keine Watte) und 70%igem Ethanol desinfizieren. Alle Auflagerungen entfernen
- Mit Skalpell oder scharfem Löffel vom Rand des Herdes 20 – 30 Schüppchen ablösen und in steriles Behältnis ohne Medium geben

Materialabnahme vom Nagel

- Reinigung mit 70%igem Ethanol (gründlich, Entfernung aller bröckeligen Teile)
- Mit sterilem Skalpell oder scharfem Löffel Material aus der Nagelplatte (Rand der Läsion) und ggf. von den subungualen Hyperkeratosen ablösen und in steriler Petrischale oder sterilem Röhrchen einsenden

Materialabnahme bei Haarbefall

- Mit 70%igem Ethanol Krusten und Schuppen entfernen
- Einige besonders auffällige Haarstümpfe inclusive Haarwurzel mit Epilationspinzette entnehmen
- Die Haare zwischen zwei sterilen Glasobjektträgern in steriler Petrischale oder anderem Behältnis transportieren

MRSA- Methicillin-resistenter Staphylococcus aureus

Mikrobiologische Diagnostik

Kultureller Nachweis: Tupfer mit Transportmedium verwenden

Art des Screenings / Indikation	Screeningorte / Abstrichlokalisation
1) Kulturelles Screening zum Nachweis einer Kolonisierung bei bisher MRSA negativen Patienten oder unbekanntem MRSA-Status	1 Nasenabstrich (Nasenvorhöfe); 1 Rachenabstrich; ggf. Wundabstriche (auch Ulcera, ekzematöse Hautareale)
2) Kulturelles Screening (3 Serien) zur Aufhebung einer Isolierung z. B. nach Dekontamination	1 Nasenabstrich(Nasenvorhöfe) 1 Rachenabstrich; ggf. Wundabstriche (auch Ulcera, ekzematöse Hautareale); ggf. weitere vormals MRSA-positive Abstrichorte

Die kulturelle Screening.-Untersuchung auf MRSA dauert in der Rege im negativen Fall 2, im positiven Fall 3 Tage. Erstnachweise von MRSA werden telefonisch oder per Fax mitgeteilt.

Risikofaktoren für eine MRSA-Besiedlung sind laut Robert-Koch-Institut (2008)

1. Patienten mit bekannter MRSA-Anamnese
2. Patienten aus Regionen / Einrichtungen mit bekannt hoher MRSA.-Prävalenz
3. Patienten mit einem stationären Krankenhausaufenthalt (>3 Tage) in den zurückliegenden 12 Monaten
4. Patienten, die (beruflich) direkten Kontakt zu Tieren in der landwirtschaftlichen Tiermast (Schweine) haben
5. Patienten, die während eines stationären Aufenthaltes Kontakt zu MRSA Trägern hatten (z. B. bei Unterbringung im selben Zimmer)
6. Patienten mit zwei oder mehr der nachfolgenden Risikofaktoren:
 - chronische Pflegebedürftigkeit
 - Antibiotikatherapie in den zurückliegenden 6 Monaten
 - liegende Katheter (z. B. Harnblasenkatheter, PEG-Sonde)
 - Dialysepflichtigkeit
 - Hautulcus, Gangrän, chronische Wunden, tiefe Weichteilinfektionen
 - Brandverletzungen

Zum Nachweis ist ein Nasenabstrich / Rachenabstrich und ggf. Wundabstrich abzunehmen. Den Abstrich nur an der äußeren Nasenöffnung unter Drehen entnehmen, am Übergang von äußerer Haut zur Schleimhaut.

Unter laufender antibiotischer Therapie abgenommene Abstriche können u. U. falsch negativ ausfallen.

Die Kontrollen nach MRSA.-Dekontamination erfolgen mittels klassischer kultureller Untersuchung
Auf Anforderungsschein: MRSA.-Screening vermerken.

