

# MIKROBIOLOGIE

## Gewinnung von Untersuchungsmaterial

### Vorwort

Dieser kurze Überblick über die korrekte Materialabnahme für die bakteriologische 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" und im "Manual of Clinical Microbiology" nachzulesen sind. Gelegentlich sind die Empfehlungen der beiden Gesellschaften (DGHM und ASM) nicht deckungsgleich; hierauf wird im Text entsprechend hingewiesen. Das Literaturverzeichnis ist am Ende dieses Textes einzusehen.

### 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 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 Anforderungsblatt zu vermerken:

- Art der Patientenprobe (möglichst mit Entnahmeort, wo sinnvoll)
- Entnahmezeitpunkt
- klinische (Verdachts-) Diagnose, Symptomatik in Stichworten
- Vorbehandlung: Angaben zur antimikrobiellen Therapie
- Grunderkrankung (z.B. Karzinomkrankung, Immunsuppression)
- Umgebungs-, Reiseanamnese
- gewünschte Untersuchung

**Allgemeiner Untersuchungsauftrag: "pathogene Keime":** die Probe wird mittels Mikroskopie (sofern geeignetes Material) und Kultur, bei Wachstum (fakultativ) pathogener Keime einschließlich Keimdifferenzierung und Antibiogramm untersucht.

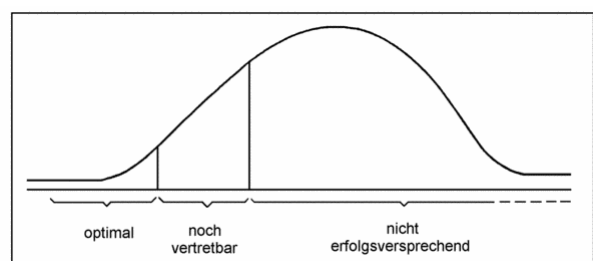
**Ausdrücklich anzufordernde spezielle Untersuchungen:** Aktinomyzeten, A-Streptokokken, Chlamydien, Cholera, Diphtherie, Gonokokken, Helicobacter, Legionellen, Mykoplasmen, Pertussis, Pilze, Pneumocystis, Protozoen, Tuberkulose bzw. Mykobakterien, alle viralen Erreger, Würmer und Wurmeier, CD-Toxin ambulant.

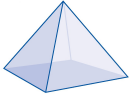
Neben der konventionellen Mikrobiologie einsetzbare Nachweisverfahren wie die PCR (Polymerase-Kettenreaktion zum Nachweis erregerspezifischer DNA) oder Antigennachweise sind stets ausdrücklich anzufordern. Anamnestische oder klinische Besonderheiten, die den Verdacht auf besondere, bei uns seltene Infektionen lenken, sollten ebenfalls auf dem Begleitschreiben vermerkt werden (z.B. Auslandsreisen)

### Blutkulturen

#### **A. Entnahmezeitpunkt**

- Die Blutentnahmen sollten möglichst im frühen Stadium des Fieberanstiegs erfolgen, da die Nachweiswahrscheinlichkeit von Bakterien im Blut mit steigendem Fieber kontinuierlich abnimmt.
- Entnahme vor Antibiotikatherapie dringend empfohlen.





### B. Entnahmeort

In der Regel eine periphere Vene. Eine Entnahme von arteriellem Blut bringt keine Vorteile. Eine Untersuchung von Knochenmark bietet nur in Ausnahmefällen (z.B. Brucellose oder Typhus) eine zusätzliche Nachweismöglichkeit.

### C. Hautdesinfektion

Eine sorgfältige Hautdesinfektion ist entscheidend, um die Rate kontaminierter Blutkulturen gering zu halten.

- Punktionsstelle (ca. 5 x 5 cm) mittels eines sterilen Tupfers mit 70% Alkohol desinfizieren, Einwirkzeit ca. 1 min.
- Anschliessend 2. Desinfektion mittels sterilem Tupfer mit 70% Alkohol (MIQ).
- Nach hygienischer Händedesinfektion sterile Handschuhe bei Blutentnahme tragen, Vene nicht erneut palpieren.

