

## **Mikrobiologie / Hygiene**

### **Inhaltsverzeichnis**

- 1 Allgemeine Hinweise**
  - 1.1. Vorbemerkungen
  - 1.2. Zwischenlagerung mikrobiologischer Untersuchungsmaterialien
  - 1.3. Resistenzbestimmungen
  
- 2. Wichtige Untersuchungsmaterialien**
  - 2.1 Blutkulturen
  - 2.2 Katheterspitzen
  - 2.3 Liquor
  - 2.4 Punktate aus primär sterilen Körperhöhlen / Gelenken
  - 2.5 Sputum, Tracheal- und Bronchialsekret
  - 2.6 Material aus Wunden und infektiösen Prozessen
  - 2.7 Rachenabstriche
  - 2.8 Nasen-, Nasopharyngealabstriche
  - 2.9 Ohrabstriche, Mittelohrsekret
  - 2.10 Augen- bzw. Konjunktivalabstriche
  - 2.11 Vaginalabstriche
  - 2.12 Zervixabstriche
  - 2.13 Urethralabstriche
  - 2.14 Ejakulat
  - 2.15 Urin
  - 2.16 Stuhl
  
- 3 Spezielle erregbezogene Diagnostik**
  - 3.1 Pilze
    - 3.1.1 Dermatomykosen
    - 3.1.2 Schleimhautmykosen
    - 3.1.3 Mykosen der Atemwege
    - 3.1.4 Systemische Mykosen
  - 3.2 Mykobakterien
  - 3.3 Humanes Papilloma Virus (HPV)
  
- 4 Hygieneuntersuchungen**

## 1 Allgemeine Hinweise

### 1.1 Vorbemerkungen

Fachgerechte Entnahme und schneller Transport von Untersuchungsmaterial sind wichtige Voraussetzungen für eine sinnvolle Infektionsdiagnostik. Deshalb bestehen hohe Anforderungen an die Gewinnung des Untersuchungsmaterials.

Grundsätzlich sollen alle mikrobiologischen Untersuchungsmaterialien vor Beginn einer antimikrobiellen Therapie oder anderer keimschädigender Maßnahmen gewonnen werden. Bei Nichtansprechen auf die Therapie (Erregerresistenz, Erregerwechsel) kann auch Material kurz vor der nächsten Antibiotikagabe entnommen werden (verabreichte Präparate angeben!).

Wesentlich ist die Überlegung, welche Art Probenmaterial geeignet und verfügbar ist, um ein möglichst getreues Abbild der aktuellen Situation am Infektionsherd zu erhalten. Grundsätzlich sind Eiter, Punktat- und Sekretmengen von mehr als 2 ml sowie Gewebeproben besser geeignet als Abstrichtupfermaterialien.

*Die Proben bitte eindeutig mit dem Patientennamen kennzeichnen!*

*Alle Gefäße bitte fest verschließen!*

Für die Durchführung einer Untersuchung, die alle in Frage kommenden Erreger berücksichtigt, müssen folgende Informationen auf dem Begleitschein vermerkt werden:

- Art des Materials (z.B. Biopsiematerial, Sekret, Eiter, Punktat)
- Entnahmestelle (genaue anatomische Lokalisation, die Bezeichnung „Abstrich“ oder „Wundabstrich“ ist unzureichend)
- Entnahmezeitpunkt (Datum, Uhrzeit)
- Verdachtsdiagnose
- ggf. anamnestische Hinweise.

Werden von einem Patienten mehrere Proben verschickt:

- Proben eindeutig kennzeichnen
- Gewünschte Untersuchung bitte auf dem Begleitschein eindeutig vermerken.
- Für Kassenpatienten bitte zu jeder Materialprobe einen separaten Überweisungsschein mitschicken (Forderung der KV) – das gilt auch und besonders für mehrere Stuhlproben.

Für Privatpatienten und bei Anforderung von "IGeL"-Leistungen verwenden Sie bitte die speziellen Überweisungsscheine .

*Wichtig:* Unterschrift der Patienten!

Die im folgenden zusammengestellten Hinweise können natürlich nur einen Überblick bieten. Bei eventuellen Unklarheiten oder Fragen zu speziellen Untersuchungen bitten wir um telefonische Rücksprache unter (0341) 6565-200.

Eine Übersicht über die Zwischenlagerung der häufigsten Untersuchungsmaterialien bis zum Transport bietet die folgende Tabelle:

### 1.2. Zwischenlagerung mikrobiologischer Untersuchungsmaterialien

Material	Raumtemperatur	Kühlschrank (4°C)	Brutschrank (36°C)
Abstriche (aller Art) im Transportmedium	+	(+)	-
Stuhl <sup>1)</sup>	-	+	-
Urin, nativ	-	+	-
Urin, „uri-stat®“	+	(+)	-
Urin-Tauchkultur (nach Bebrütung)	-	+	-
Sputum	-	+	-
Tracheal-und Bronchialsekrete	-	+	-
Punktate / Aspirate	-	+	-
In Transportmedium	+	(+)	-
Gewebe/Biopsiematerial	-	+	-
In Transportmedium	+	(+)	-
Blutkulturen	+	-	-
Liquor, nativ	+	-	-
In Kulturflaschen	(+)	-	+
Katheterspitzen	-	+	-
in Bouillon	(+)	-	+

Material für TBC	-	+	-
Material für Dermatophyten	+	-	-

- + Methode der Wahl
- (+) bei Zwischenlagerung von > 12 h
- nicht (oder nur in Ausnahmefällen) geeignet

1) für Untersuchung auf Clostridium difficile - Toxin bei Zwischenlagerung von > 24 h einfrieren

### 1.3 Resistenzbestimmungen

Der weitaus größte Teil der Resistenzbestimmungen (z.B. Enterobacteriaceae, Staphylokokken, Enterokokken) wird mit dem automatisierten VITEK®2-System (bioMérieux) durchgeführt.

Dieses Verfahren basiert auf der Bestimmung der Minimalen Hemmkonzentration (MHK). Die Meßwerte werden nach den aktuellen Standards (DIN, NCCLS) den allgemein üblichen Kategorien „S“ = sensibel, „I“ = intermediär und „R“ = resistent zugeordnet und erscheinen (wegen der besseren Übersichtlichkeit) so auf dem Befund. Nach Absprache können natürlich auch die MHK-Werte angegeben werden.

Einer der Vorteile des VITEK®-Systems ist die schnelle Verfügbarkeit der Ergebnisse, die (ausgehend von der Reinkultur) etwa nach 4 – 8 h vorliegen.

Ein Nachteil ist die zwar umfangreiche (ca. 25), aber vom Hersteller vorgegebene Auswahl der Antibiotika. Zusätzliche Antibiotika werden auf spezielle Anforderung mitgetestet.

Bei langsam wachsenden Bakterien und/oder solchen mit besonderen Wachstumsansprüchen, z.B. Nonfermentern, obligaten Anaerobiern, Haemophilen oder einem Teil der Streptokokken kommen je nach Isolat und Untersuchungsmaterial folgende alternative Methoden zum Einsatz:

- Mikrodilution („breakpoint“)
- Agardiffusion
- Etest® (MHK).

Auf Resistenzbestimmungen bei Sprosspilzen (Antimykogramme) wird im Kapitel 3.1. eingegangen.

