

Präanalytik-Handbuch Mikrobiologie

Stmk Krankenanstaltenges.m.b.H.
LKH Hochsteiermark Standort Leoben
Institut für Pathologie
Vorstand: Prim. Dr. Koppány Bodó
Mikrobiologisches Labor
Leiter: OA Mag. Dr. Dr. Michael Gehrler
8700 Leoben, Vordernbergerstraße 42

Inhaltsverzeichnis

INHALTSVERZEICHNIS	2
1. ALLGEMEINES	4
2. ANFORDERUNG	4
3. PROBEN	5
3.1. Beschriftung der Proben	5
4. PROBENENTNAHME	5
4.1. Vor der Probenentnahme zu beachten.....	5
4.2. Blutkulturen	5
4.3. Mycoplasma /Ureaplasma (Uro-Genitalinfektionen)	6
4.4. Stuhl.....	6
4.5. Abstriche.....	6
4.6. Biopsiematerial	7
4.7. Magennüchtersekret	7
4.8. Proben vom Respirationstrakt	7
4.9. Liquor.....	7
4.10. Gefäßkatheter und Redonspitzen	8
5. ABNAHMESYSTEME	8
6. VERBRAUCHSGÜTER FÜR MIKROBIOLOGISCHE PROBEN.....	8
7. TRANSPORT	11
7.1. Präanalytische Vorgaben für den Transport:	12

8. ANNAHMEKRITERIEN.....	14
8.1. Allgemeine Annahmekriterien	14
8.2. Bedingte Annahmekriterien.....	14
8.3. Zurückweisungskriterien.....	14

Mikrobiologie

1. Allgemeines

Die Präanalytik umfasst die Auswahl der geeigneten Laboruntersuchung (Online/Anforderungsformular), die Patientenvorbereitung, die Gewinnung, die Zwischenlagerung, den Transport und die Vorbereitung eines medizinischen Untersuchungsmaterials, also die Prozesse vor der Durchführung der eigentlichen Analyse. Zeitlich bezeichnet man diesen Abschnitt als präanalytische Phase.

Präanalytische Fehler sind die häufigste Ursache für nicht plausible Untersuchungsergebnisse.

Das Einhalten spezieller Transportbedingungen (Temperatur, Lichtschutz etc.) ist für viele Laboruntersuchungen zur Sicherstellung eines zuverlässigen Ergebnisses unerlässlich.

2. Anforderung

Der Mikrobiologische Begleitschein wird den Zuweisern als digital ausfüllbare PDF Datei im Intra- und Internet zur Verfügung gestellt.

EINSENDEFORMULAR FÜR MIKROBIOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN	
Barcodeetikette (Patientendaten): Name: <input type="text"/> Vorname: <input type="text"/> SV-Nr./Geburtsdatum: <input type="text"/> / <input type="text"/>	Einsender (mit Tel. Nr. zuständiger Arzt): <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
KLINISCHE DATEN Grunderkrankung: <input type="text"/> Einsendegrund: <input type="text"/> Antibiotikatherapie <input type="text"/> seit: <input type="text"/> ABNAHMEDATUM: <input type="text"/> UHRZEIT (Blut und Liquor): <input type="text"/>	

Patientendaten mit Barcode-Etikett

Das Patientenetikett mit Barcode muss in die Umrandung des vorgesehenen Feldes geklebt werden. Ist kein Patientenbarcodeetikett vorhanden, müssen alle Patientendaten vollständig in die dafür vorgesehenen Felder digital eingetragen werden.

Klinische Angaben

Grunderkrankung, Einsendegrund, Antibiotikatherapie

Angaben zum Untersuchungsmaterial

Datum und Uhrzeit der Entnahme

Untersuchungsmaterial ankreuzen, gegebenenfalls anatomischer Herkunftsort

Einsender/Empfänger

Die vorgesehenen Felder müssen vollständig mit den entsprechenden Daten befüllt werden, inklusive Stempel des Einsenders rechts.