MRGN- Multiresistente gramnegative Stäbchen

Mikrobiologische Diagnostik - Übersicht Screening Erwachsene

Probenentnahme

Tupfer mit Transportmedium verwenden, bzw. eine Urinprobe.

Art des Screenings / Indikation	Screeningorte / Abstrichlokalisation
<p>1) Einzelne 4MRGN-Erreger: Indikation: Kontaktpatienten zu 4MRGN-Patienten oder früher 4MRGN-positive Patienten</p> <p>4MRGN <i>E. coli</i>, <i>Klebsiella</i> spp. 4MRGN <i>Enterobacter</i> spp., andere 4MRGN Enterobakterien</p> <p>4MRGN <i>P. aeruginosa</i></p> <p>4MRGN <i>A. baumannii</i></p>	<p>Rektalabstrich, ggf. Wundabstrich, Urin Rektalabstrich Rektalabstrich, Rachenabstrich</p> <p>Mund-Rachen-Raum, Haut (großflächig Leiste oder Oberarm mit einem Tupfer abstreichen)</p>
<p>2) Alle 4MRGN: Indikation: kürzlicher Kontakt zum Gesundheitssystem in Ländern mit endemischen Auftreten ODER stationärer Krankenhausaufenthalt (>3 Tage) in den zurück- liegenden 12 Monaten in einer Region mit erhöhter 4MRGN-Prävalenz</p>	<p>1 Rektalabstrich 1 Rachenabstrich, Urin, 1 Hautabstrich (großflächig Leiste oder Oberarm mit einem Tupfer abstreichen, ggf. Wundabstriche)</p>

Die Screening.-Untersuchung auf MRGN dauert in der Regel 2 – 3 Tage. 3MRGN und 4MRGN werden telefonisch / per Fax mitgeteilt. Falls unter bestimmten Bedingungen ein Screening auf 3MRGN gewünscht wird, erfolgt dies nach dem oben dargestellten Verfahren.

Mikrobiologische Diagnostik - Übersicht Screening Früh- und Neugeborene (Neoscreen)

Probenentnahme

Tupfer mit Transportmedium verwenden, bzw. eine Urinprobe.

Art des Screenings / Indikation	Screeningorte / Abstrichlokalisation
<p>MRGN-Erreger und andere 2MRGN NeoPäd, 3MRGN, 4MRGN, MRSA, VRE</p> <p>Nach Rücksprache erweitern auf: <i>Acinetobacter</i> spp. ohne MRGN-Eigenschaften <i>Klebsiella pneumoniae</i> ohne MRGN-Eigenschaften <i>S.aureus</i>, Methicillin-sensibel</p> <p>Nach Rücksprache erweitern auf: <i>Serratia marcescens</i> ohne spezielle Resistenzen <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ohne spezielle Resistenzen <i>Enterobacter</i> spp. ohne spezielle Resistenzen</p> <p>Alle Isolate:</p>	<p>1 Rektal- und Rachenabstrich, ggf. Wundabstriche, Trachealsekret</p> <p>1 Rektal- und Rachenabstrich, ggf. Wundabstriche, Trachealsekret</p> <p>1 Rektal- und Rachenabstrich, ggf. Wundabstriche, Trachealsekret</p>

Es wird ein wöchentliches Screening empfohlen, bei Ausbruchssituationen auch häufiger

VRE - Vancomycin-resistente Enterokokken

Mikrobiologische Diagnostik - Übersicht Screening

Probenentnahme

Tupfer mit Transportmedium verwenden, bzw. eine Stuhl- oder Urinprobe.