## 2 Wichtige Untersuchungsmaterialien

### 2.1. Blutkulturen

#### 2.1.1 Indikationen

- Verdacht auf Sepsis, Bakteriämie, Fungämie
- Verdacht auf akute oder subakute Endokarditis
- Fieber unklarer Genese, insbesondere bei immunsupprimierten / abwehrgeschwächten Patienten
- Fieber bei liegendem intravasalem Katheter / intravasculären Implantaten
- Schwere Infektionen, z.B. Verdacht auf Meningitis, Pneumonie, Pyelonephritis, Wundinfektionen, Osteomyelitis
- Verdacht auf zyklische Infektionskrankheiten, z.B. Typhus oder Paratyphus.

#### 2.1.2 Vorgehensweise

##### Vorbemerkungen

Eine Blutkultur besteht normalerweise aus einem Blutkulturflaschen-Paar oder –Set (aerobe und anaerobe Flasche), welches mit Blut von einer einzigen Venenpunktion unter aseptischen Kautelen beimpft wurde.

Die Entnahme einer einzigen Blutkultur reicht für den sicheren Nachweis bzw. Ausschluß einer Bakteriämie oder Fungämie nicht aus, als optimal gelten mindestens 2, besser 3 Blutkulturen.

Da sich aus der Literatur keine Hinweise auf einen optimalen Zeitabstand zwischen zwei Blutkulturentnahmen ergeben, sollte dieser von der jeweiligen klinischen Situation abhängig gemacht werden:

In akuten Fällen 2 - 3 Entnahmen kurz hintereinander durch separate Venenpunktionen, damit schnell mit einer empirischen / kalkulierten antimikrobiellen Therapie begonnen werden kann

Bei Verdacht auf subakute Endokarditis / Fieber unklarer Genese 3 Entnahmen verteilt auf 24 h.

Bei ausgeprägten Fieberzacken Blutentnahmen zu Beginn des Fieberanstiegs, möglichst vor Beginn einer antimikrobiellen Therapie, notfalls unmittelbar vor einer Antibiotikagabe bei bereits laufender Therapie.

##### Materialentnahme

- Blutkulturflaschen (Raumtemperatur!) beschriften bzw. mit Aufkleber versehen

*Achtung!* Barcode der Flaschen nicht überkleben!

- Plastikverschluß entfernen, Durchstichkappe desinfizieren (z.B. mit 70%-igem Ethanol oder Isopropanol)
- Einweghandschuhe anziehen
- Punktionsstelle gründlich desinfizieren (mindestens 30 sec Einwirkzeit)
- Bei Erwachsenen (6- ) 20ml, bei Kindern (1-) 5ml Blut mittels Einwegspritze aus der Vene entnehmen
- Flaschen mit Blutproben beimpfen, jeweils die Hälfte (optimal 10ml) in die aerobe Flasche (grau), anschließend in die anaerobe Flasche (gold)
- Bei Neugeborenen und Kleinkindern „PEDS“-Blutkulturflasche(n) beimpfen (Mindestmenge 0,5ml)
- Bis zur Abholung beimpfte Blutkulturflaschen bei Raumtemperatur lagern.

#### Hinweise

- Die Inkubationszeit im Labor beträgt 6 Tage, bei Verdacht auf Endokarditis (bitte unbedingt angeben!) 21 Tage
- Jeder positive Teilbefund wird Ihnen umgehend telefonisch bzw. per Fax gemeldet
- Im negativen Fall kommt nur der schriftliche Endbefund (nach 1 bzw. 3 Wochen).

## **2.2 Katheterspitzen**

### **2.2.1 Indikationen**

- Verdacht auf Katheter-assoziierte Infektionen

### **2.2.2 Vorgehensweise**

- Insertionsstelle desinfizieren, Katheter ziehen, Spitze (ca. 4-6 cm) abschneiden und in ein Transportgefäß geben
- Gefäß ohne Nährbouillonzusatz:  
bei der Kultur ist eine semiquantitative Keimzahlbestimmung möglich.  
Nachteil: empfindliche Bakterien können Transport evtl. nicht überleben
- Gefäß mit Nährbouillon:  
alle Keime werden angezüchtet.  
Nachteil: eine semiquantitative Aussage ist nicht möglich.

### **2.2.3 Untersuchungen**

- Aerobe Kultur, ggf. Identifizierung und Resistenzbestimmung.

## **2.3. Liquor**

### **2.3.1 Indikationen**

- Meningitis
- Encephalitis

### **2.3.2. Vorgehensweise**

- Achtung! Bitte noch vor der Punktion den Transport der Probe organisieren und/oder das Labor informieren! (tagsüber (0341) 6565-200, sonst 6565-100)
- Liquorentnahme möglichst vor Beginn der Antibiotikatherapie
- Einstichstelle sorgfältig desinfizieren, Umgebung mit sterilem Lochtuch abdecken
- Punktion zur Gewinnung von 5 - 10 ml Liquor
- Unter streng aseptischen Bedingungen in 2 - 3 sterile Probenröhrchen abtropfen lassen
- Material sofort ins Labor des Krankenhauses bringen

#### Für die mikrobiologischen Untersuchungen:

- 2 - 5 ml unter sterilen Kautelen in eine Blutkulturflasche (am besten geeignet sind „PEDS“-Flaschen) überimpfen
- zusätzlich 2 Präparate auf Objektträgern anfertigen, lufttrocknen und / oder  
nach Möglichkeit 1 ml Nativ-Liquor im sterilen Probenröhrchen mitschicken (davon können dann mikroskopische Präparate, Hemmstofftest und der Antigen-Suchtest durchgeführt werden)
- Proben bis zum Transport bei Raumtemperatur zwischenlagern (ca. 18 - 25°C), diese Temperatur auch während des Transportes konstant halten (Thermostatbehälter)

- Falls bis dahin noch nicht erfolgt, Labor telefonisch benachrichtigen.

#### Hinweise

Prinzipiell sollte zusätzlich Blut für die kulturelle Untersuchung entnommen und parallel mit eingeschickt werden (siehe „Blutkulturen“)

### 2.3.3. Untersuchungen

Wenn ausreichend Nativ-Liquor mit eingeschickt wird, wird ein Antigen-Schnelltest durchgeführt, der folgende Erreger erfaßt:

- Neisseria meningitidis Typ A, B, C, Y, W135
- Haemophilus influenzae Typ b
- Streptococcus pneumoniae
- Streptococcus agalactiae (B-Streptokokken)
- Escherichia coli Typ K1.

## 2.4. Punktate aus primär sterilen Körperhöhlen/Gelenken

### 2.4.1 Indikationen

- Pleuritis, Perikarditis, Peritonitis
- Differentialdiagnostik von Arthritiden.

### 2.4.2 Vorgehensweise

(Gelenke, Pleura, Pericard, Peritoneum)

- Die Punktion muß unter streng aseptischen Kautelen vorgenommen werden
- Blutkulturflaschen beimpfen (aerob und anaerob), genaues Procedere siehe Blutkulturen
- Ein Teil des Punktates sollte, wenn möglich, *nativ* eingesandt werden
- Blutkulturflaschen bis zum Transport bei Raumtemperatur aufbewahren
- Notfalls, wenn keine Blutkulturflaschen verfügbar, einen sterilen Abstrichtupfer mit dem Material tränken und im Transportmedium einschicken (möglichst zusätzlich zum nativen Punktate).

