



Medizinisches Labor  
ROSENHEIM

## Präanalytik Mikrobiologie



Version: AR.PRO.R01.00D  
Gültig ab: 01.10.2023

## Inhalt

Präanalytik Mikrobiologie .....	1
Vorwort .....	3
Allgemeine Hinweise .....	3
Blutkulturen.....	5
Katheterspitzen .....	6
Liquor-Proben .....	7
Sputum, Tracheal- und Bronchialsekrete .....	7
Rachenabstrich, Nasenabstrich, Ohrabstrich .....	10
Eiter, Wundabstriche, Gewebe .....	11
Genitalabstriche .....	12
Urindiagnostik .....	14
Stuhldiagnostik .....	15
Tuberkulose / Mykobakteriosen .....	17
Antibiogramme .....	18
Lagerung von Untersuchungsmaterialien bis zur Abholung .....	19
Literatur.....	20

# 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. 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, das dafür geeignet ist (Eine kulturelle Anzucht aus Röhrcchen mit EDTA oder Antibiotika-Zusätzen ist nicht möglich). Entnahme- und Versandbestecke werden von uns zur Verfügung gestellt.

### Lagerung von mikrobiologischem Untersuchungsmaterial:

Material	max. Transportzeit	
Abstriche	24h	Raumtemperatur
Gewebe, Biopsate	24h	Raumtemperatur
Bronchialsekrete	24h	gekühlt
Punktate	24h	Raumtemperatur
Liquor	24h	Raumtemperatur
Blutkulturen	24h	Raumtemperatur
Stuhl	24h	gekühlt
Urin	24h	gekühlt
Abstrich auf Gonokokken	< 4h < 24h im eSwab	Raumtemperatur Raumtemperatur

## **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, Clostridium difficile (Stufendiagnostik Antigen, Toxin), Diphtherie, Gonokokken, Helicobacter, Legionellen, Mykoplasmen, Pertussis, Pilze, Pneumocystis, Protozoen, Tuberkulose bzw. Mykobakterien, Ureaplasmen, alle viralen Erreger, Würmer und Wurmeier. 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

## 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.

## 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.

## 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.

## 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/Endokarditis: 24h später evtl. erneute Abnahme von 2 (- 3) Blutkulturpaaren.

## Blutvolumen

- Die Erregerisolierung ist direkt abhängig von der Menge des entnommenen Blutes. Die Positivrate steigt um 3 - 5% pro ml abgenommenen Blutvolumens, die Sensitivität liegt bei Entnahme von 3 Blutkultur-Sets (aerob und anaerob) bei 95-99%. Die Entnahme einer deutlich höheren Anzahl an Blutkultur-Sets führt zu keiner wesentlichen Steigerung der Sensitivität.
- 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.

### **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 (goldene 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.

### **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.

### **Begleitinformation (Neben den üblichen Angaben bitte stets angeben)**

- Entnahmeort (periphere Vene, ZVK, Port etc.)
- Verdachtsdiagnose - bei Verdacht auf Endokarditis, Brucellose, Bartonellose, Tularämie, Pilzinfektionen u.a. erfolgt ggf. eine verlängerte Bebrütung

Der Verdacht auf Brucellose bzw. Tularämie sollte dem Labor telefonisch sowie durch eine Markierung der Proben bzw. des Begleitscheins **unbedingt** mitgeteilt werden, da die Erreger dieser Erkrankungen (*Brucella spp.* bzw. *Francisella tularensis*) lebensbedrohliche Laborinfektionen hervorrufen können.

- 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. Punktionstelle 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.
- Zusätzliche Entnahme von Blutkulturen (2-3 Paar).

### Der Antigen-Schnelltest erfasst folgende Erreger:

- *N. meningitidis* Typ A, B, C, Y, W 135
- *H. influenzae* Tyb b
- *S. pneumoniae*
- $\beta$ -hämolisierende Streptokokken der Gruppe B
- *E.coli* Typ K1

Zusätzlich kann ein Antigentest für *Cryptococcus neoformans* angefordert werden.

Bis zur Abholung der Proben Liquor-Blutkulturflaschen bei Raumtemperatur aufbewahren. **Hinweis:** 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 jirovecii*) besser geeignet sind gezielt bronchoskopisch oder mittels geschützter Bürste entnommenes Tracheal- und Bronchialsekret.