Mikrobiologische Untersuchung

Die gewünschte Untersuchung markieren

Pro Begleitschein und Probe kann nur eine Untersuchung durchgeführt werden

Nachanforderung

Eingesendete Proben werden grundsätzlich 14 Tage lang im Labor asserviert. Nachanforderungen können telefonisch in der Mikrobiologie nachgemeldet werden.

3. Proben

Grundsätzlich werden nur Proben angenommen, die den präanalytischen Vorgaben der Mikrobiologie entsprechen.

3.1. Beschriftung der Proben

- Die Probenröhrchen müssen unbedingt vor der Probennahme korrekt dem Patienten zugeordnet werden, um Patientenverwechslungen zu vermeiden:
- Die Zuweiser beschriften das Probenröhrchen am dafür vorgesehenen Originalröhrchen-Etikett leserlich mit vollständigen Patientendaten (Vor- und Zuname, Geburtsdatum).
- Blutkulturen: Den Barcode auf der Flasche nicht überkleben
- Barcode- und Namensetiketten immer in Längsrichtung über das Originalröhrchen-Etikett aufkleben, sodass ein Spalt (Sichtfenster) zur Beurteilung des Füllungsvolumens frei bleibt.

4. Probenentnahme

4.1. Vor der Probenentnahme zu beachten

- **Identität des Patienten** muss eindeutig gegeben sein.

4.2. Blutkulturen

- Blutabnahme möglichst vor Antibiotikatherapie
- Hinweise auch in Fachrichtlinie 32 „Richtiger Umgang mit Blutkulturen“ des Instituts für Krankenhaushygiene und Mikrobiologie (IKM)
- Eine Blutkultur (Blutkulturpaar) umfasst je eine aerobe und eine anaerobe Flasche.
- Um eine optimale Sensitivität zu erzielen wird empfohlen im Rahmen einer Abnahme zumindest 2, besser 3 Blutkulturen zu entnehmen.
- Im pädiatrischen Bereich bzw. bei zu erwartenden kleinen Inokulationsvolumina kann eine spezielle BACTEC Peds Plus/F Medium (Pädiatrieflasche) verwendet werden. Hier gilt es insbesondere darauf hinzuweisen, dass diese Flasche ausschließlich den Nachweis aerober und mikroaerophiler Erreger ermöglicht.

Diagnose von Katheter-, Gefäßzugangs- bzw. Portinfektionen

Bei begründetem Verdacht auf eine Gefäßzugangsinfektion sollte immer die Abnahme einer Blutkultur erfolgen.

Differential time to positivity (DTP): Gleichzeitige Abnahme einer peripheren und zentralen Blutkultur, wobei die DTP zwischen peripherer und zentraler Blutkultur > 2 Stunden betragen muss, und derselbe Keim nachgewiesen werden muss.

Abnahmezeitpunkt

Bei ausgeprägten Fieberzacken möglichst im Fieberanstieg entnehmen (die Bakteriämie beginnt meist eine Stunde vor dem Fieberanstieg).

Bei kontinuierlicher Bakteriämie, wie z.B. bei intravaskulären Infektionen (Endokarditis) spielt der Zeitpunkt der Probengewinnung keine wesentliche Rolle.

Kulturmedien

BACTEC Peds Plus/F Medium (Pädiatrieflasche),
BACTEC Plus Aerobic/ F Medium,
BACTEC Lytic/10 Anaerobic/ F Medium,
BACTEC MYCOSIS-IC/F Medium (Pilzflasche)

Aufbewahrung der Medien bei Zimmertemperatur, ein Vorwärmen vor Beschicken ist nicht nötig.

Menge

- BACTEC Plus Aerobic / F Medium, BACTEC Lytic/10 Anaerobic / F Medium und BACTEC MYCOSIS-IC/F Medium: Die Mindestprobenmenge ist 3 ml pro Flasche, optimale Menge 8-10 ml/ Flasche. Die Höchstmenge von 10 ml sollte nicht überschritten werden
- BACTEC PEDS PLUS/F Medium (Pädiatrieflasche): empfohlener Bereich 0,5 - 5 ml/Flasche, optimale Menge 1-3 ml/Flasche

4.3. Mycoplasma /Ureaplasma (Uro-Genitalinfektionen)

Mycoplasma hominis und Ureaplasma spp. sind sehr empfindlich und nach längerer Transportzeit nicht mehr nachweisbar.