### 2.4.3. Untersuchungen

- Mikroskopie (Grampräparat)
- Hemmstofftest (Nativpunktate)
- Aerobe und anaerobe Kultur
- Ggf. Keimidentifizierung und Antibiogramm.
- Nur auf spezielle Anforderung (Nativpunktate erforderlich):
- Nachweis von Chlamydia trachomatis-DNA mittels BDProbeTec®
- Nachweis von Neisseria gonorrhoeae-DNA mittels BDProbeTec®
- Nachweis von Mycobacterium tuberculosis Komplex-DNA mittels BDProbeTec®
- Mikroskopische und kulturelle Mykobakterien-Diagnostik.

## 2.5. Sputum, Tracheal- und Bronchialsekret

### 2.5.1 Indikationen

- Pneumonie
- Bronchitis
- Zystische Fibrose
- Tuberkulose

### 2.5.2. Materialgewinnung

#### Sputum

- Möglichst **Morgensputum** verwenden
- 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. 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 verwenden. Zur Untersuchung eignet sich nur Sputum, das sichtbare Eiterflocken enthält. Bis zum Transport bei 4 - 8 °C lagern.

#### Tracheal- / Bronchialsekret

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

#### Hinweise:

Das Sputum wird bei der Gewinnung zwangsläufig mit der Mund- und Rachenflora kontaminiert.

Trotz optimaler Probenentnahme ist es daher oft schwierig, aussagekräftige Befunde zu erheben.

#### Wichtige Kriterien (Mikroskopie):

*Bei hundertfacher Vergrößerung sollten höchstens 25 Epithelien und eine entsprechende Anzahl von Leukocyten pro Gesichtsfeld zu sehen sein. Die Angabe der Keime erfolgt semiquantitativ. Bei ungeeigneter Materialqualität erfolgt keine Bearbeitung potentiell pathogener Erreger (entsprechender Hinweis auf dem Befund)!*

### 2.5.3 Spezialuntersuchungen

Auf dem Einsendeschein Verdacht auf Nocardiose, Aktinomykose und Pilzinfektion extra vermerken (kulturelle Untersuchungen). HIV-Infektionen und andere Erkrankungen, die mit Immunsuppression einhergehen (z.B. Leukämie), angeben.

- **Legionella pneumophila ≈, Chlamydia pneumoniae ≈, Mycoplasma pneumoniae ≈:**  
DNA-Nachweis mittels PCR,  
Legionella-Antigen kann (mit geringerer Sensitivität) auch im Nativurin nachgewiesen werden (EIA)
- **Pneumocystis carinii ≈:**  
Bronchiallavage (5 - 10 ml), mit Einschränkung auch provoziertes Sputum. Untersuchung mittels PCR, da diese Methode der Mikroskopie deutlich überlegen ist
- **Mycobacterium tuberculosis-Komplex:** siehe Abschnitt Mykobakteriendiagnostik (Kap. 3.2).

## 2.6. Material aus Wunden und infektiösen Prozessen

### 2.6.1 Indikationen

- Oberflächliche und tiefe Infektionen von Haut, Schleimhäuten und Weichteilen.

### 2.6.2 Vorgehensweise

#### Abszesse und geschlossene Infektionsprozesse

- Sofern der Prozeß lokalisierbar und von außen erreichbar ist, Eiter oder Exsudat nach Hautdesinfektion durch perkutane Punktion mit einer Spritze gewinnen
- Gelingt dies nicht, bei der Inzision von Abszessen das Material mittels chirurgischem Löffel oder einer Spritze aufnehmen (keinen Tupferabstrich aus vorher entleerter Abszeßhöhle entnehmen!).

#### offene Wunden und Ulzerationen

- Da oberflächliche Bereiche überwiegend sekundär besiedelnde Mikroorganismen enthalten, ist das Material von exsudatreichen Wunden aus dem Wundgrund und aus den Randbezirken der Läsion nach der Entfernung von Belägen zu gewinnen
- Bei Haut- und Schleimhautulzerationen oder getrockneten Wunden ist Exzisionsmaterial am besten geeignet, ggf. kann sterile physiolog. NaCl-Lösung injiziert und sofort wieder aspiriert werden.

#### Hinweise

Native Punktate / Aspirate bis zum Transport kühl lagern (ca. 4 - 8 °C), nach Möglichkeit vorher in Portagerm®-Fläschchen (mit Durchstichlamelle) umfüllen.

Stehen diese nicht zur Verfügung, sollten wegen der nicht zu vermeidenden Transportzeiten Punktate u.a. empfindliche Materialien zusätzlich in einem „normalen“ Transportmedium versandt werden. Dazu das Material mit dem sterilen Abstrichtupfer aufnehmen und in das entsprechende Medium einstellen. Bei Gewebeteilchen oder anderen festen Proben dazu unbedingt klare Transportmedien (ohne Holzkohlezusatz) verwenden.

Bei Gasbrandverdacht möglichst telefonische Vorankündigung und Anfertigung eines Ausstriches auf einem Objektträger (lufttrocknen lassen und im Objektträgerbehälter einsenden).

### 2.6.3 Untersuchungen

- Mikroskopie (bei adäquatem Material)
- Kultur auf alle pathogenen Bakterien, ggf. einschließlich obligater Anaerobier, und deren Testung
- Kultur auf Sproßpilze

Folgende Untersuchungen werden auf besondere Anforderung durchgeführt:

- Schimmelpilze und Dermatophyten
- Aktinomykose
- Mykobakterien (s. Kap. 3.2.).
- Bei Verdacht auf seltene bzw. tropische Infektionen bitten wir um telefonische Rücksprache unter (0341) 6565-200.

### 2.7. Rachenabstrich

#### 2.7.1 Indikationen

- z.B. Scharlach, Angina, Rachen-Diphtherie
- Zum Nachweis von Keimträgertum (auch bei Personal) mit Staphylococcus aureus (MRSA), Streptococcus pyogenes, Meningokokken, Corynebacterium diphtheriae.

#### 2.7.2 Vorgehensweise

- Zunge mit Spatel herunterdrücken (die Anwendung von Sprühanästhetika ist zu vermeiden, da das Ergebnis der mikrobiologischen Kultur verfälscht werden kann)
- Abstrich von Tonsillen oder Seitensträngen unter Drehen und kräftigem Andrücken (Berührung mit anderer Schleimhaut und Speichel vermeiden)
- Tupfer in Transportmedium stecken

Bei Verdacht auf Angina Plaut-Vincent:

- bitte mit einem 2. Tupfer Material auf einen Objektträger ausstreichen und luftgetrocknet einschicken

Bei Verdacht auf Diphtherie:

- Sekret unter der abgehobenen Pseudomembran entnehmen oder ggf. vom Kehlkopf. Labor vorher telefonisch benachrichtigen.

#### Hinweise

Bei der Anforderung „hämolisierende Streptokokken“ erfolgt nur die entsprechende kulturelle Untersuchung

Die „normale“ Untersuchung umfaßt die aerobe kulturelle Diagnostik einschließlich der Identifizierung und ggf. Resistenzbestimmung potentiell pathogener Bakterien bei adäquater Keimzahl

Spezielle Untersuchungen, z.B. Angina Plaut-Vincent, Diphtherie oder Untersuchung von Keimträgern, sind auf dem Begleitschein gesondert anzufordern.