Art des Screenings / Indikation	Screeningorte / Abstrichlokalisation
Screening zum Nachweis einer Kolonisierung bei bisher VRE negativen Patienten oder unbekanntem VRE-Status. Mögliche Indikationen: Kontaktpatient, Screening bei Aufnahme in speziellen Risikobereichen (z. B. Hämato-Onkologie, Intensivstation).	1 Rektalabstrich
Screening zum Nachweis einer Kolonisierung bei Patienten mit VRE-Nachweis in der Anamnese oder bei Indexpatienten	1 Rektalabstrich ggf. Wundabstriche, Urin, Kolostoma in Abhängigkeit vom Primärnachweisort

Risikofaktoren für eine Kolonisation mit VRE

- Immunsuppression (Intensivstationen, Hämato-Onkologie, Transplantationsabteilungen)
- Vorausgegangene Antibiotikatherapie
- Übernahme aus Einrichtungen mit hoher VRE-Rate
- Intraabdominelle Operationen oder Herz-Thorax-Operationen
- Länger liegende Katheter (Urinkatheter, zentralvenöse Katheter)

Helicobacter pylori-Diagnostik



Abb. 10: Port-Pyl®-Transportmedium für Biopsien, Stuhlröhrchen mit Löffel und Umverpackung

Diagnostik

Eine Übersicht über die diagnostischen Verfahren für den Nachweis und die Resistenztestung von *H. pylori*:

Verfahren	Indikation	Beschreibung	Proben-Transport
Antigen-Nachweis im Stuhl (ELISA) monoklonale Antikörper	Diagnose der Infektion und Nachweis der Eradikation	- Einfache Proben-gewinnung - Kontrolle nach Eradikation frühestens 4 – 6 Wochen - Therapiekontrolle	Stuhlprobe - mindestens erbsengroß - Versand bei Raumtem- peratur (bis 2 Tage) oder gekühlt
Anzucht aus Magenbiopsie (Protonenpumpen-inhibitoren und Antibiotika 4 – 6 Wochen vorher absetzen)*	Antibiotikatestung (bei kulturellem Nachweis möglich), nach einmaligem Therapieversagen	Antibiotika: - Clarithromycin - Metronidazol - Amoxicillin - Levo-/Moxifloxacin - Tetracyclin - Rifabutin	Spezialtransportmediu m - Lagerung bei 2 – 8 °C (ohne Probe) - Transport der Probe bei Raumtemp. innerhalb von 24 Stunden.
Antikörpernachwei s im Serum (ELISA) IgG	Screening und Diagnose der Infektion (besonders bei Atrophie der Magenschleimhaut, Magenblutung, Therapie mit Protonenpumpeninhibitoren)	- über einen langen Zeitraum nachweisbar, deshalb nicht zur Therapiekontrolle geeignet	- Serum / Vollblut
Histologie*	Diagnose der Infektion	- Malignitätsprüfun g	- Biopsiematerial

Resistenztestung:*

Bezüglich der Resistenztestung von *H. pylori* sollte unterschieden werden zwischen der Erstdiagnose bei antimikrobiell nicht vorbehandelten Patienten und dem *H. pylori*-Nachweis bei Patienten mit einer bekannten *H. pylori* Infektion und bereits erfolgter antimikrobieller Therapie. Es wird empfohlen, nach dem ersten Therapieversagen eine Resistenzprüfung nach Anzucht des Erregers aus dem Biopsat durchzuführen.

Molekularbiologische Diagnostik

Dieses Kapitel befindet sich aktuell in Bearbeitung.

Antibiogramme Allgemeine Hinweise

Die Erstellung des Antibiogramms erfolgt als quantitative Mikrodilution und basiert auf der Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration (MHK). Zur klinischen Interpretation wird die ermittelte MHK dem mikrobiologischen Wirkprofil, der Kinetik, Toxikologie und klinischen Wirksamkeit des Antibiotikums gegenübergestellt. Daraus ergibt sich die Eingruppierung in einen Empfindlichkeitsbereich. Wir testen nach der europäischen Norm EUCAST, nur in Einzelfällen nach anderen Normen (z. B. CLSI).