### D. Anzahl der Blutkulturen

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

### E. Blutvolumen

- Die Erregerisolierung ist direkt abhängig von der Menge des entnommenen Blutes. Die Positivrate steigt um 3 - 5% pro ml abgenommenen Blutvolumen.
- Erwachsene: 8 - 10 ml Blut pro Flasche werden empfohlen (Herstellerangaben beachten).
- Neugeborene und Kleinkinder: 1 - 3 ml Blut in die pädiatrische Blutkulturflasche geben. Neugeborene und Kleinkinder haben bei einer Sepsis eine 10fach höhere Bakterienkonzentration im Blut als Erwachsene.

### F. Beimpfung der Blutkulturflaschen

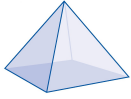
- Plastikkappe entfernen
- Gummistopfen mit 70% Propylalkohol desinfizieren
- Zuerst aerobe Flasche (blaue Fassung) beimpfen, um Eintritt von Luft aus der Spritze in die anaerobe Flasche zu vermeiden, dann anaerobe Flasche (violette Fassung) beimpfen.
- Über das Wechseln der Nadel vor Beimpfung der Blutkulturflasche existieren unterschiedliche Literaturangaben. Die MIQ 3 empfiehlt das Wechseln der Nadel, die amerikanische Empfehlung (ASM) sieht darin keinen Vorteil bezüglich der Kontaminationsrate.

### G. 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 bis zum Transport ins Labor ebenfalls bei Raumtemperatur gelagert werden.
- Der Transport der Flaschen sollte in Styroporbehältern erfolgen.

### H. Begleitinformation (Neben den üblichen Angaben bitte stets angeben)

- Entnahmeort (periphere Vene, ZVK, Port etc.)
- Verdachtsdiagnose - bei Verdacht auf Endocarditis, Brucellose, Bartonellose, Tularämie, Pilzinfektionen u.a. erfolgt eine verlängerte Bebrütung über 3 Wochen
- Telefonische Durchwahl des Einsenders



### Katheterspitzen

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

- Gefäß ohne Nährbouillonzusatz: bei der Anlage ist eine semiquantitative Aussage über die Koloniezahl nach Maki möglich. Bitte dies 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.

### Liquor-Proben

- Liquorentnahme muß unter streng aseptischen Kautelen erfolgen. Arzt und Assistenzpersonal sollten zur Vermeidung einer Tröpfcheninfektion eine OP-Schutzmaske tragen. Punktionsstelle sorgfältig desinfizieren, Prozedere siehe bei Blutkulturen.
- Ca. 1-2 ml in ein Blutkulturfläschchen geben (am besten geeignet sind PEDS-Flaschen). Die Wachsfaktoren werden von uns zugesetzt.
- Zusätzlich 1 ml Nativ-Liquor für mikroskopische Präparate, Hemmstofftest und ggf. einen Antigen-Schnelltest mit einsenden.
- Zusätzlich empfiehlt sich schon im Kliniklabor eine sofortige mikroskopische Untersuchung (Grampräparat), ggf. kann das Präparat zur Nachbeurteilung miteingesandt werden.

### **Der Antigen-Schnelltest 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

Zusätzlich kann ein Antigentest für Cryptococcus neoformans angefordert werden.

Bis zur Abholung der Proben Liquor-Blutkulturflaschen im Brutschrank aufbewahren. Falls kein Brutschrank vorhanden ist, können die Flaschen notfalls auch bei Raumtemperatur belassen werden. Die Vorbebrütung auf der Flasche und dem Überweisungsschein vermerken.

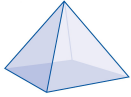
**Hinweis:** Bei Vorliegen eines septischen Krankheitsbildes empfiehlt sich die zusätzliche Entnahme von Blutkulturen. In dringenden Fällen bitte telefonische Ankündigung der Probe.

### Sputum, Tracheal- und Bronchialsekrete

Das Sekret der tiefen Atemwege wird bei der Gewinnung als Sputum zwangsläufig mit der Mund-Rachenflora kontaminiert. Für diagnostische Zwecke und auch zum Nachweis von speziellen Erregern (Legionellen, Mykoplasmen, Chlamydien, Pneumocystis carinii) besser geeignet sind gezielt bronchoskopisch oder mittels geschützter Bürste entnommenes Tracheal- und Bronchialsekret.

