

Präanalytik Bakteriologie

Version 03/März 2015

Inhalt

1	Allgemeine Hinweise	2
2	Probenlagerung	3
3	Blutkulturen	4
4	Katheterspitzen	6
5	Liquor-Proben.....	7
6	Sputum, Tracheal- und Bronchialsekrete	8
7	Rachenabstrich, Nasenabstrich, Ohrabstrich.....	10
8	Materialien aus Wunden, infektiösen Prozessen, primär sterilen Körperregionen	12
9	Materialien des Urogenitaltraktes.....	13
10	Urindiagnostik	14
11	Stuhldiagnostik.....	16
12	Dermatophyten	18
13	Tuberkulose / Mykobakteriosen	19
15	Postversand von Proben.....	20
16	Nachforderungen	20

1 Allgemeine Hinweise

Untersuchungsmaterial zum Erregernachweis sollte möglichst gezielt vom Infektionsort und möglichst ohne Kontamination entnommen werden. Diagnostisch ideal ist solches Material, das direkt aus physiologischerweise sterilen Körperbereichen entnommen werden kann. Die Probe sollte, wenn möglich, vor dem 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 Anforderungsschein zu vermerken:

- Ø Art der Patientenprobe /Entnahmeort
- Ø gewünschte Untersuchung
- Ø Bei mehreren Proben eines Patienten gewünschte Untersuchung(en) bitte eindeutig vermerken. Aus welchen Proben, welche Untersuchungen durchgeführt werden soll.
- Ø Entnahmezeitpunkt, Datum und Uhrzeit
- Ø klinische (Verdachts-)Diagnose, Symptomatik in Stichworten
- Ø Vorbehandlung, Angaben zur antimikrobiellen Therapie
- Ø Grunderkrankung (z.B. Karzinomkrankung, Immunsuppression)
- Ø Umgebungs- und Reiseanamnese

Das Material mit Patientennamen und/oder ID-Nummer kennzeichnen!

Allgemeiner Untersuchungsauftrag:

Bakterien + Resistenz:

Die Probe wird mittels Kultur (und ggf. mit Mikroskopie), bei Wachstum (fakultativ) pathogener Bakterien einschließlich Keimdifferenzierung und Antibiogramm, untersucht.

Ausdrücklich anzufordernde spezielle Untersuchungen sind unter anderem:

- Ø Hefen/Pilze
- Ø Neisseria gonorrhoeae
- Ø Tbc
- Ø Aktinomycceten
- Ø Mykoplasmen
- Ø Chlamydien
- Ø Legionellen
- Ø Diphtherie
- Ø Pertussis
- Ø virale Erreger
- Ø Pneumocystis jiroveci
- Ø Parasiten
- Ø Cholera
- Ø Clostridium difficile
- Ø Untersuchung auf Angina-Plaut-Vincent

2 Probenlagerung

	Kühlschrank	Raumtemperatur	Brutschrank
Abstrich im Transportmedium		X	
Tracheal-Bronchial-Sekret, Bronchial-Lavagen, Sputum	X		
Punktate		X (nur bei verzögertem Transport in Blutkulturflasche)	
Liquor		X (schnellstmöglich ins Labor, nur bei verzögertem Transport in Blutkulturflasche)	
Blutkultur		X	
Urineintauchmedium (Uricult)			X
Urin	X	X (im Stabilisatorröhrchen)	
Stuhl	X Die Stuhlprobe sollte wegen empfindlicher Erreger wie Shigellen, Campylobacter innerhalb von 24h verarbeitet werden können. Eine Lagerung der Stuhlprobe über das Wochenende ist zu vermeiden.		
Dermatophytenmaterial		X	

3 Blutkulturen

3.1 Allgemeines

- Ø Blutkulturflaschen lichtgeschützt bei Raumtemperatur lagern.
- Ø Blutkulturflasche mit Patientendaten kennzeichnen. Die Blutkultur muss beim Beimpfen Raumtemperatur haben.
- Ø Die telefonische Direktdurchwahl auf dem Auftragschein angeben.
- Ø **Bitte den Barcode auf den Flaschen nicht überkleben.**
- Ø Das Entnahmedatum auf dem Anforderungsschein vermerken. Bei einer Überschreitung der zulässigen Lager- bzw. Transportzeit von 20 Stunden ist eine zuverlässige Diagnostik mittels Blutkulturautomaten nicht mehr sichergestellt. Die Blutkulturflaschen müssen in diesen Fällen zusätzlich manuell subkultiviert werden.

3.2 Entnahmezeitpunkt

Es wird empfohlen Blutkulturen unabhängig von einer bestimmten Fieberhöhe unmittelbar bei Auftreten einer auf Sepsis hindeutenden klinischen Symptomatik abzunehmen, z.B. bei Auftreten von Schüttelfrost.

Die Abnahme sollte möglichst **vor Beginn einer Antibiotikatherapie** erfolgen, **alternativ** sollte die Entnahme **unmittelbar vor Applikation der nächsten Antibiotikadosis** erfolgen.