## Sputum

- Möglichst Morgensputum verwenden
- Vor der Expektoration Zähne putzen und Mund mit frischem Leitungswasser spülen (Bei V.a. 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%iger NaCl-Lösung oder mit Mukolytika 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 (neu: Chlamydophila) pneumoniae***: PCR-Diagnostik aus dem Sekret der oberen Luftwege

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

***Legionella spp.***: PCR aus dem Sekret der oberen Luftwege. Antigen-Test im Urin empfohlen.

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

***Pneumocystis jirovecii***: Bronchiallavage (5-10 ml), mit Einschränkung auch provoziertes Sputum. Nachweis über 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 (2-3 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,  $\beta$ -hämolyisierende 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.

**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 (dünnen) Abstrichtupfer ohne Transportmedium (dieses hemmt die Polymerasereaktion) verwenden. Durch die Nase die Hinterwand des Nasopharynx abstreichen.

**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:

**1) Art der Materialentnahme, z.B. intraoperativ**

**2) Art der Wunde:**

Chirurgische Wundinfektion

Akute Wundinfektion (Abszesse, traumatische Wunden, nekrotisierende Entzündungen)

Bisswunde

Verbrennungswunden

Diabetische Wundinfektionen

Dekubitus-Wunde

**3) Lokalisation**

Eiter und Flüssigkeiten aus primär sterilen Körperhöhlen (Gelenke, Pleura, Perikard, 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 durchführen zu können.
- Blutkulturflaschen bis zum Transport bei Raumtemperatur aufbewahren.!

### **Sonderfall CAPD:**

Blutkulturen mit je 10 ml Flüssigkeit beimpfen. Erst bei einer Leukozytenzahl von  $> 0,1$  G/l CAPD-Flüssigkeit ist eine Bakterienkultur erfolgversprechend.

Für Bestimmung der Leukozytenzahl (z.B. CAPD, Synovialflüssigkeit) 3 ml im EDTA Röhrchen in die klinische Chemie für automatische Auszählung einsenden.

### **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 Transportröhrchen (für die Mikroskopie) sowie in eine anaerobe 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 Transportröhrchen mit 1-2 ml steriler 0,9% NaCl-Lösung einsenden
- Eiter als Nativmaterial einsenden; Blutkultur-Flaschen nur als zusätzliche Maßnahme zum Nativmaterial beimpfen

- Falls ein Tupfer verwandt wird, soviel Material wie möglich entnehmen. Bitte keine flüssigen Proben im Abstrichtupfer einsenden. Diese Behältnisse sind nicht dicht. Es besteht eine Infektionsgefahr für die Labormitarbeiter.

## **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**

Ein luftgetrockneter Ausstrich des Vaginalsekretes zur mikroskopischen Untersuchung kann eingeschickt werden. Liegt dieses nicht vor, wird grundsätzlich bei Anforderung von pathogenen Keimen mit Anaerobierbeteiligung ein mikroskopisches Präparat vom Abstrichtupfer 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; für molekularbiologischen Nachweis Spezialabstriche bzw. Morgenurin (Erststrahl) einsenden.

***Mycoplasma hominis/Ureaplasmen***: Amies-Transportmedium

***Mycoplasma genitalium***: molekularbiologischer Nachweis mittels PCR

***Treponema pallidum***: Serologischer Nachweis

**Chlamydien**: Spezialabstriche für molekularbiologische Nachweisverfahren (PCR) sind im Labor bestellbar. Die Diagnostik ist auch aus nativem Morgenurin (5 ml Erststrahl) bzw. frühestens 2 Stunden nach der letzten Miktion möglich.

# Urindiagnostik

## Mittelstrahlurin

Damit die Erreger im Blasenurin möglichst hohe Keimzahlen erreichen (Abgrenzung gegenüber 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 aber 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, daher die Probe auf dem Anforderungsschein unbedingt als Blasenpunktionsurin kenntlich machen, da bei dieser Form der Entnahme jede Keimzahl als diagnostisch signifikant anzusehen ist.

## **Folgende Transportgefäße kommen in Frage:**

- Eintauchnährböden (z.B. Uricult®, Urotube®): Nährböden vollständig mit Urin benetzen. Abtropfen lassen. Es darf keine Restflüssigkeit im Transportgefäß verbleiben. Bis zum Transport im Brutschrank bei 37°C lagern (Ausnahme: Abholung am Tag der Probenahme, hier ist Raumtemperatur ausreichend). Beim optimalen Vorgehen werden dem Labor nur die nach Vorbebrütung bewachsenen Uriculte zugeschickt.
- Sterile Urinauffanggefäße. Falls zwischen Urinentnahme und Abholung der Probe mehr als 2 Stunden vergehen, ist die Probe zu kühlen (2-8°C).

