

# Inhaltsverzeichnis

1. Allgemeine Hinweise
2. Probenlagerung
3. Blutkulturen
4. Katheterspitzen
5. Liquor-Proben
6. Sputum, Tracheal- und Bronchialsekrete
7. Rachenabstrich, Nasenabstrich, Ohrabstrich
8. Material aus Wunden, infektiösen Prozessen, primär sterilen Körperregionen
9. Genitalabstriche
10. Urindiagnostik
11. Stuhldiagnostik
12. Dermatophyten
13. Tuberkulose / Mykobakteriosen
14. Austestung spezieller Resistenzmechanismen
15. Nachforderungen

## 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:**

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

***Das Material mit Patientennamen bzw. ID-Nummer kennzeichnen!***

### ***Allgemeiner Untersuchungsauftrag:***

Bakterielle Erreger + Resistenz: Die Probe wird mittels Kultur (ggf. mit Mikroskopie), bei Wachstum (fakultativ) pathogener Keime einschließlich Keimdifferenzierung und Antibiogramm. untersucht.

### ***Ausdrücklich anzufordernde spezielle Untersuchungen sind unter anderem:***

- Hefen/Pilze
- Neisseria gonorrhoeae
- Tbc
- Aktinomyceten
- Mykoplasmen
- Legionellen
- Parasiten
- Diphtherie
- Pertussis
- virale Erreger
- Pneumocystis,
- Cholera,
- Untersuchung auf Angina-Plaut-Vincenti

## 2 Probenlagerung:

	Kühlschrank	Raumtemperatur	Brut-schrank
Abstrich im Transportmedium		<b>X</b>	
Tracheal-Bronchial-Sekret, Bronchial-Lavagen, Sputum	<b>X</b>		
Punktate		<b>X</b> ( nur bei verzögertem Transport in Blutkulturflasche)	
Liquor		<b>X</b> ( schnellstmöglich ins Labor, nur bei verzögertem Transport in Blutkulturflasche)	
Blutkultur		<b>X</b>	
Urineintauchmedium (Uricult)			<b>X</b>
Urin	<b>X</b>	X ( im Stabilisatorröhrchen)	
Stuhl	<b>X</b> 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		<b>X</b>	

## 3 Blutkulturen

### 3.1 Allgemeines

- Blutkulturflaschen lichtgeschützt bei Raumtemperatur lagern.
- Blutkulturflasche mit Patientendaten kennzeichnen. Die Blutkultur muss beim beimpfen Raumtemperatur haben.
- Die telefonische Direktdurchwahl auf dem Auftragschein angeben.
- **Bitte den Barcode auf den Flaschen nicht überkleben.**
- 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 Antibiotika-therapie** erfolgen, **alternativ** sollte die Entnahme **unmittelbar vor Applikation der nächsten Antibiotikadosis** erfolgen.

### Blutvolumen

Erwachsene: 10ml je in eine aerobe und anaerobe Blutkulturflasche

Kinder über 20 kg: 5ml je in eine aerobe und anaerobe Blutkulturflasche, 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, 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 palpiert 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 sollen **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 Koloniezahl möglich. Wenn dies gewünscht wird bitte auf dem Schein vermerken. Nachteil: empfindliche Bakterien können evtl. den Transport nicht überleben.

Gefäß mit Nährbouillon: Alle Keime werden angezüchtet. 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 Tyb b,
- S. pneumoniae,
- Haem. Streptokokken der Gruppe B
- E.coli Typ K1.

### 5.3 Lagerung der Probe

bei Raumtemperatur

Schnellstmöglich ins 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 (carinii) 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-Sammel Sputum.

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 bei 30°C Bebrütungstemperatur.

## **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. Evt. 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/Keime" enthalten und müssen gezielt angefordert werden:

- **Hefen/Pilze**
- ***Chlamydia pneumoniae***: PCR-Diagnostik aus dem Sekret der oberen Luftwege
- ***Legionella spp.***: Kulturelle Anzüchtung (ca. 5 - 10 Tage) aus dem Sekret der oberen Luftwege. Antigen-Test im Urin empfohlen.
- ***Mycoplasma pneumoniae***: PCR, diese bleibt über einen längeren Zeitraum positiv.
- ***Pneumocystis jiroveci***: Bronchiallavage (5-10 ml), mit Einschränkung auch provoziertes Sputum per PCR.
- **RS Virus**: Mittels Antigen-Schnellnachweis.  
Nasopharyngealabstriche (möglichst in Virentransportmedium), Spülflüssigkeiten, Aspirate. (Spülflüssigkeiten und Aspirate erweisen sich geeigneter als Abstriche.) Im Zusammenhang mit der Untersuchung auf allgemeine Bakterien und Resistenzbestimmung extra Abstrich einsenden.