### 2.8. Nasenabstrich, Nasopharyngealabstrich

#### 2.8.1 Indikationen

- Nachweis von Keimträgertum (auch bei Personal), z.B. mit Staphylococcus aureus (MRSA)
- Ggf. nasale Läsionen
- Verdacht auf Keuchhusten

#### 2.8.2 Vorgehensweise

- Abstrich vom Vestibulum nasi unter Drehen des Tupfers bzw. unter Sicht von den entzündeten Stellen
- Tupfer in Transportmedium stecken
- Nasopharyngealabstrich bei Verdacht auf Pertussis: Methode der Wahl ist wegen der deutlich höheren Sensitivität der molekularbiologische Nachweis („PCR“ / Untersuchung im Laborverbund). Dazu ein normales Abstrichbesteck mit dünnem Tupferstiel (Alu oder Draht) verwenden. Unter Sicht bis zum Nasopharynx vorschieben, mehrfach drehen und wieder ins Transportmedium einstellen.

## Hinweise

Nasenabstriche sind wegen der umfangreichen Standortflora (darunter potentiell pathogene Keime) nicht für die mikrobiologische Diagnostik einer Sinusitis geeignet. Das Material der Wahl sind Punktate, ggf. Nebenhöhlen-Spülflüssigkeit.

## **2.9. Ohrabstrich, Mittelohrsekret**

### **2.9.1 Indikationen**

- Otitis media
- Otitis externa

### **2.9.2 Vorgehensweise**

- Mittelohrsekret mit Abstrichtupfer aufnehmen, dabei Kontakt mit der Gehörgangswand vermeiden
- Gehörgangsabstriche sollten unter Sicht (Otoskop) von geröteten oder sekretbedeckten Bereichen entnommen werden
- Bei trockenen Läsionen kann der Abstrichtupfer mit physiolog. NaCl-Lösung angefeuchtet werden.

## Hinweise

Versand im Transportmedium

Bei Verdacht auf Mykosen besser einige Hautschuppen gewinnen (siehe auch unter Kap. 3.1., „Pilzdiagnostik“).

## **2.10 Augen- bzw. Konjunktivalabstrich**

### **2.10.1 Indikation**

- Konjunktivitis

### **2.10.2 Vorgehensweise**

- Antimikrobielle Augentropfen und –salben rechtzeitig absetzen
- Vor der Abstrichentnahme möglichst keine Lokalanästhetika verwenden, da diese antibakterielle Zusätze enthalten
- Nach Abheben des Unterlides Konjunktiva mit Tupfer abstreichen, Berührung mit dem Lidrand möglichst vermeiden
- Bei Ulcera Abstrich vom Geschwürrand entnehmen
- Der Abstrichtupfer kann ggf. mit steriler physiolog. NaCl-Lösung angefeuchtet werden.

## Hinweise

Für die Untersuchung auf Chlamydia trachomatis spezielle Entnahmesysteme („Culturette“) verwenden, da ein molekularbiologischer Nachweis (BDProbeTec®) erfolgt.

## **2.11 Vaginalabstrich**

### **2.11.1 Indikationen**

- Kolpitis
- Verdacht auf bakterielle Vaginose
- Verdacht auf toxisches Schocksyndrom (Staph. aureus, Strept. pyogenes).

### **2.11.2 Vorgehensweise**

- Vaginalabstriche unter Druck vom Receptaculum seminis und der Vaginalwand aufnehmen, damit auch fest anhaftende Erreger, z.B. Pilze, erfaßt werden
- Fluor kann auch direkt vom Spekulum gewonnen werden
- Für eine adäquate mikroskopische Beurteilung sollte mit einem separaten Abstrichtupfer ein Objektträgerausstrich angefertigt werden (lufttrocknen, nicht chemisch fixieren, in entsprechendem Behälter einsenden).

### **2.11.3 Untersuchungen**

je nach Anforderung:

- *Mikroskopie:*

u.a. Beurteilung der quantitativen Verhältnisse der Standortflora, z.B., ob eine Dysbiose (Bakterielle Vaginose) vorliegt.

- *Kultur:*

Untersuchung auf potentiell pathogene Keime einschließlich der Sproßpilze und *Gardnerella vaginalis* mit semiquantitativer Beurteilung, Vertreter der physiologischen Standortflora werden ebenfalls mit angegeben (ohne „Berechnung“).

Eine Resistenzbestimmung potentiell pathogener Bakterien wird auch bei entsprechender Anforderung nur durchgeführt, wenn diese in hoher Keimzahl oder in Reinkultur bzw. bei fehlendem Nachweis der physiologischen Standortflora angezüchtet werden.

Eine Untersuchung auf Mykoplasmen (*Ureaplasma urealyticum* und *Mycoplasma hominis*) erfolgt nur auf entsprechende Anforderung oder z.B. bei Abortus imminens oder drohender Frühgeburt.

- *Trichomonas vaginalis*:

kann durch ein molekularbiologisches Verfahren (DNA-Sonde) nachgewiesen werden, wenn eine Nativmikroskopie „vor Ort“ nicht möglich ist; dazu bitte einen separaten Abstrich im Transportmedium einschicken.

#### Hinweis

Bei der Bewertung des mikrobiologischen Befundes sollte generell das klinische Bild im Vordergrund stehen, da eine Vielzahl potentiell pathogener Keime auch zur physiologischen Standortflora gehören kann.

## **2.12. Zervixabstrich**

### **2.12.1 Indikationen**

- Zervizitis
- bei Adnexitis zum Ausschluß einer Infektion mit *Neisseria gonorrhoeae* und / oder *Chlamydia trachomatis*.

### **2.12.2 Vorgehensweise**

- Zervixabstriche nach Spekulum-Einstellung und Reinigung der Portio mittels Abstrichtupfern oder Cytobrush drehend etwa 1 - 2 cm tief aus dem Zervikalkanal entnehmen (unterschiedliche Entnahmesysteme beachten!)
- Für die kulturelle Diagnostik potentiell pathogener Erreger, auf besondere Anforderung auch von *Neisseria gonorrhoeae*, „normale“ Abstrichbestecke verwenden
- Möglichkeit mit einem zweiten Abstrichtupfer einen Objektträgerausstrich anfertigen und luftgetrocknet einschicken
- Für die molekularbiologische Diagnostik von *Chlamydia trachomatis* und/oder *Neisseria gonorrhoeae* unbedingt spezielle Abstrichbestecke verwenden:
  - „Culturette“<sup>®</sup> (BDProbeTec<sup>®</sup>: Strangverdrängungsamplifizierung / "SDA")
  - „GenProbe“<sup>®</sup> (Gensonde: DNA-RNA-Hybridisierung)

#### *Achtung!*

Keine „Digene“-Abstrichbestecke benutzen, da wir damit nur die HPV-Diagnostik (s. Kap.3.3) durchführen können.

#### Hinweise

Der BDProbeTec-Test ist auch für die Untersuchung flüssiger Untersuchungsmaterialien, wie Ejakulate oder Urin (Vorderstrahl) geeignet.

Sowohl mit „BDProbeTec“ als auch mit der Gensonde kann jeweils aus der gleichen Probe eine Untersuchung auf *Chlamydia trachomatis* und *Neisseria gonorrhoeae* durchgeführt werden. Das ist insofern sinnvoll, als beide Erreger häufig gleichzeitig übertragen werden und klinisch oft die gleiche Symptomatik bieten.

*Auf die Verwendung einfacher „Streifenteste“ wie z.B. „Clearview-Chlamydia“<sup>®</sup> sollte wegen ihrer geringen Sensitivität und Spezifität verzichtet werden!*

## **2.13. Urethralabstriche**

### **2.13.1 Indikationen**

- Urethritis / Urethrasymptom der Frau
- Urethritis des Mannes
- Verdacht auf eine Infektion mit *Neisseria gonorrhoeae* und / oder *Chlamydia trachomatis*.

