

Präanalytik-Handbuch Mikrobiologie

Institut für Med. und Chem. Labordiagnostik
Vorstand Prim. Priv.-Doz.
Dr. Dietmar Enko, LL.M. MBA

Laborleitung Mikrobiologie: OA Mag. Dr. Dr. Michael Gehrler
Vordernbergerstraße 42
8700 Leoben

Inhaltsverzeichnis

INHALTSVERZEICHNIS.....	2
1. ALLGEMEINES.....	4
2. ANFORDERUNG.....	4
2.1. Online-Anforderung	4
2.2. Anforderung mittels Begleitschein	5
3. PROBEN.....	6
3.1. Beschriftung der Proben.....	6
4. PROBENENTNAHME.....	6
4.1. Vor der Probenentnahme zu beachten.....	6
4.2. Blutkulturen	6
Diagnose von Katheter-, Gefäßzugangs- bzw. Portinfektionen	6
Abnahmezeitpunkt.....	6
Kulturmedien.....	7
Menge	7
4.3. Mycoplasma /Ureaplasma (Uro-Genitalinfektionen).....	7
• Vaginalabstriche	7
• Harnröhrenabstriche	7
• Sperma.....	7
4.4. Stuhl.....	7
Schnelltest Helicobacter pylori AG.....	7
4.5. Abstriche.....	7
4.6. Biopsiematerial	8
Untersuchung auf Helicobacter pylori	8
4.7. Magennüchternsekret.....	8
4.8. Proben vom Respirationstrakt.....	8
Sputum.....	8
Bronchialsekret und BAL (Bronchoalveoläre Lavage)	8
Legionellen	8
4.9. Liquor	8
Entnahme	8
Zusatzuntersuchungen bei Meningitis	8
Meningitis tuberculosa.....	8
4.10. Gefäßkatheter und Redonspitzen.....	9

5.	VERBRAUCHSGÜTER FÜR MIKROBIOLOGISCHE PROBEN	9
6.	TRANSPORT	12
6.1.	Allgemeine Informationen.....	12
6.2.	Präanalytische Vorgaben für den Transport:	14
	Dreischichtige Verpackung und Kennzeichnung der Proben	14
7.	ANNAHMEKRITERIEN	15
7.1.	Allgemeine Annahmekriterien.....	15
7.2.	Bedingte Annahmekriterien	15
7.3.	Zurückweisungskriterien	15

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 können nicht plausible Untersuchungsergebnisse nach sich ziehen.

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

2. Anforderung

2.1. Online-Anforderung

Über die Online-Anforderung **HZM Anforderung** im Medocs, können Stationen des LKH Hochsteiermark Standort Leoben Untersuchungen anfordern.

Es stehen 2 Anforderungsprofile zur Verfügung:

- LEO-Mikrobiologie
- LEO-Erreger Screening

Mit dem Button „**Zum Formular**“ öffnet sich das auszufüllende Anforderungsformular.

Wurde das Anforderungsformular vollständig ausgefüllt steht der Button „**Absenden**“ zur Verfügung. Durch betätigen des Button „Absenden“ wird die Anforderung übermittelt und die entsprechenden Etiketten gedruckt.

Für eine detaillierte Anleitung bezüglich der HZM-Online-Anforderung, verwenden Sie bitte die Schulungsunterlage im Intranet.

2.2. Anforderung mittels Begleitschein

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 (+ Aufnahmezahl) vollständig in die dafür vorgesehenen Felder digital eingetragen werden.

Klinische Angaben

Grunderkrankung, Einsendegrund, Antibiotikatherapie

Angaben zum Untersuchungsmaterial

Datum der Entnahme (Uhrzeit nur bei Blut- und Liquorkulturen)

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

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 der Flasche **nicht** überkleben
- Barcode- und Namensetiketten immer in Längsrichtung über das Originalröhrchen-Etikett aufkleben, sodass ein Spalt (Sichtfenster) zur Beurteilung des Füllvolumens frei bleibt.

4. Probenentnahme

4.1. Vor der Probenentnahme zu beachten

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

4.2. Blutkulturen

- Füllmenge beachten!
- Blutabnahme möglichst vor Antibiotikatherapie
- 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): Minimalmenge 0,5 ml / Flasche, optimale Menge 1-3 ml/Flasche, Maximalmenge 5ml/Flasche

4.3. Mycoplasma /Ureaplasma (Uro-Genitalinfektionen)

Mycoplasma hominis und Ureaplasma spp. sind sehr empfindlich und nach längerer Transportzeit nicht mehr nachweisbar. Sofort ins Labor bringen!

Folgende Materialien sind geeignet:

- Vaginalabstriche
- Harnröhrenabstriche
- Sperma
- Urin (Morgenurin) männlicher Patienten

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 wie eine Sonde. **Es reicht, dass die Tuferspitze mit Probenmaterial bedeckt ist!**

Schnelltest Helicobacter pylori AG

Nur aus **nativem** Stuhl möglich.