- sensibel (S) = empfindlich:
Therapieerfolg zu erwarten mit üblicher Dosierung bei geeigneter Indikation.
- intermediär (I) = mäßig empfindlich:
Therapieerfolg nur bedingt zu erwarten unter Berücksichtigung spezieller Kriterien (Infektionslokalisierung, medizinisch vertretbare Höchstdosierung u.a.).
- resistent (R) = unempfindlich:
Therapieerfolg nicht zu erwarten, auch nicht mit zugelassener Höchstdosierung

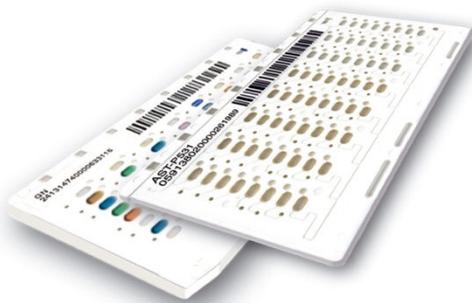


Abb.11: Vitek®-Karten für die automatisierte biochemische Identifizierung/Resistenztestung (www.biomerieux.com)

Lagerung v. Untersuchungsmaterialien bis zur Abholung

	Kühlschrank	Raumtemperatur
Abstriche im Transportmedium	•	•
Trachealsekret, Bronchialsekret	•	
Bronchiallavage	•	
Sputum	•	
Blutkulturen		•
Liquor nativ & in Blutkulturflasche (so schnell wie möglich ins Labor)		•
Urin	•	
Stuhl	•	
Biopsien	•	
Punktate (so schnell wie möglich ins Labor)		•

Achtung: Die Nachweisraten empfindlicher Erreger (z. B. Pneumokokken, Meningokokken oder Gonokokken) werden durch Lagerzeiten > 4 h vermindert.

Literaturverzeichnis

MiQ; Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik. Im Auftrag der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM). Herausgeber: A. Podbielski, M. Abele-Horn, M. Herrmann,

E. Kniehl, H. Mauch, H. Rüssmann. Folgende Ausgaben:

- Nukleinsäure-Amplifikationstechniken
- Harnwegsinfektionen
- Blutkulturdiagnostik - Teil I
- Blutkulturdiagnostik - Teil II
- Parasitosen
- Tuberkulose, Mykobakteriose
- Infektionen der Haut und der subkutanen Weichteile
- Infektionen der tiefen Atemwege, Teil I
- Infektionen der tiefen Atemwege, Teil II
- Infektionen des Darmes
- Genitalinfektionen, Teil I. Infektionen des weiblichen und des männlichen Genitaltraktes
- Genitalinfektionen, Teil II. Infektionserreger
- Lyme-Borreliose
- Infektionen des Mundes und der oberen Luftwege
- Pilzinfektionen, Teil I Präanalytik, Analytik
- Pilzinfektionen, Teil II Spezielle Pilzdiagnostik
- Syphilis
- Infektionen des Zentralnervensystems
- Infektionen der Knochen und des Knorpels, Teil I: Untersuchungsgang und Nachweismethoden
- Infektionen der Knochen und des Knorpels, Teil II: Therapieprinzipien und Fragestellungen
- Sicherheit im mikrobiologisch-diagnostischen Labor, Teil I: Laborinfektionen - Gesetzliche Regelungen
- Sicherheitsmanagement
- Sicherheit im mikrobiologisch-diagnostischen Labor, Teil II: Räumlichkeiten, Transport und Versand
- Erste Hilfe
- Krankenhaushygienische Untersuchungen, Teil I
- Krankenhaushygienische Untersuchungen, Teil II
- Atemwegsinfektionen bei Mukoviszidose
- Diagnostik von Infektionen der Leber