### **2.13.2 Vorgehensweise**

- Die letzte Miktion sollte möglichst 2-3 h zurückliegen. Vor der Abstrichentnahme beim Mann empfiehlt sich, Sekret aus den hinteren Harnröhrenabschnitten durch Ausstreifen nach vorne zu befördern
- Das Material sollte mittels Abstrichtupfer (dünner Stiel) aus einer Tiefe von mindestens 2 cm, eventuell unter leichter Drehung, gewonnen und anschließend sofort in das Transportmedium eingestellt werden
- Achtung! Für die Diagnostik von *Chlamydia trachomatis* und / oder *Neisseria gonorrhoeae* sind besondere Entnahmesysteme (also ggf. ein zweiter Abstrich) erforderlich.

#### Hinweise

Zur molekularbiologischen Diagnostik von Chlamydien und Gonokokken mittels Nukleinsäureamplifikation oder DNA-Sonde (BDProbeTec<sup>®</sup> oder GenProbe<sup>®</sup>) siehe unter Zervixabstrich (Kap. 12)

BDProbeTec kann auch mit Vorderstrahlurin (möglichst 1. Morgenurinportion) durchgeführt werden

Bei der kulturellen Diagnostik werden u.a. auch *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Gardnerella vaginalis* sowie *Candida spp.* erfaßt.

## 2.14. Ejakulat

### 2.14.1 Indikationen

- chronische Prostatitis
- Epididymitis
- Diagnostik bei männlicher Infertilität.

### 2.14.2 Vorgehensweise

- Vor der Materialgewinnung den Bereich um die Harnröhrenmündung mit Wasser und Seife reinigen, gut abspülen und mit sterilem Tupfer trocknen
- Material in sterilem Gefäß auffangen, ggf. umfüllen, möglichst schnell ins Labor schicken
- Sollte der Transport nicht kurzfristig möglich sein, besser reichlich Material in einem Abstrichtupfer aufnehmen und in ein Transportmedium einstellen

### 2.14.3 Untersuchungen

- Kultur mit quantitativer Beurteilung auf potentiell pathogenen Keime einschl. genitaler Mykoplasmen und Gardnerella vaginalis
- Identifizierung und ggf. Resistenzbestimmung bei signifikanter Bakteriospermie ( $\geq 10^9/\text{ml}$ )
- BDProbeTec® auf *Chlamydia trachomatis* und *Neisseria gonorrhoeae*.

## 2.15. Urin

### 2.15.1 Indikationen

- Harnwegsinfektionen
- Zystitis
- Pyelonephritis
- unklares Fieber bei Blasenverweilkathetern.

### 2.15.2 Vorgehensweise

Voraussetzung für die relevante Befundung der quantitativen bakteriologischen Urinuntersuchung ist eine exakte Gewinnung und Verarbeitung des normalerweise sterilen Urins. Kontaminationsmöglichkeiten durch Urethral- und Umgebungsflora sind zu vermeiden. Der Urin sollte möglichst vor Beginn einer antibakteriellen Chemotherapie gewonnen werden.

#### Mittelstrahlurin

Damit die Erreger im Blasenurin möglichst hohe Keimzahlen erreichen (Abgrenzung gegen Kontaminanten), sollte die Urinentnahme frühestens 3-5 h 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 h nach der letzten Miktion entnehmen
- 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!

#### Einmalplastiklebebeutel bei Säuglingen

Nur als orientierende Untersuchung nach gründlicher Reinigung des Perineums praktikabel, Befundinterpretation zurückhaltend, aussagekräftig nur zum Infektausschluß. Sicherung positiver Ergebnisse durch Kontrolluntersuchungen notwendig. Dabei sollte anderen Entnahmeverfahren der Vorzug gegeben werden, z.B. der Blasenpunktion.

### 2.15.3 Probentransport

- Den gewonnenen Urin in ein Urinröhrchen mit Stabilisator (z. B. uri-stat®) umfüllen. Sollte weniger als 5 ml Urin zu gewinnen sein, bitte die Röhrchen bis zur 10-ml-Markierung mit steriler NaCl-Lösung auffüllen (dies muß auf dem Überweisungsschein vermerkt werden!), da es durch eine zu hohe Konzentration des Konservierungsmittels evtl. zu einer Schädigung der Bakterien kommen kann..
- Die Keimzahl bleibt bei Raumtemperatur für etwa 48 h stabil. Dennoch sollte bei einer erwarteten Zwischenlagerung von mehr als 12 h die Probe besser im Kühlschrank aufbewahrt werden.
- In Ausnahmefällen kann auch eine Urintauchkultur ("UTK") angelegt werden. Dazu den Nährboden in den Urin eintauchen, herausnehmen, Urin auf Zellstoff abfließen lassen und den Träger in den dafür vorgesehenen Behälter zurückgeben. UTK ins Labor schicken oder bei 36°C bebrüten. Die Inkubationszeit sollte 24 h nicht überschreiten (ggf. danach bis zum Transport gekühlt aufbewahren)!
- Die Art der Probengewinnung ist auf dem Überweisungsschein genau anzugeben, z.B. Mittelstrahlurin („MSU“), Katheterurin („KU“), Blasenpunktionsurin.

### 2.15.4 Untersuchungen

#### Hemmstoffnachweis

- zum Nachweis antibakterieller Substanzen im Urin.  
Bei einem positiven Testausfall sind im Urin antibakterielle Substanzen nachgewiesen, die eine eindeutige Bewertung der Erregeranzucht nicht zulassen (falsch-negative Befunde möglich!). Eine Kontrolleinsendung wird empfohlen.

#### Keimzahlbestimmung (Angaben):

- „kulturell steril“ (auf Routinenährböden)
- Keimzahlen von  $10^2$ /ml bis  $>10^5$ /ml

#### Kultur:

- Nachweis von potentiell pathogenen Bakterien und Pilzen in Abhängigkeit von der Keimzahl:

*Keimzahl* <  $10^4$ /ml: wahrscheinlich Kontamination, keine Differenzierung der Bakterien

Ausnahmen: positiver Hemmstofftest, Katheter- und Punktionsurin

*Keimzahl*  $10^4$ /ml: Differenzierung der Bakterien und Testung bei Kindern und Säuglingen sowie bei spezieller Indikation

*Keimzahl* >  $10^5$ /ml: Differenzierung der Bakterien und Testung

Eine Bearbeitung der Proben erfolgt nur, wenn höchstens 2 potentiell pathogene Bakterienarten nachgewiesen werden, bei 3 und mehr Arten ist mit einer Kontamination zu rechnen, es sollte eine Kontrolleinsendung erfolgen (Ausnahme: bei Katheter- und Punktionsurin werden alle Bakterienarten differenziert und getestet).

#### Folgende Untersuchungen werden auf spezielle Anforderung durchgeführt:

**Achtung!:** nur mit Nativurin möglich (UTK ungeeignet)!

- „Seltene“ bzw. „atypische“ Erreger (z.B. *Gardnerella vaginalis*, *Haemophilus spp.*, Mykoplasmen)
- Nachweis von Mykobakterien (s. Kap. 3.2)
- Chlamydia trachomatis mittels Nukleinsäureamplifikation (BDProbeTec®).