### **Sputum**

- Möglichst Morgensputum verwenden
- Möglichst nur eitriges Sputum einsenden
- Vor der Expektoration Zähne putzen und Mund mit frischem Leitungswasser spülen (Bei TBC abgekochtes Wasser oder Tee nehmen).
- Das Material sollte von unten abgehustet werden. Die Patienten müssen entsprechend aufgeklärt werden.
- Gelingt es nicht, eine entsprechende Probe zu entnehmen, kann mit Inhalation von 15% NaCl oder mit Mucolytika nachgeholfen werden.



Für die Proben entsprechende Gefäße mit Umhüllung verwenden. Bis zum Transport bei 4 - 8°C lagern. 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.

### Tracheal-/Bronchialsekret

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

- Unter sterilen Kautelen absaugen und Sekret in Probengefäß überführen oder die entsprechenden Gefäße ("Falle") einschicken (Umhüllung verwenden).
- Evtl. Absaugkatheter abschneiden und im sterilen Gefäß einschicken. Bis zum Transport 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 zum Transport bei 4 - 8°C lagern.

### Spezielle Erreger

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

**Chlamydia pneumoniae:** PCR-Diagnostik aus dem Sekret der oberen Luftwege

**Cytomegalie Virus:** PCR-Diagnostik aus dem Sekret der oberen Luftwege

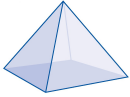
**Legionella spp.:** Kulturelle Anzucht (ca. 5 - 10 Tage) oder PCR aus dem Sekret der oberen Luftwege. Antigen-Test im Urin empfohlen.

**Mycoplasma pneumoniae:** Anzucht möglich, jedoch lange Zeitdauer. Gute Ergebnisse ergibt in den ersten 10 Tagen nach Krankheitsbeginn ein Antigennachweis aus dem Sekret der oberen Luftwege mittels PCR. Diese bleibt über einen längeren Zeitraum positiv.

**Pneumocystis carinii:** Bronchiallavage (5-10 ml), mit Einschränkung auch provoziertes Sputum. Mikroskopie (IFT) oder PCR.

**Tuberkulose und andere Mykobakterien:** siehe dort.

Zusätzlich sollte der Verdacht auf eine **Nocardiose, Actinomykose oder eine Pilzinfektion** extra auf dem Schein vermerkt werden. Zur Diagnostik einer **akuten Pneumonie** wird außerdem die Abnahme von Blutkulturen (2 Paar) empfohlen.



## Rachenabstrich, Nasenabstrich, Ohrabstrich

Die Proben in Amies-Transportmedium sollen weder bebrütet noch gekühlt werden. Bei verzögerter Absendung können sie 1 Tag bei Raumtemperatur gelagert werden.

### **Rachenabstrich**

#### **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.

#### **Verdacht auf Angina Plaut-Vincent:**

Auf dem Begleitschein extra vermerken. Am besten mittels eines 2. Tupfers einen Ausstrich auf Objektträger anfertigen und luftgetrocknet einschicken.

#### **Verdacht auf Diphtherie:**

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

### **Nasenabstrich**

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

### **Nasopharyngealabstrich bei Verdacht auf Pertussis:**

**PCR-Diagnostik:** normalen Abstrichtupfer ohne Transportmedium verwenden. (Ca-Alginat hemmt die Polymerasereaktion).

### **Ohrabstriche, Nasennebenhöhlen**

Tupferabstrich unter Sicht von den Läsionen oder vom Exsudat entnehmen und im Transportmedium einsenden.

Spülflüssigkeit wird nativ im sterilen Röhrchen eingesandt.