# **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 Salmonella bzw. Shigella etc." vermerken, es wird dann nur noch die entsprechende Anlage durchgeführt.

## **Bakterielle Erreger und deren Toxine**

### ***Salmonella spp.***

Nativstuhl im Stuhlröhrchen, evtl. Stuhlabstrich im Amies-Transportmedium

### ***Shigella spp.***

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

### ***Yersinia spp.***

Nativstuhl im Stuhlröhrchen, evtl. Stuhlabstrich im Amies-Transportmedium

### ***Campylobacter spp.***

Nativstuhl im Stuhlröhrchen, evtl. Stuhlabstrich im Amies-Transportmedium

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

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

### **Sonstige enteropathogene *E.coli***

PCR-Diagnostik. Nativstuhl im Stuhlröhrchen.

### ***Clostridium difficile* (Antigen, Toxin)**

Nativstuhl, gekühlt (2-8°C). Der Nachweis 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 spp., Plesiomonas spp. (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.

### ***Helicobacter pylori* (Antigen)**

Nativstuhl im Stuhlröhrchen, Der Nachweis erfolgt mittels EIA.

## **Virale Erreger**

### **Rotavirus**

Nativstuhl im Stuhlröhrchen. Der Virusnachweis erfolgt mit der PCR. b

### **Adenovirus**

Nativstuhl im Stuhlröhrchen. Der Virusnachweis erfolgt mit der PCR.

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

Nativstuhl im Stuhlröhrchen. Der Virusnachweis erfolgt mit der PCR.

### **Astrovirus**

Nativstuhl im Stuhlröhrchen. Der Virusnachweis erfolgt mit der PCR.

### **Sapovirus**

Nativstuhl im Stuhlröhrchen. Der Virusnachweis erfolgt mit der PCR.

## **Parasiten**

### **Würmer/Wurmeier**

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

Bei V.a. Fadenwürmer (Oxyuren) morgens ein anales Tesafilmpräparat anfertigen.

### **Lamblien/Amöben**

Nativstuhl. Zusätzlich zur mikroskopischen Untersuchung mittels spezieller Färbungen jeweils Durchführung eines EIAs.

### **Pilze**

Nativstuhl

## **Tuberkulose / Mykobakteriosen**

Aufgrund der zum Teil sehr variablen Keimzahl im Untersuchungsmaterial sollten - wenn 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 atypischen Mykobakterien wie *M. xenopi* oder *M. gordonae* kontaminiert sind.

### **Eiter, Wundabstriche**

Soviel Eiter wie möglich entnehmen 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 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.

## **Antibiogramme**

**Allgemeine Hinweise:** 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 Antibiotika-

Resistenztestung erfolgt nach Vorgaben der EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) mittels MHK Bestimmung oder Agardiffusionstest. Zur klinischen Interpretation wird die ermittelte MHK oder der ermittelte Hemmhof dem mikrobiologischen Wirkprofil, der Kinetik, Toxikologie und klinischen Wirksamkeit des Antibiotikums gegenübergestellt. Daraus ergibt sich die Eingruppierung in Empfindlichkeitsbereiche

- **S = sensibel, Standarddosis:** Therapieerfolg bei Standardexposition wahrscheinlich
- **I = sensibel, hohe Dosis:** Therapieerfolg bei erhöhter Exposition wahrscheinlich
- **R = resistent:** Therapieversagen auch bei erhöhter Exposition wahrscheinlich

Die erhöhte Exposition kann erreicht werden durch

- 1) höhere Dosierung
- 2) verkürztes Dosierungsintervall oder veränderte Verabreichungsform (z. B. prolongierte Infusionsdauer bei Betalaktam-Antibiotika)
- 3) Konzentrierung am Infektionsort (z. B. bei Harnwegsinfektionen)

Eine erfolgreiche Therapie ist somit bei Testergebnis „I“ bei Anwendung der aktuellen NAK-Dosierungsempfehlungen ebenso gut möglich wie bei sensiblem Testergebnis. Die vom Nationalen Antibiotikakomitee für Deutschland (NAK) empfohlenen Dosierungen sind unter folgendem Link einsehbar: [www.nak-deutschland.org/dosierungstabellen.html](http://www.nak-deutschland.org/dosierungstabellen.html).