Blutvolumen

Erwachsene: 10ml je in die aerobe und anaerobe Blutkulturflasche füllen

Kinder über 20 kg: 5ml je in die aerobe und anaerobe Blutkulturflasche füllen, hierzu werden die für Erwachsene üblichen Blutkulturflaschen verwendet.

Kinder unter 20 kg (auch Früh- und Neugeborene): Je nach Körpergewicht zwischen 0,5ml und 4ml in spezielle Pädiatrie-Flaschen füllen, welche für ein geringeres Blutvolumen ausgelegt sind. Bei Früh- und Neugeborenen ist meist nur die Entnahme einer aeroben Flasche möglich. (Die Nachweisrate von anaeroben Keimen bei Kindern liegt bei nur 1-2% aller positiven Blutkulturen.)

3.3 Anzahl der Blutkulturen

Bei Jugendlichen und Erwachsenen sollten **mindestens 2 bis maximal 4 Blutkultursets (aerobe und anaerobe Flasche)** entnommen werden, die **durch getrennte Punktion** zu gewinnen sind. Durch die getrennte Punktion wird verhindert, dass Mikroorganismen, die aufgrund einer Kontamination bei der Entnahme in die Blutkultur gelangen, in allen Blutkultursets nachzuweisen sind und so fälschlicherweise einen relevanten Erregernachweis suggerieren können. Durch die Entnahme mehrerer Blutkultursets zum gleichen Zeitpunkt wird die Sensitivität der Blutkulturdiagnostik erhöht.

Ein zeitlicher Mindestabstand zwischen der Entnahme mehrerer Blutkulturflaschen ist in der Regel nicht erforderlich.

Die Entnahme mehrerer Blutkultursets über einen Zeitraum von mehreren Stunden kann bei Bakteriämien ebenso die Sensitivität erhöhen.

3.4 Entnahmetechnik

Die Plastikkappen von den Blutkulturflaschen entfernen.

Die Blutentnahme erfolgt üblicherweise mit einer sterilen Spritze mittels großlumiger Kanüle.

Bei der Blutentnahme ist ein aseptisches Vorgehen mit hygienischer Händedesinfektion der entnehmenden Person, die Verwendung von Einmalhandschuhen, die Hautdesinfektion der Punktionsstelle mit einer Einwirkzeit von 60 Sekunden und die Desinfektion der Gummikappe der Blutkulturflasche, zur Vermeidung von Kontaminationen, unbedingt erforderlich. (Bevor die Blutkulturflaschen beimpft werden, sollte das Desinfektionsmittel am Gummistopfen der Flasche getrocknet sein.)

Die Blutentnahme erfolgt üblicherweise durch Punktion einer peripheren Vene, meist der Vena cubitalis in der Ellenbeuge. Die Punktionsstelle sollte nach der Hautdesinfektion nicht erneut palpirt werden. Die Abnahme einer arteriellen Blutkultur bringt keine Vorteile.

Ein intravaskulärer Katheter oder ein Portsystem kommt als alleiniger Entnahmeort nur ausnahmsweise infrage, da hier mit einer erheblich höheren Kontaminationsrate zu rechnen ist.

(Außer bei Neugeborenen, hier kommt die Entnahme über einen Nabelarterien- oder Nabelvenenkatheter infrage.) Bei Verdacht auf eine **Katheterinfektion** empfiehlt sich die parallele Abnahme einer peripheren und einer zentral über den Katheter entnommenen Blutkultur.

Ein Eindringen von Luft aus der Spritze in die anaerobe Blutkulturflasche ist zu verhindern.

Im Anschluss an die Beimpfung sollten die Blutkulturflaschen kurz geschwenkt werden, um eine Durchmischung von Blut und Kulturmedium zu gewährleisten und ein Gerinnen des Blutes zu verhindern.

3.5 Lagerung /Transport der beimpften Blutkulturflaschen

Die beimpften Blutkulturflaschen sollten **bei Raumtemperatur, bis zum Abtransport ins Labor, gelagert werden**. Eine Abkühlung unter Raumtemperatur sollte vermieden werden. Die Blutkulturen sollten **schnellstmöglich**, zumindest **innerhalb von 16h bis max. 20h im Labor** sein.

4 Katheterspitzen

4.1 Entnahme

Insertionsstelle desinfizieren, Katheter ziehen, Spitze (ca. 4-6 cm) abschneiden und in ein steriles Gefäß geben.

4.2 Transportgefäße

Gefäß ohne Nährbouillonzusatz: Bei der Anlage ist eine semiquantitative Aussage über die Keimzahl möglich.

Nachteil: Empfindliche Bakterien können evtl. den Transport nicht überleben.

Gefäß mit Nährbouillon: Alle Keime können angezüchtet werden.

Nachteil: eine semiquantitative Aussage ist nicht möglich.

5 Liquor-Proben

5.1 Entnahme

Liquorentnahme muss unter streng aseptischen Kautelen erfolgen. Arzt und Assistenzpersonal sollten zur Vermeidung einer Tröpfcheninfektion eine OP-Schutzmaske tragen. Punktionsstelle sorgfältig desinfizieren, 2 Minuten Einwirkzeit.

Hinweis: Bei Vorliegen eines septischen Krankheitsbildes empfiehlt sich die zusätzliche Entnahme von Blutkulturen.