## Eiter, Wundabstriche, Gewebe

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

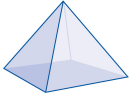
- Art der Materialentnahme z.B. intraoperativ
- Art der Wunde:
  - Chirurgische Wundinfektion
  - Akute Wundinfektion (Abszesse, traumatische Wunden, nekrotisierende Entzündungen)
  - Bisswunde
  - Verbrennungswunden
  - Diabetische Wundinfektionen
  - Decubitus-Wunde

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

- Die Punktion muß unter streng aseptischen Kautelen vorgenommen werden.
- 2 Blutkulturen beimpfen (aerob und anaerob). Genaues Prozedere siehe Blutkulturen.
- Ein Teil des Punktates sollte, wenn möglich, nativ eingesandt werden, um eine Mikroskopie durchzuführen.
- Blutkulturflaschen bis zum Transport bei Raumtemperatur aufbewahren.

### **Sonderfall CAPD:**

Blutkulturen mit je 10 ml Flüssigkeit beimpfen. Erst bei einer Leukozytenzahl von mehr als 100 pro ml CAPD-Flüssigkeit ist eine Bakterienkultur erfolgversprechend. Die mikroskopische Auszählung der Leukozytenzahl in der Kammer sollte beim Einsender erfolgen.



### Material aus geschlossenen Eiterprozessen

Perkutane Punktion des Abszesses möglichst vor einer chirurgischen Eröffnung. Erregerhaltiges Material wird vor allem in den Randbereichen von Eiterungen angetroffen. Material nach Desinfektion mit der Spritze entnehmen und in ein Port-a-CulTM-Röhrchen oder in eine Blutkulturflasche einimpfen.

### 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 Amies-Transportmedium eingeschickt. Bei trockenen Wunden Tupfer 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 im Port-a-CulTM-Medium einschicken, bei schnellem Transport ist auch ein Versand mit 1-2 ml steriler 0,9% NaCl-Lösung möglich.
- Eiter in Blutkultur einspritzen.
- Falls ein Tupfer verwandt wird, soviel Material wie möglich entnehmen. Bei der Diskussion über die Wertigkeit einer quantitativen Anlage einer Gewebebiopsie oder eines Abstrichtupfers aus oberflächigen oder tieferen Regionen bei Wundinfektionen sind Bowler et al. der Meinung, dass für die Routinemikrobiologie eine qualitative oder semiquantitative Anlage von Abstrichtupfern mit Transportmedium ausreichend ist.

### Lagerung und Transport

Die MIQ empfiehlt Lagerung und Transport bei 4-8 °C. Die ASM, das Manual of Clinical Microbiology und Bowler et al. empfehlen die Lagerung und den Transport bei Raumtemperatur, dem wir uns hier anschließen möchten, da wir damit gute Erfahrungen gemacht haben.

### 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 oder Menstrualblut (TBC-Diagnostik). Für die allgemeine Bakteriologie Abstriche mit dem Amies-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.

### Mikroskopie bakterielle Vaginose

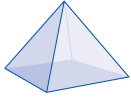
Wünschenswert wäre zusätzlich der luftgetrocknete Ausstrich des Vaginalsekretes. Wenn dies nicht erfolgt ist, wird von uns ein mikroskopisches Präparat auf einem sterilen Objektträger angefertigt und beurteilt.

### 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.

### 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 Spekulum-Einstellung gezielt mit einem Abstrichtupfer entnommen (keine Gleitmittel mit antibakteriellen Zusätzen verwenden!). Bei Endometritis-Verdacht wird nach dem Reinigen des Muttermundes am besten eine sterile Pinzette in den Zervixkanal vorgeschoben und mit Hilfe dieser das eitrige Sekret aspiriert.

### Sonderfälle

- **Neisseria gonorrhoeae:** Amies-Transportmedium, zusätzlich 1-2 Objektträgerausstriche luftgetrocknet, unfixiert und ungefärbt. Für molekularbiologischen Nachweis Spezialabstriche bzw. Morgenurin (Erststrahl) einsenden.
- **Mycoplasmen:** Spezial-Transportbouillon mit Tupfer beimpfen
- **Treponema pallidum:** Serologischer Nachweis
- **Chlamydien:** Spezialabstriche für Enzym-Immuno-Assays (Mann/Frau) Spezialabstriche für molekularbiologische Nachweisverfahren (LCR/PCR). Die Diagnostik ist auch aus Morgenurin (5 ml, Erststrahl oder frühestens 2 Stunden nach der letzten Miktion) möglich.