## **Austestung spezieller Resistenzmechanismen**

### **Beta-Laktamase bei *Hämophilus spp.* und *Moraxella spp.***

Es wird getestet, ob ein Isolat eine Beta-Laktamase produziert. Die Penicilline Penicillin, Ampicillin 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.

## Carbapenemasen

Zum Erfassen von Carbapenemase-positiven gramnegativen Stäbchen z.B. im Rahmen von Screening-Untersuchungen verwenden wir Selektivplatten.

Der Nachweis der Carbapenemasen bei Minder- oder Nicht-Empfindlichkeit von Carbapenemen bei gramnegativen Stäbchen erfolgt über einen immunchromatographischen Test und beinhaltet die Prüfung auf die gängigen Carbapenemasen VIM, IMP, NDM, KPC, OXA-48. Der positive Nachweis führt automatisch zur 4MRGN-Klassifizierung.

## Methicillin-Resistenz von *Staphylococcus aureus*

Durch Veränderung des Penicillin-Bindeproteins PBP-2 zu PBP 2a/2c (gesteuert durch das *mecA* oder *mecC*-Gen) wird eine verminderte Affinität zu Methicillin eingeleitet. Diese Resistenz beinhaltet ebenfalls eine Resistenz gegenüber allen Beta-Laktam-Antibiotika außer den neueren Cephalosporinen mit anti-MRSA-Aktivität (Ceftaroline und Ceftobiprole). Wir verwenden stets zwei Methoden zur Detektion; bei Zweifelsfällen finden zusätzliche Untersuchungen Anwendung.

## Vancomycin-Resistenz von Enterokokken

Durch zwei Methoden wird dieser Resistenzmechanismus abgeklärt, sofern es sich nicht um Enterokokken handelt, bei denen eine intrinsische Vancomycin-Resistenz bekannt ist und die damit nicht Hygiene-relevant sind (*E. gallinarum* und *E. casseliflavus*)

# Lagerung von Untersuchungsmaterialien bis zur Abholung

	Kühlschrank	Raumtemperatur	Brutschrank
Abstrich im Transportmedium		+	
Tracheal-, Bronchialsekret	+		
Bronchial-Lavagen	+		
Sputum	+		
Blutkulturen		+	
Liquor in Blutkulturflasche		+	
Uricult			+