#### Hinweis:

Eine Indikation für diese Untersuchungen besteht z.B. bei „steriler Leukozyturie“ und/oder negativem Ergebnis der Routinekultur bei bestehender Symptomatik oder bei positivem Sediment-Befund.

## 2.16. Stuhl

### 2.16.1 Indikationen

- Durchfallerkrankung
- Verdacht auf Enteritis infectiosa
- Verdacht auf pseudomembranöse Enterocolitis
- Umgebungs- / Personaluntersuchungen nach gesetzlichen Bestimmungen.

### 2.16.2 Vorgehensweise

- Mindestens haselnußgroße Stuhlportion mit dem im Verschuß integrierten Löffel in das Stuhlröhrchen einbringen (maximal zu 1/3 füllen!) bzw. ca. 2 - 3 ml flüssigen Stuhl übertragen
- möglichst blutige, eitrige oder schleimige Anteile entnehmen
- Bei voraussichtlich längerer Zwischenlagerung bzw. Transportdauer (> 12 h) besser einen Stuhlabstrich anfertigen und in ein Transportmedium einstellen, ebenso bei Verdacht auf Shigellen oder Campylobacter. Falls gewünscht, für immunologische Nachweise (EIA's) immer zusätzlich Nativstuhl einschicken (kühl lagern)
- Sollte kein Stuhl gewonnen werden können, einen Rektalabstrich entnehmen (Abstrichtupfer ca. 5 cm ins Rektum einführen und mehrmals drehen) und Transportmedium verwenden.

#### Hinweis:

Zur Erhöhung der Sensitivität sollten möglichst 3 zu unterschiedlichen Zeiten gewonnene Stuhlproben untersucht werden!

**Achtung !** Im kassenärztlichen Bereich bitte unbedingt für jede Probe einen separaten Überweisungsschein mitschicken !

### 2.16.3 Untersuchungen

Untersuchungsauftrag	Nachzuweisende Erreger	Hinweise
<u>„TPE“ (= Basisprogramm)</u>  <b>zusätzlich:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bei Kleinkindern &lt; 3 Jahre</li> <li>• Bei blutigen/wäßrigen Stühlen</li> <li>• Bei Hinweisen auf Auslandsaufenthalt</li> <li>• bei Hinweis auf vorangegangene Antibiotikatherapie</li> </ul>	Salmonellen, Shigellen, Yersinien, Campylobacter,  Rota- / Adeno- / Astro- / Noroviren  EPEC („Dyspepsie-Coli“), STEC  STEC bzw. EHEC (Shigatoxin-bildende bzw. Enterohämorrhagische <i>E. coli</i> )  Parasiten  <i>Clostridium difficile</i> (Toxin)	häufigste Enteritis-Erreger siehe „Bakterien“ / „Viren“  Kultur und serologische Differenzierung  Toxin-Nachweis (EIA), serolog. Differenzierung
<u>Bakterien</u>	Salmonellen, Shigellen, Yersinien, Campylobacter	Kultur, biochemische und serolog. Differenzierung  Kultur, molekularbiologische Identifizierung oder EIA
<u>Cholera</u>	<i>Vibrio cholerae</i>	Stuhlbadstrich einsenden, bitte vorher im Labor anrufen
<u>„fakultative Erreger“</u>	z.B. Pseudomonas, Aeromonas, Plesiomonas, Vibrio	Kultur und biochem. Differenzierung (nur auf besondere Anforderung)
<u>Viren</u>	Rota- / Adeno- / Astroviren Noroviren (ehemals <i>Norwalk-like Virus</i> )	EIA (aktuelle Nomenklatur)
<u>Protozoen</u>	<i>Giardia lamblia</i> , <i>Cryptosporidium</i> spp., <i>Entamoeba histolytica</i>	EIA
<u>Parasiten</u>	Protozoen, zusätzlich Würmer / Wurmeier	
<u>Wurmeier, Wurmbestandteile</u>	Spulwürmer, Bandwürmer u.a.	Mikroskopie (Anreicherungsverfahren).  Bei Verdacht auf <i>Enterobius vermicularis</i> („Oxyuren“) Abklatschpräparat (Klebestreifen) einsenden!
<u>Pilze</u>	Sproßpilze semiquantitativ	Kultur, biochemische und / oder mikroskopische Differenzierung
<u>Clostridien</u>	<i>Clostridium difficile</i> (Toxin)	EIA / Probe kühlen, bei Transportzeiten > 24 h einfrieren

<u>Pathogene Keime, Enteritiserreger, meldepflichtige Erreger</u> oder ähnliche Aufträge	Das mikrobiologische Labor entscheidet unter Beachtung klinischer Angaben, epidemiologischer Gesichtspunkte und Patientenalter, welche Erreger in die Untersuchung einzubeziehen sind.	
--	--	--

EIA = Enzymimmunoassay

Selbstverständlich können alle o.g. Erreger auch einzeln (z.B. bei Kontrollen) oder in beliebiger Kombination (z.B. Salmonellen / Shigellen) angefordert werden  
Resistenzbestimmungen von Salmonellen und Yersinien müssen auf dem Überweisungsschein angefordert werden, z.B. „ggf. + Res.“  
Bei Nachweis von *Shigella spp.* und darmpathogenen *E. coli* erfolgt die Austestung routinemäßig.

## 2 Spezielle erregerbezogene Diagnostik

### 3.1. Pilze

#### 3.1.1. Dermatomykosen (Haut-, Haar-, Nagel-Mykosen)

##### 3.1.1.1 Materialgewinnung

###### Hautschuppen

- Betroffenes Hautareal mit 70% Ethanol reinigen

*Achtung!* Mulltupfer verwenden! Keine Watte wegen Gefahr von Baumwollartefakten im mikroskopischen Nativpräparat

- Alle Auflagerungen wie lose anhaftende Hautschuppen entfernen
- Möglichst reichlich Material (20 - 40 Schuppen) mit scharfem Löffel oder Skalpell an der Grenze zum gesunden Gewebe gewinnen und in trockenem sterilem Gefäß ohne Medium einsenden

###### Haare

- Evtl.vorhandene Krusten und grobe Schuppen entfernen
- Möglichst viele Haarstümpfe (20 - 50) mit Wurzel gewinnen und in trockenem sterilem Gefäß ohne Medium einsenden

*Achtung!* Abgeschnittene Haarbüschel sind nicht geeignet

###### Nagel und Nagelspäne

- Nach Reinigung mit 70% Ethanol alle leicht ablösbaren bröckeligen Teile entfernen
- Aus dem Randgebiet zum Gesunden reichlich Material (Späne) gewinnen und in trockenem sterilem Gefäß ohne Medium einsenden  
*Nicht geeignet: Ein Stück vom vorderen Nagelrand, mit der Schere abgeschnitten!*
- Subungual: Schuppige Ablagerungen mit stumpfem Skalpell gewinnen.

###### Nässendes Ekzem:

- Mit sterilem Tupfer abstreichen und im Transportmedium (übliches Entnahmebesteck) einsenden

#### 3.1.1.2 Untersuchungen / Hinweise

- Nachweis von Dermatophyten und Sproßpilzen, sowie Schimmelpilzen (*Aspergillus*, *Scopulariopsis* etc.):
- Kalilauge (KOH-) Präparat und / oder fluoreszenzmikroskopische Untersuchung von Nativmaterial (Hautgeschabsel, Nagelspäne, Haare)
- Der kulturelle Nachweis von Dermatophyten (*Trichophyton*-, *Microsporum*- und *Epidermophyton*arten) dauert i. d. R. bis zu 3 Wochen, im Einzelfall auch länger
- Sproßpilze sind i.d.R. innerhalb von 2 - 4 Tagen nachweisbar
- Bei dem Nachweis von *Aspergillus*arten (z.B. bei Otomykosen) ist normalerweise nach 28 Tagen mit dem Endbefund zu rechnen., ausnahmsweise auch später.
- Resistenzbestimmungen von Dermatophyten und Schimmelpilzen können aufgrund fehlender Standards nicht durchgeführt werden, Sproßpilze werden nur bei entsprechender Indikation (siehe 17.4.) getestet.