### Urindiagnostik

#### 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.

#### Katheterurin

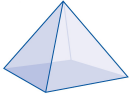
Morgens, bzw. frühestens 3-5 Stunden nach der letzten Miktion. Wie beim Mittelstrahlurin gründliche Reinigung der Urethralmündung und Umgebung. 10-20 ml K-Urin in sterilem Gefäß auffangen. Wenn Dauerkatheter liegt (nur in Ausnahmefällen indiziert, z.B. bei alten Patienten oder Querschnittsgelähmten), Urin direkt aus dem (zuvor desinfizierten) Katheter, nicht aus dem Auffangbeutel entnehmen.

#### 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.

#### Folgende Transportgefäße kommen in Frage:

- Eintauchnährböden (z.B. Uricult®, Urotube®): Nährböden vollständig mit Urin benetzen. Bis zum Transport im Brutschrank lagern.
- Urinröhrchen mit Stabilisator (Bacteriostat für 10 ml Nativurin): Die Keimzahl bleibt ca. 48 Stunden konstant. Sollte weniger als 5 ml Urin zu gewinnen sein, bitte die Röhrchen bis zur 10-ml-Markierung mit steriler NaCl-Lösung auffüllen, da es durch eine zu hohe Konzentration des Konservierungsmittels evtl. zu einer Schädigung der Bakterien kommen kann. Dies muß auf dem Überweisungsschein vermerkt werden. Bis zum Transport bei 4-8 °C lagern.



## Stuhldiagnostik

**Allgemeine Vorbemerkungen:** In der Regel sollten 2-3 Stuhlproben 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 Keime" erfolgt bei uns routinemäßig die Anlage auf Salmonellen, Shigellen, Yersinien und Campylobacter. Bei bereits bekannten Salmonellenausscheidern bitte auf dem Überweisungsschein "Salmonellenkontrolle" oder "bekannte Salmonelle bzw. Shigelle etc." vermerken, es wird dann nur noch die entsprechende Anlage durchgeführt. Wenn Sie gezielt Verdacht auf eine Yersinieninfektion haben, bitte dies auf dem Anforderungsschein vermerken, es wird zusätzlich eine spezielle Anreicherungskultur angelegt.

### A Bakterielle Erreger und deren Toxine

#### Salmonellen

Nativstuhl im Stuhlröhrchen, evtl. Stuhlabstrich im Amies-Transportmedium

#### Shigellen

Stuhlabstrich im Amies-Transportmedium. Bei längerem Transport ist die Anzüchtungsrate von Shigellen aus dem Transportmedium besser als im Nativstuhl

#### Yersinien

Nativstuhl im Stuhlröhrchen, evtl. Stuhlabstrich im Amies-Transportmedium

#### Campylobacter sp.

Nativstuhl im Stuhlröhrchen, evtl. Stuhlabstrich im Amies-Transportmedium

#### Enterohämorrhagische E.coli (EHEC), Verotoxin-Nachweis

Nativstuhl im Stuhlröhrchen. Der Verotoxin-Nachweis erfolgt mittels EIA.

#### Dyspepsie-Coli/EPEC

Nativstuhl im Stuhlröhrchen, evtl. Stuhlabstrich im Amies-Transportmedium. Bei Kindern bis zu 1 Jahr erfolgt die Anlage auf Salmonellen, Shigellen, Yersinien, Campylobacter, Dyspepsie-Coli und S. aureus.

#### Clostridium difficile Toxin

Nativstuhl, gekühlt (2-8°C). Der Toxinnachweis erfolgt mittels EIA. Stuhl gekühlt einschicken, da das Toxin nur 48-72 Stunden haltbar ist. Der Ansatz erfolgt täglich.

#### Cholera (Vibrio cholerae)

Stuhlabstrich (auch Rektalabstrich) im Transportmedium empfohlen, vorher im Labor anrufen.

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

Nativstuhl im Stuhlröhrchen, evtl. Stuhlabstrich im Amies-Transportmedium

#### Listeria monocytogenes

Nativstuhl im Stuhlröhrchen, evtl. Stuhlabstrich im Amies-Transportmedium

#### S. aureus

Bei Nahrungsmittelvergiftungen mit entsprechend kontaminierten Speisen gelingt die Anzüchtung dieser Erreger aus dem Stuhl seltener. Nahrungsmittelproben oder Erbrochenes sind zum Nachweis der Erreger und deren Toxine besser geeignet.