In dringenden Fällen bitte telefonische Ankündigung der Probe insbesondere am Wochenende.

5.2 Probentransport

Schnellstmöglicher Transport ins Labor erforderlich, bis dahin Lagerung bei Raumtemperatur. In Ausnahmefällen, bei verlängerter Lager- bzw. Transportdauer 1-2 ml Liquor in Blutkulturflaschen füllen. Ggf. in Wärmebehältern transportieren. Bei Liquor in Blutkulturflaschen kann kein Antigen-Schnelltest und kein Präparat durchgeführt werden. Es ist zu empfehlen 1 Teil der Liquorprobe nativ in einem sterilen Röhrchen und ein Teil in einer Blutkulturflasche zu versenden.

Sterile Probentransportröhrchen verwenden.

Der Antigen-Schnelltest aus Liquor erfasst folgende Erreger:

- N.meningitidis Typ A,B, C, Y, W 135
- H. influenzae Typ b
- S. pneumoniae
- haem. Streptokokken der Gruppe B
- E.coli Typ K1

5.3 Lagerung der Probe

- Ø bei Raumtemperatur
- Ø schnellstmöglicher Transport in das Labor, nur bei verzögertem Transport in Blutkulturflasche einbringen

6 Sputum, Tracheal- und Bronchialsekrete

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 jiroveci) geeignet sind: Tracheal- und Bronchialsekret, wenn es gezielt bronchoskopisch oder mittels geschützter Bürste entnommen wird.

6.1 Sputum

6.1.1 Probenentnahme

Möglichst Morgensputum verwenden. Eitriges Sputum ist am aussagekräftigsten.

Das Material sollte aus der Tiefe abgehustet werden. Die Patienten müssen entsprechend aufgeklärt werden.

Für die Proben entsprechende, festzuschließende Gefäße mit Umhüllung verwenden.

Patientenanleitung:

Tief ein- und ausatmen. Nach jedem Einatmen den Atem für ca. 3-5 Sekunden anhalten. Diesen Vorgang möglichst wiederholen (Sputumproduktion wird angeregt).

Erneut tief Luft holen und Sputum abhusten.

Gelingt es nicht, eine entsprechende Probe zu entnehmen, kann mit Inhalation von 15% NaCl oder mit Mukolytika nachgeholfen werden.

6.1.2 Probenlagerung

Bis zum Transport bei 4 - 8°C lagern. Es ist zu beachten, dass einige Mikroorganismen wie Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae gegenüber Kühlung und Lagerung sehr empfindlich sind. Zusätzlich kann sich das Mengenverhältnis der in der Probe enthaltenen Keime verschieben. (Überwucherung und Hemmung durch Keime der Normalflora.) Optimale mikrobiologische Untersuchungsergebnisse sind daher nur bei kürzeren Transport- und Lagerzeiten möglich.

6.1.3 Hinweise

Kultur: Die Angabe der Keime erfolgt semiquantitativ. Trotz optimaler Probenentnahme ist es wegen der regelmäßigen Speichelbeimengungen oft schwierig, aussagekräftige Befunde zu erheben.

Eignung der Probe/Mikroskopie: Gut geeignete Proben sollten weniger als 10 Plattenepithelzellen und mehr als 25 Leukozyten pro Gesichtsfeld enthalten. Klassifizierung der zytologischen Untersuchung zur Bewertung von Sputumproben (modifiziert nach Barlett et al. [5])

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, da hierbei auch eine Anlage auf Anaerobier erfolgt, die bei anderen Fragestellungen nicht indiziert ist.

Die Diagnose "**Mukoviszidose**" sollte ebenfalls gesondert vermerkt werden. Es erfolgt eine gesonderte Anlage der Probe auf Selektivnährmedien und eine verlängerte Bebrütungszeit.

6.2 Tracheal-/Bronchialsekret

6.2.1 Entnahme

Trachealsekret möglichst unmittelbar nach Wechsel des Trachealtubus, mittels eines sterilen Katheters entnehmen. Möglichst aus den tieferen Abschnitten des Bronchialbaumes aspirieren. Eventuell den Absaugkatheter abschneiden und im sterilen Gefäß einschicken. Bis zum Transport bei 4 - 8°C lagern.

Bronchialsekret über einen Arbeitskanal des Bronchoskops aus einem größeren Bronchus aspirieren.

6.2.2 Probenlagerung

Bis zum Transport bei 4 - 8°C lagern. Es ist zu beachten, dass einige Mikroorganismen wie *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* gegenüber Kühlung und Lagerung sehr empfindlich sind. Zusätzlich kann sich das Mengenverhältnis der in der Probe enthaltenen Keime verschieben (Überwucherung und Hemmung durch Keime der Normalflora.) Optimale mikrobiologische Untersuchungsergebnisse sind daher nur bei kürzeren Transport- und Lagerzeiten möglich.

6.3 Bronchoskopische Materialgewinnung (BAL und PSB-geschützte Bronchialbürste)

6.3.1 Entnahme

Angesammeltes Sekret im Nasen-, Rachenraum sollte vor der Bronchoskopie abgesaugt werden.