### 3.1.2. Schleimhautmykosen (Mund-, Nasen-, Rachen-, Genitalbereich)

#### 3.1.2.1 Materialgewinnung

- Probe ohne vorhergehende Desinfektion mit sterilem Tupfer entnehmen und in das Probentransportröhrchen überführen
- Mundspülwasser (1 min mit 10 - 15 ml sterilem Wasser gurgeln, das in sterilem, weitlumigem Gefäß aufgefangen wird) ist besonders zur semiquantitativen Bestimmung von Sproßpilzen im Rachenraum geeignet
- Bläschen und Pusteln unter sterilen Bedingungen eröffnen und Inhalt mit sterilem Tupfer aufnehmen
- Abszeßeiter möglichst durch Punktion gewinnen.

#### 3.1.2.2 Untersuchungen / Hinweise

- Der Nachweis von Sproßpilzen mittels Kultur benötigt 2 - 4 (- 6) Tage
- Der kulturelle Nachweis von Schimmelpilzen dauert in der Regel 2 - 8 Tage.
- Resistenzbestimmungen werden normalerweise nicht durchgeführt.

### 3.1.3 Mykosen der Atemwege

#### 3.1.3.1 Materialgewinnung

- Probe möglichst gezielt (z.B. Bronchoskopie) entnehmen, um eine Kontamination mit Mund- und Rachenflora zu vermeiden; Sputum aus tieferen Atemwegen nach Zähneputzen und 2 x Gurgeln mit aseptischer Lösung gewinnen
- in sterilem Sputumröhrchen einsenden
- bei Zwischenlagerung gekühlt aufbewahren

#### 3.1.3.2 Untersuchungen / Hinweise

- Sproß- u. Schimmelpilznachweis (Kultur / Mikroskopie)
- Nur der massive und wiederholte Nachweis von Sproß- und / oder Schimmelpilzen (z.B. *Aspergillus*) ist für eine Infektion beweisend.
- Resistenzbestimmungen von Hefen werden bei entsprechender Indikation und / oder nach entsprechender Absprache durchgeführt.

### 3.1.4. Systemische Mykosen

#### 3.1.4.1 Materialgewinnung

- Siehe Blutkulturen (Kap. 2.1)
- Blutentnahmen über mehrere Tage in regelmäßigen Abständen 1 x täglich.

#### 3.1.4.2 Untersuchungen / Hinweise

- Kultureller Nachweis von Sproßpilzen aus Blutkulturen innerhalb von 2 - 7 Tagen (die bisher nur extrem seltenen Nachweise von Schimmelpilzen aus Blutkulturen werden übereinstimmend eher als Kontaminationen beurteilt)
- Seltene Erkrankung! Tritt vor allem nach langandauernder Antibiotika-Therapie als nosokomiale Infektion und bei abwehrgeschwächten Patienten auf.
- Die Empfindlichkeitstestung gegenüber Amphotericin B, 5-Fluorcytosin, Fluconazol, Itraconazol, Voriconazol (und ggf. andere Azole) erfolgt durch Bestimmung der Minimalen Hemmkonzentration (MHK).

### 3.2. Mykobakterien (*M. tuberculosis*-Komplex und "atypische" Mykobakterien)

#### 3.2.1 Allgemeine Hinweise

- Das Probenvolumen sollte relativ groß sein, da Mykobakterien meist nur in geringen Keimzahlen im Untersuchungsmaterial enthalten sind.
- Das Probenmaterial sollte stets nativ (ohne Transportmedium - außer bei Abstrichen) in sterilen Röhrchen eingesandt werden. Bis zum Transport ist eine Lagerung bei 4°C notwendig.
- Methode der Wahl ist und bleibt der direkte Erregernachweis mittels Kultur oder PCR, serologische Verfahren gelten als unzuverlässig und zählen nicht zur Standarddiagnostik.

#### 3.2.2 Vorgehensweise

##### Sputum:

- Morgens nach ausgiebiger Mundspülung mit abgekochtem Wasser oder Tee gewinnen (keinen Speichel einsenden, sondern Auswurf)
- Es sollten je eine Sputumprobe von 3 aufeinanderfolgenden Tagen zur Untersuchung gelangen

- Proben in sterilen Sputumröhrchen einsenden (2 - 10 ml).
- Bronchial-absaugungen:
  - In sterile Sputumröhrchen geben.
- Urin:
  - 20 (- 50) ml Morgenurin in sterilem Gefäß (sog. „Sputumröhrchen“ oder Urinbechern) auffangen
  - Entnahme je einmal an drei aufeinanderfolgenden Tagen
  - bis zum Transport bei ca. 4°C lagern.
- Magensaft:
  - ist nur nötig, wenn kein Sputum gewonnen werden kann, sollte morgens nüchtern entnommen werden (in steriles Gefäß).
- Punktate und Liquor
  - möglichst reichlich Material in steriles Gefäß.
- Eiter und Wundabstriche:
  - Abszeßleiter mit steriler Spritze aspirieren
  - Wundabstriche im Transportmedium versenden
- Gewebe/ Biopsien:
  - in sterilen Röhrchen nativ einschicken, mit etwas steriler physiolog. NaCl-Lösung (ca. 1ml) befeuchten (keinesfalls Formaldehyd verwenden!).
- Menstrualblut:
  - 6 - 8 ml mit A.dest 1 : 1 verdünnen.
- Ejakulat:
  - in steriles Röhrchen.
- Blut:
  - bei Sepsisverdacht, z.B.
  - 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.

### 3.2.3 Untersuchungen

- Fluoreszenzmikroskopische Untersuchung (Nachweis säurefester Stäbchen)
- Anzüchtung der Mykobakterien auf 3 verschiedenen Nährböden (2 feste, ein flüssiger), Bebrüten der Kulturen 6 (- 8) Wochen
- Bei positiver Mikroskopie oder positiver Kultur erfolgt eine umgehende telefonische Benachrichtigung
- Wenn eine Untersuchung auf atypische Mykobakterien erfolgen soll, vermerken Sie dies bitte auf dem Überweisungsschein
- Molekularbiologische Untersuchungen (PCR bzw. BDProbeTec®) z. Z. über Partnerlabor möglich, seit 01.04.2000 bei Verdacht auf Lungentuberkulose auch als Kassenleistung berechnungsfähig (bis dreimal, EBM-Nr. 4824).

## 3.3. Humanes Papilloma Virus (HPV)

### 3.3.1 Indikationen

Der klinische Einsatz des HPV-Nachweises wurde bisher für folgende Indikationen evaluiert (nach 1.):

- Frauen im Rahmen des Krebsfrüherkennungs-Screenings zusätzlich zur Zytologie
- Patientinnen, mit unklaren zytologischen Befunden zur Triage (Pap Gruppe IIV und III)
- Patientinnen, mit leichtgradigen und mittelgradigen Präkanzerosen zur Vorhersage von Regression, Persistenz oder Progression (Pap Gruppe IIID)
- Patientinnen nach Behandlung von CIN (Dysplasien) und Zervixkarzinomen

### 3.3.2 Vorgehensweise

- Probenentnahme nur mit original Digene Entnahmematerialien („Cervical Sampler“ bzw. „Specimen Collection Kit“)!