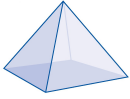
### B Virale Erreger

#### Rota-Virus

Der Virusnachweis erfolgt mit einem EIA/Antigennachweis

#### Adeno-Virus

Der Virusnachweis erfolgt mit einem EIA/Antigennachweis



### **Noro-Virus (ehemals Norwalk-Virus)**

Der Virusnachweis erfolgt mittels PCR

### **C Parasiten**

#### **Würmer/Wurmeier**

Nativstuhl, da ein Anreicherungsverfahren (MIF) durchgeführt wird, oder Stuhl in SAFMedium. Dieses Medium wirkt konservierend.

#### **Lamblien/Amöben**

Nativstuhl. Jeweils Durchführung eines EIAs zusätzlich zur mikroskopischen Untersuchung mittels spezieller Färbungen.

### **D Pilze**

Nativstuhl

## **Tuberkulose / Mykobakteriosen**

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

### **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.

### **Eiter, Wundabstriche**

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

### **Gewebe**

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

### **Punktate (Pleura, Pericard, Liquor, Gelenke)**

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

### **Urin**

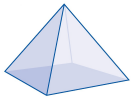
3 x Morgenurin 30 - 50 ml einschicken, 1. Portion, kein Mittelstrahlurin

### **Magensaft**

Magensaft ist nur nötig, wenn kein Sputum gewonnen werden kann. Dazu bei uns Spezialröhrchen anfordern, damit die Magensäure abgepuffert wird.

### **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, siehe gesondertes Informationsblatt. Blut bei Raumtemperatur oder im Brutschrank lagern, alle anderen TBC-Materialien bei 4 - 8 °C bis zum Transport lagern.



# MIKROBIOLOGIE

## Gewinnung von Untersuchungsmaterial

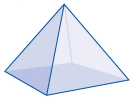
### Antibiogramme

**Allgemeine Hinweise:** Empfindlichkeitsprüfungen sind erforderlich bei Infektionen mit Staphylokokken, Enterokokken, Enterobakterien, Pseudomonaden und anderen Nonfermentern sowie bei Mykobakterien. Besonders wichtig sind diese Prüfungen bei Sepsis, Meningitis, Endokarditis und Osteomyelitis, bei nosokomialen und chronischen Infektionen, bei Erregerwechsel unter der Therapie sowie bei ausbleibendem Therapieerfolg. Die Erstellung des Antibiogramms erfolgt als quantitative Mikrodilutionsmethode oder als Agardiffusionstest. 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 Empfindlichkeitsbereiche (nach DIN 58940)

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

### Nachfolgend die von uns routinemäßig getesteten Antibiotika bei den verschiedenen Erregergruppen:

grampositive Keime	Enterobacteriaceae/ Pseudomonaden u. a. Nonfermenter	Handelspräparate*
	Amikacin	Biklin
Ampicillin	Ampicillin	Binotal u. a. Präp.
Cefazolin	Cefazolin	Gramaxin u. a. Präp.
	Cefpodoxim	Orelox, Podomexef
	Ceftazidim	Fortum
	Ceftriaxon	Rocephin
	Cefuroxim	Zinacef u. a. Präp.
Ciprofloxacin	Ciprofloxacin	Ciprobay
Clindamycin		Sobelin
Cotrimoxazol	Cotrimoxazol	versch. Präparate
Erythromycin		versch. Präparate
Fosfomycin	Fosfomycin	Fosfocin
Gentamycin	Gentamycin	Refobacin u. a. Präp.
Imipenem	Imipenem	Zienam
Levofloxacin	Levofloxacin	Tavanic
Meropenem	Meropenem	Meronem
	Mezlocillin	Baypen
Oxacillin		Stapenor
Penicillin G		versch. Präparate
	Piperacillin	Pipril
	Tazobactam/Piperacillin	Tazobac
Tetracyclin	Tetracyclin	versch. Präparate



# MIKROBIOLOGIE

## Gewinnung von Untersuchungsmaterial

grampositive Keime	Enterobacteriaceae/ Pseudomonaden u. a. Nonfermenter	Handelspräparate*
	Tobramycin	Gernebcin
Sulbactam/Ampicillin	Sulbactam/Ampicillin	Unacid
Vancomycin		Vancomycin

\* Der Verzicht auf die Ausweisung von Markenzeichen bedeutet nicht, dass diese nicht geschützt sind.