Cumitech 1C: Weinstein MP, Dunne WM, Yagupsky P. Coordinating Editor: Baron EJ Blood Cultures IV, 2005 Cumitech 2B: Laboratory Diagnosis of Urinary Tract Infections, March 1998 Cumitech 12A: Gilligan PH, Janda JM, Karmali MA, Miller JM. Coordinating Editor: Nolte FS Laboratory Diagnosis of Bacterial Diarrhea, April 1992 Cumitech 17A: Baron EJ, Cassell GH, Dufly LB, Eschenbach DA, Greenwood JR, Harvey SM, Madinger NE, Peterson EM, Waites KB. Coordinating Editor: Baron EJ Laboratory Diagnosis of Female Genital Tract Infections, June 1993

Bowler PG, Duerden BI, Armstrong DG. Wound Microbiology and Associated Approaches to Wound Management. Clin Microbiol Rev 14: 244 – 269. (2001) Eigner U, Caganic A., Fahr A. Prevalence of Antibiotic resistance of Helicobacter pylori in patients with Eradication failure. Poster presentation at the DGHM Berlin (2000) Isenberg HD (ed). Clinical Microbiology Procedures Handbook, ASM Press, Washington D. C. (1992)

KistM.S3-Leitlinie „Helicobacter pylori und gastroduodenale Ulkuskrankheit“- eine neue Herausforderung für die mikrobiologische Diagnostik, Mikrobiologe 20: 41 (2010) Nugent RP, Kohn MA, Hillier SL. Reliability of Diagnosing Bacterial Vaginosis is Improved by a Standardized Method of Gram Stain Interpretation. J Clin Microbiol 29:297 – 301 (1991) Murray PM, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover

FC, Yolken RH (ed). Manual of Clinical Microbiology, 8th Edition, 9th Edition. American Society for Microbiology, (2003, 2007) Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain CA et al. 2012. Management of Helicobacter pylori infection. The Maastricht IV/ Florence Consensus Report. Gut 61: 646 Neumeister B, Geiss HK, Braun RW, Kimmig P. Mikrobiologische Diagnostik. Thieme Verlag (2009) Seebacher C, Brasch J, Abeck D, Cornely O, Effendy I, Ginter-Hanselmayer G, Haake N, Hamm G, Hipler UC, Hof H, Kort-Ing H-C, Maysen P, Ruhnke M. Schlacke KH, Tietz HJ. Onychomycosis. Mycoses 50, 321 – 327 (2007) Versalovic et al. Manual of Clinical Microbiology 11th Edition. American Society for Microbiology (2015)

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Blutkulturmedien: aerobe und anaerobe Flasche	7
Abb. 2: Steriles Röhrchen.....	10
Abb. 3: Steriles Sputumröhrchen.....	11
Abb. 4: Universal-Abstrich-Set eSwab™ mit Transportmedium für kulturelle Untersuchungen und NAT	13
Abb. 5: Steriles Röhrchen, gr. steriles Röhrchen, Abstrichtupfer.....	14
Abb. 6: steriles Röhrchen (30 ml) und Blutkulturflaschen	15
Abb.7: Urin-Monovetten mit (grün) und ohne (gelb) Borsäurezusatz	20
Abb. 8: Stuhlröhrchen mit Löffel und Umverpackung.....	21
Abb. 9: Aspergillus fumigatus	27
Abb. 10: Port-Pyl®-Transportmedium für Biopsien, Stuhlröhrchen mit Löffel und Umverpackung	31
Abb. 11: Vitek®-Karten für die automatisierte biochemische Identifizierung/Resistenztestung	33

www.labor-stein.de

Befundauskunft Mikrobiologie : 02161/ 81 94 -200

Ärztliche Beratung Mikrobiologie : 02161/ 81 94 -300



Labor Mönchengladbach
MVZ Dr. Stein + Kollegen

Praktische Hinweise zur Präanalytik in der Mikrobiologie

Ausgabe 1

November 2017

Erstellt durch: Labor MVZ Westmecklenburg

Bearbeitet durch: Labor MVZ Dr. Stein + Kollegen

Mönchengladbach, im November 2017