Vaginalabstriche

Probengewinnung mit sterilem Einmaltupfer, diesen sofort in R1 Medium zum Nachweis von Mycoplasma/ Ureaplasma ausschwemmen. R1 Medium im Mikrobiologischen Labor anfordern.

Sperma

Nur aus **nativem** Material.

Alternativ kann vom Mikrobiologischen Labor ein R1 Medium zum Nachweis von Mycoplasma und Ureaplasma angefordert werden. Dieses mit 200µL 1:10 verdünntem Sperma beimpfen und innerhalb von 48 Stunden gekühlt in das Labor senden.

4.4. Stuhl

Kleine Stuhlmenge entnehmen, indem der Tupfer in die Stuhlprobe eingeführt und gedreht wird. Tupfer nicht wie eine Schaufel oder Löffel verwenden, sondern vielmehr wie eine Sonde. **Es reicht, dass die Tupferspitze mit Probenmaterial bedeckt ist!**

Schnelltest Helicobacter pylori AG

nur aus **nativem** Stuhl möglich

Erbse große Stuhlmenge oder bei flüssigen Stühlen 2-3 ml

4.5. Abstriche

Material von Wunden, Körperöffnungen, Operationsgebiet, etc.

Abstriche **nicht von Oberflächen** (Kontaminationsflora!), sondern aus der Tiefe nach Abkratzen eines oberflächlichen Schorfs entnehmen. Mit Abstrichtupfer Material von verdächtigen Stellen entnehmen und in ein Transportmedium einbringen

4.6. Biopsiematerial

Material unter aseptischen Bedingungen entnehmen

Untersuchung auf *Helicobacter pylori*

Transportmedium: Portagerm pylori.

Die Biopsie unmittelbar nach der Entnahme unter die Oberfläche des Transportmediums einbringen.

4.7. Magennüchternsekret

Für den Nachweis von verschluckten TBC-Bakterien. Aspiration von Magensaft früh am Morgen vom nüchternen und noch im Bett liegenden Patienten mittels Magensonde. Neutralisierung des gewonnenen Materials mit einer gesättigten Na_2HPO_4 -Lösung. Röhrchen mit je 1 ml im Mikrobiologischen Labor anfordern!

Optimales Mischungsverhältnis: 24 ml Magensaft/1 ml Puffer.

4.8. Proben vom Respirationstrakt

Sputum

Möglichst **5 – 10 ml Morgensputum** (aus den tiefen Atemwegen)

Vorher den Mund mehrmals mit Leitungswasser spülen. Wird kein ausreichendes Material gewonnen, eventuell Inhalationsprovokation.

Bronchialsekret

Bronchialsekret vor allem bei Verdacht auf Anaerobierinfektionen gewinnen!

Korrekte hygienische Absaugtechnik

BAL (Bronchoalveoläre Lavage)

Indikationen: Pneumonie bei lange hospitalisierten Patienten oder bei Beatmung, bei immunsupprimierten Patienten, HIV-Patienten.

Anaerobier

Untersuchung auf Anaerobier erfolgt nur aus Bronchialsekret und BAL.

Legionellen

Kulturellen Nachweis von Legionellen gesondert anfordern!

Bevorzugtes Probenmaterial Bronchialsekret und BAL, tiefes Sputum und induziertes Sputum

4.9. Liquor

Entnahme

Liquorkultur: BACTEC PEDS PLUS/F Medium (behandeln wie Blutkultur). Optimales Inokulumvolumen 1 – 3 ml (empfohlener Bereich: 0,5-5 ml). Nur für den Nachweis von aeroben und mikroaerophilen Bakterien.