Erbsengroße 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 in den Magensaft gelangten 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 und BAL (Bronchoalveoläre Lavage)

Routinemäßige 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). Minimalmenge 0,5 ml/Flasche, optimale Menge 1-3 ml/Flasche, Maximalmenge 5ml/Flasche. 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:

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

5. Verbrauchsgüter für mikrobiologische Proben

	<p>eSwab 480CE: SAP Nummer: A285847 Abstrichröhrchen mit normal großem Tupfer. Für aerobe, anaerobe und anspruchsvolle Keime (Bakterien und Pilze) Mycoplasma/Ureaplasma</p>
	<p>eSwab 481CE (mini): SAP Nummer: A240431 Abstrichröhrchen mit kleinem Tupfer. Für aerobe, anaerobe und anspruchsvolle Keime (Bakterien und Pilze) Mycoplasma/Ureaplasma</p>
	<p>FecalSwab 470 CE: SAP Nummer: P002052 Abstrichröhrchen für Stuhluntersuchungen: – Kultureller Nachweis von Durchfallerregern – Clostridium difficile (inkl. Toxin)</p>
	<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>Urisponge 802CE.A SAP Nummer: W065708</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>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 • BACTEC-PEDS-PLUS/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>Thioglycolatbouillon Im Mikrobiologischen Labor anfordern.</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.</p>

6. Transport

6.1. Allgemeine Informationen

Material	Transportmedium	Optimales Vorgehen	Längere Transportzeit
Blutkultur	<ul style="list-style-type: none"> 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	<ul style="list-style-type: none"> 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	<ul style="list-style-type: none"> Steriles Röhrchen 	sofort ins Labor	2 - 8°C
Punktate (Perikard, Pleura, Gelenk)	<ul style="list-style-type: none"> EDTA Röhrchen steriles Röhrchen ohne Zusatz BACTEC Plus Aerobic/ F Medium BACTEC Lytic/10 Anaerobic/F Medium 	Sofort ins Labor	EDTA Röhrchen, steriles Röhrchen: 2 – 8°C BACTEC Medien: Raumtemperatur
Punktate (Glaskörper, Augenvorderkammer)	<ul style="list-style-type: none"> BHI Bouillon 	Sofort ins Labor	
Punktate (Ascites, Peritoneum),	<ul style="list-style-type: none"> EDTA Röhrchen steriles Röhrchen ohne Zusatz 	Sofort ins Labor	2 – 8°C
Venenkatheter, Redonspitzen	<ul style="list-style-type: none"> Thioglykolatbouillon eSwab (COPAN 480CE), Tupfer entfernen 	Sofort ins Labor	Thioglykolatbouillon: Wärmeschrank bei 37° eSwab: 2 – 8°C
Biopsiematerial	<ul style="list-style-type: none"> Thioglykolatbouillon steriles Röhrchen (Material mit 0,9%iger NaCl nur bedecken) 	Sofort ins Labor	Thioglykolatbouillon: Wärmeschrank bei 37° Steriles Röhrchen mit 0,9%iger NaCl: 2-8°C

Helicobacter pylori	<ul style="list-style-type: none"> • Portagerm pylori 		Portagerm pylori: 20 – 25°C für max. 48 Stunden
Abstriche	<ul style="list-style-type: none"> • eSwab (COPAN 480CE) • eSwab 481CE (mini) 	Sofort ins Labor	2 – 8°C
Nativharn	<ul style="list-style-type: none"> • Steriles Röhrchen • Vacuette Urin • Urisponge (COPAN 802CE.A) • Harnstabilisatorröhren 	Sofort ins Labor	Harnstabilisatorröhrchen 2 – 8°C
Uricult	<ul style="list-style-type: none"> • Objektträgerkultur (beidseitig beschicken) 	Bebrüten bei 37° für 18 – 24 Stunden, dann sofort ins Labor.	nach Bebrütung: 2 – 8°C
Harn auf Tbc	<ul style="list-style-type: none"> • Steriles Gefäß (50 ml) 	Konzentrierter Morgenharn, sofort ins Labor	2 – 8°C
Mycoplasma/ Ureaplasma	<ul style="list-style-type: none"> • Vaginalabstriche: <ul style="list-style-type: none"> ➤ eSwab (COPAN 480CE) ➤ eSwab 481CE (mini) • Harnröhrenabstriche: <ul style="list-style-type: none"> ➤ eSwab (COPAN 480CE) ➤ eSwab 481CE (mini) • Sperma: nativ • Harn von männlichen Patienten: nativ 	Sofort ins Labor	
Stuhl/ Durchfallerreger	<ul style="list-style-type: none"> • FecalSwab (COPAN 470CE.A) 	Sofort ins Labor	2 – 8°C
Stuhl/ Clostridium difficile	<ul style="list-style-type: none"> • FecalSwab (COPAN 470CE.A) 	Sofort ins Labor	2 – 8°C
Helicobacter pylori Schnelltest	<ul style="list-style-type: none"> • Stuhlgefäß (erbsengroßes Stück oder 2-3 ml) 	Nativ sofort ins Labor	2 – 8°C
Sputum/Sekrete	<ul style="list-style-type: none"> • 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	<ul style="list-style-type: none"> • Steriles 25 ml Gefäß (befüllen mit 5 – 10 ml) 	Sofort ins Labor	2 – 8°C
Ausstriche	<ul style="list-style-type: none"> • Objektträger 	Lufttrocknen, bruchsticher verpacken und versenden: Zimmertemperatur	

6.2. 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.



7. Annahmekriterien

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

7.1. 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 korrekt befüllt sind (Kein über- oder unterfüllen)
- 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).

7.2. 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 oder Überfüllung
- Keine Anforderung zum eingelangten Untersuchungsmaterial

7.3. Zurückweisungskriterien

Falls möglich, werden die Zuweiser telefonisch informiert.

- Keine oder unleserliche Beschriftung der Probe
- Untersuchungsanforderungen, die nicht in der Mikrobiologie am Standort Leoben durchgeführt werden
- Verschmutzte/kontaminierte Probengefäße

Bitte beachten Sie, dass bei nicht Einhalten eines oder mehrerer dieser Punkte, zum Schutz des Mitarbeiters und des Patienten, die Proben nicht verarbeitet werden können!

In Ausnahmefällen telefonische Kontaktaufnahme mit dem Zuweiser.