6.3.2 Probenlagerung

Bis zum Transport bei 4 - 8°C lagern. Es ist zu beachten, dass einige Mikroorganismen wie *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* gegenüber Kühlung und Lagerung sehr empfindlich sind. Zusätzlich kann sich das Mengenverhältnis der in der Probe enthaltenen Keime verschieben (Überwucherung und Hemmung durch Keime der Normalflora.) Optimale mikrobiologische Untersuchungsergebnisse sind daher nur bei kürzeren Transport- und Lagerzeiten möglich.

6.4 Spezielle Erreger extra anzufordern:

Folgende Untersuchungen sind **nicht** in der Anforderung "path. Bakterien" enthalten und müssen gezielt angefordert werden:

- Ø **Hefen/Pilze**
- Ø **Chlamydia pneumoniae:** PCR-Diagnostik aus dem Sekret der oberen Luftwege
- Ø **Legionella spp.:** Kulturelle Anzucht (ca. 5 - 10 Tage) aus dem Sekret der oberen Luftwege, Antigen-Test im Urin
- Ø **Mycoplasma pneumoniae:** PCR (bleibt über einen längeren Zeitraum positiv)
- Ø **Pneumocystis jiroveci (früher Pneumoc. carinii):** Bronchiallavage (5-10 ml), mit Einschränkung auch provoziertes Sputum per PCR.
- Ø **RS Virus:** Mittels Antigen-Schnellnachweis oder PCR
- Ø Nasopharyngealabstriche (möglichst im eSwab mit flüssigem Universalmedium), Spülflüssigkeiten, Aspirate.
- Ø (Spülflüssigkeiten und Aspirate erweisen sich geeigneter als Abstriche.)
Im Zusammenhang mit der Untersuchung auf allgemeine Bakterien und Resistenzbestimmung extra Abstrich einsenden, wenn Abstriche mit gelartigem Amies-Transportmedium eingesetzt werden!
- Ø **Influenza A+B Virus:** Mittels Antigen-Schnellnachweis (Der Schnelltest ist nur begrenzt aussagekräftig, sensitiver ist die Untersuchung mittels PCR!)
Nasopharyngeal-, Nasenmuschel-, Rachenabstriche (möglichst im eSwab mit flüssigem Universalmedium), Spülflüssigkeiten, Aspirate, erweisen sich geeigneter als Abstriche.
Im Zusammenhang mit der Untersuchung auf allgemeine Bakterien und Resistenzbestimmung extra Abstrich einsenden wenn Abstriche mit gelartigem Amies-Transportmedium eingesetzt werden!
- Ø **Tuberkulose und atypische Mykobakterien** (weitere Angaben extra unter Tuberkulose / Mykobakteriosen)

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

7 Rachenabstrich, Nasenabstrich, Ohrabstrich

7.1 Rachenabstrich

Entnahme bei der Untersuchung auf allgemeine Bakteriologie, hämolysierende Streptokokken:

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

7.2 Nasenabstrich

Entnahme:

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

Nasopharyngealabstrich auf Pertussis:

Untersuchung mittels PCR. (Die Sensitivität der PCR ist der kulturellen Anlage deutlich überlegen.)

7.3 Ohrabstriche, Nasennebenhöhlen

Ohrmuschel desinfizieren, Tupferabstrich unter Sicht von den Läsionen oder vom Exsudat entnehmen und im Transportmedium einsenden.
Spülflüssigkeit wird nativ im sterilen Röhrchen eingesandt.

7.4 Lagerung

Abstriche mit Transportmedium bei Raumtemperatur lagern.

Diese Untersuchungen sind auf dem Begleitschein extra anzufordern:

- Ø **Hefen**
- Ø **Angina Plaut-Vincent** aus Rachenabstrich
- Ø **Diphtherie:** Sekret unter der abgehobenen Pseudomembran entnehmen oder ggf. vom Kehlkopf.
- Ø **RS Virus:** Mittels Antigen-Schnellnachweis oder PCR.
Nasopharyngealabstriche (möglichst im eSwab mit flüssigem Universalmedium) oder Spülflüssigkeiten, Aspirate.
(Spülflüssigkeiten und Aspirate erweisen sich geeigneter als Abstriche.) Im Zusammenhang mit der Untersuchung auf allgemeine Bakterien und Resistenzbestimmung extra Abstrich einsenden, wenn Abstriche mit gelartigem Amies-Transportmedium eingesetzt werden!
- Ø **Influenza A+B Virus:** Mittels Antigen-Schnellnachweis (Der Schnelltest ist nur begrenzt aussagekräftig, sensitiver ist die Untersuchung mittels PCR!)
Nasopharyngeal-, Nasenmuschel-, Rachenabstriche (möglichst im eSwab mit flüssigem Universalmedium), Spülflüssigkeiten, Aspirate, erweisen sich geeigneter als Abstriche.
Im Zusammenhang mit der Untersuchung auf allgemeine Bakterien und Resistenzbestimmung extra Abstrich einsenden wenn Abstriche mit gelartigem Amies-Transportmedium eingesetzt werden!