Zusatzuntersuchungen bei Meningitis

Einsendung einer Blutkultur. Ohrabstrich bei Otitis media mit Trommelfellperforation. Abstrich aus penetrierender Kopfverletzung.

Meningitis tuberculosa

Nativen Liquor in einem sterilen Röhrchen sofort ins Labor bringen. Wenn das nicht möglich ist, im Kühlschrank lagern.

4.10. Gefäßkatheter und Redonspitzen

Gründliche Hautdesinfektion vor dem Entfernen, nach dem Herausziehen 5 cm der Katheterspitze bzw. Redonspitze mit einer sterilen Schere abschneiden.

Ist eine semiquantitative Kultur gewünscht:

- Steril entnommene Katheterspitze in Abstrichröhrchen, mit Fragestellung „Keimzahlbestimmung“ einsenden, oder



Mehrmaliges Abrollen der Spitze auf einer Blutagarplatte. Zugeklebte Platte und Spitze in Thioglykolatbouillon sofort ins Labor bringen, oder bei 37°C lagern.




5. Abnahmesysteme

5.1. Allgemeines

- Im IMCL am Standort Leoben sind derzeit die Vacuette-Blutabnahmesysteme der Firma Greiner und der Firma Sarstedt in Verwendung
- Für andere Probenmaterialien (z.B. Harn- und Stuhlproben, Abstriche, Speichelproben etc.) sind die dafür vorgesehenen Abnahmegefäße zu verwenden
- Bitte auf das Ablaufdatum der Probengefäße achten!
- Niedergelassene Ärzte können eSwabs, Harnstabilisatorröhrchen und sterile Röhrchen auf Anfrage über das Institutssekretariat des IMCL am Standort Leoben beziehen

6. Verbrauchsgüter für mikrobiologische Proben

	<p>eSwab 480CE: SAP Nummer: A285847 Abstrichröhrchen mit Transportmedium für aerobe, anaerobe und anspruchsvolle Keime (Bakterien und Pilze).</p>
	<p>FecalSwab 470 CE: SAP Nummer: P002052 Abstrichröhrchen für Stuhluntersuchungen</p> <ul style="list-style-type: none"> – Durchfallerreger – Clostridium difficile (inkl. Toxin)

	<p>Urinentnahmeeinheit (Vacuette Urin) Über die Apotheke zu bestellen.</p>
	<p>Harnstabilisatorröhrchen Für Harnproben, die nicht am Tag der Abnahme ins Labor gebracht werden. SAP Nummer: C213711</p>
	<p>Sterile 25 ml-Gefäße, SAP Nummer: B235857</p> <ul style="list-style-type: none"> - Sputum - Harn - Punktate - Biopsien
	<p>Stuhlgefäße mit Übergefäß SAP Nummer: C863366 (nativer Stuhl)</p> <ul style="list-style-type: none"> - Helicobacter pylori Antigen-Bestimmung
	<p>Sterile 50 ml-Röhrchen mit 1 ml gesättigter Na₂HPO₄ für 24 ml Magensaft zum Nachweis von Mykobakterien. Im Mikrobiologischen Labor anfordern</p>
	<p>Blutkulturflaschen:</p> <ul style="list-style-type: none"> • BACTEC-PEDS-PLUS/F-Medium • BACTEC PLUS-AEROB/F-Medium • BACTEC PLUS-Lytic/10/Anaerob Medium • MYCOSIS-IC/F-Medium <p>Über die Anstaltsapotheken/Med.Depots zu bestellen</p>

	<p>Portagerm pylori Zum Nachweis von Helicobacter pylori aus Biopsien SAP Nummer: 8211736</p>
	<p>Mycoplasma R1 Medium Für den Nachweis von Mycoplasma/Ureaplasma aus Vaginalabstrichen, oder 200 µl 1:10 verdünntem Sperma Im Mikrobiologischen Labor anfordern</p>
	<p>Thioglycolate broth with resazurin (THIO-T) Im Mikrobiologischen Labor anfordern, gilt für Standort Leoben</p>
	<p>Vacutte 3 ml steriles Röhrchen ohne Zusatz, 50 Stück Fa Greiner Bio One SAP Nummer W012677</p>
	<p>Columbia Agarplatte Im Mikrobiologischen Labor anfordern, gilt für Standort Leoben</p>