- **Influenza A+B Virus:** Mittels Antigen-Schnellnachweis oder PCR Nasopharyngeal-, Nasenmuschel-, Rachenabstriche (möglichst in Virentransportmedium), Spülflüssigkeiten, Aspirate, erweisen sich geeigneter als Abstriche.) Im Zusammenhang mit der Untersuchung auf allgemeine Bakterien und Resistenzbestimmung extra Abstrich einsenden.
- **Tuberkulose und atypische Mycobakterien** (weitere Angaben extra unter Tuberkulose / Mykobakteriosen)

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

## 7 Rachenabstrich, Nasenabstrich, Ohrabstrich

Bei der Entnahme von Abstrichen ist die Befeuchtung des Abstriches mit steriler, physiologischer Kochsalzlösung vor der Entnahme zu empfehlen.

### 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. Vorzugsweise trockenen Tupfer verwenden. (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:**

- **Hefen**
- **Angina Plaut-Vincent** aus Rachenabstrich
- **Diphtherie:** Sekret unter der abgehobenen Pseudomembran entnehmen oder ggf. vom Kehlkopf.
- **RS Virus:** Mittels Antigen-Schnellnachweis. Nasopharyngealabstriche (möglichst in Virentransportmedium), Spülflüssigkeiten, Aspirate. (Spülflüssigkeiten und Aspirate erweisen sich geeigneter als Abstriche.) Im Zusammenhang mit der Untersuchung auf allgemeine, pathogene Bakterien und Resistenzbestimmung extra Abstrich einsenden.

- **Influenza A+B Virus:** Mittels Antigen-Schnellnachweis oder PCR Nasopharyngeal-, Nasenmuschel-, Rachenabstriche (möglichst in Virentransportmedium), Spülflüssigkeiten, Aspirate, erweisen sich geeigneter als Abstriche.) Im Zusammenhang mit der Untersuchung auf allgemeine, pathogene Bakterien und Resistenzbestimmung extra Abstrich einsenden.

## **8 Material aus Wunden, infektiösen Prozessen, primär sterilen Körperregionen**

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
- Diabetische Wundinfektionen
- Decubitus-Wunde

### **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). Genaues Prozedere siehe 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-CulT-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 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-CulTM-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:**

- **Hefen**
- **Actinomyceten**
- **Langzeitbebrütung der Kultur**

## **9 Genitalabstriche**

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. 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 UrethraSekret**

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:**

- **Hefen**
- **Mikroskopie bakterielle Vaginose = Reinheitsgrad**  
Es wird ein mikroskopisches Präparat auf einem sterilen Objektträger angefertigt und nach Nugent, R.P. et. al beurteilt.
- **Mykoplasmen:** Ureaplasma spec./Mykoplasma hominis kulturelle Untersuchung. Geeignet sind Urethralabstriche, Tubenabstriche durch Laparoskopie gewonnen, geschützte Endometriumabstriche -Möglichst zellhaltiges Material! Bei gleichzeitiger Untersuchung auf pathogene Bakterien gesonderten Abstrich für die Mykoplasmenuntersuchung einsenden.

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

- **Neisseria gonorrhoeae:** Je nach Lokalisation Urethral-, Zervikal-, Tubenabstriche, Rektal-, Rachen-, Konjunktivalabstriche
- **Chlamydien:** möglichst trockene Abstriche und/oder Urin für PCR

- **Trichomonaden**

Eine Abstrichuntersuchung auf Trichomonaden ist nur im speziellen, warmgehaltenen Trichomonasmedium aussagekräftig. ( Trichomonasmedium auf Anfrage im bakteriologischen Labor erhältlich.)

Das Trichomonadenmedium muss im Kühlschrank gelagert werden. Vor Gebrauch unbedingt auf Raumtemperatur erwärmen! ( Trichomonaden sind sehr kälteempfindlich!) Abgestrichenes Sekret in Trichomonadenmedium bringen und im Wärmebehälter transportieren.

Untersuchungsdauer: 3 Tage

- *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 V orhaut 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 K-Urin 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 ( gesondert anfordern)

Urin auf Trichomonaden sollte körperwarm ins Labor kommen, wenn diese Möglichkeit nicht gegeben ist, muss eine Trichomonadenbouillon verwendet werden.

( Trichomonasmedium auf Anfrage im bakteriologischen Labor erhältlich.)

Das Trichomonadenmedium muss im Kühlschrank gelagert werden. Vor Gebrauch unbedingt auf Raumtemperatur erwärmen! ( Trichomonaden sind sehr kälteempfindlich!) Abgestrichenes Sekret in Trichomonadenmedium bringen und im Wärmebehälter transportieren.

**Untersuchungsdauer:** 3 Tage

## 10.5 Urintransportgefäße

Folgende Transportgefäße stehen zur Verfügung:

- **Eintauchnährböden** ( nur bedingt geeignet)
- **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, das 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 spec.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 Agarflächen zu berühren.
4. Nährbodenträger 3mal in den frisch gewonnen Urin eintauchen, das die Agarflächen vollständig mit Urin benetzt werden. Wenn nicht genügend Urin vorhanden ist, können die Agarflächen 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 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 "pathogene 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)

#### **Enterohämorrhagische E.coli (EHEC), Enteropathogener E.coli (EPEC)**

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

Bei Kindern bis 6 Jahren automatisch bei Untersuchung auf pathogene Keime.