8 Material aus Wunden, infektiösen Prozessen, primär sterilen Körperregionen

Klinische Angaben: Bei Wundinfektionen sollte auf dem Überweisungsschein folgendes vermerkt werden:

Die genaue Materialbezeichnung z.B.:

- intraoperative Wunde oder oberflächliche Wunde
- nekrotisierende Entzündungen
- Bisswunde
- Verbrennungswunde
- diabetische Wundinfektion
- Dekubitus

8.1 Eiter und Flüssigkeiten aus primär sterilen Körperhöhlen (Gelenke, Pleura, Pericard, Peritoneum)

Die Punktion muss unter streng aseptischen Kautelen vorgenommen werden.

Wenn ein schneller Transport ins Labor nicht gewährleistet ist, 2 Blutkulturen beimpfen (aerob und anaerob). Das genaue Prozedere siehe unter Blutkulturen. Grampräparat wird nur bei Nativmaterial durchgeführt.

Blutkulturflaschen bis zum Transport bei Raumtemperatur aufbewahren.

8.2 Material aus geschlossenen Infektionsprozessen und Abszessen

Perkutane Punktion des Abszesses, möglichst vor einer chirurgischen Eröffnung. Erregerhaltiges Material wird vor allem in den Randbereichen von Eiterungen angetroffen. Material, nach Desinfektion der Punktionsstelle, mit der Spritze entnehmen und in ein Port-a-Cul-Röhrchen oder Abstrich mit Transportmedium geben.

8.3 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 Abstrich mit Transportmedium eingeschickt. Bei trockenen Wunden Tupfer mit steriler NaCl-Lösung oder dem im Abstrich enthaltenen Transportmedium anfeuchten.

8.4 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.

8.5 intraoperativ entnommenes Material

Gewebe im Port-a-Cul-Medium einschicken, bei schnellem Transport ist auch ein Versand mit 1-2 ml steriler 0,9% NaCl-Lösung möglich.

Bei der Verwendung von Abstrichtupfern, soviel Material wie möglich entnehmen.

8.6 Auf dem Begleitschein extra anzufordern sind:

- Ø Hefen
- Ø Actinomyceten

9 **Genitalabstriche**

Je nach Lokalisation der Genitalinfektion wird beim Mann in erster Linie Urethralsekret, ggf. auch Prostatasekret oder Ejakulat untersucht, bei der Frau außer Urethral-, Vaginal- oder Zervixsekret, ggf. operativ entnommener Eiter. Für die allgemeine Bakteriologie Abstriche mit Transportmedium benutzen, je nach Körperöffnung mit dünnem oder dickem Tupfer. Die Sekrete müssen gezielt aus dem Infektionsbereich, also möglichst ohne Kontamination mit der Normalflora der Genitalschleimhäute gewonnen werden.

9.1 **Urethralsekret**

Am besten morgens noch vor der ersten Miktion. Nach vorsichtiger Reinigung der Harnröhrenmündung (siehe auch bei Urin) wird die Harnröhre von hinten nach vorn ausgestrichen und das austretende Sekret mit einem Abstrichtupfer aufgenommen. Erscheint kein Sekret, wird der Tupfer vorsichtig ca. 2 cm in die Urethra vorgeschoben und langsam gedreht.

9.2 **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.

9.3 **Zervix-/Vaginalsekret**

Wird nach Spekulum-Einstellung gezielt mit einem Abstrichtupfer entnommen (keine Gleitmittel mit antibakteriellen Zusätzen verwenden!)

Auf dem Begleitschein extra anzufordern sind:

Ø **Hefen**

Ø **Mikroskopie bakterielle Vaginose = Reinheitsgrad**

Es wird ein mikroskopisches Präparat auf einem sterilen Objektträger angefertigt und nach Nugent, R.P. et. al beurteilt.

Ø **Mykoplasmen**

Ureaplasma spp./Mycoplasma hominis kulturelle Untersuchung oder mittels PCR. Geeignet sind Urethralabstriche, Tubenabstriche durch Laparoskopie gewonnen, geschützte Endometriumabstriche. Möglichst zellhaltiges Material abnehmen! Im Zusammenhang mit der Untersuchung auf allgemeine Bakterien und Resistenzbestimmung extra Abstrich einsenden, wenn Abstriche mit gelartigem Amies-Transportmedium eingesetzt werden! Mit dem eSwab, mit flüssigem Transportmedium, ist dagegen nur ein Abstrich nötig.

Wird die Untersuchung mittels PCR auf Mykoplasmen/Ureaplasmen, Chlamydien und Neisseria gonorrhoeae gewünscht, sind diese 3 Untersuchungen aus einem Abstrich möglich.

Ø **Neisseria gonorrhoeae:** Urethral-, Zervikal-, Tuben-, Rektal-, Rachen- und Konjunktivalabstriche

Ø **Chlamydien:** Abstriche und/oder Urin für PCR

Ø **Trichomonaden:** mittels PCR (keine Kassenleistung!)