7. Transport

7.1. Allgemeine Informationen

Material	Transportmedium	Optimales Vorgehen	Längere Transportzeit
Blutkultur	BACTEC Plus Aerobic/ F Medium BACTEC Lytic/10 Anaerobic/F Medium BACTEC Mycosis-IC/F Medium BACTEC Peds Plus/F Medium (nur aerobe und mikroaerophile Bakterien)	Sofort ins Labor Für Standort Leoben außerhalb der Dienstzeiten: Einstellen in den Blutkulturautomaten vor Raum 053	Raumtemperatur
Liquorkultur	BACTEC Peds Plus/F-Medium (nur aerobe und mikroaerophile Bakterien)	Sofort ins Labor Für Standort Leoben außerhalb der Dienstzeiten: Einstellen in den Blutkulturautomaten vor Raum 053	Raumtemperatur
Liquor, nativ	Steriles Röhrchen	sofort ins Labor	2 - 8°C
Punktate (Perikard, Pleura, Gelenk)	EDTA Röhrchen oder anderes steriles Röhrchen ohne Zusatz oder BACTEC Plus Aerobic/ F Medium BACTEC Lytic/10 Anaerobic/F Medium (Minimum 3 ml/Flasche)	Sofort ins Labor	EDTA Röhrchen, steriles Röhrchen: 2 – 8°C BACTEC Medien: Raumtemperatur
Punktate (Glaskörper, Augenvorderkammer)	BHI Bouillon	Sofort ins Labor	
Punktate (Ascites, Peritoneum),	EDTA Röhrchen oder anderes steriles Röhrchen ohne Zusatz	Sofort ins Labor	2 – 8°C
Venenkatheter, Redonspitzen	Thioglykolatbouillon, eSwab (COPAN 480CE)	Sofort ins Labor	Thioglykolatbouillon: Wärmeschrank bei 37° eSwab: 2 – 8°C
Biopsiematerial	Thioglykolatbouillon oder steriles Röhrchen mit 0,9%iger NaCl Helicobacter pylori: Portagerm pylori	Sofort ins Labor	Thioglykolatbouillon: Wärmeschrank bei 37° Steriles Rörchen mit 0,9%iger NaCl: 2-8°C Portagerm pylori: 20 – 25°C für max. 48 Stunden

Abstriche	eSwab (COPAN 480CE), oder COPAN 110C Abstrichröhrchen	Sofort ins Labor	2 – 8°C
Nativharn	Steriles Röhrchen, oder Vacuette Urin	Sofort ins Labor	Harnstabilisatorröhrchen : 2 – 8°C
Uricult	Objektträgerkultur (beidseitig beschicken)	Bebrüten bei 37° für 18 – 24 Stunden, dann sofort ins Labor.	nach Bebrütung: 2 – 8°C
Harn auf Tbc	Steriles Gefäß (50 ml)	Konzentrierter Morgenharn, sofort ins Labor	2 – 8°C
Stuhl / Durchfallerreger	FecalSwab (COPAN 470CE.A)	Sofort ins Labor	2 – 8°C
Stuhl / Clostridium	FecalSwab (COPAN 470CE.A)	Sofort ins Labor	2 – 8°
Helicobacter pylori	Stuhlgefäß (erbsengroßes Stück oder 2-3 ml)	Nativ sofort ins Labor	2 – 8°C
Sputum/Sekrete	Steriles 25 ml Gefäß (befüllen mit 5 – 10 ml)	Sofort ins Labor	Abstrich mit eSwab (COPAN 480CE), vom eitrigen Sputumanteil 2 – 8°C
Sputum auf Tbc	Steriles 25 ml Gefäß (befüllen mit 5 – 10 ml)	Sofort ins Labor	2 – 8°C
Magensekret auf Tbc	Neutralisation mit Na ₂ HPO ₄	Sofort ins Labor	2 – 8°C
Ausstriche	Objektträger	Lufttrocknen, bruchsicher verpacken und versenden: Zimmertemperatur	