*Achtung!* Bitte **nicht** für Chlamydien- oder Gonokokken-Diagnostik verwenden! (vgl. Kap. 2.12.)

- Den äußeren Muttermund mit einem Tupfer gründlich von Schleim / Eiter reinigen,
- Bürstchen etwa 1 - 1,5 cm (nicht vollständig!) in den Zervixkanal einführen, dreimal entgegen dem Uhrzeigersinn drehen, danach entfernen und in das Röhrchen mit dem Transportmedium geben.
- Bei Verwendung von Dacrontupfern das Material unter festem Druck entnehmen (es müssen ausreichend Zellen gewonnen werden).
- Röhrchen fest verschließen und beschriften. Zwischenlagerung bei Raumtemperatur möglich.

### 3.3.3 Nachweisverfahren (1.)

- Die klassischen Methoden der viralen Diagnostik wie Elektronenmikroskopie, Zellkultur und einige immunologische Methoden sind zum HPV-Nachweis nicht geeignet. In Zellkulturen lässt sich HPV nicht anzüchten.

- Die etablierte Methode für den Virusnachweis in der Routine ist die Hybridisierung der viralen Nukleinsäuren mit dem von der FDA zugelassenen **Hybrid-Capture-2-Test** (Fa. Digene, USA) (2.)
- Seine Sensitivität und Spezifität sind mit PCR-basierten Nachweisverfahren nahezu vergleichbar.
- Vorteile des Hybrid-Capture-2-Tests sind die relativ einfache Handhabung und die gute Reproduzierbarkeit von Ergebnissen, die diesen Test zu dem am besten standardisierten HPV-Nachweisverfahren machen.
- Eine Identifikation des exakten HPV-Typs ist nicht möglich, sondern es werden
  1. "low-risk" (6, 11, 42, 43, 44) und
  2. "high-risk" (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68)
 HPV-Genotyp-Gruppen (HR HPV bzw. LR HPV) nachgewiesen.

#### Referenzen:

- 1.) Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe (DGGG), aus der
  - Arbeitsgemeinschaft für Infektionen und Infektionsimmunologie in der Gynäkologie und Geburtshilfe (AGII der DGGG)
  - European Society for Infectious Diseases in Obstetrics and Gynaecology (ESIDOG)
  - International Infectious Disease Society in Obstetrics and Gynecology – Europe (I-IDSOE-EUROPE). In: AWMF Leitlinien 2003 (<http://www.uni-duesseldorf.de/WWW/AWMF/III/gyn-o004.htm>)
- 2.) Mandelblatt JS, Lawrence WF, Womack SM et al. Benefits and costs of using HPV testing to screen for cervical cancer. JAMA 2002; 287: 2372-2381

## 4 Hygiene

### 4.1 Allgemeine Hinweise

Hygienische Untersuchungen werden oftmals unter bestimmten Fragestellungen (z.B. Untersuchungen im Rahmen des gehäuftem Auftretens nosokomialer Infektionen, Kontrollen der Desinfektion und Sterilisation, routinemäßige Trinkwasser- oder Dialysewasseruntersuchungen) durchgeführt. Die Aussagekraft von Untersuchungsergebnissen im Bereich der Hygiene ist maßgeblich abhängig von Probenentnahme, Probentransport und anschließender Aufarbeitung im Labor. Dazu ist es für uns als Labor unbedingt erforderlich, die besonderen Fragestellungen, unter denen die Untersuchungen durchgeführt werden sollen, zu kennen, damit diese bei der Weiterverarbeitung der Proben und anschließenden Beurteilung der Befundergebnisse entsprechend berücksichtigt werden können.

Bei größeren Probenmengen oder speziellen Fragestellungen erbitten wir eine telefonische Vorabinformation. Bei allen Proben, die einen gekühlten Transport erfordern, muss eine vorherige Absprache mit unserem Labor erfolgen, damit die entsprechenden Kühlakkus und Transportbehälter bereitgestellt werden können.

Wir bitten um sorgfältiges Ausfüllen der Begleitscheine, damit einerseits bei der Dokumentation der durchgeführten Prüfungen keine Zuordnungsschwierigkeiten auftreten, andererseits bei der Verarbeitung der Proben im Hinblick auf besondere Fragestellungen z.B. Umgebungs-Screening zur Ermittlung von Übertragungswegen nosokomialer Kontaminationen bzw. Infektionen) gegebenenfalls Selektiv-Nährmedien eingesetzt werden können.

Im folgenden wird das Leistungsangebot im Überblick dargestellt, für Details möchten wir auf das separate Leistungsverzeichnis Hygieneuntersuchungen verweisen. Dort sind für die einzelnen Untersuchungen genaue Erläuterungen und Hinweise für die Probenentnahme, Probentransport, Befunderstellung gegeben.

Für weitere Informationen oder Beratungen stehen wir Ihnen gerne unter Tel.-Nr. (0341) 6565-200 zur Verfügung,

### 4.2 Bakteriologische Untersuchungen von Wasser

- Untersuchung von Wasser nach Trinkwasserverordnung
- Untersuchung von Dialyseflüssigkeiten
- Untersuchung von Wasser auf Legionellen
- Untersuchung von wasserführenden Geräten (Beatmungsgeräte, Inhalatoren, Inkubatoren)
- Untersuchung von Schwimm- und Badebeckenwasser nach DIN 19643

### 4.3 Prüfungen von Sterilisationsgeräten

- mittels Bioindikatoren für Heißluft- oder Dampfsterilisatoren

### 4.4 Kontrollen der manuellen Verfahren zur Aufbereitung von Endoskopen

- mittels Spüllösung und Abstrichen

### 4.5 Hygienische Untersuchungen, die in der Regel bei gezielten Fragestellungen durchgeführt werden :

- Überprüfung der hygienischen und chirurgischen Händedesinfektion mittels Abklatschuntersuchungen
- Nachweis von unzureichender Benetzung bei der Händedesinfektion
- Kontrolle der Instrumenten- und Flächendesinfektion insbesondere in Risikobereichen

### 4.6 Prüfung von Krankenhauswäschereien

- mittels Abstrichen und Abklatschen

#### **4.7 Prüfung von Krankenhausküchen**

- mittels Abstrichen und Abklatschen

#### **4.8 Prüfungen von Reinigungs-Desinfektions-Maschinen**

- Programme für chirurgische und andere thermostabile Instrumente ≈
- Programme für Utensilien aus der Anästhesie und Intensivmedizin ≈

#### **4.9 Prüfung von raumluftechnischen Anlagen nach DIN 1946 Teil 4**

- Bestimmung der Luftströmungsrichtung ≈
- Messung der Partikelzahl ≈
- Luftkeimmessung ≈

#### **4.10 Sterilitätsprüfung von Blutprodukten (Eigenblutspende)**

#### **4.11 Sterilitätsprüfung von Spongiosaprobe für die Knochenbank**

#### **4.12 Sterilitätstestung von Stammzellproben**

(Die mit ≈ gekennzeichneten Untersuchungen werden im Rahmen unseres Laborverbundes durchgeführt)