Ø **Treponema pallidum:** PCR und Serologie

10 Urindiagnostik

10.1 Mittelstrahlurin

Damit die Erreger im Blasenurin möglichst hohe Keimzahlen erreichen (Abgrenzung gegen Kontaminanten), sollte die Urinentnahme frühestens 3-5 Stunden nach der letzten Miktion erfolgen, in der Regel ist dies der erste Morgenurin.

Beim Mann: Hände und Vorhaut mit Seife waschen. Vorhaut zurückziehen, Eichel mit milder Seifenlösung waschen, mit frischem Wasser spülen, mit sauberem Tupfer trocknen. Das 1. Urindrittel ablaufen lassen, dann, ohne den Harnstrahl zu unterbrechen, 10 - 20 ml in sterilem Gefäß auffangen.

Bei der Frau: Eventuell Hilfsperson erforderlich. Äußeres Genitale und den Damm gründlich mit Seife waschen, mit Wasser abspülen. Nach Spreizen der Labien Urethralmündung und Umgebung mit 3 feuchten sterilen Tupfern reinigen, mit einem vierten sterilen Tupfer trocknen. Weiteres Vorgehen wie beim Mann. Das 1. Urindrittel ablaufen lassen, dann, ohne den Harnstrahl zu unterbrechen, 10 - 20 ml in sterilem Gefäß auffangen.

10.2 Katheterurin

Morgens, bzw. frühestens 3-5 Stunden nach der letzten Miktion. Wie beim Mittelstrahlurin gründliche Reinigung der Urethralmündung und Umgebung. Die erste Urinprobe wird analog der des Mittelstrahlurins verworfen, die spätere Urinprobe wird aufgefangen. 10-20 ml Katheterurin in sterilem Gefäß auffangen. Wenn Dauerkatheter liegt (nur in Ausnahmefällen indiziert), Urin direkt aus dem (zuvor desinfizierten) Katheter, nicht aus dem Auffangbeutel entnehmen.

10.3 Punktionsurin

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 Anforderungsschein vermerken, da jede Keimzahl als diagnostisch signifikant anzusehen ist.

10.4 Untersuchung auf Trichomonaden (bitte gesondert anfordern)

Da Trichomonaden sehr schnell absterben und sehr temperaturempfindlich sind, ist für diese Untersuchung **noch körperwarmer, frischer Urin** notwendig.

Wenn die Mikroskopie auf Trichomonaden nicht direkt in der Arztpraxis erfolgen kann, empfehlen wir die Urinentnahme direkt im Labor München Zentrum.

Urintransportgefäße

Folgende Transportgefäße stehen zur Verfügung:

- Ø **Eintauchnährböden** (nur bedingt geeignet)
- Ø **Urinröhrchen mit Stabilisator** (Sarstedt-Urinmonovette mit Stabilisator für 10 ml Nativurin): Die Keimzahl bleibt ca. 48 Stunden konstant. Bis zum Transport bei Raumtemp. oder im Kühlschrank lagern.

Handhabung der Urinröhrchen mit Stabilisator

10ml +/-10% Urin einfüllen, gut verschließen und mehrmals über Kopf schwenken.

Handhabung der Urintauchkulturen:

Urintauchkulturen sind ein Screening mit begrenzter Aussagekraft, es sollte bedacht werden, dass durch Resturin im Röhrchen der Tauchkulturen und falsche Eintauchtechnik erhebliche Fehlerquellen entstehen können (z.B. Verfälschung der Keimzahl). Anspruchsvolle Keime, wie z.B. hämolysierende Streptokokken, einige Acinetobacter spp. oder durch Chemotherapie anbehandelte Keime mit „Zwergkolonien“, wachsen nicht an.

Negative Ergebnisse schließen bakterielle Infektionen nicht aus, hierzu ist das Screening zu wenig spezifisch und zu wenig sensibel.

1. Kontrollieren ob der Nährboden in einwandfreiem Zustand ist. (Nährböden dürfen nicht eingetrocknet sein. Verfallsdatum und zulässige Lagertemperatur beachten.)
2. Es wird empfohlen den Urin in einem gesonderten Uringefäß aufzufangen. (Der Urin sollte nicht in das Gefäß des Nährbodenträgers gefüllt werden, da sonst zu viel Urinflüssigkeit zurückbleibt und die Keimzahl verfälscht wird bzw. nicht interpretiert werden kann.)
3. Schraubdeckel öffnen und den Nährbodenträger aus dem Kunststoffröhrchen nehmen, ohne die Gräflichen zu berühren.
4. Nährbodenträger 3mal in den frisch gewonnen Urin eintauchen, dass die Nährbodenflächen vollständig mit Urin benetzt werden. Wenn nicht genügend Urin vorhanden ist, können die Nährbodenflächen mit Urin sorgfältig überflutet werden.
5. Überschüssigen Urin vom Nährbodenträger am Rande des Auffangbechers abstreifen.
6. Die letzten Tropfen Urin mit einem sauberen Filterpapier vom unteren Rand des senkrecht gehaltenen Nährbodenträgers absaugen. Es darf kein überschüssiger Urin im Röhrchen des Nährbodenträgers zurückbleiben.
7. Nährbodenträger zurück in das Kunststoffröhrchen geben und fest zuschrauben.