#### **Cholera (Vibrio cholerae) –Versandparameter-**

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

#### **Aeromonas, Plesiomonas (Vibrio spp., Pseudomonas spp.)**

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

#### **Clostridium difficile Toxin**

Nativstuhl im Stuhlröhrchen

Die Untersuchung erfolgt mittels ELISA (Ansatz täglich). Wenn ein Notfall vorliegt mittels Schnelltest am gleichen Tag .

### **11.3 Virale Erreger aus Stuhlproben**

#### **Rota-Virus**

Der Virusnachweis erfolgt mit einem EIA/Antigennachweis

#### **Adeno-Virus**

Der Virusnachweis erfolgt mit einem EIA/Antigennachweis

#### **Noro-Virus**

Der Virusnachweis erfolgt mit einem EIA/Antigennachweis

#### **Astroviren**

Nur bei spezifischer Anforderung. Versandparameter erfolgt mit einem EIA/Antigennachweis

### **11.4 Parasiten**

#### **Lamblien/Amöben**

Nativstuhl im Stuhlröhrchen

Nachweis mittels MIFC-Präparat und Durchführung eines EIA's, da dieser sensitiver als die MIFC-Methode

#### **Microsporidien**

Nativstuhl im Stuhlröhrchen

Nachweis mittels MIFC-Präparat

#### **Cryptosporidien**

Nativstuhl im Stuhlröhrchen

Nachweis mittels Spezialfärbung

#### **Würmer/Wurmeier**

Nativstuhl im Stuhlröhrchen. Nachweis mittels MIFC-Präparat.

### **11.6 Hefen**

Nativstuhl

### **11.7 Dysbiose / quantitative Stuhlkeimanalyse (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.) entnehmen bitte der extra Mappe „Intestinale Labordiagnostik“ entnehmen.

### **11.8 Auf dem Begleitschein extra anzufordern sind:**

- **Rota-, Adeno-, Astro-, Noroviren**
- **Parasiten**
- ***Clostridium difficile* Toxin**
- ***Cholera (Vibrio cholerae)* –Versandparameter-**
- ***Enterohämorrhagische E.coli (EHEC), Enteropathogener E.coli (EPEC)***  
Nativstuhl im Stuhlröhrchen (wenn Gewinnung von Stuhl nicht möglich Rektalabstrich)  
Bei Kindern bis 6 Jahren automatisch bei Untersuchung auf pathogene Keime.

### **11.9 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 ( Nie vom Zentrum des Herdes, da dieser pilzfrei ist oder Pilzelemente bereits zerfallen.) 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 Dermatophyten-diagnostik bei Raumtemperatur lagern.

Der kulturelle Nachweis von Dermatophyten dauert i.d.R. bis zu 3 Wochen.

Resistenztestungen können aufgrund fehlender Standards nicht durchgeführt werden.

Die mikroskopische Direktuntersuchung der Probe mittels Kalilauge-Präparat muss gezielt angefordert werden.

## **13 Tuberkulose / Mykobakteriosen**

Aufgrund der zum Teil sehr variablen Keimzahl im Untersuchungsmaterial sollten - wenn irgend 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. 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

### **13.8 Probenversand**

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

## **14 Austestung spezieller Resistenzmechanismen**

### **14.1 ESBL-Extended-Beta-Lactamase (Beta-Laktamasen mit erweitertem Spektrum)**

Diese Resistenzmechanismen beinhalten eine Resistenz gegenüber Penicillinen und aller therapeutisch einsetzbaren Cephalosporinen. Diese Resistenzmechanismen werden bei *E. coli*, *Klebsiella* spp., aber auch bei anderen gramnegativen Stäbchen gefunden. Bei diesen Keimen besteht die Gefahr, dass der Resistenzmechanismus sich rasch auf andere Bakterienarten überträgt. Wir benutzen spezielle Methoden, um diese Resistenzen zu detektieren.

### **14.2 Oxacillin-Resistenz von Staphylokokken**

Durch Veränderung des Penicillin-Bindeproteins PBP-2 zu PBP 2a (gesteuert durch das *mecA*-Gen), wird eine verminderte Affinität zu Oxacillin hervorgerufen. Dieser Resistenzmechanismus bedeutet eine Resistenz gegenüber allen Beta-Laktam-Antibiotika. Wir verwenden stets zwei Methoden zur Detektion; bei Zweifelsfällen finden zusätzliche Untersuchungen Anwendung.

### **14.3 Veränderte Vancomycin-Empfindlichkeit von Staphylokokken**

Durch Verdickung der Wandstruktur kann bei Staphylokokken eine verminderte Vancomycin und/oder Teicoplanin-Empfindlichkeit festgestellt werden. Auch hier sind spezielle Techniken zur Austestung nötig.

### **14.4 Vancomycin Resistenz von Enterokokken**

Durch spezielle Methoden wird dieser Resistenzmechanismus abgeklärt. Zusätzlich wird eine genaue biochemische Identifizierung der Enterokokken-Species vorgenommen.

## **15 Nachforderungen**

Bakteriologische Nachanforderungen können in der Regel aus Untersuchungsmaterial nur innerhalb von 2 Tagen nach Probeneingang bearbeitet werden. In einzelnen Fällen sind Ausnahmen 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.