Urin	+		
Stuhl: path. Keime & Viren	+		

## Literatur

- MiQ 2 2020 Gatermann, S., Fünfstück, R., Handrick, W., Leitritz, L., Naber, K.G., Podbielski, A., Podschun, R., Schmidt, H., Sester, U., Straube, E., Wittke, J.W., Mauch, H.  
Harnwegsinfektionen
- MiQ 3a/b 2007 Seifert, H., Abele-Horn, M., Fätkenheuer, G., Glück, T., Jansen, B., Kern, W.V., Mack, D., Plum, G., Reinert, R.R., Roos, R., Salzberger, B., Shah, P.M., Ullmann, U., Weiss, M., Welte, T., Wisplinghoff, H. Blutkulturdiagnostik – Sepsis, Endokarditis, Katheterinfektionen (Teil 1/2)
- MiQ 4 2013 K. Janitschke, P. Kimmig, H. M. Seitz, M. Frosch, U. Groß, H. Hlobil, I. Reiter-Owona, C. Bogdan, E. Tannich, B. Fleischer, A. Hörauf, R. Ignatius, D. Tap-pe, J. Walochnik  
Parasitosen
- MiQ 5 2019 E. Richter E, J. Beer, R. Diel, D. Hillemann, H. Hoffmann, M. klotz, H. Mauch, S.  
Rüsch-Gerdes Tuberkulose Mykobakteriose
- MiQ 6a/b 2013 Prof. Dr. K. Becker, Prof. Dr. Dr. A. Podbielski, Prof. Dr. C. Sunder-kötter, Prof. Dr. R. Berner, PD Dr. C. Eckmann, Prof. Dr. C. von Eiff, Dr. Dr. A. Hart-inger, Prof. Dr. V. Kempf, Prof. Dr. J. Kühn, Prof. Dr. U. Vogel Infektionen der Haut und der subkutanen Weichteile (Teil 1/2)
- MiQ 7 2010 Frank Sommer, Johannes Elias, Matthias Griese, Evelyn Heintschel von Heinegg, Martina Kerwat, Rembert Koczulla, Michael Lohoff, Christian Lück, Harald Mauch, Reinier Mutters, Andreas Podbielski, Holger F. Rabenau, Peter-Michael Rath, Ulrich Vogel, Claus Franz Vogelmeier Infektionen der tiefen Atemwege Teil 1
- MiQ 8 2010 Frank Sommer, Johannes Elias, Matthias Griese, Evelyn Heintschel von Heinegg, Martina Kerwat, Rembert Koczulla, Michael Lohoff, Christian Lück, Harald Mauch, Reinier Mutters, Andreas Podbielski, Holger F. Rabenau, Peter-Michael Rath, Ulrich Vogel, Claus Franz Vogelmeier Infektionen der tiefen Atemwege Teil 2
- MiQ 9 2013 M. Kist, A. Ackermann, I. B. Autenrieth, Chr. von Eichel-Streiber, J. Frick, A. Fruth, E. O. Glocker, G. Gorkiewicz, A. von Graevenitz, M. Hornef, H. Karch, E. Kniehl, G. Mauff, A. Mellmann, L. von Müller, T. Pietzcker, R. Reissbrodt, H. Rüssmann, E. Schreier, J. Stein, N. Wüppenhorst Gastrointestinale Infektionen
- MiQ 10 2011 Prof. Dr. Dr. Marianne Abele-Horn, Prof. Dr. Holger Blenk, PD Dr. An-dreas Clad, Dr. Johannes Elias, Prof. Dr. Andreas Essig, Prof. Dr. med. Dipl.-Biol. G. Haase, Prof. Dr. Hans-Jochen Hagedorn, Prof. Dr. Enno Jacobs, Dr. Klaus Korn, Prof. Dr. Dr. h. c. Kurt Naber, Prof. Dr. Barbara Spellerberg, Dr. Johannes Wirbelauer Genitalinfektionen, Teil I Infektionen des weiblichen und des männlichen Genitaltraktes
- MiQ11 a/b 2011 Prof. Dr. Dr. Marianne Abele-Horn, Prof. Dr. Holger Blenk, PD Dr. Andreas Clad, Dr. Johannes Elias, Prof. Dr. Andreas Essig, Prof. Dr. med. Dipl.-Biol. G. Haase, Prof. Dr. Hans-Jochen Hagedorn, Prof. Dr. Enno Jacobs, Dr. Klaus Korn, Prof. Dr. Dr. h. c. Kurt Naber,

Prof. Dr. Barbara Spellerberg, Dr. Johannes Wirbelauer Genitalinfektionen, Teil II  
Infektionserreger Bakterien/Parasiten und Viren

- MiQ 13 a/b 2010 A. Podbielski, A. Berger, S. Dommerich, M. Donat, H. Frickmann, W. Hampl, M. Hermann, H. Lang, H. Luckhaupt, M. Riffelmann, A. Sing, A. Spahr, U. Vogel, C. Wirsing von König Infektionen des Mundes und der oberen Atemwege Teil ½
- Neumeister B, Geiss H.K., Braun R., Kimmig P., Mikrobiologische Diagnostik, Georg Thieme Verlag 2009
- Garcia L.S., Idenberg H.D., Clinical Microbiology Handbook, ASM Press, Washington D.C., 2010
- J. H. Jorgensen, M. A. Pfaller, K. C. Carroll, G. Funke, M. L. Landry, S. S. Richter, D. W. Warnock, Manual of Clinical Microbiology, Eleventh Edition, American Society for Microbiology, 2015
- Cumitech 1C: Weinstein MP, Dunne WM, Yagupsky P. Coordinating Editor: Baron EJ Blood Cultures IV, 2005 Cumitech 2B: Laboratory Diagnosis of Urinary Tract Infections, March 1998
- Cumitech 12A: Gilligan PH, Janda JM, Karmali MA, Miller JM. Coordinating Editor: Nolte FS Laboratory Diagnosis of Bacterial Diarrhea, April 1992
- Cumitech 17A: Baron EJ, Cassell GH, Dufly LB, Eschenbach DA, Greenwood JR, Harvey SM, Madinger NE, Peterson EM, Waites KB. Coordinating Editor: Baron EJ Laboratory Diagnosis of Female Genital Tract Infections, June 1993