11 **Stuhldiagnostik**

11.1 **Allgemeine Hinweise:**

In der Regel sollten 2-3 frische Stuhlproben von unterschiedlichen Tagen eingesandt werden, da hierdurch die Nachweisrate darmpathogener Erreger deutlich zunimmt. Es sollten 3-8 ml Stuhl (entspricht 2-3 Löffelchen) pro Probe eingeschickt werden.

Bei der Anforderung "darmpathogene Bakterien" erfolgt routinemäßig die Anlage auf Salmonellen, Shigellen, Yersinien und Campylobacter.

Bitte die gewünschten Untersuchungen bei mehreren Stuhlproben eines Patienten eindeutig auf dem Anforderungsschein vermerken. (z.B. Stuhlprobe 1) auf Elastase, Stuhlprobe 2) auf Rotaviren)

11.2 **Bakterielle Erreger und deren Toxine**

Salmonellen / Shigellen /Yersinien /Campylobacter

Nativstuhl im Stuhlröhrchen (wenn Gewinnung von Stuhl nicht möglich Rektalabstrich einsenden)

enterohämorrhagische E.coli (EHEC), enteropathogener E.coli (EPEC)/enteroinvasiver E.coli (EIEC)

Nativstuhl im Stuhlröhrchen (wenn Gewinnung von Stuhl nicht möglich Rektalabstrich einsenden)

Bei Kindern bis 6 Jahren automatisch bei Untersuchung auf darmpathogene Bakterien enthalten, ansonsten bitte extra anfordern.

Cholera (Vibrio cholerae) -bitte extra anfordern

Nativstuhl im Stuhlröhrchen (wenn Gewinnung von Stuhl nicht möglich Rektalabstrich einsenden)

Clostridium difficile (bitte extra anfordern)

Nativstuhl im Stuhlröhrchen

Die Untersuchung erfolgt mittels ELISA. Wenn ein Notfall vorliegt erfolgt die Untersuchung mittels Schnelltest innerhalb einer Stunde nach Probeneingang im Labor.

11.3 **Virale Erreger aus Stuhlproben (bitte extra anfordern)**

- Ø Rotaviren
- Ø Adenoviren
- Ø Noroviren
- Ø Astroviren

11.4 **Parasiten (bitte extra anfordern)**

Würmer/Wurmeier

Nativstuhl im Stuhlröhrchen
Nachweis mittels MIFC-Präparat.

Lamblien/Amöben

Nativstuhl im Stuhlröhrchen
Nachweis mittels MIFC-Präparat und zusätzlich, zur Erhöhung der Sensitivität, EIA-Antigennachweis

Mikrosporidien (bitte extra anfordern)

Nativstuhl im Stuhlröhrchen
Nachweis mittels MIFC-Präparat

Kryptosporidien (bitte extra anfordern)

Nativstuhl im Stuhlröhrchen
Nachweis mittels Spezialfärbung

11.5 Hefen

Nativstuhl im Stuhlröhrchen

11.6 Dysbiose / quantitative Stuhlkeimanalyse (intestinales Ökogramm)

2-3 g Stuhl (2-3 Löffelchen)

Es erfolgt eine semiquantitative Angabe über die wichtigsten im Darm vorkommenden Bakterien.

Angaben zu den immunologischen Untersuchungen im Stuhl (z.B. Pankreas-Elastase, Hämoglobin usw.) bitte der extra Mappe „intestinale Labordiagnostik“ entnehmen.

11.7 Lagerung der Stuhlproben:

Die Stuhlprobe sollte wegen empfindlicher Erreger wie Shigellen, Campylobacter, Parasiten innerhalb von 24h verarbeitet werden können. Eine Lagerung der Stuhlprobe über das Wochenende ist zu vermeiden.

12 Dermatophyten

12.1 Hautschuppen:

Die Entnahmestelle mit 70% Ethanol reinigen.

Vermehrungsfähige Pilzsporen befinden sich in den unteren Schichten.

Alle oberflächlichen Auflagerungen wie Krusten, abgestorbene Hautschuppen müssen zunächst vom mykoseverdächtigen Krankheitsherd, soweit wie möglich, mit einem **sterilen** Skalpell oder scharfen Löffel entfernt werden. Von der Randzone des Herdes an der Grenze zum gesunden Gewebe, möglichst reichlich Material (30-50 Hautschuppen) mit einem **sterilen** Skalpell oder scharfen Löffel entnehmen. (Entnahme nie vom Zentrum des Herdes, da dieser pilzfrei ist oder Pilzelemente bereits zerfallen sind.) In einem sterilen Gefäß, **ohne Transportmedium** versenden.

12.2 Nagelspäne:

Die Entnahmestelle mit 70% Ethanol reinigen. Ablösbare, bröcklige Teile mit **steriler** Schere oder Feile entfernen und verwerfen, da diese häufig mit Keimen kontaminiert sind und die pathogenen Pilze nicht mehr lebensfähig sind. Aus dem Randgebiet zum gesunden Nagelmaterial Nagelspäne gewinnen. Bei weißen Nagelflecken diese abkratzen oder fräsen. Größere Hornpartikel mit einer sterilen Schere zerkleinern.