Antibiotika in der Urindiagnostik	Handelspräparate*
Ampicillin	Binotal u. a. Präp.
Cefazolin	Gramaxin u. a. Präp.
Cefixim	Cephoral u. a. Präp.
Cefpodoxim	Orelox, Podomexef
Ceftriaxon	Rocephin
Cefuroxim	Zinacef u. a. Präp.
Ciprofloxacin	Ciprobay
Cotrimoxazol	versch. Präparate
Gentamicin	Refobacin u. a. Präp.
Levofloxacin	Tavanic
Mezlocillin	Baypen
Nitrofurantoin	Furadantin u. a. Präp.
Piperacillin	Pipril
Sulbactam/Ampicillin	Unacid
Tazobactam/Piperacillin	Tazobac
Tetracyclin	versch. Präparate

\* Der Verzicht auf die Ausweisung von Markenzeichen bedeutet nicht, dass diese nicht geschützt sind.

## Austestung spezieller Resistenzmechanismen

### Beta-Laktamase bei Staphylokokken, Hämophilus spp. und Moraxella spp.

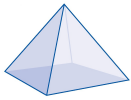
Es wird getestet, ob ein Isolat eine Beta-Laktamase produziert. Die Penicilline Penicillin, Ampicillin, Mezlocillin und Piperacillin werden durch diese Beta-Laktamasen unwirksam gemacht.

### Beta-Laktamasen mit erweitertem Spektrum (ESBL/AmpC)

Diese Resistenzmechanismen beinhalten eine Resistenz von Penicillinen einschließlich ihrer Inhibitor-Derivate und aller therapeutisch einsetzbaren Cephalosporine. Diese Resistenzmechanismen werden bei E.coli, Klebsiella spp., aber auch bei anderen gramnegativen Stäbchen gefunden. Wir benutzen spezielle Methoden, um diese Resistenzen zu detektieren.

### 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 eingeleitet. Diese Resistenz beinhaltet ebenfalls eine Resistenz



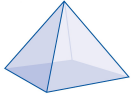
gegenüber allen Beta-Laktam-Antibiotika. Wir verwenden stets zwei Methoden zur Detektion; bei Zweifelsfällen finden zusätzliche Untersuchungen Anwendung.

### Vancomycin Resistenz von Enterokokken

Durch zwei Methoden wird dieser Resistenzmechanismus abgeklärt.

### Lagerung von Untersuchungsmaterialien bis zur Abholung:

	Kühlschrank	Raumtemperatur	Brutschrank
Abstrich im Transportmedium		+	
Tracheal-, Bronchialsekret	+		
Bronchial-Lavagen	+		
Sputum	+		
Blutkulturen		+	
Liquor in Blutkulturflasche			+ "vorbebrütet" auf Flasche schreiben
Uricult			+
Urin	+		
Stuhl: path. Keime + Viren	+		