7.2. Präanalytische Vorgaben für den Transport:

Das Untersuchungsmaterial muss immer gemeinsam mit dem zugehörigen Anforderungsformular verschickt werden

Sämtliche Proben mit menschlichen Körperflüssigkeiten oder Körperausscheidungen müssen als potentiell infektiös betrachtet werden. Daher unterliegen diese Proben beim Transport bzw. Versand der ADR-Richtlinie (= Accord européen relatif au transport international des marchandises Dangereuses par Route = Europäisches Übereinkommen über die internationale Beförderung gefährlicher Güter auf der Straße).

Dreischichtige Verpackung und Kennzeichnung der Proben

1. Das Primärgefäß (Probengefäß)

2. Die Sekundärverpackung (Schutzgefäß)

Dieses ist mit absorbierendem Material auszustatten, um das Austreten von Flüssigkeit zu verhindern.

Bei flüssigen Proben muss das Primär- oder das Sekundärgefäß druckgeprüft sein.

3. Die Außenverpackung

Diese besteht entweder aus einem Versandkuvert für den Probenversand oder aus einer Transportbox.

Beides versehen mit der Kennzeichnung: Raute mit UN 3373 und zusätzlicher Aufschrift BIOLOGISCHER STOFF, KATEGORIE B.

Bitte die Außenverpackung immer korrekt mit Absender- und Empfängerdaten beschriften.



8. Annahmekriterien

In der Mikrobiologie am Standort Leoben werden alle eingehenden Zuweisungen bei der Probenannahme auf die Einhaltung der präanalytischen Vorgaben des Institutes geprüft.

8.1. Allgemeine Annahmekriterien

Eine Übernahme bzw. Weiterverarbeitung der Probe erfolgt nur, wenn:

- das Probenröhrchen mit Namensetikett beklebt, oder vollständig beschriftet ist
- das Probenröhrchen und das dazugehörige Anforderungsformular (immer aktuelle Version im Internet verfügbar) vollständig beschriftet bzw. ausgefüllt sind)
- die Probengefäße ausreichend befüllt sind
- das Untersuchungsmaterial den Bearbeitungskriterien der jeweiligen Analysen entspricht (siehe Analysenverzeichnis).
- der Probentransport dem Analysenverzeichnis entsprechend eingehalten wurde (z.B. Temperaturbereich etc.)
- Probengefäße nicht verschmutzt/kontaminiert sind (z.B. keine Kontamination mit Blut).

8.2. Bedingte Annahmekriterien

Es werden keine Analysen durchgeführt, Untersuchungsmaterial verbleibt aber im Labor und es erfolgt eine entsprechende Kennzeichenvergabe (Information) für den Zuweiser.

- Keine Identifikation der Probe.
- Falsches Probenmaterial
- Unzureichende Befüllung
- Keine Anforderung zum eingelangten Untersuchungsmaterial
- Unleserliche Beschriftung der Probe

8.3. Zurückweisungskriterien

Falls möglich, werden die Zuweiser telefonisch informiert.

- Unleserliche Beschriftung der Probe
- Untersuchungsanforderungen, die nicht in der Mikrobiologie am Standort Leoben durchgeführt werden
- Verschmutzte Probengefäße

Ausnahmen!

Werden die Annahmekriterien nicht erfüllt, so werden nur im Ausnahmefall Untersuchungsmaterialien, deren Gewinnung nicht oder nur unter erheblicher Belastung für den Patienten wiederholt werden kann, trotzdem angenommen.

In diesem Fall wird mit dem Zuweiser telefonisch Kontakt aufgenommen und versucht, die fehlenden oder mangelhaften Annahme-/Weiterverarbeitungskriterien zu beheben bzw. zu ergänzen.

Sollte dies in einem vernünftigen Zeitrahmen nicht möglich sein, wird die Art des präanalytischen Problems am Befund dokumentiert.