In einem sterilen Gefäß **ohne Transportmedium** versenden.

Ein Stück vom vorderen Nagelrand, mit der Schere abgeschnitten, ist NICHT geeignet!

Bei Befall mehrerer Nägel muss für jeden Nagel ein neues sterilisiertes Entnahmebesteck benutzt werden.

12.3 Haarstümpfe:

Die Entnahmestelle mit 70% Ethanol reinigen.

Besonders geeignet sind abgebrochene Haarstümpfe, glanzlos, entfärbt vom Rand eines Herdes. Mit einer sterilen Epilationspinzette 20-30 Haarstümpfe herausziehen. In einem sterilen Gefäß, **ohne Transportmedium** versenden.

Haare die sich nur schwer herausziehen lassen sind i.d.R. pilzfrei.
Keine abgeschnittenen Haare zur Diagnostik einsenden!

12.4 Fehlerquellen bei der Materialentnahme:

Keine ausreichende Desinfektion der verdächtigen Herde.
Desinfektionsmittel verwendet, welches auch antimykotisch wirkt.
Zu wenig Material entnommen.
Abgestorbene oder zu große Hautschuppen entnommen.
Nur ein großes Nagestück abgeschnitten.
Nicht befallene Haarstücke abgeschnitten.

Proben für Dermatophyteniagnostik bei Raumtemperatur lagern.

Der kulturelle Nachweis von Dermatophyten dauert i.d.R. bis zu 3 Wochen.
Resistenztestungen können aufgrund fehlender Standards nicht durchgeführt werden.

13 Tuberkulose / Mykobakteriosen

Aufgrund der zum Teil sehr variablen Keimzahl im Untersuchungsmaterial sollten, wenn Möglich, mindestens 3 Proben von drei verschiedenen Tagen untersucht werden.

13.1 Sputum, Trachealsekret, Bronchialsekret

Mindestens 2 ml nativ im Sputumröhrchen für die TBC-Diagnostik einschicken. Zur besseren Aussagefähigkeit und Diagnosesicherung 3 x Morgensputum bei Verdacht auf eine frische Infektion einsenden. Den Mund vorher mit abgekochtem Wasser oder Tee spülen. Kein frisches Leitungswasser nehmen, da viele Wasserproben mit *M. xenopi* oder *M. gordonae* kontaminiert sind.

13.2 Eiter, Wundabstriche

Soviel Eiter wie möglich abnehmen und nativ einschicken. Notfalls können auch Wundabstriche im Transportmedium eingeschickt werden.

13.3 Gewebe

Im sterilen Röhrchen nativ einschicken, mit etwas steriler 0,9%iger NaCl-Lösung (1 ml) befeuchten.

13.4 Punktate (Pleura, Pericard, Liquor, Gelenke)

Unbedingt nativ in einem sterilen Röhrchen einschicken, nicht in Blutkulturflaschen einimpfen.

13.5 Urin

3 x Morgenurin 30 - 50 ml einschicken, jeweils die 1. Portion Urin.
Mittelstrahlurin ist nicht geeignet!

Magensaft ist nur nötig, wenn kein Sputum gewonnen werden kann.

13.6 Sepsisverdacht

Bei HIV-Patienten (*M. avium*, *M. tuberculosis*) 5-10 ml EDTA-Blut oder Citrat-Blut abnehmen und in der Spritze (ohne Kanüle) verschicken, nicht in eine Blutkulturflasche einspritzen. Unbedingt im Fieberanstieg/Fieberschub abnehmen. Dieses Vorgehen ist auch beim seltenen Verdacht einer *M. tuberculosis*-Generalisation bei immunkompetenten Patienten geeignet. Aus allen Materialien kann neben der kulturellen Anlage auch eine PCR gemacht werden. Blut bei Raumtemperatur oder im Brutschrank lagern, alle anderen TBC-Materialien bei 4 - 8 °C bis zum Transport lagern.

13.7 Untersuchungsdauer

Kultur: Mindestens 6 Wochen

PCR: 1-2 Tage

13.8 Probenversand

Untersuchungsmaterial mit Verdacht auf TBC stets in auslaufsicheren Probengefäßen mit Umverpackung mit Aufsaugmaterial versenden.

14 Nachforderungen

Bakteriologische Nachanforderungen können in der Regel aus Untersuchungsmaterial nur innerhalb von 2 Tagen nach Probeneingang bearbeitet werden. In einzelnen Fällen, gerade bei anspruchsvollen Keimen die schnell absterben, ist eine Nachforderung oft nicht möglich. Ggf. ist eine telefonische Absprache nötig.

Nachanforderung von Resistenzbestimmungen und/oder weitere Differenzierung von Erregern können innerhalb von 2 Tagen nach Endbefunddruck bearbeitet werden.

15 Postversand von Proben

Bitte die für den Postversand von medizinischem Untersuchungsgut notwendigen Sicherheitsvorschriften beachten:

Kennzeichnungspflicht biologischer Stoff Kategorie B UN 3373, auslaufsichere Transporthülsen, spezielle Versandtaschen.

(Zu bestellen über unsere Bestellliste Labor Verbrauchsmaterialien.)