# MIKROBIOLOGIE

## Gewinnung von Untersuchungsmaterial

### Literatur

- MiQ 2 1997 Gatermann, S., R. Podschun, H. Schmidt, J.-W. Wittke, K. Naber, W. Sietzen, E. Straube Harnwegsinfektionen
- MiQ 3 1997 Seifert, H., P. Shah, U. Ullmann, M. Trautmann, H. Briedigkeit, R. Gross, B. Jansen, W. Kern, R. Reinert, E. Rosenthal, B. Roth, B. Salzberger, M. Schrappe, F.-B. Spencker, H.B. v. Stockhausen, T. Steinmetz Sepsis-Blutkulturdiagnostik
- MiQ 4 1998 Janitschke, K., P. Kimmig, H.M. Seitz, M. Frosch, U. Groß, H. Hlobil, I. Reiter-Owona Parasitosen
- MiQ 5 1998 Kuchler, R., G.E. Pfyffer, S. Rüscher-Gerdes, J. Beer, H. Mauch Tuberkulose Mykobakteriose
- MiQ 6 1999 Kühnen, E., R. Fischer, A. Hartinger, D. Heuck, W. Oettinger, E. Schmid, U. Schumacher, J. Wagner Infektionen der Haut und der subkutanen Weichteile
- MiQ 7 1999 Mauch, H., J. Wagner, G. Marklein, E. Kühnen, S. Albert, L. Schuster, H. Freidank, E. Molitor, K.-D. Müller, K. Kästli, H. Stetzelberg, W. Hampl, P.-M. Rath, R.R. Reinert Infektionen der tiefen Atemwege Teil I
- MiQ 8 1999 Mauch, H., J. Wagner, G. Marklein, E. Kühnen, S. Albert, L. Schuster, H. Freidank, E. Molitor, K.-D. Müller, K. Kästli, H. Stetzelberg, W. Hampl, P.-M. Rath, R.R. Reinert Infektionen der tiefen Atemwege Teil II
- MiQ 9 2000 Kist, M., J. Bockemühl, S. Aleksic, M. Altwegg, I.B. Autenrieth, W. Bär, L. Beutin, B. Gerten, E. Heintschel von Heinegg, H. Karch, A. Lehmacher, F. Mehnert, U. Sonnenborn, H. Tschäpe, Chr. v. Eichel-Streiber Infektionen des Darmes
- MiQ 10 2000 Halle, E., R. Bollmann, B. Blenk, I. Dawydowa, H. Halle, W.R. Heizmann, U.B. Hoyme, Ch. Jantos, H. Meisel, H. Näher, W. Weidner Genitalinfektionen Teil I Infektionen des weiblichen und des männlichen Genitaltrakts
- MiQ 11 2000 Halle, E., R. Bollmann, H. Blenk, I. Dawydowa, H. Halle, W.R. Heizmann, U.B. Hoyme, Ch. Jantos, H. Meisel, H. Näher, W. Weidner Genitalinfektionen Teil II Infektionserreger
- MiQ 13 2000 Podbielski, A., E. Rozdzinski, W. Hampl, G. Haase, M. Hermann, H. Heumann, T. Popow-Kraupp, W. Slenczka, M. Tisch Infektionen des Mundes und der oberen Atemwege
- Cumitech 2A: Clarridge, J.E., M.T. Pezzlo, K.L. Vosti. Coordinating Editor: A.S. Weissfeld Laboratory Diagnosis of Urinary Tract Infections, März 1987
- Cumitech 12A: Gilligan, P.H., J.M. Janda, M.A. Karmali, J.M. Miller. Coordinating Editor: F.S. Nolte Laboratory Diagnosis of Bacterial Diarrhea, April 1992
- Cumitech 17A: Baron, E.J., G.H. Cassell, L.B. Dufly, D.A. Eschenbach, J.R. Greenwood, S.M. Harvey, N.E. Madinger, E.M. Peterson, K.B. Waites. Coordinating Editor: E.J. Baron. Laboratory Diagnosis of Female Genital Tract Infections, Juni 1993
- Cumitech 1B: Dunne, W.M., F.S. Nolte, M.L. Wilson. Coordinating Editor: J.A. Hindler. Blood Cultures III, April 1997 Bowler, P.G., B.I. Duerden, D.G. Armstrong. 2001 Wound Microbiology and Associated Approaches to Wound Management Clin. Microbiol. Rev. 14: 244-269
- Burhardt, F. (Hrsg.) Mikrobiologische Diagnostik, Georg Thieme Verlag 1992 Isenberg, H.D. (ed) Clinical Microbiology Procedures Handbook, ASM Press, Washington D.C., 1992
- Nugent, R.P., Kohn M.A., and S.L. Hillier. 1991 Reliability of Diagnosing Bacterial Vaginosis is Improved by a Standardized Method of Gram Stain Interpretation J. Clin. Microbiol. 29:297-301
- Murray, P.M., E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, R.H. Tenover (ed). Manual of Clinical Microbiology, 7th Edition American Society for Microbiology, 1999